

北方稻蟹共作模式下中华绒螯蟹产地的判别

白淑艳^{1,2}, 王 鹏^{1,2}, 陈中祥^{1,2}, 吴 松^{1,2}, 郝其睿^{1,2}, 高 磊^{1,2}, 杜宁宁^{1,2}, 覃东立^{1,2*}

(¹ 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 哈尔滨 1500702

² 农业农村部渔业环境及水产品质量监督检验测试中心(哈尔滨), 哈尔滨 150070)

摘要 为判别北方稻蟹共作模式下中华绒螯蟹的地理来源,采用电感耦合等离子体-质谱仪(ICP-MS)对黑龙江省、吉林省和辽宁省共 36 个中华绒螯蟹样本中的 V、Cr、Mn 等 16 种元素组分进行定量分析及数据差异性分析。结果表明,3 个省份的中华绒螯蟹样本中 V、Cr、Ni、Mn、Zn、Ba、Fe、Mo、Cd、As、Pb 和 U 元素的含量差异显著($P < 0.05$),大部分元素之间表现出极显著的相关关系。基于矿物元素含量特征,结合主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)和逐步线性判别分析(S-LDA)等方法,分别对不同省份的中华绒螯蟹样本进行产地判别。结果显示:PCA 方法仅能区分部分样本,而 OPLS-DA 和 S-LDA 方法初始判别正确率均达 100%,交叉验证 OPLS-DA 预测能力为 71.4%,S-LDA 判别准确率达 97.2%,为最优判别方法。Zn、Cr、Pb 元素含量是 3 省份中华绒螯蟹样本溯源的重要变量。结论:基于元素指纹图谱结合化学计量学分析,能够对东北稻蟹共作模式下中华绒螯蟹原产地进行有效判别。

关键词 稻田养殖; 中华绒螯蟹; 产地判别; 矿物元素

文章编号 1009-7848(2022)12-0303-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.12.030

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)俗称河蟹,因独特的风味和富含多种矿质元素^[1],而深受消费者喜爱,现已成为我国主要的水产品养殖品种。中华绒螯蟹自然群体主要分布在我国长江、黄河和辽河流域及河口等水域^[2],目前以养殖群体为主,其中,稻田养蟹作为一种可持续的水稻生态种养模式,是中国北方稻作区一种重要的种养模式^[3-4]。如辽宁省盘锦市是我国北方最大的河蟹养殖基地。稻田养殖的鱼、虾、蟹等品质优良,味道鲜美,深受广大消费者欢迎^[5]。目前,申请国家地理标志产品保护的中华绒螯蟹品牌有 20 多个,包括辽宁东港、阳澄湖、洪泽湖、黄河口等。然而,由于品牌蟹具有较高的商业价值,贴错标签和掺假等问题时有发生,严重扰乱了水产品市场。研究鉴别中华绒螯蟹产地的溯源方法,对规范生产,维护市场秩序,加强监管具有重要意义。

食品产地溯源有许多不同的生物和化学方

法,如利用色谱、质谱和光谱学原理分析食品中的有机(DNA、蛋白质、脂质、糖和代谢物)和无机(元素、同位素比例)组分的差异性来进行辨别^[6-7]。随着分析检测技术的发展,矿物元素指纹图谱技术结合化学计量学分析在食品产地溯源方面得到广泛的应用,例如在谷物^[8-10]、牛羊肉^[11-13]、葡萄酒^[14-16]等食品溯源中的应用。也有学者基于多元素指纹结合化学计量学方法对水产品进行产地溯。例如:郭利攀^[17]利用电感耦合等离子体-质谱仪(ICP-MS)测定东海 3 个地区经济鱼类的 25 种金属元素,结合偏最小二乘判别分析(PLS-DA)进行产地判别,实现了 97.92%的正确分类。张政权等^[18]通过测定肌肉组织中 K、Ca、Na、Mg、Mn、Zn、Cu、Fe 8 种矿物元素含量和碳、氮稳定同位素丰度,结合多元统计分析方法建立了针对来自崇明、阳澄湖和兴化 3 个地区的中华绒螯蟹的产地判别模型,判别准确率达 98.3%。骆仁军等^[19]结合矿质元素和稳定同位素技术对黄河和辽河 3 个产地的中华绒螯蟹进行产地鉴别,结果表明稳定同位素和矿质元素相结合或单独利用矿质元素的判别准确率均高于 95%,且稳定同位素和矿质元素的结合具有更高的产地区分潜力。Marrà 等^[20]、Kang 等^[21]、Gopi 等^[22]、Li 等^[23]采用 ICP-MS 结合主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)、线

收稿日期: 2021-12-13

基金项目: 中央公益性科研院所基本科研业务费项目(HSY202110Q); 国家重点研发计划项目(2020YFD0900301); 国家公益性行业(农业)科研专项(201503108)

第一作者: 白淑艳,女,硕士,助理研究员

通信作者: 覃东立 E-mail: qdl978@163.com

性判别分析(LDA)、支持向量机(SVM)、逐步线性判别分析(S-LDA)等方法对鲈鱼、海参及虾等水产品进行产地溯源,判别效果较好。当前对中华绒螯蟹的产地溯源研究多集中在长江、黄河水系,且以野生和池塘养殖为主^[13-14,24],缺乏北方地区以及稻蟹共作模式下中华绒螯蟹群体的鉴别,导致其在认证和可追溯体系中不全面。本研究以北方稻蟹共作模式下中华绒螯蟹为样本,采用ICP-MS对样本进行矿质元素指纹分析,结合方差分析、PCA、OPLS-DA以及S-LDA等方法进行产地溯源,以期建立国家地理标志中华绒螯蟹的产地溯源体系提供基础资料和方法参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与设备

优级纯硝酸和盐酸,德国Merck公司;Li、Sc、Ge、Rh、In、Tb、Lu、Bi内标溶液质量浓度为100 mg/L, Li、Y、Ce、Tl、Co调谐液质量浓度为10 mg/L,美国Agilent公司;V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo、Ag、Cd、Ba、Pb和U标准溶液质量浓度为1 000 mg/L,国家标准物质中心;高纯氩气、高纯氮气(纯度 $\geq 99.999\%$)。

ICP-MS(7500cx),配置八级杆碰撞/反应池系统(ORS),美国Agilent公司;微波消解仪MARSX,美国CEM公司;纯水器,美国Millipore公司。

1.2 样本采集与制备

稻蟹共作模式下中华绒螯蟹样本共计36份,于2017年9月采集自辽宁省盘锦市,吉林省长春市、四平市和吉林市,黑龙江省佳木斯市、绥化市和虎林市。其中黑龙江省10份,吉林省16份,辽宁省10份。所有样本大小相似,雄性和雌性样本数量相同。雌蟹体重68~130 g,雄蟹体重82~155 g。样本采集后独立密封包装于样本袋中,采用带有冰盒的保温箱尽快低温运输至实验室。样本制备前,用吸水纸去除样本体表水分,去壳,取可食部分,混合并均质,存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备测。

1.3 样本检测

样本检测方法参考覃东立等^[25]的方法。所用塑料瓶、锥形管等玻璃器皿均用浓 HNO_3 浸泡24 h,超纯水冲洗3遍,烘干,备用。常温下解冻样本,用微波消解。每个样本称取0.5 g(湿重),放至2.5

mL 65%硝酸中,加入0.5 mL 37%盐酸和7.0 mL超纯水。微波消解的程序:微波功率1 600 W,爬升温度 $185\text{ }^{\circ}\text{C}$,升温时间10.5 min,保持时间14.5 min。消解完成后,将消解液移至50 mL容量瓶中,加入0.5 mL 100 $\mu\text{g/L}$ 内标溶液,定容50 mL。同时,做样本空白溶液,消解后的中华绒螯蟹样本和试剂空白用ICP-MS检测。

1.4 数据分析

采用SPSS 20.0(美国IBM公司)软件进行相关性、差异性和主成分分析以及逐步线性判别分析;采用R语言建立正交偏最小二乘判别模型;采用Origin9(美国Originlab)软件绘制图形。

2 结果与分析

2.1 不同省份中华绒螯蟹样本中元素含量差异性及相关性分析

由表1可看出,所有中华绒螯蟹样本中Cd、Pb、As、Cr和Cu等重金属含量范围远低于GB 2762-2017《食品中污染物限量》^[26]对甲壳类水产品的限量标准。方差分析结果显示:Cr、Mn元素在3个省份样本中均存在显著差异($P<0.05$),2种元素平均含量水平在3个省份样本间的排序均为:吉林省<辽宁省<黑龙江省,吉林省平均含量水平最低。吉林省V、Fe、Ba、Pb 4种元素极显著低于黑龙江省和辽宁省($P<0.01$),而Ni、Mo、Cd、U 4种元素极显著高于黑龙江省和辽宁省($P<0.01$),As元素显著高于黑龙江省和辽宁省($P<0.05$),以上9种元素在黑龙江和辽宁省的样品间无显著差异($P>0.05$)。辽宁省样本中Zn元素的含量极显著低于黑龙江省的,而黑龙江和吉林两省样本间无显著差异。Co、Cu、Se、Ag 4种元素含量在3个省份样本间均差异不显著($P>0.05$)。3省份样本中元素含量存在地区性差异,利用这种差异对样本进行产地鉴别具有可行性。

对16种元素数据做标准化处理,然后进行相关性分析,结果见表2。V、Cr、Mn、Fe、Ba 5种元素与U元素呈极显著负相关($P<0.01$),而与Ba、Pb呈极显著正相关,元素U与Ni、As、Se、Mo、Cd呈极显著正相关,与Pb呈极显著负相关关系;元素Ba、Pb与Ni、Mo、Cd呈极显著负相关;元素Mn与Cd、Mo、As、U、Cd与V、Cr、Fe、Mo与V、Cr、Cu、Cu

表 1 3 个省份中华绒螯蟹样本矿物元素含量及变异系数

Table 1 Mineral element content and coefficient of variation of *Eriocheir sinensis* samples from three provinces

元素	黑龙江省样本		吉林省样本		辽宁省样本	
	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	变异系数/%	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	变异系数/%	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	变异系数/%
V	0.301 ± 0.051 ^a	16.86	0.106 ± 0.058 ^{b*}	54.58	0.281 ± 0.027 ^b	9.59
Cr	0.179 ± 0.026 ^a	14.64	0.031 ± 0.026 ^{b*}	83.18	0.151 ± 0.024 ^c	15.75
Mn	59.463 ± 6.33 ^a	10.64	14.21 ± 11.54 ^{b*}	81.21	48.381 ± 7.254 ^c	14.99
Fe	141.635 ± 26.355 ^a	18.61	68.783 ± 30.478 ^{b*}	44.31	128.492 ± 18.354 ^a	14.28
Co	0.112 ± 0.013 ^a	11.63	0.112 ± 0.055 ^a	49.46	0.099 ± 0.01 ^a	10.45
Ni	0.378 ± 0.019 ^a	5.06	0.829 ± 0.286 ^{b*}	34.57	0.411 ± 0.039 ^a	9.58
Cu	10.153 ± 0.465 ^a	4.58	9.625 ± 1.865 ^a	19.37	9.383 ± 0.532 ^a	5.67
Zn	26.323 ± 1.645 ^{a*}	6.25	24.397 ± 3.532 ^a	14.48	22.09 ± 1.026 ^b	4.65
As	0.561 ± 0.057 ^a	10.21	0.676 ± 0.186 ^b	27.47	0.557 ± 0.051 ^a	9.07
Se	0.521 ± 0.062 ^a	11.96	0.593 ± 0.238 ^a	40.09	0.511 ± 0.1 ^a	19.53
Mo	0.067 ± 0.006 ^a	9.36	0.094 ± 0.02 ^{b*}	21.07	0.06 ± 0.005 ^a	8.16
Ag	0.019 ± 0.002 ^a	10.27	0.019 ± 0.005 ^a	26.86	0.016 ± 0.001 ^a	7.73
Cd	0.037 ± 0.005 ^a	14.77	0.085 ± 0.039 ^{b*}	45.62	0.035 ± 0.007 ^a	20.56
Ba	42.919 ± 6.414 ^a	14.94	22.138 ± 17.968 ^{b*}	81.16	42.326 ± 5.46 ^a	12.90
Pb	0.126 ± 0.02 ^a	15.92	0.045 ± 0.015 ^{b*}	32.84	0.125 ± 0.022 ^a	17.32
U	0.011 ± 0.001 ^a	13.35	0.024 ± 0.007 ^{b*}	31.51	0.011 ± 0.002 ^a	15.29

注:同一行字母相同表示差异性不显著($P>0.05$),字母不同表示差异性显著($P<0.05$),*表示差异性极显著($P<0.01$)。

与 Ni 均呈极显著负相关;Cd 与 Ni、Mo,Mo 与 Ni、As,Se 与 Cu、As,Ag 与 Cu 均呈极显著正相关关系,还有部分元素间呈显著的相关关系($P<0.05$)。以上结果表明,中华绒螯蟹样品中大部分元素含量间存在密切的联系,由于信息重叠,很难看出元素间整体的关联性。作为统计分析的第 1 步,采用无监督主成分分析法将数据进行降维处理,找出元素间的关联规律,并对样本进行初步分类判别。

2.2 不同省份中华绒螯蟹样本中元素含量的主成分分析(PCA)

将中华绒螯蟹样本中的元素含量数据做标准化处理后进行主成分分析。结果表明,第 1 主成分 F_1 的特征值为 2.70180, 方差贡献率为 45.620%; 第 2 主成分 F_2 特征值为 1.65770, 方差贡献率为 17.180%; 第 3~5 主成分 F_3 ~ F_5 的方差贡献率分别为 9.615%, 8.283%, 7.404% (表 3)。前 5 个主成分累计方差贡献率为 88.101%(大于 85%), 说明前 5 个主成分能够解释全部样本的 16 个元素指标的绝大部分信息。

由主成分载荷网络图可以看出(图 1), F_1 主要综合了样本中 V、Cr、Mn、Fe、Pb 含量信息, F_2 主

要综合了样本中 Cu 含量信息, F_3 主要综合了样本中 Co 含量信息, F_4 主要综合了样本中 Ag 含量信息, F_5 主要综合了样本中 Zn 含量信息。结合以上结果,V、Cr、Mn、Fe、Pb、Cu、Co、Ag、Zn 等 9 种元素是不同省份中华绒螯蟹的特征元素。

根据主成分分析的结果,将全部样本的前 2 个主成分得分作二维散点图(图 2),对样本初步分类。可以看出,吉林省样本分布虽较分散但仍可被归为一类,而黑龙江省和吉林省样本有部分重叠。可能是因为前 2 个主成分的累计方差贡献率只有 62.80%,原始信息代表度不高。无监督 PCA 虽然在视觉上对中华绒螯蟹的地理来源进行模糊分类,但是需要建立判别模型对 3 个省份样本做准确判别。

2.3 不同省份中华绒螯蟹样本中矿物元素含量的正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)

为了实现对不同省份中华绒螯蟹的产地判别,对样本的 16 种矿质元素含量进行 OPLS-DA 分析,构建溯源模型,其拟合参数 $R^2X=0.572$, $R^2Y=0.75$, 即 57.2% 的变量可以解释 75% 的组间差异,经七折交叉验证后,估计模型的预测能力为

表2 中华绒螯蟹中矿物元素的皮尔逊相关性矩阵

Table 2 Pearson correlation coefficients between mineral elements in *Eriocheir sinensis*

元素	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Mo	Ag	Cd	Ba	Pb	U
V	1.000															
Cr	0.937**	1.000														
Mn	0.895**	0.890**	1.000													
Fe	0.929**	0.870**	0.849**	1.000												
Co	0.136	0.046	0.132	0.368*	1.000											
Ni	-0.632**	-0.669**	-0.661**	-0.411**	0.604**	1.000										
Cu	0.020	0.012	0.139	-0.133	-0.367*	-0.442**	1.000									
Zn	-0.122	-0.037	0.058	-0.059	0.097	0.213*	-0.162	1.000								
As	-0.297*	-0.321*	-0.419**	-0.337*	-0.234*	0.079	0.145	-0.264*	1.000							
Se	-0.093	-0.191	-0.125	-0.292*	-0.222*	-0.060	0.441**	0.060	0.425**	1.000						
Mo	-0.510**	-0.569**	-0.646**	-0.376*	0.317*	0.749**	-0.443**	0.200*	0.430**	0.162	1.000					
Ag	-0.089	-0.129	0.084	-0.052	0.074	-0.072	0.606**	-0.074	0.224*	0.119	-0.210*	1.000				
Cd	-0.751**	-0.731**	-0.683**	-0.627**	-0.084	0.426**	-0.030	-0.053	0.344*	-0.077	0.437**	0.167	1.000			
Ba	0.657**	0.649**	0.750**	0.524**	0.029	-0.504**	0.148	0.062	-0.043	0.236*	-0.454**	0.096	-0.782**	1.000		
Pb	0.953**	0.905**	0.897**	0.902**	0.027	-0.699**	-0.012	-0.131	-0.367*	-0.206*	-0.573**	-0.120	-0.664**	0.593**	1.000	
U	-0.646**	-0.746**	-0.649**	-0.636**	0.086	0.500**	0.311*	-0.182	0.407**	0.500**	0.406**	0.276*	0.545**	-0.441**	-0.725**	1.000

注: *;P<0.05,显著相关; **;P<0.01,极显著相关。

71.4%,证明该模型具有较好的预测能力(R^2 和 Q^2 均大于0.5)。由图3看出3个省份的样本达到明显的聚类,表明不同省份中华绒螯蟹样本的元素含量具有一定的特征性,使各省份样本得到有效的分类。变量投影影响指数(variable importance for the projection, VIP)显示(图4),Zn、Cr、Mn、Pb、V、Mo、Fe、U的VIP值均大于1,一般情况下VIP值可量化各变量对样本分类的贡献,VIP值越大(>1),对产地判别的差

异性越显著^[27],表明Zn等8种矿物质元素含量对3个省份中华绒螯蟹样本的产地判别贡献率较大,尤其是Zn、Cr、Mn的VIP值分别为1.796、1.227、1.223,表明这3个元素可作为3个产区样本鉴别的特征元素。2.4 不同省份中华绒螯蟹中矿物元素含量的逐步线性判别分析(S-LDA)

LDA是一种有监督的数据分类方法,可以在假设样本分类的前提

表 3 主成分方差贡献率

Table 3 Eigenvalues and contribution rates to total variance of principal components

主成分	特征值	方差贡献率%	累积方差贡献率%	主成分	特征值	方差贡献率%	累积方差贡献率%
F ₁	2.70180	45.620	45.620	F ₄	1.15121	8.283	80.697
F ₂	1.65770	17.180	62.800	F ₅	1.08840	7.404	88.101
F ₃	1.24033	9.615	72.414				

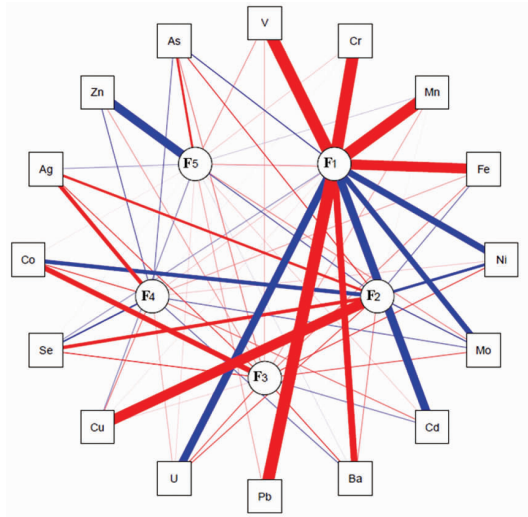


图 1 主成分载荷网络图

Fig.1 Principal component load network diagram

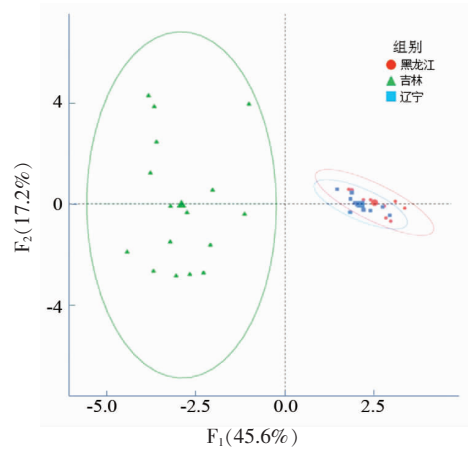


图 2 不同省份中华绒螯蟹矿物元素含量在前 2 个主成分得分的散点图

Fig.2 Scatterplots of the first 2 principal components of mineral elements in *Eriocheir sinensis* from different provinces

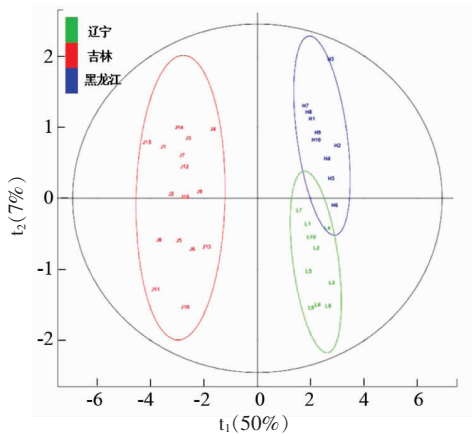


图 3 3 个省份中华绒螯蟹的 OPLS-DA

Fig.3 OPLS-DA plot of *Eriocheir sinensis* from the three provinces

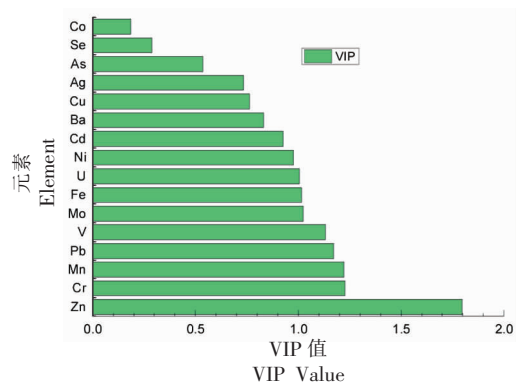


图 4 OPLS-DA 模型下的变量投影影响指数 (VIP) 值

Fig.4 Variable importance in the projection (VIP) obtained from the OPLS-DA mode

下将已知样本作为训练集，利用不同类别样本之间的相关性建立判别模型，再用判别模型对未知样本进行判别归类。采用“留一法”进行交叉验证，即把训练集中除某个样本之外的其余样本作为训练集，建立相关的判别函数，进而对该样本进行判

别。像这样，将每个样本作为一个测试集，来验证由剩余其它样本所建立的判别函数，从而检验判别模型的稳定性。采用逐步判别分析(S-LDA)方法，按照中华绒螯蟹样本中各元素含量在判别分析过程中的重要性，由大到小逐步选为判别变量，

建立中华绒螯蟹分类判别函数。各省份中华绒螯蟹的产地判别公式如下:

$$Y_{\text{黑龙江省}} = 418.474 \text{ Cr} + 8.619 \text{ Zn} + 217.733 \text{ Mo} + 2985.872 \text{ Ag} + 435.304 \text{ Pb} + 2064.008 \text{ U} - 225.885 \quad (1)$$

$$Y_{\text{辽宁省}} = 337.794 \text{ Cr} + 7.438 \text{ Zn} + 196.337 \text{ Mo} + 2572.111 \text{ Ag} + 435.278 \text{ Pb} + 1832.675 \text{ U} - 172.834 \quad (2)$$

$$Y_{\text{吉林省}} = -36.296 \text{ Cr} + 6.106 \text{ Zn} + 1492.141 \text{ Mo} + 4535.875 \text{ Ag} - 55.028 \text{ Pb} + 3214.478 \text{ U} - 224.345 \quad (3)$$

由此可见, Cr、Zn、Mo、Ag、Pb、U 6 种元素的含

量作为特征因子被引入判别函数中, 将 6 种元素含量数值分别带入上式, 可计算出 3 个函数值。选取其中函数值最大的判别函数所对应的省份作为该个体的产地, 对观测样本进行预测分类。结果表明, 各省份判别结果的正确率均为 100% (表 4)。采用“留一法”进行交叉验证, 结果显示: 黑龙江省的 1 个样本被误判为辽宁省, 另两个省份实现了全部 100% 的预测分类, 其总体的交叉验证判别正确率为 97.2%。

表 4 判别函数的预测分类及判别准确率

Table 4 The predicted classification and accuracy of discriminant function

种群类别	数量/个	准确率/%	样本预测分类/个			
			黑龙江省	吉林省	辽宁省	
预测样本	黑龙江省	10	100	10	0	0
	吉林省	16	100	0	16	0
	辽宁省	10	100	0	0	10
	合计	36	100	10	16	10
交叉验证	黑龙江省	10	90	9	0	1
	吉林省	16	100	0	16	0
	辽宁省	10	100	0	0	10
	合计	36	97.2	9	16	11

注: 仅对分析中的案例进行交叉验证。在交叉验证中, 每个案例都按照从该案例外的所有案例派生的函数来分类。

本次判别分析采用矿质元素建立两个典型判别式函数 (Fuction1、Fuction2), 其中 Fuction1 的方差贡献率为 97.1%, Fuction2 的方差贡献率为 2.9%, 将 Fuction1、Fuction2 分别做横坐标和纵坐标建立坐标系, 得到 3 个省份样本的散点图 5。可以直观看出 3 个省份的所有样本均被分为 3 个区域, 说明建立的判别函数对这 3 个省份的样本具有很好的分类效果。

3 讨论

多种化学计量学方法结合多元素指纹技术在对水产品产地判别中发挥重要作用^[20-23]。本研究不同地区的中华绒螯蟹样本大部分元素含量存在显著差异, 单凭一个变量是不可能确定其产地的。本文采用 3 种分析方法 (PCA、OPLS-DA 和 S-LDA) 结合矿物元素含量数据, 对北方稻蟹共作模式下中华绒螯蟹进行产地判别。在此过程中, 无监督 PCA 仅提供部分不同地理来源的中华绒螯蟹

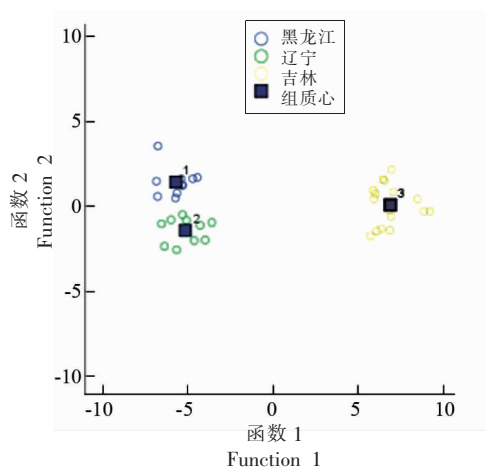


图 5 典型判别式函数分类图

Fig.5 Classification diagram of typical discriminant functions

样本的模糊视觉分类。这是因为原始数据中的很多信息在降维过程中丢失了, 前两个主成分总共解释约 62.8% 的数据变化。然而, PCA 作为统计分析中的第 1 步, 找到元素之间的关联规律对于初

步数据分析和数据可视化是必要的。监督 LDA 和 OPLS-DA 方法是鉴别中华绒螯蟹样品本地地理来源的有效方法。在 3 个省样品的判别分析中, S-LDA 和 OPLS-DA 模型能够实现 100% 的正确分类。综上, 多元素含量结合 LDA 和 OPLS-DA 可以实现中华绒螯蟹的产地鉴别。

本研究中, 3 种分类方法 (PCA、OPLS-DA 和 S-LDA) 筛选出的特征元素均包含元素 Zn、Cr、Pb, 可见, 这 3 种元素在 3 个省份中华绒螯蟹产地判别中具有一定的地域表征性, 可作为潜在的鉴别标记变量。本研究中, 所有中华绒螯蟹样本中 Cd、Pb、As、Cr 和 Cu 等重金属含量范围远低于 GB 2762-2017《食品中污染物限量》^[26]对甲壳类水产品的限量标准。重金属是典型的累积性污染物, 污染具有持久性, 被水产动物摄食后, 经食物链逐级传递、富集, 可与有机物结合成毒性更大的化合物^[28-29]。例如, Cd 危害性极大, 会使动物体内钙大量流失, 引起病体骨质疏松、萎缩, 与含羟基、巯基的蛋白质结合, 抑制酶系统的正常功能, 被机体吸收的镉很少能排除体内^[28, 30]。在地壳中, Pb 作为重金属里含量最多的元素, 进入动物体内后, 会随血液分布, 储存于器官中, 引起神经炎等各种疾病^[31]。然而, 有研究表明, Pb、Cr 等重金属在甲壳纲十足目水产动物组织内具有特殊的生物学意义, 它们储存在甲壳动物体内可满足动物的生理需求^[31]。也有研究指出 Pb、Cd、As、Hg 等重金属元素的含量可能与环境污染有关^[32]。黑龙江省、辽宁省与吉林省稻田养殖河蟹中 Cr 含量的差异与本地区土壤中 Cr 含量的差异相关联^[25], 可进一步研究重金属的来源, 以确定 Pb、Cd 等元素指纹在中华绒螯蟹产地判别中的地域表征性。

与池塘养殖或野生^[18-19, 24]的中华绒螯蟹样本元素含量相比, 北方稻蟹共作模式下的中华绒螯蟹样本中 Zn 的含量更低。养殖螃蟹可捕食自然食物来源, 主要摄食鱼类、贝类和商业颗粒饲料等外源饲料^[33]。由于饲料配方中使用的原料不同, 添加特定的宏量或微量矿物元素 (富含 Cu、Fe、Zn、Mn、Co、Cr 和 Mg), 以及饲料成分中可能存在的污染物, 导致鱼类饲料中的矿物元素含量水平差异极大^[34]。北方稻蟹共作模式下的中华绒螯蟹多以当地玉米为饲料, 其元素含量更多地反映地域环境

的信息, 而受颗粒饲料等外源饲料影响较小。总之, 中华绒螯蟹元素含量指纹特征是养殖水环境、底泥、饲料等多方面因素综合影响的结果, 需进一步探究其形成原因。

4 结论

采用 ICP-MS 测定了黑龙江、吉林省和辽宁省共 36 个中华绒螯蟹样本中的 V、Cr、Mn 等 16 种元素含量, 结果显示: 3 个省份间中华绒螯蟹样本中 V、Cr、Ni、Mn、Zn、Ba、Fe、Mo、Cd、As、Pb 和 U 元素的含量差异显著 ($P < 0.05$), 其中, 大部分元素之间表现出极显著的相关关系。利用矿物元素含量特征, 结合 PCA、OPLS-DA 和 S-LDA 等方法, 对中华绒螯蟹样本进行产地判别。由于数据信息损失较大, PCA 方法在区分地理来源方面效果不佳。S-LDA 和 OPLS-DA 方法初始判别正确率均为 100%, 交叉验证结果显示 OPLS-DA 预测能力为 71.4%, S-LDA 判别准确率高达 97.2%。此外, 基于 3 种分类方法, 确定了 Zn、Cr、Pb 元素含量是 3 个省份中华绒螯蟹产地鉴别的关键特征因子。然而, 地理来源、水环境及饲料种类等对中华绒螯蟹元素含量的影响还有待深入研究。因本研究的样品数量和产地来源较少, 故使试验结果存在局限性。今后需扩大采样量和采样地区, 优化统计方法, 筛选并建立更有效的溯源指标体系和判别模型。

参 考 文 献

- [1] ZHANG C, LI Q Q, WU X G, et al. Genetic diversity and genetic structure of farmed and wild Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) populations from three major basins by mitochondrial DNA COI and *Cyt b* gene sequences [J]. Mitochondrial DNA Part A, 2018, 19(7): 1-9.
- [2] CHEN D, ZHANG M, SHRESTHA S. Compositional characteristics and nutritional quality of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2006, 103(4): 1343-1349.
- [3] 陈玥, 牛世伟, 邹晓锦, 等. 稻蟹联合种养对稻田生态环境的影响 [J]. 辽宁农业科学, 2018(3): 30-34.

- CHEN Y, NIU S W, ZOU X J, et al. Effect of rice-crab co-culture on environment of rice field[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2018(3): 30-34.
- [4] 王昂, 戴丹超, 马旭洲, 等. 稻蟹共作模式对土壤微生物量氮和酶活性的影响[J]. *江苏农业学报*, 2019, 35(1): 76-84.
- WANG A, DAI D C, MA X Z, et al. Effects of rice-crab cul-ture system on soil microbial biomass nitrogen and soil en-zymes activities [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 35(1): 76-84.
- [5] 王常安, 徐奇友, 闫有利, 等. 我国东北地区稻田养殖的模式概况[J]. *水产学杂志*, 2017, 30(3): 57-60.
- WANG C A, XU Q Y, YAN Y L, et al. A review of aquacultural patterns in paddyfields in northeast China[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2017, 30(3): 57-60.
- [6] LUYKX D M AM., VAN RUTH S M. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products[J]. *Food Chemistry*, 2007, 107(2): 897-911.
- [7] BALLIN N Z, LAURSEN K H. To target or not to target? Definitions and nomenclature for targeted versus non-targeted analytical food authentication[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 86(9): 537-543.
- [8] LIU H Y, WEI Y M, ZHANG Y Q, et al. The effectiveness of multi-element fingerprints for identifying the geographical origin of wheat[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(4): 1018-1025.
- [9] POTORTÌ A G, DI BELLA G, MOTTESE A F, et al. Traceability of protected geographical indication (PGI) interdonato lemon pulps by chemometric analysis of the mineral composition [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, 69: 122-128.
- [10] 石春红, 曹美萍, 胡桂霞. 基于矿物元素指纹图谱技术的松江大米产地溯源[J]. *食品科学*, 2020, 41(16): 300-306.
- SHI C H, CAO M P, HU G X. Geographical origin traceability of Songjiang rice based on mineral elements finger prints[J]. *Food Science*, 2020, 41(16): 300-306.
- [11] 马梦斌, 罗瑞明, 李亚蕾. 基于矿物元素指纹差异的不同产地滩羊肉判别[J]. *食品科学*, 2020, 41(6): 316-321.
- MA M B, LUO R M, LI Y L. Discrimination of different geographical origins of Tan sheep meat based on mineral element finger prints[J]. *Food Science*, 2020, 41(6): 316-321.
- [12] REES G, KELLY S D, CAIRNS P, et al. Verifying the geographical origin of poultry: the application of stable isotope and trace element (SITE) analysis[J]. *Food Control*, 2016, 67(1): 144-154.
- [13] ZHAO Y, ZHANG B, GUO B, et al. Combination of multi-element and stable isotope analysis improved the traceability of chicken from four provinces of China [J]. *Cy TA -Journal of Food*, 2016, 14(2): 163-168.
- [14] PÉREZ-ÁLVAREZA E P, GARCIA R, BARRULAS P, et al. Classification of wines according to several factors by ICP-MS multi-element analysis[J]. *Food Chemistry*, 2019, 270: 273-280.
- [15] MAURIZIO A, FEDERICA B, DAVIDE M, et al. Wine traceability with rare earth elements[J]. *Beverages*, 2018, 4(23): 1-11.
- [16] ORELLANA S, JOHANSENA M, GAZIS C. Geographic classification of U.S. Washington State wines using elemental and water[J]. *Food Chemistry*, 2019, 1: 100007.
- [17] 郭利攀, 龚立科, 俞琰全, 等. 东海经济鱼类的多元素分析及产地判别[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(1): 214-221.
- GUO L P, GONG L K, YU Y L, et al. Multi-element analysis and geographical origin distinguishing for commercial fishes[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2015, 15(1): 214-221.
- [18] 张政权, 黄冬梅, 蔡友琼, 等. 矿物元素结合稳定同位素的中华绒螯蟹产地溯源[J]. *食品科学*, 2020, 41(24): 125-130.
- ZHANG Z Q, HUANG D M, CAI Y Q, et al. Geographical origin traceability of Chinese mitten crabs based on mineral elements and stable isotopes [J]. *Food Science*, 2020, 41(24): 125-130.
- [19] 骆仁军, 姜涛, 陈修报, 等. 基于稳定同位素和矿物质元素的中华绒螯蟹产地鉴别潜力评价[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 298-305.
- LUO R J, JIANG T, CHEN X B, et al. Potential assessment of stable isotopes and mineral elements

- for geographic origin identification of *Eriocheir sinensis*[J]. Food Science, 2020, 41(2): 298–305.
- [20] MARIA O, SERGIO G, EMANUELA Z, et al. Authentication of European sea bass according to production method and geographical origin by light stable isotope ratio and rare earth elements analyses combined with chemometrics [J]. Italian Journal of Food Safety, 2019, 8(1): 7872.
- [21] KANG X, ZHAO Y, SHANG D, et al. Elemental analysis of sea cucumber from five major production sites in China: A chemometric approach [J]. Food Control, 2018, 94(1): 361–367.
- [22] GOPI K, MAZUMDER D, SAMMUT J, et al. Combined use of stable isotope analysis and elemental profiling to determine provenance of black tiger prawns (*Penaeus monodon*) [J]. Food Control, 2019, 95: 242–248.
- [23] LI L, HAN C, DONG S, et al. Use of elemental profiling and isotopic signatures to differentiate Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from freshwater and seawater culture areas [J]. Food Control, 2019, 95: 249–256.
- [24] LUO R J, JIANG T, CHEN X B, et al. Determination of geographic origin of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) using integrated stable isotope and multi-element analyses [J]. Food Chemistry, 2019, 274: 1–7.
- [25] 覃东立, 姜海峰, 黄晓丽, 等. 东北稻蟹中 18 种微量元素含量及健康风险评估 [J]. 农业资源与环境学报, 2019, 36(2): 245–252.
- QIN D L, JIANG H F, HUANG X L, et al. The levels of 18 trace elements and health risk assessment in rice-crab (*Eriocheir sinensis*) from north-east China [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2019, 36(2): 245–252.
- [26] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品中污染物限量: GB 2762[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- State Health and Family Planning Commission of the people's Republic of China, State Food and drug administration. Limits of pollutants in food: GB 2762[S]. Beijing: China Standards Press, 2017.
- [27] 李文冰. 基于矿物元素分析的吉林稻米产地溯源技术研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.
- LI W B. Research on origin traceability technology of Jilin rice based on mineral element analysis [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019.
- [28] 常元勋. 金属毒理学 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2008: 1–9.
- CHANG Y X. Metal toxicology [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2008: 1–9.
- [29] 唐建勋, 刘忠良, 张婕. 水产动物重金属离子蓄积及毒性试验研究进展 [J]. 金华职业技术学院学报, 2011, 11(6): 65–68.
- TANG J X, LIU Z L, ZHANG J. Research Progress of accumulation and toxicity test in tissues and organs of aquatic animals by heavy metal ions [J]. Journal of Jinhua Polytechnic, 2011, 11(6): 65–68.
- [30] 滕葭, 柳琪, 李倩, 等. 重金属污染对农产品的危害与风险评估 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 1–45.
- TENG W, LIU Q, LI Q, et al. Hazard and risk assessment of heavy metal pollution on agricultural products [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010: 1–45.
- [31] 姚清华, 颜孙安, 林虬, 等. 水产品重金属富集规律与风险评估 [J]. 福建农业学报, 2014, 29(5): 498–504.
- YAO Q H, YAN S A, LIN Q, et al. Enrichment regularity and risk assessment of heavy metal in aquatic products [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2014, 29(5): 498–504.
- [32] CARVALHO M L, SANTIAGO S, NUNES M L. Assessment of the essential element and heavy metal content of edible fish muscle [J]. Analytical and Bio-analytical Chemistry, 2005, 382(2): 426–432.
- [33] TACON A G J, SILVA S S D. Mineral composition of some commercial fish feeds available in Europe [J]. Aquaculture, 1983, 31(1): 11–20.
- [34] FEDERICA F, MAURIZIO P, MAGDA R, et al. Toward the authentication of european sea bass origin through a combination of biometric measurements and multiple analytical techniques [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(26): 6822–6831.

The Origin Discrimination of *Eriocheir sinensis* under Rice Crab Farming System in North China

Bai Shuyan^{1,2}, Wang Peng^{1,2}, Chen Zhongxiang^{1,2}, Wu Song^{1,2}, Hao Qirui^{1,2},
Gao Lei^{1,2}, Du Ningning^{1,2}, Qin Dongli^{1,2*}

(¹Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070

²Supervision, Inspection and Testing Center for Fishery Environment and Aquatic Products (Harbin), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150070)

Abstract In order to identify the geographical origin of *Eriocheir sinensis* under the co-cropping mode of Northern Rice crab, the 16 elements of V, Cr, Mn and other 16 elements in 36 samples of *Eriocheir sinensis* in Heilongjiang, Jilin and Liaoning province were quantitatively detected by ICP-MS, and the data were analyzed. The results showed that the contents of V, Cr, Ni, Mn, Zn, Ba, Fe, Mo, Cd, As, Pb and U in the samples of *Eriocheir sinensis* were significantly different ($P < 0.05$). Most of the elements showed a very significant correlation. Based on the mineral element content characteristics, the origin of *Eriocheir sinensis* samples in different provinces was determined by PCA, OPLS-DA and S-LDA. The results showed that PCA could only distinguish some samples, while the initial discrimination accuracy of OPLS-DA and S-LDA methods is 100%, the prediction ability of OPLS-DA was 71.4%, and the accuracy of S-LDA was 97.2%, which was the best method. The contents of Zn, Cr and Pb were important variables for tracing the samples of *Eriocheir sinensis* in three provinces. The results showed that the effective identification of the origin of *Eriocheir sinensis* under the co-cropping mode of rice crab in Northeast China can be realized based on the combination of element fingerprint and chemometrics analysis.

Keywords rice crab farming system; *Eriocheir sinensis*; origin identification; mineral elements