

ANNA WLAZŁY, ZDZISŁAW TARGOŃSKI

## WYKORZYSTANIE OZNACZEŃ STOSUNKÓW STABILNYCH IZOTOPÓW WYBRANYCH PIERWIASTKÓW W OCENIE AUTENTYCZNOŚCI PRODUKTÓW POCHODZĄCYCH Z UPRAW EKOLOGICZNYCH

### Streszczenie

W artykule przedstawiono stan badań dotyczący stosunków stabilnych izotopów węgla i azotu w różnych artykułach spożywczych (warzywach, owocach, mięsie, mleku), które były produkowane metodami tradycyjnymi i ekologicznymi. Miara ilości ciężkiego i lekkiego izotopu w próbce oznaczana jest jako wartość  $\delta$ . Na wartość  $\delta^{15}\text{N}$  w warzywach i owocach ma wpływ między innymi rodzaj gleby, rodzaj nawożenia, poprzedni sposób użytkowania pola. Metody polegające na oznaczaniu wartości  $\delta^{15}\text{N}$  lub  $\delta^{13}\text{C}$  mogą być przydatne do odróżniania żywności ekologicznej i tradycyjnej, nie jest to jednak zasada, która dotyczy wszystkich produktów.

**Słowa kluczowe:** izotopy,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$ , uprawa ekologiczna, autentyczność produktów

### Wprowadzenie

Wzrasta zainteresowanie żywnością ekologiczną, uznawaną za bardziej bezpieczną dla zdrowia człowieka [5, 12, 25]. Produkcja żywności ekologicznej wyklucza możliwość stosowania pestycydów i nawozów mineralnych, a dopuszcza stosowanie nawozów organicznych [20]. Poszukuje się więc bardziej nowoczesnych metod umożliwiających sprawdzanie autentyczności produktów żywnościowych deklarowanych jako ekologiczne. Coraz większe zastosowanie zyskują metody bazujące na wyznaczeniu stosunków stałych izotopów pierwiastków w celu m.in. kontroli autentyczności produktów spożywczych, w tym także ich pochodzenia [24]. Wyznaczanie stosunków stabilnych izotopów węgla i azotu w różnych warzywach, mięsie i mleku jest również wykorzystywane do odróżnienia żywności produkowanej w warunkach ekologicznych od produkowanej metodami tradycyjnymi.

---

*Mgr inż. A. Wlazły, prof. dr hab. Z. Targoński, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin. Kontakt: a.wlazly75@wp.eu*

W przedstawionym przeglądzie piśmiennictwa omówiono stan badań nad oznaczeniami stosunków stabilnych izotopów węgla i azotu w artykułach żywnościowych, które były produkowane w różnych warunkach środowiska. Ponadto oceniono przydatność wyznaczania stosunków stabilnych izotopów pierwiastków do odróżniania żywności ekologicznej od tradycyjnej.

Izotopy to odmiany pierwiastka chemicznego, które różnią się liczbą neutronów w jądrze atomu, natomiast liczba protonów pozostaje taka sama, co powoduje różnicę w wartości liczby masowej. Izotopy danego pierwiastka chemicznego zazwyczaj mają podobne właściwości fizyczne i chemiczne. Ze względu na stabilność izotopy dzieli się na trwałe (stabilne) i nietrwałe (niestabilne). Izotopy trwałe nie będą ulegały samorzutnej przemianie do izotopów innego pierwiastka lub tego samego, natomiast izotopy nietrwałe (promieniotwórcze) ulegają przemianie do innych izotopów. Do najczęściej wykorzystywanych izotopów pierwiastków w badaniach żywności należą izotopy wodoru (H), tlenu (O), azotu (N), węgla (C) i siarki (S). Pierwiastki te mają następujące izotopy :  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{35}\text{S}$  [10].

Pierwiastki i ich izotopy występują w różnych stężeniach zarówno w biosferze, jak również w roślinach, zwierzętach i w glebie [13]. W badaniach nad rozkładem izotopów w przyrodzie ważnym pojęciem jest ich frakcjonowanie. Każda roślina ma swój jedyny układ naturalnie występujących izotopów węgla, azotu, wodoru i tlenu, na którego rozmieszczenie wpływają fizyczne i biochemiczne właściwości oraz warunki klimatyczne [19]. Ze względu na niewielkie różnice stosunków izotopów w analizowanych próbkach materiału organicznego, zamiast prostych stosunków wprowadzono określenie zależności w stosunku do międzynarodowego standardu tzw. PDB – standard otrzymany z próbki *Belemnite* z Karoliny (USA). Ponieważ oryginalna próbka nie jest dostępna, zastąpiono ją próbką wiedeńską VPDB.

Wartość  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) oblicza się z równania [1]:

$$\delta^{15}\text{N} \left( \text{‰} \right) = \left[ \frac{R_{\text{próbki}}}{R_{\text{standardu}}} - 1 \right] \cdot 1000$$

gdzie:  $R$  oznacza  $\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}$ , a standardem jest azot atmosferyczny ze stosunkiem  $\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} = 0,00368$  i  $\delta^{15}\text{N} = 0 \text{ ‰}$

Wartość  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) obliczana jest również z tego równania, przy czym  $R = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$ ,

a standardem jest VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite).

Wartości  $\delta$  są miarą zawartości ciężkiego i lekkiego izotopu w próbce. Wzrost tej wartości oznacza wzrost ilości ciężkiego izotopu, natomiast obniżenie wartości  $\delta$  oznacza zmniejszenie zawartości ciężkiego izotopu. Wiele czynników ma wpływ na stosunki ciężkiego do lekkiego izotopu, są to na ogół zmiany małe, rzędu kilku promili, chociaż możliwe są też duże zmiany rzędu 100 ‰. Do wyznaczania wartości  $\delta$  wykorzystywane są spektrometry masowe, a próbki trzeba przeprowadzić w stan gazowy.

### Wyznaczenie $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{13}\text{C}$ w produktach z upraw ekologicznych i tradycyjnych

Wyznaczanie stosunków stabilnych izotopów węgla tj.  $^{12}\text{C}$  i  $^{13}\text{C}$  wykorzystuje się do odróżnienia składników roślin C-3 od roślin C-4. Rośliny C-4 charakteryzują się wartościami  $\delta^{13}\text{C}$  mieszczącymi się w przedziale 9 - 14 ‰, zaś rośliny C-3 w zakresie 20 - 35 ‰. Do pierwszej grupy roślin zalicza się m.in. kukurydzę i trzcinę cukrową, a do drugiej m.in. pszenicę i buraki cukrowe.

Stosunek izotopów azotu w atmosferze przyjęto jako równy 0 ‰. Jest on jednak różny dla różnych roślin. Rośliny nasion strączkowych żyjące w symbiozie z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny charakteryzuje niższy stosunek izotopów azotu niż rośliny wykorzystujące nieorganiczne związki azotowe. Zróżnicowane zawartości izotopów w tych roślinach przekładają się na odmienne zawartości izotopów azotu u zwierząt spożywających pasze składające się w głównej mierze z nasion roślin strączkowych w stosunku do pasz zbożowych.

Istnieje wiele czynników, które mogą wpływać na wartość  $\delta^{15}\text{N}$  w warzywach czy owocach, należą do nich m.in. rodzaj gleby, sposób poprzedniego użytkowania pola, zmiany w praktykach rolniczych [2]. Na wartość  $\delta^{15}\text{N}$  w glebie ma także wpływ poziom jej wilgotności, o czym informują Choi i wsp. [9].

W przypadku produkcji roślin metodami konwencjonalnymi najczęściej stosuje się nawozy mineralne, które nie są używane w produkcji ekologicznej. Nawozy te charakteryzują się wartością  $\delta^{15}\text{N}$  bliską zeru, zazwyczaj są to wartości pomiędzy -2 a 2 ‰ [2]. Natomiast w produkcji organicznej stosuje się kompost, nawóz pochodzący od zwierząt, nawóz zielony, który jest bardziej zasobny w  $^{15}\text{N}$  i wyznaczone wartości  $\delta^{15}\text{N}$  najczęściej wahają się pomiędzy 6 a 15 ‰ [8, 15]. Ze względu na te różnice w wielu krajach podjęto badania w celu odpowiedzi na pytanie, czy rodzaj zastosowanego nawozu (o różnym poziomie  $\delta^{15}\text{N}$ ) będzie przenosił się na wartości  $\delta^{15}\text{N}$  w roślinach.

Bateman i wsp. [2] oznaczyli zawartości  $\delta^{15}\text{N}$  w pomidorach, sałacie i marchwi pochodzących z komercyjnych upraw konwencjonalnych, jak i z upraw, w których stosowano tylko nawozy organiczne. Sałata, która rosła w warunkach konwencjonalnych wykazywała niższy poziom  $\delta^{15}\text{N}$  w porównaniu z sałatą nawożoną organicznie, dla której najniższa wartość wynosiła 0,8 ‰. W 30 % sałaty produkowanej w sposób konwencjonalny wyznaczone wartości  $\delta^{15}\text{N}$  były poniżej tej wartości.  $\delta^{15}\text{N}$  w przypadku sałaty nawożonej nawozami organicznymi wynosił 7,6 ‰, a nawożonej chemicznie

– 2,9 ‰. Natomiast pomidory pochodzące z upraw nawożonych nawozami organicznymi charakteryzowały się większą wartością  $\delta^{15}\text{N} = 8,1$  ‰ niż produkowane metodami tradycyjnymi, gdzie średnia wartość wynosiła -0,1 ‰. Pomimo różnic w średnich wartościach  $\delta^{15}\text{N}$  w uprawach pomidorów i sałaty w odmiennych systemach, występowała zgodność w poziomie wartości  $\delta^{15}\text{N}$  zarówno w przypadku upraw konwencjonalnych, jak i organicznych. W przypadku marchwi z upraw nawożonych organicznie, w porównaniu z nawożonymi konwencjonalnie, nie stwierdzono różnic w wartości  $\delta^{15}\text{N}$ . Wyniki te uzasadniano wyższym zapotrzebowaniem marchwi na azot [2, 16] w porównaniu z sałatą i pomidorami oraz różnicami w uprawie, gdyż sałata i pomidory były najpierw kielkowane i flancowane, zanim zostały przesadzone do uprawy właściwej.

Šturm i wsp. [23] oceniali, jak rodzaj nawożenia wpływa na poziom  $\delta^{15}\text{N}$  w warzywach. Poletka z sałatą nawożono różnymi sposobami, używając: tylko nawozu organicznego (O) w jednej dawce, tylko nawozu mineralnego (S) w jednej dawce oraz rozdzielono podanie nawozu na dwie części w konfiguracjach – S+S, O+O, S+O, O+S. Najwyższą wartość  $\delta^{15}\text{N}$  (po 50 dniach wzrostu) stwierdzono w próbce sałaty, do uprawy której zastosowano tylko pojedynczą dawkę nawozu organicznego, a najniższą w próbce z zastosowaniem nawozu mineralnego podzielonego na dwie dawki (S+S) i podobnie, gdy użyto pojedynczej dawki nawozu mineralnego. Uzyskano więc wynik potwierdzający tezę, że rodzaj nawożenia ma wpływ na wartość  $\delta^{15}\text{N}$ . Zainteresowanie naukowców zostało również skierowane na problematykę poziomu  $\delta^{15}\text{N}$  w zależności od czasu, jaki upłynął od momentu posadzenia sałaty do jej zbioru. Określono wartości  $\delta^{15}\text{N}$  po 20, 30 i 50 dniach od przesadzenia sałaty. Zauważono, że czas zbioru również wpływa na  $\delta^{15}\text{N}$ , gdyż próbki sałaty nawożone w układach O, O+O, O+S wykazywały niższe wartości z upływem czasu, natomiast w układach S, S+S, S+O wartość  $\delta^{15}\text{N}$  była na zbliżonym poziomie. Wnioski te po części są zbieżne z obserwacjami Rogersa [21], który określał wartości  $\delta^{15}\text{N}$  w ośmiu warzywach (ziemniakach, ogórkach, cukinii, pomidorach, groszku, brokułach, dyni, bakłażanach) pochodzących ze sklepów z żywnością produkowaną z zastosowaniem nawozów organicznych i ich odpowiednikami z upraw konwencjonalnych, pochodzących z masowej produkcji. Obliczone wartości  $\Delta^{15}\text{N}_{[\text{org-nieorg}]}$  wahały się w przedziale od 0,1 do 9,6 ‰. Najniższą wartością  $\Delta^{15}\text{N}$  charakteryzował się groszek, zaś najwyższą – ogórek. Na tej podstawie sformułowano wniosek, że różnice te mają związek z zastosowanym nawozem [21, 26]. Podczas prowadzonych analiz zauważono też, że rośliny, które mają krótszy okres wegetacji charakteryzują się wyższą wartością  $\Delta^{15}\text{N}_{[\text{org-nieorg}]}$  (z wyłączeniem groszku), co wynika z tego, że rośliny te szybko przyswajają azot z podłoża. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że oznaczenie stabilnego izotopu azotu może służyć do rozróżnienia warzyw z plantacji organicznych i konwencjonalnych, jeżeli nie są to rośliny

wiążące azot atmosferyczny (np. groszek), bo czerpią one azot bardziej z powietrza niż z gleby.

Na zawartość azotu w roślinie wpływa zawartość azotu w glebie, a ta z kolei jest powiązana z zastosowanym nawożeniem [8, 23, 27, 28]. Ilość zastosowanego nawozu również wpływała na wartość  $\delta^{15}\text{N}$ , co wykazali Georgi i wsp. [14]. Skupili się oni na oznaczeniu wartości  $\delta^{15}\text{N}$  i  $\delta^{13}\text{C}$  w warzywach (sałacie, cebuli, kapuście), stosując optymalne i zredukowane (stanowiące 65 % optymalnej wartości) dawki nawozu. Plantacje organiczne nawożone były nawozem zielonym i mączką z rogów zwierząt, natomiast plantacje zintegrowane nawożone były azotanem(V) amonu, związkami fosforu i potasu. Warzywa z produkcji organicznej charakteryzowały się wyższymi wartościami  $\delta^{15}\text{N}$ , a różnica ta była największa, gdy zastosowano optymalną dawkę nawozu, jeżeli zaś dawka azotu była obniżona, różnice te były mniejsze. W przypadku kapusty chińskiej nie wykazano różnic. Po przeanalizowaniu wartości  $\delta^{13}\text{C}$  poszczególnych warzyw zauważono, że sposób produkcji nie wpływał znacząco na oznaczanie wartości  $\delta^{13}\text{C}$ , chociaż warzywa z produkcji organicznej charakteryzowały się nieznacznie niższymi wartościami.

Choi i wsp. [8] potwierdzają również większą zawartość  $\delta^{15}\text{N}$  w warzywach nawożonych nawozami organicznymi. Były to różnice rzędu 3,85 - 10,1 % w zależności od warzywa. Oznaczenia przeprowadzono w sałacie, kapuście, bakłażanach, papryce, szpinaku i ogórkach. Wartości  $\delta^{15}\text{N}$  papryki z produkcji organicznej zawierały się w zakresie 13,6 - 15,3 ‰, a nawożonej nawozami mineralnymi – od 3,7 do 5,3 ‰. Różnice te tłumaczą wyższą wartością  $\delta^{15}\text{N}$  w glebie nawożonej organicznie.

Nakano i wsp. [18] nawozili pomidory trzema sposobami, przy użyciu: 1) tylko nawozu mineralnego granulowanego, 2) tylko płynnego nawozu nieorganicznego, 3) organicznego nawozu otrzymanego z kukurydzy (CLS-corn steep liquor). Rodzaj zastosowanego nawozu nie miał znaczącego wpływu na wielkość plonu, gdyż na każdym z pól uzyskano zbliżoną masę warzyw. Natomiast wartość  $\delta^{15}\text{N}$  w owocach pomidorów rosnących w warunkach nawożenia nawozami organicznymi była najwyższa i wynosiła 7 ‰. Wartości  $\delta^{13}\text{C}$  oznaczone w pomidorach we wszystkich przypadkach były bardzo zbliżone do siebie. Na tej podstawie sformułowano wnioski, że roślina czerpie węgiel z węgla atmosferycznego, a nie z gleby czy z zastosowanego nawozu, a wartość  $\delta^{15}\text{N}$  może być wskaźnikiem do odróżniania rodzaju produkcji warzyw.

Oznaczeń izotopów  $^{15}\text{N}$ , i  $^{13}\text{C}$  podjęli się również Camin i wsp. [6] oraz Flores i wsp. [11]. W pierwszym przypadku oznaczeniom poddano ziemniaki pochodzące z profesjonalnych upraw organicznych według określonych zasad (rozporządzenie Rady UE 2092/91) i upraw konwencjonalnych, ale takich, w produkcji których uwzględniano przestrzeganie określonych procedur (rozporządzenie Rady WE nr 2200/96). Ziemniaki z upraw organicznych zawsze charakteryzowały się wyższymi wartościami  $\delta^{15}\text{N}$  niż z upraw konwencjonalnych. Różnice te wynosiły od 1,57 do

6,58 ‰ w zależności od odmiany i roku badań. Wartość  $\delta^{13}\text{C}$  nie była natomiast uzależniona od rodzaju uprawy. W drugim przypadku przeprowadzono eksperyment polegający na nawożeniu jednej części papryki tylko nawozami organicznymi, a drugiej tylko nawozami mineralnymi, przy czym obie części były tak samo podlewane. Owoce papryki nawożone chemicznie wykazywały niższe wartości  $\delta^{15}\text{N}$  niż nawożone organicznie, co koreluje z wartościami  $\delta^{15}\text{N}$  w nawozie, wyższymi w przypadku nawozu organicznego niż syntetycznego.

Na wartości  $\delta^{15}\text{N}$  wyznaczone w warzywach wpływ miał rodzaj wody użytej do podlewania, a także rodzaj podłoża, na którym rosły warzywa, co wykazali Bateman i wsp. [1]. Zbadano wpływ rodzaju podłoża do uprawy (torf lub kora przerobiona na kompost) na wartość  $\delta^{15}\text{N}$ . Stwierdzono, że rodzaj podłoża miał wpływ na wartości  $\delta^{15}\text{N}$ , gdyż w przypadku braku nawożenia pomidory uprawiane w torfie miały wartość  $\delta^{15}\text{N}$  przeciętnie o 5 ‰ niższe niż uprawiane w korze przerobionej na kompost. Również rodzaj zastosowanego nawozu wpływał na wielkość  $\delta^{15}\text{N}$ , która była wyższa w przypadku nawożenia nawozami organicznymi, niezależnie od tego, na jakim podłożu rosły pomidory, przy czym różnica ta była wyższa w przypadku upraw w podłożu z kompostowanej kory. Rodzaj wody (wodociągowa i dejonizowana) miał wpływ na poziom  $\delta^{15}\text{N}$  w przypadku, gdy do uprawy sałaty nie użyto żadnego nawozu lub gdy stosowano nawóz organiczny, czego nie zauważono przy zastosowaniu nawozu sztucznego. Potwierdzeniem różnic pod względem wartości  $\delta^{15}\text{N}$  w zależności od zastosowanego nawożenia były wyniki uzyskane w przypadku marchwi, gdzie  $\delta^{15}\text{N}$  była niższa o od 3,2 do 4 ‰ w marchwi z uprawy nawożonej azotanem(V) amonu, w porównaniu z marchwią nawożoną organicznie (*pelleted chicken manure*).

We Włoszech podjęto badania mające na celu charakterystykę składu izotopowego azotu owoców z produkcji organicznych [7, 20]. Prace te dotyczyły pomarańczy [7, 20] oraz truskawek, mandarynek i brzoskwiń [7]. Wartości  $\delta^{15}\text{N}$  oznaczono w białku z mięszu owoców i w aminokwasach w soku [20]. Prace prowadzono przez 3 lata. Gospodarstwa dobrano tak, aby warunki środowiskowe były takie same zarówno w przypadku upraw organicznych, jak i konwencjonalnych. We wszystkich wariantach  $\delta^{15}\text{N}$  była statystycznie wyższa w owocach pochodzących z upraw nawożonych organicznie. Stwierdzono, że takie wyniki badań związane są z tym, że nawozy organiczne powodują zwiększenie poziomu  $^{15}\text{N}$  w glebie, a to sprzyja wzrostowi  $\delta^{15}\text{N}$  w owocach. Różnice  $\delta^{15}\text{N}$  w przypadku pomarańczy wahały się w zakresie od 1,06 do 1,78 ‰ w zależności od odmiany oraz oznaczania  $\delta^{15}\text{N}$  w soku czy też w mięszu. Po przeprowadzeniu analiz składu izotopowego azotu truskawek, pomarańczy, brzoskwiń i mandarynek w latach 2006 - 2008 we Włoszech [7] sformułowano wniosek, że wartość  $\delta^{15}\text{N}$  może być wykorzystana przy ocenie ww. owoców z gospodarstw ekologicznych oraz tradycyjnych i że jest najmniej zależna od roku produkcji i miejsca położenia upraw. Wskaźnik ten może być jednak używany, jeżeli do upraw konwencjo-

nalnych nie będzie stosowany nawóz organiczny (co nie jest zabronione), a uprawy organiczne nie będą nawożone nawozem uzyskanym z roślin strączkowych. Na podstawie wartości  $\delta^{13}\text{C}$  można było rozróżnić jedynie uprawy brzoskwiń i truskawek, gdzie znacząco niższe wartości uzyskano tylko w przypadku brzoskwiń w 2007 i 2008 roku z upraw organicznych. Przyczynę niższej wartości wyjaśniano tym, że gleby w uprawach organicznych mają wyższą aktywność mikrobiologiczną, co opisywano wcześniej w literaturze [14]. Ostatecznie stwierdzono, że wartość  $\delta^{13}\text{C}$  nie jest dobrym wskaźnikiem odróżniającym owoce z produkcji organicznej od tradycyjnej, a w dużej mierze zależy ona od miejsca produkcji.

### Oznaczenia izotopowe mleka

Oznaczenie stabilnych izotopów węgla i azotu w celu odróżnienia mleka z hodowli konwencjonalnej i ekologicznej zostały przeprowadzone przez Molentina i wsp. [17]. Oznaczone wartości  $\delta^{13}\text{C}$  w próbkach mleka ze sprzedaży detalicznej wykazywały różnice w zależności od rodzaju mleka. Wartości  $\delta^{13}\text{C}$  mleka pochodzącego z produkcji konwencjonalnej wynosiły  $-26,6\text{‰}$  lub wyżej, natomiast z produkcji organicznej  $\delta^{13}\text{C}$  była niższa, a maksimum było równe  $-28\text{‰}$ . Różnice te wynikają z proporcji roślin typu  $\text{C}_3$  i  $\text{C}_4$  w karmie dla krów. W konwencjonalnej produkcji podstawowa pasza dla krów składa się w 60 % z kukurydzy (która jest rośliną typu  $\text{C}_4$ ), natomiast w organicznej produkcji używa się jedynie niewielkiej ilości kukurydzy. Dlatego też oznaczenie wartości  $\delta^{13}\text{C}$  może stanowić podstawę dla odróżnienia pochodzenia mleka.

Wartości  $\delta^{15}\text{N}$  mleka pochodzącego od krów karmionych paszą z upraw konwencjonalnych i z produkcji organicznej pokrywały się, chociaż spodziewano się, że mleko z produkcji organicznej będzie wykazywało wyższe wartości  $\delta^{15}\text{N}$  ze względu na użyte nawozy do produkcji paszy. W mleku tym zaobserwowano jednak niższą wartość  $\delta^{15}\text{N}$ , co tłumaczono spożywaniem przez krowy większej ilości roślin strączkowych czy koniczyny, a rośliny te wiążą azot atmosferyczny, w którym wartość  $\delta^{15}\text{N} = 0$ , natomiast inne rośliny wiążą azot z gleby. Dlatego też sama wartość  $\delta^{15}\text{N}$  nie umożliwia odróżnienia mleka z produkcji konwencjonalnej od mleka z produkcji organicznej.

### Oznaczenia izotopowe mięsa

Oznaczenia stabilnych izotopów węgla, azotu i siarki dokonano w celu sprawdzenia przydatności tej metody do odróżnienia wołowiny pochodzącej z produkcji organicznej od konwencjonalnej [4, 22], a także określenia pochodzenia geograficznego [22]. Porównując wołowinę amerykańską i europejską zauważono duże różnice w wartości  $\delta^{13}\text{C}$ . Wołowina pochodząca z Irlandii miała wartość  $\delta^{13}\text{C} = -24,5\text{‰}$ , a pozostała europejska wołowina –  $\delta^{13}\text{C} = -21,6\text{‰}$ . Natomiast wołowina pochodząca ze Stanów Zjednoczonych wykazywała wartość  $\delta^{13}\text{C} = -12,3\text{‰}$ , a z Brazylii  $\delta^{13}\text{C} = -10\text{‰}$ . Róż-

nice te wynikają z rodzaju paszy, którą były karmione zwierzęta. W Europie pasza zawierała więcej roślin typu C<sub>3</sub>, natomiast w Ameryce więcej było w paszy roślin typu C<sub>4</sub> (np. kukurydzy). Schmidt i wsp. [22] zbadali możliwości odróżnienia wołowiny

Tabela 1. Wartości  $\delta^{15}\text{N}$  i  $\delta^{13}\text{C}$  wybranych produktów z produkcji organicznej i konwencjonalnej.  
Table 1. Values of  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  in some products from organic and conventional production.

Produkt Product	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]		$\delta^{13}\text{C}$ [‰]		Źródło Reference
	Produkcja organiczna Organic production	Produkcja nieorganiczna Non-organic production	Produkcja organiczna Organic production	Produkcja nieorganiczna Non-organic production	
Ogórek Cucumber	12,3	2,7	-26	-28,1	[21]
	13,3	3,25	-	-	[8]
Groszek Peas	0,3	0,2	-25,7	-28,1	[21]
Ziemniak Potato	4,3	0,9	-27,0	-24,5	[21]
	5,68 - 10,34	2,23 - 4,13	-	-	[6]
Brokuł Broccoli	12,2	4,3	-27,3	-28,6	[21]
Cebula Onion	7,0	6,4	-26,1	-26,1	[14]
Sałata Lettuce	6,7	6,7	-26,0	-26,2	[14]
	13,4	3,25	-	-	[8]
Kapusta Cabbage	6,7	6,4	-25,3	-26,4	[14]
Papryka Pepper	14,45	4,7	-	-	[8]
	11,3	6,7	-27,49	-26,8	[11]
Szpinak Spinach	9,5	5,6	-	-	[8]
Pomidor Tomato	7,09	0,3	-	-	[18]
Pomarańcza Orange	8,0	7,1	-26,4	-26,3	[7]
Brzoskwinia Peach	2,4	0,9	-25,9	-25,6	[7]
Truskawka Strawberry	1,2	0,6	-24,4	-24,6	[7]
Mleko Milk	-	-	-28	-26,6	[17]
Wołowina Beef	6,6	7,8	-26,0	-24,5	[22]



z produkcji konwencjonalnej od wołowiny z produkcji organicznej na podstawie oznaczeń stosunku stabilnych izotopów C, N, i S. Wartość  $\delta^{13}\text{C}$  była niższa w przypadku wołowiny z produkcji organicznej (wynosiła -26 ‰) niż z produkcji konwencjonalnej ( $\delta^{13}\text{C} = -24,5$  ‰). Na podstawie tych wyników można stwierdzić, że w hodowli organicznej stosowano więcej trawy jako paszy, która ma niższą wartość  $\delta^{13}\text{C}$  niż inna pasza. Natomiast wartość  $\delta^{15}\text{N}$  była również niższa w przypadku wołowiny z produkcji organicznej i wynosiła 6,6 ‰, podczas gdy wołowina pochodząca z produkcji konwencjonalnej miała wartość  $\delta^{15}\text{N} = 7,8$  ‰. Różnice w wartości  $\delta^{34}\text{S}$  były bardzo niewielkie. Wołowina produkowana organicznie miała wartość  $\delta^{34}\text{S} = 7,9$  ‰, a produkowana konwencjonalnie – 7,2 ‰.

Oznaczenia przeprowadzane przez Bonera i wsp. [4] potwierdzają, że wartość  $\delta^{13}\text{C}$  może służyć do odróżnienia mięsa z hodowli ekologicznych od mięsa z hodowli konwencjonalnych. Rolnictwo konwencjonalne stosuje głównie kukurydzę jako paszę dla zwierząt, aby uzyskać szybszy wzrost, natomiast w rolnictwie organicznym kukurydzę stosuje się bardzo rzadko lub nie stosuje jej się wcale. Dlatego też mięso ekologiczne wykazuje niższą wartość  $\delta^{13}\text{C}$  niż mięso konwencjonalne.

Uzyskane dotychczas wybrane wyniki oznaczeń izotopowych na świecie przedstawiono w tab. 1.

### Podsumowanie

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa można stwierdzić, że metody pomiaru stosunków stabilnych izotopów węgla i azotu w żywności mogą być wykorzystane do odróżnienia żywności pochodzącej z gospodarstw ekologicznych od żywności pochodzącej z upraw tradycyjnych. Nie jest to jednak zasada dotycząca wszystkich warzyw i owoców. Dlatego też są konieczne szczegółowe badania każdego produktu w różnych warunkach uprawy, by dokonać oceny przydatności ww. metody do sprawdzenia czy żywność deklarowana jako ekologiczna rzeczywiście nią jest. Istnieje potrzeba dalszych badań potwierdzających uzyskane dotychczas wyniki. W Polsce zostały wdrożone uznane metody izotopowej kontroli win, miodów i soków [3], natomiast brakuje badań nad oznaczeniami izotopów N i C w warzywach czy owocach.

### Literatura

- [1] Bateman A.S., Kelly S.D., Jickells T.D.: Nitrogen isotope relationships between crops and fertilizer: implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 5760-5765.
- [2] Bateman S.A., Kelly S.D., Woolfe M.: Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 2664-2670.
- [3] Bezpieczna Żywność. [online]. Inst. Chemii i Techn. Jądrowej.. Dostępne w Internecie [27.08.2012]: [www.ichtj.waw.pl/drupal/?q=node/357](http://www.ichtj.waw.pl/drupal/?q=node/357)

- [4] Boner M., Förstel H.: Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **378**, 301-310.
- [5] Brandt K., Molgaard J.P.: Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *J. Sci. Food Agric.*, 2001, **81**, 924-931.
- [6] Camin F., Moschella A., Miselli F., Parisi B., Versini G., Ranalli P., Bagnaresi P.: Evaluation of markers for the traceability of potato tubers grown in an organic **versus** conventional regime. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **87**, 1330-1336.
- [7] Camin F., Perini M., Bontempo L., Fabroni S., Faedi W., Magnani S., Baruzzi G., Bonoli M., Tabilio M.R., Musmeci S., Rossmann A., Kelly S.D., Rapisarda P.: Potential isotopic and chemical markers for characterising organic fruits. *Food Chemistry*, 2011, **125**, 1072-1082.
- [8] Choi W.J., Ro H.M., Hobbie E.A.: Patterns of natural  $^{15}\text{N}$  in soils and plants from chemically and organically fertilized uplands. *Soil Biol. Biochem.*, 2003, **35**, 1493-1500.
- [9] Choi W.J., Ro H.M., Lee S.M.: Natural  $^{15}\text{N}$  abundances of inorganic nitrogen in soil treated with fertilizer and compost under changing soil moisture regimes. *Soil Biol. Biochem.*, 2003, **35**, 1289-1298.
- [10] Czerwiński A.: *Energia jądrowa i promieniotwórczość*. Oficyna Edukacyjna, Warszawa 1998.
- [11] Flores P., Fenoll J., Hellín P.: The feasibility of using  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values for discriminating between conventionally and organically fertilized pepper (*Capsicum annum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 5740-5745.
- [12] Förstel H.: The natural fingerprint of stable isotopes use of IRMS to test food authenticity. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **388**, 541-544.
- [13] Fry B.: *Stable Isotope Ecology*. Ed. Springer, New York, USA, 2006.
- [14] Georgi M., Voerkelius S., Rossmann A., Graßmann J., Schnitzler W.H.: Multielement isotope ratios of vegetables from integrated and organic production. *Plant and Soil*, 2005, **275**, 93-100.
- [15] Hübner H.: Isotope effects of nitrogen in the soil and biosphere. In *Handbook of Environment* Eds. P. Fritz and J. C. Fontes. Elsevier Science Publisher, Amsterdam 1986, pp. 361-425.
- [16] Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Fertiliser Recommendations for Agricultural and Horticultural Crops. (RB 209) The Stationery Office: London, UK, 2000.
- [17] Molzentin J., Giesemann A.: Differentiation of organically and conventionally produced milk by stable isotope and fatty acid analysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **388**, 297-305.
- [18] Nakano A., Uehara Y., Yamauchi A.: Effect of organic and inorganic fertigation on yields,  $\delta^{15}\text{N}$  values, and  $\delta^{13}\text{C}$  values of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Saturn). *Plant and Soil*, 2003, **255**, 343-349.
- [19] Ogrinc N., Košir I.J., Spangenberg J.E., Kidrič J.: The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit Juices and olive oil. A review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, **376**, 424-430.
- [20] Rapisarda P., Calabretta M.L., Romano G., Intrigliolo F.: Nitrogen metabolism components as a tool to discriminate between organic and conventional citrus fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 2664-2669.
- [21] Rogers K.M.: Nitrogen isotopes as a screening tool to determine the growing regimen of some organic and nonorganic supermarket produce from New Zealand. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 4078-4083.
- [22] Schmidt O., Quilter J.M., Bahar B., Moloney A.P., Scrimgeour C.M., Begley I.S., Monahan F.J.: Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis. *Food Chem.*, 2005, **91**, 545-545.
- [23] Šturm M., Kacjan-Maršič N., Lojen S.: Can  $\delta^{15}\text{N}$  in lettuce tissues reveal the use of synthetic nitrogen fertiliser in organic production? *J. Sci. Food Agric.*, 2011, **91**, 262-267.
- [24] Wierzchnicki R.: Żywność pod kontrolą izotopową. *Przem. Spoż.*, 2008, **6**, 39-41.

- [25] Woese K., Lange D., Boess C., Bogl K.W.: A comparison of organically and conventionally grown foods. Results of a review of the relevant literature. *J. Sci. Food Agric.*, 1997, **74**, 281-293.
- [26] Vitòria L., Otero N., Soler A., Canals A.: Fertilizer characterization: isotopic data (N, S, O, C, and Sr). *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 3254-3262.
- [27] Yoneyama T., Omata T., Nakata S., Yazaki J.: Fractionation of nitrogen isotopes during the uptake and assimilation of ammonia by plants. *Plant Cell Physiol.*, 1991, **32**, 1211-1217.
- [28] Yun S.I., Ro H.M., Choi W.J., Chang S.X.: Interactive effects of N fertilizer source and timing of fertilization leave specific N isotopic signatures in Chinese cabbage and soil. *Soil Biol. Biochem.*, 2006, **38**, 1682-1689.

### APPLYING DETERMINED RATIOS OF STABLE ISOTOPES RATIOS IN SELECTED ELEMENTS TO EVALUATE AUTHENTICITY OF ORGANICALLY GROWN PRODUCTS

#### S u m m a r y

In the paper, the current state of research is presented with reference to carbon and nitrogen stable isotopes ratios ( $\delta$ ) in various food products (vegetables, fruits, meat, and milk) produced using conventional and organic farming methods. The  $\delta$  value denotes an amount of heavy and light isotopes in a sample. The  $\delta^{15}\text{N}$  value in vegetables and fruits is affected, among other thing, by a soil and fertigation type, as well as by a farming method used previously in the field. The methods consisting in the determination of  $\delta^{15}\text{N}$  or  $\delta^{13}\text{C}$  values can be a useful tool to distinguish between organic and conventional food products; though, this principle does not involve all food products.

**Key words:** isotopes,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$ , organic farming, and authenticity of products 