

基于稳定同位素比值鉴别鱼翅干制品的品质

冼燕萍^{1,2}, 罗海英¹, 郭新东¹, 吴玉銮¹, 罗东辉¹, 董浩¹

(1. 广州市质量监督检测研究院, 广东广州 510110) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 建立了基于元素分析-同位素比值质谱联用技术 (EA-IRMS) 分析鉴别鱼翅干制品品质的方法。在测定真鱼翅干制品的稳定碳、氮同位素组成的基础上, 获得了真鱼翅干制品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 $\delta^{15}\text{N}$ 值区间, 通过对比待测样品与真鱼翅样品之间的差异, 进而对待测样品进行真假鉴别。利用本方法共测定了 24 份鱼翅样品的碳氮同位素比值, 结果发现: 真鱼翅和假鱼翅的碳氮同位素比值有着显著差别, 真鱼翅样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值分别分布在 -16.553‰~11.065‰和 8.803‰~19.122‰之间; 而假鱼翅样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值范围分别为 -18.122‰~16.507‰和 6.253‰~7.313‰。通过碳氮同位素比值这两个指标的综合判定, 得到 24 个鱼翅样品中有 11 个假鱼翅样品。该方法可简便、快速地鉴别鱼翅干制品的品质, 同时可弥补 PCR 检测技术无法判断用鲨鱼下角料压模而成的鱼翅干制品的局限性。

关键词: $\delta^{13}\text{C}$ 值; $\delta^{15}\text{N}$ 值; 鱼翅干制品; 掺假掺伪

文章编号: 1673-9078(2014)6-289-293

Identification of the Quality of Dried Shark Fins Products Based on Stable Isotope Ratio

XIAN Yan-ping^{1,2}, LUO Hai-ying¹, GUO Xin-dong¹, WU Yu-luan¹, LUO Dong-hui¹, DONG Hao¹

(1. Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510110, China)

(2. School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: By determining stable carbon and nitrogen isotope composition of large quantities of real dried shark fins products, the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ value scopes were obtained. The samples can be identified by the comparison of carbon, nitrogen isotope compositions between real shark fins products and them. The carbon and nitrogen isotope ratios of 24 dried shark fins products were determined by element analyzer- isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS). Obvious difference in carbon and nitrogen isotope ratios was between real dried shark fins products and fake ones. The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of real shark fins products ranged from -16.553‰ to -11.065‰ and 8.803‰ to 19.122‰, respectively, while those of fake shark fins products ranged from -18.122‰ to -16.507‰ and 6.253‰ to 7.313‰. Eleven samples were distinguished as fake shark fins products from all the 24 samples by the comprehensive judgment of the two indicators. This method is fast and convenient, and can be used to evaluate the quality of dried shark fin products. In addition, for those fake dried shark fins products made by leftover material of shark, which cannot be judged by PCR technique, this method can be applied to clearly differentiate real dried shark fins products with them, thus can remedy the defect of PCR method.

Key words: $\delta^{13}\text{C}$ value; $\delta^{15}\text{N}$ value; dried shark fins products; adulteration

鱼翅干制品具有很高的营养价值, 其主要成分是蛋白质, 且其中的必需氨基酸含量超过氨基酸总量的 20%^[1-2]。批发市场上出售的鱼翅干制品一般分为两种: 真鱼翅和人工合成翅, 两者之间的价格差别很大, 一般从几千元到几十元不等, 巨大的利润差异使得一

些不法商贩利用假鱼翅冒充真鱼翅, 从中牟取暴利, 这种行为不仅威胁着消费者的健康和利益, 也严重损害了正常的市场秩序^[3-4]。因此, 建立快速、有效的鱼翅干制品的真假鉴别方法显得尤为重要。

目前, 关于鱼翅干制品的真假鉴别方法研究正处于起步阶段, 除了靠行内专家通过眼看、手摸、口尝的方法对鱼翅进行鉴别外, 其他方法都还不太成熟。国外对于鱼翅的种类鉴别主要使用 PCR、实时荧光 PCR 等相关技术^[5-10]。近年来, 我国的一些学者也在尝试使用 PCR 等检测方法对鱼翅种类进行鉴别研究, 郭云霞^[11-12]等就曾采用 PCR 和实时荧光 PCR 等技术

收稿日期: 2014-04-17

基金项目: 国家质检总局科技计划项目 (2013QK278)

作者简介: 冼燕萍 (1975-), 女, 硕士研究生, 高级工程师, 主要从事食品安全分析技术研究

通讯作者: 郭新东 (1976-), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为食品及食品相关产品分析技术

建立了食品中鲨鱼源性成分真实性检测方法, 该技术可用于食品中是否含有鲨鱼源性成分的快速筛查; 本课题组也开展过相关研究, 主要对鱼翅中的鲨鱼成分进行检测鉴定开发了一种快速灵敏的 PCR 检测方法, 该方法可用于检测鱼翅类食品中是否存在鲨鱼成分^[13], 但是由于 PCR 技术一般仅用于鲨鱼种类的确认, 对于鱼翅干制品的真假鉴别则不太适用, 此外, 对于利用鲨鱼等下角料制成的仿鱼翅, DNA 的一致性也使 PCR 技术在这类假鱼翅干制品的真实性鉴别中出现失真的缺陷。

本研究通过测定鱼翅干制品的稳定碳、氮同位素比值, 对比真鱼翅样品与待测样品间的差异, 建立了利用同位素比值快速鉴别鱼翅干制品的方法。结果表明本研究建立的利用同位素比值快速鉴别鱼翅干制品的方法方便快捷、准确性高, 可以弥补 PCR 检测技术无法判断由鲨鱼下角料压模成的鱼翅干制品的局限性, 可为鱼翅干制品的真假鉴别提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器、试剂

配置自动进样器的元素分析仪 (Flash 2000 EA)、

表 1 鱼翅干制品样品信息

Table 1 Sample information of dried shark fins products

分类	编号	鱼翅名称	鱼鳍部位
真鱼翅干制品	1~3	白青翅	背鳍、尾鳍、臀鳍
	4~6	天九翅	背鳍、尾鳍、臀鳍
	7~9	群翅	背鳍、尾鳍、臀鳍
	10~13	黄肉翅	胸鳍、背鳍、尾鳍、臀鳍
待观察鱼翅干制品	14~22、25~27、29~35、37	未知鱼翅	未知部位
	23、24、28、36	素鱼翅	/

1.3 测试条件

EA-IRMS 条件: 燃烧反应温度为 970 °C, 烘箱温度为 50 °C, 氦气流速为 120 mL/min, 色谱柱为分子筛柱, 同位素质谱进行样品测定时, 每个样品的分析起始阶段通入参考气进行系统稳定性评价, CO₂ 和 N₂ 参考气的标准偏差应分别不高于 0.06‰ (n=10) 和 0.08‰ (n=10)。待仪器调试稳定后进行样品的测试。

1.4 标准物质校准

经参考气平衡后, 样品正式测试前仪器还需要标准物质进行校准。本文选取酪蛋白为碳、氮同位素检测的标准物质 ($\delta^{13}\text{C}=-26.980\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N}=+5.940\text{‰}$), 并确定标准物质的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 检测值分别为 -26.980‰

同位素质谱仪 (DELTA V PLUS IRMS), EA-IRMS 用于测定鱼翅干制品中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值, EA 和 IRMS, 均购置于美国 Thermo Fisher 公司; Milli-Q 去离子水发生器, 美国 Millipore 公司; LD5-2A 型低速离心机, 北京京立离心机有限公司; Allegra X-22R Centrifuge 高速离心机, 美国 Beckman 公司; DKZ-3 涡旋振荡器, 德国 IKA 公司; N-EVAP112 水浴氮吹仪, 美国 OA 公司; BGZ-240 型鼓风干燥箱, 上海博讯实业有限公司; 锡杯 (3 mm×2 mm×5 mm), 美国 Element Microanalysis 公司。

酪蛋白标准品 ($\delta^{13}\text{C}=-26.980\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N}=+5.940\text{‰}$), 购自美国商务部标准与技术研究所; 盐酸, 优级纯, 美国 Agilent 公司, 使用时配制成 6 mol/L 和 0.02 mol/L 的盐酸溶液。

1.2 样品制备

真鱼翅干制品样品由行业商会提供 (共 13 份, 编号为 1~13), 其余样品均购自广州各市场 (共 24 份, 编号为 14~37), 样品信息见表 1。

样品制备方法: 选取平整干净的样品, 用粉碎机粉碎, 然后对应装于样品袋中, 待测。

$\pm 0.150\text{‰}$ (n=10) 和 $+5.940\text{‰} \pm 0.200\text{‰}$ (n=10) 之后方可进行样品的检测。每个样品平行测定 5 次并取平均值, 在测试过程中如果两次测定值的偏差大于 0.200‰, 则分析测试要重新进行。稳定性碳、氮同位素比率分别用 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 表示。 $\delta^{13}\text{C}$ 值的计算是基于一个国际标准物质 -Vienna Pee Dee Belemnite Standard (VPDB), 而 $\delta^{15}\text{N}$ 的相对标准为 Air。采用脲蛋白标准品标定 CO₂ 和 N₂ 参考气的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值后, 所测试鱼翅样品分别以 CO₂ 和 N₂ 参考气的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行换算。

1.5 稳定碳、氮同位素比值测定方法

同位素质谱进行样品测定时, 样品的分析起始阶段通入参考气进行系统稳定性评价, 仪器调试稳定后,

进行样品的测定。具体测定方法如下：称取适量样品于锡杯中，用镊子密封包装，后移至自动进样器进行上机测定。碳、氮同位素比值分别测定，且在测量过程中，每个样品平行测定5次并取平均值作为最后结果。稳定碳、氮同位素比率分别用 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 表示， $\delta^{13}\text{C}$ 的相对标准为V-PDB， $\delta^{15}\text{N}$ 的相对标准为Air。计算公式为：

$$\delta (\text{‰}) = (\text{R}_{\text{样品}}/\text{R}_{\text{标准}} - 1) \times 1000\text{‰}$$

注：其中R为重同位素与轻同位素丰度比，即 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 和 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 。

2 结果与讨论

2.1 标准物质的测定

按照1.3节的条件测试酪蛋白标准品的碳、氮同位素组成，标准图谱见图1。

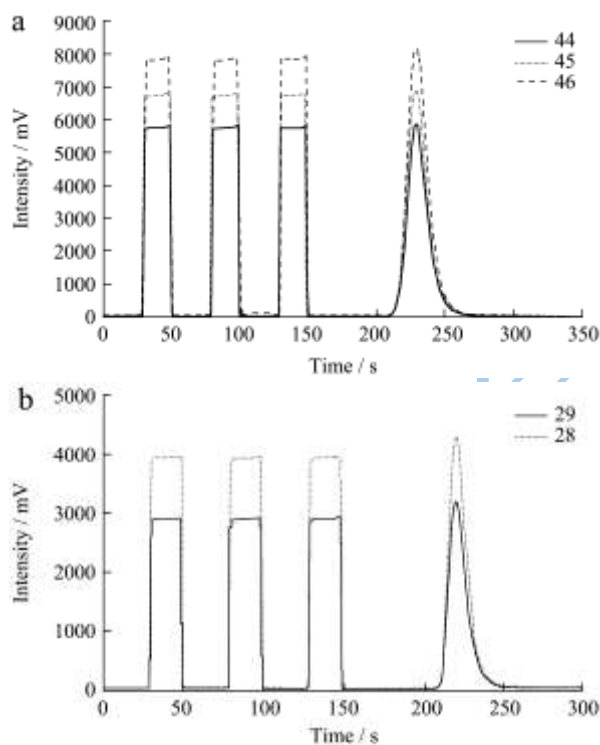


图1 酪蛋白的C、N同位素测试标准图谱

Fig.1 Standard chromatograms of casein

注：其中a：C同位素；b：N同位素，28、29、44、45、46分别为 $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}^{14}\text{N}$ 、 $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ 、 $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ 和 $^{14}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$ 的质量数

如图1所示，图1中(A)为酪蛋白的碳同位素测试标准图谱，其中30~150s之间出现的为3个 CO_2 参考气体的峰，200~300s之间出现的为标准品测试峰。图1中(B)为酪蛋白的氮同位素测试标准图谱，其中30~150s之间出现的为3个 N_2 参考气体的峰，200~300s之间出现的为酪蛋白标准品的N同位素测

试峰。在碳、氮同位素的实际测试过程中，待测样品的响应强度(Intensity)与样品的测试量成正相关，因此，可通过调整标准品、样品的称量重量，使得其测试响应强度与参考气响应强度大致接近，从而最大限度地减少同位素比值测试过程中的同位素分馏作用，确保测试结果准确。

2.2 鱼翅干制品稳定碳同位素组成分析

Stefaan^[14]等研究发现：动物组织中的碳同位素组成主要与其所吃食物的种类密切相关。从食物链的角度来说，鲨鱼或鳐鱼等的食物来源，必然含有植物这一链级。所以，由鲨鱼或鳐鱼等的鱼鳍部位(组织)加工而成的鱼翅干制品，其碳同位素组成在一定程度上可由处于相应鲨鱼或鳐鱼食物链上的植物来表征。而事实上，植物中的碳同位素组成与植物的光合碳代谢途径等有关，根据植物固定 CO_2 的方式可将其分为C-3、C-4和CAM植物，不同种类植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在很大差异。C-3途径相关植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的范围在-33‰~-20‰之间，以-27±2‰范围内出现的频度最高；C-4途径相关植物其 $\delta^{13}\text{C}$ 值范围为-20‰~-10‰之间，-13±2‰范围内出现的频度最高；CAM途径相关植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化范围较宽，在-38‰~-13‰之间，平均值为-17±2‰，介于C-3植物与C-4植物之间^[15-16]。本研究测定了13个真鱼翅干制品和24个未知鱼翅干制品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值，结果见图2。

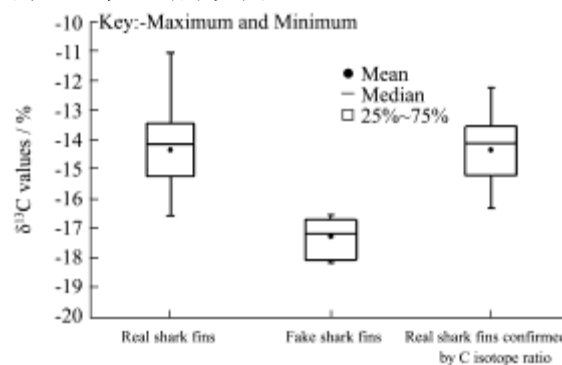


图2 鱼翅样品 $\delta^{13}\text{C}$ 值的分布

Fig. 2 Distribution of $\delta^{13}\text{C}$ values of shark fins samples

从图2可以看出，真鱼翅干制品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值范围介于-16.553‰和-11.065‰之间，平均值为-14.339‰。待测样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值可明显分为两个区间，分别为-18.122‰~-16.507‰和-16.288‰~-12.255‰。同时还可以发现，真鱼翅样品及判定为假鱼翅的样品，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值均在C-4植物的范围内，因此，仅仅以C-3和C-4植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值界限根本无法进行鱼翅的真假鉴别。经过进一步对比发现，由于-16.553‰小于-16.288‰、-11.065‰大于-12.255‰，因此，通过 $\delta^{13}\text{C}$ 值这一指标，

可判定区间在-16.288‰~-12.255‰之间的鱼翅干制品为真鱼翅。从图2中也可明显看出，-18.122‰~-16.507‰这一区间和真鱼翅样品的分布区间(-16.553‰~-11.065‰)仅存在一小部分交集，因此除去样品26号($\delta^{13}\text{C}$ 值~-16.553‰)，其余在这个区间的样品均可判定为假鱼翅样品(20、21、22、25、29和30号样品， $\delta^{13}\text{C}$ 值分别为-17.266‰、-16.982‰、-18.021‰、-17.155‰、-18.122‰和-16.678‰)。然而，事实上，23、24、28、36号样品均为人工合成翅(素鱼翅，其加工制备方法可参考文献17)^[17]，但其 $\delta^{13}\text{C}$ 分别为-16.288‰、-14.768‰、-13.846‰和-14.694‰，均介于真鱼翅的 $\delta^{13}\text{C}$ 值区间范围内。因此，利用 $\delta^{13}\text{C}$ 值并不能有效区分素鱼翅。对于此类鱼翅，本课题组的前期研究^[13]中曾利用PCR方法对其进行了有效的鉴别。

2.3 鱼翅干制品稳定氮同位素组成分析

不同于碳同位素组成，动物体中氮同位素组成受其食物源和新陈代谢两方面的因素影响。呼吸过程导致相当大的氮同位素分馏，使氮同位素的富集度为3‰~4‰。本研究利用EA-IRMS测定了13个真鱼翅干制品和24个未知鱼翅干制品的 $\delta^{15}\text{N}$ 值，结果见图3。

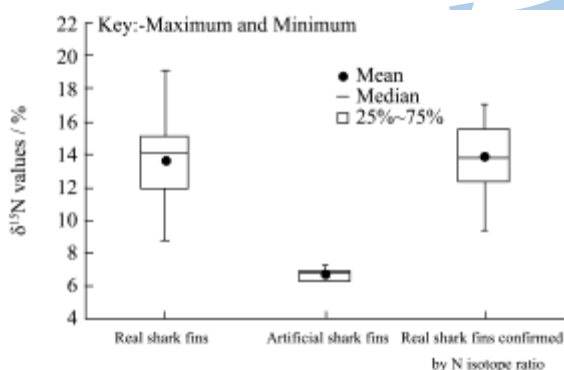


图3 鱼翅样品 $\delta^{15}\text{N}$ 值的分布

Fig.3 Distribution of $\delta^{15}\text{N}$ values of shark fins samples

从图3中可以看出，真鱼翅干制品的 $\delta^{15}\text{N}$ 值范围介于8.803‰和19.122‰之间，平均值为13.769‰。待测样品的 $\delta^{15}\text{N}$ 值可明显分为两个区间，分别为6.253‰~7.313‰和9.424‰~16.306‰。通过比较发现，利用 $\delta^{15}\text{N}$ 值这一指标，可判定区间在6.253‰~7.313‰之间的鱼翅干制品(23、24、28和36号样品)为假鱼翅，事实上这4个样品属于通过 $\delta^{13}\text{C}$ 值无法鉴别真假的素鱼翅。从图3中也可明显看出，其余20个待测鱼翅样品的 $\delta^{15}\text{N}$ 值的范围9.424‰~16.306‰处于真鱼翅样品的分布区间(8.803‰~19.122‰)之内，因此，单从 $\delta^{15}\text{N}$ 值这一指标来说，可把该20个鱼翅样品归

结为真鱼翅样品。由此可见，综合 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值，可判定24个待测鱼翅制品中有11个为假鱼翅制品，分别为20~25、28~30和36号。本研究曾使用本课题组建立的基于DNA鉴别的PCR检测方法^[14]对37个样品进行了鉴别，其中20~22、25、26、29和30号样品也提出了鲨鱼的DNA，而且外形与真鱼翅样品极为相似。据了解，市场上有利用鲨鱼等下角料打成粉，并与琼脂等混合做成的仿鱼翅，与真鱼翅干制品外形极为相似，由于样品中均含有鲨鱼的成分，因此并不能通过PCR方法对此类别的鱼翅样品进行有效地鉴别。所以说，利用稳定碳、氮同位素组成鉴别鱼翅真假，弥补了PCR检测技术无法判断由鲨鱼下角料压模成的鱼翅干制品的局限性。

3 结论

本研究创新性地把元素分析-同位素比值质谱联用技术(EA-IRMS)应用于鱼翅干制品的真假鉴别。在测定大量鱼翅干制品的稳定碳、氮同位素组成的基础上，最终获得真鱼翅干制品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 $\delta^{15}\text{N}$ 值区间，通过对比待测样品与真鱼翅样品之间的差异，进而对待测样品进行真假鉴别。利用这些指标的综合评价，可快速、便捷地鉴别鱼翅干制品的品质和真假。

参考文献

- [1] 黄文胜,韩建勋,董洁,等.FINS方法鉴定鱼翅和鲨鱼软骨的鲨鱼种类[J].食品科技,2011,36(11):265-271
HUANG Wen-sheng, HAN Jian-xun, DONG Jie, et al. Species identification of shark fins and cartilages with FINS method [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(11): 265-271
- [2] 郭云霞,冒海琳,张舒亚,等.鱼翅的分类及鉴别方法[J].食品工业,2011(6):96-99
GUO Yun-xia, MAO Hai-lin, ZHANG Shu-ya, et al. Classification and identification of shark fin [J]. Food Industry, 2011(6): 96-99
- [3] 徐凤香,高昕,李昭勇,等.鱼翅营养成分提取及定性分析[J].食品工业科技,2007,28(1):225-227
XU Feng-xiang, GAO Xin, LI Zhao-yong, et al. Nutrients extraction and qualitative analysis of shark's fin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 28(1): 225-227
- [4] 鲍伦军,杨建成,何振华,等.鱼翅中硫酸软骨素的酶解-高效液相色谱法测定[J].分析测试学报,2002,21(5):59-61
BAO Lun-jun, YANG Jian-cheng, HE Zhen-hua, et al. Determination of chondroitin sulfate in shark's fins by enzymolysis-HPLC [J]. Journal of Instrumental Analysis,

- 2002, 21(5): 59-61
- [5] Shelley C Clarke, Jennifer E Magnussen, Debra L Abercrombie, et al. Identification of shark species composition and proportion in the Hong Kong shark fin market based on molecular genetics and trade records [J]. *Conservation Biology*, 2006, 20(1): 201-211
- [6] Aranishi F, Okimoto T, Izumi S. Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP analysis [J]. *J. Appl. Genet.*, 2005, 46(1): 69-73
- [7] Blanco M, Pérez-Martín RI, Sotelo CG. Identification of shark species in seafood products by forensically informative nucleotide sequencing (FINS) [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56(21): 9868-9874
- [8] Teletchea F, Maudet C, Hänni C. Food and forensic molecular identification: update and challenges [J]. *Trends Biotechnol.*, 2005, 23(7): 359-366
- [9] Woolfe M, Primrose S. Food forensics: using DNA technology to combat misdescription and fraud [J]. *Trends Biotechnol.*, 2004, 22(5): 222-226
- [10] Yancy Haile F, Zemlak Tyler S, Mason Jacqueline A, et al. Potential use of DNA barcodes in regulatory science: applications of the regulatory fish encyclopedia [J]. *J. Food Prot.*, 2008, 71(1): 210-217
- [11] 郭云霞,包建强,张舒亚,等. 食品中鲨鱼源性成分真实性 PCR 鉴别研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(10): 421-424
GUO Yun-xia, BAO Jian-qiang, ZHANG Shu-ya, et al. Study on the authentication of shark derived material in food using PCR [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 32(10): 421-424
- [12] 郭云霞,张舒亚,谌鸿超,等. SYBR Green 实时荧光 PCR 检测食品中鲨鱼源性成分真实性方法的建立[J]. *食品与生物技术学报*, 2012, 31(12): 1300-1306
GUO Yun-xia, ZHANG Shu-ya, ZHAN Hong-chao, et al. Authentication of shark derived material in food using SYBR green fluorescence real-Time PCR [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2012, 31(12): 1300-1306
- [13] 覃芳芳,王德莲,罗海英,等. 鱼翅类食品中鲨鱼成分 PCR 鉴定方法研究[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(4): 274-278
QIN Fang-fang, WANG De-lian, LUO Hai-ying, et al. Identification of shark fins in food with PCR method [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(4): 274-278
- [14] Stefaan De Smet, An Balcaen, Erik Claeys, et al. Stable carbon isotope analysis of different tissue of beef animal in relation to their diet [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, 18: 1227-1232
- [15] 罗东辉,罗海英,洗燕萍,等. 同位素质谱联用技术鉴别无蛋白蜂蜜的真实性[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(7): 862-866
LUO Dong-hui, LUO Hai-ying, XIAN Yan-ping, et al. Identification the authenticity of no protein honey by IRMS [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(7): 862-866
- [16] 罗海英,罗东辉,洗燕萍,等. 碳-4 植物糖超标蜂蜜样品的多维分析[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(8): 1989-1993
LUO Hai-ying, LUO Dong-hui, XIAN Yan-ping, et al. Multidimensional analysis of honey samples with excessive amounts of C-4 plant sugar [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(8): 1989-1993
- [17] 邓瑞群,苏祥嘉,潘杰飞,等. 仿鱼翅的研制[J]. *食品科学*, 2001, (7): 44-47
DENG Rui-qun, SU Xiang-jia, PAN Jie-fei, et al. Preparation of imitation shark fins [J]. *Food Science*, 2001, (7): 44-47