

DNA 检测技术在鳕鱼及其制品鉴定中的应用

郭 淼, 索一平, 毕思丹, 郭晶晶, 杨文炼, 张熙雅, 巴冬梅, 王婧媛, 蔡雪凤*

(北京市食品安全监控和风险评估中心(北京市食品检验所), 北京 100094)

摘 要: 鳕鱼是经济价值高和营养价值高的重要食用鱼类, 但由于市场上鱼类俗名混乱问题, 以及不同鱼种之间价值的巨大差异, 错误标识鳕鱼产品或以次充好的现象时有发生, 有可能因为含有过敏原成分或有毒成分造成食品安全风险。因此, 需要快速可靠的鳕鱼成分鉴定方法和来保障市场监管。目前, 鳕鱼及其制品的鉴定方法主要为 DNA 检测技术。本文主要介绍了 DNA 指纹图谱限制性片段长度多态性聚合酶链反应(cleaved amplification polymorphism sequence-tagged sites, PCR-RFLP)技术、DNA 条形码技术、环介导等温扩增技术和实时荧光定量 PCR 技术的原理、优缺点、在鳕鱼及其制品鉴定中的应用, 最后讨论了鳕鱼及其制品鉴定方法的发展趋势和监管建议。

关键词: 鳕鱼; 成分鉴定; 限制性片段长度多态性聚合酶链反应技术; DNA 条形码技术; 环介导等温扩增技术; 实时荧光定量 PCR 技术

Application of DNA-based methods for the identification of cod fish and its products

GUO Miao, SUO Yi-Ping, BI Si-Dan, GUO Jing-Jing, YANG Wen-Lian, ZHANG Xi-Ya,
BA Dong-Mei, WANG Jing-Yuan, CAI Xue-Feng*

(Beijing Municipal Center for Food Safety Monitoring and Risk Assessment
(Beijing Institute for Food Control), Beijing 100094, China)

ABSTRACT: Cod fish is an important edible fish with high economic value and high nutritional value. However, due to the confusion of common names of fish in the market and the huge difference in value between different fish species, there are some reports of cod fish products mislabeling or selling seconds at best quality price, and food safety risk may be caused by allergen or toxic ingredients. Therefore, fast and reliable identification methods are needed to ensure market supervision. At present, DNA-based methods are mainly identification methods of cod fish and products. This paper introduced the principles, advantages and disadvantages of cleaved amplification polymorphism sequence-tagged sites (PCR-RFLP), DNA barcoding, loop-mediated isothermal amplification and quantitative real-time PCR in cod fish and products species identification. Finally, the perspectives and supervisory suggestion of this field were discussed.

KEY WORDS: cod fish; identification of constituents; cleaved amplification polymorphism sequence-tagged sites;

基金项目: 中国普通人群食物过敏流行病学调查及临床诊断标准研究项目(2019YFC1605001)

Fund: Supported by the Epidemiological Survey of Food Allergy in the General Population of China and Study of Clinical Diagnostic Criteria Program(2019YFC1605001)

*通讯作者: 蔡雪凤, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品微生物学检测、分子生物学检测。E-mail: caixuefeng@mail.beijing.gov.cn

*Corresponding author: CAI Xue-Feng, Master, Engineer, Beijing Municipal Center for Food Safety Monitoring and Risk Assessment(Beijing Institute for Food Control), No. 17, Fengde East Road, Yongfeng Industrial Base, Haidian District, Beijing 100094, China. E-mail: caixuefeng@mail.beijing.gov.cn

DNA barcoding; loop-mediated isothermal amplification; quantitative real-time PCR

1 引 言

鲑鱼,通常指属于鲑形目(*Gadiformes*)的鱼类,广泛分布于世界各大洋。鲑鱼品种非常丰富,鲑形目下包括 3 亚目 12 个科 85 属 480 余种^[1],其中鲑科(*Gadidae*)和无须鲑科(*Merlucciidae*)具有许多经济价值极高的世界级重要经济鱼类^[2,3]。鲑科中鲑鱼属(*Gadus*)鱼类俗称真鲑鱼,分别为太平洋鲑鱼(*Gadus macrocephalus*)、大西洋鲑鱼(*Gadus morhua*)、格陵兰鲑鱼(*Gadus ogac*)、阿拉斯加绿青鲑(*Gadus chalcogrammus*)^[4,5]。鲑科中还包括黑线鲑属(*Melanogrammus*)、黑线鲑鱼(*Melanogrammus aeglefinus*)、蓝鲑属(*Micromesistius*)、蓝鲑(*Micromesistius poutassou*)、青鲑属(*Pollachius*)、青鲑(*Pollachius pollachius*)等重要鱼种。无须鲑科包括欧洲无须鲑(*Merluccius merluccius*)、北太平洋无须鲑(*Merluccius productus*)等重要鱼种。鲑鱼肉质鲜美,营养丰富,是低脂肪、低热量食品,适合幼儿食用^[6]。鲑鱼制品有冷冻鱼片、鱼排、鱼肠等,鲑鱼肝还可作为提取鱼肝油的原料^[7,8]。

由于鲑鱼常经过切片加工后,制品单从感官特点很难分辨其捕捞海域、来源和种类,同时因俗名混乱问题,一些价格相对低廉地其他鱼类被冠以“龙鲑鱼”“马加鲑”等名义出售,造成以次充好或标识错误问题时有发生^[9]。从 2009 年开始,全国多个城市都出现过将“油鱼”棘鳞蛇鲭(*Ruvettus pretiosus*)和异鳞蛇鲭(*Lepidocybium flavobrunneum*)冠以“鲑鱼”的名字贩卖,误导消费者购买食用并导致出现排油腹泻的报道,有些国家和地区已对该 2 种鱼类的出售、定名和食用制定规定或提出建议^[10,11]。而目前除香港地区外,国内尚未出台针对鲑鱼命名市场规范准则,严重影响了鲑鱼市场价格体系和消费者的权益及信任,并有可能因为含有过敏原成分或有毒成分造成食品安全风险。

随着分子生物学检测技术的发展,DNA 检测技术已成为食品分析中物种鉴定的重要检测方法^[12-14]。对于鲑鱼及其制品的鉴定,传统形态学鉴定方法存在形态相近鉴定困难、无法对失去形态结构的加工产品进行鉴定的缺点^[15],而 DNA 检测技术基于 DNA 的稳定性和具有的遗传信息,以 PCR 反应为基础,具有特异性强、灵敏度高的优点^[16,17]。本文针对不同 DNA 检测技术在鲑鱼及其制品鉴定中的应用、检测特点进行分析,并对发展趋势进行展望,以期鲑鱼及其制品鉴定提供技术支撑。

2 DNA 检测技术在鲑鱼及其制品鉴定中的应用

2.1 DNA 指纹图谱技术

DNA 指纹图谱技术中的 PCR-RFLP 技术,即聚合酶

链式反应限制性片段长度多态分析技术,已成为鱼类物种鉴定应用中一个重要的方法。其主要步骤是设计特异性 PCR 引物,扩增某一特定 DNA 序列;然后利用具有能识别特异性限制性位点的内切核酸酶,切割 DNA 扩增片段,从而产生不同大小的 DNA 片段;再通过琼脂糖凝胶电泳分离不同的片段,观察比较限制性图谱来分析序列之间的差异,达到区分不同物种的目的^[18-20]。

Aranishi 等^[21]使用 PCR-RFLP 技术,设计了鲑鱼物种通用引物 TR-14F 和 TR-571R,用于 PCR 扩增编码线粒体细胞色素 b 基因(*cyt b* 基因)的 558-bp 片段;用 *Eco321* 和 *Eco1051* 限制性酶对 PCR 产物进行双重消化,最终得到了特异性的限制性图谱,成功鉴定太平洋鲑鱼(*Gadus macrocephalus*)、大西洋鲑鱼(*Gadus morhua*)和狭鲑(*Theragra chalcogramma*)3 种具有较高经济价值的鲑鱼。

Finizio 等^[22]使用 PCR-RELF 技术,通过 16Sar 和 16Sbr 引物 PCR 扩增线粒体 16S rRNA 基因的约 630bp 片段;用 *MvaI* 或 *Bsh1285I* 限制酶消化 PCR 产物,然后通过琼脂糖凝胶电泳产生的限制性图谱,成功鉴定了大西洋鲑鱼(*Gadus morhua*)、狭鲑(*Theragra chalcogramma*)、蓝鲑(*Micromesistius poutassou*)、*Molva elongata*、*Phycis blennoides*、*Trisopterus minutus capelanus*、*Trisopterus minutus minutes*7 种鲑鱼。

PCR-RFLP 技术无需昂贵的测序仪器,具有操作简单、成本低、通量大的优点,在常规实验室即可检测。该方法的缺点是酶切不完全会对鉴定结果造成很大的影响;另外,为选择合适的限制性酶,需要大量不同个体的物种进行验证^[21,23]。

2.2 DNA 条形码技术

DNA 条形码技术(DNA barcoding)是由加拿大圭尔夫大学研究员 Paul Hebert 在 2003 年首次提出,是一种可对鱼类等动物物种进行准确、快速的鉴定方法。DNA 条形码技术使用通用引物对目标基因进行 PCR 扩增,测序获得样品的线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I(mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I, COI)基因序列,并与 DNA 条形码数据库(Bold、Fishbol 等)中序列进行对比,根据遗传距离或相似度确定样品的种属^[24]。

Wong 等^[25]应用 DNA 条形码技术,对北美洲东北部市场和餐厅中抽取的 96 种鱼和海鲜制品进行鉴定,检测出大西洋鲑鱼(*Gadus morhua*)、狭鲑(*Theragra chalcogramma*)、*Merluccius paradoxus*3 种类型的鲑鱼成分。Ferrito 等^[26]为了减少鱼类鉴定的分析时间,使用 DNA 条形码与 PCR-RFLP 方法组合进行分析,即使用通用引物对样品的 COI 基因进行 PCR 扩增,再使用 *HinfI* 酶切扩增产物进行电泳产生特异性图谱的方法,鉴定意大利市场上方

便食品中狭鳕(*Theragra chalcogramma*)、欧洲无须鳕(*Merluccius merluccius*)、北太平洋无须鳕(*Merluccius productus*)、*Merluccius paradoxus* 4 种类型的鳕鱼成分。

李新光等^[27]、王敏等^[28]应用 DNA 条形码技术, 分别对市场上随机抽取的冻鳕鱼片、烤鳕鱼片、鱼柳样品进行鉴定, 鉴定出大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)、格陵兰鳕鱼(*Gadus ogac*)、狭鳕(*Theragra chalcogramma*)、绿青鳕(*Pollachius virens*)等。在上述国内鳕鱼制品的检测鉴定中, 存在未检测出鳕鱼成分、与其食品标签不符的问题。

目前, DNA 条形码技术已被美国 FDA 用作鱼类鉴定的官方方法, 并在网站上提供了该方法的标准操作程序(standard operation procedure, SOP)和其他技术资料^[29]。

DNA 条形码技术具有检测范围广、操作简单、鉴定效率高等优点^[30], 特别适用于种类远多于其他生物鱼类鉴定^[31]。该方法的缺点是对于混合加工制品较难获得单一的 DNA 条形码片段, 增加结果分析的难度, 同时 DNA 条形码数据库仍需进一步扩充和完善^[31], 以满足更多鱼类物种成分的鉴定需求。

2.3 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是 Notomi 等发明的一种核酸检测技术, 其原理是 DNA 在 65 °C 左右的条件下, 通过内引物(forward inner primer, FIP)和外引物(backward inner primer, BIP)的作用, 针对靶基因的 6 个不同区域进行特异性识别, 使整条 DNA 链呈茎-环的哑铃状结构; 以哑铃状结构为模板, 恒温条件下进行循环扩增反应, 最后形成茎-环状 DNA 和花椰菜状 DNA 所组成的混合物。扩增反应结束后, 可使用琼脂糖凝胶电泳检测、浊度检测、荧光比色检测或荧光实时定量检测来测定结果^[32-35]。目前, 已广泛应用于动物源性成分的检测^[36,37]。

Saull 等^[38]基于大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)的 cyt b 基因设计出 4 对 LAMP 引物, 以大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)、太平洋鳕(*Gadus macrocephalus*)和阿拉斯加绿青鳕(*Gadus chalcogrammus*)的粗提取 DNA 为模板, 在 63 °C 下恒温扩增 60 min, 加热至 80 °C 持续 1 min 以终止反应。通过琼脂糖凝胶电泳检测, 大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)扩增产物形成具有特异性条带的电泳图, 而另外 2 种基因相似的鳕鱼未产生相应条带, 仅利用 LAMP 方法检测出大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)。

LAMP 技术具有特异性强、灵敏度高、反应时间短、恒温设备简单、核酸提取简便等优点^[39]。该方法的缺点是引物设计难度较大, 最终产物较难测序分析^[40,41], 使其应用于鳕鱼及其制品的鉴定存在一定难度。

2.4 实时荧光定量 PCR 技术

实时荧光定量 PCR 技术(quantitative real-time PCR,

qPCR)已成为鉴定鱼类物种的一种有效检测方法, 其原理是利用 PCR 技术, 扩增某物种 DNA 高度保守区的基因, 根据扩增产物的片段长度或实时荧光定量 PCR 的 Ct 值, 确定该物种成分。

Sánchez 等^[42]基于 TaqMan 技术和线粒体基因, 设计了欧洲无须鳕(*Merluccius merluccius*)的特异性引物 MMERCR4F、MMERCR5R 和探针 MMERCR 6TP, 通过对鳕形目(*Gadiformes*)、鲈形目(*Perciformes*)等具有代表性的 20 个样本和从当地不同市场购买的 31 个商业鳕鱼样品进行验证, 证明可有效检测鉴定出欧洲无须鳕(*Merluccius merluccius*)。

李富威等^[43]基于鳕科和无须鳕科中 12 种鳕鱼的 16S rRNA 基因保守序列设计了一对通用的 PCR 引物及探针, 对 12 种鳕鱼样品、71 种非鳕鱼动植物样品和 94 个市售鳕鱼产品进行了实时荧光 PCR 检测, 结果显示可以有效检测出太平洋鳕鱼(*Gadus macrocephalus*)、大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)、狭鳕鱼(*Theragra chalcogramma*)、黑线鳕鱼(*Melanogrammus aeglefinus*)、青绿鳕鱼(*Pollachius virens*)、蓝鳕鱼(*Micromesistius poutassou*)、青鳕鱼(*Pollachius pollachius*)、南鳕鱼(*Mutaenolepis microps*)、澳洲无须鳕鱼(*Merluccius australis*)、南非无须鳕鱼(*Merluccius capensis*)、阿根廷无须鳕鱼(*Merluccius hubbsi*)、北太平洋无须鳕鱼(*Merluccius productus*)12 种鳕鱼成分。

我国鳕鱼成分鉴定的标准或检测方法有 2 个, 均是基于实时荧光定量 PCR 技术。一是出入境检验检疫行业标准 SN/T 3589.7-2013《出口食品中常见鱼类及其制品的鉴别方法第 7 部分: 鳕鱼成分检测实时荧光 PCR 法》(2014-06-01 实施), 即使用李富威等^[43]设计的引物和探针, 形成了鳕鱼成分的实时荧光 PCR 法鉴定。二是国家市场监督管理总局于 2019 年发布的《鳕鱼及其制品中裸盖鱼、油鱼和南极犬牙鱼源性成分检测 BJS 201907》食品补充检验方法(2019 年第 9 号)^[44], 分别设计了鳕鱼及其制品中易混淆物种裸盖鱼(*Anoplopoma fimbria*)、油鱼(异鳞蛇鲭 *Lepidocybium flavobrunneum*、棘鳞蛇鲭 *Ruvettus pretiosus*)和南极犬牙鱼(小鳞犬牙南极鱼 *Dissostichus eleginoides*、鳞头犬牙南极鱼 *Dissostichus mawsoni*)成分的实时荧光 PCR 检测方法的特异性引物和探针, 可用于鳕鱼、鳕鱼片、鳕鱼扒等生鲜或速冻鳕鱼产品的检测。

林霖等^[45]利用 SN/T 3589.7-2013 对市场上常见类型的鳕鱼产品进行检测, 发现无法应用于抽取的全部产品, 对于标准方法未检出鳕鱼成分的产品使用 DNA 条形码技术鉴定为鳕形目长尾鳕科(*Macrouridae*)细鳞壮鳕(*Albatrossia pectoralis*), 该研究基于长尾鳕科 12S rRNA 序列设计出特异性引物和探针, 建立了长尾鳕科的实时荧光 PCR 检测方法, 为鳕鱼 DNA 成分标准检测方法提供补充。

荧光定量 PCR 技术具有特异性强、灵敏度高、操作

简便、耗时少、成本低等优点^[46], 既能用于定性检测, 还可以根据反应中的循环数 Ct 值与初始 DNA 模板浓度进行相对定量^[47]。但由于需建立标准曲线容易出现假阳性等因素, 其定量体系仍需进一步完善^[48]。

3 网络 DNA 信息资源在鳕鱼及其制品中的应用

3.1 鳕鱼 DNA 数据资源

鳕鱼及其制品的 DNA 检测鉴定依赖于 DNA 数据库的发展。目前, 生物 DNA 数据检索主要采用美国国立生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)维护的一级核酸序列数据库(Genbank)。除 NCBI Genbank 数据库外, 生命条形码数据库(consortium for the barcoding of life, CBOL)(<http://www.barcoding.si.edu>), 鱼类百科全书(regulatory fish encyclopedia, RFE), 鱼类溯源数据库(fishtrace database), AZTI-TECNALIA 数据库(<http://www.azti.es/dna>)也提供丰富的鱼类物种 DNA 数据资源^[49]。

3.2 鳕鱼鉴定中特征基因的选择

通过检索文献和标准方法, 鳕鱼及其制品 DNA 检测技术选择的特征基因主要集中在线粒体 COI 基因、cyt b 基因、12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因, 详见表 1。线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)作为生物体内的核外遗传物质, 具有进化速度快、结构简单、序列数据库信息丰富和严格母系遗传等特点, 是研究物种遗传、系统进化和分子鉴定的理想工具^[50-52]。已在鱼类物种鉴定研究中得到广泛应用^[53-55]。线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基I(COI 基因), 其基因 5'端 648 bp 的片段是 DNA 条形码技术的目标基因, 该基因具有 2 个重要的优势: (1)COI 基因的通用引物非常稳定; (2)相比其他线粒体基因, 具有更多的系统进化信息, 且进化速度快, 不仅能够区分出近源物种, 也能够分析出同一物种中的亲缘关系^[56-58]。线粒体细胞色素 b 基因(cyt b 基因), 具有

在种内个体间的序列差异很小, 而种间的序列差异较大的特点, 是研究动物的群体遗传结构和分子鉴定的理想标记序列^[59]。线粒体 12S rRNA、16S rRNA 是线粒体上的核糖体 RNA, 也被广泛应用于分类鉴定研究^[60,61]。

于 NCBI Genbank 数据库中查询基于水产科学及渔业信息系统 (Aquatic Sciences and Fisheries Information System, ASFIS) 分类的鳕形目 (*Gadiformes*) 中鳕科 (*Gadidae*)、无须鳕科 (*Merlucciidae*)、长尾鳕科 (*Macrouridae*)、*Muraenolepididae* 科、*Moridae* 科, 以及市场上常被冠以“鳕鱼”名称的黑鳕科(*Anoplopomatidae*)、南极鱼科(*Nototheniidae*)、真鲈科(*Percichthyidae*)、蛇鲭科(*Gempylidae*)共 197 个物种 DNA 信息, 线粒体 COI 基因、cyt b 基因、12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因资源丰富(见图 1), 可用于鳕鱼及其制品鉴定中 DNA 数据比较分析, 特异性引物探针设计等方面。

4 结语与展望

国内外利用 DNA 检测技术鉴定鳕鱼及其制品已经有了大量的研究, 这为判定市场标识错误或有意冒充提供了技术支持, 其中 DNA 条形码技术和实时荧光 PCR 技术已经作为鳕鱼成分鉴定的标准方法。DNA 条形码技术具有操作简便、可靠快捷、应用广泛等优势。实时荧光 PCR 技术可以针对鳕鱼特异性物种成分进行鉴定, 但要设计出应用范围广、特异性强的引物探针存在较大困难。此外, 鳕鱼及其制品的鉴定也面临着对于方法高通量、低成本、自动化的要求, 以及对于深加工产品、混合产品的鉴定、组分定量分析等多方面的挑战。快速、简便、高通量的实时荧光定量 PCR 芯片技术、微滴数字 PCR 技术、DNA 宏条形码技术已应用于食品检测中多种动物源性成分的鉴定研究^[62-68], 随着研究的深入和扩展这些技术都有可能用于检测鳕鱼及其制品, 以期建立准确的鉴定方法。

表 1 鳕鱼及其制品 DNA 检测技术特征基因选择
Table 1 Feature gene selection of DNA-based methods for the identification of cod fish and products species

特征基因	应用的检测技术	检测对象	参考文献
线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基I(COI)基因	DNA 条形码 PCR-RFLP	大西洋鳕鱼(<i>Gadus morhua</i>), 格陵兰鳕鱼(<i>Gadus ogac</i>), 狭鳕(<i>Theragra chalcogramma</i>), 绿青鳕(<i>Pollachius virens</i>), 欧洲无须鳕(<i>Merluccius merluccius</i>)等	[25,27,28,62]
线粒体细胞色素 b 基因(cyt b 基因)	PCR-RFLP LAMP qPCR	太平洋鳕鱼(<i>Gadus macrocephalus</i>), 大西洋鳕鱼(<i>Gadus morhua</i>), 狭鳕(<i>Theragra chalcogramma</i>), 棘鳞蛇鲭(<i>Ruvettus pretiosus</i>)和异鳞蛇鲭(<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>)等	[21,38,45]
线粒体 12S rRNA 基因	qPCR	细鳞壮鳕(<i>Albatrossia pectoralis</i>)	[46]
线粒体 16S rRNA 基因	PCR-RFLP qPCR	大西洋鳕鱼(<i>Gadus morhua</i>), 狭鳕(<i>Theragra chalcogramma</i>), 蓝鳕(<i>Micromesistius poutassou</i>)等	[22,44]
NADH ₂ 基因	qPCR	裸盖鱼(<i>Anoplopoma fimbria</i>)	[45]
CK 基因	qPCR	小鳞犬牙南极鱼(<i>Dissostichus eleginoides</i>)和鳞头犬牙南极鱼(<i>Dissostichus mawsoni</i>)	[45]

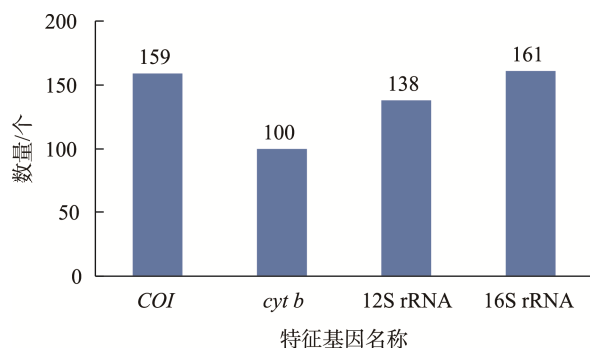


图 1 鳕鱼及相关鱼类线粒体 *COI*、*cyt b*、12S rRNA 和 16S rRNA 基因资源统计

Fig.1 Statistical analysis of mitochondrial *COI*, *cyt b*, 12S rRNA and 16S rRNA gene resources in cod fish and related fishes

鳕鱼的真伪鉴定是食品安全问题, 关乎消费者的利益和健康。建议采用以下 2 个方式, 对鳕鱼及其制品加强管理: (1)国内尽快出台统一的鳕鱼食品标示规范, 同时标注正确的学名和恰当的俗名, 以供消费者分辨食品信息, 可参考香港食品安全中心在 2007 年公布的《有关识别及标签油鱼鳕鱼的指引》, 将以“鳕鱼”或相近名称出售的棘鳞蛇鲭和异鳞蛇鲭的俗名定为“蜡油鱼”, 不可使用“鳕鱼”等其他俗名; 将鳕形目鱼类和俗称为“银鳕鱼”的裸盖鱼、“白鳕鱼”的小鳞犬牙南极鱼和鳞头犬牙南极鱼 3 种鱼类继续使用包含“鳕”字的俗名^[69]。(2)结合 DNA 检测技术和传统形态学鉴定手段, 完善国家标准体系检测方法, 对市场上的鳕鱼制品进行监管, 避免出现以低价鱼类冒充鳕鱼的情况, 以降低食品安全风险, 提升消费者信任度。

参考文献

- [1] 李明德. 鱼类分类学. 第 2 版[M]. 北京: 海洋出版社, 2011.
- [2] Li MD. Fish taxonomy. Second edition [M]. Beijing: Ocean Press, 2011.
- [3] 尹伟力, 方绍庆, 耿金培, 等. 鳕鱼物种特异性鉴定的 PCR 方法研究[J]. 动物医学进展, 2011, 32(2): 19–24.
- [4] Yin WL, Fang SQ, Geng JP, et al. Study on PCR method for species specific identification of COD [J]. Prog Anim Med, 2011, 32(2): 19–24.
- [5] Calo MP, Sotelo CG, Pérez MRI, et al. Identification of gadoid fish species using DNA-based techniques [J]. Eur Food Res Technol, 2003, 217(3): 259–264.
- [6] Walleye P. FDA market name: Pollock or Alaska pollock [EB/OL]. [2015-09-02].
www.fda.gov/food/foodscienceresearch/rfe/ucm091255.htm.
- [7] 佚名. 美国阿拉斯加绿鳕标示面临新要求[J]. 食品安全导刊, 2016, 3: 109.
- [8] Anonymous. New requirements for marking of US ALaskan green pollock [J]. Chin Food Saf Magaz, 2016, 3-1: 109.
- [9] 叶繁, 陈康, 陶美洁, 等. 5 种市售鳕鱼肠品质比较及风味分析[J]. 南方水产科学, 2019, 15(6): 96–104.
- [10] Ye F, Chen K, Tao MJ, et al. Comparison of quality and volatile components among five brands of cod sausages [J]. South Chin Fish Sci, 2019, 15(6): 96–104.
- [11] 刘超, 苗钧魁, 刘小芳, 等. 鳕鱼肝油的氧化稳定性及抗氧化性研究[J]. 青岛大学学报(自然科学版), 2015, (28): 49–52.
- [12] Liu C, Miao JK, Liu XF, et al. Study on the oxidation stability and oxidation resistance of cod liver oil [J]. J Qingdao Univ(Nat Sci Ed), 2015, (28): 49–52.
- [13] 万超, 蒋丹, 吕泉, 等. 太平洋无须鳕鱼及其制品的 PCR 鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(1): 71–75.
- [14] Wan C, Jiang D, Lv Q, et al. PCR identification of *Merluccius productus* and its products [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(1): 71–75.
- [15] 李栋. 揭秘鳕鱼市场乱象命名混乱缺乏标准品种不同价差十倍[J]. 广西质量监督导报, 2016, 7: 31–32.
- [16] Li D. Demystifying the disorder in the cod market: The problems are the chaotic naming and lack of standards, and the price difference could be a multiple of ten [J]. Guangxi Qual Super Guide, 2016, 7: 31–32.
- [17] 李建东. 同叫“鳕鱼”价格差别大[N]. 中国食品报, 2011-01-13(006).
- [18] Li JD. The price of the same name "cod" varies greatly [N]. China Food Newspaper, 2011-01-13(006).
- [19] 谭珊珊. 超市“鳕鱼”真假难辨[J]. 科学养生, 2012, 7: 12–13.
- [20] Tan SS. It is harder to distinguish between real cod and fake one in supermarket[J]. Sci Health, 2012, 7: 12–13.
- [21] Woolfe M, Primrose S. Food forensics: Using DNA technology to combat misdescription and fraud [J]. Trend Biotechnol, 2004, 22(5): 222–226.
- [22] Ardura A, Pola IG, Linde AR, et al. DNA-based methods for species authentication of amazonian commercial fish [J]. Food Res Int, 2010, 43: 2295–2302.
- [23] Rasmussen HRS, Naaum AM, Handy SM, et al. Interlaboratory evaluation of a real-time multiplex polymerase chain reaction method for identification of salmon and trout species in commercial products [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(3): 876–84.
- [24] 孙晓飞, 万超, 宋大贺, 等. 主要进出口经济鱼类及其制品分子鉴定技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(8): 1737–1742.
- [25] Sun XF, Wan C, Song DH, et al. Research progress on the molecular identification technology of main import and export economic fishes and their products [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(8): 1737–1742.
- [26] 张丽, 张良, 刘书成, 等. DNA 技术在海洋食品物种鉴定中的应用[J]. 遗传, 2010, 32(6): 555–560.
- [27] Zhang L, Zhang L, Liu SC, et al. DNA-based methods for identification of seafood species [J]. Hereditas, 2010, 32(6): 555–560.

- [17] Mafra I, Ferreira IM, Oliveira MB. Food authentication by PCR-based methods [J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 227: 649–665.
- [18] 陈双雅, 陈文炳, 张津, 等. 应用 PCR-RFLP 和芯片生物分析系统鉴别河豚鱼品种[J]. *食品科学*, 2012, 33(22): 200–202.
- Chen SY, Chen WB, Zhang J, *et al.* Identification of puffer species by PCR-RELP analysis and chip bio-analysis system [J]. *Food Sci*, 2012, 33(22): 200–202.
- [19] Caldelli A, Gigliarelli L, Bottinelli T, *et al.* PCR-RFLP approaches to easily identify *Pleuronectes platessa* from other flatfishes: A rapid and efficient tool to control label information [J]. *CyTA J Food*, 2014, 12(4): 331–335.
- [20] Espiñeira M, Vieites JM, Santaclara FJ. Development of a genetic method for the identification of salmon, trout, and bream in seafood products by means of PCR-RFLP and FINS methodologies [J]. *Eur Food Res Technol*, 2009, 229(5): 785–793.
- [21] Aranishi F, Okimoto T, Izumi S. Identification of gadoid species(Pisces, Gadidae) by PCR-RELP analysis [J]. *J Appl Genet*, 2005, 46(1): 69–73.
- [22] Finizio AD, Guerriero G, Russo GL, *et al.* Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by sequencing and PCR-RFLP analysis of mitochondrial 12S and 16S rRNA gene fragments [J]. *Eur Food Res Technol*, 2007, 225(4): 337–344.
- [23] Telechea F. Molecular identification methods of fish species: Reassessment and possible application [J]. *Rev Fish Biol Fish*, 2009, 19(3): 265–293.
- [24] Hebert PDH, Cywinska A, Ball SL, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Royal Soc*, 2003, 270: 313–321.
- [25] Wong EHK, Hanner RH. DNA barcoding detects market substitution in north American seafood [J]. *Food Res Int*, 2008, 41: 828–837.
- [26] Ferrito V, Bertolino V, Pappalardo AM. White fish authentication by COI-Bar-RFLP: Toward a common strategy for the rapid identification of species in convenience seafood [J]. *Food Control*, 2016, 70: 130–137.
- [27] 李新光, 王璐, 赵峰, 等. DNA 条形码技术在鱼肉及其制品鉴别中的应用[J]. *食品科学*, 2013, 34(18): 337–342.
- Li XG, Wang L, Zhao F, *et al.* Application of DNA barcoding to identify commercial fish and fish products [J]. *Food Sci*, 2013, 34(18): 337–342.
- [28] 王敏, 刘荻, 黄海, 等. DNA 条形码技术在深圳鱼肉制品鉴定中的应用[J]. *食品科学*, 2015, 36(20): 247–251.
- Wang M, Liu H, Huang H, *et al.* Identifying fish products in Shenzhen through DNA barcoding [J]. *Food Sci*, 2015, 36(20): 247–251.
- [29] U.S.FDA. DNA-based Seafood Identification [EB/OL]. [2018-02-23]. <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/dnaseafoodidentification/default.htm>.
- [30] 王爽, 李永波, 马超峰, 等. DNA 条形码 COI 序列在常见肉类鉴别中的应用研究[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(1): 188–193.
- Wang S, Li YB, Ma CF, *et al.* Cytochrome C oxidase subunit I sequence as a DNA barcode to identify common meat species [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2016, 32(1): 188–193.
- [31] 吕冬梅, 黄原, 文慧, 等. DNA 条形码技术在食品鉴定中的应用[J]. *食品科学*, 2015, 36(9): 248–253.
- Lv DM, Huang Y, Wen H, *et al.* Application of DNA barcoding in food products identification [J]. *Food Sci*, 2015, 36(9): 248–253.
- [32] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucl Acid Res*, 2000, 28(12): 63.
- [33] 黄火清, 郁昂. 环介导等温扩增技术的研究进展[J]. *生物技术*, 2012, 22(3): 90–94.
- Huang HQ, Yu A. Advances of Loop-mediated isothermal amplification [J]. *Biotechnology*, 2012, 22(3): 90–94.
- [34] Tomita N, Mori Y, Kanda H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products [J]. *Nat Protocol*, 2008, 3(5): 877–882.
- [35] Mori Y, Kitao M, Tomita N, *et al.* Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA [J]. *J Biochem Biophys Method*, 2004, 59: 145–147.
- [36] 洗钰茵, 易敏英, 张璇, 等. 环介导等温扩增技术快速检测肉及肉制品中的牛源性成分[J]. *食品工业科技*, 2016, 7: 278–282.
- Xian YY, Yi MY, Zhang H, *et al.* Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of bovine in meat and meat products [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, 7: 278–282.
- [37] 刘少宁, 陈智, 张志民, 等. 鉴别绵羊肉中狐狸源性成分的环介导等温扩增检测方法的建立[J]. *中国食品卫生杂志*, 2016, 28(1): 75–78.
- Liu SN, Chen Z, Zhang ZM, *et al.* Development of a LAMP method for the identification of fox-derived ingredients in mutton [J]. *Chin J Food Hyg*, 2016, 28(1): 75–78.
- [38] Saull J, Duggan C, Hobbs G, *et al.* The detection of atlantic cod (*Gadus morhua*) using loop mediated isothermal amplification in conjunction with a simplified DNA extraction process [J]. *Food Control*, 2016, 59: 306–313.
- [39] Notomi T, Mori Y, Tomita N, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): Principle, features, and future prospects [J]. *J Microbiol*, 2015, 53(1): 1–5.
- [40] 肖璐, 郭旭龙, 王印, 等. 环介导等温扩增技术及其应用[J]. *动物医学进展*, 2015, 36(7): 113–117.
- Xiao L, Wu XL, Wang Y, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification and its application [J]. *Prog Vet Med*, 2015, 36(7): 113–117.
- [41] 初亚男, 封利颖, 张婕妤, 等. 环介导等温扩增技术改进的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(4): 729–735.

- Chu YN, Feng LY, Zhang JY, *et al.* A systematic review of the research progress and improvement of loop-mediated isothermal amplification [J]. Microbiol Chin, 2015, 42(4): 729–735.
- [42] Sánchez A, Quinteiro J, Reymendez M, *et al.* Identification of European hake species (*Merlucciusmerluccius*) using real-time PCR [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57: 3397–3403.
- [43] 李富威, 张舒亚, 任硕, 等. 鲑鱼成分的实时荧光 PCR 检测方法[J]. 中国生物工程杂志, 2012, 32(12): 80–85.
- Li FW, Zhang SY, Ren S, *et al.* Detection of gadiformes by real-time PCR assay [J]. Chin Biotechnol, 2012, 32(12): 80–85.
- [44] 国家市场监督管理总局食品安全抽检监测司. 鲑鱼及其制品中裸盖鱼、油鱼和南极犬牙鱼源性成分检测[S].
- State Administration for Market Regulation, the Department for Food safety of selective examination and monitoring. Detection of *Anoplopoma fimbria*, *Lepidocybium flavobrunneum*, *Ruvettuspretiosus*, *Dissostichuseleginoides* and *Dissostichusmawsoni* in cod and its products [S].
- [45] 林霖, 陈国培, 何永盛, 等. 鲑鱼产品属性鉴别及细鳞壮鲑检测方法建立[J]. 食品工业, 2017, 38(4): 208–212.
- Lin L, Chen GP, He YS, *et al.* Cod fish product authentication and *Albatrossia pectoralis* detection method construction [J]. Food Ind, 2017, 38(4): 208–212.
- [46] Herrero B, Madrinan M, Vieites J M, *et al.* Authentication of atlantic cod (*Gadusmorhua*) using real time PCR [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58: 4794–4799.
- [47] Ali ME, Hashim U, Mustafa S, *et al.* Analysis of pork adulteration in commercial meatballs targeting porcine-specific mitochondrial cytochrome b gene by TaqMan probe real-time polymerase chain reaction [J]. Meat Sci, 2012, 91(4): 454–459.
- [48] Jothikumar P, Hill V, Narayanan J. Design of FRET-TaqMan probes for multiplex real-time PCR using an internal positive control [J]. Bio Techniq, 2009, 46(7): 519–524.
- [49] 王嘉鹤, 陈双雅, 陈伟玲, 等. DNA 检测方法在鱼类物种鉴定中的应用[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2012, 30(3): 293–298.
- Wang JH, Chen SY, Chen WL, *et al.* Identifying fish products through DNA detection methods [J]. Nat Sci J Hainan Univ, 2012, 30(3): 293–298.
- [50] Boore JL. Animal mitochondrial genomes [J]. Nucl Acids Res, 1999, 27(8): 1767–1780.
- [51] Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270(1512): 313–321.
- [52] 陈梦, 方昀, 程汝滨, 等. 线粒体 DNA 标记在动物类药材分子鉴定中的应用进展[J]. 中草药, 2018, 49(13): 187–195.
- Chen M, Fang Y, Cheng RB, *et al.* Application progress on mitochondrial DNA markers in identification of animal medicinal materials [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2018, 49(13): 187–195.
- [53] 乔德亮, 付立霞. 线粒体 DNA 在鱼类种质资源鉴定评价中应用[J]. 中国水产, 2006, 370(9): 78–80.
- Qiao DL, Fu LX. Application of mitochondrial DNA in identification and evaluation of fish germplasm resources [J]. Chin Fish, 2006, 370(9): 78–80.
- [54] 官亚运, 章群, 曹艳. 基于线粒体 COI基因序列的 DNA 条形码在中国南海绯鲤属鱼类鉴定中的应用[J]. 海洋渔业, 2016, 38(2): 113–119.
- Gong YY, Zhang Q, Cao Y, *et al.* Application of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequence in DNA barcoding *Upeneus* in the south China sea [J]. Marine Fish, 2016, 38(2): 113–119.
- [55] 魏建军, 尤宏争, 夏苏东, 等. 松江鲈鱼线粒体 Cytb 基因分析及其在种质鉴定中的应用[J]. 河北渔业, 2019, (8): 21–25.
- Wei JJ, You HZ, Xia SD, *et al.* Analysis of mitochondrial Cytb gene and its application in identification of *Trachidermus fasciatus* Heckel [J]. Hebei Fish, 2019, (8): 21–25.
- [56] Hebert PDH, Ratnasingham S, Dewaard JR. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Royal Soc, 2003, 270(1): 96–99.
- [57] Ward RD, Hanner R, Hebert PDN. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL [J]. J Fish Biol, 2009, 74: 329–356.
- [58] Zhang JB, Hanner R. DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan [J]. Biochem System Ecol, 2011, 39: 31–42.
- [59] 高天翔, 毕潇潇, 赵林林, 等. 基于线粒体 Cytb 基因全序列的松江鲈群体遗传结构分析[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 199–207.
- Gao TX, Bi XX, Zhao LL, *et al.* Population genetic structure of roughskin sculpin *Trachidermus fasciatus* based on the mitochondrial Cytb sequence [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2013, 37(2): 199–207.
- [60] Jost MC, Shaw KL. Phylogeny of ensifera (hexapoda: orthoptera) using three ribosomal loci, with implications for the evolution of acoustic communication [J]. Mol Phylogenet Evol, 2006, 38(2): 510–530.
- [61] 陈双雅, 王嘉鹤, 陈伟玲, 等. 16SrRNA 基因和 COI 基因序列分析在石斑鱼物种鉴定中的应用[J]. 生物技术通报, 2012, (10): 124–130.
- Chen SY, Wang JH, Chen WL, *et al.* Application of 16S rRNA and COI gene sequence analysis on grouper species identification [J]. Biotechnol Bull, 2012, (10): 124–130.
- [62] 楼叶青, 胡艺凡, 郑方媛, 等. 应用聚合酶链式反应和限制性内切酶酶切技术鉴别鲑鱼[J]. 肉类研究, 2019, 33(10): 57–62.
- Lou YQ, Hu YF, Zheng FY, *et al.* Identification of cod by polymerase chain reaction and restriction endonuclease digesterion [J]. Meat Res, 2019, 33(10): 57–62.
- [63] 李婷婷, 张桂兰, 王之莹, 等. 羊肉掺假鉴别快速荧光定量 PCR 芯片

- 制备及应用研究[J]. 生物技术进展, 2018, 8(6): 68–75.
- Li TT, Zhang GL, Wang ZY, *et al.* Chip preparation and application research with real-time PCR for rapid identification of mutton adulteration [J]. *Curr Biotechnol*, 2018, 8(6): 68–75.
- [64] 苗丽, 张秀萍, 陈静, 等. 微滴数字 PCR 法对肉制品中牛源和猪源成分的定量分析[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 187–191.
- Miao L, Zhang XP, Chen J, *et al.* Quantitative analysis of bovine and porcine ingredients in meat products by droplet digital PCR [J]. *Food Sci*, 2016, 37(8): 187–191.
- [65] Cai YC, Li X, Lv R, *et al.* Quantitative analysis of pork and chicken products by droplet digital PCR [J]. *Bio Med Res Int*, 2014, 2014: 810209.
- [66] 邢冉冉, 吴亚君, 陈颖. 宏条形码技术在食品物种鉴定中的应用及展望[J]. 食品科学, 2018, 39(13): 280–288.
- Xing RR, Wu YJ, Chen Y. DNA metabarcoding in food species identification: Current applications and future prospects [J]. *Food Sci*, 2018, 39(13): 280–288.
- [67] Bertolini F, Ghionda MC, Dalessandro E, *et al.* A next generation semiconductor based sequencing approach for the identification of meat species in DNA mixtures [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(4): 1–16.
- [68] Galal-khallaif A, Osman AGM, Carleos CE, *et al.* A case study for assessing fish traceability in Egyptian aquafeed formulations using pyrosequencing and metabarcoding [J]. *Fish Res*, 2016, 174: 143–150.
- [69] 香港食品安全中心. 有关识别及标签油鱼/鲑鱼的指引[S]. Hong Kong Centre for food safety. Guidelines on identification and labeling of oilfish/Cod [S].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



郭 淼, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品微生物学检测、分子生物学检测。
E-mail: guomiaosanshui@163.com



蔡雪凤, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品微生物学检测、分子生物学检测。
E-mail: caixuefeng@mail.beijing.gov.cn

食品加工工艺优化及应用研究

随之人类对自身健康的关注及生活水平的提高, 加工食品因保持其原色、原味及食品营养成分的优越性备受关注。越来越多的新工艺新方法应用于食品加工业, 尤其是多种工艺的综合利用, 对食品行业的发展起到了巨大的推动作用。

鉴于此, 本刊特别策划“食品加工工艺优化及应用研究”专题, 主要围绕加工工艺优化(提取工艺优化、配方优化、纯化优化、制备优化、响应面法优化等)、食品加工的综合利用及评价等问题展开讨论, 计划在 2021 年 2/3 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心 吴永宁 研究员特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力, 综述及研究论文均可。请在 2021 年 1 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题食品加工工艺优化及应用研究):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者

登录-注册投稿-投稿栏目选择“2020 专题: 食品加工工艺优化及应用研究”)

邮箱投稿: E-mail: jfoods@126.com(备注: 食品加工工艺优化及应用研究专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部