

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240623001

鱼子酱及其鉴定技术研究进展

徐 婷¹, 潘映秋², 夏慧丽², 蒋日进³, 管 峰^{1*}

(1. 中国计量大学生命科学学院, 杭州 310018; 2. 台州市食品药品检验研究院, 台州 318000;
3. 浙江省海洋水产研究所, 舟山 316021)

摘 要: 鱼子酱是高档名贵且稀有的鲟鱼鱼卵加工食品, 但由于鲟鱼性成熟晚、幼体存活率低以及数量少受保护等因素, 其野生资源及鱼卵产量相对稀少, 由此野生鲟鱼来源的鱼子酱逐渐转向养殖鲟鱼。当前市场上鲟鱼养殖存在种质来源不清和种间杂交等现象, 加上人为因素, 市售鱼子酱存在模仿、掺假和标签混乱等现场, 还有来自野生保护鲟鱼产品等违法行为, 甚至出现不含鲟鱼成分的替代产品, 严重扰乱市场公平并可能存在损害消费者健康甚至威胁濒危鲟鱼物种的行为。因此, 鱼子酱产品的真伪鉴定和溯源是规范市场监管和合理开发利用鲟鱼资源的重要保障。本文从鱼子酱产销状况、产品质量及分类等方面进行概述, 并从形态学鉴定、理化鉴定和分子鉴定 3 个方面综述了目前国内外鱼子酱鉴定的相关技术, 旨在为鱼子酱鉴定及方法研究提供参考。

关键词: 鱼子酱; 鉴别技术; 形态学鉴定; 理化鉴定; 分子鉴定

Research progress on caviar and its species identification technology

XU Ting¹, PAN Ying-Qiu², XIA Hui-Li², JIANG Ri-Jin³, GUAN Feng^{1*}

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China;
2. Taizhou Food and Drug Inspection and Research Institute, Taizhou 318000, China;
3. Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China)

ABSTRACT: Caviar is a valuable and nutritious processed food of sturgeon eggs. Due to the late sexual maturity of Sturgeon, the low survival rate of larvae, as well as human overfishing and damage to the ecological environment, the production of caviar is greatly reduced. So, the source of caviar from wild sturgeons is gradually shifting towards farmed sturgeons. Furthermore, there are some phenomena in the process of breeding, such as unclear germplasm sources, interspecific hybridization and so on, resulting in great differences in the quality of caviar, confusion in germplasm of eggs, as well as caviar fraud and adulteration, mislabeling and poaching to protect wild sturgeon and other chaotic phenomena in the market. It is a serious threat to the health of consumers, endangered sturgeon resources and the normal rules of the market. Therefore, the authenticity identification and source tracing of caviar

基金项目: 浙江省公益技术应用项目(LGC22C060001)、国家自然科学基金项目(31672394)、浙江省基础公益研究计划项目(LTGN24C050001)、浙江省市场监管局项目(CY2022112)

Fund: Supported by the Zhejiang Public Welfare Technology Application Research Project (LGC22C060001), the National Natural Foundation of China (31672394), the Project for Zhejiang Province Basic Public Welfare Research Program (LTGN24C050001), and the Zhejiang Market Supervision Bureau Project (CY2022112)

*通信作者: 管峰, 博士, 副教授, 主要研究方向为动物生物技术。E-mail: guanfengzgjl@163.com

*Corresponding author: GUAN Feng, Ph.D, Associate Professor, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China. E-mail: guanfengzgjl@163.com

products have become an important means to regulate the market. This review briefly described overview of caviar including production and marketing status, product quality, classification types and so on, and reviewed the related identification techniques of caviar at home and abroad from 3 aspects, morphological identification, physicochemical identification and molecular biological identification, the aim is to provide references for the species identification and method research of caviar.

KEY WORDS: caviar; identification technology; morphological identification; physical and chemical identification; molecular identification

0 引言

鱼子酱(caviar), 一般定义为从雌性鲟形目鱼类的卵巢结缔组织中分离的鱼卵, 经盐渍等一系列复杂的加工程序处理而成的鲟鱼制品。可用于鱼子酱生产的鲟鱼种类繁多, 鲟形目包括 2 科 6 属 27 种^[1], 目前全球范围内用于鱼子酱生产的鲟形目有 20 多种, 主要包含鲟属、鳇属、匙吻鲟属以及杂交鲟^[2], 其中 50% 的鱼子酱产自西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*), 其他主要还有俄罗斯鲟、史氏鲟、达氏鳇和欧洲鳇等^[2-3]。由于野生鲟鱼资源较少, 甚至部分鲟鱼品种面临濒危灭绝, 发展鲟鱼养殖产业并有效应对鱼子酱需求量的增加和保护野生鲟鱼资源已经成为全球产业发展的趋势^[4]。不同品种的鲟鱼养殖条件不一, 产出成熟鱼卵的鱼龄不同, 因此生产的鱼子酱产品质量及营养价值各异。由于鱼卵经盐渍加工过后, 单从感官特征仅能对原料来源、种类等做出初步主观判断, 同时存在一些低价值鱼子酱被冠名为高价值鱼子酱出售或用杂交鲟鱼卵冠名高质量鱼子酱等现象, 市场上以次充好和错贴标签等乱象屡见不鲜, 给消费者造成产品选择方面的困惑^[5-8], 从而影响市场公平并带来贸易损失。此外, 一些不法分子为谋求利益乱贴标签, 更是用非鲟鱼鱼子酱产品以假乱真混入市场, 直接损害了消费者的经济利益, 扰乱了鱼子酱市场秩序。因此, 开展鱼子酱真伪鉴别是保障市场公平和维护消费者权益的重要基础, 也是市场监管执法的技术手段。

目前, 鲟鱼及鱼子酱的鉴定方法随着生物学技术的发展也在不断革新, 从传统的形态观察和口感品尝等初步形态学鉴定到理化鉴定, 进一步发展到现代分子生物学鉴定和微观形态学鉴定, 鱼子酱鉴定技术体系不断完善, 本文从鱼子酱的概况介绍入手, 主要综述了鱼子酱鉴定技术的形态学鉴定、理化鉴定和分子鉴定技术及主要应用, 为鱼子酱食品市场的规范化监管提供了执法依据和技术支撑。

1 鱼子酱概况

鱼子酱作为传统的高档食品, 有 2000 多年的食用史, 被誉为舌尖上的“黑色黄金”, 与鹅肝、松露并称欧洲 3 大珍

肴, 同时又与藏红花和松露并称世界 3 大高消费美食^[9-10]。鱼子酱味道鲜美且营养价值较高, 富含人体必需氨基酸和维生素 A (vitamin A, VA)、维生素 B (vitamin B, VB)、维生素 D (vitamin D, VD)、叶酸等多种维生素以及钙、铜和镁等微量元素, 还有丰富的二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)、亚麻酸等脂肪酸成分^[11-12]。《本草纲目》中曾记载“子状如小豆, 食之健美, 杀腹内虫”, 其在调节血脂代谢、美容养颜、抗紫外损伤、强身健体等方面具有显著功效^[13-18]。

传统鱼子酱主要来自里海、黑海、咸海和亚速海等水域的野生鲟鱼, 由于过渡捕捞、栖息地被污染破坏、偷猎和非法贸易等因素, 加上鲟鱼性成熟晚、其幼鱼成活率低等自身特性, 导致野生鲟鱼种群数量急剧减少^[19]。世界自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature, IUCN)和濒危动植物国际贸易公约(Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, CITES)制定了鲟鱼制品出口配额限制等相关规定并鼓励开展鲟鱼的人工养殖^[20]。经过 20 多年的发展, 世界鲟鱼养殖经历选种、性别鉴定、驯化、育苗、催产、孵卵和取卵加工等一系列严格的技术优化后, 养殖产业日益规模化发展, 鲟鱼养殖已遍布美国、德国、俄罗斯、马来西亚、中国和意大利等多个国家, 养殖鲟鱼成为世界鱼子酱产业的主要来源^[20-21]。近几年, 全球鱼子酱产量持续增长, 我国鲟鱼养殖数量和养殖技术现已居于世界前列并成为世界上最大的鲟鱼养殖和鱼子酱生产国(年产约 290 t), 其次是俄罗斯(约 49 t)^[4,22-23]。中国鲟鱼养殖产业从北到南不断扩大, 浙江省是鱼子酱出口最多的省份, 其次是四川、湖北和江苏等省, 产品主要销往美国、德国和法国^[24]。

鉴于野生鲟鱼稀缺的资源和人工养殖严格的条件以及复杂的鱼子酱制作工艺(取卵、洗卵、分离、盐水保鲜、盐渍、包装贮藏等), 使得鱼子酱成为食品界的奢侈品^[25]。严格意义上来说, 只有原料为鲟鱼鱼卵的鱼子酱才是真正的鱼子酱, 其他同类产品需注明原料来源或称为替代品。商品化鱼子酱的品种来源、鱼卵成熟度、取卵季节以及加工工艺都会造成鱼子酱产品质量不同, 从而影响市场价格^[26]。目前市场产品主要包括顶级鱼子酱、人工养殖鲟鱼鱼子酱和非鲟鱼鱼子酱 3 类。欧洲鳇鱼子酱(beluga)、俄罗斯鲟/

波斯鲟鱼子酱(oscietra)和闪光鲟鱼子酱(sevruga) 3 种原料均产自里海,被称为货真价实的顶级鱼子酱^[10],其中欧洲鲟鱼子酱加工时间较长,价格昂贵且稀有,素有“里海黑珍珠”之称。人工养殖鲟鱼子酱弥补了野生鲟鱼产量的不足,成为市售鱼子酱的主要产品。我国市售产品主要包括欧洲鲟鱼子酱、俄罗斯鲟鱼子酱、史氏鲟鱼子酱、西伯利亚鲟鱼子酱以及海博瑞鱼子酱(达氏鲟和史氏鲟双向杂交)等,制作这些鱼子酱的鲟鱼人工养殖周期各异。市售价格调查显示,人工养殖 7 年以上的西伯利亚鲟鱼卵制作的产品价格相对较低(市售价约 11.8 元/g),而欧洲鲟鱼子酱是由人工养殖 20 年以上的欧洲鲟鱼卵制得,价格高达 180 元/g。非鲟鱼子酱是缓解鲟鱼卵资源短缺并满足鱼子酱口味的市场产物,目前市场上非鲟鱼子酱主要分为鱼子酱替代品、仿生鱼子酱和模拟鱼子酱等^[27]。据报道,鱼子酱替代品中已使用约 38 种鱼类(白鲑、鲤鱼、三文鱼、大黄鱼等)和 3 种非鱼类动物(蜗牛、海参、海胆)来源的卵代替鲟鱼卵制作的所谓鱼子酱^[27-30]。鲟鱼及非鲟鱼卵细胞中皆含有丰富的优质蛋白质(鲟鱼约 26%~28%,鲑鱼约 29%)和氨基酸,两者营养价值差异不显著,而鱼子酱替代品售价较低(均价低于 1.6 元/g)且产量大,在全球市场上可能成为鱼子酱最主要的竞争产品^[8,31]。仿生鱼子酱则是采用一些价格相对低廉且与鲟鱼毫无关系的植物原料(如蛋白质、果胶、玉米油、大豆卵磷脂、蜂蜜或荞麦和蜂蜜混合物等)加入色素、香精、盐等食品添加剂成型的制品,模仿鱼子酱的外观和味道在市场上出售^[32-33]。模拟鱼子酱则是由其他生物原料生产,仅仅模仿鱼子酱味道的仿制品。非鲟鱼子酱采用的加工原料相对低廉,在生化成分上来源多样,营养价值低于真正的鱼子酱。在经济价值方面,非鲟鱼子酱的商业价值与鲟鱼子酱相差悬殊。

2 鱼子酱鉴定技术

市售鱼子酱产品类型复杂多样,市场种种乱象屡见不鲜。据统计,鱼子酱贸易中非法营业份额已超过合法贸易的

10 倍^[34],严重冲击影响了正常贸易。自鱼子酱进入贸易市场以来,伴随着掺假售价现象的出现,其相应检测技术也相继诞生并不断发展,在开展真伪鉴定和保护正常消费权益的同时还对濒危鲟鱼的保护起到了重要作用^[7,35]。鱼子酱是加工的鲟鱼卵,其鉴定方法与鱼卵物种鉴定有诸多相似之处^[36],鉴定方法从传统的形态学鉴定发展至今,已开发出多种理化鉴定和分子生物学鉴定方法,并不断革新与优化,其随着市场变化在监督管理中发挥了重要作用。

2.1 形态学鉴定技术

传统形态学鉴定是根据不同来源鱼子酱本身具有的形态及感官特征差异,由具备丰富经验的从业人员进行初步鉴定的方法。制作鱼子酱的鱼卵源自鲟形目鱼类,其鱼卵的大小、颜色、味道以及质地等在不同物种之间有所差异(表 1),通过这些差异特征可以识别部分鱼子酱产品^[37-38]。食品法典委员会对鱼子酱质量、属性及其加工工艺进行了详细说明,鱼卵的大小一致性以及颜色的差异(由浅灰色到黑色或由浅黄色到黄灰色)决定了鱼子酱的质量,颜色为浅色和卵径较大的鱼子酱被认为质量等级较好。其中白鲟的卵粒是鱼子酱生产中最大的品种,其颜色由淡灰至灰黑,甚至有微微金黄光泽,形态特征易于识别。基于形态学差异,研究者通过光学显微镜对鲟鱼卵母细胞胞膜的外部结构进行微观观察,以及利用扫描电子显微镜研究卵膜和珠孔的超微结构,发现了鲟鱼的卵壳、卵膜及珠孔结构等差异^[39-40],以此可以区分部分鲟鱼物种。形态学鉴定要求鱼卵完整且无形态色泽变化,适用于区分人工养殖鲟在初排卵期或未排卵期的卵母细胞制成的鱼子酱^[41],然而经一系列加工后对卵母细胞的包膜和内部结构造成了破坏且易产生色素沉淀的深加工鱼子酱,形态学鉴别则存在非客观因素,影响了鱼子酱判定的准确性和该方法的推广应用。由于目前尚无准确可靠的鱼子酱形态学鉴定参考资料,微观鉴定和类似电镜超微结构检测的仪器也鲜有用于鱼子酱鉴定的方法标准。

表 1 鱼子酱形态学特征分类信息^[10]
Table 1 Classification information on morphological characteristics of caviar^[10]

鱼子酱类型	鱼龄/年	颜色	卵径/mm	口感、风味
西伯利亚鲟	≥7	褐色、灰黑色和黑色	≥2.8	入口滋味纯正,回味有淡淡的海洋鲜香
史氏鲟	≥8	棕黄色或棕灰色	≥2.9	滋味醇郁,略带新鲜水果的清香
俄罗斯鱼子酱	≥11	灰褐色、棕灰色、少量金色	≥2.9	胶原蛋白含量较高,有淡淡的果仁清香
达氏鲟鱼子酱	≥15	棕黄色或棕灰色或灰黄色	≥3.2	味道浓郁,浓郁奶油香气,回味香醇
欧洲鲟	≥20	铁灰色、珍珠灰	≥3.5	色泽光润,富有浓郁的黄油香味,回味悠长醇香
海博瑞鱼子酱	≥9	橄榄绿、棕灰色、少量金色	≥3.0	带有香浓的奶油味和坚果味

2.2 理化鉴定技术

理化鉴定主要根据鱼子酱的蛋白质、脂肪酸和挥发性物质等组分差异, 选取相应仪器和分析方法对其组分及含量差异等进行分析鉴别。早期使用鱼卵蛋白鉴定鱼子酱来源, 但是所需样本量大且鉴定结果可靠性差^[38]。随着现代仪器分析技术的发展, 理化鉴定技术在鲟鱼产品真伪鉴定中的应用日益广泛。目前, 针对鱼子酱鉴定的相关技术主要以大型分析设备如色谱仪、质谱仪为基础平台等进行成分组成评价区分, 拉曼光谱等进行风味特征分析等。理化鉴定技术能定量处理鱼子酱组分及质量, 检测结果客观准确, 但是检测环境及所需仪器设备要求严格, 在实际推广应用中存在成本高昂、费时费力等局限性。

2.2.1 等电聚焦技术

等电聚焦(isoelectric focusing, IEF)可有效获取多种鲟鱼及其他鱼类的生化特征并为鱼类的物种鉴定提供参考。利用超薄聚丙烯酰胺凝胶电泳和蛋白质染色法对 7 种鱼类的鱼卵、3 种鱼子酱和 2 种鱼子酱替代品进行脂肪和粗蛋白含量分析, 发现不同物种来源的鱼卵蛋白质图谱各具独特模式, 表明 IEF 适用于部分鱼卵的物种鉴定^[42]。通过 IEF 技术分析鱼子酱中可溶性卵蛋白可以鉴定出鱼子酱的鲟鱼种类, 甚至可用于区分如俄罗斯鲟和波斯鲟的亚种, 从而用于监管鱼子酱造假行为^[43]。然而进一步研究发现, 由于欧洲鳇、俄罗斯鲟以及闪光鲟的蛋白质组分与结构相似, 难以用该方法进行区分^[44]。CHEN 等^[45]使用 IEF 技术获得了用以区分不同品种鲟鱼来源鱼子酱的标准参照蛋白图谱, 证明了该技术用于欧美地区市售鱼子酱物种鉴定的可行性。理化分析能区分部分鲟鱼与其他鱼类鱼卵蛋白质的差异而实现鱼子酱物种来源和种质鉴定, 但该方法对也存在检测耗时长、成本高、难以离线检测等不足。

2.2.2 气相色谱法

气相色谱法(gas chromatography, GC)用于鱼子酱的检测通常需要通过喂养鲟鱼特定且有别于其他鲟鱼的食物成分进而根据差异分析来区分物种来源^[46], 其基本原理是基于不同化合物在气相条件下与固定相相互作用的特性进行分离和定量^[47], 即饲喂成分对不同来源的鱼子酱中脂肪酸、维生素等营养成分的组成带来差异。WUERTZ 等^[48]利用 α 人利生育酚、辛酸和癸酸作为饲料添加剂对养殖小体鲟进行喂养试验, 分析结果表明癸酸可作为养殖鲟鱼子酱鉴别标签, 是一种低成本且易于评估的检测标记。由于 GC 检测前需要喂养鲟鱼特定且有别于其他鲟鱼的食物成分, 还要保证其对其他营养成分无显著影响。GC 法不但所需时间长, 还受到鲟鱼养殖产业饲料来源多样化以及可能存在多种未知成分的影响, 检测结果的重复性和可靠性较差, 因此该技术不利于用作鉴别的标准方法。

2.2.3 色谱-质谱技术

色谱-质谱技术是由 GC 或者液相色谱技术(liquid

chromatography, LC)和质谱检测器技术(mass spectrometry, MS)联合组成, 在挥发性成分(volatile organic compounds, VOCs)鉴定中广泛应用^[49-51]。GC-MS 技术具有灵敏度高、分离效率高、鉴定准确和适用范围广泛等优点^[52], 一直以来是对挥发性化合物定性、定量分析的主要手段^[53]。结合固相微萃取法(solid phase micro-extraction, SPME)、总离子流色谱图和相对气味活度值, 在 6 种鱼子酱中检测到邻苯二甲酸、癸基异丁酯和 α -柏木烯等 8 种特征性挥发性成分, 为鱼子酱种类鉴定提供了物种特异性靶标^[54]。LOPEZ 等^[55]采用多次顶空-SPME-GC-MS 对白鲟在不同成熟阶段鱼子酱挥发性成分的组分及含量进行了测定, 发现成熟时间越长、鱼子酱中总醛含量越高, 为鱼子酱的品质鉴定提供了参考。不同 LC-MS 分析技术对鱼子酱成分检测过程中可能存在吸附, 降低 SPME 产物回收率, 而 GC-MS 在鱼子酱检测中缓解了组分间的竞争, 可有效鉴定和定量分析鱼子酱中的风味成分。此外, 2022 年 PANZELLA 等^[56]采用化学降解和电子顺磁共振(electron paramagnetic resonance, EPR)技术, 结合 LC-MS 技术首次确定了鱼子酱中含有一种吡咯-2,3,5-三羧酸(pyrrole-2,3,5-tricarboxylic acid, PTCA)的真黑素可作为特殊标记, 有望成为鱼子酱检测中的特异性标志物。

2.2.4 气相-离子迁移色谱法

气相-离子迁移色谱法(GC-ion mobility spectroscopy, GC-IMS)也被应用于食品的风味分析^[57-58]、质检筛查及鉴别等方面^[59]。陈瑶等^[60]利用 GC-IMS 技术对 6 种鱼子酱中挥发性风味成分进行定性分析, 建立了挥发性成分指纹图谱, 鉴别出醛类、酮类、醇类、烯烃类以及酯类挥发性成分, 发现各鱼子酱中不同挥发性成分存在明显差异, 结合主成分分析(principal component analysis, PCA)可有效区分不同鱼子酱。NATALIA 等^[61]通过 GC-IMS 测定纯蜂蜜和掺假蜂蜜的挥发性化合物, 结合化学计量学分析可将二者区分开来, 区分验证成功率为 97.4%。余远江等^[62]利用 GC-IMS 检测出对虾、禾花鱼、罗非鱼和金丝鱼等水产品中醛、醇及芳香族化合物等主要挥发性成分, 为水产深加工原料的来源及质量鉴定奠定了基础。GC-IMS 相较于 GC-MS 技术具备一定优势, 其无需样品前处理且可快速分析检测样品中含量极微的挥发性成分^[63]。这些研究为鱼子酱中标准 VOCs 物质数据库的完善和鱼子酱鉴定提供了重要参考依据。

2.2.5 拉曼光谱

拉曼光谱(Raman spectroscopy, RS)可快速检测食品成分、药物残留和添加剂成分并可进行食品真伪检测等^[64], 该方法对检测样品要求不高, 具有简单快捷^[65-66]、分辨率高^[67]、无损和无污染等优点。在此基础上发展起来的表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)和傅里叶变换拉曼光谱等系列革新技术具有更准确和便捷的优势^[68]。其中, SERS 被广泛应用于食品检测, 对样品形

态无要求且可进行无损检测。李晨等^[69]利用 RS 开展了对虾、鱼、蟹类等水产品中孔雀石绿和结晶紫两种添加剂定性定量快速检测方法的适用性验证,优化并提高了检测效率及灵敏度。该方法缩短了市场产品检测时间,减少了样品检测需求量。研究发现欧洲鳕鱼子酱、俄罗斯鲑/波斯鲑鱼子酱和闪光鲑鱼子酱 3 种纯鱼子酱的拉曼光谱有明显差异,结合 PCA 结果,表明使用该技术可直观区分纯种鲑鱼来源的鱼子酱和混合鱼子酱样品,有效解决市售鱼子酱混杂的检测问题^[70]。但 RS 技术所需仪器设备昂贵,在常规检测中常和其他技术联合使用,作为检测方法的互补。

2.3 分子鉴定技术

分子生物学技术主要是以 DNA 为鉴定靶标的一项检测技术,其不受生物生长阶段、环境和组织器官等因素的影响,即使经一系列深加工后,仍能进行物种鉴定等分析,现已成为鲑鱼及其产品物种鉴定研究的主要技术^[71-74]。目前用于鲑鱼及其鱼子酱鉴定的技术多是在聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)基础上发展而来,主要包括物种特异性 PCR (species-specific PCR)、实时荧光定量 PCR (real-time quantitative PCR, qPCR)和限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP),以及随机扩增多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, RAPD)和扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)为代表的第二代分子标记和微卫星(microsatellite)及单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)为代表的第二、第三代分子标记,还有近来发展的 DNA 条形码和测序技术等。随着物种 DNA 鉴定靶标的发现和新技术的开发,这些方法已成为 CITES 附录物种及相关产品出口许可认证的重要依据之一,为鱼子酱真伪、来源及物种鉴定提供了方法和参考标准^[75]。

2.3.1 物种特异性 PCR

物种特异性 PCR 是根据待测物种及其近缘物种的特定基因差异序列设计特异性引物,进行 PCR 扩增获得目的产物,通过观察是否存在特异性产物及其片段大小或加以序列比对以鉴别物种。BIRSTEIN 等^[76]通过分析常见鲑鱼的 *Cytb*、*16S rRNA* 和 *12S rRNA* 基因序列差异,针对欧洲鳕鱼子酱、俄罗斯鲑/波斯鲑鱼子酱和闪光鲑鱼子酱 3 种鱼子酱来源物种设计 3 对特异性引物,鉴定了 25 份市售样品,表明存在 22% (3/23) 标签错误率以及 2 个未知标签鉴定为俄罗斯鲑/波斯鲑鱼子酱和闪光鲑鱼子酱,并首次建立鲑亚科(Acipenserinae)鱼类的分子系统发育树,建立了基于 *Cytb* 基因检测美国和欧洲市场鱼子酱真伪的方法,同时检测结果显示商品鱼子酱中标签误贴和错贴率有逐年增加的趋势。基于鲑鱼线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 全长分析表明, *D-loop* 区为鲑形目鱼类 mtDNA 基因组中多样性差异最大的区域,大多数鲑鱼的 *D-loop* 区包含 1~7 个大小为 78~83 bp 的串联核苷酸重复序列,不同

鲑鱼 *D-loop* 区之间分为同质体、轻微异质体以及显著异质体^[77],这为鲑鱼及鱼子酱鉴定提供了重要物质基础。MUGUE 等^[78]分析了 8 种鲑鱼的 *D-loop* 区种内和种间核苷酸序列差异并设计了 10 对物种特异性引物,建立了多重 PCR 方法并成功鉴别 8 种鲑鱼及鱼子酱等制品。qPCR 技术是在普通 PCR 的基础上将荧光染料或探针加入 PCR 反应体系,根据荧光信号对 PCR 过程进行实时监测且可进行定性和定量分析的技术^[79]。探针法和荧光法都已广泛应用于鳕鱼、鲑鱼、虹鳟等经济鱼类的鉴别^[80-82],且在鱼翅来源的鲨鱼源性成分检测中具有达 0.1% 的检出限^[83]。万超等^[84]以 *D-loop* 区差异序列为靶标设计特异性引物,采用 SYBR Green 荧光 PCR 对俄罗斯鲑鱼子酱来源实施检测鉴定。基于 *D-loop* 区差异的鱼子酱鉴定方法具有较强的特异性和灵敏度,组建的荧光或多重 PCR 体系可实现多物种同步鉴定,方法简单高效,是特定鱼子酱种类鉴定的常用方法。

2.3.2 PCR-RFLP 技术

PCR 与 RFLP 结合即 PCR-RFLP,可便捷、直接检测物种 DNA 多态性并据此判断物种类别,现已用于多种特定鱼类的物种鉴定,为鱼类资源鉴定、保护和打击鱼类水产品掺假等违法行为提供了技术支持^[85-86]。在 PCR-RFLP 基础上结合 COI 条形码(即 COI Bar-RFLP)获得物种限制性内切酶特异性图谱并用于鳕鱼^[87]、鲑鱼^[86]和比目鱼^[88]等加工鱼类产品鉴定。WOLFC 等^[89]采用 *Cytb* 基因作为靶标建立了简便有效的 PCR-RFLP 鱼子酱品种鉴别方法。PAPPALARDO 等^[90]使用限制性内切酶 *MboI* 建立了 COI Bar-RFLP 方法,在 8 种鱼子酱产品中鉴定出仅有 5 种源于鲑鱼,其他均为非鲑鱼类鱼卵作为鱼子酱替代品。但 PCR-RFLP 技术在近缘物种鉴定中存在一定局限性,如对俄罗斯鲑、西伯利亚鲑、波斯鲑和纳氏鲑的鉴定则难以找到合适的内切酶,当前应用中还受限于内切酶的价格成本和物种本身可能存在的碱基突变而造成假阴性和假阳性等问题。

2.3.3 RAPD 技术

RAPD 技术具有适用于大量样本检测且所需样本 DNA 量少等优点,常用于亲缘关系评估、物种鉴定以及杂交物种检测等研究^[91],在鲤鱼^[92]、鲢鱼^[93]和草鱼^[94]等鱼类种群早期鉴定研究中广泛应用。有研究较早报道 RAPD 技术用于鲑鱼鉴定,用一个分子标记即可区分欧洲鳕、闪光鲑以及裸腹鲑 3 种鱼子酱^[95]。后来, BARMINSTSEV 等^[96]通过分析里海欧洲鳕基因组进一步拓展了 RAPD 技术在鲑鱼物种鉴定、种群识别、杂交鲑鱼及鱼子酱等制品鉴定中的应用,提高了对杂交鲑鱼品种的鉴定准确性。在俄罗斯生产的鲑鱼及产制品尤其是杂交种群鉴定中应用广泛,在包括史氏鲑、西伯利亚鲑、小体鳕及其杂交后代^[97]和卡露伽鱼子酱^[98]鉴定中显示出较好的鉴定力。这些研究结果为市场目前最常见的杂交鲑海博瑞鱼子酱(即达氏鳕×史氏鲑,

双向杂交体)鉴定提供了技术参考,但由于 RAPD 技术对实验条件高度敏感且重复性差,在应用中有逐步被其他新技术替代的发展趋势。

2.3.4 AFLP 技术

AFLP 技术是基于 PCR 扩增产物在限制性内切酶的作用下可获得大小不同的片段,从而根据多态性区分不同物种的鉴定技术。AFLP 技术较早用于基因组多样性研究,具有多态性高、重复性好和易操作等优点,已被广泛应用于物种鉴定、生物遗传多样性分析、物种进化以及动物保护等领域^[99-101]。CONGIU 等^[102]最先使用 AFLP 技术进行了高首鲟、纳氏鲟以及杂交种的鉴定,解决了 *mtDNA* 不能区分杂交种的局限性并为其其他鲟鱼及其制品鉴定提供了技术参考。这一技术还在俄罗斯鲟、欧洲鳇、西伯利亚鲟等鱼子酱及鲟鱼熏肉制品的鉴定中得到应用^[103]。当前尽管使用 AFLP 分析技术,发现了纳氏鲟、西伯利亚鲟、俄罗斯鲟和闪光鲟不同基因多态性并可用于物种鉴定,但该技术在分析过程中耗时长且成本较高,重复性较差。因此,基于 AFLP 开发的特异性标记在鱼子酱鉴定中尚需结合简便且重复性更好的检测技术以提高其应用价值。

2.3.5 微卫星标记

微卫星也称为简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)或短串联重复序列(short tandem repeats, STR),其为均匀分布于整个基因组的一个较短的重复 DNA 分子片段^[104]。STR 遵循孟德尔遗传定律且呈共显性遗传,稳定性和重复性高,检测过程操作简单,在水生动物的遗传多样性分析和种质鉴定等领域广泛应用。JENNECKENS 等^[105]在鲟鱼中发现了第一个可用于鉴定闪光鲟及其鱼子酱产品的具有独特等位基因的微卫星标记 LS-39。胡佳等^[106]筛选出 6 个 STR 位点,联合线粒体 *D-loop* 区多样性可以有效鉴定史氏鲟和达氏鳇及其杂交子代。ZHANG 等^[107]利用 9 个 STR 位点联合 *COI* 基因成功用于鉴定养殖鲟鱼中 7 个纯种和 10 个杂交种。这些研究结果均表明 STR 分子标记在鲟鱼鉴定中的可行性。一方面,随着鲟鱼基因组测序中大量 STR 标记的发现,其在物种鉴定中具有更广的应用前景;另一方面,由于这些 STR 标记在不同品种与个体中的多态性存在差异,导致不同 STR 位点用于鲟鱼鉴定的鉴别力不同,如 BARMINTSEVA 等^[108]测试了 5 个 STR 位点(*Afug41*、*Afug51*、*An20*、*AoxD161* 和 *AoxD165*)但发现其无法区分俄罗斯鲟和波斯鲟。因此,广泛分布的 STR 需结合物种多态性评测分析才能使之在鲟鱼及鱼子酱物种来源的鉴定中发挥更大的作用。

2.3.6 SNP 标记

SNP 标记是第 3 代分子标记,在基因组中分布更加广泛,在物种鉴定中可有效解决多个现有标记的不足,充分显示出分子鉴定技术的优势互补。将鲟鱼核糖体 S7 (*RPS7*) 基因中的 SNPs 结合 *Vimentin* 基因和线粒体 *D-loop* 区,成

功鉴定纳氏鲟、湖鲟、闪光鲟、中华鲟、白鲟及 Bester(欧洲鳇×小体鲟)和 AL(纳氏鲟×西伯利亚鲟)两种杂交鲟鱼子酱^[109],为鱼子酱的检测和监管提供了重要技术参考。利用限制性位点关联 DNA (restriction site associated DNA, RAD) 测序技术开发 SNP 标记,是鲟鱼及鱼子酱溯源鉴定分子靶标发掘的重要途径^[110]。HAVELKA 等^[111]利用 RAD 技术发现的 SNP 位点成功鉴别欧洲鳇和小体鲟及杂交物种。SNP 标记不仅数量丰富还具有可实现自动化分析的优势,快速完成样本检测。随着未来鲟鱼 SNP 数据的增加和检测技术发展,SNP 标记将成为鲟鱼物种尤其是杂交鲟及其鱼子酱鉴定的重要标记。

2.3.7 DNA 条形码

DNA 条形码是分子生物学和生物信息学的联合应用,主要通过测定并获得未知物种特定序列后与数据库中已知 DNA 序列对比,根据相似度进而准确判定物种的技术。自 NDP 等^[112]于 2003 年首次提出 DNA 条形码概念以来,已广泛用于多种鱼类和其他动植物的分类学、进化和鉴定等研究领域,且已经获得并发布了许多物种的 DNA 条形码数据。WARD 等^[113]通过分析对比多种动物的 *COI* 基因序列并确定其可用于约 98% 的鱼类鉴定,开创了 DNA 条形码技术的时代,在基于鱼卵为鉴定对象的渔业资源调查和物种多样性检测中得到了普遍应用。此后还衍生了 *16S rRNA* 基因、*18S rRNA* 和 *D-loop* 基因以及 *Cytb* 等多个 DNA 条形码组合,大大提高了鉴定结果的可靠性和准确性。其中 *Cytb* 基因常被用于鱼子酱的检测,*D-loop* 基因有效解决了 *COI* 基因在鉴别鲟鱼近缘物种及其鱼子酱研究中存在的局限性,提高了鉴定准确性^[114-115]。使用 DNA 条形码 *COI* 和 *Cytb* 对我国市场上不同价格的鱼子酱鉴定结果表明,75.0% 的鱼子酱来自杂交鲟,45.0% 的产品标签物种与其实物不符,存在以次充好或以低价产品冒充高价值产品的问题^[74]。JOHNSON 等^[116]基于 *COI* 和 *Cytb* 两个线粒体基因采用最大简约法(maximum parsimony, MP)和最大似然法(maximum likelihood, ML)确认了鱼子酱误导性标签的案例,以低价值的西伯利亚鲟或者纳氏鲟鱼子酱代替闪光鲟鱼子酱。我们课题组也使用 DNA 条形码通用引物及对 *COI* 基因不同区段重设计引物和 *D-loop* 区引物抽检市售鱼子酱物种来源,结果表明 3 组引物对所有鱼子酱均可获得与数据库序列相似度 $\geq 98\%$ 的物种鉴定结果,但 *COI* 条形码通用引物存在无法区分鲟鱼部分近缘物种(西伯利亚鲟和俄罗斯鲟)的局限性,而 *D-loop* 区可有效提高 DNA 条形码鉴定的准确性,比 *COI* 基因序列更适于鲟鱼的种间鉴定。市售鱼子酱的鉴定表明均为鲟鱼来源的鱼子酱,但是 33.4% 的产品标签与实际来源不符,存在以次充好或低价值产品冒充高价值产品的情况^[74],这与后来报道 45.0% 的产品标签与实物不符基本一致^[73]。此外, DNA 条形码还开发了针对深加工产品中降解 DNA 的约 300 bp 的检测靶标,

又称 mini 条形码, 以此在德国海产品中发现了使用未标注的飞鱼科鲱鱼卵制作鱼子酱的情况^[117]。DNA 条形码也是一项在不断发展的技术, 其还与 DNA 芯片相结合组成 DNA 条形码芯片技术, 成为一种新兴的高通量快速检测技术,

使之可用于混合样品以及杂交种的检测。
总之, 分子鉴定检测技术不断革新(表 2), 其他多物种鉴定技术的发展与应用对鱼子酱检测鉴定起到了重要推动作用, 也为鱼子酱的市场监管提供了重要技术支撑。

表 2 鱼子酱鉴定常用技术比较
Table 2 Comparison of commonly used techniques for caviar identification

鉴定方法	优点	不足
形态学鉴定	简单易行, 无需设备	受样品本身差异及加工过程影响, 鉴定结果容易有偏差。
理化鉴定	IEF 分辨率高, 重复性高, 操作简便, 适用面广, 样品容量大。	检测时间长, 成本高, 难以离线检测。
	GC 灵敏度高, 分离能力强, 可与其他技术联用。	检测时间长, 重复性和可靠性较差, 设备成本高。
	LC-MS 灵敏度高, 分离效率高, 鉴定准确, 适用范围广泛, 可分析大量样品。	成本高, 技术专业高, 样品需前处理。
	GC-IMS 检测快速, 灵敏度高, 无需样品前处理。	设备成本高, 技术专业性强, 样品适用性限制。
	RS 简单快捷, 分辨率高, 无损和无污染, 对样品要求不高。	易受干扰, 成本高昂, 数据处理复杂。
分子鉴定	物种特异性 PCR 多物种同步鉴定, 简单高效, 灵敏度高, 重复性强。	对每个物种引物设计, 成本高昂, 无法简单未知成分。
	PCR-RFLP 操作便捷, 结果直观, 特异性高。	成本高, 样品要求高, 酶切不全会造成假阴性和假阴性结果。
	RAPD 适用于大量样本检测, 检测所需 DNA 量少, 操作简单, 快速高效。	分辨率限制, 假阴性和假阳性结果较高, 重复性差。
	AFLP 多态性高、重复性好和易操作。	耗时长且成本较高, 重复性较差。
	微卫星标记 重复性高, 稳定性高, 操作简单。	开发成本高, 技术专业性强。
	SNP 标记 检测快速且可自动化, 易于标准化。	成本高昂, 技术专业性强, 适用于基因组信息完整的样品。
	DNA 条形码 准确性高, 检测迅速, 结果可靠, 可检测未知样本。	检测的准确性取决于数据库的完整性。

3 结束语

鱼子酱作为顶级美食深受世界人们的喜爱, 是一种具有降低心血管疾病发病率、缓解慢性炎症、抗癌以及具有免疫调节等功效的保健食品, 在食品和保健品领域占据重要地位。随着近年来鲟鱼及鱼子酱贸易量的增加, 其相关检测成为技术监督和生物学研究的重要课题。基于鱼子酱生化成分以及加工工艺的不同, 可选用于鱼子酱产品的检测方法也不同。目前通常以形态学鉴定、理化鉴定和分子鉴定联合用于鱼子酱检测, 其优势互补协同和不断优化革新, 在鱼子酱鉴定和市场监管中发挥着重要作用。但也不难看到, 现行针对鲟鱼种质及鱼子酱产制品鉴定的方法标准较少, 需综合分析各种方法及其优缺点、明确其适用性, 并根据鱼子酱产业和市场检测需求不断创新检测技术, 为鱼子酱产业的全球化发展“保驾护航”。随着基因组研究的不断深入, 常染色体标记基因(微卫星标记、SNP 标记)和 mtDNA 标记的联合分析技术在鲟鱼及杂交种和鱼子酱检测鉴定中显示出无可替代的优越性。另外, 鲟鱼养殖和鱼子酱生产中尚有诸多问题有待解决, 如野生和养殖鲟鱼的鉴定和鱼子酱产地溯源等, 这些问题的存在也必将推动

鱼子酱鉴定技术的发展。同时, 鲟鱼养殖业也应以生产高质量鱼子酱产制品为目标导向, 加强对市售鱼子酱的品控并不断提升工艺水平, 促进产业高质量发展。

参考文献

[1] 陈细华, 褚志鹏, 李罗新, 等. 鲟鱼适养品种及其种质特性[J]. 科学养鱼, 2020(2): 1–2.
CHEN XH, CHU ZP, LI LX, *et al.* Preliminary discussion on safety questions in aquaculture and its countermeasure [J]. Sci Fish Farm, 2020(2): 1–2.

[2] 周晓华. 鲟鱼子酱产业现状分析[J]. 水产学杂志, 2015, 28(4): 48–52.
ZHOU XH. Status analysis of sturgeon caviar industry [J]. Chin J Fish, 2015, 28(4): 48–52.

[3] 李钊. 2020 年全球鱼子酱产量将翻番或蕴危机[J]. 海洋与渔业·水产前沿, 2017(1): 84–85.
LI F. By 2020, global caviar production will double or risk a crisis [J]. Ocean Fish, 2017(1): 84–85.

[4] 范芊芊, 杨夏. 中国鱼子酱产量占据全球 60%国内消费市场及国产品牌亟待培育[J]. 中国食品, 2024(3): 100–102.
FAN QQ, YANG X. China's caviar production accounts for 60% of the global domestic consumer market and domestic brand power needs to be cultivated [J]. China Food, 2024(3): 100–102.

- [5] DAAN UV, DINA S. The illegal trade in black caviar [J]. Trends Organ Crime, 2016, 19(1): 67–87.
- [6] SICURO B. The future of caviar production on the light of social changes: A new dawn for caviar? [J]. Rev Aquacult, 2019, 11(1): 204–219.
- [7] ARNE L, JUTTA J, LEONARDO C, *et al.* Poaching and illegal trade of Danube sturgeons [J]. Curr Biol, 2023, 33(22): R1184–R1185.
- [8] SAMAD T, LUO YK, MJ R, *et al.* Sturgeon, caviar, and caviar substitutes: From production, gastronomy, nutrition, and quality change to trade and commercial mimicry [J]. Rev Fish Sci Aquact, 2021, 29(4): 753–768.
- [9] 詹迅乔, 万晨晨. 舌尖上的“黑色黄金”[J]. 中国税务, 2021(5): 80.
ZHAN XQ, WAN CC. “Black gold” on the tongue [J]. China Tax, 2021(5): 80.
- [10] 顾如意. 粒粒珍馐鱼子酱[J]. 食品与生活, 2018(11): 6–11.
GU RY. Gourmet caviar [J]. Food Life, 2018(11): 6–11.
- [11] 任华, 蓝泽桥, 孙宏懋, 等. 鲟鱼营养价值及其精深加工产品市场[J]. 江西水产科技, 2015(1): 36–39.
REN H, LAN ZQ, SUN HM, *et al.* The nutritional value of sturgeon and its market of refined processed products [J]. Jiangxi Fish Sci Technol, 2015(1): 36–39.
- [12] 马双, 郝淑贤, 李来好, 等. 几种鱼卵营养成分对比分析[J]. 南方水产科学, 2019, 15(4): 113–121.
MA S, HAO SX, LI LH, *et al.* Comparative analysis of nutritional components of several roes [J]. South China Fish Sci, 2019, 15(4): 113–121.
- [13] NADEZHDA I, REZA K, TERRY IP, *et al.* Nutritional composition of caviar from three commercially farmed sturgeon species in China [J]. J Food Nutr Res, 2013, 1(5): 108–112.
- [14] 王磊, 吴小莉, 崔伟民, 等. EPA 微藻油及 EPA 的功能研究进展[J]. 中国油脂, 2021, 46(8): 101–104, 118.
WANG L, WU XL, CUI WM, *et al.* Advance in function of EPA microalgae oil and EPA [J]. China Oils Fat, 2021, 46(8): 101–104, 118.
- [15] 官民, 刘丹阳. 鲟鱼营养价值研究进展[J]. 黑龙江水产, 2018(4): 10–11.
GONG M, LIU DY. Research progress on nutritional value of sturgeon [J]. North Chin Fish, 2018(4): 10–11.
- [16] PARK J, KIM D, LEE M, *et al.* Enzyme-treated caviar prevents UVB irradiation-induced skin photoaging [J]. Mar Drugs, 2022, 20(685): 1–10.
- [17] LEE KE, NHO YH, YUN SK, *et al.* Caviar extract and its constituent DHA inhibits UVB-irradiated skin aging by inducing adiponectin production [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9): 3383–3395.
- [18] LE LTT, KIM BK, CHIEN PN, *et al.* Investigating the anti-aging effects of caviar oil on human skin [J]. Vivo, 2023, 37(5): 2078–2091.
- [19] 王玉堂. 鲟鱼资源现状[J]. 中国水产, 1999(9): 16–19.
WANG YT. Current situation of sturgeon resources [J]. China Fish, 1999(9): 16–19.
- [20] 孙大江, 张颖, 马国军. 鲟鱼子酱的生产与国际贸易概况[J]. 水产学杂志, 2014, 27(1): 1–7.
SUN DJ, ZHANG Y, MA GJ. A review of sturgeon caviar production and international trade [J]. Chin J Fish, 2014, 27(1): 1–7.
- [21] 杨娟, 李勤慎, 邵东宏, 等. 鲟鱼人工繁殖技术要点[J]. 中国水产, 2021(7): 72–74.
YANG J, LI QS, SHAO DH, *et al.* Key points of artificial breeding technology of sturgeon [J]. China Fish, 2021(7): 72–74.
- [22] SICURO B. The future of caviar production on the light of social changes: A new dawn for caviar? [J]. Rev Aquacult, 2019, 11(1): 204–219.
- [23] BRONZI P, CHEBANOV M, MICHAELS JT, *et al.* Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017 [J]. J Appl Ichthyol, 2019, 35(1): 257–266.
- [24] 贺艳辉, 袁永明, 张红燕, 等. 中国鲟鱼子酱出口竞争力分析及展望[J]. 农学学报, 2020, 10(5): 58–62.
HE YH, YUAN YM, ZHANG HY, *et al.* Sturgeon caviar of China: Export competitiveness analysis and prospect [J]. J Agric, 2020, 10(5): 58–62.
- [25] 剔透饱满, 味美营养——记国家地理标志产品抚远“黑龙江鲟鳇鱼”鱼子[J]. 标准生活, 2020(5): 62–64.
Pure and full, delicious nutrition-remember national geographic indication product Fuyuan “Heilongjiang sturgeon fish” sturgeon roe [J]. Stand Living, 2020(5): 62–64.
- [26] BLEDSOE GE, BLEDSOE CD, RASCO B. Caviars and fish roe products [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2003, 43(3): 317–356.
- [27] BRONZI P, ROSENTHAL H. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: A global market overview [J]. J Appl Ichthyol, 2014, 30(6): 1536–1546.
- [28] BINSI P, NAYAK N, SARKAR P, *et al.* Conversion of carp roe mass to caviar substitutes: Stabilization with oregano extract [J]. LWT-Food Sci Technol, 2019, 108: 446–455.
- [29] 罗联钰. 大黄鱼鱼子酱的制作工艺研究[J]. 科学养鱼, 2016(8): 76–78.
LUO LY. Study on the production technology of large yellow croaker caviar [J]. Sci Fish Farm, 2016(8): 76–78.
- [30] MONIKA M, KRZYSZTOF S, RENATA P. Snail eggs as a raw material for the production of a caviar substitute [J]. J Vet Res, 2020, 64(4): 543–547.
- [31] MOHAMED AF, BISHOY A, SHEROUK T, *et al.* Caviar and fish roe substitutes: Current status of their nutritive value, bio-chemical diversity, authenticity and quality control methods with future perspectives [J]. Trends Food Sci Technol, 2021, 110: 405–417.
- [32] MAŁGORZATA S, AGNIESZKA P, MARIA D, *et al.* Preparation of beebread caviar from buckwheat honey through immobilization with sodium alginate [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(19): 4483–4495.
- [33] 周秀琴. 人造鱼子酱制造法[J]. 食品研究与开发, 1987(4): 59.
ZHOU XQ. Artificial caviar manufacturing method [J]. Food Res Dev, 1987(4): 59.
- [34] BOSCARI E, VITULO N, LUDWIG A, *et al.* Fast genetic identification of the beluga sturgeon and its sought-after caviar to stem illegal trade [J]. Food Control, 2017, 75: 145–152.
- [35] FONTANA F, TAGLIAVINI J, CONGIU L. Sturgeon genetics and cytogenetics: Recent advancements and perspectives [J]. Genetica, 2001, 111(1-3): 359–373.
- [36] 金雨婷, 蒋日进, 赵进, 等. 鱼卵和仔稚鱼鉴定技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(15): 18–20, 39.
JIN YT, JIANG RJ, ZHAO J, *et al.* Research progress on species identification techniques of fish eggs and larvae [J]. J Anhui Agric Sci, 2019, 47(15): 18–20, 39.
- [37] GÖDECKEN H, CAVIARL. Traduit de l’allemand par dominique

- kugler [M]. Editions Jeanne Lafitte: Marseille, 1986.
- [38] DESALLE R, BIRSTELN VJ. PCR identification of black caviar [J]. *Nature*, 1996, 381(6579): 197–198.
- [39] CHERRG N, JR WHC. Fine structure of the envelope and micropyles in the eggs of the white sturgeon, *acipenser transmontanus* Richardson: (Micropyle/chorion/egg envelopes/sturgeon/egg jelly) [J]. *Dev Growth Differ*, 1982, 24(4): 341–352.
- [40] SKOBLINA MN, PIVNITSKY KK, KONDRATIEVA OT. The role of germinal vesicle in the process of oocyte maturation in Anura and Acipenseridae [J]. *Cell Differ*, 1984, 14(2): 153–157.
- [41] DEBUS L, WINKLER M, BILLARD R. Structure of micropyle surface on oocytes and caviar grains in sturgeons [J]. *Int Rev Hyd*, 2002, 87(5-6): 585–603.
- [42] REHBEIN H. Caviare: Proximate composition, amino acid content and identification of fish species [J]. *Eur Food Res Technol*, 1985, 180(6): 457–462.
- [43] KEYVANFAR A, ROCHU D, FINE MJ. Comparative study of sturgeon oocyte soluble proteins by isoelectric focusing [J]. *Comp Biochem Physiol B*, 1988, 90(2): 393–396.
- [44] REHBEIN H. Fischartbestimmung von caviar durch protein-und DNA-analyse [M]. *Fisch Als Lebensmittel*, 1997.
- [45] CHEN CI, CHAPMAN FA, WEI CI, *et al.* Preliminary studies on SDS-PAGE and isoelectric focusing identification of sturgeon sources of caviar [J]. *J Food Sci*, 2010, 61(3): 533–536.
- [46] CZESNY S, DABROWSKI K, CHRISTENSEN JE, *et al.* Discrimination of wild and domestic origin of sturgeon ova based on lipids and fatty acid analysis [J]. *Aquaculture*, 2000, 189(1): 145–153.
- [47] 杜洋. 气相色谱法在油品分析中的应用[J]. *当代化工研究*, 2024(2): 101–103.
- DU Y. Application of gas chromatography in oil analysis [J]. *Mod Chem Res*, 2024(2): 101–103.
- [48] WUERTZ S, GRÖPER B, GESSNER J, *et al.* Identification of caviar from increasing global aquaculture production—Dietary capric acid as a labelling tool for CITES implementation in caviar trade [J]. *Aquaculture*, 2009, 298(1): 51–56.
- [49] 孙静. 气相色谱-质谱联用技术研究进展及前处理方法综述[J]. *当代化工研究*, 2017(9): 4–5.
- SUN J. Review of research progress and pretreatment methods of gas chromatography-mass spectrometry technology [J]. *Mod Chem Res*, 2017(9): 4–5.
- [50] 许蓉蓉, 黄焯焱, 莫家钰. 基于联产工艺的橙皮精油气相色谱-质谱指纹图谱的构建及成分分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(14): 188–194.
- XU RR, HUANG XY, MO JY. Establishment of gas chromatography mass spectrometry fingerprint and composition study of orange peel essential oil based on co-production process [J]. *J Food Saf Qual*, 2024, 15(14): 188–194.
- [51] LEE S, KIM EJ, KWON E, *et al.* Identification of terpene compositions in the leaves and inflorescences of hybridcannabisspecies using headspace-gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2023, 28(24): 1.
- [52] VERMA DK, SRIVASTAV PP. A paradigm of volatile aroma compounds in rice and their product with extraction and identification methods: A comprehensive review [J]. *Food Res Int*, 2020, 130: 108924.
- [53] SOHAIL A, AL-DALALI S, WANG JN, *et al.* Aroma compounds identified in cooked meat: A review [J]. *Food Res Int*, 2022, 157: 111385–111385.
- [54] 马双, 郝淑贤, 李来好, 等. 基于主成分分析的六种鱼子酱挥发性成分评价[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(11): 269–276.
- MA S, HAO SX, LI LH, *et al.* Volatile compound evaluation of six varieties of caviar by principal components analysis [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(11): 269–276.
- [55] LOPEZ A, VASCONI M, BELLAGAMBA F, *et al.* Volatile organic compounds profile in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar at different stages of ripening by multiple headspace solid phase microextraction [J]. *Molecules*, 2020, 25(5): 1074–1088.
- [56] PANZELLA L, BENNING K, NESBETH DN, *et al.* Identification of black sturgeon caviar pigment as eumelanin [J]. *Food Chem*, 2022, 373(PB): 131474–131479.
- [57] 关海宁, 赵士发, 刘登勇, 等. 基于分子感官科学的肉制品风味研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(6): 352–361.
- GUAN HN, ZHAO SF, LIU DY, *et al.* Research progress of meat product flavor based on molecular sensory science [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2024, 45(6): 352–361.
- [58] ZHANG BS, SUN ZG, LIN LC, *et al.* Analysis of the effect of mixed fermentation on the quality of distilled jujube liquor by gas chromatography-ion mobility spectrometry and flavor sensory description [J]. *Foods*, 2023, 12(4): 795–795.
- [59] 何珊. 气相-离子迁移谱在食品风味检测中的应用[J]. *农产品加工*, 2021(14): 80–85, 90.
- HE S. Application of gas chromatography-ion mobility spectrometry in foodflavor detection [J]. *Farm Prod Process*, 2021(14): 80–85, 90.
- [60] 陈瑶, 朱凯悦, 张玉莹, 等. 基于气相-离子迁移谱分析不同品种鱼子酱挥发性成分差异[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(24): 235–241.
- CHEN Y, ZHU KY, ZHANG YY, *et al.* Analysis of volatile components in various caviars based on gaschromatography-ion mobility spectroscopy [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(24): 235–241.
- [61] NATALIA AM, MARÍA GN, ANA CASTELL, *et al.* Untargeted headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry analysis for detection of adulterated honey [J]. *Talanta*, 2019, 205: 120123.
- [62] 余远江, 庞一扬, 袁桃静, 等. 基于电子鼻、HS-GC-IMS 和 HS-SPME-GC-MS 分析五种水产原料的风味特征[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(19): 106–117.
- YU YJ, PANG YY, YUAN TJ, *et al.* Analysis of flavor characteristics of five aquatic raw materials based on electronic nose, HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(19): 106–117.
- [63] 周春红, 王雪娇, 段筱筠, 等. 基于气相色谱-离子迁移谱法分析不同种类功能性油脂中挥发性成分[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(7): 178–188.
- ZHOU CH, WANG XJ, DUAN YY, *et al.* Analysis of volatile components in different types of functional lipids using gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. *China Food Addit*, 2024, 35(7): 178–188.
- [64] 刘晨, 陈复生, 夏义苗, 等. 拉曼光谱技术在食品分析中的应用[J]. *食品工业*, 2020, 41(4): 267–271.
- LIU C, CHEN FS, XIA YM, *et al.* Analysis in food using raman spectroscopy [J]. *Food Ind*, 2020, 41(4): 267–271.

- [65] EWEN S, GEOFFREY D. Modern Raman spectroscopy: A practical approach [M]. John Wiley Sons, 2015.
- [66] GULIA S, GULATI KK, GAMBHIR V, *et al.* Detection of explosive materials and their precursors through translucent commercial bottles using spatially offset Raman spectroscopy using excitation wavelength in visible range [J]. Opt Eng, 2019, 58(12): 1.
- [67] NIKKI K, SANCHITA S, TARU V, *et al.* Challenges in application of Raman spectroscopy to biology and materials [J]. RSC Adv, 2018, 8(46): 25888–25908.
- [68] 刘会俏, 付金金, 王思甜, 等. 表面增强拉曼散射光谱在 miRNAs 检测中的研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2024, 44(8): 2111–2119.
- LIU HQ, FU JJ, WANG ST, *et al.* Research progress of surface-enhance Raman scattering spectrum for miRNAs detection [J]. Spectrosc Spect Anal, 2024, 44(8): 2111–2119.
- [69] 李晨, 赵超敏, 古淑青, 等. 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留的拉曼光谱法快速检测[J]. 现代食品科技, 2022, 38(3): 286–292, 298.
- LI C, ZHAO CM, GU SQ, *et al.* Rapid determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products by Raman spectroscopy [J]. Mod Food Sci Technol, 2022, 38(3): 286–292, 298.
- [70] MONAVAR MH, AFSETH NK, LOZANO J, *et al.* Determining quality of caviar from Caspian Sea based on Raman spectroscopy and using artificial neural networks [J]. Talanta, 2013, 111: 98–104.
- [71] 顾春华, 刘煜, 王建军, 等. 食品欺诈检测中分子生物学技术的应用进展[J]. 食品工业, 2020, 41(8): 214–218.
- GU CH, LIU Y, WANG JJ, *et al.* Advances in the application of molecular biology techniques in food fraud detection [J]. Food Ind, 2020, 41(8): 214–218.
- [72] LUDWIG A, DEBUS L, LIECKFELDT D, *et al.* When the American sea sturgeon swam east [J]. Nature, 2002, 419(6906): 447–448.
- [73] 谢思芸, 徐仁杰, 方丽, 等. DNA 条形码技术对鱼子酱物种溯源及鉴定[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 320–326.
- XIE SY, XU RJ, FANG L, *et al.* DNA barcoding for the tracing and identification of caviar species [J]. Mod Food Sci Technol, 2023, 39(7): 320–326.
- [74] HU Q, PAN Y, XIA H, *et al.* Species identification of caviar based on multiple DNA barcoding [J]. Molecules, 2023, 28(13): 5046–5061.
- [75] DESALLE RJ, BIRSTEIN VJ. Method and compositions for identification of species origin of caviar [Z]. 1997.
- [76] BIRSTEIN VJ, DOUKAKIS P, DESALLE R. Molecular phylogeny of Acipenserinae and black caviar species identification [J]. J Appl Ichthyol, 2010, 15(4–5): 12–16.
- [77] KORNIEENKO IV, CHEBOTAREV DA, MAKHOTKIN MA, *et al.* Termination of replication and mechanisms of heteroplasmy in sturgeon mitochondrial DNA [J]. Mol Biol, 2019, 53(1): 53–63.
- [78] MUGUE NS, BARMINTSEVA AE, RASTORGUEV SM, *et al.* Polymorphism of the mitochondrial DNA control region in eight sturgeon species and development of a system for DNA-based species identification [J]. Russ J Genet, 2008, 44(7): 913–919.
- [79] 梁子英, 刘芳. 实时荧光定量 PCR 技术及其应用研究进展[J]. 现代农业科技, 2020(6): 1–3, 8.
- LIANG ZY, LIU F. Research progress on real-time quantitative PCR technology and its application [J]. Mod Agric Sci Technol, 2020(6): 1–3, 8.
- [80] 汪艺, 冯俊丽, 戴志远, 等. 实时荧光定量聚合酶链式反应快速鉴定三种鲑鱼[J]. 核农学报, 2020, 34(10): 2190–2198.
- WANG Y, FENG JL, DAI ZY, *et al.* Rapid identification of three cod species by quantitative real-time polymerase chain reaction [J]. J Nucl Agric Sci, 2020, 34(10): 2190–2198.
- [81] 王坤, 林霖, 吴佳辉, 等. 水产品及其制品中大西洋鲑鱼实时荧光 PCR 检测方法建立[J]. 食品科技, 2021, 46(1): 298–302.
- WANG K, LIN L, WU JH, *et al.* Detection method construction by real-time PCR for salmosalar in aquatic product and its processed products [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(1): 298–302.
- [82] 刘金玉, 季超, 靳佳瑞, 等. 实时荧光 PCR 在虹鳟源性成分鉴别中的应用[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(12): 177–182.
- LIU JY, JI C, JIN JR, *et al.* Application of real-time PCR in identification of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) source components [J]. Food Res Dev, 2021, 42(12): 177–182.
- [83] 方军, 林晨, 张志军, 等. 实时荧光 PCR 法在鱼翅鉴别中的应用[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(24): 132–136.
- FANG J, LIN C, ZHANG ZJ, *et al.* Identification of shark fins with real-time PCR method [J]. Food Res Dev, 2017, 38(24): 132–136.
- [84] 万超, 代弟, 屈菲, 等. 实时荧光定量 PCR 法鉴别俄罗斯鲑鱼子酱分子[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 514–518.
- WAN C, DAI D, QU F, *et al.* Identification of *Acipenser gueldenstaedtii* caviar molecules by real-time fluorescence quantitative PCR [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(2): 514–518.
- [85] TELETCHEA F. Molecular identification methods of fish species: Reassessment and possible applications [J]. Rev Fish Biol Fisher, 2009, 19(3): 265–293.
- [86] FERRITO V, BERTOLINO V, PAPPALARDO MA, *et al.* 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.
- [87] PAPPALARDO MA, FERRITO V. A COI Bar-RFLP strategy for the rapid detection of *Engraulis encrasicolus* in processed anchovy products [J]. Food Control, 2015, 57: 385–392.
- [88] PAPPALARDO MA, FEDERICO C, SACCONI S, *et al.* Differential flatfish species detection by COI Bar-RFLP in processed seafood products [J]. Eur Food Res Technol, 2018, 244(12): 2191–2201.
- [89] WOLFC HP, LUTHY J. Differentiation of sturgeon species by PCR-RFLP [J]. Food Res Int, 1999, 32(10): 699–705.
- [90] PAPPALARDO AM, PETRACCIOLI A, CAPRIGLIONE T, *et al.* From fish eggs to fish name: Caviar species discrimination by COI Bar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade [J]. Molecules, 2019, 24(13): 2468–2477.
- [91] NIRMAL KB, ELAMPILAY TS, DIVAKARAN M, *et al.* Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and derived techniques [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2222: 219–247.
- [92] DONG Z, ZHOU E. Application of the random amplified polymorphic DNA technique in a study of heterosis in common carp, *Cyprinus carpio* L [J]. Aquac Res, 1998, 29(8): 595–600.
- [93] 张锡元, 张德春, 杨代淑, 等. 长江鲢遗传多样性的随机扩增多态 DNA 分析[J]. 水产学报, 1999(S1): 7–14.
- ZHANG XY, ZHANGDC, YANG DS, *et al.* Random expansion polymorphic DNA analysis of genetic diversity of silver carp [J]. J Fish China, 1999(S1): 7–14.

- [94] 薛国雄, 刘棘, 刘洁. 三江水系草鱼种群RAPD分析[J]. 中国水产科学, 1998(1): 2–6.
- XUE GX, LIU J, LIU J. RAPD analysis of grass carp population in Sanjiang River system [J]. J Fish Sci China, 1998(1): 2–6.
- [95] SCML RR. Use of RAPD markers to determine the genetic relationships among sturgeons (Acipenseridae, pisces) [J]. Fisheries Sci, 1998, 64(1): 35–38.
- [96] BARMINTSEVA VC, ABRAMOVA AB. Molecular and biological methods of identification and certification of sturgeons and their products [J]. Fish Farm Fish, 2001, 1: 70–71.
- [97] CHELOMINA GN, ROZHKOVA KV, IVANOV SA. Discrimination of interspecific hybrids in natural populations of Amur sturgeon fishes using multilocus RAPD-PCR markers [J]. Tsitol Genet, 2008, 42(5): 61–71.
- [98] SHEDKO SV, SHEDKO MB. Unidirectional hybridization of *Kaluga acipenser* Dauricus Georgi, 1775 and Amur Sturgeon *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869, inferred from the mitochondrial DNA genotyping of their natural hybrids [J]. Genetika, 2016, 52(3): 332–338.
- [99] 侯红红, 苗亮, 李明云, 等. “东海 1 号”大黄鱼选育 F4 代遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 宁波大学学报(理工版), 2018, 31(4): 31–35.
- HOU HH, MIAO L, LI MY, *et al.* AFLP analysis of genetic diversity of F4 generation of “Donghai No.1” large yellow croaker [J]. J Ningbo Univ (Nat Sci Eng Ed), 2018, 31(4): 31–35.
- [100] 陈铭, 范蔓桦, 张葵新, 等. 基于 Cytb 及 AFLP 标记探讨仿石鲈科及相关科属分子系统进化关系[J]. 中国水产科学, 2021, 28(7): 832–844.
- CHEN M, FAN MH, ZHANG KX, *et al.* Molecular phylogenetic relationships of Haemulidae species and related families/genera based on Cytb and AFLP markers [J]. J Fish Sci China, 2021, 28(7): 832–844.
- [101] 安丹丹, 代应贵, 邹习俊. 基于 AFLP 分析的乌江四川裂腹鱼种群遗传结构及多样性研究[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(4): 39–45.
- AN DD, DAI YG, ZOU XJ. AFLP analysis of genetic structure and diversity in population of schizothorax kolzovi from the Wujiang River [J]. Prog Fish Sci, 2021, 42(4): 39–45.
- [102] CONGIU L, DUPANLOP I, PATARNELLO T, *et al.* Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: The case of sturgeon [J]. Mol Ecol, 2001, 10(9): 2355–2359.
- [103] CONGIU L, FONTANA F, PATARNELLO T, *et al.* The use of AFLP in sturgeon identification [J]. J Appl Ichthyol, 2002, 18(4-6): 286–289.
- [104] 刘洋, 鲁翠云, 李超, 等. 应用微卫星标记鉴别施氏鲟、达氏鲟及其杂交子代[J]. 水产学杂志, 2015, 28(1): 18–23.
- LIU Y, LU CY, LI C, *et al.* Genetic identification of Amur Sturgeon, *Kaluga* and their hybrids based on microsatellite markers [J]. Chin J Fish, 2015, 28(1): 18–23.
- [105] JENNECKENS I, MEYER JN, HÖRSTGEN-SCHWARK G, *et al.* A fixed allele at microsatellite locus LS-39 exhibiting species-specificity for the black caviar producer *Acipenser stellatus* [J]. J Appl Ichthyol, 2001, 17(1): 1046.
- [106] 胡佳, 汪登强, 危起伟, 等. 施氏鲟、达氏鲟及其杂交子代的分子鉴定[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 21–30.
- HU J, WANG DQ, WEI QW, *et al.* Molecular identification of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*), *kaluga* (*Huso dauricus*) and their reciprocal hybrids [J]. J Fish Sci China, 2010, 17(1): 21–30.
- [107] ZHANG X, WU W, LI L, *et al.* Genetic variation and relationships of seven sturgeon species and ten interspecific hybrids [J]. Genet Sel Evol, 2013, 45(1): 21.
- [108] BARMINTSEVA AE, MUGUE NS. The use of microsatellite loci for identification of sturgeon species (Acipenseridae) and hybrid forms [J]. Russ J Genet, 2013, 49(9): 1093–1105.
- [109] BOSCARI E, BARMINTSEVA A, PUJOLAR JM, *et al.* Species and hybrid identification of sturgeon caviar: A new molecular approach to detect illegal trade [J]. Mol Ecol Resour, 2014, 14(3): 489–498.
- [110] OGDEN RGK, MUGUE N. Sturgeon conservation genomics: SNP discovery and validation using RAD sequencing [J]. Mol Ecol, 2013, 22(11): 3112–3123.
- [111] HAVELKA M, FUJIMOTO T, HAGIHARA S, *et al.* Nuclear DNA markers for identification of beluga and sterlet sturgeons and their interspecific Bester hybrid [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1694–1701.
- [112] NDP H, SUJEEVAN R, RJ D. Barcoding animal life: Cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270: 96–99.
- [113] WARD RD, ZEMLAK TS, INNES BH, *et al.* DNA barcoding Australia's fish species [J]. Philos T R Soc B, 2005, 360(1462): 1847–1857.
- [114] BIRSTEIN VJ, DESALLE R, DOUKAKIS P, *et al.* Testing taxonomic boundaries and the limit of DNA barcoding in the Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* [J]. Mitochondr DNA, 2009, 20(5-6): 110–118.
- [115] DOUKAKIS P, PIKITCH EK, ROTHSCCHILD A, *et al.* Testing the effectiveness of an international conservation agreement: Marketplace forensics and CITES caviar trade regulation [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40907.
- [116] JOHNSON TA, IYENGAR A. Phylogenetic evidence for a case of misleading rather than mislabeling in caviar in the United Kingdom [J]. J Forensic Sci, 2015, 60: 248–253.
- [117] GÜNTHER B, RAUPACH MJ, KNEBELSBERGER T. Full-length and mini-length DNA barcoding for the identification of seafood commercially traded in Germany [J]. Food Control, 2017, 73: 922–929.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)

作者简介



徐 婷, 硕士, 主要研究方向为生物鉴定技术。

E-mail: xxxxudsr@163.com



管 峰, 博士, 副教授, 主要研究方向为动物生物技术。

E-mail: guanfengzgjl@163.com