

(2)

# 加工鱼产品种类的电泳鉴定

201-~~203~~  
203.229

赵金良 李思发

TS254.5

(农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室,上海水产大学,200090)

**提 要** 介绍了几种鱼的白肌在乳酸脱氢酶和蛋白质电泳表型上种的特异特征。鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼白肌乳酸脱氢酶的谱带数不同,活性强度亦不同;蛋白质电泳图谱的迁移率也有差异,这类特征可为加工鱼产品的种类鉴定提供可靠判据。鱼类电泳鉴定技术的标准化及其应用将为规范鱼品加工业,检验鱼产品提供理想的检测手段。

**关键词** 鱼品加工 种类 电泳

## Electrophoretic Identification on Fish Species of Fish Processing Product

ZHAO Jin-liang LI Si-fa ( Key Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture, Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, 200090 )

**Abstract** The species-specific patterns of lactate dehydrogenase isozyme and general protein in white muscles of silver carp, bighead carp, grass carp, black carp and nile tilapia are displayed by polyacrylamide gel electrophoresis, which can be used as biochemical markers to identify the species of undetermined fish processing products. The standardization of fish electrophoretic identification technique and its application would provide an ideal measure to regulate fish product processing industries, and to inspect and certificate their products.

**Key words** Fish processing product Fish species Electrophoretic identification

随着市场上加工鱼产品的逐年稳步增长,为监查食品加工,保护消费者利益,对加工鱼产品的真实材料(鱼的种类)进行鉴定显得越来越重要。由于加工使得鱼体的外部形态特征消失或变得模糊不清,鱼产品的材料中甚至混有其它种类,因而给检验带来了一定的困难。

电泳是区分不同蛋白质的一种简单、快速而有效的方法,当与显示一般蛋白质或特殊酶的灵敏组化方法相结合时,电泳技术可

用来提供细胞、组织和器官里蛋白质组成的本质特性,进而进行种类的鉴定。这一技术在国内的食品加工上已得到了较广泛的应用(Shaklee, et al., 1986; Hisahi Ichikawa, 1997)。本文以几种常见食用鱼为例,介绍对它们的电泳鉴定判据。

## 材料和方法

### 1. 样本的制备和保存

取鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼背侧白肌,于低温冰箱中保存。分析时,取 0.3 g 组织样按 1:3 (w/v) 加 0.3% 的 NAD 液,4℃,12000 r.p.d 离心 20 min,取上清液于 4℃ 冰箱中保存备用。

## 2. 电泳鉴定中标准同工酶和蛋白质的选择

每种生物都有其种的特异性,在生化上表现为蛋白质(或酶)的组成和结构不同。在鱼类的各类同工酶中,乳酸脱氢酶具有明显的种特异性,且表达稳定,被广泛应用于亲本和杂种鉴定及物种进化、亲缘关系的研究(Market et al., 1965; 朱蓝非, 1982; 朱蓝非等, 1983)。加工后的鱼产品因同工酶活性未受到严重破坏,选用它可作鉴别种的标志。

蛋白质(尤其是结构蛋白)是鱼类体肌的主要组成成分,也是鱼产品的主要组成部分。当鱼产品经特殊加工处理后,一些活性蛋白的功能会明显减弱,甚至完全丧失。但仍保有种的某些特异性特征,据此也可鉴别其所属种类(cowie 1986; Seki N., 1976)。

## 3. 电泳及扫描

用聚丙烯酰胺凝胶在水平电泳仪上电泳,电泳法按李思发等的方法(1998)进行。乳酸脱氢酶用浓度为 4% 的凝胶;肌肉蛋白用 5% 的凝胶、考马斯蓝染色。电泳谱带用 LKB 激光扫描仪扫描。

## 实例与分析

### 1. 不同鱼类的种特异性生化标志

(1) 乳酸脱氢酶 鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼白肌中乳酸脱氢酶的表型见图 1。每种鱼的白肌中乳酸脱氢酶的表型特征各不相同:①谱带数不同。鲢、鳙、草、青均有 5 条谱带,尼罗罗非鱼只有 2 条谱带;②不同种类的鱼,其谱带的迁移率不同。鲢、鳙鱼的 5 条谱带间距较小,而草鱼、青鱼的谱带间距较大;③各种鱼的谱带,其相对活性强度不同。虽然鲢鱼与鳙鱼的电泳表型特征较为相似,但经扫描定量分析,其谱带的相对活性强度不同(李思发等, 1998)。

(2) 蛋白质 鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼白肌蛋白质的电泳图谱见图 2。根据迁移

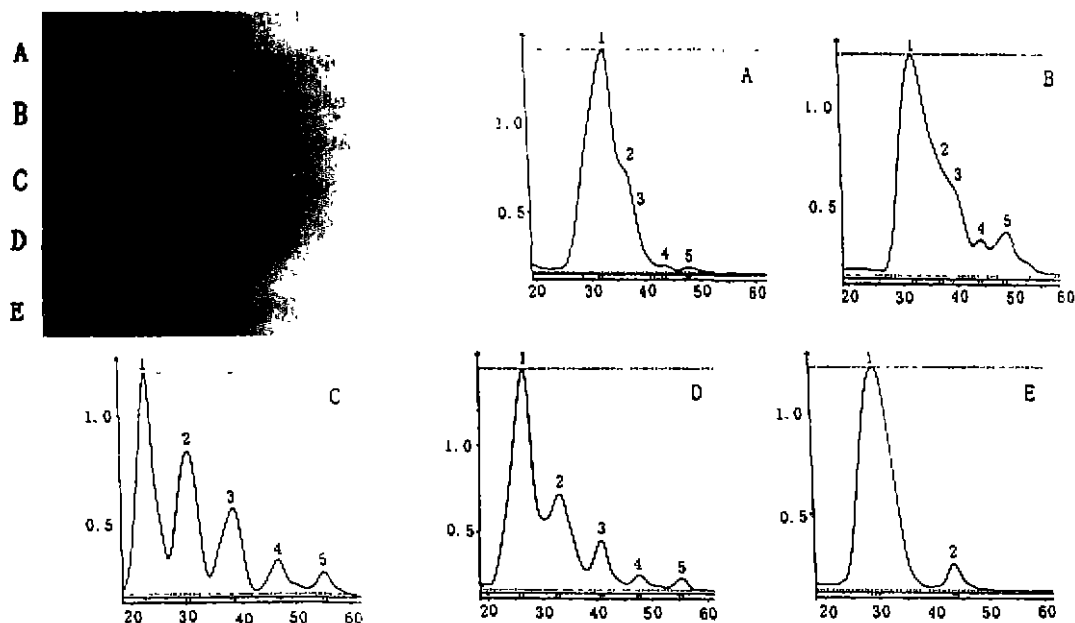


图 1 鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼白肌中乳酸脱氢酶电泳图谱及扫描图

率不同可分为 I、II、III、IV、V、VI 等 6 个区。

第 I 区中,鲢表现为 1 条慢带  $S_{1-1}$ ,鳙、草鱼分别表现为 2 条带 ( $S_{1-1}$ 、 $S_{1-2}$ ),青鱼、尼罗罗非鱼各表现为 1 条快带  $S_{1-2}$ ;第 II 区中不同种鱼表型各不相同,鲢表现为 2 条带 ( $S_{2-1}$ 、 $S_{2-3}$ ),鳙鱼表现为 4 条带 ( $S_{2-1}$ 、 $S_{2-3}$ 、 $S_{2-4}$ 、 $S_{2-5}$ ),草鱼表现为 2 条带 ( $S_{2-3}$ 、 $S_{2-5}$ ),青鱼表现为 2 条带 ( $S_{2-3}$ 、 $S_{2-4}$ ),尼罗罗非鱼表现 3 条带 ( $S_{2-1}$ 、 $S_{2-3}$ 、 $S_{2-5}$ );第 III 区中,鲢表现为 2 条带 ( $S_{3-1}$ 、 $S_{3-3}$ ),鳙、草、青、尼罗罗非鱼分别表现为 1 条带,依次为  $S_{3-3}$ 、 $S_{3-3}$ 、 $S_{3-4}$ 、 $S_{3-2}$ ;第 IV 区中,五种鱼均表达有 1 条  $S_4$  带;第 V 区中,鲢、鳙、草、青均表达有 1 条  $S_5$  带,尼罗罗非鱼中未见表达;第 VI 区中表现为 1 条  $S_6$  带,仅在草鱼中表达,其它种类中未见表达。

从上述实例中可以看出,鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼的白肌在乳酸脱氢酶和蛋白质的表型特征上都具有明显的种特异性。因而我们可根据这一特性鉴别鱼产品的所属种类。

## 2. 鉴定中的注意事项

通常在对鱼产品进行检测时,要选定一

已知种类作为参照。电泳后,根据被检样品与参照样品电泳特征的异同比较来判断。多数鱼类的背肌都有白肌和红肌两种,其中以白肌占主要地位。这两种肌肉有着根本的生理和生化差别 (Sharp, et al., 1978),它们所含有的酶和一般蛋白质也不完全相同 (Hamoir, et al., 1972),因而在选择参照样品作对照分析时,须保证参照样品与检测样品的组成一致性。其次,要保证参照样品与检测样品的处理一致性。不同的鱼产品,因加工处理的方式不同,加工以及加工后的不同保存也会使得鱼产品中某些生化成分发生改变 (Keen, et al., 1985)。参照样品也应和检测样品一样,作相同处理。此外,还应注意检测条件一致性,以得到准确可信的鉴定结果。

一般来说,不同物种的蛋白质(或酶),其电泳特性各不相同,通过一般的电泳方法就可以很好地分离鉴别。但有些种类,特别是一些相近种,生化组成非常相似,较难区别。在这种情况下,可通过选用其它的电泳技术,如薄层凝胶等电聚焦电泳、尿素-SDS-聚丙烯

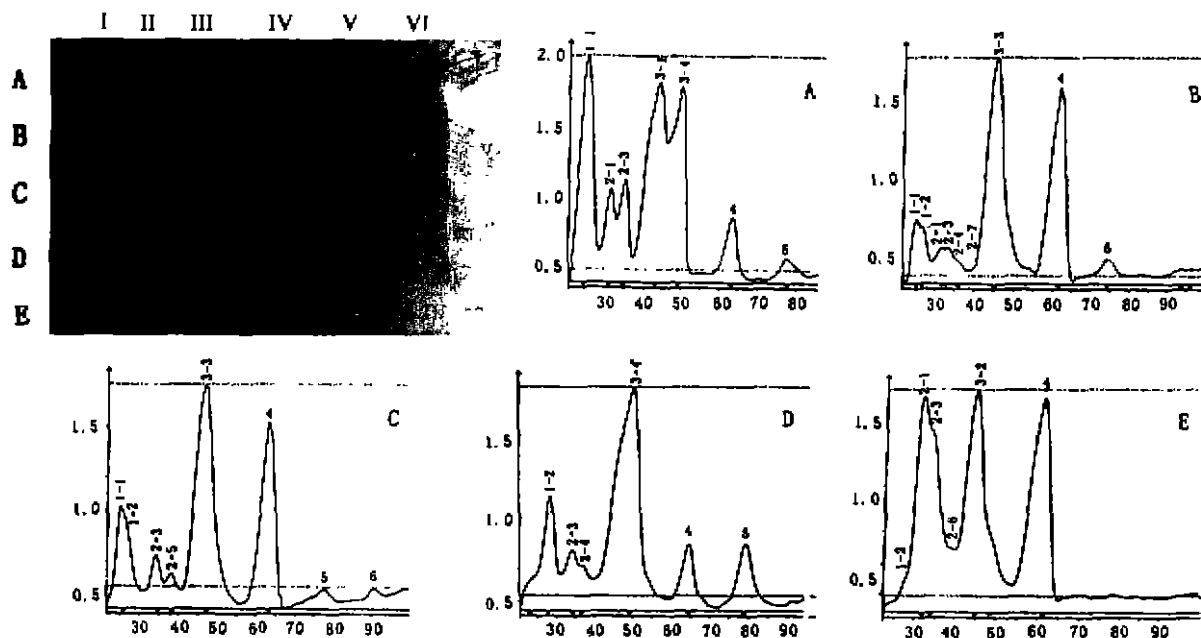


图 2 鲢、鳙、草、青、尼罗罗非鱼白肌蛋白的电泳图谱及扫描图

(A: 鲢, B: 鳙, C: 草鱼, D: 青鱼, E: 尼罗罗非鱼)

(下转第 229 页)

主要元素是碳、氢、氧、氮四种,是构成碳水化合物、脂肪和蛋白质等的主要成分,被称为有机元素,约占体重的95%。还有3%~5%是无机元素,动物对其需要量在0.01%以上的叫常量元素,主要有钙、镁、钠、钾、磷、硫和氯等7种;需要量在0.01%以下的叫微量元素,约有20余种,如铁、铜、碘、锰、锌、钴、镍、铝等。

矿物质的主要功能:(1)构成机体的组成成分,如钙、磷是构成鳖的骨骼、牙齿和背甲腹甲的主要成分;(2)为各种酶、辅酶和酶的激活剂的组成成分。有提高蛋白质等营养物质利用率和促进生长的作用;(3)维持机体酸碱平衡和调节机体与水环境的渗透压,如钠、钾和氯等。

通过矿物质在水体中的渗透和扩散等,水生动物可以直接从水中吸收一部分矿物质,但主要仍然依靠从食物中获得。饲料中矿物质缺乏或含量过高,可引起各种疾病。如钙、磷缺乏会影响骨骼发育,产生软骨病;镁、钾、铜、碘缺乏,会影响生长发育;铜和铁缺乏,会使血球数量减少。相反,若钾、铁、锌、铜、碘含量过高,会延缓生长。

本公司在有关营养专家的指导下,通过长期的研究和生产实践,深刻体会到鳖饲料除了应保证有一定质和量的蛋白质、脂肪和碳水化合物三大基础营养外,合理使用维生素、矿物质等添加剂是保证鳖饲料优质全价的关键技术。

发稿编辑 朱选才

校对 汤惠明

(上接第203页)

酰胺凝胶双向电泳法等,或改变凝胶浓度、染色方法(如银染技术),以提高分离、显示灵敏度等来加强分离和区分效果。

**致谢:**本文承上海水产大学食品学院汪之和副教授审阅,谨致谢忱!

### 参考文献

1. 朱蓝菲. 几种鲤科鱼类及其杂种乳酸脱氢酶比较. 水生生物学集刊, 1982, 7(4): 540~542.
2. 朱蓝菲等. 20种鲤科鱼类同工酶表型分析及有关进化问题的探讨. 水产学报, 1983, 7(2): 146~151.
3. 李思发等. 中国淡水主要养殖鱼类种质研究, 71, 189~193. 上海科学技术出版社, 1998.
4. Cowie, W. P. . Identification of fish species by thin-slab polyacrylamide gel electrophoresis of muscle myogens. *Journal of Science Food and Agriculture*, 1986, 19, 226~229.
5. Hamoir, G. . B. Focant and M. Disteché. Protein criteria of differentiation of white, cardiac and various red muscle in carp. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1972, 41B: 665~674.
6. Hisashi Ichikawa. Species identification of the fish meat

by Urea-SDS-Poly acrylamide gel electrophoresis. *The East China Sea*, 1997, 1: 122~126.

7. Keen, C. P. . and J. B. Shaklee. Electrophoretic identification of fresh and cooked fish fillets and other marine product. *Food Technology in Australia*, 1985, 37: 117~128.
8. Market, C. L. et al. . Lactate dehydrogenase isozyme patterns of fish. *J. Exp. Zool.*, 1965, 159: 319~332.
9. Seki N. . Identification of fish Species by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the myofibrillar Protein. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1976, 42: 1169.
10. Shaklee, J. B. and Clive P. Keenan. A practical laboratory guide to the techniques and methodology of electrophoresis and its application to fish fillet identification. *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Marine Research Laboratories*, Report 117, 1986.
11. Sharp, G. D. and S. Pirages. The distribution of red and white muscle, their biochemistry and their biochemical phylogeny of selected scombird fishes. 41~78. in G. D. Sharp and A. E. Dizon (ed.). *The Physiological Ecology of Tunas*, New York Academic Press, 1978.

发稿编辑 汤惠明

校对 朱大白