

用稳定同位素质谱技术检测肉鸡色素的来源

王慧文^{1,2}, 杨曙明¹, 吴 伟¹

(1. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081;

2 河北北方学院 牧业工程系, 河北 张家口 075131)

摘 要: 通过分析肉鸡中稳定同位素 ^{13}C 值和 ^{15}N 值, 推断肉鸡色素的来源, 证明稳定同位素质谱技术可以作为调查动物饲料来源、追溯动物产品的方法。结果表明: 添加色素组, 随着色素添加量的增加 RCF 值显著升高 ($P < 0.05$); 撤除色素后, 各处理间的 RCF 值差异不显著 ($P > 0.05$); 鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 值在撤除色素前后的差异不显著 ($P > 0.05$)。饲喂不同含量的玉米组, 随着玉米含量的增加, 各组的 RCF 值有显著的差异 ($P < 0.05$); 当饲料中玉米的含量由 10% 换成 70% 时, 鸡爪的 RCF 值大幅度升高 ($P < 0.05$), 反之, 鸡爪的 RCF 值大幅度降低 ($P < 0.05$); 鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 值随着玉米含量的变化呈现显著差异 ($P < 0.05$)。另外, 添加色素组和饲喂玉米组, 当 RCF 值相同时, 鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 值有显著差异。

关键词: 稳定同位素质谱法; 色素; 肉鸡; 同位素质谱; 加丽素红; 稳定同位素

中图分类号: O657.63; O611.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2007)05 - 0608 - 04

Tracing the Origin of Pigments in Broilers by Stable Isotope Ratio Mass Spectrometry

WANG Hui-wen^{1,2}, YANG Shu-ming¹, WU Wei¹

(1. Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-product CAAS, Beijing 100081, China;

2 Department of Animal Science of Hebei North University, Zhangjiakou 075131, China)

Abstract: A method for tracing the origin of pigments in broilers by analyzing the ^{13}C and ^{15}N values of stable isotopes was developed and validated by stable isotope mass spectrometry. In group 1, the RCF values increased significantly ($P < 0.05$) with the increasing of the pigments quantity in feeds. After removal of the carophyll red in feeds, there was no significant difference ($P > 0.05$) in the RCF values between treatments. And there was no significant difference in the ^{13}C values in free fat dry mass muscles during the whole feeding period ($P > 0.05$). In group 2, there were significant differences in the RCF values between each treatment with the increasing of the contents of maize in basic diets. When the content of maize in feeds changed from 10% to 70%, the RCF values in chicken feet increased significantly ($P < 0.05$), vice versa. There were significant differences ($P < 0.05$) in ^{13}C values in free fat dry mass muscles with the change of contents of the maize in feeds. In addition, the treatments with the same RCF values had different ^{13}C values between group 1 and group 2.

Key words: Stable isotope mass spectrometry; Pigment; Broiler; Isotope mass spectrometry; Carophyll red; Stable isotope

近年来,“苏丹红”、“胭脂红”、“吊白块”、“红心蛋”事件的给社会造成很大的影响。人工合成色素、工业色素等食品加工原料的滥用给食品安全带来很大挑战。加丽素红是一种人工色素,它能使家禽产品的颜色更加鲜亮。国际上和我国规定它在禽类饲料中的最大添加量是 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 如果过量添加,会给消费者的健康带来极大的隐患。

稳定同位素作为一种示踪物,广泛用于动-植物相互关系研究中,动物组织中同位素的组成能真实反映一段时期内的食物来源信息。目前,可以通过稳定同位素技术鉴别植物源性产品,如蜂蜜、果汁、葡萄酒、油脂中是否掺假^[1-5],也有报道利用稳定同位素技术判断牛肉、羊肉、猪肉的饲料来源和地理起源,如 Piasentier 等^[6]报道可用羊肉蛋白质及脂肪中 ^{13}C 值和 ^{15}N 值追溯动物的饲养制度和地理起源, Schmidt 等^[7]和 Boner 等^[8]报道可以通过测定牛肉中的 ^{13}C 值来区分传统养殖和有机养殖的牛肉。但稳定同位素技术在肉鸡色素检测中应用,尚未见报道。

收稿日期: 2006 - 08 - 21; 修回日期: 2006 - 11 - 17

作者简介: 王慧文 (1973 -), 女, 河北康保人, 硕士研究生, 杨曙明, 联系人, Tel: 010 - 68975902, E-mail: smyang@foss.com.cn

本试验通过稳定同位素质谱技术确定肉鸡色素的来源，为检测人工色素产品提供理论依据和指导方法。

1 实验部分

1.1 材料与方法

1.1.1 实验动物 实验选用 320只刚出雏的爱拔益加肉鸡 (AA)作为供试鸡。实验鸡采用四层立体笼养，自由采食和饮水。鸡群按正常免疫程序进行免疫。

1.1.2 实验设计和日粮 实验分为两大组，每一大组采用 4个处理方式 (处理 1, 2, 3, 4)，每个处理重复 4次 (表 1)，每次 10只鸡。实验期为 42 d, 分为两期 (1~3周, 4~6周)。第一大组按 AA肉鸡营养需要标准配制玉米 - 豆粕 - 鱼粉型基础日粮，前 3周加丽素红在各组的添加量分别为 0、15、30、60 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在实验的第 3周末撤除加丽素红，继续饲喂 3周。具体日粮配方组成和实验日粮的营养水平略。

表 1 实验设计

Table 1 Experimental design

组别	1~3周 (前期)	4~6周 (后期)
处理 1	基础日粮	基础日粮
处理 2	基础日粮 + 15 mg/kg加丽素红	基础日粮
处理 3	基础日粮 + 30 mg/kg加丽素红	基础日粮
处理 4	基础日粮 + 60 mg/kg加丽素红	基础日粮
处理 5	含 10% 玉米的基础日粮	含 70% 玉米的基础日粮
处理 6	含 30% 玉米的基础日粮	含 30% 玉米的基础日粮
处理 7	含 50% 玉米的基础日粮	含 50% 玉米的基础日粮
处理 8	含 70% 玉米的基础日粮	含 10% 玉米的基础日粮

第二大组也采用 4个处理方式 (处理 5, 6, 7, 8)，每个处理重复 4次，每次 10只鸡。实验期为 42 d, 前 3周分别用玉米含量为 10%、30%、50%、70%的基础日粮饲喂，后 3周第 6和第 7处理的基础日粮不变，第 5和第 8处理改变日粮，分别用玉米含量为 70%和 10%的基础日粮饲喂。按 AA肉鸡营养需要标准配制玉米 - 豆粕 - 鱼粉型基础日粮，具体日粮配方组成和实验日粮的营养水平略。

1.2 样品采集与分析

1.2.1 样品采集 在实验的第 21 d和第 42 d, 每实验组的各次重复分别屠宰 3只试鸡，首先用罗氏比色扇分析肉鸡鸡爪的黄色度，以罗氏比色扇值 (RCF)表示，然后取胸肌至少 50 g, 在 - 20℃ 保存，待分析。

1.2.2 样品前处理 分析前，样品冷冻干燥 24 h后用研钵磨碎，再用索氏抽提器分馏出粗脂肪，剩余的为脱脂干物质 (主要成分为粗蛋白)。

1.2.3 主要仪器 Thermal Finnigan MAT DELTAplus XP同位素质谱仪，Flash NA 1112元素分析仪。

1.2.4 分析方法 取 0.20 mg粗蛋白，用锡箔杯包装好后通过自动采样器送到元素分析仪，在此，样品中碳元素和氮元素定量地转化为 CO_2 和 NO_x ，然后经气相色谱柱分离，进入同位素质谱仪中测定其 ^{13}C 和 ^{15}N 。计算公式为： $\%o = 1\,000 \times (R_{\text{样品}} - R_{\text{标准}}) / R_{\text{标准}}$ ，式中： $R_{\text{样品}}$ 是样品中同位素丰度比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)； $R_{\text{标准}}$ 是标准中同位素丰度比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)，C采用 PDB作为标准，N采用大气氮作为标准。

1.3 数据分析与处理

实验数据运用 SAS软件 6.12版进行单因素方差分析和邓肯氏多重比较。

2 结果与讨论

2.1 不同处理对 RCF值的影响

日粮在肉鸡体内滞留时间很短，营养物质被迅速消化吸收，相应色素物质也很快地沉积于肉鸡体内^[9]。本实验在第 21 d从每个重复随机抽取 3只肉鸡，用罗氏比色扇测定鸡爪的 RCF值，然后在更换日粮后的第 21 d再从每个重复随机抽取 3只肉鸡，用罗氏比色扇测定鸡爪的 RCF值。测定结果的均值如图 1和图 2所示。统计分析结果如表 2所示。

从图 1和图 2可以看出：添加色素组，随着色素添加剂添加量的增加，鸡爪的 RCF值也有所增加，增加的幅度

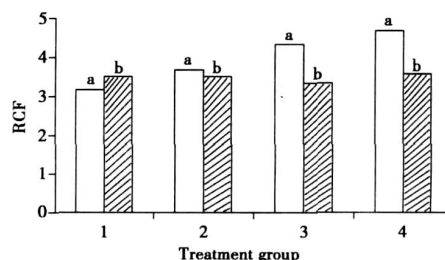


图 1 添加色素组前 (a)、后期 (b)色度比较
Fig. 1 Comparison on RCF values between former(a) and later period(b) of adding pigment groups

由各个处理中添加量高低决定。其中，处理 1 和处理 3、处理 4 之间差异显著 ($P < 0.05$)，处理 1 和处理 2 之间、处理 3 和处理 4 之间差异不显著 ($P > 0.05$)。当撤除色素添加剂后，各处理鸡爪的 RCF 值均有所下降，并且 4 个处理的 RCF 值差异均不显著 ($P > 0.05$)。由此可见，加丽素红对鸡爪的 RCF 值确实有影响。

饲喂不同玉米含量的实验组，随着玉米含量的增加，鸡爪的 RCF 值有显著升高，鸡爪颜色显著加深。当饲料中玉米的含量由 10% 换成 70% 时，鸡爪的 RCF 值大幅度升高 ($P < 0.05$)；当饲料中玉米的含量由 70% 换成 10% 时，鸡爪的 RCF 值大幅度降低 ($P < 0.05$)。处理 5 和处理 6 由于在饲养前、后期，饲料中玉米的含量没有改变，鸡爪的 RCF 值基本趋于稳定。由此可见，鸡爪的 RCF 值与玉米的含量相关。

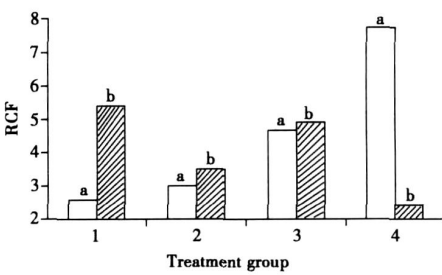


图 2 饲喂不同玉米含量组前 (a)、后期 (b) 色度比较
Fig. 2 Comparison on RCF values between former(a) and later period(b) of different contents of maize groups

表 2 添加色素组 and 不同含量玉米组对 RCF 值的影响 *
Table 2 Effect of adding pigment group and different maize group on RCF values *

Groups	RCF values(RCF值)		Groups	RCF values(RCF值)	
	Fomer period (前期)	Later period (后期)		Fomer period (前期)	Later period (后期)
Treatment 1 (处理 1)	3.17 ^b	3.50 ^a	Treatment 5 (处理 5)	2.58 ^c	5.42 ^a
Treatment 2 (处理 2)	3.67 ^{ab}	3.50 ^a	Treatment 6 (处理 6)	3.00 ^c	3.50 ^b
Treatment 3 (处理 3)	4.33 ^a	3.33 ^a	Treatment 7 (处理 7)	4.67 ^b	4.92 ^a
Treatment 4 (处理 4)	4.67 ^a	3.58 ^a	Treatment 8 (处理 8)	7.75 ^a	2.42 ^c

* 同一列不同肩标表示差异显著 ($P < 0.05$)，相同肩标表示差异不显著 ($P > 0.05$)，下同 (means in the same column with different superscripts are differ significantly ($P < 0.05$), same superscripts are differ insignificantly ($P > 0.05$). The following is the same as here)

2.2 不同处理对 ¹³C、¹⁵N 的影响

植物光合作用途径的不同，是产生碳同位素组成差异的主要原因，可以划分为 C₃ 植物、C₄ 植物和 CAM 植物。各类植物 ¹³C 都有一定的规律。C₃ 植物 ¹³C 值约为 - 22‰ ~ - 30‰，C₄ 植物 ¹³C 值约为 - 9‰ ~ - 14‰，CAM 约为 - 10‰ ~ - 22‰。植物同位素组成差异可以通过饮食传递给动物，并通过动物的代谢作用，使动物组织中同位素组成存在明显差异^[10]。因此，可以通过测定 ¹³C、¹⁵N 来推断饲料的主要成分，从而推断肉鸡 RCF 值究竟来源于什么。本实验测定了各处理鸡肉粗蛋白中 ¹³C、¹⁵N。测定结果如图 3 和图 4 所示。统计分析结果如表 3 和表 4 所示。

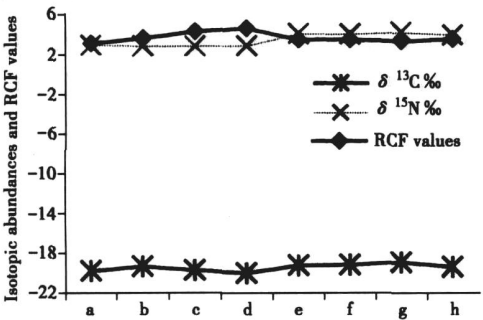


图 3 添加色素对 ¹³C‰、¹⁵N‰ 的影响
Fig. 3 Effect of adding pigment on ¹³C‰ values and ¹⁵N‰ values
a - d. treatment 1 - 4 in former period;
e - h. treatment 1 - 4 in later period

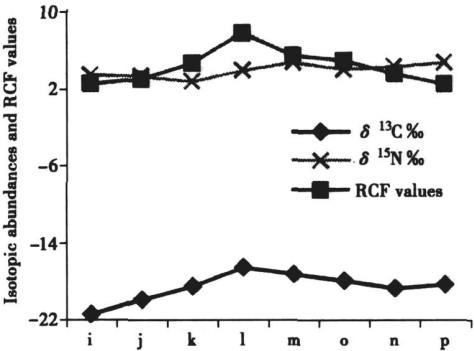


图 4 玉米含量对 ¹³C‰、¹⁵N‰ 的影响
Fig. 4 Effect of content of maize on ¹³C‰ values and ¹⁵N‰ values
i - l. treatment 5 - 8 in former period;
m - p. treatment 5 - 8 in later period

从图 3 和图 4 可以看出，添加色素组由于基础日粮中玉米的含量相同，虽然 RCF 值在撤除色素前后有明显的变化，但各处理鸡肉粗蛋白中 ¹³C 变化不大。而饲喂不同含量玉米组，随着玉米含量的变化，RCF 值和鸡肉粗蛋白中 ¹³C 值也相应地变化，且呈显著的正相关。由此可以推断，添加色素组鸡

爪 RCF值的变化是由色素添加剂引起的，而玉米组鸡爪 RCF值则是由日粮中玉米含量的不同而引起的。从表 4 可以看出，随着日粮中玉米含量的变化，各处理鸡肉粗蛋白中 ¹³C 存在显著差异 ($P < 0.05$)，处理 5 和处理 8 在更换日粮的第 21 d 后，¹³C 也相应地发生变化 ($P < 0.05$)，处理 6 和处理 7 由于日粮中玉米的含量没有改变，因此，在整个实验期 ¹³C 的差异不显著 ($P > 0.05$)。

添加色素组在实验前期和后期各处理间 ¹⁵N 的差异均不显著 ($P < 0.05$)，而在更换日粮前后有较大的差别。Delgado 和 Garcia 认为 ¹⁵N 和饲料中动物性蛋白的含量有关^[11]，因此，本实验中添加色素组后期 ¹⁵N 较高可能和饲料中鱼粉含量增加有关。饲喂不同含量的玉米组，¹⁵N 无明显的规律。Komexl 等^[12]和 Rossmann 等^[13]把动物产品中不稳定的 ¹⁵N 值归因于环境因素，因此，本实验饲喂不同含量玉米组 ¹⁵N 值不稳定可能与温度、湿度、光照、土壤、饲料条件均有关系。

2.3 讨论与结论

通过测定鸡肉粗蛋白中 ¹³C 值，初步判断鸡肉中的色度来源。肉鸡脚胫和皮肤色度、鸡肉粗蛋白中 ¹³C 值与饲料中玉米的含量呈显著的正相关。如果是由于饲喂玉米引起的肉鸡皮肤和脚胫呈金黄色 (RCF 值为 6 ± 1)，鸡肉中 ¹³C 值为 $-16.5\% \pm$

1% ，随着肉鸡脚胫和皮肤颜色的变浅，鸡肉中 ¹³C 值也相应地减小。如果肉鸡脚胫和皮肤的颜色呈金黄色，而鸡肉 ¹³C 值低于 -18% ，这种产品的真实性就值得怀疑。本实验处理 4 和处理 7 在实验前期测定的 RCF 值相同，但是，鸡肉中 ¹³C 值却有显著的差异，可以推断 ¹³C 值较低一组的色度来源于色素添加剂。因此，用稳定同位素质谱技术识别色素的来源是可行的，可以作为追溯动物产品来源的一种方法。

¹⁵N 值也可以作为追溯动物饲料来源的参照物^[14]。但是，¹⁵N 值往往受气候、土壤、饲料的影响，因此，单独利用 ¹⁵N 值追溯动物的饲料不太稳定，应该结合 ¹³C 值进行研究。

参考文献：

[1] WHITE J W, DONER L W. Mass spectrometric detection of high-fructose coin syrup in honey by use of ¹³C/¹²C ratio: collaborative study[J]. Journal of Association of Official Analytical Chemists, 1978, 61: 746 - 750

[2] WHITE J W. High-fructose coin syrup adulteration of honey: confirmatory testing required with certain isotope ratio values [J]. Journal of Association of Official Analytical Chemists, 1980, 63: 1168 - 1170

[3] DONER L W, KREUGER H W, REESMAN R H. Isotopic composition of carbon in apple juice[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1980, 28 (2): 362 - 364.

[4] ROSSMANN A, KOZLET J. Determination of the carbon - 13 content of sugar and pulp from juices by isotope - ration mass spectrometry (internal reference method) [J]. Anal Chim Acta, 1997, (340): 21 - 29.

[5] WOLFRAM M A. Stable isotope of fatty acid by gas chromatography - isotope ration mass spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2002, (465): 63 - 79.

[6] PASENTIER E, VALUSSO R, CAM N F. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat[J]. Meat Science, 2003, 64: 239 - 247.

[7] SCHM D T O, QU L T E R J M, BAHAR B, et al. Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis[J]. Food Chem, 2005, (91): 545 - 549.

[8] BONER M, FORSETEL H. Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef[J]. Analytical and B banalytical Chemistry, 2004, (378): 301 - 310.

[9] 付 静. 两种天然色素提取物对鸡蛋蛋黄品质调控的研究 [D]. 杨凌：西北农林科技大学，2002

(下转第 616 页)

- [10] ALBAHAD L Y F N, MOTTOLA H A. Improved response of carbon-paste electrodes for electrochemical detection in flow systems by pretreatment with surfactants[J]. Anal Chem, 1987, 59: 958 - 962
- [11] BARD A J, FAULKNER L R. Electrochemical methods - fundamentals and applications[M]. New York: John Wiley & Sons Inc., 1980: 223.
- [12] RAOOF J B, OJANIR, KOLBAD NEZHAD M. Electrocatalytic characteristics of ferrocenecarboxylic acid modified carbon paste electrode in the oxidation and determination of L-cysteine[J]. Electroanalysis, 2005, 17(22): 2043 - 2051.
- [13] ADAMS R N. Electrochemistry at Solid[M]. New York: Marcel Dekker, 1969: 220
- [14] 吴浩青, 李永舫. 电化学动力学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1998

(上接第 611 页)

- [10] 郭波莉, 魏益民, 潘家荣. 同位素溯源技术在食品安全中的应用 [J]. 核农学报, 2006, 20(2): 148 - 153
- [11] DELGADO A, GARCIA N. ^{15}N and ^{13}C analysis to identify cattle fed on feed containing animal protein: a safety/quality index in meat, milk and cheese [A]. In: 6th International Symposium on Food Authenticity and Safety [C]. 2001, Nantes, France
- [12] KORNEXL B E, WERNER T, ROSSMANN A, et al Measurement of stable isotope abundances in milk and milk ingredients—a possible tool for origin assignment and quality control[J]. Zeitschrift fuer Lebensmittel - Untersuchung und - Forschung, 1997, 205: 19 - 24.
- [13] ROSSMANN A, KORNEXL B E, VERSNIG, et al Origin assignment of milk from alpine regions by multi-element stable isotope ratio analysis[J]. Journal of Food Science & Nutrition, 1998, 1: 9 - 21.
- [14] SMON K, KARL H, JURAN H. Tracing the geographical origin of food: the application of multi-element and multi isotope analysis[J]. Trends in Food Science and Technology, 2005, 16: 555 - 567.

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

《分析测试学报》

国内刊号: CN 44 - 1318/TH

国际标准刊号: ISSN 1004 - 4957

国际刊名代码 CODEN: FCEXES

邮发代号: 46 - 104

国外代号: BM 6013

广告经营许可证: 粤 010029

《分析测试学报》是由中国分析测试协会、中国广州分析测试中心共同主办的全国性学术刊物, 中文核心期刊。刊登质谱学、光谱学、色谱学、波谱学、电化学、电子显微学等方面的分析测试新理论、新方法、新技术的研究成果, 介绍新仪器装置及在生物、医药、化学化工、商检、食品检验等方面实用性强的实验技术。适合科研院所、高等院校、检测机构、医药、卫生以及厂矿企业分析测试工作和管理人员阅读。

经过多年的发展, 本刊已成为国内知名的化学类核心期刊。2006年, 影响因子在全国分析学科刊物排名中列第 1 名, 被引频次每年递增约 30%, 稿源丰富, 基金论文比超过 70%。近几年, 本刊刊发的论文被 CA (美国化学文摘) 收录率达 94%, 2006 年引文频次在 CA 千种表国部分中列第 38 名, 并被国际上其它知名的数据库如日本科技文献速报、俄罗斯文摘、英国分析文摘 (AA)、《质谱公报》等收录。中文核心期刊 (入选《中文核心期刊要目总览》2004 年版); 进入由全国 8000 种期刊遴选出的 500 种科技期刊组成的“中国科技期刊精品数据库”; 中国学术期刊综合评价数据库 (CAJCED) 统计刊源; 中国科技论文统计源期刊 (中国科技核心期刊); 《中国科学引文数据库》来源期刊; 中国期刊全文数据库 (CJFD) 收录期刊; 《中国核心期刊 (遴选) 数据库》收录; 《中国学术期刊 (光盘版)》全文收录期刊; 《中国期刊网》全文收录期刊; 《中国学术期刊文摘 (英文版)》收录为源期刊等。

本刊自 2008 年起变更为月刊, 国内外公开发行。大 16 开, 单价: 12.00 元/册, 全年 144 元。请在全国各地邮局订阅。未在邮局订到者可直接向本编辑部补订。补订办法: 请从邮局汇款至广州市先烈中路 100 号《分析测试学报》编辑部, 邮编: 510070, 写明订户单位、详细地址、收刊人姓名、邮编及补订份数 (全年或某期), 电话: 020 - 87684776 或 37656606, <http://www.fxcsxb.com>, E-mail: fxcsxb@china.com。