

论著

COI 及 *cytb* 基因对河鲀鱼鱼种鉴定的适用性研究

李楠,王佳慧,韩春卉,张宏元,赵熙,张靖,李凤琴,江涛

(国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室,北京 100021)

摘要:目的 建立河鲀鱼 DNA 条形码鉴定方法,探讨细胞色素氧化酶亚基 I(*COI*)及细胞色素 b(*cytb*)基因对我国常见东方鲀属、兔头鲀属河鲀鱼鱼种鉴定的适用性。方法 野捕河鲀鱼经形态学鉴定后,钓取 *COI* 及 *cytb* 基因序列并测序。从 GenBank 下载已有河鲀鱼参考序列,分别构建 *COI* 及 *cytb* 基因分子进化树,确定样品种属并与形态学鉴定比对。应用所建方法对中毒样品进行河鲀成分鉴定。结果 *COI* 和 *cytb* 基因分子进化树将 57 份样品聚类到东方鲀属和兔头鲀属的 9 个鱼种,除棕斑兔头鲀和暗鳍兔头鲀(*COI* 进化树)、暗纹东方鲀和晕环东方鲀(*cytb* 进化树)外,2 种条形码均能对其余鱼种进行有效区分。中毒样品经鉴定均含有月兔头鲀。结论 所建立的 DNA 条形码方法可有效鉴定河鲀鱼鱼种,弥补形态学鉴定的缺陷。

关键词:河鲀鱼; *COI* 基因; *cytb* 基因; DNA 条形码; 鱼种; 鉴定; 食品安全

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2018)01-0006-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.01.002

Application of *COI* and *cytb* gene in species identification of pufferfishLI Nan, WANG Jia-hui, HAN Chun-hui, ZHANG Hong-yuan, ZHAO Xi,
ZHANG Jing, LI Feng-qin, JIANG Tao(Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health, China National Center
for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective Develop the identification method for puffer fish species and explore the applicability of cytochrome oxidase subunit I (*COI*) and cytochrome b (*cytb*) gene in species identification of *Takifugu* and *Lagocephalus*. **Methods** *COI* and *cytb* sequences of *Takifugu* and *Lagocephalus* were amplified and sequenced. Phylogenetic tree was built by MEGA 6.0 to determine the species of puffer fish. Several poisoning samples of roasted fish fillet were tested by the established method. **Results** Total 57 samples were classified into 9 species. Phylogenetic tree which were built based on *COI* and *cytb* gene could effectively distinguish most species except *Lagocephalus spadiceus* and *Lagocephalus gloveri*, *Takifugu obscures* and *Takifugu coronoidus* respectively. *Lagocephalus lunaris* were detected from poisoning samples. **Conclusion** DNA barcode method could effectively identify puffer fish and make up the defects in morphological identification.

Key words: Puffer fish; *COI* gene; *cytb* gene; DNA barcode; fish species; identification; food safety

河鲀鱼自古以来是我国沿海地区的传统美食,但是部分河鲀鱼含有河鲀毒素(tetrodotoxin, TTX),该毒素能够选择性抑制神经和骨骼肌细胞膜的钠离子通道,常规的食品加工方式不会使其降解^[1],因而食用或误食有毒河鲀鱼引起的 TTX 中毒历来是我国沿海地区食物中毒的主要死因之一。近年来随着食品掺假手段的不断翻新和物流发展,混入河鲀鱼成分鱼类制品也进入国内市场。据不完

全统计,2005—2016 年间在我国福建、上海、浙江、山东、江苏等地发生了 8 起因食用烤鱼片引起的 TTX 中毒事件,造成 14 人中毒 5 人死亡,病死率较高^[2]。这种鱼类制品中混入有毒河鲀鱼且行销市场的行为严重危害了消费者的健康和生命,因此对市售鱼类及其制品进行河鲀鱼成分鉴定及 TTX 含量监测,是预防 TTX 中毒、保护消费者健康与生命的有效手段,也自然成为河鲀鱼中毒事件中样品溯源的关键技术。

传统的河鲀鱼鱼种鉴定主要依赖于河鲀的外部形态学特征,但面对形态学特征缺失的鱼类制品时,传统形态学鉴定方法的应用几乎完全受到限制,这种情况下为开展食品溯源而进行的河鲀鱼鱼种鉴定方法必须另辟蹊径。DNA 条形码通过分析

收稿日期:2017-12-06

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81470148)

作者简介:李楠 女 副研究员 研究方向为食品卫生

E-mail:linan100041@cfsa.net.cn

通信作者:江涛 男 研究员 研究方向为食品卫生

E-mail:jiangtao001@cfsa.net.cn

标准化的线粒体 DNA 片段,能够快速准确的识别物种^[3],这种基于 DNA 的方法提供了一个强大且标准化的物种识别模式,已被成功地应用于海洋鱼类和淡水鱼类的鉴定^[4],弥补了传统形态学鉴定方法的缺陷,如残余物(鱼片、卵、幼体)的识别^[5],可用于解决传统形态学鉴定方法不能胜任的情况。目前国内外多数研究采用 *COI* 基因作为鱼类鉴定的参考基因,也有学者认为如果仅以一种基因序列作为参考基因,有可能导致鉴定结果发生偏差,因此建议同时使用 2 种基因进行鉴定^[6]。在河鲀鱼鱼种鉴定研究领域,倪健波^[7]建立了基于 *cytb* 基因的荧光定量聚合酶链式反应(PCR)检测技术,对 3 种兔头鲀进行了分析,其适用的河鲀鱼鱼种有待进一步验证。陈文炳等^[8]对 3 属 13 种河鲀鱼进行了 16S rRNA 基因的部分 DNA 序列同源性分析,探讨了该基因在河鲀鱼种属鉴别中应用的可能性,认为 16S rRNA 可能存在趋向保守、一定种群内遗传变异较小的问题,因而对部分鱼种无法鉴别到种,建议联合线粒体 *COI*、*cytb* 以及核糖体 18S/28S rDNA 等基因片段进行序列的组合分析。

本研究基于对河鲀鱼鱼种更精准的鉴定需要,针对我国常见的东方鲀属和兔头鲀属河鲀鱼分别设计了 *COI* 及 *cytb* 引物,探讨 *COI* 及 *cytb* 基因对河鲀鱼鱼种鉴定的适用性,目的是为鱼类制品的食用安全和河鲀鱼资源的合法利用提供相应技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

57 份野生河鲀鱼样品于 2006—2011 年间在我国福建省、广东省沿海地区采集,由福建省水产研究所专家对样品进行形态学鉴定并出具报告。3 份中毒样品为 2010 年在南京市引发一名 6 岁儿童中毒的烤鱼片可疑样品,其中 402、409 号样品标称为鳕鱼片,414 号样品标称为马面鱼,经酶联免疫吸附(ELISA)测定检测均含有 TTX。

1.1.2 主要仪器与试剂

基因扩增仪(美国 MJ Research)、微量可调移液器、电泳仪、恒温混匀仪、成像系统(美国 Bio-Rad)、小型高速离心机、涡旋振荡器。

DNA Marker III、 $2 \times TaqPCR$ MasterMix、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(普通离心柱型)均购自天根生化科技(北京)有限公司,pMD19-T Vector、JM109 感受态细胞均购自宝生物工程(大连)有限公司,DNeasy Blood & Tissue Kit[50 次,凯杰生物技术(上海)有限公司],引物由北京英骏生物技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取、扩增及测序

按照 DNeasy Blood & Tissue Kit 说明书提取 DNA。200 μ l AE 试剂洗脱 DNA, -20 $^{\circ}$ C 保存。

参照 GenBank 上发布的东方鲀属、兔头鲀属河鲀鱼 DNA 序列,选择位于 *COI*、*cytb* 基因两侧保守性较高的区域,分别设计合成针对兔头鲀属(*COI*-1, *cytb*-1)和东方鲀属(*COI*-2, *cytb*-2)的扩增引物,如表 1 所示。PCR 反应体系 50 μ l: $2 \times TaqPCR$ MasterMix 25 μ l,引物(10 μ mol/L)各 2 μ l, DNA 模板 11 μ l, ddH₂O 10 μ l。反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,58 $^{\circ}$ C 退火 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,33 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离后回收 DNA,连接、克隆、转化 JM109 感受态细胞,进行蓝白斑筛选。每份样品挑选 3 个白色菌落,摇菌后送北京英骏生物技术有限公司测序。

表 1 *COI* 及 *cytb* 引物

Table 1 Sequences of primer

鱼种	引物	序列(5'-3')	片段长度/bp
兔头 鲀属	<i>COI</i> -1	上游引物 AAACCACCGCCTGACACTC	1 650
		下游引物 GTGACAGAGTGGCTTTGTGG	
兔头 鲀属	<i>cytb</i> -1	上游引物 CAAGACCTGTGGCGTGAAA	1 157
		下游引物 ACTGTTGGTATTAGGACGAGG	
东方 鲀属	<i>COI</i> -2	上游引物 CCTCTGTATATGGGGCTACAAA	1 645
		下游引物 GGCTTGAACCAGTTTACGG	
东方 鲀属	<i>cytb</i> -2	上游引物 CCTATGGCGTGAAAAACCAC	1 222
		下游引物 ACAAGACCGACGCTCTGAAT	

1.2.2 数据分析

测序结果用 Contig Express 软件拼接并纠错后,去掉两端载体序列得到样品的 *COI* 及 *cytb* 基因序列。将得到的序列与 GenBank 数据库下载的东方鲀属、兔头鲀属的 *COI* 及 *cytb* 参考序列进行比较。采用 Clustal X 软件进行比对,应用 MEGA 6.0 软件构建基于邻接(NJ)法、最大似然(ML)法的分子进化树,置信度(bootstrap)1 000 次循环检查。

1.2.3 中毒样品鉴定

提取烤鱼片基因组 DNA、扩增、克隆和测序,构建分子进化树鉴定鱼种。

2 结果与分析

2.1 样品的形态学鉴定

经形态学鉴定,57 份样品涵盖东方鲀属和兔头鲀属的 9 个鱼种:暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)、黄鳍东方鲀(*Takifugu xanthopterus*)、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)、密点东方鲀(*Takifugu stictonotus*)、紫色东方鲀(*Takifugu porphyreus*)、棕斑

兔头鲂 (*Lagocephalus spadiceus*)、月兔头鲂 (*Lagocephalus lunaris*)、横纹东方鲂 (*Takifugu oblongus*) 和黑鳃兔头鲂 (*Lagocephalus inermis*)。

2.2 样品 COI 及 cytb 基因的扩增和克隆

成功扩增了 55 条 COI 序列及 57 条 cytb 序列, 43 号和 57 号样品的 COI 基因扩增失败, cytb 基因全部扩增成功。

2.3 分子进化树分析

从 GenBank 数据库下载 22 条 COI 序列及 23 条 cytb 序列作为东方鲂属和兔头鲂属鱼种参考序列 (见表 2), NJ 法、ML 法构建 COI 及 cytb 基因的分子进化树, 如图 1、2 所示。

由图 1 可见, 基于 COI 基因构建的 NJ 和 ML 进化树一致将 1~14 号样品归属到暗纹东方鲂, 15~21 号归属到黄鳍东方鲂, 22~36 号归属到红鳍东方鲂, 37~39 号归属到密点东方鲂, 40~42 号归属到紫色东方鲂, 54~56 号归属到月兔头鲂, 上述鱼种聚类的节点支持率在 73%~99%。对于 44~53 号样品, 两种进化树均将其与棕斑兔头鲂、暗鳍兔头鲂聚类到一起, 节点支持率为 97%~99%, 无法进一步明确分辨物种。

表 2 GenBank 参考序列

Table 2 Reference sequences from GenBank

属名	鱼种	GenBank 收录号		
		COI	cytb	
东方鲂属	红鳍东方鲂 (<i>Takifugu rubripes</i>)	AP009534	AP009534	
	黄鳍东方鲂 (<i>Takifugu xanthopterus</i>)	AP009533	AP009533	
	暗纹东方鲂 (<i>Takifugu obscurus</i>)	AP009527	AP009527	
	密点东方鲂 (<i>Takifugu stictonotus</i>)	AP009530	AP009530	
	紫色东方鲂 (<i>Takifugu porphyreus</i>)	AP009529	AP009529	
	横纹东方鲂 (<i>Takifugu oblongus</i>)	AP009535	AP009535	
	豹纹东方鲂 (<i>Takifugu pardalis</i>)	AP009528	AP009528	
	虫纹东方鲂 (<i>Takifugu vermicularis</i>)	AP009532	AP009532	
	弓斑东方鲂 (<i>Takifugu ocellatus</i>)	AP009536	AP009536	
	双斑东方鲂 (<i>Takifugu bimaculatus</i>)	KT833778	EF126094	
	星点东方鲂 (<i>Takifugu niphobles</i>)	AP009526	AP009526	
	铅点东方鲂 (<i>Takifugu alboblunbeus</i>)	KT833780	EF126097	
	虫斑东方鲂 (<i>Takifugu exascurus</i>)	AP009540	AP009540	
	斑点东方鲂 (<i>Takifugu poecilnotus</i>)	AP009539	AP009539	
	痣斑东方鲂 (<i>Takifugu chrysops</i>)	AP009525	AP009525	
	晕环东方鲂 (<i>Takifugu coronoidus</i>)	—	EF126103	
	兔头鲂属	暗鳍兔头鲂 (<i>Lagocephalus gloveri</i>)	FJ434548	FJ434548
		月兔头鲂 (<i>Lagocephalus lunaris</i>)	GQ461750	GQ461750
		兔头鲂 (<i>Lagocephalus lagocephalus</i>)	NC_015343	NC_015343
		凶兔头鲂 (<i>Lagocephalus scleratus</i>)	AP011932	AP011932
		棕斑兔头鲂 (<i>Lagocephalus spadiceus</i>)	AP009538	AP009538
		黑鳃兔头鲂 (<i>Lagocephalus inermis</i>)	NC_029376	NC_029376
杂斑兔头鲂 (<i>Lagocephalus suzensis</i>)		NC_026229	NC_026229	
—		—	—	
—		—	—	
—		—	—	
—	—	—		

注: —表示 GenBank 数据库中无该鱼种基因参考序列

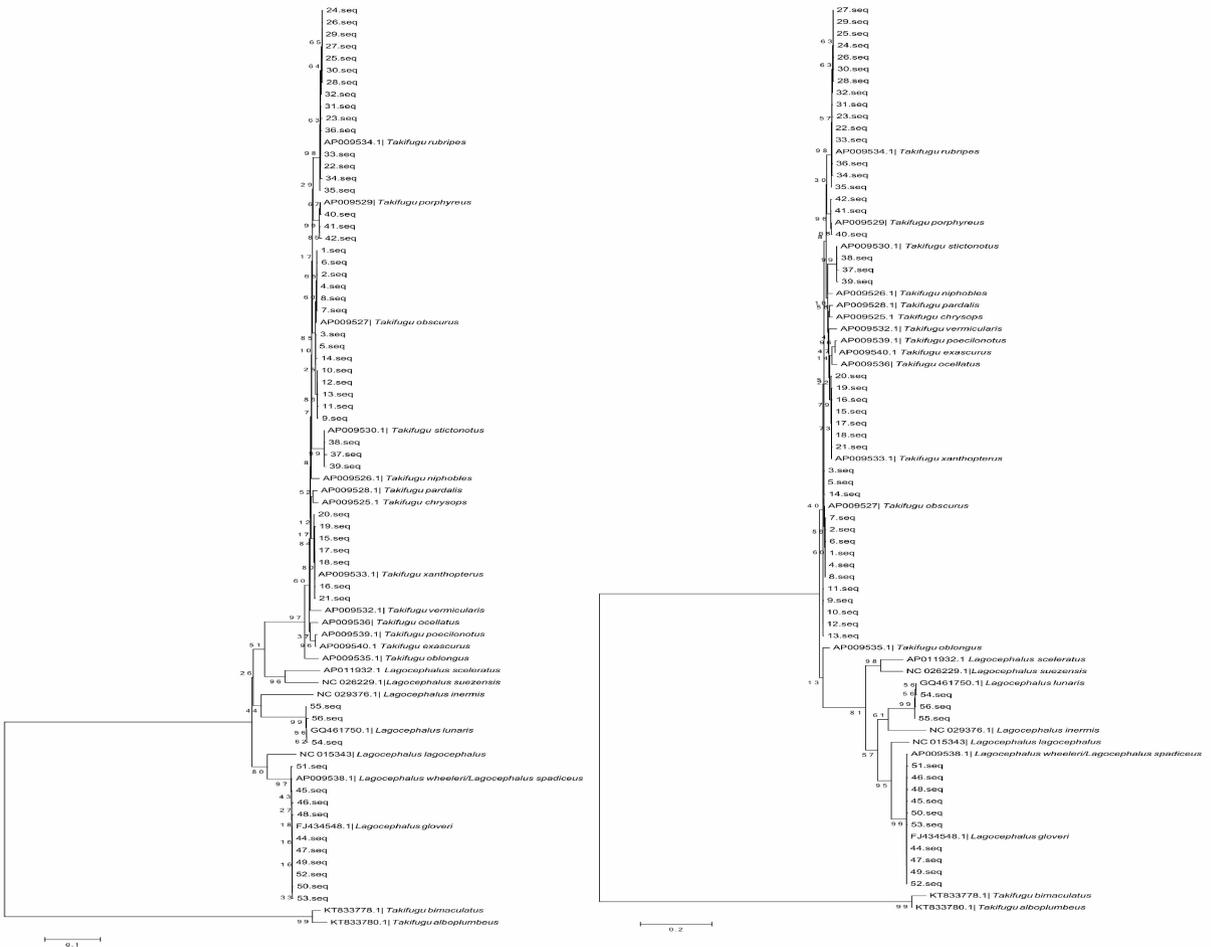
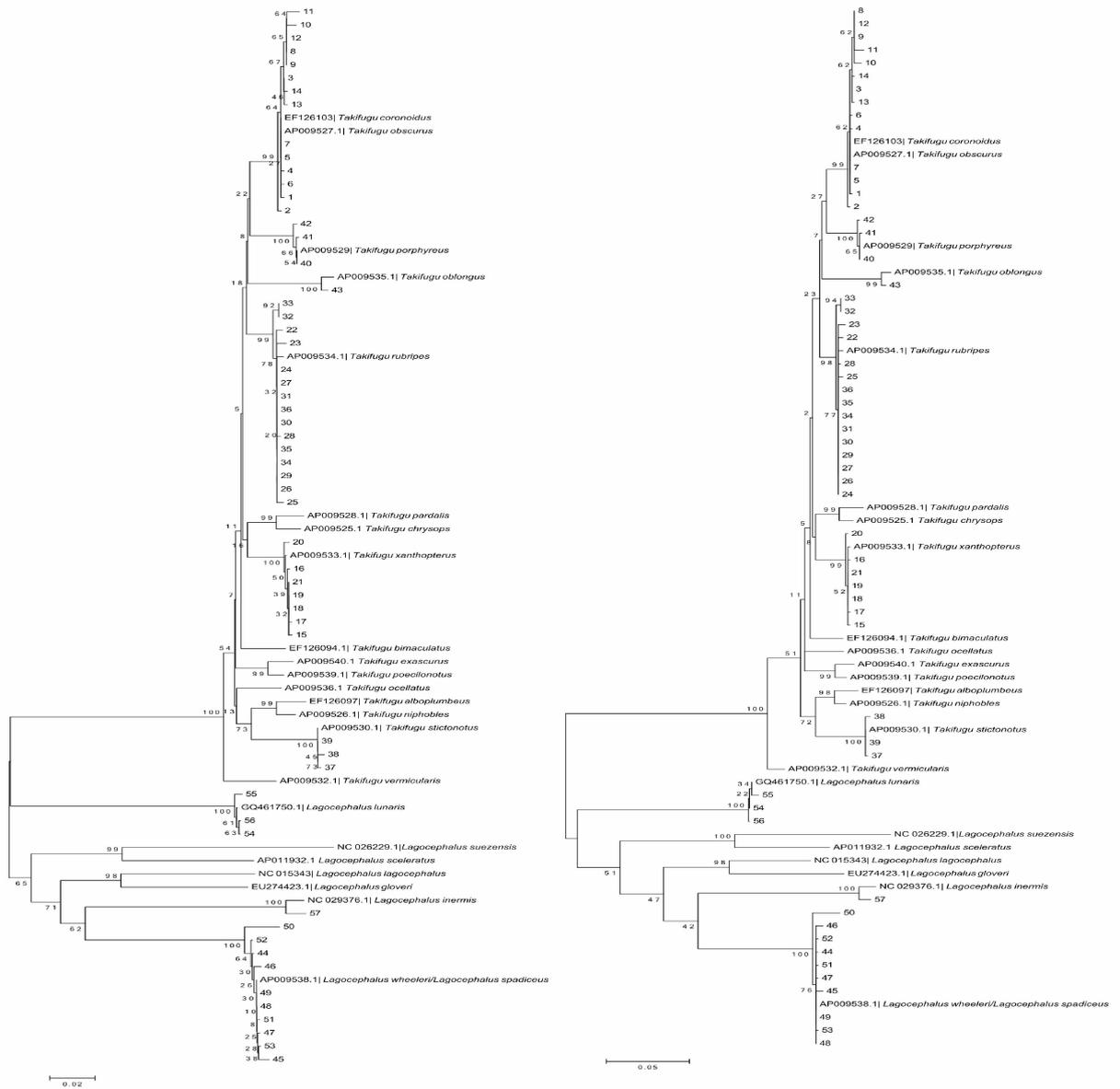


图 1 基于 COI 基因构建的 NJ 进化树 (左) 和 ML 进化树 (右)

Figure 1 Neighbor-Joining tree and maximum likelihood tree of COI gene

图2 基于 *cytb* 基因构建的 NJ 进化树(左)和 ML 进化树(右)Figure 2 Neighbor-Joining tree and maximum likelihood tree of *cytb* gene

由图2可见,基于 *cytb* 基因构建的 NJ 和 ML 进化树对 15~42 号、54~56 号样品的鉴定结果与 *COI* 进化树一致,将 44~53 号归属到棕斑兔头鲃,上述鱼种聚类的节点支持率在 98%~100%。对于 1~14 号样品,两种进化树将其与暗纹东方鲃、晕环东方鲃聚类到一起,节点支持率为 99%,无法进一步明确分辨物种。

综上所述,基于两种序列所构建的分子进化树均可明确分辨黄鳍东方鲃、红鳍东方鲃、密点东方鲃、紫色东方鲃和月兔头鲃,符合形态学鉴定结果,见表 3。

2.4 中毒样品的鉴定

基于 *COI* 基因构建的中毒样品 NJ 进化树显示(图 3),3 份样品均检出月兔头鲃成分。

3 讨论

DNA 条形码作为一种有效的物种鉴定工具,近年来已广泛应用于科学研究、产品标签、食品欺诈等众多领域。线粒体 *COI* 及 *cytb* 基因是动物分类中公认最为可靠的基因,二者都具有遗传信息稳定而丰富、进化速率适中的特点。*COI* 基因结构简单、相对保守,覆盖了更广泛的分类单元,已被建议作为动物界物种鉴定的通用条码,在许多鱼种、昆虫和鸟类等动物中均得到了很好的应用验证^[9-10]。*cytb* 基因可自身编码蛋白,在碱基组成上具有偏好性从而形成碱基差异。二者比较,*COI* 基因进化速率较慢,且比 *cytb* 基因拥有更多的系统发育信号,在种水平的鉴定上,*COI* 基因通过多种方法构建的进化树得到的结果有较高的一致性;在亚种水平的鉴定上,*COI* 基因作为 DNA 条形码比 *cytb* 基因更为

表3 样品的鱼种鉴定结果
Table 3 Species identification of samples

样品编号	形态学鉴定	分子进化树鉴定			
		<i>COI-1</i>	<i>cytb-1</i>	<i>COI-2</i>	<i>cytb-2</i>
1~14	暗纹东方鲀	—	—	暗纹东方鲀	无法区分
15~21	黄鳍东方鲀	—	—	黄鳍东方鲀	黄鳍东方鲀
22~36	红鳍东方鲀	—	—	红鳍东方鲀	红鳍东方鲀
37~39	密点东方鲀	—	—	密点东方鲀	密点东方鲀
40~42	紫色东方鲀	—	—	紫色东方鲀	紫色东方鲀
43	横纹东方鲀	—	—	钩取失败	横纹东方鲀
44~53	棕斑兔头鲀	无法区分	棕斑兔头鲀	—	—
54~56	月兔头鲀	月兔头鲀	月兔头鲀	—	—
57	黑鳃兔头鲀	钩取失败	黑鳃兔头鲀	—	—

注:—表示无扩增

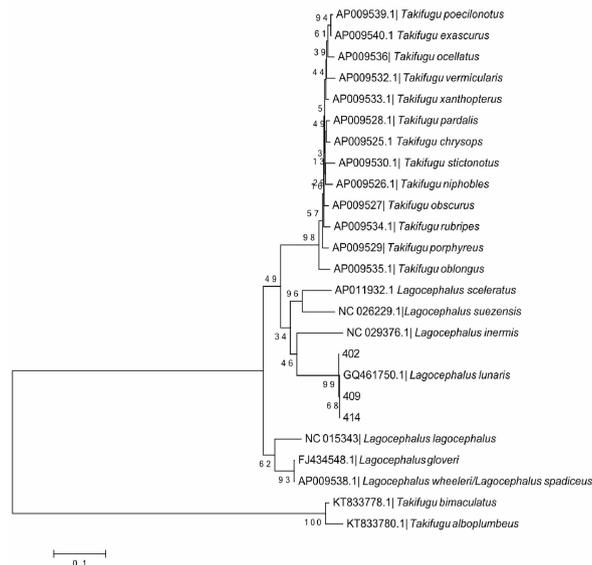
图3 基于 *COI* 基因构建的中毒样品 NJ 进化树

Figure 3 Neighbor-Joining tree of poisoning samples

有效,更适合解析亲缘关系密切的类群^[11-13]。对于 *COI* 基因不能有效鉴定的物种,建议使用 *cytb* 基因作为辅助基因进行鉴定^[14]。

基于对鱼类及其制品中河鲀鱼成分更精准鉴定的需要,本研究以传统形态学鉴定结论为基础,探讨了 *COI* 及 *cytb* 基因对于我国常见东方鲀属及兔头鲀属河鲀鱼鱼种鉴定的适用性。构建的 *COI* 及 *cytb* 分子进化树表明,2 种基因条码在对红鳍东方鲀、黄鳍东方鲀、紫色东方鲀、密点东方鲀以及月兔头鲀的鉴定上显示出较好的适用性。对于暗纹东方鲀,基于 *cytb* 基因构建的 NJ 和 ML 进化树均无法将其与晕环东方鲀区分开,经比对发现 GenBank 数据库下载的这两种鱼种的 *cytb* 基因序列完全相同,对鉴定造成了困扰。而基于 *COI* 基因构建的进化树则明确将 1~14 号样品聚类到暗纹东方鲀,因此对于暗纹东方鲀 *COI* 基因是更好的选择。对于棕斑兔头鲀的鉴定,*cytb* 基因则显示出明显的优势,与 *COI* 基因比较,*cytb* 基因进化树明确将棕斑兔头

鲀与暗纹兔头鲀区分开,经比对发现这 2 种鱼种的 *COI* 基因仅有 2 个碱基的差异。由此可见,造成 *COI* 基因对棕斑与暗纹兔头鲀、*cytb* 基因对暗纹与晕环东方鲀无法区分的原因,一方面可能是这 4 个鱼种的 *COI* 或 *cytb* 条形码提供的遗传信息有限,两两比较碱基差异小;另一方面可能是引用的参考序列对应的原始物种鉴定不准确,命名错误导致序列信息与物种不对应;因此,*COI* 与 *cytb* 基因条码的联合分析能够提高 DNA 方法对物种的分辨能力。所建立的方法对中毒样品的鉴定结果显示,3 份标称为鳕鱼和马面鱼的烤鱼片中均检出剧毒的月兔头鲀成分。月兔头鲀是我国引起中毒的主要鱼种,其肌肉及内脏含有大量的 TTX,被加工成烤鱼片后失去原有形态学特征导致无法辨认,因而对消费者身体健康和生命安全具有潜在的威胁。

本研究通过对东方鲀属、兔头鲀属各鱼种进行系统发育分析,确定 *COI* 和 *cytb* 基因能够对兔头鲀属和东方鲀属进行种级水平的精准鉴定。结合以往对烤

鱼片中毒事件的处理经验,建议今后在鱼类制品的食品安全监测、中毒样品的溯源等工作中,应将样品中 TTX 的含量水平检测与河鲀鱼成分鉴定同时进行。通过 TTX 检测筛查出具有安全风险的食品、探明中毒原因,通过 DNA 条形码鉴定确定 TTX 的带入物种是否为河鲀鱼,这对维护消费者利益、预防河鲀中毒以及合理利用河鲀资源具有重要意义。

参考文献

- [1] TSUJIMURA K, YAMANOUCHI K. A rapid method for tetrodotoxin (TTX) determination by LC-MS/MS from small volumes of human serum, and confirmation of pufferfish poisoning by TTX monitoring [J]. Food Addit Contam, 2015, 32 (6): 977-983.
- [2] 沈青,江涛,李楠,等. 市售烤鱼片中河鲀毒素检测及鲀毒鱼种的鉴定[J]. 卫生研究,2014,43(6):944-952.
- [3] KARIM A, IQBAL A, AKHTAR R, et al. Barcoding of fresh water fishes from Pakistan [J]. Mitochondrial DNA Part A DNA Mapp Seq Anal, 2016, 27 (4): 2685-2688.
- [4] HANNER R, BECKER S, IVANOVA N V, et al. FISH-BOL and seafood identification: geographically dispersed case studies reveal systemic market substitution across Canada [J]. Mitochondrial DNA, 2011, 22 (Suppl 1): 106-122.
- [5] BECKER R A, SALES N G, SANTOS G M, et al. DNA barcoding and morphological identification of neotropicali-

- chthyoplankton from the Upper Paraná the Upper Par [J]. J Fish Biol, 2015, 87 (1): 159-168.
- [6] 陈双雅,王嘉鹤,陈伟玲,等. 16S rRNA 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.
- [7] 倪健波. 河豚鱼成分荧光 PCR 检测方法建立及应用 [D]. 南京:南京农业大学, 2010.
- [8] 陈文炳,翁国柱,陈融斌,等. 河豚鱼 16S rRNA 基因部分 DNA 序列分析及应用 [J]. 食品科学, 2015, 36 (21): 140-144.
- [9] NEUMANN H, SELL A F, CAMPBELL P, et al. A reliable DNA barcode reference library for the identification of the North European shelf fish fauna [J]. Molecular Ecology Resources, 2014, 14 (5): 1060-1071.
- [10] KIM D W, YOO W G, PARK H C, et al. DNA barcoding of fish, insects, and shellfish in Korea [J]. Genomics Inform, 2012, 10 (3): 206-211.
- [11] 陈抒云,曹树萍,袁航,等. 线粒体 COI 和 CYTB 基因在虫草属物种寄生昆虫鉴定中的适用性分析 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17 (1): 182-188.
- [12] 沈青,张东峰,李凤琴. DNA 条形码技术在鱼种鉴定中的应用 [J]. 卫生研究, 2014, 43 (5): 878-881.
- [13] 张馨月,刘岩,张秀梅,等. 基于 COI 基因的西南大西洋部分经济鱼类 DNA 条形码鉴定 [J]. 水生生物学报, 2014, 38 (6): 1161-1167.
- [14] 莫邦辉,屈莉,韩松,等. DNA 条形码识别 I. DNA 条形码研究进展及应用前景 [J]. 四川动物, 2008, 27 (2): 303-306.

· 公告 ·

总局关于发布《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测定》等 6 项食品补充检验方法的公告

2017 年第 160 号

按照《食品补充检验方法工作规定》有关规定,《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测定》《饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定》《豆制品中碱性橙 2 的测定》《保健食品中 9 种水溶性维生素的测定》《保健食品中 9 种脂溶性维生素的测定》《保健食品中 9 种矿物质元素的测定》6 项食品补充检验方法已经国家食品药品监督管理总局批准,现予发布。

特此公告。

- 附件:1. 饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测定 (BJS 201713)
2. 饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定 (BJS 201714)
3. 豆制品中碱性橙 2 的测定 (BJS 201715)
4. 保健食品中 9 种水溶性维生素的测定 (BJS 201716)
5. 保健食品中 9 种脂溶性维生素的测定 (BJS 201717)
6. 保健食品中 9 种矿物质元素的测定 (BJS 201718)

食品药品监管总局

二〇一七年十二月十八日

(相关链接: <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0050/220651.html>)