

论著

# 燕窝真假鉴定技术研究

朱春红<sup>1,2</sup> 雍 炜<sup>2</sup> 徐 厉<sup>2</sup> 杨敏莉<sup>2</sup> 李 俊<sup>3</sup> 陈正行<sup>1</sup> 储晓刚<sup>2</sup>

(1. 无锡江南大学,江苏 无锡 214036; 2. 中国检验检疫科学研究院,北京 100025;  
3. 龙情燕窝有限公司,江苏 南京 210000)

**摘要:**目的 探索燕窝真假鉴定技术。方法 分别利用紫外光谱法和氨基酸分析法鉴定燕窝真假,再用液相色谱-串联质谱抽样确证所得结果。结果 真燕窝在 280 nm 有最大紫外吸收。真燕窝氨基酸含量高,而掺杂银耳、猪皮等的假燕窝氨基酸含量低。真燕窝的 Asp、Leu、Tyr、Gu、Val、Ser、Phe 比例偏高,而假燕窝的 Ile、Gly、Ala 比例偏高。结论 紫外光谱法和氨基酸分析法鉴定燕窝真假具有可行性。

**关键词:**燕子;唾液;燕窝;氨基酸类;N-乙酰神经氨酸

## Methods to Identify True Edible Bird's Nest

ZHU Chun-hong, YONG Wei, XU Li, YANG Min-li, LI Jun, CHEN Zheng-xing, CHU Xiao-gang  
(Southern Yangtze University, Jiangsu Wuxi 214036, China)

**Abstract:** **Objective** To search for methods to discern the true edible bird's nest from the false. **Method** UV Spectrum and amino acid analysis were used for the identification and then the results were confirmed by HPLC-MS-MS. **Results** The natural edible bird's nest had a peak absorption at 280 nm. The contents of amino acids in natural edible bird's nest were higher than those in the false bird's nest made with white fungus and pigskin. The predominant amino acids in natural bird's nest were Asp, Leu, Tyr, Gu, Val, Ser and Phe, but these in false bird's nest were Ile, Gly and Ala. **Conclusion** The established methods were feasible for the identification.

**Key word:** Swallows; Saliva; Bird's Nest; Amino Acids; N-Acetylneuraminic Acid

燕窝是由雨燕科金丝燕及同属类的唾液或者绒羽等混唾液凝结而成的巢窝。产地分布于东南亚一带,中国、印尼、泰国、越南和马来西亚等。燕窝是一种名贵中药,具有养阴润燥,补中益气,入胃补脾,化痰止咳等功能,燕窝含有丰富的活性糖蛋白、钙、铁、磷、碘及维生素等天然营养物和矿物质<sup>[1]</sup>。燕窝是一种安全有效的防止流感病毒的自然物,并且促进细胞生长和加强免疫系统功能<sup>[2]</sup>。

世界贸易统计每年收获总重量大约2 000 t的燕窝。由于燕窝的营养价值和经济价值均较高,而且消费者对其需求日益增长,因此市场上鱼目混珠的现象较普遍,一些商贩通过染色、漂白,或以银耳、猪皮、琼脂、果胶等掺假伪造。由此,完善燕窝真假鉴别方法迫在眉睫<sup>[1-5]</sup>。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器与试剂 仪器 2020 Digestor 电加热消化

仪(瑞士 TETATOR 公司)、KjeHec 1030 自动凯氏定氮仪(瑞士 TETATOR 公司)、U-3000 紫外光谱仪(日本 HITACHI 公司)、日立 L-8500A 氨基酸分析仪(日本 HITACHI 公司)、液相色谱-串联质谱: Waters 2695 Quattro Ultima<sup>TM</sup>Pt(美国 Waters 公司)。

试剂 pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲液 称取 19.6 g 柠檬酸钠(Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O)和 16.5 ml 浓盐酸加水稀释到 1 000 ml,用浓盐酸或 50% 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 2.2;17 种氨基酸混合标准品(TAKARA KOHSAN CO., LTD. 100 nmol/ml)、唾液酸标准品(SIGMA 公司,99%)、催化剂(3.5 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.4 g CuSO<sub>4</sub>,瑞士 TETATOR 公司提供)。

1.2 样品采集与处理 5 种真品燕窝购自北京某药店(其中血燕窝、黄燕窝、彩燕窝为优级;白燕窝和燕片为次级);2 种市售燕窝购自某干货市场;猪皮、银耳购自某菜市场。

用 SQ2119 多功能食品加工机将样品磨碎,过筛。

1.3 试样中蛋白质含量测定 精确称取试样 200 mg,加入催化剂 1 粒,加入 10 ml 浓硫酸,420 电加热消化 1 h,至完全消化为淡绿色透明液体,放入

基金项目:科技部“十五”重大专项资助项目(2001BA804A17)

作者简介:朱春红 女 硕士生

通讯作者:陈正行 男 教授 博士生导师

KjeHec 1030 自动凯氏定氮仪中测定。

1.4 紫外光谱法检测<sup>[6]</sup> 精确称取试样 50 mg,溶解于 50 ml 水,用带有冷却水的消化瓶煮沸 1 h,离心 15 min(4 000 r/min)。取上清液进行紫外光谱分析(设定波长 280 nm)。

1.5 试样中氨基酸组成测定<sup>[7]</sup> 精确称取试样 50 mg,溶解于 20 ml、6 mol/L 的盐酸溶液中;放在 110 的烘箱中水解 24 h,取出冷却;过滤于 50 ml 的容量瓶中,用去离子水定容至刻度;吸取 1 ml 放在小坩锅中,置于真空干燥器中 60 干燥;残余物用 1 ml、pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲液溶解,稀释 3 倍,用日立 L

- 8500A 氨基酸分析仪测定。

1.6 唾液酸含量测定(确证实验) 试样经过酸解等处理后,用 Waters 2695 Quattro Ultima<sup>TM</sup> Pt 测定。

色谱条件为色谱柱 XTerra MS C<sub>18</sub>, 2.1 mm × 150 mm, 5 μm;流动相为 A:乙腈 10%, B:水 90%;流速:0.2 ml/min;电离模式:ESI+;数据类型:SIR 或 MRM;操作类型:多反应监测;锥孔电压:35.0 V;碰撞电压:8.0 eV。

## 2 结果与讨论

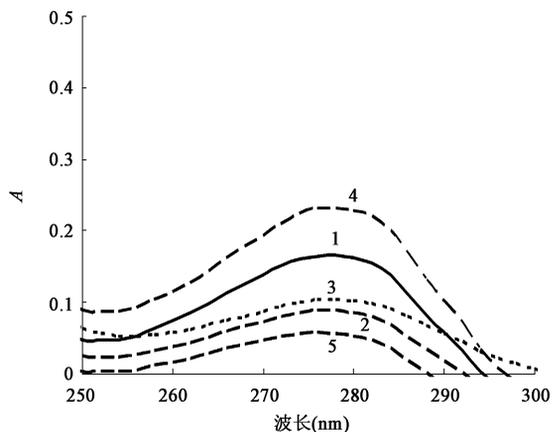
### 2.1 蛋白质含量测定结果

表 1 燕窝、猪皮、银耳的氮及蛋白质

	血燕窝	黄燕窝	彩燕窝	白燕窝	燕片	市售燕窝 1 号	市售燕窝 2 号	猪皮	银耳
含氮量(%)	9.66	10.17	9.41	9.65	9.35	7.51	5.46	5.45	1.55
蛋白质含量(g/100 g)	60.38	63.56	58.81	60.31	58.44	46.94	34.13	34.06	9.69

表中数据说明,购自药店的 5 种真品燕窝蛋白质含量高;2 种市售燕窝的蛋白质含量均低于真品燕窝;猪皮、银耳的蛋白质含量低,银耳最低。因此,燕窝的总蛋白质含量,可以作为鉴别燕窝真假的参考指标。

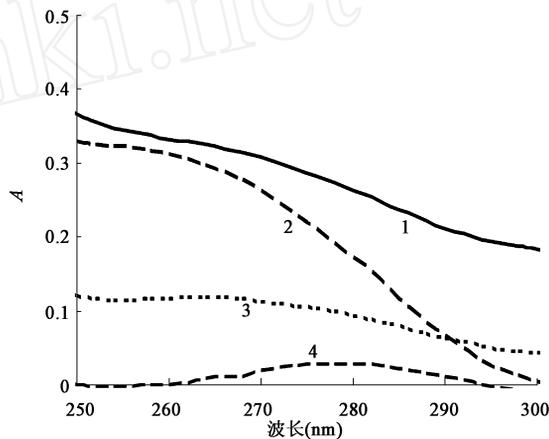
2.2 紫外光谱检测结果 真品燕窝中含有高含量酪氨酸、苯丙氨酸,此 2 种氨基酸在 280 nm 有最大紫外吸收,因而 280 nm 为燕窝特征吸收峰。实验证明购自药店的 5 种真品燕窝在 280 nm 均有一较强吸收峰(图 1);市售 2 种燕窝和掺假物质(银耳、猪皮)在 280 nm 附近均没有较强吸收峰(图 2)。因此,燕窝的紫外图谱,可以作为鉴别燕窝真假的参考指标之一。



1. 血燕窝 2. 黄燕窝 3. 彩燕窝 4. 白燕窝 5. 燕片

图 1 血燕窝,黄燕窝,彩燕窝,白燕窝,燕片紫外图谱

2.3 样品中的氨基酸组成规律 5 种真品燕窝,2 种市售燕窝,猪皮、银耳氨基酸含量及配比关系分别列于表 2 和表 3。其中必需氨基酸包括亮氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、色氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸



1. 猪皮 2. 银耳 3. 市售燕窝 1 号 4. 市售燕窝 2 号

图 2 猪皮,银耳,市售燕窝紫外图谱

和缬氨酸;鲜味氨基酸包括谷氨酸和天门冬氨酸;支链氨基酸包括缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;芳香氨基酸包括酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸。

表 2、3 显示,市售 2 种燕窝和猪皮、银耳的各氨基酸含量,氨基酸总量均低于真品燕窝;真品燕窝的 Asp、Leu、Tyr、Gu、Val、Ser、Phe 比例偏高;猪皮的 Gu、Gy、Ala、Arg 比例偏高;银耳的 Gu、Ile、Arg 比例偏高;市售 1 号燕窝的 Gu、Ile 比例高于真品燕窝,具备银耳典型的氨基酸配比;市售 2 号燕窝的 Gu、Gy、Ala 比例高于真品燕窝,具备猪皮典型的氨基酸配比。

2.4 抽样测定唾液酸(确证) 唾液酸是燕窝中具有生物活性的主要成分,含量高达 10%。

首先对唾液酸标准品进行分析,确定其特征离子。然后抽取血燕窝、白燕窝、市售燕窝 1 号和猪皮、银耳进行质谱确证。结果表明血燕窝、白燕窝的唾液酸含量高;市售燕窝 1 号的唾液酸含量低;猪

表2 燕窝、猪皮、银耳的氨基酸含量

mg/g

	血燕窝	黄燕窝	彩燕窝	白燕窝	燕片	市售燕窝1号	市售燕窝2号	猪皮	银耳
天门冬氨酸(Asp)	41.49	48.93	44.31	26.70	31.52	24.69	20.36	11.59	4.07
苏氨酸(Thr)	31.11	30.17	34.80	24.89	24.68	22.34	16.25	5.61	4.01
丝氨酸(Ser)	30.74	35.70	32.43	29.42	34.22	27.17	22.23	8.83	2.08
谷氨酸(Glu)	36.84	35.26	40.16	32.79	26.34	27.30	18.29	26.84	5.30
甘氨酸(Gly)	15.50	14.71	15.92	13.00	13.14	11.04	8.53	47.29	2.06
丙氨酸(Ala)	13.15	14.79	15.17	14.61	13.25	12.82	9.52	24.98	3.63
胱氨酸(Cys)	12.19	8.19	10.83	13.22	6.40	8.13	6.47	1.56	0.99
缬氨酸(Val)	35.23	32.54	34.08	29.37	26.61	26.30	20.13	8.07	3.24
蛋氨酸(Met)	10.31	4.17	9.55	14.63	3.03	6.58	3.73	7.78	2.75
异亮氨酸(Ile)	28.89	18.12	20.83	4.31	20.71	25.47	5.57	0.17	5.18
亮氨酸(Leu)	45.78	45.48	34.39	25.92	20.16	23.18	13.33	8.71	2.71
酪氨酸(Tyr)	45.69	35.64	27.48	67.52	55.34	50.83	26.77	6.62	4.08
苯丙氨酸(Phe)	41.76	33.94	37.68	28.75	28.27	24.86	13.05	7.64	2.31
赖氨酸(Lys)	21.82	13.41	21.81	33.02	17.78	19.30	13.37	15.35	3.79
组氨酸(His)	16.13	15.70	19.68	19.78	15.52	23.93	14.46	5.94	3.26
精氨酸(Arg)	34.58	33.74	26.99	30.33	28.55	26.72	13.53	25.03	4.98
脯氨酸(Pro)	37.04	38.56	35.54	52.63	16.25	6.51	11.56	16.41	1.62
必需氨基酸	214.90	177.83	193.14	160.89	141.24	148.03	85.43	53.33	23.99
氨基酸总量	498.25	459.05	461.65	460.89	518.84	367.17	237.15	228.42	56.06
必需/总量(%)	43.13	38.74	41.84	34.91	27.22	40.32	36.02	23.35	42.80
鲜味氨基酸	78.33	84.19	84.47	59.49	57.86	51.99	38.65	38.43	9.37
支链氨基酸	109.90	96.14	89.30	59.60	67.48	74.95	39.03	16.95	11.13
芳香氨基酸	87.45	69.58	65.16	96.27	83.61	75.69	39.82	14.26	6.39

表3 氨基酸在燕窝、猪皮、银耳中的构成比

%

	血燕窝	黄燕窝	彩燕窝	白燕窝	燕片	市售燕窝1号	市售燕窝2号	猪皮	银耳
天门冬氨酸	8.33	10.66	9.60	5.80	6.08	6.72	8.59	5.07	7.26
苏氨酸	6.24	6.57	7.54	5.40	4.76	6.08	6.85	2.46	7.15
丝氨酸	6.17	7.78	7.02	6.38	6.60	7.40	9.37	8.83	3.71
谷氨酸	7.39	7.68	8.70	7.11	5.08	7.44	7.71	11.75	9.45
甘氨酸	3.11	3.20	3.45	2.82	2.53	3.01	3.60	20.70	3.67
丙氨酸	2.64	3.22	3.29	3.17	2.55	3.49	4.01	10.94	6.48
胱氨酸	2.45	1.78	2.35	2.87	1.23	2.21	2.73	0.68	1.77
缬氨酸	7.07	7.09	7.38	6.37	5.13	7.16	8.49	3.53	5.78
蛋氨酸	2.07	0.91	2.07	3.17	0.58	1.79	1.57	3.41	4.91
异亮氨酸	5.80	3.95	4.51	0.94	3.99	6.94	2.35	0.07	9.24
亮氨酸	9.19	9.91	7.45	5.62	3.89	6.31	5.62	3.81	4.83
酪氨酸	9.17	7.76	5.95	14.65	10.67	13.84	11.29	2.90	7.28
苯丙氨酸	8.38	7.39	8.16	6.24	5.45	6.77	5.50	3.34	4.12
赖氨酸	4.38	2.92	4.72	7.16	3.43	5.26	5.64	6.72	6.76
组氨酸	3.24	3.42	4.26	4.29	2.99	6.52	6.10	2.60	5.82
精氨酸	6.94	7.35	5.85	6.58	5.50	7.28	5.71	10.96	8.88
脯氨酸	7.43	8.40	7.70	11.42	3.13	1.77	4.87	7.18	2.89

论著

## 液相色谱 - 线性离子阱质谱法检测草鱼中孔雀石绿、结晶紫及其代谢产物

吴学立<sup>1,2</sup> 吴永宁<sup>2</sup> 赵云峰<sup>2</sup> 袁宗辉<sup>1</sup>

(1. 华中农业大学动物医学院,湖北 武汉 430070;

2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

**摘要:**目的 建立鱼中的孔雀石绿(MG)、结晶紫(GV)及其代谢物无色孔雀石绿(LMG)、无色结晶紫(LGV)的测定方法。方法 使用液相色谱线性离子阱串联质谱技术和同位素稀释技术,McIlvaine 缓冲液和乙腈提取,OASIS MCX SPE 柱净化,洗脱液在选择反应检测模式(SRM)下测定。结果 方法的检出限 CC 为 0.03 ~ 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限 CC 为 0.05 ~ 0.09  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。5 个不同加标水平鱼样中 4 种目标化合物的平均回收率为 84.7% ~ 105.1%,RSD 为 1.3% ~ 14.9% ( $n=5$ )。结论 本方法定量准确可靠,可用于鱼样品中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物的测定。

**关键词:**着色剂;孔雀石绿;龙胆紫;同位素标记;色谱法,液相;光谱分析,质量

### Determination of Malachite green, Gentian Violet and Their Euco-Metabolites in Grasscarp by Liquid Chromatography-Linear Ion Trap Mass Spectrometry

WU Xue-li, WU Yong-ning, ZHAO Yun-feng, YUAN Zong-hui

(School of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Hubei Wuhan 430070, China)

**Abstract:** **Objective** A method has been developed for the determination of malachite green, gentian violet and their leuco-metabolites in fish using isotope dilution by liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry. **Method** After extraction using McIlvaine buffer and acetonitrile, the extract was purified on an OASIS MCX SPE column. The effluent was analysed by LC-MS/MS in the select reaction monitoring (SRM) mode. **Result** An averaged decision limits (CC) and detection capability (CC) of method were 0.03 ~ 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 0.05 ~ 0.09  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectively. The average recoveries of five different fortified fish samples were in the range of 84.7% ~ 105.1%; RSDs were in the range of 1.3% ~ 14.9%. **Conclusion** The established method is suitable for the determination of Malachite green, Gentian violet and their leuco-metabolites in grasscarp.

**Key word:** Coloring Agents; Malachite Green; Gentian Violet; Isotope Labeling; Spectrum Analysis, Mass; Chromatography, liquid

皮、银耳的唾液酸含量极低。用液相色谱 - 串联质谱法所得结论与紫外光谱法和氨基酸分析法一致。唾液酸的测定可以作为鉴别燕窝真假的重要指标之一。

### 参考文献

- [1] MASSIMO F. MARCONE. Characterization of the edible bird's nest the "Caviar of the East"[J]. Food Research International, 2005, (38):1125-1134.
- [2] GUO C T, TAKAHASHI T, BUKAWA W, et al. Edible bird's nest extract inhibits influenza virus infection [J]. Antiviral Research, 2006, (70):140-146.

- [3] 喻雨琴,薛亮,朱新芳,等. 燕窝及其制品的气相色谱鉴别和定量检测[J]. 分析测试学报,1998,17(6):33-36.
- [4] 姚碧文. 燕窝真假鉴别[J]. 浙江中西医结合杂志,2002,12(11):719-720.
- [5] 陆汉豪. 一种燕窝伪品的鉴别[J]. 广东药学,2005,15(2):14-15.
- [6] 陆源,韩灯保,王建云,等. 云南三种燕窝与进口燕窝成分的比较研究[J]. 动物学研究,1995,16(4):385-391.
- [7] PEACE R W, GILANI G. Chromatographic determination of amino acid in foods[J]. Journal Of AOAC International, 2005, 88(3): 877-885.

[收稿日期:2006-10-30]

中图分类号:R15;TS218;Q959.735 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2007)03-0206-04

基金项目:北京市自然科学基金重点项目(7041004)

作者简介:吴学立 男 硕士生

通讯作者:吴永宁 男 研究员 博士生导师