

毛细管电泳技术在乳品蛋白分析中的应用

赵新颖^{1,2*}, 丁晓静³, 陈亮²

(1. 北京市理化分析测试中心, 北京 100094; 2. 北京电子科技职业学院, 北京 100176;
3. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要: 乳品在全球范围内生产和消费, 受到广泛且持续的关注, 蛋白质是乳品评价最重要的指标之一。毛细管电泳技术(capillary electrophoresis, CE)具有样品用量少、分离模式多、分析效率高的优势, 在乳品蛋白质分析方面具有巨大的应用潜力。本文简要介绍了 CE 技术检测乳品中蛋白质的特点和难点, 总结了毛细管凝胶电泳法、涂层毛细管电泳法、胶束电动毛细管色谱法、免疫亲和毛细管电泳法、毛细管区带电泳法等模式在乳品蛋白质分析中的优劣势, 列举了 CE 技术在乳品品质鉴定、过敏原分析、真伪鉴别、蛋白质糖基化分析、乳品处理和蛋白水解过程等相关生产和质控环节的应用情况, 展望了 CE 技术在乳品分析应用中的发展趋势。

关键词: 毛细管电泳; 乳品; 蛋白质

Application of capillary electrophoresis in protein analysis of dairy products

ZHAO Xin-Ying^{1,2*}, DING Xiao-Jing³, CHEN Liang²

(1. Beijing Centre for Physical and Chemical Analysis, Beijing 100094, China; 2. Beijing Polytechnic, Beijing 100176, China; 3. Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

ABSTRACT: The production and consumption of dairy products in the world has received extensive and sustained attention. Protein is one of the most important indicators for dairy product evaluation. Capillary electrophoresis (CE) has the advantages of less sample consumption, more separation modes and higher analysis efficiency, so it has great potential in the analysis of dairy protein. This paper briefly introduced the characteristics and difficulties of CE technology in the detection of protein in dairy products, summarized the advantages and disadvantages of capillary gel electrophoresis, coated capillary electrophoresis, micellar electrokinetic capillary chromatography, immunoaffinity capillary electrophoresis, capillary zone electrophoresis and other models in dairy protein analysis. It listed the application of CE technology in milk quality identification, allergen analysis, authenticity identification, protein glycosylation analysis, milk treatment and protein hydrolysis process and other related production and quality control processes. It also prospected the development trend of CE technology in dairy analysis.

KEY WORDS: capillary electrophoresis; milk products; protein

1 引言

乳品在全球范围内广泛生产和消费, 除奶粉外, 酪蛋白(casein, CN)、酪蛋白酸盐、乳清粉、浓缩乳清蛋白、乳

清蛋白分离物、浓缩牛奶蛋白、牛奶蛋白分离物, 以及可能也含有水解乳蛋白的特种营养粉也有广泛的市场^[1]。而蛋白质的种类和含量是决定乳制品的营养及商业价值的重要指标, 因此乳品蛋白分析一直是乳制品研究的热点。近

基金项目: 天然产物国家标准样品研制及产品技术开发技术研究(SGXC03080101)

Fund: Supported by the Research on National Reference Material and Product Development of Natural Products (SGXC03080101)

*通讯作者: 赵新颖, 研究员, 主要研究方向为色谱分析。E-mail: 361562040@qq.com

*Corresponding author: ZHAO Xin-Ying, Professor, NO.7, Fengxian Road, Haidian Direct, Beijing, 100094, China. E-mail: 361562040@qq.com

年来, 人类消费乳品的来源由牛乳逐渐扩大至斑马和牦牛(牛属)、水牛、山羊、绵羊、马、驴、驯鹿和骆驼等。以牛乳为例, 蛋白质含量通常占总质量的 3.0%~3.5%。其中, CN 含量最高, 占蛋白质量的 76%~86%, 主要由 α -s-1 (α ₁-CN)、 α -s-2 (α ₂-CN)、 β (β -CN) 和 κ (κ -CN) 以 39:10:36:13 的质量比存在于牛奶胶束的球形颗粒中^[2]。而 CN 沉淀后, 清液中含有的蛋白称为乳清蛋白, 主要由 α -乳白蛋白 (α -lactalbumin, α -Lac) 和 β -乳球蛋白 (β -lactoglobulin, β -Lg) 组成, 二者占乳清蛋白质量的 70%~80%^[3]而 α -Lac、 β -Lg、免疫球蛋白 G (immunoglobulin, IgG) 和牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 又被称为“真蛋白”的^[4]。此外, 乳铁蛋白 (lactoferrin, Lf) 含量虽低, 但却是十分重要的功能指标。这些是目前乳品分析中最重要的蛋白质, 也是研究的主要目标。

毛细管电泳技术 (capillary electrophoresis, CE) 是一种绿色分析技术, 具有需要样品和试剂消耗少、前处理简单、分离效率高、分析时间短、分离模式多、通用性好、生物相容性强的优势^[5], 在食品分析中得到广泛的应用^[6], 尤其在分离和表征蛋白质方面具有惊人的柱效和独特的选择性^[7]。自 20 世纪 90 年代以来, CE 在乳蛋白分析中发挥了重要作用^[8,9]。1992 年, Strange 等^[10]就应用 CE 对牛乳(牛属)进行研究。1997 年, Recio 等^[11]综述了 CE 分析酪蛋白、乳清蛋白等乳蛋白的方法, 重点介绍了 CE 在乳制品质量评价如蛋白多态性、热处理、掺假的检测和蛋白水解的评价等方面的应用。Frazier 等^[12,13]连续 2 年综述了 CE 方法用于乳制品质量控制中的应用, 包括: 评估工艺对乳蛋白的影响, 检测乳制品的掺假, 牛奶和奶酪中的蛋白水解, 以及不同品种牛奶的遗传多态性分析。Cifuentes 课题组^[14-18]自 2010 年起, 每 2 年对 CE 法在食品分析和食品组学中的应用进展进行综述, 系统性回顾了乳及乳制品中蛋白分析方法, 说明“牛奶蛋白组学”^[19]正受到越来越多的关注。徐双双等^[20]在 2019 年对电泳法在食品过敏原检测中的应用进行了综述, 介绍了传统的电泳法和 CE 法在食品过敏原检测中的应用。

本文简要介绍了 CE 法检测乳品中蛋白质的特点和难点, 总结了毛细管凝胶电泳法、涂层毛细管电泳法、胶束电动毛细管色谱法、免疫亲和毛细管电泳法、毛细管区带电泳法等电泳模式在乳品蛋白质分析中的优劣势, 列举了近年来 CE 技术在乳品品质鉴定、过敏原分析、真伪鉴别、蛋白质糖基化分析、乳品如处理和蛋白水解方面的应用情况, 展望了 CE 技术在乳品分析的发展趋势, 旨在为将 CE 技术用于乳品中蛋白质分析方法开发和推广的相关人员提供一定的技术参考。

2 毛细管凝胶电泳法

聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel

electrophoresis, PAGE) 是最经典的蛋白质分析方法, 也是乳品蛋白质分析的常用方法之一。聚丙烯酰胺凝胶为网状结构, 具有分子筛效应, 加入蛋白质常用的变性剂和助溶剂十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 后形成 SDS-PAGE, 依据蛋白质分子量大小进行分析。将上述体系放入内直径微米级的毛细管后, 即为十二烷基硫酸钠-毛细管凝胶电泳法 (sodium dodecyl sulfate - capillary gel electrophoresis, SDS-CE)。CE 的外加电压可以达到 30000 V, 远远高于 PAGE; 而 CE 的进样量为纳升级, 又远远小于 PAGE。因此, SDS-CE 的分析效率得到了极大的提升, 且样品用量更低, 具有高效、快速、成本低的优点, 非常适合基质复杂的乳品样品中蛋白质的分析^[21]。目前, SDS-CE 可以用于婴儿配方奶粉中乳清蛋白的定量, 测得的乳清蛋白含量与申报值非常一致 (95% 的分析样品在申报值的 10% 以内), 初步显现出替代 SDS-PAGE 的潜力^[22]。需要注意的是, 由于该法中酪蛋白磷酸肽 (casein phosphopeptides, CMP) 的迁移时间落在乳清蛋白迁移时间范围内, 因此将 CMP 的含量也归入乳清蛋白。因此, 当婴儿配方奶粉中添加的是来自酸乳清 (pH 4.5) 的乳清蛋白粉时, 乳清含量测定结果不受影响; 但添加来自甜乳清 (pH 6.0~6.5) 的乳清蛋白粉时, 乳清蛋白测定结果被高估。因此, 该法仅适用于添加来自酸乳清的乳清蛋白粉的婴儿配方奶粉中乳清蛋白的含量测定。

刘鸣畅等^[23]对不同乳源产品中主要蛋白组分进行分析, 蛋白峰面积与羊乳中牛乳含量相关性好 ($r^2 > 0.99$), 可以检测到羊乳婴幼儿配方粉中 0.5% 牛乳粉成分。任亮等^[24]用 SDS-PAGE 和 SDS-CE 分离牛乳清中 β -Lg 的 3 种遗传变异体, 二者均能有效分离 β -Lg 的 3 种遗传变异体, 且后者比前者能更准确定量 β -LgA 和 β -LgB 的相对比例, 在牦牛乳的质量监控方面具有潜在的应用价值。Omar 等^[25]对欧洲产单峰骆驼乳中的蛋白进行了分离和定量, 结果表明骆驼奶中 α -Lac、Lf、 β -CN 和 α -CN 的含量较高, κ -CN 含量较低, 且缺少 β -Lg, 结果与 PAGE 图谱一致。Ordiales 等^[26]利用甲醇提取可溶蛋白, 在利用 SDS-CE 鉴别 ‘Torta del Casar’ 干酪生产的蔬菜凝乳酶电泳图谱中发现了 3 个峰。结果表明, 与 SDS-PAGE 技术相比, SDS-CE 对植物凝乳酶的工艺性质 (凝乳活性和酪蛋白降解活性) 的鉴别效果更好, 具有较好的重复性和校正迁移时间的重复性, 被认为是预测蔬菜凝乳酶对 ‘Torta del Casar’ 奶酪的奶油品质和总体可接受性的一个很好的工具。

值得关注的是, Pelacz 等^[27]报道了新型样品处理方法结合毛细管电泳激光诱导荧光法 (capillary electrophoresis with laser induced fluorescence, CE-LIF) 测定婴儿食品中低含量的 β -Lg 的报道。以罗丹明为内标物, 在 6 mmol/L 硼砂-6 mmol/L SDS (pH 9.0) 的运行缓冲溶液中就利用

SDS-CE 对目标进行分离, 12 min 内实现 β -Lg 的检测, 在 5×10^{-10} 到 10^{-7} mol/L 之间获得了较好的相关性 r 为 0.9976。这说明 CE 和 LIF 检测器联用, 极大的提高了检测灵敏度。此外, ISO 17129-2006/FDA206《奶粉·在十二烷基磺酸钠(SDS-CE)中使用毛细管电泳法测定大豆和豌豆的蛋白质含量》^[28]中, 利用 SDS-CE 法对乳粉中的大豆和豌豆蛋白质进行分析, 可以在电泳图上明确观察电泳峰, 是现行区分乳粉中的动物源性蛋白和植物性蛋白质的方法, 这促进了 SDS-CE 在乳粉的真伪鉴别方面的应用。

3 涂层毛细管电泳法

毛细管内壁对蛋白质的吸附会造成峰拖尾、峰展宽等降低分离度的现象, 严重的甚至完全吸附导致无法检测的现象, 这也是 CE 法用于乳品中蛋白质分析必须解决的技术难题。蛋白质具有复杂的空间结构, 带电状态由等电点 pI 和运行缓冲溶液 pH 共同决定。当运行缓冲溶液 pH 大于 3 时, 毛细管内壁的硅羟基完全解离形成的双电层会产生电渗流(electroosmotic flow, EOF), 这是 CE 技术分离的动力, 也是蛋白质吸附的主要原因。因此, 控制运行缓冲液 pH 和控制毛细管内壁硅羟基解离是决定蛋白质吸附的关键因素。采用极端 pH 法(pH 小于 2 时可以抑制硅羟基的解离、pH 大于 12 时蛋白质一般带负电产生静电排斥)可以抑制吸附, 但是大部分蛋白质都会变性或者分解, 该方法的使用存在很大的局限性。目前, 比较普遍的方法是对毛细管内壁进行涂层, 以防止硅羟基的解离, 达到抑制吸附的目的。其中, 动态涂层是在运行缓冲溶液加入季铵盐、阳离子表面活性剂、二胺类等添加剂, 将其动态吸附于毛细管内壁上, 抑制 EOF 防止蛋白质吸附。该方法的优点是简单经济, 相对稳定, 与极端 pH 法比使用范围相对宽泛; 缺点是添加剂会影响蛋白质的性质、增加运行缓冲溶液的离子强度导致焦耳热增大; 缓冲溶液多采用柠檬酸盐和磷酸盐等自紫外吸收较高的体系, 导致灵敏度降低。固定涂层是直接修饰毛细管内壁, 从而封闭 EOF 的产生, 抑制蛋白质吸附。可以采用聚乙烯醇、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷为代表的中性聚合物涂层, 也可以采用阳离子聚合物、共聚物、表面活性剂以及离子液进行涂层。这种方法多为商品化的毛细管采用, 优势是稳定、方便, 缺点是种类有限, 价格较为昂贵^[29,30]。目前, 乳品蛋白质分析应用报道主要是羟丙基甲基纤维素和柠檬酸盐以磷酸盐组成的运行缓冲体系的动态涂层法, 聚乙烯醇和聚丙烯酰胺固定涂层法也有报道, 详见表 1。

4 其他

4.1 毛细管胶束电动色谱法

毛细管胶束电动色谱法(micellar electrokinetic

capillary chromatography, MEKC)通过在运行缓冲溶液中添加浓度大于临界胶束浓度(critical micelle concentration, CMC)的表面活性剂形成假(准)固定相, 特别适合疏水物质的分离分析, 极大的拓展了毛细管电泳的应用范围。MEKC 用于乳品种蛋白质的分析, 可以提升疏水蛋白质的分离分析效率, 但是高浓度的表面活性剂引起的问题比动态涂层法更为严重。Zhang 等^[41]用未涂层熔融石英毛细管 $75 \mu\text{m} \times 40/50 \text{ cm}$ (毛细管内径 \times 有效长度/总长度), 以 0.13 mol/L 柠檬酸+10 mmol/L 柠檬酸钠+4.8mol/L 尿素+120mg/L 吐温-20 为分离缓冲溶液, 以 40 mmol/L 柠檬酸钠和 0.01mol/L 2-巯基乙醇为样品缓冲液, 实现了乳酸菌饮料和奶粉中 α -La、 β -lg、 α -CN、 κ -CN 和 β -CN 分离和测定, 检出限在 2.5 ~ 8.54 mg/L 之间, 回收率在 89.16% ~ 109.99%之间, RSD 小于 3.3%。Li 等^[42]用未涂层熔融石英毛细管 $50 \mu\text{m} \times 20/27 \text{ cm}$, 以 40 mmol/L 磷酸二氢钠 + 40 mmol/L 磷酸+5 mmol/L 聚氧乙烯月桂醇(Brij 35)为分离缓冲溶液, 在 10~400 mg/L 范围内具有良好线性, 检出限为 3 mg/L, 定量限为 10 mg/L。样品仅需用 50 mmol/L 乙酸溶液处理后即可进样分析, 提高了样品的分析通量及效率。刘宇等^[43]用未涂层熔融石英毛细管 $50 \mu\text{m} \times 70/80 \text{ cm}$, 以 50 mmol/L 硼酸+60 mmol/L 戊二胺+120 mmol/L 十六烷基三甲基溴化铵+6 mol/L 尿素+0.05%羟丙基甲基纤维素(pH 9.0, 0.1 mol/L NaOH 调)为分离缓冲溶液, 测定了 4 种乳铁蛋白原料中的 Lf 的含量, 略低于原料供应商提供的高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定的结果。

4.2 免疫亲和性毛细管电泳法

免疫亲和性毛细管电泳(immunoaffinity capillary electrophoresis, IACE)将免疫反应特异性强和毛细管技术用量少、效率高的优势相结合, 特别适用于复杂样品中特异性目标物的富集和分析。目前, IACE 技术尚不成熟, 应用报道并不多。Gasilova 等^[44]报道了 IACE 结合基质辅助激光解吸电离质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry MALDI-MS)测定牛奶主要的乳清蛋白 α -Lac 和 β -Lg 的方法。将带有抗体的磁珠置于毛细管内用于富集目标物, 解决了样品中致敏蛋白含量过低的问题。CE 紫外检测得到 $(0.15 \pm 0.01) \text{ mg/mL}$ 和 $(0.52 \pm 0.03) \text{ mg/mL}$, MALDI-MS 检测的结果分别为 $(0.13 \pm 0.02) \text{ mg/mL}$ 和 $(0.47 \pm 0.05) \text{ mg/mL}$, 这说明二者的灵敏度基本一致。在此基础上, Gasilova 等^[45]将抗人 IgE 抗体和病人 IgE 抗体复合物通过化学交叉联接修饰磁珠表面后, 分别和牛奶中的蛋白质结合, 再利用 IACE-UV 和 MALDI-MS 检测确定致敏蛋白质, 发现有 BSA、Lf 和 α -CN 和抗体相结合, 并用经典的酶联免疫法对该结果进行了确证。

表 1 涂层毛细管电泳法在乳品蛋白质分析中的应用
Table 1 Application of coating capillary electrophoresis in dairy protein analysis

毛细管	运行缓冲溶液	结果	应用	参考文献
	0.32 mol/L 柠檬酸+20 mmol/L 柠檬酸三钠+7 mol/L 尿素+0.05% 羟丙基甲基纤维素(pH 3.0, 柠檬酸调)	β -Lg 回收率为 75.2%~105.2%, 相对标准偏差为 1.1%~3.1%, 检出限为 1 mg/L。	快速检测巴氏杀菌乳和原料奶中 β -Lg 含量	[31]
	15 mmol/L 柠檬酸+20 mmol/L 柠檬酸三钠+6 mol/L 尿素+0.05%羟丙基甲基纤维素(pH 2.7)	β -CN、 κ -CN、大豆分离蛋白检出限分别为 0.17、0.23、5.73 mg/L, 回收率分别为 99.37%、99.23%、87.44%。	生鲜乳蛋白和大豆分离蛋白的同时分离与测定	[32]
未涂层	23 mmol/L 柠檬酸钠+35 mmol/L 柠檬酸+0.05%羟丙基甲基纤维素+6 mol/L 尿素(pH 3.0)	α -Lac、 β -Lg、 α -CN、 β -CN、 κ -CN 的检出限分别为 0.01、0.03、0.02、0.02、0.02 g/L; 加标回收率 84%~103%。	牛奶的质量监控以及奶粉配方的改善提供了新途径	[33]
动态熔融石 涂层 英毛细管	50 mmol/L 磷酸 + 0.05%羟丙基甲基纤维素+6 mol/L 尿素(pH 3.0, 氢氧化钠调)	α -CN、 β -CN、 κ -CN 保留时间、峰面积及峰高的相对标准偏差分别小于 0.67%、3.0%和 3.2%; 加标回收率为 98%~106%。	水牛奶及奶制品的质量监控提供了新途径	[34]
	20 mmol/L 磷酸二氢钠 + 0.05%羟丙基甲基纤维素+6 mol/L 尿素(pH 2.75, 磷酸调)	α -Lac、 β -Lg、 α -CN、 β -CN、 κ -CN 相对迁移时间及峰面积的 RSD 均小于 5%, 加标回收率均在 88%~102%之间。	为加工环节的原料选择和产品品质分析提供依据	[35]
	25 mmol/L 磷酸盐(pH 6.0)+500 mg/L 季铵化纤维素	Lf 低、中、高 3 个浓度加标回收率为 87%~112%, 相对标准偏差为 4.4%~12.1%。	所需牛奶样品少, 有望用于生物样品中乳铁蛋白的分析。	[36]
	0.5 mol/L 硼酸 + 0.025 mol/L 羟丙基 β -环糊精 + 0.8 g/L 聚乙烯醇 4,000,000 为分离缓冲液 (pH 9.10)	实现了与 β -LgA 及 β -LgB 的同时分离与测定, 用于乳品中 β -LgA 及 β -LgB 的检测	检测	[37]
聚乙烯醇 涂层	11 mmol/L 柠檬酸钠+166 mmol/L Tris+10 mmol/L 二硫代苏糖醇+4.5 mol/L 尿素(pH 8.0, 磷酸调)	α -Lac、 β -Lg、 α -CN、 β -CN、 κ -CN 在原料乳、市售鲜奶、巴氏灭菌乳、超高温灭菌乳、调味用于乳品中 5 种蛋白的检测以乳、乳酸饮料、复原乳、酸奶、奶粉中的含量及超高温灭菌乳保质期的判定逐渐降低。		[38]
固定 涂层	0.48 mol/L 柠檬酸+13.6 mmol/L 柠檬酸钠+4.8 mol/L 尿素(pH 2.3)	β -Lg 和 κ -CN 的完全分离。	对模型样品及奶酪进行分析	[39]
聚丙烯酰胺 涂层	0.15 mol/L 硼酸盐+ 0.05%吐温 20 (pH 8.50)	α -Lac、 β -LgA、 β -LgB 迁移时间和峰面积的相对标准偏差分别小于 0.13%和 4.55%; 加标回收率为 82.3%~105.8%; 检出限分别为 0.025g/L 和 0.05g/L。	用于如品种 3 种蛋白质的检测	[40]

4.3 毛细管区带电泳法

毛细管区带电泳法(capillary zone electrophoresis, CZE)是毛细管电泳中最为基础、最为常用的模式。但对于乳品蛋白质分析, CZE 的使用受到复杂基质和吸附的限制, 应用报道不多。刘一等^[46]用未涂层石英毛细管 50 $\mu\text{m} \times 30/38.5$ cm, 以 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0)实现了 α -Lac 和 β -Lg 的基线分离和痕量检测, 检出限分别为 3.0 mg/L 和 12 mg/L; 迁移时间和峰面积的相对标准偏差分别小于 1%和 6%, 符合实际样品检测要求。该方法已成功用于实际乳糖样品的分析, 在相关领域也有很好的应用

前景。Gutierrez 等^[47]以乙酸缓冲溶液提取乳清蛋白, 电动进样到未涂层熔融石英毛细管, 以 pH 8.0 的 50 mmol/L 硼酸盐为分离缓冲液, 5 min 内实现分离, 检出限为 10 mg/L。该快速提取和分析牛奶蛋白粉中 α -Lac 的方法, 帮助美国海关对牛奶蛋白浓缩物征收进口关税。

4.4 其他检测技术联用

乳制品组成复杂, 利用 CE 技术和多种前处理技术以及其他技术联用可以有效解决实际分析中的问题。de-Oliveira 等^[48]首先利用气相色谱法(gas chromatography, GC)分析脂肪酸 C₁₄: 0、C₁₆: 0、C₁₈: 0、C₁₈: 1、C₁₈: 2 和

C₁₈: 3, 将牛奶和乳清区分开。然后, 用 CE 对掺假牛奶中的 6 种脂肪酸进行定量分析。结果表明, 乳清添加量真值与实验值的相关系数为 0.973, 说明该技术可用于乳清掺假牛奶的检测。

5 结论与展望

CE 具有样品用量少、分离模式多、分析效率高的优势, 在乳品蛋白分析方面具有巨大的应用潜力。目前 SDS-CE 可以部分代替经典的 SDS-PAGE 的应用。此外, CE 在 IgG 的检测方面也有潜在的优势, 完善后可以弥补径向免疫扩散法的不足^[49]。MEKC 可以同时分离测定酸性、中性和碱性蛋白, 是解决同时分离多种蛋白质的最佳途径之一。但是, 有些 CE 模式在乳品分析中的应用尚待开发, 如毛细管等电聚焦法(capillary isoelectric focusing, CIEF)可以测定特有等电点的酪蛋白(pI 4.6), 用于评价牛奶凝固特性, 从而衡量牛奶工艺质量。CE 和质谱技术联用可以用于蛋白质的定性, 有效地提升乳品研发和生产中的效率。此外, 各种新型材料用于毛细管内壁的涂层, 可以有效抑制蛋白的吸附, 提升了检测的灵敏度。前处理技术和多种 CE 模式的灵活组合, 可以解决复杂基质样品的前处理问题, 拓展了 CE 技术检测范围, 可以实现乳品中多种蛋白的分析。综上所述, CE 技术蛋白质方面的优势, 可以在乳品品质鉴定、过敏原分析、真假鉴别、蛋白质糖基化分析、乳品如处理和蛋白水解等过程中发挥巨大的作用。

参考文献

- [1] Baldwin A, Higgs K, Boland M, *et al.* Chapter 11 - Effects of drying and storage on milk proteins [M]. Boland M, Singh H. Milk Proteins (Third Edition), Academic Press, 2020.
- [2] Strickland M, Johnson ME, Broadbent JR. Qualitative and quantitative analysis of proteins and peptides in milk products by capillary electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(8): 1510–1517.
- [3] Xie HY, He YZ. Green analytical methodologies combining liquid-phase microextraction with capillary electrophoresis [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2010, 29(7): 629–635.
- [4] A-lactalbumin - a protein ingredient for use in infant nutrition [Z].
- [5] Xie HY, He YZ. Green analytical methodologies combining liquid-phase microextraction with capillary electrophoresis [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2010, 29(7): 629–635.
- [6] Zhang H, Liang F, Feng X, *et al.* Determination of proteins in lactic acid bacterium drink and milk powder by micellar electrokinetic chromatography [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(3): 725–731.
- [7] Zhu MD, Rodriguez R, Hansen D, *et al.* Capillary electrophoresis of proteins under alkaline conditions [J]. *J Chromatogr*, 1990, 516(1): 123.
- [8] Cifuentes A, Frutos M, Diez-masa JC. Analysis of whey proteins by capillary electrophoresis using buffer-containing polymeric additives [J]. *J Dairy Sci*, 1993, 76: 1870–1875.
- [9] Cartoni G, Coccioli F, Jasionowska R, *et al.* Determination of cows' milk in goats' milk and cheese by capillary [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 846: 135–141.
- [10] Strange ED, Malin EL, Van-Hekken DL, *et al.* Chromatographic and electrophoretic methods used for analysis of milk proteins [J]. *J Chromatogr*, 1992, 624(1–2): 81.
- [11] Recio I, Amigo L, López-Fandiño R. Assessment of the quality of dairy products by capillary electrophoresis of milk proteins [J]. *J Chromatogr B*, 1997, 697(1): 231–242.
- [12] Frazier RA, Papadopoulou A. Recent advances in the application of capillary electrophoresis for food analysis [J]. *Electrophoresis*, 2003, 24(22–23): 4095–4105.
- [13] Frazier RA. Recent advances in capillary electrophoresis methods for food analysis [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(19): 4197–4206.
- [14] Álvarez G, Montero L, Llorens L, *et al.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics [J]. *Electrophoresis*, 2018, 39(1): 136–159.
- [15] Acunha T, Ibáñez C, Cañas VG, *et al.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics [J]. *Electrophoresis*, 2016, 37: 111–141.
- [16] García-Cañas V, Simó C, Castro-Puyana M, *et al.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics [J]. *Electrophoresis*, 2014, 35(1): 147–169.
- [17] Puyana MC, Cañas VG, Simó C, *et al.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics [J]. *Electrophoresis*, 2012, 33: 147–167.
- [18] Herrero M, Cañas VG, Simó C, *et al.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31: 205–228.
- [19] O'Donnell R, Holland JW, Deeth HC, *et al.* Milk proteomics [J]. *Int Dairy J*, 2004, 14(12): 1013–1023.
- [20] 徐双双, 王尉, 陈尔凝, 等. 电泳法在食品过敏原检测中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(11): 3436–3443.
- [21] Xu S S, Wang W, Chen EN, *et al.* Application of electrophoresis in the detection of food allergens [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(11): 3436–3443.
- [22] Shi Y, Li, Z, Lin J. Advantages of CE-SDS over SDS-PAGE in mAb purity analysis [J]. *Anal Methods* 2012, 4(6): 1637–1642.
- [23] Feng P, Fuerer C, McMahon A. Quantification of whey protein content in infant formulas by SDS-CGE [J]. *J AoAC Int*, 2017, 100(2): 1–20.
- [24] 刘鸣畅, 侯艳梅, 杨艳歌, 等. 毛细管电泳技术检测羊乳婴幼儿配方粉中的牛乳成分[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(5): 270–275.
- [25] Liu MC, Hou YM, Yang YG, *et al.* Detection of cow milk components in goat milk from infant formula using capillary gel electrophoresis method [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2019, 19: 270–275.
- [26] 任亮, 黄林, 蒋忠荣, 等. 用毛细管电泳检测牦牛、犏牛和藏黄牛乳中 β -乳球蛋白的三种遗传变异体[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(5): 137–140.
- [27] Ren L, Huang L, Jiang ZR, *et al.* Detection of three genetic variants of β -lactoglobulin in milk of yak, cattle - yak and Tibetan Yellow cattle by capillary electrophoresis [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(5): 137–140.
- [28] Omar A, Harbourne N, Oruna-Concha MJ. Quantification of major camel milk proteins by capillary electrophoresis [J]. *Int Dairy J*, 2016, 58: 31–35.
- [29] Ordiales E, Martín A, Benito MJ, *et al.* Technological characterisation by free zone capillary electrophoresis (FCZE) of the vegetable rennet (*Cynara cardunculus*) used in “Torta del Casar” cheese-making [J]. *Food Chem*,

- 2012, 133(1): 227–235.
- [27] Pelaez LC, Diez MJC, Vasallo I, *et al.* A new sample preparation method compatible with capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence for improving detection of low levels of beta-lactoglobulin in infant foods [J]. *Anal Chim ACTA*, 2009, 649(2): 202–210.
- [28] ISO 17129-2006/FDA206 Milk powder - Determination of soy and pea proteins using capillary electrophoresis in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS-CE) - Screening method [S].
- [29] 崔珊. 毛细管涂层方法研究及蛋白质分析中的应用[D]. 北京: 北京理工大学, 2015.
- Cui S. Study of capillary electrophoresis methods and application to the analysis of protein [D]. Beijing: Beijing Institute of Technology, 2015.
- [30] 陈金. 部分填充毛细管电泳拆分氨基酸对映体及双区段串联的影响研究[D]. 北京: 北京理工大学, 2018.
- Chen J. Enantioseparation of amino acids with partial filling capillary electrophoresis and the effect of double plugs filling [D]. Beijing: Beijing Institute of Technology, 2018.
- [31] 孙国庆, 康小红, 刘卫星. 利用毛细管电泳法测定乳品中 β -乳球蛋白含量的研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2010, 22(5): 414–417.
- Sun GQ, Kang XH, Liu WX. Detection of β -Lacto globulin in milk products by capillary electrophoresis [J]. *Chin J Food Hyg*, 2010, 22(5): 414–417.
- [32] 黄昕, 侯彩云. 一种利用毛细管电泳间接测定生鲜乳中添加大豆分离蛋白的方法[J]. *食品科技*, 2011, 36(10): 272–275.
- Huang X, Hou CY. Indirect detecting method for soy protein isolate in fresh milk by capillary electrophoresis [J]. *Food Sci Technol*, 2011, 36(10): 272–275.
- [33] 唐萍, 田晶, 余振宝, 等. 奶制品中蛋白质测定的毛细管电泳法研究[J]. *分析科学学报*, 2006, 22(1): 5–8.
- Tang P, Tian J, She ZB, *et al.* Determination of milk proteins by capillary electrophoresis [J]. *J Anal Sci*, 2006, 22: 5–8.
- [34] 王丽娜, 李子超, 李昀皓, 等. 基于毛细管区带电泳系统的南方水牛奶酪蛋白分析技术研究[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(3): 264–268.
- Wang LN, Li ZC, Li YK, *et al.* Analysis of water buffalo caseins in south china by capillary zone electrophoresis [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(3): 264–268.
- [35] 张明, 任发政, 方冰, 等. 毛细管电泳法测定不同体细胞数的原料乳的蛋白组成及含量[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(7): 232–236.
- Zhang M, Ren FZ, Fang B, *et al.* Analysis of the protein composition of raw milk with different somatic cell counts by capillary zone electrophoresis [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39(7): 232–236.
- [36] 赵凌国, 尤俊, 梁肇海, 等. 阳离子交换色谱及动态涂层毛细管电泳法检测牛奶中乳铁蛋白含量[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(3): 339–343.
- Zhao LG, You J, Liang ZH, *et al.* Determination of bovine lactoferrin in milk by cation exchange chromatography and dynamic coating capillary electrophoresis [J]. *J Instru Anal*, 2014, 33: 339–343.
- [37] Ding X, Yang Y, Zhao S, *et al.* Analysis of α -lactalbumin, β -lactoglobulin a and B in whey protein powder, colostrum, raw milk, and infant formula by CE and LC [J]. *Dairy Sci Technol*, 2011, 91: 213–225.
- [38] 田兰, 马晓丽, 陈春丽, 等. 毛细管电泳法对乳及乳制品中乳源蛋白的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(8): 108–111.
- Tian L, Ma XL, Chen CL, *et al.* Study on milk proteins in milk and milk products by capillary electrophoresis [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33: 108–111.
- [39] Miralles B, Rothbauer V, Manso MIA, *et al.* Improved method for the simultaneous determination of whey proteins, caseins and para-k-casein in milk and dairy products by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 915: 225–230.
- [40] 张毅杰. 毛细管电泳法测定奶制品中三种乳清蛋白的研究[J]. *科技与企业*, 2012, (14): 361–362.
- Zhang YJ. Determination of three whey proteins in dairy products by capillary electrophoresis [J]. *Sci Technol Enterpr*, 2012, (14): 361–362.
- [41] Zhang H, Liang F, Feng X, *et al.* Determination of proteins in lactic acid bacterium drink and milk powder by micellar electrokinetic chromatography [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(3): 725–731.
- [42] Li J, Ding XJ, Chen Y, *et al.* Determination of bovine lactoferrin in infant formula by capillary electrophoresis with ultraviolet detection [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1244: 178–183.
- [43] 刘宇, 陈伟, 史玉东, 等. 高效毛细管电泳法快速测定乳铁蛋白原料的纯度[J]. *中国乳品工业*, 2016, 44(2): 43–46.
- Liu Y, Chen W, Shi YD, *et al.* Rapid detection of lactoferrin purity of raw materials by high-performance capillary electrophoresis [J]. *China Dairy Ind*, 2016, 44: 43–46.
- [44] Gasilova N, Gassner AL, Girault HH. Analysis of major milk whey proteins by immunoaffinity capillary electrophoresis coupled with MALDI-MS [J]. *Electrophoresis*, 2012, 33(15): 2390–2398.
- [45] Gasilova N, Girault HH. Component-resolved diagnostic of cow's milk allergy by immunoaffinity capillary electrophoresis-matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(13): 6337–6345.
- [46] 刘一, 廖一平, 白玉, 等. 毛细管区带电泳高效分离和高灵敏检测 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白[J]. *分析化学*, 2013, 41(10): 1597–1600.
- Liu Y, Liao YP, Bai Y, *et al.* Separation and sensitive detection of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin by capillary zone electrophoresis [J]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(10): 1597–1600.
- [47] Gutierrez JEN, Jakobovits L. Capillary electrophoresis of α -lactalbumin in milk powders [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(11): 3280–3286.
- [48] de Oliveira, Mendes T, Porto BLS, Bell MJV, *et al.* Capillary zone electrophoresis for fatty acids with chemometrics for the determination of milk adulteration by whey addition [J]. *Food Chem*, 2016, 213: 647–653.
- [49] Lopreiato V, Ceniti C, Trimboli F, *et al.* Evaluation of the capillary electrophoresis method for measurement of immunoglobulin concentration in ewe colostrum [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(8): 6465–6469.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



赵新颖, 博士, 研究员, 主要研究方向为色谱分析。

E-mail: 361562040@qq.com