

毛细管电泳在蛋白质及其水解产物分析中的应用及进展

朱静怡, 范春婷, 陆慧媛*, 沈伟健, 余可垚

(南京海关动植物与食品检测中心, 南京 210019)

摘要: 蛋白质是人体所有细胞和组织的重要成分, 由氨基酸通过脱水缩合组成的多肽链经过盘曲折叠而构成。由于蛋白种类多且结构复杂, 传统方法很难对其进行分离分析, 电泳方法由此诞生。毛细管电泳是一种将电泳和色谱有机结合的快速分离技术。本文针对食品和药品领域, 对毛细管电泳在蛋白质及其水解产物分析中的最新应用及研究进展进行了综述, 主要从毛细管电泳的基本原理及主要类型、毛细管电泳与其他技术的联用及应用现状、毛细管电泳在食品和药品中蛋白质及其水解产物的分析应用方面进行了阐述和总结, 并展望了毛细管电泳技术在特殊医学用途配方食品中蛋白质和多肽分子量测定方面的发展前景, 以期为特殊医学用途配方食品中整蛋白及多肽分子量分布测定方法的开发提供参考。

关键词: 毛细管电泳; 蛋白质; 多肽; 特殊医学用途配方食品

Application and progress of capillary electrophoresis in the analysis of proteins and their hydrolysates

ZHU Jing-Yi, FAN Chun-Ting, LU Hui-Yuan*, SHEN Wei-Jian, YU Ke-Yao

(Animal, Plant and Food Inspection Center, Nanjing Customs, Nanjing 210019, China)

ABSTRACT: Protein is an important component of all cells and tissues of the human body. It is formed by the winding and folding of polypeptide chains composed of amino acids through dehydration and condensation. Due to the variety and complex structure of proteins, it is difficult to separate and analyze them by traditional methods. Therefore, electrophoresis was born. Capillary electrophoresis is a rapid separation technique that combines electrophoresis and chromatography. This paper reviewed the latest applications and research progress of capillary electrophoresis in the proteins and their hydrolysates in the field of food and medicine, described and summarized the basic principle and main types of capillary electrophoresis, the combination and application of capillary electrophoresis and other technologies, and the application of capillary electrophoresis in the analysis of proteins and their hydrolysates in food and medicine, and prospected the development potential of capillary electrophoresis in the determination of protein and polypeptide molecular weight in formula food for special medical purposes. It is expected to provide a reference for the development of methods for determining the molecular weight distribution of whole proteins and polypeptide in formula foods for special medical purposes.

基金项目: 南京海关科技计划项目(2020KJ21)

Fund: Supported by the Nanjing Customs Science and Technology Program (2020KJ21)

*通信作者: 陆慧媛, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为特殊食品检测。E-mail: hylu_njmu@126.com

*Corresponding author: LU Hui-Yuan, Ph.D, Senior Engineer, Animal, Plant and Food Inspection Center, Nanjing Customs, No.39, Chuangzhi Road, Jianye District, Nanjing 210019, China. E-mail: hylu_njmu@126.com

KEY WORDS: capillary electrophoresis; protein; polypeptide; foods for special medical purposes

0 引言

蛋白质是构成细胞中除水之外的最大部分^[1],是食品,特别是乳制品的一项重要营养指标^[2]。多肽,又称生物活性肽,是乳蛋白水解物的重要成分。因其对人体具有多种免疫调节作用,在普通食品和特殊食品中应用越来越广^[3]。但对食品尤其特殊食品中蛋白及多肽的定量和定性分析,目前可用的技术有限。以特殊医学用途婴儿配方食品中的乳蛋白水解配方系列产品为例,该产品的目标人群是乳蛋白过敏的婴幼儿。产品通过加热或酶水解手段,将配方中的乳蛋白分子加工转换成易消化的物质,如小分子乳蛋白、肽段和氨基酸,从而一方面降低大分子乳蛋白的致敏性,另一方面利用小分子乳蛋白建立耐受性,进而提高消化率^[4]。这一类食品的蛋白质水解程度,以及产品中蛋白质和水解产物的分子量分布情况是评价产品能否满足乳蛋白过敏婴幼儿需求的关键指标^[5],但目前缺乏操作性强、准确性好的标准检测方法。

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)基于电荷质量比分离蛋白质和多肽,通过使用各种电泳缓冲液,在不同的基质中实现分离^[6-8]。故本文结合近年来国内外关于 CE 技术在蛋白质及多肽分析中的研究,综述了 CE 技术的基本原理、主要类型及其与其他技术的联用情况,同时探讨了 CE 技术在食品及药品中蛋白质及多肽分析方面的发展方向,以期将 CE 技术的高分辨率分离特点与高性能检测技术结合,从而协助更有效地分析和表征食品及药品中的蛋白质和多肽,进一步拓宽其在特殊医学用途配方食品中的应用范围。

1 毛细管电泳技术概述

CE 是一种强有力的分离和定量技术,与凝胶电泳相比,具有更高的分辨率、更小的样品量、更短的分析时间和更低的操作成本等优势,且易于自动化。该技术根据电荷、疏水性、大小或立体特异性,可以对氨基酸、多肽、药物、类固醇、激素、蛋白质、核酸等多种生物活性分子进行分离^[9-11]。对于每个特定的应用,只需要改变缓冲液的组成、离子强度和添加剂等即可达到分析目的。可以说,CE 在分离、测定和分析蛋白质和多肽等生物分子方面具有很高的潜力^[12]。

1.1 CE 技术的分类

目前,CE 技术因其分离效率高、分离模式多样及适用于大分子和小分子的分离和定量等优点,在蛋白质和多肽的分析应用方面越来越广泛。CE 根据分离模式不同,可分

为毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis, CZE)、胶束电动毛细管色谱(micellar electrokinetic capillary chromatography, MEKC)、等速电泳(isokinetic electrophoresis, ITP)、毛细管凝胶电泳(capillary gel electrophoresis, CGE)和毛细管电色谱(capillary electrochromatography, CEC)^[13-16]。

CZE 是应用于蛋白及多肽分离中最有效普遍的电泳分离方式。CZE 在外加直流电场的影响下,带电物质在水溶液中依据其迁移率不同实现分离^[17]。MEKC 具有独特的分离模式,中性分子通过微分配被分离成电荷胶束在毛细管中迁移,带电物质基于电荷大小比进行分离^[18]。ITP 是一种不连续介质电泳技术,根据样品有效滴度的差别进行分离。可同时进行多种离子分析,样品前处理简单,操作条件可根据需求改变,特别适用于生化分析工作^[19]。CGE 是一种利用筛分基质作为缓冲介质来分离大分子量化合物的电泳模式,具有自动化、柱上检测的优点,且比十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)具有更高的分辨率,在速度、定量和自动化方面具有优势,可作为 SDS-PAGE 分离蛋白质和多肽的替代手段^[20]。CEC 是一种利用电驱动技术显著提高色谱性能的液相色谱技术,可基于带电物质在外加电场影响下的迁移差异来实现分离,适用于中性组分和带电组分的分析,是一种比填充毛细管高效液相色谱法具有更高板效率的方法^[21]。CE 的多种分离模式,都是近生理条件下的分离,对蛋白质和多肽的功能及相互作用的生物学研究尤其有利^[22],不仅为复杂蛋白及水解物的分离分析提供了不同的选择机会,也拓宽了 CE 的应用范围。

1.2 CE 与其他技术的联用

因毛细管中可注入的体积较小(10~100 nL),使得 CE 分析的检测灵敏度受到限制。同时,小分子蛋白和多肽类物质的结构非常相似,若仅使用单一的 CE 方法进行分离,很难获取令人满意的结果。因此,联合使用两种或两种以上分析仪器是蛋白质及多肽分析检测技术的发展趋势^[23]。

1.2.1 CE-质谱

CE 与质谱(mass spectrum, MS)联用是一种功能强大、效率高、信息丰富的分析技术。一方面,CE 的图谱峰宽相对较窄,一次运行能分离多种蛋白质和多肽。另一方面,MS 检测可以为分析蛋白质及多肽的分子量和折叠状态提供非常有用的信息。两者结合具备高分离效率、质量选择检测和详细分析表征等多种优势,是表征完整蛋白质和多肽的有效工具^[24-25]。这两种分析方法的联用由 SMITH 团队首次提出,近年来在蛋白质组学、代谢组学、法医学、

生物医学、环境分析以及制药和食品分析等领域都实现了有效的应用^[26-28], 可以满足选择性分析完整蛋白质及多肽的需求。CE-MS 为表征蛋白质结构增加了更多可能性, 可提供蛋白质特性的信息, 包括异构体、降解产物和杂质等。许多蛋白质修饰, 如糖基化、磷酸化或脱酰胺过程, 都可通过 CE-MS 技术检测到^[29-30]。

HAMIDLI 等^[31]曾使用 CZE-MS 分析完整蛋白, 并比较了未涂层石英毛细管与不同涂料涂层毛细管的分离性能。发现在低 pH (pH 1.8) 条件下, 未涂层毛细管具有良好的精密度、吸附和分离效率, 与涂层毛细管相比, 在数据上更具有优势。由此可见, 对于分离生物样品中的少量蛋白质, 甚至是大量蛋白质, 使用简单低成本的未涂层石英毛细管也十分有效。

1.2.2 CE-激光诱导荧光法

在为 CE 开发的商业检测模式中, 激光诱导荧光法 (laser induced fluorescence assay, LIF) 的激光束可在几微米到亚微米半径范围内聚焦, 实现了单分子检测^[32], 同时采用了特殊设计可以阻挡光学元件的杂散光, 降低了检出限。CE 的高效分离特点与 LIF 结合, 可极大提高分析方法的选择性和灵敏度。

为了更好地进行 LIF 检测, 蛋白质样品在分析测试前通常需要经过荧光染色处理, 并需要衍生化反应来扩大检测范围, 因目前无可用的商业化柱后反应器, 一般选择毛细管柱前衍生化模式。这种操作虽然可以获得较高的灵敏度, 但多重标记对于蛋白质、多肽及氨基酸等物质来说, 会导致分离效率和分辨率的下降^[33]。虽然通过在运行缓冲液中加入亚胶束浓度的 SDS 可能会有助于解决这个问题, 但表面活性剂并不适用于所有的 CE 模式。所以, CE-LIF 的低检出限在很大程度上依赖于样品前处理。为解决这一问题, 预浓缩技术结合 LIF 检测将会在蛋白质和多肽分析应用中发挥重要的作用^[34]。

目前, 因 CE-LIF 的前处理操作较为复杂, 仪器造价成本较高, 限制了其在普通食品检测中的推广, 但有成功应用到功能性食品中多肽的分析检测的相关报道。如梁小云^[35]尝试建立一种使用 CEC-LIF 检测运动营养品中谷胱甘肽、酪蛋白磷酸肽、白蛋白多肽 3 种功能性多肽的分析方法。结果发现, 3 种功能性多肽能在 1.0~20.0 ng/mL 浓度范围内线性良好, 相关系数 r^2 为 0.995~0.999, 该方法具有前处理简单、灵敏度高和检测速度快的优点, 为运动营养品中功能性多肽的检测分析提供了新手段。

1.2.3 CE-化学发光法

化学发光法 (chemiluminescence, CL) 检测不需要光源, 光学结构简单, 具有低背景和高检测灵敏度的优势, 且响应信号线性范围宽, 有利于定量分析, 可实现单分子水平检测。此外, CL 在流动注射、高效液相色谱和免疫分析中较为常用, 适合于在线 CE 检测。CL 与 CE 的耦合, 不仅

广泛应用于化学分析、生物分析、药物分析和环境分析^[36], 也成功用于金属离子、氨基酸、药物、生物标记物和生物大分子的分离, 是一种很有发展前途的检测技术^[37]。

ZHAO 等^[38]建立了一种基于 CE 和 CL 检测的快速简便方法, 用于测定一种具有调节血管舒缩和抗炎等作用的神经递质/调节剂—胍丁胺。CE-CL 实现了在 2 min 内将生物样品中的胍丁胺与内源化合物的有效分离, 具有分析速度快、灵敏度高、仪器简单的优点, 可用于蛋白及多肽的分离与分析。但 CE-CL 方法需进行化学发光标记后再检测, 操作步骤较烦琐, 且常常受到化学发光试剂不稳定性的限制, 故化学性质稳定的发光试剂是改善 CE-CL 方法应用条件的关键。

2 毛细管电泳在食品和药品中蛋白质及多肽分析中的应用

随着人们对健康系列产品关注度的增加, 具有蛋白质、多肽含量及分布等分析需求的食品和药品不断增多, 蛋白质和多肽的来源也越来越丰富。目前, 主要有食物源 (橄榄果实、保健品、动物乳及乳制品) 和药物源 (地龙、番茄植株、中药材)。不同来源的蛋白质及多肽所发挥的功效与作用不同, 所对应的分析目的及需求往往也不同。例如近两年备受关注的特殊医学用途配方食品, 富含优质蛋白及生物活性肽, 对特殊群体的健康大有裨益。其中的乳蛋白水解配方产品在注册上市前会被要求提供水解蛋白原料或水解产物的分子量分布情况及控制要求, 包括整蛋白、肽和氨基酸的含量以及肽分子量的分布情况。这表明特殊医学用途配方食品中乳蛋白及多肽的分析是相关产品质量控制的重点和难点。

目前有关 CE 方法分析食品和药品中蛋白质及多肽的研究报道大致可分为两类: 一类将 CE 用于蛋白质及多肽的分离及分子量确定, 另一类使用 CE 研究其组成及含量分析。但尚未发现使用 CE 方法对特殊医学用途配方食品中乳蛋白及水解产物的分子量分布进行研究的相关报道。

2.1 分离及分子量确定

将样品中蛋白质及多肽成功分离是食品和药品中蛋白质类物质分析的基础。周鑫悦等^[39]采用 CZE 法, 配备二极管阵列检测器, 通过优化分离缓冲液种类、pH 及浓度和分离电压等条件, 实现了 6 种地龙多肽在 10 min 内基线分离, 建立的方法可用于地龙中药材及其制剂中地龙多肽的分离检测。MONTEALEGRE 等^[40]首次利用 CGE 技术对从橄榄果实中提取的蛋白质进行分离, 在 20 个橄榄品种中发现了 7 个共同蛋白质峰, 通过对电泳图谱中 7 个共同峰进行鉴定, 并与多元化学计量学工具相结合, 用于判别橄榄品种的地理来源, 从而开拓了 CE 在品种溯源鉴定方面的应用。

掌握蛋白及多肽的分子量信息是食品和药品中蛋白质类物质定性和定量分析的关键。薛洪宝等^[41]使用 CE 方法,通过优化分离条件,绘制了峰面积对样品溶液浓度的标准曲线,建立了 15 种氨基酸及 2 种多肽的同时定量分析方法,可实现多肽及氨基酸的有效分离和定量检测。HE 等^[42]基于 Ferguson 法和多重 SDS-CGE 法结合紫外检测,建立了一种快速测定蛋白质分子量的方法,可通过构建 Ferguson 图和通用校准曲线(14.2~205 kDa)测定不同类型蛋白质的分子量。然而,目前有关 CE 技术在分子量小于 10 kDa 的蛋白及多肽检测中的应用报道较少^[43-44]。

2.2 组成及含量分析

食品中蛋白质的组成结构对食品品质、营养及风味具有一定影响,尤其是乳制品,不同原料乳之间的蛋白和多肽组成及含量有较大差别,营养特性也会有相应差异。CE 技术可应用于原料乳中蛋白质的组成及变化规律分析,如张明等^[45]建立了原料乳中乳蛋白的 CE 分析方法。结果显示,随着体细胞数数量的增多,原料乳中酪蛋白的含量显著减少,乳清蛋白含量相对增多;酪蛋白中 β -酪蛋白 B 和 β A1-酪蛋白由于水解成新的小片段,其占比显著降低。此外,CE 技术在多肽的组成分布研究中也有一定的应用,如 MUCHA 等^[46]开发了一种简单快速的 CE 方法来监测 Sys 肽在番茄植株中的运输。结果发现,在 pH 为 2.5、电压为 20 kV 的 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液中,使用未涂层的熔融石英毛细管实现了 Sys 肽的最佳分离。此研究也推动了 CE 技术在果蔬植株多肽动态分布过程监测中的应用。

蛋白质及多肽具有丰富的营养价值,而蛋白质水解产生的生物活性肽具有抗氧化、调节免疫等生理功效^[47]。采用 CE 技术对食品及药品中蛋白质及多肽进行定量分析是近年来食品药品营养及功效评价的热点,如孙娜娜等^[48]建立了一种全自动 CGE 方法,实现了乳及固体奶粉中乳铁蛋白的定性定量检测。该方法使用预制胶卡夹,有效解决了 CZE 需要涂层来抑制非特异性吸附的难题,同时省去了复杂的制胶、点样等步骤,操作更简便。宫菲菲等^[49]采用 CZE 方法对 2 家工厂生产的艾塞那肽原料药中艾塞那肽的纯度进行测定,研究了不同分离条件对分离效果的影响,确定最佳电泳条件,并与液相色谱法结果进行比较,建立了药物中肽纯度测定的 CE 方法。刘鸣畅等^[50]使用 CGE 技术对羊乳来源的婴幼儿配方粉中的牛乳成分进行测定,通过分析比较不同乳源配方产品中主要蛋白质组分的电泳图谱,筛选出牛乳蛋白特征峰,建立了一种可用于羊乳源婴幼儿配方粉中牛乳成分的蛋白质定性和定量检测的 CE 方法。但目前尚未见 CE 技术应用于特殊医学用途配方食品检测中的文献,尤其是乳蛋白水解配方产品里蛋白质及多肽分子量的确定和定量检测。

本课题组前期针对特殊医学用途乳蛋白水解配方产品中中小蛋白及多肽分子量分布的研究,初步开发了 CE 的

检测方法。该方法通过在样品中加入 SDS 和 β -巯基乙醇,在加热条件下,蛋白质间的分子间力和二硫键断开,SDS 与蛋白质分子结合形成带负电的复合物。该复合物进入电场后,在电压的驱动下迁移至检测窗口而被检测^[51]。此方法在 40 min 内可以有效测定样品中 10 kDa 以上蛋白质的分子量分布情况,但对分子量低于 10 kDa 的蛋白及水解产物的分离效果较差。而特殊医学用途乳蛋白水解配方食品中的蛋白质及水解产物,其分子量大多在 10 kDa 以下,所以本课题组建立的方法需进一步优化,以期解决特殊医学用途配方食品中蛋白质及其水解产物分子量分布无可靠测定方法的问题。

3 总结与展望

CE 拥有分离效率高、操作成本低和分辨率高的优势,在食品药品分析领域得到了广泛的应用,尤其对蛋白质、核酸等生物活性物质具有很好的分离效果,常被用来研究食品和药品中蛋白质及多肽的分离、分子量分布、组成和含量分析。CE 具有不同分离模式,适用于不同检测对象,但有些模式在食品蛋白质分析中的应用尚待开发。CE 通过与其他技术的联用可提高其检测灵敏度,同时应用范围也得到较大程度的拓展,如 CE-MS 可表征蛋白质修饰情况。目前,CE 虽然已普遍应用至蛋白分离及定量分析领域,但目标对象通常是分子量高于 10 kDa 的蛋白质,而对超低分子量多肽(如低于 10 kDa 的目标物)及氨基酸的分析应用研究还较少,在特殊医学用途配方食品中尤其是乳蛋白水解配方产品中的应用更是未见报道。基于目前特殊医学用途配方食品是“市场有需求,国家有重视”的大健康产品,通过改善分离介质成分、优化电离条件和其他技术联用等途径,开发可用于分析特殊医学用途配方食品乳蛋白水解配方类产品中蛋白及小分子多肽的 CE 方法,将为特殊医学用途配方食品的研发、质量把控、市场监管等提供强有力的技术支撑。

参考文献

- [1] 张湘渠,张斌,盖丽娜,等. 乳蛋白水解度检测方法研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(4): 42-45.
ZHANG XQ, ZHANG B, GAI LN, *et al.* Progress in detection methods for degree of hydrolysis of cow's milk proteins: A review [J]. J Dairy Sci Technol, 2021, 44(4): 42-45.
- [2] 赵新颖,丁晓静,陈亮. 毛细管电泳技术在乳品蛋白分析中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(17): 5814-5819.
ZHAO XY, DING XJ, CHEN L. Application of capillary electrophoresis in protein analysis of dairy products [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(17): 5814-5819.
- [3] 石璞洁,许诗琦,王震宇,等. 乳铁蛋白生物活性肽及其功能机制研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 267-274.
SHI PJ, XU SQ, WANG ZY, *et al.* Advances in biological activity and functional mechanism of peptides from lactoferrin [J]. Food Sci, 2021,

- 42(7): 267–274.
- [4] 楼佳佳, 储小军, 姜艳喜, 等. 特殊医学用途婴儿乳蛋白部分水解配方食品营养成分稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(3): 57–65.
LOU JJ, CHU XJ, JIANG YX, *et al.* Study on nutrients stability of partial hydrolyzed infant formula for special medical purposes [J]. *China Food Addit*, 2022, 33(3): 57–65.
- [5] 李侠, 杨宏, 刘学波. 特医全营养配方食品配方组成分析[J]. 中国食物与营养, 2021, 27(12): 22–27.
LI X, YANG H, LIU XB. Complete nutrition formulas composition analysis on for special medical purposes [J]. *Food Nutr China*, 2021, 27(12): 22–27.
- [6] SMITH BJ. SDS polyacrylamide gel electrophoresis of proteins [J]. *Methods Mol Biol*, 1994, 32: 23–34.
- [7] CAPALDO C, AOUNI MC, LAURELLI D, *et al.* Detection of monoclonal protein by capillary zone electrophoresis can be challenged by iodinated contrast agent interference: A case report [J]. *Biochem Med (Zagreb)*, 2021, 31(2): 021001.
- [8] SCHELLER C, KREBS F, WIESNER R, *et al.* A comparative study of CE-SDS, SDS-PAGE, and simple western-precision, repeatability, and apparent molecular mass shifts by glycosylation [J]. *Electrophoresis*, 2021, 42(14–15): 1521–1531.
- [9] 马遥, 胡洋洋, 郑李婷, 等. 2021 年毛细管电泳技术年度回顾[J]. 色谱, 2022, 40(7): 8–16.
MA Y, HU YY, ZHENG LT, *et al.* Annual review of capillary electrophoresis technology in 2021 [J]. *Chin J Chromatogr*, 2022, 40(7): 8–16.
- [10] LIÉNARD-MAYOR T, YANG B, TRAN NT, *et al.* High sensitivity capillary electrophoresis with fluorescent detection for glycan mapping [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 8(1657): 462593.
- [11] SANCHEZ A, SMITH AJ. Capillary electrophoresis [J]. *Methods Enzymol*, 1997, 289: 469–478.
- [12] SAPAN CV, LUNDBLAD RL. Review of methods for determination of total protein and peptide concentration in biological samples [J]. *Prot Clin Appl*, 2015, 9(3–4): 268–276.
- [13] ZHU Z, LU JJ, LIU S. Protein separation by capillary gel electrophoresis: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 4(709): 21–31.
- [14] WEI B, MA Y, TIAN W, *et al.* Annual review of capillary electrophoresis technology in 2020 [J]. *Chin J Chromatogr*, 2021, 39(6): 559–566.
- [15] FILEP C, BORZA B, JARVAS G, *et al.* N-glycosylation analysis of biopharmaceuticals by multicapillary gel electrophoresis: Generation and application of a new glucose unit database [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 30(178): 112892.
- [16] XING J, WANG F, CONG H, *et al.* Analysis of proteins and chiral drugs based on vancomycin covalent capillary electrophoretic coating [J]. *Analyst*, 2021, 146(4): 1320–1325.
- [17] DOLNIK V. Capillary zone electrophoresis of proteins [J]. *Electrophoresis*, 1997, 18(12–13): 2353–2361.
- [18] 高凡, 王晓飞, 张博. 胶束电动色谱技术在蛋白质分离分析中的应用研究进展[J]. 分析化学, 2019, 47(6): 805–813.
GAO F, WANG XF, ZHANG B. Research and application progress of micellar electrokinetic chromatography in separation of proteins [J]. *Chin J Anal Chem*, 2019, 47(6): 805–813.
- [19] 李敏, 何友昭, 涂五二, 等. 电堆积与等速电泳结合的毛细管电泳进样富集方法的研究[J]. 色谱, 2001, 2: 176–178.
LI M, HE YZ, GAN WER, *et al.* Study on sampling preconcentration method combining electrostacking with isotachopheresis in capillary electrophoresis [J]. *Chin J Chromatogr*, 2001, 2: 176–178.
- [20] 刘鸣畅, 王洪越, 方舒正, 等. 采用毛细管凝胶电泳技术检测常见乳源成分[J]. 中国乳品工业, 2020, 48(12): 43–48.
LIU MC, WANG HY, FANG SZ, *et al.* Capillary gel electrophoresis method applied to detect common milk source components [J]. *China Dairy Ind*, 2020, 48(12): 43–48.
- [21] HAJBA L, GUTTMAN A. Recent advances in capillary electrochromatography of proteins and carbohydrates in the biopharmaceutical and biomedical field [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2021, 51(3): 289–298.
- [22] SASTRE TJ, RAMAUTAR R, JONG G. Advances in capillary electrophoresis for the life sciences [J]. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*, 2019, 15(1118–1119): 116–136.
- [23] KUZYK VO, SOMSEN GW, HASELBERG R. CE-MS for proteomics and intact protein analysis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1336: 51–86.
- [24] 苗亚伟, 周莉平, 宋娜, 等. 毛细管电泳分析多肽研究进展[J]. 分析仪器, 2018, 2: 1–5.
MIAO YW, ZHOU LP, SONG N, *et al.* Advances in polypeptide analysis by capillary electrophoresis [J]. *Anal Instrum*, 2018, 2: 1–5.
- [25] DAWOD M, ARVIN NE, KENNEDY RT. Recent advances in protein analysis by capillary and microchip electrophoresis [J]. *Analyst*, 2017, 11: 1847.
- [26] LIANG Y, ZHANG L, ZHANG Y. Capillary electrophoresis-mass spectrometry and its application to proteomic analysis [J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38(10): 1117–1124.
- [27] HE M, LUO P, HONG J, *et al.* Structural analysis of biomolecules through a combination of mobility capillary electrophoresis and mass spectrometry [J]. *ACS Omega*, 2019, 4(1): 2377–2386.
- [28] MIKŠÍK I. Coupling of CE-MS for protein and peptide analysis [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(1): 385–397.
- [29] LATOSINSKA A, SIWY J, MISCHAK H, *et al.* Peptidomics and proteomics based on CE-MS as a robust tool in clinical application: The past, the present, and the future [J]. *Electrophoresis*, 2019, 40(18–19): 2294–2308.
- [30] MONTON MR, TERABE S. Recent developments in capillary electrophoresis-mass spectrometry of proteins and peptides [J]. *Anal Sci*, 2005, 21(1): 5–13.
- [31] HAMIDLİ N, ANDRASI M, NAGY C, *et al.* Analysis of intact proteins with capillary zone electrophoresis coupled to mass spectrometry using uncoated and coated capillaries [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 27(1654): 462448.
- [32] GARCÍA-CAMPAÑA AM, TAVERNA M, FABRE H. LIF detection of peptides and proteins in CE [J]. *Electrophoresis*, 2007, 28(1–2): 208–232.
- [33] MORANI M, TAVERNA M, MAI TD. A fresh look into background electrolyte selection for capillary electrophoresis-laser induced fluorescence of peptides and proteins [J]. *Electrophoresis*, 2019, 40(18–19): 2618–2624.
- [34] BAN E, SONG EJ. Recent developments and applications of capillary

- electrophoresis with laser-induced fluorescence detection in biological samples [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 15(929): 180–186.
- [35] 梁小云. CEC-LIF 法检测运动营养品中 3 种功能性多肽[J]. *食品工业*, 2019, 40(10): 331–335.
- LIANG XY. Determination of three functional polypeptides in sports nutrients by CEC-LIF [J]. *Food Ind*, 2019, 40(10): 331–335.
- [36] YANG S, HAN Y, WANG K, *et al.* Simultaneous determination of four phenolic acids in traditional Chinese medicine by capillary electrophoresis-chemiluminescence [J]. *RSC Adv*, 2021, 11(54): 33996–34003.
- [37] LARA FJ, GARCÍA-CAMPAÑA AM, VELASCO AI. Advances and analytical applications in chemiluminescence coupled to capillary electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(12): 1998–2027.
- [38] ZHAO S, XIE C, LU X, *et al.* Determination of agmatine in biological samples by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 832(1): 52–57.
- [39] 周鑫悦, 张诗琪, 林露, 等. 高效毛细管电泳法同时分离检测六种地龙多肽[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(12): 2569–2575.
- ZHOU XY, ZHANG SQ, LIN L, *et al.* Simultaneous separation and detection of six earthworm peptides by efficient capillary zone electrophoresis [J]. *World Sci Technol-Mod Tradit Chin Med Mater Med*, 2019, 21(12): 2569–2575.
- [40] MONTEALEGRE C, GARCÍA MC, RÍO C, *et al.* Separation of olive proteins by capillary gel electrophoresis [J]. *Talanta*, 2012, 15(97): 420–424.
- [41] 薛洪宝, 刘海峰, 焦艳娜, 等. 15 种氨基酸及 2 种多肽的毛细管电泳法定量分析[J]. *工程科学与技术*, 2010, 42(2): 204–208.
- XUE HB, LIU HF, JIAO YN, *et al.* Quantitative analysis of 15 amino acids and 2 peptides by capillary electrophoresis [J]. *Adv Eng Sci*, 2010, 42(2): 204–208.
- [42] HE Y, YEUNG ES. Rapid determination of protein molecular weight by the Ferguson method and multiplexed capillary electrophoresis [J]. *J Proteome Res*, 2002, 1(3): 273–277.
- [43] MADSEN JS, AHMT TØ, OTTE J, *et al.* Hydrolysis of β -lactoglobulin by four different proteinases monitored by capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography [J]. *Int Dairy J*, 1997, 7(6–7): 399–409.
- [44] 张慧洁, 丁志文, 程宝箴, 等. 毛细管电泳法测定胶原蛋白分子质量及其分布[J]. *中国皮革*, 2014, 43(5): 5–8, 14.
- ZHANG HJ, DING ZW, CHENG BZ, *et al.* Molecular weight and distribution determination of collagen protein with capillary electrophoresis apparatus [J]. *China Leather*, 2014, 43(5): 5–8, 14.
- [45] 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.
- [46] MUCHA P, RUCZYNSKI J, DOBKOWSKI M, *et al.* Capillary electrophoresis study of systemin peptides spreading in tomato plant [J]. *Electrophoresis*, 2019, 40(2): 336–342.
- [47] MANZOOR M, SINGH J, RAY A, *et al.* Recent advances in analysis of food proteins [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, 403: 2795–2796.
- [48] 孙娜娜, 刘金虎, 杨孟迪, 等. 乳及乳制品中乳铁蛋白的全自动高通量毛细管凝胶电泳检测方法研究[J]. *中国乳品工业*, 2021, 49(9): 52–56.
- SUN NN, LIU JH, YANG MD, *et al.* Detection of lactoferrin in milk and dairy products exploring capillary gel electrophoresis with automatic high throughput [J]. *China Dairy Ind*, 2021, 49(9): 52–56.
- [49] 宫菲菲, 张玉芬, 孙雯, 等. 毛细管区带电泳法测定艾塞那肽纯度及在稳定性研究中的应用[J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(3): 447–453.
- GONG FF, ZHANG YF, SUN W, *et al.* Capillary zone electrophoresis for determination of purity of exenatide and application in stability study [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(3): 447–453.
- [50] 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.
- 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(5): 270–275.
- [51] PING F, CHRISTOPHE F, ADRIENNE M. Quantification of whey protein content in infant formulas by sodium dodecyl sulfate-capillary gel electrophoresis (SDS-CGE): Single-laboratory validation, first action 2016.15 [J]. *J AoAC Int*, 2017, 100(4): 1177–1180.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



朱静怡, 硕士研究生, 主要研究方向为特殊食品检测。
E-mail: 13721063207@163.com



陆慧媛, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为特殊食品检测。
E-mail: hylu_njmu@126.com