

# 基于液相色谱-质谱的蛋白质组学技术在食品鉴伪中的应用

孟佳<sup>1</sup>, 钮冰<sup>1</sup>, 古淑青<sup>2\*</sup>, 邓晓军<sup>2</sup>, 方真<sup>2</sup>

(1. 上海大学生命科学学院食品工程系, 上海 200444;  
2. 上海出入境检验检疫局动植物与食品检验检疫技术中心, 上海 200135)

**摘要:** 随着全球化的发展, 食品供应链范围更加宽泛, 而食品掺假等欺诈问题日益严重, 影响着全球的经济市场、食品质量与安全监管和消费者的身体健康, 食品掺假现象已得到社会各界的广泛关注。食品检测技术错综复杂, 随着人类基因组序列测定的完成, 人们把检测的研究方向转向了蛋白质组学, 这种检测手段的先进性、适用性在食品质量和安全等方面取得广泛应用。质谱作为蛋白质组学方法的常用技术, 可利用质谱的高通量分析优势对蛋白质和肽段进行鉴定、检测和定量研究, 即可开发简单的、快速的方法来分析复杂的或深加工的食物, 又可定量检测具有高分离度的微量分析物。本文主要介绍了蛋白质组学方法在食品鉴伪中的应用, 阐述了高分辨质谱技术在乳制品、肉类、海产品以及葡萄酒的食品欺诈检测鉴别中的运用, 为该类食品安全问题的处理提供有效的参考。

**关键词:** 食品鉴别; 食品掺假; 蛋白质; 质谱

## Application of proteomics technology based on liquid chromatography-mass spectrometry in food identification

MENG Jia<sup>1</sup>, NIU Bing<sup>1</sup>, GU Shu-Qing<sup>2\*</sup>, DENG Xiao-Jun<sup>2</sup>, FANG Zhen<sup>2</sup>

(1. Department of Food Engineering, School of Life Science, Shanghai University, Shanghai 200444, China;  
2. Technical Center for Animal Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China)

**ABSTRACT:** With the development of globalization, the scope of food supply chain is more extensive, and food adulteration and other fraud problems are increasingly serious, which affects the global economic market, food quality and safety supervision and consumer health, food adulteration phenomenon has been widely concerned by the community. Food detection technology is complex. With the completion of human genome sequencing, people have turned the research direction of detection to proteomics. The advanced and applicability of this detection method has been widely used in food quality and safety. As a common technique of proteomics, mass spectrometry can be used to identify, detect and quantitatively study proteins and peptides by using its advantage of high throughput analysis. It

**基金项目:** 中央引导地方科技发展专项项目(YDZX20173100004528)、长三角科技联合攻关领域项目(17395810102、1804b06020349)、上海市技术标准专项(17DZ2201100)

**Fund:** Supported by the Centrally Guided Local Science Technology Special Project (YDZX20173100004528), Science and Technology Joint Project of the Yangtze River Delta (17395810102, 1804b06020349) and Shanghai Technical Standard Project (17DZ2201100)

\***通讯作者:** 古淑青, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: gushuqing@shciq.gov.cn

\***Corresponding author:** GU Shu-Qing, Ph.D, Senior Engineer, Technical Center for Animal Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China. E-mail: gushuqing@shciq.gov.cn

can be used to develop simple and rapid methods for the analysis of complex or highly processed foods, and quantitative detection of trace analytes with high degree of separation. This paper mainly introduced the application of proteomics method in food adulteration, and expounded the application of high resolution mass spectrometry technology in the detection and identification of food fraud in dairy products, meat, seafood and wine, so as to provide an effective reference for the treatment of such food safety problems.

**KEY WORDS:** food authenticity; food adulteration; protein; mass spectrometry

## 1 引言

目前,随着全球化的发展,食品供应链范围变得愈加广泛,它影响着全球的经济市场、食品质量与安全监督管理和消费者的健康问题。当下,以经济利益为目的的食品掺假(economically motivated adulteration, EMA)逐渐发展成一个新的世界性问题<sup>[1]</sup>。为了应对 EMA 所引起的食品安全风险,各国都开始采取相应的措施,美国药典委员会(the United States Pharmacopeial Convention, USA)建立了食品欺诈数据库,我国的《食品安全法》为国内的食品环境提供了保障<sup>[1]</sup>。食品鉴别是涉及食物质量与安全的重要部分,它可用于完善食品标签法规和政策,也可以对 EMA 和食品污染进行鉴定,维护消费者权益。对于相近物种尤其是加工后食品进行鉴别很困难,因此需要可靠的鉴别方法。蛋白质作为食物的许多属性的标记物,可在一定时间内对特定生物体系中的蛋白质进行大规模分析<sup>[2]</sup>。其质谱(mass spectrometry, MS)技术是基于结构独立的氨基酸序列上的,大大减少假阳性的发生,而且蛋白质组学技术不仅样品易于制备、分析快速、一次可分析多种物质,而且可轻松实现自动化和标准化,而且其高分辨率和灵敏度相结合,能够更好地检测微量物质<sup>[2]</sup>。目前蛋白质组学已被应用到食品技术的不同研究领域,被认为是最有前途的食物鉴别方法。

本文将介绍蛋白质组学及其在海产品、乳制品、肉类以及葡萄酒的掺假检测方法,对食品蛋白质检测的研究进展进行总结和评述,并对方法技术的发展进行展望,以期蛋白质组学技术的进一步发展提供参考。

## 2 简介

### 2.1 蛋白质组学

蛋白质组学(proteomics)以蛋白质组为研究对象,是一门大规模、高通量、系统性地分析不同形态的蛋白质特性及功能的新兴学科。它包含对蛋白质的结构和功能、修饰、互相作用、定位以及定量的研究,这些研究可以用于食品质量评估、食品组成成份分析和食品溯源<sup>[3]</sup>。

根据研究方向不同,蛋白质组学可分为定量蛋白质组学、定性蛋白质组学、结构蛋白质组学和功能蛋白质组

学等。蛋白质组学的研究方法有双向聚丙烯酰胺凝胶电泳(two-dimensional polyacrylamide gelelectrophoresis, 2D-PAGE)、质谱技术(mass spectrometry, MS)、酵母双杂交系统(yeast two-hybrid system, Y2H)及蛋白芯片法(protein chip)等<sup>[3]</sup>,方法多样,各有优势,本文将介绍基于质谱的蛋白质组学研究方法。

### 2.2 研究流程

根据蛋白质的分析方式,可以分为 bottom-up 和 top-down 2 种。bottom-up 方法还可以进一步分类,根据在酶解之前(蛋白质水平)或者是在酶解之后(肽段水平)进行分离而区分。前者可在酶解前进行分离,基于不同蛋白质的等电点和分子量不同,主要采用二维凝胶电泳分离,随后目标蛋白质可以被凝胶切分并消化成肽段。后者也称为 shotgun 蛋白质组学,蛋白质酶解成肽段,直接通过液相(liquid chromatography, LC)-质谱联用仪进行分析。分离时如果一个色谱的峰容量不足时,可以采用多维 LC,通常液相色谱与具有强阳离子交换功能的色谱柱连接使用。top-down 则是将完整蛋白在 MS 内直接裂解成肽段再进行分行。

### 2.3 质谱技术

质谱技术在蛋白质组学研究领域发挥着极其重要的作用,质谱分析的关键性部位是质谱仪,它的核心部件包括离子化源、质量分析器和检测器。质谱技术是采用离子源对分析物进行离子化,离子源主要包括电喷雾(electrospray ionization, ESI)和基质辅助激光解吸电离(matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI)离子源,质量分析器包括四级杆(quadrupole, Q)离子阱(ion trap, IT)、飞行时间(time-of-flight, TOF)和傅里叶变换离子回旋(fourier-transform ion-cyclotron, FTICR),检测器检测分析物所形成的离子并产生质谱图。MS/MS 质量分析器主要有 Q-TOF, QQQ, TOF-TOF 和 Q-IT,质量分析器的结合使用还可以做成多级质谱 MS<sup>n</sup>。而对于裂解过程,模式也有多种,包括碰撞诱导解离(collision induced dissociation, CID)、高能碰撞解离(high energy collision dissociation, HCD)和电子转移解离(electron-transfer dissociation, ETD)。王翌等<sup>[4]</sup>为了对比在蛋白质组学中 CID 和 HCD 裂解模式的分析差别,对牛血清白蛋白以及胞内分解物分别采用这 2 种

模式来鉴别,结果表明,对于规模大的蛋白质组学,两者都适用,但 CID 模式灵敏度相对更高,而 HCD 模式的质谱图质量略胜一筹。如果要对样品中尽可能多的蛋白质进行研究,数据依赖性采集(data-dependent analysis, DDA)是最常用的数据解析技术。Hao 等<sup>[5]</sup>利用基于三重四极杆线性离子阱的增强分辨率扫描功能,所得的光谱结果显著提高了数据的分辨率和准确度。已知蛋白质或肽段的质荷比也可以采用其他的检测模式,统称为目标蛋白质组学,通过对特定离子的选择,可提高分析物的再现性、灵敏度和选择性。其他的检测模式还有:选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)、选择 MS/MS 离子监测(selected MS/MS ion monitoring, SMIM)、选择反应监测(selected-reaction monitoring, SRM)和多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM)等。

## 2.4 分离方法

食物中蛋白质的多样性以及动态分布为 MS 分析带来挑战,这需要对样品进行前处理,对指定的低含量蛋白进行选择富集,去除其他干扰性蛋白,从而提高实验的灵敏度和重复性<sup>[6]</sup>。一般情况下,样品在通过 MS 分析之前,还要经过凝胶电泳或者液相色谱等分离方法对蛋白质或肽段进行分离。凝胶电泳又分为一维凝胶电泳(one-dimensional electrophoresis, 1-DE)和二维凝胶电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE),液相色谱又分为反相液相色谱(reversed phase liquid chromatography, RPLC)和二维或多维液相色谱。Rehbein 等<sup>[7]</sup>采用等电凝胶电泳(isoelectric focusing electrophoresis, IEF)对鱼肉组织中提取的肌浆蛋白进行分离,发现不同鱼种间的小清蛋白(parvalbumins, PRVBs)在基础结构上具有很高的差异性。此外,PRVBs 具有热稳定、易溶于水、耐高压的性质<sup>[8-10]</sup>。因此,PRVBs 是进行鱼种鉴定和鱼制品鉴别理想的生物标志物。An 等<sup>[11]</sup>采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)或 IEF 对 3 种虾肉中的蛋白进行了区分。此外 SDS-PAGE 和

IEF 还可以用于鉴别存在于蟹肉、鱼肉、龙虾和头足类动物肉中的龙虾<sup>[12]</sup>。2-DE 主要的缺点是,分析工作量大,数据库中缺少部分蛋白质序列,不利于蛋白质鉴定,因此,需要围绕 MS 建立蛋白质组学的高通量方法。

## 2.5 蛋白质组学的定量与定性研究

定量蛋白质组学主要是对表达形式多样的蛋白质的含量进行比较分析,不仅能鉴定出不同状态下表达的蛋白质,而且能对其丰度进行精确定量,这对食品鉴别具有重要意义。定量方法多种多样,常规定量蛋白质组学的技术手段包括基于同重同位素标记的 iTRAQ 和串联质谱标记、基于三重四极杆的选择反应监测或多反应监测(selected/multiple reaction monitoring, SRM/MRM)以及进而发展的平行反应监测(parallel reaction monitoring, PRM)、高分辨选择反应监测,基于数据依赖性采集的鸟枪法,连续窗口采集技术等<sup>[6-15]</sup>。

定性蛋白质组学主要是对于蛋白质特性进行描述和鉴定,快速准确的鉴定出蛋白质的本质属性是物质鉴别的根本,研究方法主要有分析蛋白质分子整体的肽质量指纹(peptide mass fingerprinting, PMF)、分析肽段序列进而推断蛋白质的肽碎片指纹(peptide fragment fingerprinting, PFF)、de novo 测序以及肽段碎片离子(peptide fragment ions, PFI)等蛋白质组学方法。

## 2.6 数据处理

MS 与生物信息学结合能推动蛋白质组学的研究,MS 鉴定蛋白质的一般方法就是对质谱得到的实验数据与搜索引擎中的序列数据库计算出的质量值进行比对从而确证蛋白质<sup>[13]</sup>,如果序列与数据库中的相似度很低,要对 MS/MS 图进行分析,或者通过计算机辅助鉴定碎片离子与相应各个氨基酸质量数之间的差异,并对序列进行重新合成<sup>[14]</sup>。

数据库是质谱数据库检索法分析的重要保障,常用的搜索谱库软件和数据库列于表 1。

表 1 常见的搜索谱库软件和蛋白质数据库  
Table 1 Common library search software and protein databases

软件		数据库	
名称	网站	名称	网站
SEQUEST	Fields.scripps.edu/sequest	Uniport	www.uniprot.org
ProFound	Prowl.rockefeller.edu	PIR	http://pir.georgetown.edu
Pfind	www.pfindstudio.com	STRING	http://string-db.org
PepFrag	Prowl.rockefeller.edu	SCOP	http://scop.mrc.lmb.cam.ac.uk/scop
ProteinProspector	Prospector.ucsf.edu	NCBI	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein
PeptIdent	Prowl.rockefeller.edu	BLAST	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast
Mascot	www.matrixscience.com	FASTA	http://www.ebi.ac.uk/fasta

### 3 MS 在食品鉴别上的应用

目前, 蛋白质组学已应用在物种鉴别、产地溯源和掺假鉴定等领域, 检测产品主要包括海产品、乳制品、肉制品及酒等, 分离方法多采用 2-DE、SDS-PAGE 等凝胶电泳技术或 LC 等方法, 质谱技术多采用 MALDI-TOF MS、LC-MS/MS 等方法, 对不同产品中的的特征蛋白质或肽进行分析, 进而对产品掺假进行鉴别。

#### 3.1 海产品

贝类海鲜产品是世界上最具国际贸易的食品, 海产品中以次充好、用廉价产品代替高品质产品的现象较为严重, 海产品的鉴别尤为重要。基于不同物种的生物分子特征的鉴定是一种可靠的选择, 并且已经开发了基于 DNA 和蛋白质分析的方法以实现该目标<sup>[15,16]</sup>。基于 DNA 扩增和杂交的技术<sup>[17,18]</sup>, 分析电泳和免疫学方法被应用于海鲜物种的鉴定<sup>[19,20]</sup>, DNA 编码可以进行鱼种鉴定, DNA 条形码是一种使用标准 DNA 片段进行物种鉴定的方法, 越来越多地用于鉴定广泛的生物<sup>[21,22]</sup>。鱼类的条形码技术开始于 2005 年, 是为了创建鱼类的 DNA 条形码及数据库<sup>[23]</sup>, 并且正在开发用于鉴定甲壳类动物<sup>[24,26]</sup>, 但食品加工环境会对 DNA 完整性造成破坏导致非特异性检测, 而且都需要大量资金, 且很难将方法标准化。如今, 基于质谱法的蛋白质组学工具已被用于食品分析<sup>[27,28]</sup>以及海产品鉴定和评估<sup>[29,32]</sup>。通过蛋白质组学方法对海产品的鉴定是一个很好的选择。而基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)也发展成为一种成熟的方法, 还可用于在食品质量控制中鉴定细菌、酵母和真菌<sup>[33,35]</sup>。

Pepe 等<sup>[36]</sup>应用了蛋白质组学分析, 以 2-DE 研究了肌浆蛋白, 并通过质谱分析, 以确定 3 种金枪鱼种类。蛋白质组学可以显著地帮助检测伪造和造假, 这种方法在食品中能快速检测到主要的鱼类过敏原-PRVBs。Mazzeo 等<sup>[37]</sup>采用小清蛋白作为生物标志物实现了对 25 个鱼种的鉴别。因此, 以质谱为基础的方法的成功应用表明, 蛋白质组学在食品认证中具有成为可靠的一线检测资源的潜力, 为筛选实验提供了灵活可靠、快速准确分析的特性。

#### 3.2 乳制品

在乳制品行业, 常见的掺假方式包括脱脂牛奶替换全脂牛奶、液态奶掺加奶粉、奶酪中掺假等, 为保障公众健康, 应不断采取严厉措施, 利用检测技术来防止欺诈或可能有损消费者健康的掺假行为。

Calvano 等<sup>[38]</sup>通过 2-DE 检测液态奶和奶粉的差异性, 通过 MALDI-TOF-MS 鉴定奶粉中的肽段来鉴别奶粉掺假。

Garrido 等<sup>[39]</sup>采用全信息串联质谱 MS<sup>E</sup> 结合数据非依赖性采集(data-independent acquisition, DIA)对乳清蛋白掺假进行鉴别, 结果表明其中 6 种样品存在掺假或者污染。蛋白质组学技术可以用于识别奶制品中特定生物标志物, 这有助于设计快速和方便的分析工具, 进而检测奶制品中欺诈掺假现象。

#### 3.3 肉类

在加工肉制品中, 由于其成分复杂性和不均匀性, 对蛋白质变化的研究和肉类的认证尤其困难。肉类认证在很大程度上依赖于基于 DNA 的检测技术<sup>[40,41]</sup>。PCR 方法具有很高的特异性和灵敏度<sup>[42]</sup>, 即使在一些经过热处理的食物和饲料中也是如此<sup>[43,44]</sup>。然而, 核和线粒体 DNA 对深加工方法都很敏感<sup>[45]</sup>, 因此基于 DNA 的技术不能总是强有力地应用于高度加工的食品, 特别是在需要量化时。ELISA 方法也用于肉类物种鉴定<sup>[46]</sup>, 但基于 ELISA 的测试也存在许多局限性, 例如特异性差、基质干扰或不同食品加工程序对抗原有效性的影响<sup>[47]</sup>。基于蛋白质分析的方法不仅可以应用于物种鉴定, 也可以应用于其他的物种真实性方面的研究。

Montowska 等<sup>[48]</sup>发现, 不论是生肉还是加工后的产品, 牛肉、猪肉、鸡肉、鹅肉和鸭肉蛋白在 2-DE 中的分布具有种间差异性。甚至有些蛋白在深加工样品中也能被鉴定出来, 这些蛋白可以作为物种鉴别时合适的标志物, 基于这些目标蛋白所产生的氨基酸序列信息进行验证研究也是非常必要的。Shahali 等<sup>[49]</sup>采用 SRM 方法鉴别牛肉中的马肉和猪肉, 通过 shotgun MS/MS 鉴别猪肉和马肉的特异性肽段, 可以检测到含量低至 0.55% 的猪肉或马肉。随着蛋白质组学的发展, 研究出灵敏度高, 效率快的检测鉴别方法及其重要, 以便迅速发现用商业上重要的品种被低质量肉类替代的欺诈行为。

#### 3.4 葡萄酒

最近几年, 葡萄酒掺假事件的频发, 使得人们越来越注重对葡萄酒的溯源以及质量控制。基于蛋白质组学的研究方法可以用于葡萄酒的判别和分类, 包括对葡萄的生产年份和对葡萄品种进行鉴别。一般可采用超高效液相色谱与四级杆飞行时间质谱仪联用技术对葡萄酒样品进行代谢指纹分析, 然而, 蛋白质和肽段分析技术并没有充分应用于葡萄酒或者非酒精饮料的鉴别当中。主要原因是, 在红酒加工过程中加入蛋白主要是做红酒澄清剂, 工业加工中的过滤和残留蛋白去除过程会导致产品中的蛋白含量很少。此外, 原料经过发酵后蛋白会变为沉淀, 只有少部分的蛋白及水解产生的肽段会保留下来<sup>[50]</sup>。近年来, 使用高分辨率 MS 和电感耦合等离子体 MS 的代谢指纹识别已被应用于葡萄酒鉴定。在大多数研究中, 色谱分离主要使用气相色谱或液相色谱实现, 平均运行时间为约 25 min。

Catharino 等<sup>[51]</sup>发现可以直接使用 ESI-MS 获得葡萄酒的指纹图谱, 采用(DI)-ESI-MS 技术, 结合正 ESI 模式和负 ESI 模式下获得的数据, 可以对白葡萄酒和红葡萄酒的许多成分进行监测。Monaci 等<sup>[52]</sup>开发一种基于高分辨率质谱仪的方法, 采用 LC ESI-MS 分析出白葡萄酒中残留的澄清剂中的蛋白质, 同时检测和量化酪蛋白酸盐和蛋白粉末的痕迹。Rubert 等<sup>[53]</sup>使用超高效液相色谱 HRMS 对 343 个葡萄酒样品进行代谢指纹识别鉴定。基于色谱分离和 HRMS 的标记物促进了鉴定工作, 这对实现鉴别是至关重要的, 但当确定某些品种的标记并明确确认时, 可采用更简单的分析方法(高效液相色谱法)作为常规方法。

#### 4 结论与展望

食品欺诈现象层出不穷, 手段多样, 规避性强, 不仅影响消费者健康, 还破坏了食品安全秩序, 这种食品安全风险隐患急需解决。蛋白质组学平台的引入为食品掺假鉴别等方面做出了巨大的贡献, 虽然在评估食品真实性方面, 蛋白质或肽作为生物标志物的蛋白质组学方法与其他标准化方法相比还有限制性, 但由于其稳定、灵敏度高、高通量和强鉴别能力等优点, 它依然是一个有前景的替代方法。而基于肽段的检测方法可以检测食品加工过程中的氨基酸序列修饰, 蛋白质氨基酸序列比 DNA 核酸序列稳定性更高, 在食品加工过程中更容易保存, 因而利用质谱鉴别技术将在食品掺假检测中发挥更大的优势, 同时也具有更重要的现实意义, 它提供了新的高度精确和灵敏的工具来验证食品的真实性, 基于质谱分析的方法的成功应用清楚地表明, 蛋白质组学在食品认证中具有成为可靠的第一线检测资源的潜力。

然而蛋白质组学应用于食物鉴定主要问题是复杂食物基质中蛋白质提取和目标蛋白浓度低, 因此未来要致力发展快速、自动化的样品前处理方法来提高实验的灵敏度和重复性。此外, 未来还需提高食品掺假鉴定方法的特异性和准确性。食品分析另一个限制因素就是物种蛋白数据库不完善, 未来主要是应用高分辨质谱提高实验的灵敏度和选择性, 完善物种蛋白数据库。

蛋白质组学目前对食品技术的发展做出了巨大的贡献, 现有的食品蛋白质组学技术结合新的生物信息学工具, 加之高分辨 MS 等技术的不断发展与创新, 以及日益加深的全球化研究与合作, 食品安全的欺诈类问题这个难题将会得到很好的解决。

#### 参考文献

- [1] Spink J, Moyer DC, Park H, *et al.* Introducing food fraud including translation and interpretation to Russian, Korean, and Chinese languages [J]. *Food Chem*, 2015, 189(25–26): 102–107.
- [2] Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes [J]. *Nature*, 2000, 405(6788): 837–846.
- [3] Ortea I, O'Connor G, Maquet A. Review on proteomics for food authentication [J]. *J Proteom*, 2016, 147(6): 212–225.
- [4] 王翌, 孙伟. 碰撞诱导解离和高能碰撞解离方式进行蛋白质组学分析的比较[J]. *质谱学报*, 2016, 37(2): 140–146.  
Wang Z, Sun W. Comparison of collision induced dissociation and high energy collision dissociation for proteomic analysis [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2016, 37(2): 140–146.
- [5] Hao G, Gu J. Improved mass analysis of intact proteins by ion trap instrument on a chromatographic time scale via data-dependant enhanced resolution scan [J]. *Int J Mass Spectr*, 2009, 288(1): 92–95.
- [6] Surinova S, Schiess R, Hüttenhain R, *et al.* On the development of plasma protein biomarkers [J]. *J Proteom Res*, 2011, 10(1): 5–16.
- [7] Rehbein H, Kündiger R, Pineiro C, *et al.* Fish muscle parvalbumins as marker proteins for native and urea isoelectric focusing [J]. *Electrophoresis*, 2000, 21(8): 1458.
- [8] Kobayashi A, Ichimura A, Kobayashi Y, *et al.* IgE-binding epitopes of various fish parvalbumins exist in a stereoscopic conformation maintained by Ca(2+) binding [J]. *Allergol Int*, 2016, 65(3): 345–348.
- [9] Kawai Y, Uematsu S, Shinano H. Effect of heat-treatment on some physicochemical properties and emulsifying activity of carp sarcoplasmic protein [J]. *Nsugaf*, 1992, 58(7): 1327–1331.
- [10] Pazos M, Méndez L, Vázquez M, *et al.* Proteomics analysis in frozen horse mackerel previously high-pressure processed [J]. *Food Chem*, 2015, (185): 495–502.
- [11] An H, Marshall MR, Otwell WS, *et al.* Species identification of raw and boiled shrimp by a urea gel isoelectric focusing technique [J]. *J Food Sci*, 2010, 54(2): 233–236.
- [12] Chen JS, Rolle RS, Marshall MR, *et al.* Comparison of phenoloxidase activity from florida spiny lobster and western australian lobster [J]. *J Food Sci*, 2010, 56(1): 154–157.
- [13] Kovaleva MA, Kovalev LI, Ivanov AV, *et al.* Proteomic identification of protein markers of stages of heart formation in humans [J]. *Russian J Dev Biol*, 2017, 48(5): 301–306.
- [14] Gallardo JM, Ortea I, Carrera M. Proteomics and its applications for food authentication and food-technology research [J]. *Trends Anal Chem*, 2013, 52(52): 135–141.
- [15] Rasmussen RS, Morrissey MT. DNA-Based methods for the identification of commercial fish and seafood species [J]. *Food Sci Food Saf*, 2008, 7(3): 280–295.
- [16] Hu LP, Zhang HW, Zhang XM, *et al.* Identification of peptide biomarkers for discrimination of shrimp species through SWATH-MS-based proteomics and chemometrics [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, (66): 10567–10574.
- [17] Wilwet L, Jeyasekaran G, Shakila RJ. A single enzyme PCR-RFLP protocol targeting 16S rRNA/tRNA(val) region to authenticate four commercially important shrimp species in India [J]. *Food Chem*, 2017, 239: 369.
- [18] Asensio GL. PCR-based methods for fish and fishery products authentication [J]. *Trend Food Sci Technol*, 2007, 18(11): 558–566.
- [19] Muhammad OI, Mahmoud, Usama M, *et al.* SDS-PAGE technique as biomarker for fish toxicological studies [J]. *Toxicol Reports*, 2018, (5): 905–909.
- [20] Chiara G, Marcello M, Sonia B, *et al.* Two-dimensional gel and shotgun proteomics approaches to distinguish fresh and frozen-thawed curled

- octopus (*Eledone cirrhosa*) [J]. *J Proteom*, 2018, 186: 1–7.
- [21] Hebert PDN, Ratnasingham S, Waard JRD. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. *Proc Biol Sci*, 2003, 270(1): 96–99.
- [22] Galimberti A, Mattia FD, Losa A, *et al.* DNA barcoding as a new tool for food traceability [J]. *Food Res Int*, 2013, 50(1): 55–63.
- [23] Becker S, Hanner R, Steinke D. Five years of FISH-BOL: Brief status report [J]. *Mitochondrial Dna*, 2011, 22(S1): 3–9.
- [24] Ockhuis S, Huggett JA. First record of *Tylosurus crocodilus* (peron & lesueur, 1821) (beloniformes: Belonidae) from Odisha Coast, Bay of Bengal, India: Exploration of a biological invasion using DNA barcoding [J]. *Thalassas*, 2018, 34(1): 209–217.
- [25] Robe LJ, Machado S, Bartholomeisantos ML. The DNA barcoding and the caveats with respect to its application to some species of Palaemonidae (Crustacea, Decapoda) [J]. *Zoologicalence*, 2012, 29(29): 714–724.
- [26] Hayea PA, Vera R, Gallardo MDLÁ, *et al.* Authentication of commercialized crab-meat in Chile using DNA barcoding [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 239–244.
- [27] Herrero M, Simó C, García-Cañas V, *et al.* Foodomics: MS-based strategies in modern food science and nutrition [J]. *Mass Spectr Rev*, 2012, 31(1): 49–69.
- [28] Han JZ, Wang YB. Proteomics: Present and future in food science and technology [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2008, 19(1): 26–30.
- [29] Carrera M, Cañas B, Gallardo JM. Rapid direct detection of the major fish allergen, parvalbumin, by selected MS/MS ion monitoring mass spectrometry [J]. *J Proteom*, 2012, 75(11): 3211–3220.
- [30] Spielmann G, Huber I, Maggipinto M, *et al.* Comparison of five preparatory protocols for fish species identification using MALDI-TOF MS [J]. *Eur Food Res Technol*, 2017, (8): 1–10.
- [31] Slattey M, Ankisetty S, Corrales J, *et al.* Marine proteomics: A critical assessment of an emerging technology [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(10): 1833–1877.
- [32] Rodrigues PM, Silva TS, Dias J, *et al.* Proteomics in aquaculture: Applications and trends [J]. *J Proteom*, 2012, 75(14): 4325–4345.
- [33] D'Alessandro A, Marrocco C, Zolla V, *et al.* Meat quality of the longissimus lumborum muscle of Casertana and Large White pigs: Metabolomics and proteomics intertwined [J]. *J Proteom*, 2011, 75(2): 610–627.
- [34] Böhme K, Fernández-No IC, Gallardo JM, *et al.* Safety assessment of fresh and processed seafood products by MALDI-TOF mass fingerprinting [J]. *Food Bioprocess Technol*, 2011, 4(6): 907–918.
- [35] Böhme K, Fernández-No IC, Barros-Velázquez J, *et al.* Rapid species identification of seafood spoilage and pathogenic Gram-positive bacteria by MALDI-TOF mass fingerprinting [J]. *Electrophoresis*, 2011, 32(21): 2951–2965.
- [36] Pepe T, Ceruso M, Carpentieri A, *et al.* Proteomics analysis for the identification of three species of *Thunnus* [J]. *Veter Res Commun*, 2010, 34(1): 153–155.
- [37] Maria FM, Rosa AS. Proteomics for the authentication of fish species [J]. *J Proteom*, 2016, (147): 119–124.
- [38] Calvano CD, Monopoli A, Loizzo P, *et al.* Proteomic approach based on MALDI-TOF MS to detect powdered milk in fresh cow's milk [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(8): 1609–1617.
- [39] Garrido BC, Souza GH, Lourenço DC, *et al.* Proteomics in quality control: Why protein-based supplements [J]. *J Proteom*, 2016, (147): 48–55.
- [40] Nakyinsige K, Man YB, Szilasi AQ. Halal authenticity issues in meat and meat products [J]. *Meat Sci*, 2012, 91(3): 207–214.
- [41] O'Mahony PJ. Finding horse meat in beef products—a global problem [J]. *QJM*, 2013, 106(6): 595–597.
- [42] Jonker KM, Tilburg JJ, Hagele GH, *et al.* Species identification in meat products using real-time PCR [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Exp Risk Assess*, 2008, 25(5): 527–533.
- [43] Martín I, García T, Fajardo V, *et al.* SYBR-green real-time PCR approach for the detection and quantification of pig DNA in feedstuffs [J]. *Meat Sci*, 2009, 82(2): 252–259.
- [44] Soares S, Amaral JS, Mafra I, *et al.* Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay [J]. *Meat Sci*, 2010, 85(3): 531–536.
- [45] Gryson N. Effect of food processing on plant DNA degradation and PCR-based GMO analysis: A review [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 396(6): 2003–2022.
- [46] Chen FC, Hsieh YH. Detection of pork in heat-processed meat products by monoclonal antibody-based ELISA [J]. *J Aoc Int*, 2000, 83(1): 79–85.
- [47] Sporns P. Food protein analysis: quantitative effects on processing [J]. *Int Dairy J*, 2003, 13(7): 581.
- [48] Bargaen CV, Dojahn J, Waidelech D, *et al.* New sensitive high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the detection of horse and pork in halal beef [J]. *Agric Food Chem*, 2013, 61(49): 11986–11994.
- [49] Shahali Y, Sutra JP, Fasoli E, *et al.* Allergenic study of cypress pollen via combinatorial peptide ligand libraries [J]. *J Proteom*, 2012, 77(24): 101–110.
- [50] Cooper HJ, Marshall AG. Electrospray ionization Fourier transform mass spectrometric analysis of wine [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(12): 5710–5718.
- [51] Catharino RR, Cunha IB, Fogaça AO, *et al.* Characterization of must and wine of six varieties of grapes by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Mass Spectr*, 2010, 41(2): 185–190.
- [52] Monaci L, Losito I, Angelis ED, *et al.* Multi-allergen quantification of fining-related egg and milk proteins in white wines by high-resolution mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectr Rem*, 2013, 27(17): 2009–2018.
- [53] Rubert J, Lacina O, Fahl-Hassek C, *et al.* Metabolic fingerprinting based on high-resolution tandem mass spectrometry: a reliable tool for wine authentication? [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(27): 6791–6803.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介



孟佳, 硕士研究生, 主要研究方向为食品工程。

E-mail: 565735618@qq.com



古淑青, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: gushuqing@shciq.gov.cn