

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法提取 阳澄湖全谱图范围内大闸蟹蛋白条件优化

金萍^{1*}, 叶湖², 丁洪流², 李晓芹², 钟晓红², 沈麒亮²

(1. 苏州市产品质量监督检验院, 苏州 215128; 2. 苏州市食品检验检测中心, 苏州 215128)

摘要: 目的 建立最佳的蟹肉组织蛋白分析方案, 获得最佳基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)图, 为基于MALDI-TOF MS技术的阳澄湖大闸蟹产地鉴别分析建立条件。**方法** 从蛋白提取液、基质液以及基质液与提取液配比3个方面对大闸蟹蛋白提取方案进行优化, 从激光强度和聚焦质量2个参数对质谱参数进行优化, 最终获得最佳的阳澄湖大闸蟹蛋白提取及质谱分析方案。**结果** 通过观察不同条件下的质谱图, 最终选择0.1%三氟乙酸进行蛋白提取, 芥子酸作为基质液, 样品提取液与基质液的上样体积比例选用1:9。而在质谱参数方面, 选择9 μJ的激光强度和10000 Da的聚焦质量。**结论** 本研究通过比较不同的蛋白提取方法及不同的质谱采集条件, 建立最佳的蟹肉组织蛋白分析方案, 获得最佳质谱图, 为基于MALDI-TOF MS技术的阳澄湖大闸蟹产地鉴别分析建立了条件。

关键词: 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法; 阳澄湖大闸蟹; 蛋白提取; 质谱参数

Optimization of extraction conditions of Yangcheng Lake hairy crab protein by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

JIN Ping^{1*}, YE Hu², DING Hong-Liu¹, LI Xiao-Qin², ZHONG Xiao-Hong², SHEN Qi-Liang²

(1. Suzhou Institute of Product Quality Supervision and inspection, Suzhou 215128, China;
2. Suzhou Food Inspection and Testing Center, Suzhou 215128, China)

ABSTRACT: Objective To establish the best protein analysis scheme of crab meat tissue, and obtain the best matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) diagram, so as to establish conditions for identification and analysis of hairy crabs in Yangcheng Lake based on MALDI-TOF MS technology. **Methods** The extraction scheme of hairy crab protein was optimized from 3 aspects of protein extract, matrix solution and ratio of matrix solution to extraction solution, and the parameters of mass spectrometry were optimized from 2 parameters of laser intensity and focusing mass, and finally the optimal scheme of Yangcheng Lake crab protein extraction and mass spectrometry was obtained. **Results** Through the observation of mass spectra under different conditions, 0.1% trifluoroacetic acid was finally selected to extract the protein, with sinapic acid as

基金项目: 苏州市科技项目(SNG201928)、江苏省市场监督管理局科技项目(KJ21125075)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Suzhou City (SNG201928), and the Science and Technology Project of Jiangsu Market Supervision Administration (KJ21125075)

*通信作者: 金萍, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 846493521@qq.com

Corresponding author: JIN Ping, Master, Senior Engineer, Suzhou Institute of Product Quality Supervision and inspection, No.1336, Wuzhong Dadao Road, Wuzhong District, Suzhou 215128, China. E-mail: 846493521@qq.com

the matrix liquid, and the loading volume ratio of sample extract to matrix liquid was 1:9. In terms of mass spectral parameters, the laser intensity of 9 μJ and the focusing mass of 10000 Da were selected. **Conclusion** In this study, by comparing different protein extraction methods and different mass spectrometry collection conditions, established the best protein analysis scheme of crab meat tissue, and obtained the best mass spectrometry, which established the conditions for identifying and analyzing the origin of Yangcheng Lake hairy crabs based on MALDI-TOF MS technology.

KEY WORDS: matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; Yangcheng Lake hairy crab; protein extraction; mass spectrometry parameters

0 引言

阳澄湖大闸蟹是中国国家地理标志产品,以其品种精良、体大膘肥、青壳白肚、金爪黄毛、肉质膏腻、营养丰富而声名在外,阳澄湖大闸蟹价格往往是其他产地大闸蟹的数倍,每年到大闸蟹上市时期,不法商家常常假借阳澄湖名义,非法销售其他品种大闸蟹^[1]。当前假冒阳澄湖大闸蟹花样繁多,一些造假调查报道市面上九成以上的都是冒牌货,消费者很难买到真正的阳澄湖大闸蟹^[2-3],而迄今为止,尚未出台大闸蟹产地鉴别的标准检测方法,这给执法和监管造成了难题。目前大闸蟹品种鉴别主要通过感官形态指标及经验判断,比如感官上挑选具有青壳、白肚、金爪、黄毛特征的,还有诸如只认可防伪标识等,感官方法存在很大的主观性,可行度不高,而防伪标识也并不是绝对的标准,容易被不法商家钻空子^[4]。目前,有一些研究从大闸蟹本身的形态^[5-7]、营养成分^[8-9]、风味物质^[10]、所含有的微量元素^[11]以及菌群形态^[12]等方面进行,开发相应的指纹图谱,研究阳澄湖大闸蟹与其他来源大闸蟹的差异点。指纹图谱方面的研究指标复杂、处理过程烦琐,后期还需借助大量的数据统计分析^[13]。杨健等^[14]与杨文斌等^[15]在研究不同产区的中华绒螯蟹的形态特征时,没有发现个体之间存在明显的形态差异。综合而言,目前的研究技术应用能力还非常受限。

蛋白质组学^[16-20]是研究蛋白质及蛋白质集合间的相互作用的相关研究,蛋白质与核酸不同,核酸是相对稳定的,同一物种其基因表达是相同的,而蛋白质则受环境因素影响大,同一物种在不同的环境中会产生不同的蛋白质表达。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是将基质辅助激光解析技术与无质量检测上限的飞行时间质谱联用,可以解决生物大质量分子的电离问题,具有极高的灵敏度及宽质量检测范围,与其他的磁式质谱相比,较少产生电离碎片,数据解析相对容易,目前被广泛应用于微生物、多肽及蛋白质的分析及鉴定^[21-24]。国内也有很多将 MALDI-TOF MS 应用于肉类品种、风味特点、保存效果等方面的分析工作,如

左惠心等^[25]将 MALDI-TOF MS 应用于牦牛与黄牛肌肉组织差异蛋白的生物信息分析,肖智超等^[26]以 MALDI-TOF/TOF MS 鉴定腿肌与胸肌中差异蛋白质点,杨宏旭^[27]采用 MALDI-TOF MS 实现了不同低温贮藏对青鱼肉品质影响的研究,冯静等^[28]基于 MALDI-TOF MS 技术对市售常见掺假肉进行了快速溯源,LIU 等^[29]也运用 MALDI-TOF/TOF MS 技术进行了韩国地方鸡和商品肉鸡胸肌和腿肌的差异蛋白质组分析。不同的产地具有不同的地理环境、饮食习惯等,这些会通过蛋白质组表达出产地间的差异性,通过蛋白质组差异有望解决大闸蟹产地鉴别难题。但研究蛋白质间差异的前提是获得蛋白质图谱, MALDI-TOF MS 可以在全谱图范围内(检测范围 1000~300000 m/z)采用软电离方式,无或极少产生离子碎片,相较于蛋白质电泳、液相色谱质谱等技术更适于蛋白质组学研究,通过 MALDI-TOF MS 技术获得阳澄湖大闸蟹组织蛋白分子指纹图谱,后期结合支持向量机、反向神经算法等机器学习方法,有望识别阳澄湖大闸蟹的特征差异蛋白,解决大闸蟹产地鉴别难题,而分析鉴别的前提是好的提取方案及质谱仪器检测参数。

阳澄湖大闸蟹作为中国的名牌产品而享誉国内外,但其市场也存在着真假难辨的问题,本研究通过比较不同的蛋白提取纯化方法以及不同的质谱采集条件,建立最佳的蟹肉组织蛋白分析方案,获得最佳质谱图,以期获得各地大闸蟹组织蛋白分子图谱,后期结合机器学习方法建立阳澄湖大闸蟹组织蛋白指纹图谱数据库,对阳澄湖大闸蟹的产地鉴别提供一定借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试剂:芥子酸(sinapic acid, SA)基质液、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid, CHCA)、三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)[质谱级, 融智生物科技(青岛)有限公司]; 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)(pH=7.4)、动物组织蛋白裂解液[生工生物工程(上海)股份有限公司]。

样品：阳澄湖大闸蟹购于在线数据库供应商处。

1.2 仪器与设备

QuanTOF1 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪[融智生物科技(青岛)有限公司]; SK8210HP 超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司); Sorvall ST8R 冷冻离心机(美国赛默飞世尔仪器有限公司); AL204 精密电子天平[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司]; OSE-Y30 电动组织研磨器[天根生化科技(北京)有限公司]; IQ7000 超纯水机[密理博(中国)有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 蟹螯肉/蟹身肉组织蛋白质的提取

PBS 提取法: 参照 GILL 等^[30]的方法, 取蟹螯肉/蟹身肉(250 ± 10) mg 置于 1.5 mL 离心管内, 用电动组织研磨器对蟹肉组织进行充分研磨匀浆; 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS 溶液, 涡旋混匀后, 超声 10 min; 12000 g 离心 10 min, 取上清分装于-70 °C冷冻备用。点样前取 20 μL 上清液, 加 180 μL 0.01 mol/L PBS 溶液, 涡旋混匀, 作为样品稀释液使用。

TFA 提取法: 取蟹螯肉/蟹身肉(250 ± 10) mg 置于 1.5 mL 离心管内, 用电动组织研磨器对蟹肉组织进行充分研磨匀浆; 加 1 mL 0.1% TFA, 涡旋混匀后, 超声 10 min; 然后 12000 g 离心 10 min, 取上清分装于-70 °C冷冻备用。点样前取 20 μL 上清液, 加 180 μL 0.1% TFA 溶液, 涡旋混匀, 作为样品稀释液使用。

裂解液提取法: 参照梁箫等^[31]的提取方法, 取蟹螯肉/蟹身肉(250 ± 10) mg 置于 1.5 mL 离心管内, 用电动组织研磨器对蟹肉组织进行充分研磨匀浆; 按照组织与动物组织裂解液 1:4 ($V:V$)的比例加入动物组织蛋白裂解液, 涡旋混匀后, 超声 10 min; 然后 12000 g 离心 10 min, 取上清分装于-70 °C冷冻备用。点样前取 20 μL 上清液, 加 180 μL 裂

解液, 涡旋混匀, 作为样品稀释液使用。

1.3.2 MALDI-TOF MS 质谱数据的采集

点样: 取样品稀释液与基质液按一定比例混匀, 滴加 2 μL 至质谱仪的靶板点正中, 低温干燥以后即可上仪器分析。

质谱检测: 选择最小质量 2000 Da, 最大质量 60000 Da, 设定聚焦质量、激光能量等相关质谱分析参数进行扫描和采集数据。

选择不同的提取方式及筛选不同的质谱参数的目的在于获得比较优质的图谱(出峰数量多能获得足够多的峰数据、分离效果好以及信号强度适宜)。

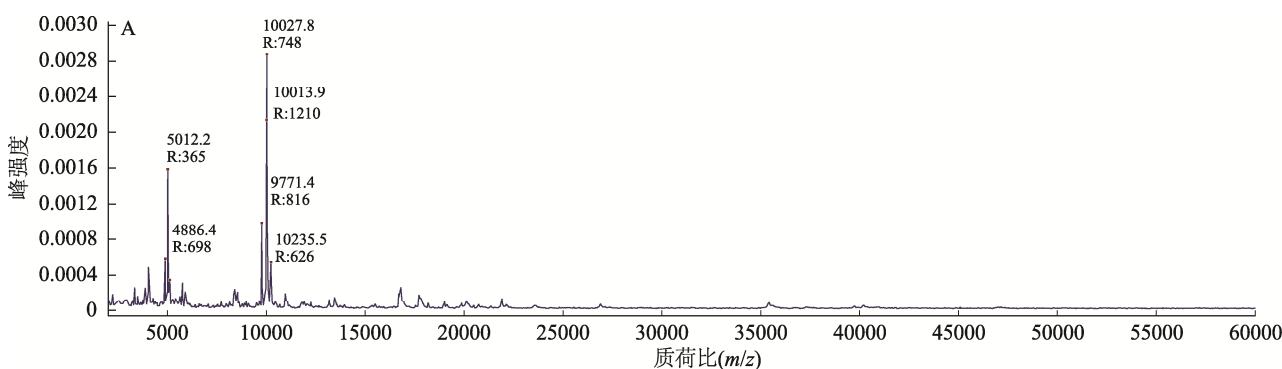
2 结果与分析

2.1 不同的提取液对检测结果的影响

本研究采用 MALDI-TOF MS 技术对大闸蟹蛋白组分进行研究, 首先需要获得大闸蟹总蛋白的最佳提取方案。对蟹组织蛋白按照 3 种不同的方法进行提取, MALDI-TOF MS 质谱分析图谱见图 1。3 种方法的提取溶液不同, PBS 提取液显示的质谱峰相对较少, 获得信息有限, 提取效果不太理想; TFA 与裂解液的出峰数量类似, 能获得比较多的峰信息, 但裂解液的峰强度相对弱一些, 同时从实验操作方面考虑, TFA 操作更为简便, 综合考虑, 选择 1% TFA 作为总蛋白的提取液。

2.2 不同基质液对检测结果的影响

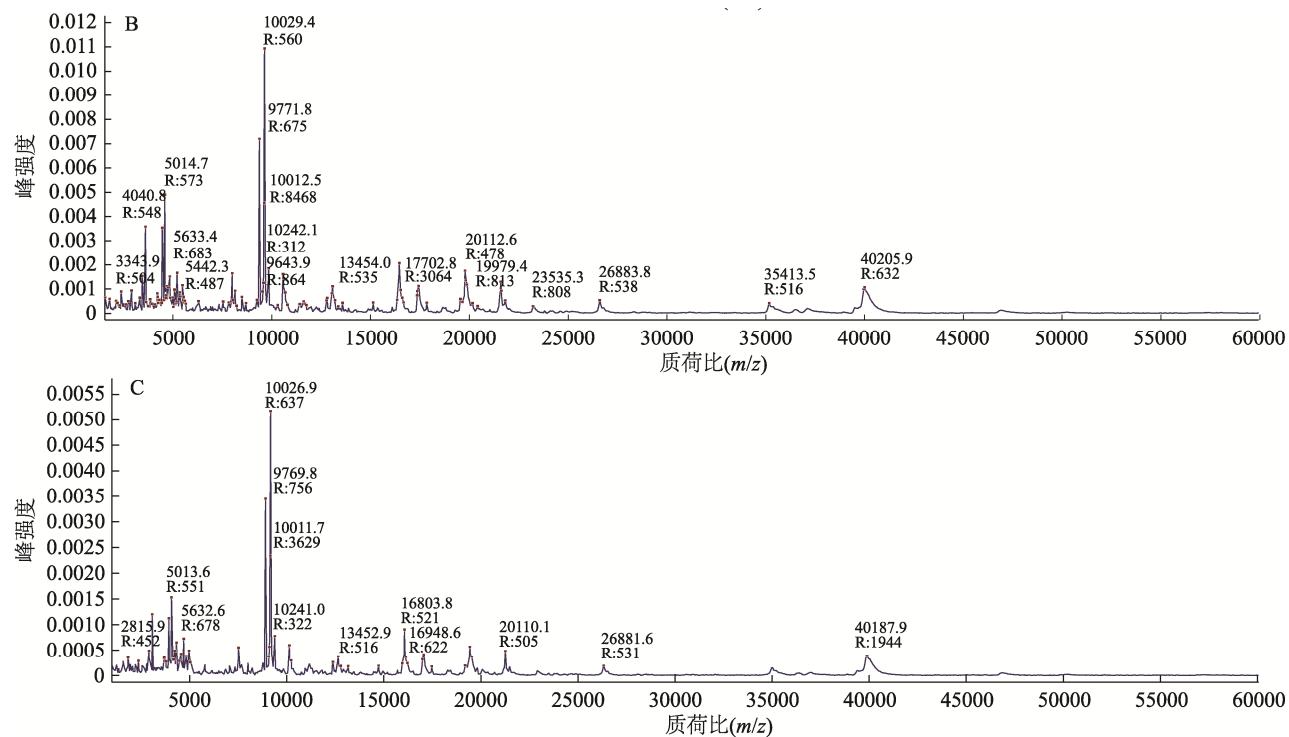
采用 MALDI-TOF MS 进行蛋白分析时, 选择合适的基质至关重要, 合适的基质有利于蛋白在质谱检测时的离子化, 可以说基质是整个 MALDI-TOF MS 方法的核心。本研究使用 SA、CHCA 作为基质液进行分析比较, 谱图结果见图 2。当使用 SA 作为基质液时峰信号明显, 出现的蛋白峰相对比较多, 能给予后期分析更多的数据, 且信号干扰相对较低, 因此, 选用 SA 作为实验基质液更为合适。



注: A: PBS 提取法图谱; B: TFA 提取法图谱; C: 裂解液提取法图谱。

图 1 不同的提取液对检测结果的影响

Fig.1 Influences of different extracts on detection results



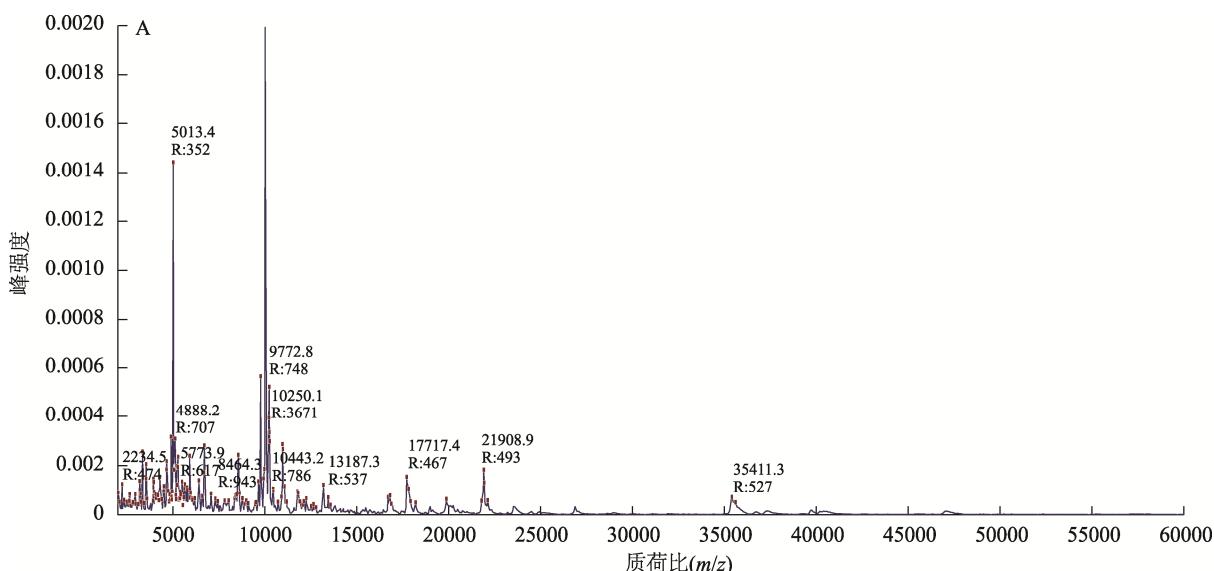
注: A: PBS 提取法图谱; B: TFA 提取法图谱; C: 裂解液提取法图谱。

图 1(续) 不同的提取液对检测结果的影响
Fig.1 Influences of different extracts on detection results

2.3 基质液与提取液比例对检测结果的影响

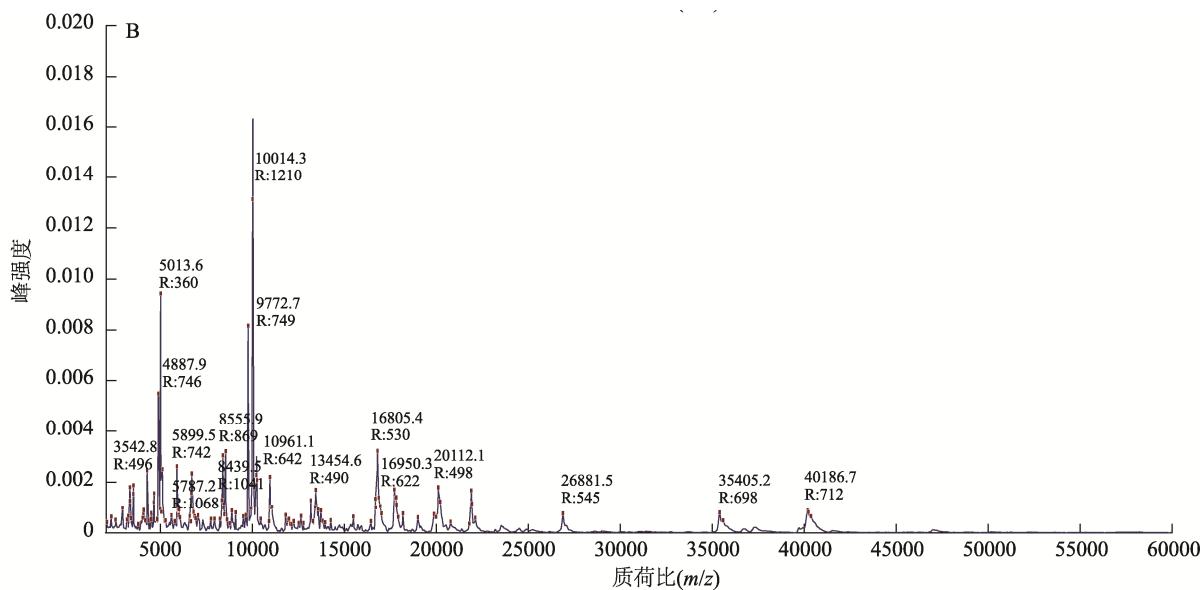
MALDI-TOF MS 分析一般采用基质液与样品提取液等比例进行上样, 但分析中谱图效果不佳, 因此对不同比例进行测试, 选择最佳比例。样品提取液与

基质液体积比例设置有 1:1、1:4、1:9, 谱图结果见图 3。从谱图结果可以看到, 样品提取液与基质液 1:9 时, 质谱峰最丰富, 相对信号更好, 因此选择最佳比例为 1:9。



注: A: 采用 CHCA 作为检测基质液; B: 采用 SA 作为检测基质液。

图 2 不同基质液对检测的影响
Fig.2 Influences of different matrix solution on detection



注: A: 采用 CHCA 作为检测基质液; B: 采用 SA 作为检测基质液。

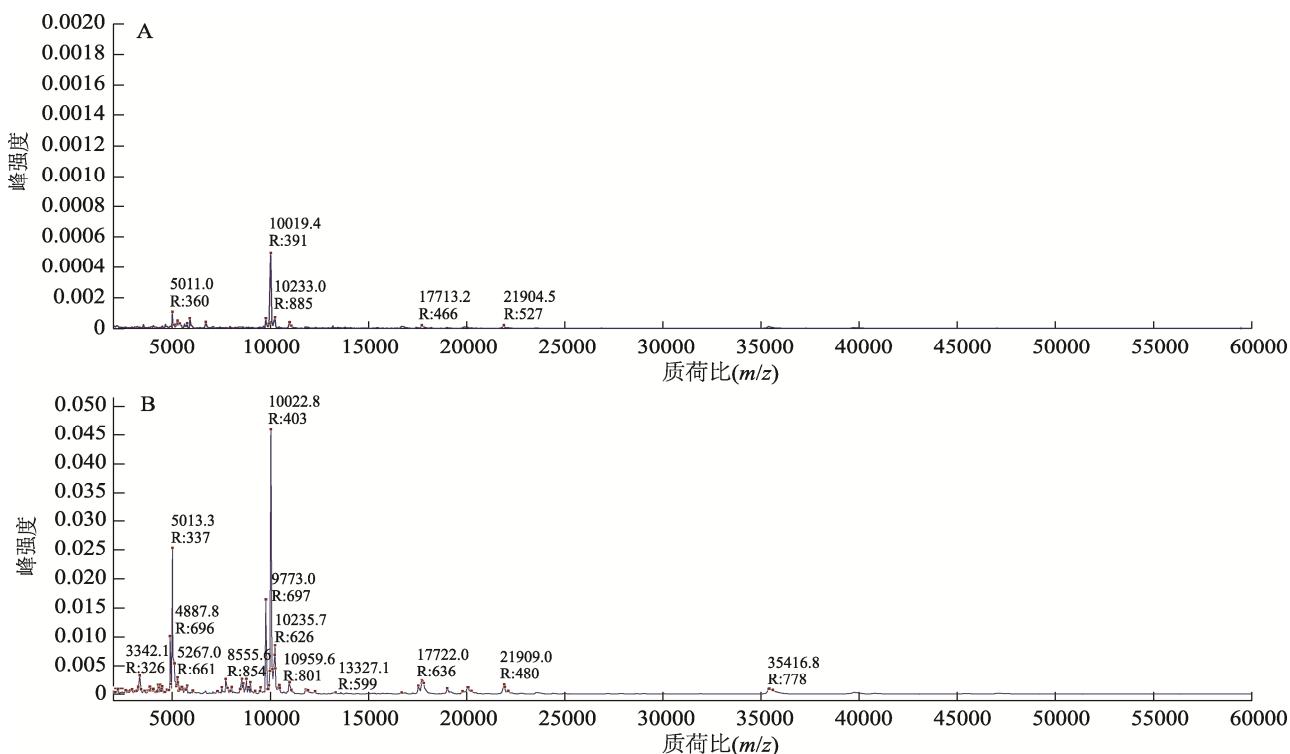
图 2(续) 不同基质液对检测的影响

Fig.2 Influences of different matrix solution on detection

2.4 不同激光能量对检测结果的影响

激光强度可以影响质谱峰的强度以及分辨率, 能量越高, 强度越高, 但相应的分辨率会下降。本研究设置 3、6、9、12 μJ 4 个不同的激光强度进行比较, 谱图

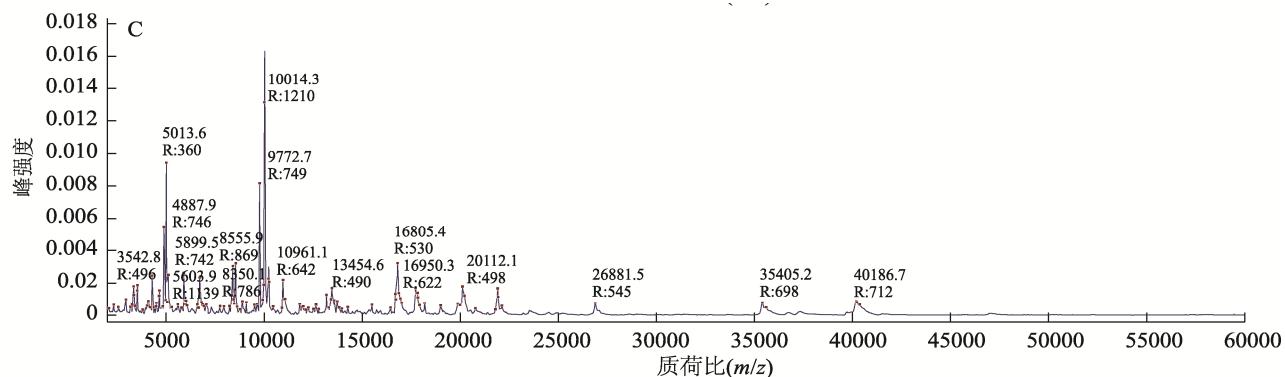
结果见图 4。从谱图结果可知, 3 μJ 及 6 μJ 时整体的信号强度不够且出峰不足, 9 μJ 是最适宜的激光强度, 获得信号相对强度高且分辨率好, 因此选用 9 μJ 作为本研究的激光强度。



注: A: 1:1; B: 1:4; C: 1:9。

图 3 基质液与提取液比例对谱图分析的影响

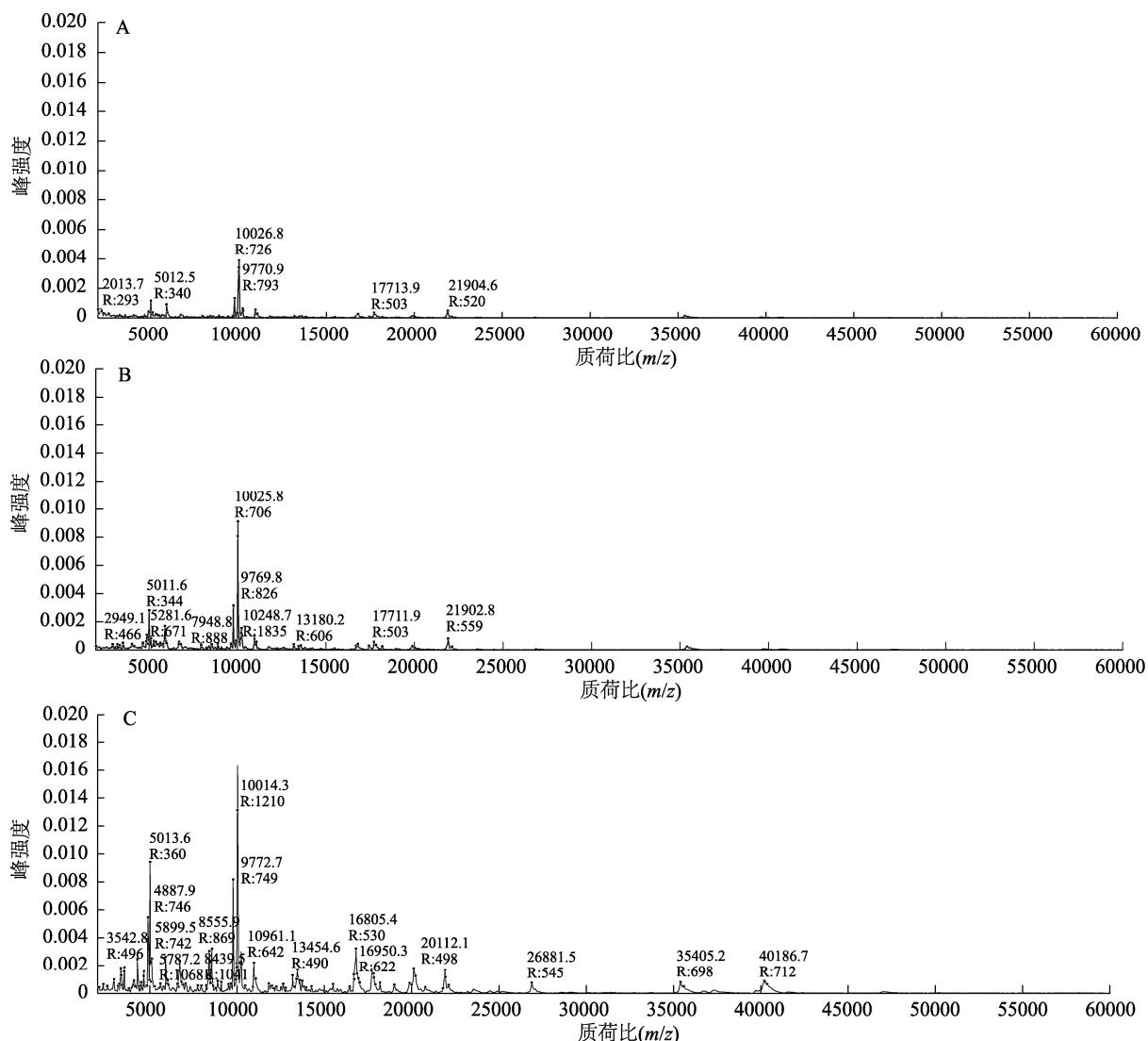
Fig.3 Influences of ratio of matrix solution to extraction solution on spectrogram analysis



注: A: 1:1; B: 1:4; C: 1:9。

图3(续) 基质液与提取液比例对谱图分析的影响

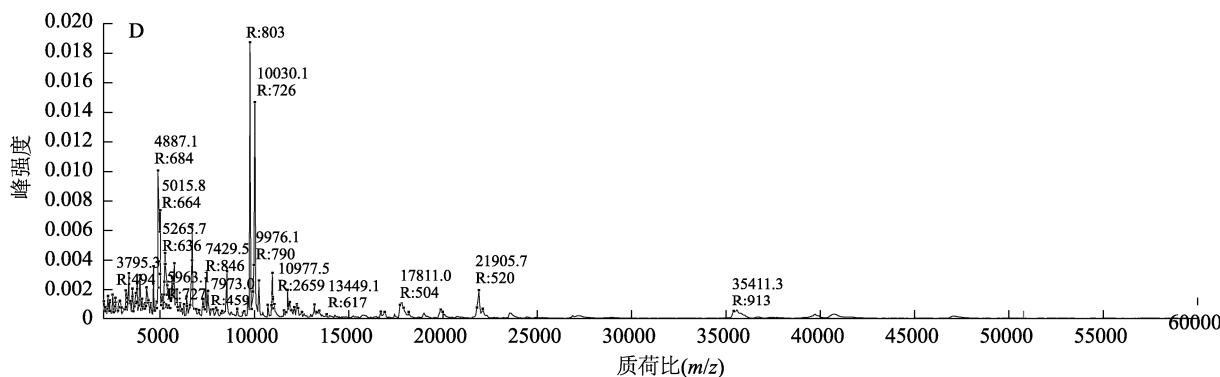
Fig.3 Influences of ratio of matrix solution to extraction solution on spectrogram analysis



注: A: 3 μJ; B: 6 μJ; C: 9 μJ; D: 12 μJ。

图4 不同激光能量对检测的影响

Fig.4 Influences of different laser energy on detection



注: A: 3 μ J; B: 6 μ J; C: 9 μ J; D: 12 μ J。

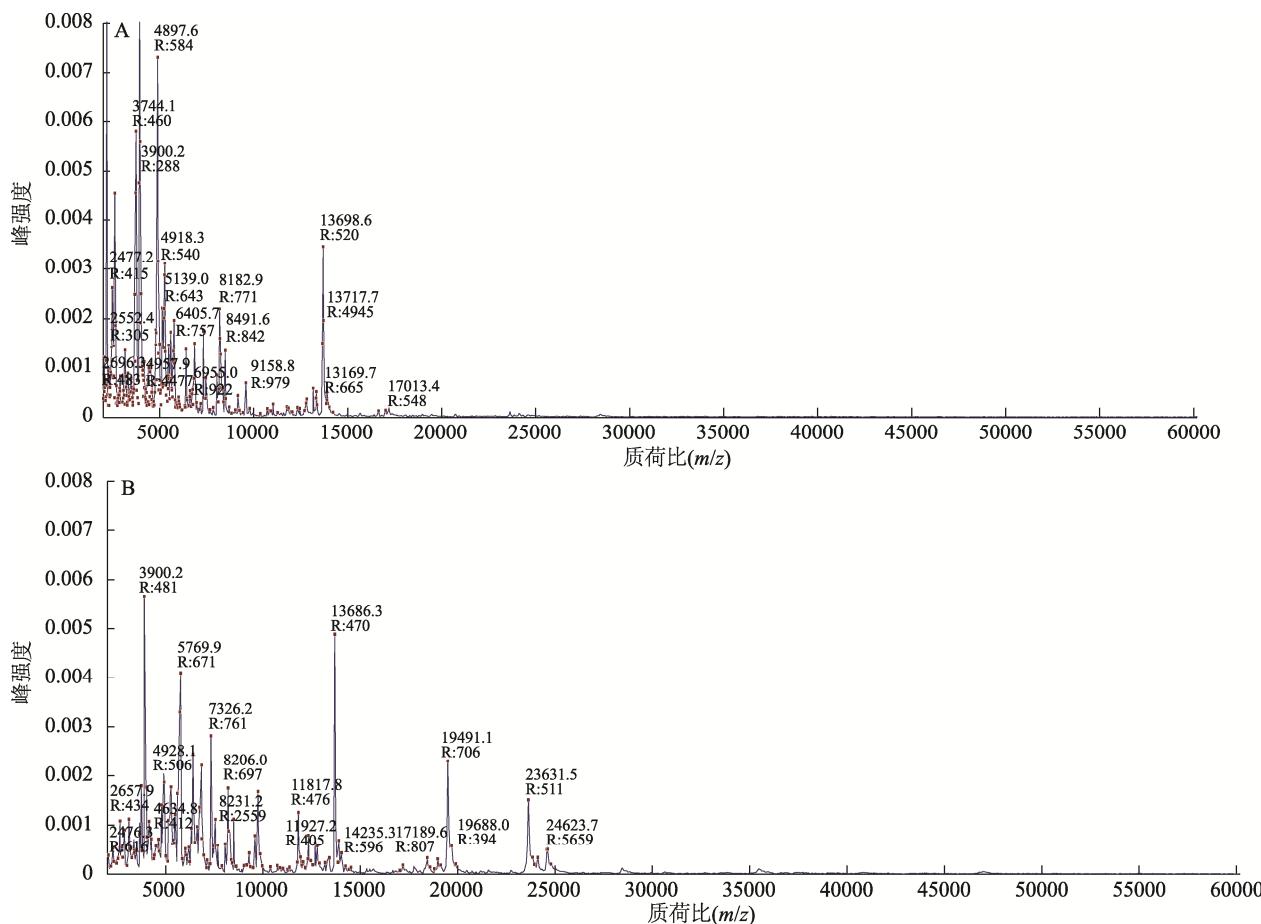
图 4(续) 不同激光能量对检测的影响

Fig.4 Influences of different laser energy on detection

2.5 不同聚焦质量对检测结果的影响

设置 5000、10000 Da 聚焦质量对蟹组织蛋白在 200~60000 Da 范围内进行扫描, 谱图结果见图 5。通过谱图观察, 选择 5000 Da 作为聚焦质量时, 低质量区出峰强

度高, 高质量区的分辨率受到影响, 当选择 10000 Da 作为聚焦质量时, 全谱图范围内峰整体分辨率较高, 低质量区的信噪比也相对更好, 故选用 10000 Da 作为聚焦质量进行质谱分析。



注: A: 聚焦质量 5000 Da; B: 聚焦质量 10000 Da。

图 5 不同聚焦质量对谱图效果影响

Fig.5 Influences of different focusing quality on spectrogram effect

3 结论与讨论

同一生物体在不同的生活环境中,可表现出不同的蛋白质表达,同一物种具有相同的基因,但不同的产地可能会产生不同的蛋白质表达,因此,有望通过MALDI-TOFMS技术对不同产地大闸蟹的差异性蛋白质的表达进行分析,起到鉴别大闸蟹产地的作用。MALDI-TOFMS可以在全谱图范围内(检测范围1000~300000 m/z)采用软电离方式,无或极少产生离子碎片,便于后期数据解析。峰数据、分离程度及峰强度对谱图的识别有很大影响,为获得宽谱范围内最佳质谱效果图,本研究从蛋白提取方式、基质液选择以及配比等方面对提取方案进行了优化,最终选择0.1%TFA进行蛋白提取,SA作为基质液,样品提取液与基质液的上样比例选用1:9,而在质谱参数方面,主要优化激光强度和聚焦质量2个参数,通过谱图观察,选择9 μJ的激光强度和10000 Da的聚焦质量质谱图质量最佳。指纹图谱中信息的充足和有效程度决定了后期分类数据库的建成与分辨能力,后期研究将结合机器学习方法建立阳澄湖大闸蟹组织蛋白指纹图谱数据库,对阳澄湖大闸蟹的产地鉴别提供一定借鉴意义。

参考文献

- [1] 石常. 中国名蟹大盘点[J]. 美食, 2007, (6): 37.
SHI C. A review of Chinese famous crab [J]. Gourmand, 2007, (6): 37.
- [2] 杨雯. 阳澄湖大闸蟹网红店: 一年卖几十万件, 没一件是真的[J]. 公民与法(综合版), 2019, (1): 51~53.
YANG W. Yangcheng Lake crab online red shop: It sells hundreds of thousands of pieces a year, none of which is true [J]. Citizen Law (Compr), 2019, (1): 51~53.
- [3] 楚歌, 张燕兵. 假“阳澄湖大闸蟹”3秒“出炉”[J]. 中国消费者, 2005, (12): 1.
CHU G, ZHANG YB. Fake “Yangcheng Lake hairy crab” is “baked” in 3 seconds [J]. Chin Consum, 2005, (12): 1.
- [4] 张利. 阳澄湖大闸蟹品牌提升对策研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2019.
ZHANG L. Study on Yangcheng Lake hairy crab brand promotion strategy [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2019.
- [5] 姜晓东, 吴旭干, 何杰, 等. 遗传选育对野生和养殖中华绒螯蟹蟹种形态学特征的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1285~1298.
JIANG XD, WU XG, HE J, et al. Effects of selective breeding on the morphological characteristics of wild and cultured juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. J Fish China, 2018, 42(8): 1285~1298.
- [6] 郑朝臣, 姜涛, 骆仁军, 等. 地标点法对中华绒螯蟹的产地差异性研究[C]. 2017年中国水产学会学术年会论文摘要集, 2017.
ZHENG CC, JIANG T, LUO RJ, et al. Study on the origin difference of *Eriocheir sinensis* by landmark method [C]. Proceedings of the 2017 academic annual meeting of China Fisheries Society, 2017.
- [7] 薛竣仁, 姜涛, 陈修报, 等. 阳澄湖原产及“洗澡”中华绒螯蟹背甲的几何形态分析[J]. 水生生物学报, 2020, 44(3): 587~594.
XUE JR, JIANG T, CHEN XB, et al. Geometric morphometric analysis on the carapace difference between “bathed” and Yangcheng lake Originated *Eriocheir sinensis* [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2020, 44(3): 587~594.
- [8] WANG QJ, WU XG, LONG XW, et al. Nutritional quality of different grades of adult male Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. J Food Sci Technol, 2018, 55(3): 944~955.
- [9] 王潇. 不同水域中华绒螯蟹营养成分差异性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
WANG X. Study on the differences of nutritional components of *Eriocheir sinensis* in different waters [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [10] 顾赛麒, 王锡昌, 陶宁萍, 等. 基于主成分分析和聚类分析评价中华绒螯蟹蟹肉香气品质的研究[J]. 食品工业科技, 2012, (24): 82~87.
GU SQ, WANG XC, TAO NP, et al. Evaluation of aroma quality of *Eriocheir sinensis* meat based on principal component analysis and cluster analysis [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, (24): 82~87.
- [11] 赵鉴, 苏彦平, 刘洪波, 等. 不同/相同水系中华绒螯蟹元素“指纹”的产地差异性[J]. 核农学报, 2014, (7): 1253~1260.
ZHAO J, SU YP, LIU HB, et al. Origin difference of element “fingerprint” of *Eriocheir sinensis* in different/same water systems [J]. J Nucl Agric Sci, 2014, (7): 1253~1260.
- [12] 陈紫丹. 阳澄湖与太湖螃蟹生长环境及肠道微生物多样性与群落结构比较研究[D]. 苏州: 苏州科技大学, 2015.
CHEN ZD. Comparative study on the growth environment, intestinal microbial diversity and community structure of crab in Yangcheng Lake and Taihu Lake [D]. Suzhou: Suzhou University of Science and Technology, 2015.
- [13] 陈卉, 成梦情, 董转章, 等. 不同产地中华绒螯蟹鉴定方法及其研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(3): 11~17.
CHEN H, CHENG MQ, DONG ZZ, et al. Identification methods and research progress of *Eriocheir sinensis* from different habitats [J]. J Food Sci Biotechnol, 2021, 40(3): 11~17.
- [14] 杨健, 邱楚雯, 苏彦平, 等. 不同水域条件下中华绒螯蟹的形态和元素分布[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 187~191.
YANG J, QIU CW, SU YP, et al. Morphology and element distribution of *Eriocheir sinensis* under different water conditions [J]. Jiangsu Agric Sci, 2013, 41(3): 187~191.
- [15] 杨文斌, 苏彦平, 刘洪波, 等. 长江水系3个湖泊中华绒螯蟹形态及元素“指纹”特征[J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 84~93.
YANG WB, SU YP, LIU HB, et al. A comparative study of morphological characteristics and elemental fingerprints of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from three lakes [J]. J Fish Sci China, 2012, 19(1): 84~93.
- [16] 季美超, 付斌, 张养军. 基于质谱的蛋白质组学方法新进展[J]. 质谱学报, 2021, 42(5): 862~877.
JI MC, FU B, ZHANG YJ. Recent progress of analytical methods of proteomics based on mass spectrometry [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2021, 42(5): 862~877.
- [17] 郭春燕, 詹克慧. 蛋白质组学技术研究进展及应用[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2010, 25(4): 583~591.
GUO CY, ZHAN KH. Research progress and application of proteomics technology [J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 2010, 25(4): 583~591.
- [18] 钱小红. 蛋白质组学:理论与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
QIAN XH. Proteomics: Theory and method [M]. Beijing: Science Press,

- 2003.
- [19] 田尉婧, 张九凯, 程海燕, 等. 基于质谱的蛋白质组学技术在食品真伪鉴别及品质识别方面的应用[J]. 色谱, 2018, 36(7): 588–598.
- TIAN WJ, ZHANG JK, CHENG HY, et al. Application of proteomics technology based on mass spectrometry in food authenticity and quality identification [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(7): 588–598.
- [20] KANG S, KONG F, LIANG X, et al. Label-free quantitative proteomics reveals the multitargeted antibacterial mechanisms of lactobionic acid against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) using SWATH-MS technology [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(44): 12322–12332.
- [21] STA B, HUA B, SM C, et al. Effect of humidity during sample preparation on bacterial identification using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2021, (1176): 122780.
- [22] WANG ZX, ZHANG QQ, SHEN HL, et al. Optimized MALDI-TOF MS strategy for characterizing polymers [J]. Front Chem, 2021, 9: 698297.
- [23] GARRIGOS T, NEUWIRTH C, CHAPUIS A, et al. Development of a database for the rapid and accurate routine identification of achromobacter species by matrix-assisted laser desorption/ionizationtime-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) [J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 27(1): 126.
- [24] TAKAHASHI N, NAGAI S, FUJITA A, et al. Discrimination of psychrotolerant *Bacillus cereus* group based on MALDI-TOF MS analysis of ribosomal subunit proteins [J]. Food Microbiol, 2020, 91: 103542.
- [25] 左惠心, 韩玲, 余群力, 等. 牦牛与黄牛肌肉差异蛋白质组及生物信息学分析[J]. 农业机械学报, 2017, 48(4): 313–320.
- ZUO HX, HAN L, YU QL, et al. Proteomics and bioinformatics analyses of differentially expressed proteins in yak and beef cattle muscle [J]. Trans Chin Soc Agric Mach, 2017, 48(4): 313–320.
- [26] 肖智超, 王桂瑛, 王雪峰, 等. 云南盐津乌骨鸡与武定鸡肌肉蛋白质组学差异研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 102–106, 117.
- XIAO ZC, WANG GY, WANG XF, et al. Differential proteomic analysis in breast and leg muscles from Yunnan yanjin silky fowl chicken and wuding chicken [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(16): 102–106, 117.
- [27] 杨宏旭. 不同低温贮藏对青鱼肉品质的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- YANG HX. Effects of different low temperature storage on meat quality of black carp [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [28] 冯静, 刘琳, 黄孟军, 等. 基于飞行时间质谱的快速肉类溯源检测方法 [C]. 第四届中国北京国际食品安全高峰论坛论文集, 2011.
- FENG J, LIU L, HUANG MJ, et al. Fast meat traceability detection method based on time of flight mass spectrometry [C]. Proceedings of the Fourth China Beijing International Food Safety Summit Forum, 2011.
- [29] LIU XD, JAYASENA DD, JUNG Y, et al. Differential proteome analysis of breast and thigh muscles between Korean native chickens and commercial broilers [J]. Asian Austral J Anim, 2012, 25(6): 895–902.
- [30] GILL BV, RICE TR, CARTIER A, et al. Identification of crab proteins that elicit IgE reactivity in snow crab-processing workers [J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(5): 1055–1061.
- [31] 梁箫, 张显, 闫应朋, 等. 用 3 种方法提取中华绒螯蟹卵巢总蛋白效果的比较[J]. 大连海洋大学学报, 2016, (2): 190–193.
- LIANG X, ZHANG X, YAN YP, et al. Comparison of extraction effects of total ovarian protein from *Eriocheir sinensis* by three methods [J]. J Dalian Ocean Univ, 2016, (2): 190–193.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



金萍, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 846493521@qq.com