

# 二醇基硅胶固相萃取-多维质谱对乌鳢组织脂质组学分析

沈 清, 金仁耀, 冯俊丽, 薛 静, 陈 康, 戴志远\*  
(浙江工商大学海洋食品研究院, 浙江 杭州 310012)

**摘 要:** 建立以二醇基键合硅胶 ( $\text{SiO}_2/\text{diol}$ ) 为填料的固相萃取 (solid-phase extraction, SPE) 和基于多维度串联质谱的乌鳢法分离纯化并测定乌鳢肌肉组织中的磷脂。利用 Folch 法和 SPE 法提取并纯化磷脂, 比较 3 种不同填料 SPE 柱的萃取效果, 优化 SPE 参数, 最佳条件: 上样量 100  $\mu\text{L}$ , 淋洗液 pH 值为 2, 洗脱液为体积分数 50% 乙腈溶液 1 mL。所得提取物以直接进样的方法流动注射入电喷雾离子源, 经三重四极杆质谱的母离子扫描和中性丢失扫描模式, 实现对磷脂分子种类的鉴定和定量。同时, 通过多维度串联质谱分析, 得到各个磷脂分子中 2 条脂肪酸链长度和不饱和度信息。实验结果显示, 乌鳢样品中成功检出磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇和磷脂酰丝氨酸 4 类磷脂, 共计 67 种磷脂分子, 且大部分磷脂均含有不饱和脂肪酸链。本方法简单高效, 分析准确快捷, 结果稳定。

**关键词:** 乌鳢法脂质组学; 多维质谱; 二醇基硅胶; 固相萃取; 乌鳢

$\text{SiO}_2/\text{diol}$  Based Solid-phase Extraction and Multi-dimensional Mass Spectrometry for Lipidomics Study of *Channa argus*

SHEN Qing, JIN Renyao, FENG Junli, XUE Jing, CHEN Kang, DAI Zhiyuan\*  
(Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** In this study, a method using  $\text{SiO}_2/\text{diol}$  based solid-phase extraction (SPE) and multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics was developed for studying the phospholipids in muscle tissue of *Channa argus*. Crude lipids were extracted by the Folch method. Phospholipids were obtained by  $\text{SiO}_2/\text{diol}$ -SPE, and it's the extraction efficiency was compared with that of two other commercial SPE cartridges. The conditions for  $\text{SiO}_2/\text{diol}$ -SPE were optimized as follows: loading volume, 100  $\mu\text{L}$ ; washing solvent pH 2, and 1 mL of 50% acetonitrile as eluent. The eluate was directly injected into the electrospray ionization (ESI) source. The phospholipid molecular species were identified and quantified using the precursor-ion scan and neutral loss scan modes, and the structures of two fatty acid chains in each species were confirmed by multi-dimensional mass spectrometry. The results showed that a total of 67 phospholipid molecular species were detected, including 18 phosphatidylcholines (PC), 21 phosphatidylethanoamines (PE), 12 phosphatidylinositols (PI), and 16 phosphatidylserines (PS). The phospholipids in *C. argus* contained abundant unsaturated fatty acyl chains. This analytical method proved to be simple, efficient, and reliable.

**Key words:** shotgun lipidomics; multi-dimensional mass spectrometry (MD-MS);  $\text{SiO}_2/\text{diol}$ ; solid-phase extraction (SPE); *Channa argus*

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201702025

中图分类号: S912

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 02-0154-05

引文格式:

沈清, 金仁耀, 冯俊丽, 等. 二醇基硅胶固相萃取-多维质谱对乌鳢组织脂质组学分析[J]. 食品科学, 2017, 38(2): 154-158.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201702025. <http://www.spkx.net.cn>

SHEN Qing, JIN Renyao, FENG Junli, et al.  $\text{SiO}_2/\text{diol}$  based solid-phase extraction and multi-dimensional mass spectrometry for lipidomics study of *Channa argus*[J]. Food Science, 2017, 38(2): 154-158. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201702025. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2016-06-16

基金项目: 国家国际科技合作专项 (2014DFA32880); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31601542);

浙江省自然科学基金项目 (LQ16C200001)

作者简介: 沈清 (1986—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为水产品营养与安全。E-mail: leonqshen@163.com

\*通信作者: 戴志远 (1958—), 男, 研究员, 学士, 研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: dzy@zjgsu.edu.cn

乌鳢俗称黑鱼,是我国重要的淡水经济鱼类之一。其生命力旺盛,繁殖力强,并且味道鲜美,营养价值高,含有丰富的蛋白质、脂肪、氨基酸和人体必需的钙、磷、铁及多种维生素<sup>[1]</sup>。黑鱼作为药用具有祛风治痹、补脾益气、滋补调养、生肌补血,促进伤口愈合等功效<sup>[2]</sup>。目前国内对乌鳢的研究主要停留在分子遗传学和养殖技术,而对乌鳢磷脂成分分析报道则相对较少<sup>[3-4]</sup>。磷脂对维持代谢,乳化血脂和胆固醇,信号传递,提高免疫力等发挥重大作用<sup>[5-6]</sup>。脂质组学的发展极大地促进了磷脂的研究<sup>[7]</sup>。美国、欧洲、日本等都分别建立相关研究机构,如LIPID MAPS<sup>[8]</sup>、LipidomicNet<sup>[9]</sup>及LipidBank<sup>[10]</sup>。中国脂质组学研究起步较晚,通过Web of Science篇名检索“Lipidomics”仅有论文90余篇,相关工作集中在生命科学与医学领域,在食品科学领域相对较少<sup>[11-12]</sup>。因此,开展乌鳢脂质组学能提高我国脂质组学科研水平,并为乌鳢研究与开发提供一个崭新的视角。

目前脂质组学研究方法主要有薄层色谱法和质谱法<sup>[13-14]</sup>,高效液相色谱-质谱联用技术<sup>[15-16]</sup>,基质辅助激光解析电离飞行时间质谱快速扫描法<sup>[17-18]</sup>。质谱技术是脂质组学研究最核心的手段。乌枪法是一种基于三重四极杆质谱仪,利用磷脂特征官能团,通过离子源内分离实现对不同样品脂质组学快速扫描的方法<sup>[19]</sup>。同时经多维度质谱扫描可得到磷脂脂肪酸链长度与不饱和度信息。尽管乌枪法样品无需预分离即可直接质谱进样,脂质粗提物中的甘油酯、胆固醇等杂质会对磷脂分析灵敏度产生影响。二醇基键合硅胶是一种亲水作用色谱(hydrophilic interaction chromatography, HILIC)填料,对磷脂具有较好的吸附解吸作用<sup>[20]</sup>。基于二醇基硅胶固相萃取(solid-phase extraction, SPE)技术纯化磷脂的研究鲜见报道。

本研究建立二醇基硅胶SPE-多维质谱乌枪法对乌鳢肌肉组织进行脂质组学分析。该方法操作简单快捷、灵敏度高、结果稳定可靠。该方法的建立对于水产品脂质组学研究具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

乌鳢 市购;取背部肌肉后切片,备用。

甲醇、乙腈、三氯甲烷(均为色谱纯) 德国Merck公司;二醇基键合硅胶填料 日本富士公司;磷脂标准品:磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS) 美国Avanti公司;磷脂标准品使用时配制成1 mg/mL母液备用。

### 1.2 仪器与设备

三重四极杆质谱仪(配电喷雾离子源) 美国AB Sciex公司;针泵注射进样器 美国Harvard公司;落地式高速冷冻离心机 美国Thermo公司;Milli-Q超纯水系统 美国Millipore公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 粗脂提取

粗脂提取采用改进的Folch法。精密称定研磨好的乌鳢样品0.1 g,用氯仿-甲醇(2:1, V/V)混合液3 mL冰浴超声提取30 min,加入超纯水1 mL并以12 000 r/min高速冷冻离心5 min。使用200 mL移液枪转移下清液,向余下的上清液和固形物中加入2 mL氯仿溶液,重复提取2次。合并下清液并用氮气吹干,加入1 mL甲醇溶液复溶,过0.22  $\mu\text{m}$ 有机膜后即得到粗脂质的提取物。

#### 1.3.2 SPE条件

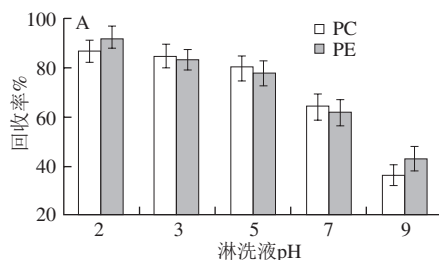
选取1 mL SPE柱空管,在底部垫上筛板,然后往柱管中填装100 mg二醇基键合硅胶,在上层用筛板压平。SPE柱使用前预先分别用3 mL甲醇溶液、体积分数50%甲醇溶液、乙腈进行活化和平衡。用移液枪取脂质粗提物100  $\mu\text{L}$ 后上样,并以0.2 mL/min流速通过柱床。用乙腈清洗SPE柱,弃去淋洗液后用体积分数50%乙腈溶液1 mL进行洗脱,收集洗脱液后用氮气吹干,并用100  $\mu\text{L}$ 乙腈复溶后准备质谱分析。

#### 1.3.3 质谱条件

针泵注射进样器流速为5  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。质量扫描范围 $m/z$  450~950。不同类磷脂在母离子扫描(precursor ion scan, PIS)和中性丢失扫描(neutral loss scan, NLS)2种模式下检测,并通过多通道监测将谱图累加。正负离子模式下离子喷雾电压分别为5.5 kV和4.5 kV,离子源温度为450  $^{\circ}\text{C}$ ,雾化气和帘气压力分别为35 psi和20 psi,去簇电压和碰撞电压分别为100 V和40 V。磷脂分子通过Lipid View 1.1搜索库鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 二醇基硅胶SPE条件优化



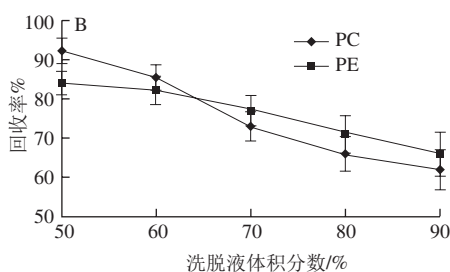


图1 淋洗液pH值(A)与洗脱液体积分数(B)对SPE磷脂萃取效率的影响

Fig. 1 Effects of eluent pH (A) and concentration (B) on the extraction efficiency of SPE for phospholipids

SPE不仅能选择性富集目标化合物,同时也能去除样品中的盐分,避免造成其对质谱实验结果的干扰。分别考查影响SPE的3个主要因素,上样量、pH值、洗脱液。结果显示,100  $\mu\text{L}$ 样品为最佳上样量,因乌鳢提取物中磷脂含量较丰富,上样量超过100  $\mu\text{L}$ 后容易使回收率降低,结果不稳定;上样量小于50  $\mu\text{L}$ 时,会导致部分低丰度磷脂浓度偏低,不易被质谱检测到。磷脂在SPE柱中保留行为受pH值变化显著,将淋洗液pH值调整为2~9五个点进行测试,如图1A所示,随着淋洗液pH值升高,各磷脂分子与二醇基硅胶作用明显降低,故选择pH 2作为SPE淋洗液酸度。如图1B所示,当采用体积分数为50%乙腈溶液时,PC和PE的回收率分别为92%和84%。随着洗脱液中乙腈体积分数的升高,PC和PE的回收率均出现了下降趋势,且PC的下降趋势更为明显。当洗脱液为体积分数90%乙腈溶液时,PC和PE的回收率只有62%和66%。因此,洗脱液采用体积分数为50%乙腈溶液可将磷脂洗脱。

比较3种不同填料SPE柱(二醇基硅胶、 $\text{C}_{18}$ 、硅胶)的磷脂萃取效率。硅胶是最常用的色谱填料之一,其优点是价格低廉,但是硅胶填料吸附能力太强,会对磷脂造成一定死吸附,因此PC和PE的回收率仅为56%和51%; $\text{C}_{18}$ 填料使用最为广泛,对绝大部分中等极性和非极性化合物均有较好的保留,吸附化合物较宽泛,PC和PE的回收率均达到80%以上,缺点是价格相对较高,且杂质清除能力无特异性与专一性,故对磷脂的纯化作用不明显;二醇基硅胶填料对磷脂特异性较强,能选择性吸附混合样品中的磷脂分子,其对PC和PE的回收率分别为88%和93%。因此,本实验采用二醇基硅胶-SPE柱分离纯化乌鳢粗提物中磷脂。

## 2.2 鸟枪法脂质组学鉴定

将处理后的样品直接注入电喷雾离子源,选定特征离子碎片即可通过质谱扫描得到所有含有该碎片的母离子。如图2所示,PC含有特征碎片 $[\text{C}_5\text{H}_{15}\text{O}_4\text{NP}]^+$ ,故选定 $m/z$  184为子离子,经PIS后即可得到所有PC类磷脂(图2A)。PE含有特征碎片 $\text{C}_2\text{H}_8\text{O}_4\text{NP}$ ,选定中性丢失碎片141 u进行NLS,经NLS后即可得到所有的PE类磷脂(图2B)。同理,扫描87 u ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$ )和 $m/z$  241 ( $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3\text{P}]^-$ )分别可得到PS和PI类磷脂(图2C、D)。

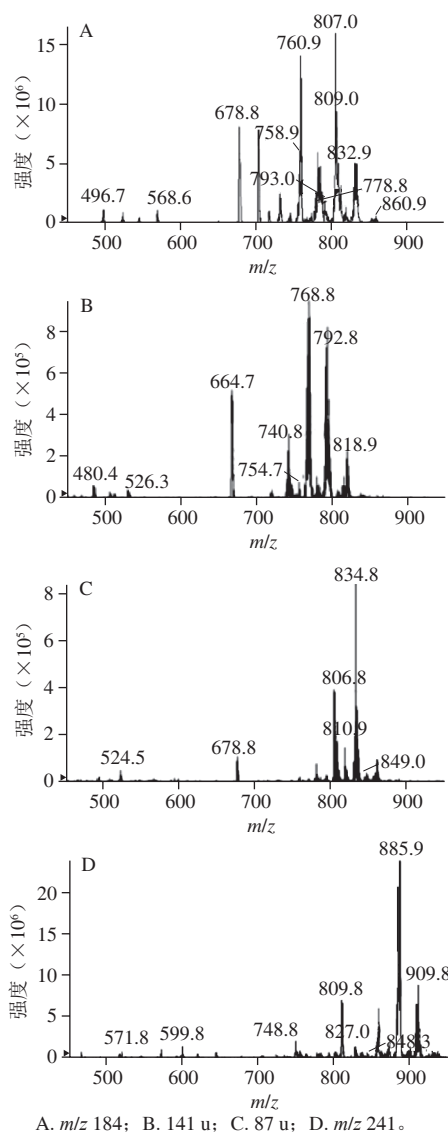


图2 鸟枪法测定乌鳢组织磷脂质谱图

Fig. 2 Mass spectra of phospholipids in muscle tissue of *Channa argus* by shotgun lipidomics

确定磷脂分子种类后,即可对磷脂分子的2条脂肪酸链进行结构解析。目前国外常用多维质谱法,国内鲜有报道<sup>[7,21-22]</sup>。本实验采用多维质谱法,选定脂肪酸链碎片后得到含有该脂肪酸链的所有磷脂并与图2比对。如图3所示,经PIS  $m/z$  283和 $m/z$  303后得到图3A、B,分别代表所有含有脂肪酸链结构为 $\text{C}_{18:0}$ 和 $\text{C}_{20:4}$ 的磷脂分子。比较后发现,图3A、B中均含有 $m/z$  766.9,经查找磷脂类后得知,正离子NLS 141 u中的 $m/z$  768.8离子在负离子模式下刚好为766.9。再由LIPID MAPS工具得出相对分子质量为767.8的PE分子总碳原子和双键数为38和4。由此可以推测图2B中的 $m/z$  768.8为PE中脂肪酸链结构为 $\text{C}_{18:0}$ 和 $\text{C}_{20:4}$ 。以此多维质谱法辅以二级质谱可以解析所有检出的磷脂分子双链结构,结果见表1。实验共检出18种PC,21种PE,12种PI和16种PS。不同种磷脂脂肪酸链各异,其碳链长度由16~22不等。

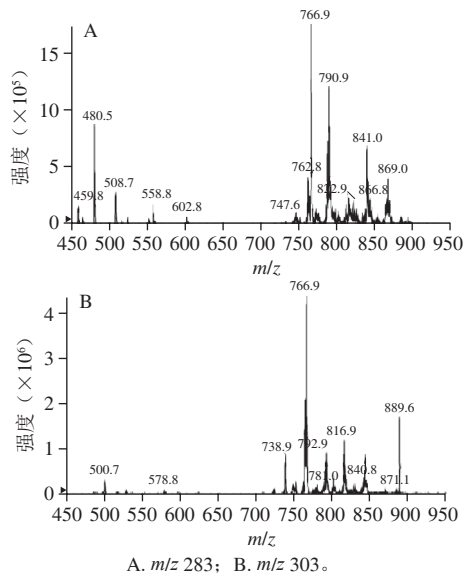


图3 多维扫描测定磷脂脂肪酸链结构质谱图

Fig. 3 Multi-dimensional mass spectra for identifying the structures of fatty acid chains of phospholipids

表1 乌鳢组织样品中磷脂结构与含量

Table 1 Structural characteristics and contents of phospholipids in *Channa argus*

脂肪酸链		PC		PE		PI		PS	
sn-1	sn-2	质荷比 [M+H] <sup>+</sup>	含量/ (μg/g)	质荷比 [M+H] <sup>+</sup>	含量/ (μg/g)	质荷比 [M-H] <sup>-</sup>	含量/ (μg/g)	质荷比 [M-H] <sup>-</sup>	含量/ (μg/g)
C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	732.6	20.78	—	—	—	—	—	—
C <sub>16:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	756.6	14.22	—	—	—	—	—	—
C <sub>16:1</sub>	C <sub>18:1</sub>	758.6	47.89	716.6	1.29	—	—	—	—
C <sub>16:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	760.6	110.56	—	—	—	—	—	—
C <sub>16:0</sub>	C <sub>20:5</sub>	780.7	19.89	738.7	4.29	855.8	4.17	—	—
C <sub>16:0</sub> 或C <sub>16:1</sub>	C <sub>20:4</sub> 或C <sub>20:3</sub>	782.7	48.56	740.7	17.17	857.7	8.01	782.7	1.79
C <sub>16:0</sub> 或C <sub>16:1</sub>	C <sub>20:3</sub> 或C <sub>20:2</sub>	784.7	31.67	742.7	5.12	—	—	784.7	0.32
C <sub>16:0</sub>	C <sub>20:2</sub>	786.7	31.56	744.7	3.16	—	—	—	—
C <sub>16:0</sub>	C <sub>20:1</sub>	788.8	17.44	—	—	—	—	—	—
C <sub>16:0</sub>	C <sub>22:6</sub>	792.7	13.67	—	—	—	—	—	—
C <sub>16:0</sub>	C <sub>22:4</sub>	—	—	754.7	2.95	871.8	2.86	796.7	0.96
C <sub>16:1</sub>	C <sub>22:6</sub>	804.8	20.00	762.7	3.36	—	—	—	—
C <sub>16:0</sub> 或C <sub>18:1</sub>	C <sub>22:4</sub> 或C <sub>20:5</sub>	806.7	124.89	764.7	32.22	881.8	10.68	806.7	19.52
C <sub>16:0</sub> 或C <sub>18:0</sub>	C <sub>22:5</sub> 或C <sub>20:5</sub>	808.7	69.22	766.7	49.03	883.8	32.20	808.7	8.07
C <sub>18:0</sub>	C <sub>20:4</sub>	810.7	36.11	768.7	67.55	885.8	36.60	810.7	6.70
C <sub>18:0</sub> 或C <sub>18:1</sub>	C <sub>20:3</sub> 或C <sub>20:2</sub>	—	—	770.7	10.14	887.8	3.42	812.7	0.88
C <sub>18:0</sub>	C <sub>22:6</sub>	820.8	12.00	778.7	3.62	—	—	820.8	5.46
C <sub>20:3</sub>	C <sub>20:5</sub>	—	—	788.7	8.59	905.8	1.19	—	—
C <sub>18:1</sub> 或C <sub>18:3</sub>	C <sub>22:4</sub> 或C <sub>22:4</sub>	832.8	40.78	790.7	43.40	907.8	10.56	832.8	4.43
C <sub>18:0</sub> 或C <sub>18:2</sub>	C <sub>22:4</sub> 或C <sub>22:4</sub>	834.8	35.56	792.7	46.29	909.8	13.56	834.8	44.38
C <sub>18:0</sub>	C <sub>22:5</sub>	836.8	13.33	794.7	27.36	911.8	5.67	836.8	13.91
C <sub>18:0</sub>	C <sub>22:4</sub>	—	—	796.7	7.24	913.9	1.01	838.8	4.38
C <sub>20:3</sub>	C <sub>22:6</sub>	—	—	814.8	5.17	—	—	856.8	0.55
C <sub>20:2</sub>	C <sub>22:6</sub>	—	—	816.6	3.93	—	—	858.8	0.50
C <sub>20:1</sub>	C <sub>22:6</sub>	—	—	818.8	13.55	—	—	860.8	0.91
C <sub>20:2</sub>	C <sub>22:4</sub>	—	—	820.8	6.26	—	—	862.8	3.70
总计			708.13		361.69		129.93		116.46

注: sn-1、sn-2为磷脂的2条脂肪酸链。

## 2.3 乌鳢磷脂含量测定

乌枪法磷脂定量采用归一化法,其原理基于磷脂

离子化特殊性质。磷脂的偶极矩几乎全部集中在极性头部,故同一类磷脂离子化效率只与浓度相关,而脂肪酸链长度和饱和度的影响可忽略不计<sup>[23-24]</sup>。利用已知浓度的标准品,即可对所有磷脂分子进行定量。乌鳢肌肉组织中,PC(708.13 μg/g)含量最多,PE(361.69 μg/g)次之,PI和PS含量相近,分别为129.93 μg/g和116.46 μg/g;磷脂酸和磷脂酰甘油未检出。含有不饱和脂肪酸链的磷脂含量较多<sup>[25]</sup>,例如PC中C<sub>16:0</sub>/C<sub>22:6</sub>或C<sub>18:1</sub>/C<sub>20:5</sub>的含量达到了124.89 μg/g。实验中还测出了大量含有二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)和二十碳五烯酸(eicosapentamethic acid, EPA)链的磷脂,如C<sub>16:0</sub>/C<sub>20:5</sub>、C<sub>16:1</sub>/C<sub>22:6</sub>、C<sub>16:0</sub>/C<sub>22:6</sub>、C<sub>18:1</sub>/C<sub>20:5</sub>、C<sub>18:0</sub>/C<sub>22:6</sub>、C<sub>18:0</sub>/C<sub>22:5</sub>等。实验表明,本方法前处理方法简单有效,分析检测过程中无需常规色谱分离手段,直接进样即可得到可靠结果,能为乌鳢等水产品脂质组学快速分析提供基础。

## 3 结论

建立基于二醇基键合硅胶-SPE和多维度串联质谱乌枪法的乌鳢组织中脂质组学研究方法。共测定了PC、PE、PI及PS四类磷脂67个分子,乌鳢中的磷脂富含多不饱和脂肪酸链,其sn-2位置尤以DHA链和EPA链居多。该方法具有便捷、灵敏度、精密度及准确性好的优势,与传统方法相比避免了复杂的流动相体系和装置,为脂质组学在水产食品学科中的发展提供理论依据。

## 参考文献:

- [1] 姜巨峰,韩现芹,傅志茹,等. 雌雄乌鳢可食部分主要营养成分的比较分析[J]. 凯里学院学报, 2012, 30(3): 71-75. DOI:10.3969/j.issn.1673-9329.2012.03.21.
- [2] 秦伟夫,蒋俊和. 乌鳢复元汤促进术后大鼠切口愈合的实验研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(10): 189-190. DOI:10.3969/j.issn.1672-2779.2010.10.166.
- [3] 刘苏,朱新平,陈昆慈,等. 斑鳢、乌鳢及其杂交种遗传差异的 AFLP分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(4): 673-678. DOI:10.3969/gab.029.000673.
- [4] 朱兴华,王桂芹. 饲料能量和蛋白水平对乌鳢生长、饲料利用和体组成的影响[J]. 饲料工业, 2011, 32(2): 15-18. DOI:10.3969/j.issn.1001-991X.2011.02.003.
- [5] 徐丽珊,楼芬萃,樊晓丽. 大豆磷脂对小鼠学习记忆和抗氧化功能的影响[J]. 营养学报, 2000, 22(3): 287-288. DOI:10.3321/j.issn.0512-7955.2000.03.025.
- [6] GARCIA C, LUTZ N W, CONFORT-GOUNY S, et al. Phospholipid fingerprints of milk from different mammals determined by <sup>31</sup>P NMR: towards specific interest in human health[J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1777-1783. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.05.111.
- [7] HAN X, YANG K, GROSS R W. Multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics and novel strategies for lipidomic analyses[J]. Mass Spectrometry Review, 2012, 31(1): 134-178. DOI:10.1002/mas.20342.



- [8] FAHY E, SUD M, COTTER D, et al. LIPID MAPS online tools for lipid research[J]. Nucleic Acids Research, 2007, 35(Suppl 2): W606-W607. DOI:10.1093/nar/gkm324.
- [9] SCHMITZ G. Introduction of LipidomicNet[J]. New Biotechnology, 2010, 27(Suppl 1): 14-17. DOI:10.1016/j.nbt.2010.01.298.
- [10] ARITA M, YASUGI E, SEYAMA Y, et al. LipidBank: its recent changes[J]. Chemistry and Physics of Lipids, 2007, 149(Suppl 1): 74-75. DOI:10.1016/j.chemphyslip.2007.06.170.
- [11] 王涛, 梅旭荣, 钟秀丽, 等. 脂质组学研究方法及其应用[J]. 植物学报, 2010, 45(2): 249-257. DOI:10.3969/j.issn.1674-3466.2010.02.015.
- [12] 蔡潭溪, 刘平生, 杨福全, 等. 脂质组学研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2010, 37(2): 121-128. DOI:10.3724/SP.J.1206.2009.00479.
- [13] 侯俊峰. 基于高效薄层色谱法的胡麻卵磷脂质量分析[J]. 食品科学, 2014, 35(16): 160-164. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201416031.
- [14] STUBIGER G, PITTENAUER E, BELGACEM O, et al. Analysis of human plasma lipids and soybean lecithin by means of high-performance thin-layer chromatography and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. Rapid Communication in Mass Spectrometry, 2009, 23(17): 2711-2723. DOI:10.1002/rcm.4173.
- [15] SHEN Q, CHEUNG H Y. TiO<sub>2</sub>/SiO<sub>2</sub> core-shell composite-based sample preparation method for selective extraction of phospholipids from shrimp waste followed by hydrophilic interaction chromatography coupled with quadrupole time-of-flight/mass spectrometry analysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(36): 8944-8951. DOI:10.1021/jf503040p.
- [16] SHEN Q, YANG Q, CHEUNG H Y. Hydrophilic interaction chromatography based solid-phase extraction and MALDI TOF mass spectrometry for revealing the influence of *Pseudomonas fluorescens* on phospholipids in salmon fillet[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(5): 1475-1484. DOI:10.1007/s00216-014-8365-8.
- [17] 苗楠, 张宇, 张建业, 等. 3,4-二氨基苯基苯甲酮在基质辅助激光解吸离子化质谱分析磷脂中的应用[J]. 分析化学, 2011, 39(5): 605-610. DOI:10.3724/SP.J.1096.2011.00605.
- [18] SHEN Q, YANG M, LI L, et al. Graphene/TiO<sub>2</sub> nanocomposite based solid-phase extraction and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for lipidomic profiling of avocado (*Persea americana* Mill.)[J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 852: 153-161. DOI:10.1016/j.aca.2014.09.022.
- [19] SHEN Q, WANG Y, GONG L, et al. Shotgun lipidomics strategy for fast analysis of phospholipids in fisheries waste and its potential in species differentiation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(37): 9384-9393. DOI:10.1021/jf303181s.
- [20] ZHU C, DANE A, SPIJKSMA G, et al. An efficient hydrophilic interaction liquid chromatography separation of 7 phospholipid classes based on a diol column[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1220: 26-34. DOI:10.1016/j.chroma.2011.11.034.
- [21] 李婷婷. 鸟枪法快速分析鱼贝类磷脂成分[J]. 食品科技, 2015, 40(7): 330-334. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2015.07.072.
- [22] HAN X, GROSS R W. Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples[J]. Mass Spectrometry Review, 2005, 24(3): 367-412. DOI:10.1002/mas.20023.
- [23] 王友谊, 张虹, 戴志远. 直接进样电喷雾串联质谱法测定草鱼肌肉组织中磷脂[J]. 分析化学, 2012, 40(6): 893-898. DOI:10.3724/SP.J.1096.2012.11027.
- [24] 袁松. 卵磷脂与脂质体定量结构功能关系研究[D]. 北京: 中国药品生物制品检定所, 2011: 18-30.
- [25] 温小波, 李伟国, 周永平. 野生乌鳢、鲢、黄颡鱼和黄鳝的脂类及脂肪酸组成比较[J]. 湖北农学院学报, 2003, 23(3): 169-173.