

直接进样串联质谱法快速筛查水产副产物中 ω -3脂肪酸链磷脂

崔益玮^{1,2}, 俞喜娜^{1,2}, 李诗言³, 戴志远^{1,2}, 陈康^{1,2}, 沈清^{1,2,*}

(1. 浙江工商大学海洋食品研究院, 浙江 杭州 310012; 2. 浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室, 浙江 杭州 310012; 3. 浙江省水产质量检测中心, 浙江 杭州 310023)

摘要: 建立自下而上快速筛选含二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳五烯酸(docosapentenoic acid, DPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)链磷脂的新方法。通过针泵注射进样, 以 m/z 301、329和327为特征碎片离子峰进行母离子扫描(precursor ion scan, PreIS), 采用去簇电压-100 V和碰撞电压-40 V, 质谱扫描范围设定为350~1 150 Da, 得到含EPA、DPA和DHA链磷脂质谱全谱图。经结构鉴定和归一法含量计算, 结果表明: 水产品加工副产物中磷脂种类丰富, 共鉴定50种EPA、DPA及DHA磷脂分子, 其sn-1位置的脂肪酸链主要以 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1}$ 和 $C_{18:0}$ 为主, 部分磷脂脂肪酸链不饱和度极高, 如磷脂酰丝氨酸20:5/22:6和磷脂酰肌醇22:6/22:6等, 以水产品加工副产物为原料开发 ω -3脂肪酸链磷脂保健功能产品潜力较大。方法经验证, 特征磷脂分子相对标准偏差不高于7.3%, PreIS模式下质谱数据稳定性较好。本方法可一步快速筛查样品中含 ω -3脂肪酸链磷脂, 理论上同样适用于其他生物样品, 可为探索与发现磷脂新资源提供一定理论支持。

关键词: 直接进样; 串联质谱; 磷脂; 副产物; 多不饱和脂肪酸链

Direct Injection Tandem Mass Spectrometry for Fast Screening of Phospholipids with ω -3 Fatty Acyl Chains in Aquatic Byproducts

CUI Yiwei^{1,2}, YU Xina^{1,2}, LI Shiyan³, DAI Zhiyuan^{1,2}, CHEN Kang^{1,2}, SHEN Qing^{1,2,*}

(1. Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China;

2. State Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China;

3. Aquatic Products Quality Inspection Center of Zhejiang Province, Hangzhou 310023, China)

Abstract: In this study, a bottom-up method was established for the fast screening of eicosapentaenoic acid (EPA), docosapentenoic acid (DPA), and docosahexaenoic acid (DHA) acyl chain containing phospholipids. The oil extract from aquatic byproducts was injected using a syringe pump, and monitored under precursor ion scan (PreIS) mode with -100 V declustering potential (DP) and -40 V collision energy (CE) in the range of 350–1 150 Da. The product ions of m/z 301, 329 and 327 were used as the representative ions for EPA, DPA and DHA chains, respectively. The peaks of EPA, DPA and DHA were identified and quantified. The results showed that the aquatic byproducts contained many different types of EPA, DPA and DHA containing phospholipids. A total of 50 phospholipids of interest were identified, whose sn-1 positions were $C_{16:0}$, $C_{18:1}$ or $C_{18:0}$ chains, including phosphatidylserine 20:5/22:6 and phosphatidylinositol 22:6/22:6, which were extremely unsaturated. Aquatic byproducts rich in EPA, DPA and DHA containing phospholipids therefore show great potential in the development of functional foods. The method was validated and found to be stable and precise as indicated by the relative standard deviations (RSDs) lower than 7.3%. In conclusion, this method is advantageous in fast screening of ω -3 fatty acyl chain containing phospholipids. Theoretically, this method is applicable to other biological samples as well, and can provide strong support for searching for new resources of ω -3 fatty acyl chain containing phospholipids.

Keywords: direct injection; tandem mass spectrometry; phospholipids; aquatic byproducts; polyunsaturated fatty acyl chains
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201808016

收稿日期: 2017-04-05

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31601542); 浙江省基础公益研究项目(LGN18C200001);

浙江省重点研发计划项目(2017C03041)

第一作者简介: 崔益玮(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产品脂质。E-mail: ccdeyxzh@qq.com

*通信作者简介: 沈清(1986—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为水产品加工与安全。E-mail: leonqshen@163.com

中图分类号: S912

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 08-0097-06

引文格式:

崔益玮, 俞喜娜, 李诗言, 等. 直接进样串联质谱法快速筛查水产副产物中 ω -3脂肪酸链磷脂[J]. 食品科学, 2018, 39(8): 97-102. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201808016. <http://www.spkx.net.cn>

CUI Yiwei, YU Xina, LI Shiyang, et al. Direct injection tandem mass spectrometry for fast screening of phospholipids with ω -3 fatty acyl chains in aquatic byproducts[J]. Food Science, 2018, 39(8): 97-102. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201808016. <http://www.spkx.net.cn>

水产品中富含一种特殊的含长链多烯脂肪酸的磷脂, 其sn-2位置连接一条 ω -3多不饱和脂肪酸链, 主要包括二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳五烯酸(docosapentaenoic acid, DPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)等。 ω -3脂肪酸是人体不可缺少但自身又不能合成的重要营养元素, 因此被称为人体必需脂肪酸。已有研究表明, 含 ω -3脂肪酸链磷脂在消化吸收、稳定性及生物利用度等活性方面优于传统 ω -3脂肪酸链甘油酯型产品^[1]。

ω -3脂肪酸链磷脂不仅具有磷脂的生理功能, 还具有 ω -3多不饱和脂肪酸的生理功能。医学和营养学研究表明 ω -3多不饱和脂肪酸对心脑血管疾病、肺病、肾病、2型糖尿病、高血压、大肠溃疡和节段性回肠炎的治疗都会起到积极的作用^[2-4]。其中EPA具有抑制血小板凝聚、抗血栓、舒张血管、调整血脂等治疗和预防心脑血管病的功能, EPA过氧化物和自由基可抑制肿瘤细胞表达, 缩短染色体的端粒, 促进肿瘤细胞的凋亡^[5-6]; DPA只存在于少数海洋哺乳动物油脂中, 它对神经细胞的发育、递质传导、促视神经生长、改善视力、防治癌症等具有重要作用, 还可以抑制血小板凝集, 增强内皮细胞迁移能力^[7-8], 其调节血脂的功能优于EPA^[9]。DHA具有调降三高健康心血管, 健脑益智提高记忆力, 增强视网膜反射能力以及防治老年性痴呆, 以及抗癌、抗炎、抗氧化等提高生命质量的功能^[10-12]。因此, 提取分离高纯度 ω -3脂肪酸链磷脂已成为发达国家竞相研究的热点。然而天然形式的 ω -3脂肪酸链磷脂通常含量较低, 且其来源十分有限, 商业上EPA、DPA及DHA磷脂的来源主要是脂肪含量高的海洋鱼类^[13]。随着海况的变化和海上捕捞强度的不断增加, 海上渔业资源结构发生了重大变化, 环境污染、过度捕捞等因素造成资源短缺, 促使人们积极寻找开发富含EPA、DPA及DHA磷脂的新资源。

目前 ω -3脂肪酸链磷脂的相关检测方法主要以液相色谱-串联质谱法为主, 该方法根据不同色谱柱分离模式与质谱扫描模式检测磷脂分子结构与含量^[14-18]。成琳等^[19]建立测定豆酱中活性成分磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)与其降解产物溶血磷脂酰胆碱和甘油磷脂酰胆碱含量的超高效液相色谱-质谱联用分析方法, 此方法准确、灵敏度高、样品处理简单、分析

时间短。王斌等^[20]建立了保健胶囊中PC的超高效液相色谱-质谱/质谱确证方法, 适用于保健胶囊中PC的检测和确证。Shen Qing等^[21-23]成功采用基质辅助激光解吸飞行时间质谱建立了橄榄、杏仁、牛油果的脂质组学快速分析方法。目前报道的方法均为定向筛选法, 且分析耗时较长。

本研究拟利用质谱直接进样法建立快速筛查含 ω -3脂肪酸链磷脂的方法, 快速扫描复杂样品中含有EPA、DPA及DHA脂肪酸链的磷脂并进行结构鉴定和相对含量测定, 有利于快速筛选 ω -3脂肪酸链磷脂原料资源, 促进 ω -3脂肪酸链磷脂保健品产业发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

水产加工鲑鱼副产物由舟山奥旭鱼油制品有限公司提供。

PC、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanoamine, PE)、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)和磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)标准品(纯度97%)美国Avanti Polar Lipids公司; 甲醇、乙腈(均为色谱纯)德国Merck公司; 所有分离用有机溶剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

4000 QTRAP串联四极杆质谱仪(配有电喷雾离子源及Analyst1.5数据处理系统) 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; 超纯水系统 法国Milli-Q公司。

1.3 方法

1.3.1 脂质提取

称取10 g水产加工副产物洗净后研磨成浆, 准确称取0.1 g糜液, 并用二氯甲烷-甲醇(2:1, V/V)混合液3 mL冰浴超声提取30 min, 提取完毕后加入纯水3 mL并用冷冻离心机于4℃、8 000 r/min离心15 min; 使用移液枪移取下相溶液, 向上清液和残渣中加入2 mL二氯甲烷重复上述操作提取2次; 将所有提取后所得的下相溶液合并, 用氮气进行低温吹干后得脂质粗提物。将粗提物用5 mL甲醇复溶, 过0.22 μ m滤膜后待用。

1.3.2 质谱条件

采用负离子模式下母离子扫描 (precursor ion scan, PreIS), 通过多通道检测累加计算谱图; 离子喷雾电压: 4.5 kV; 离子源温度: 450 °C; 去簇电压: -100 V; 碰撞电压: -40 V; 扫描范围: 350~1 150 Da; 驻留时间: 2 s; 气帘气压力: 10 psi; 辅助气压力: 30 psi; 针泵注射进样器流速: 5 μ L/min。以PreIS分别扫描 m/z 301、329和327特征碎片离子峰, 得到所有含有EPA、DPA及DHA脂肪酸链的磷脂。同1 d内对同一样品平行提取检测5份并计算日内相对标准偏差, 同一样品连续7 d, 每天各提取检测一次并计算日间相对标准偏差。

1.4 数据处理

质谱数据采集使用Analyst软件; 将谱图经过最低峰宽为0.2 Da噪音过滤, 基线扣除4 Da, 去同位素峰后得到谱图, 将谱图导出为txt文件; 磷脂分子通过LipidView 1.1 (美国AB Sciex公司) 搜库鉴定, 部分低丰度脂质使用Lipid Mass Spec. Prediction软件鉴定, 得到各个离子峰的结构信息; 相对丰度的计算公式为:

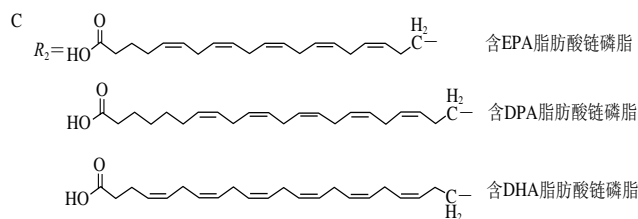
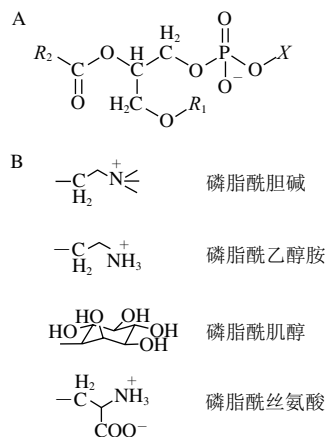
$$\text{相对丰度}/\% = \frac{A_i}{A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n} \times 100$$

式中: A_i 为该化合物峰面积; 1, 2, 3... n 表示谱图中的各个化合物的峰面积。

2 结果与分析

2.1 质谱条件优化

PreIS是一种根据化合物共有碎片离子峰, 扫描含有该碎片离子峰的所有化合物母离子。PreIS是三重四极杆串联质谱的一种重要模式, 但是相关方法开发与应用报道非常少^[24-25]。本研究以EPA、DPA及DHA脂肪酸链为特征碎片离子峰 (图1), 进而以PreIS分别扫描所有含有这3种脂肪酸链的磷脂, 实现直接进样快速筛选优质磷脂资源的目的^[26-28]。



A. 磷脂骨架; B. 磷脂不同头部基团; C. EPA、DPA、DHA脂肪酸链。

图1 含 ω -3脂肪酸链磷脂结构式

Fig. 1 Structure of phospholipids with ω -3 fatty acid chains

动物组织中磷脂主要包括PC、PE、PI、PS等, 其中PC和PE是细胞磷脂双分子层的主要成分, 磷脂酰甘油和甘油磷脂酸均属低丰度磷脂, 通常检出量较少^[29]。除了PC以外磷脂均易在负离子模式下电离形成 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。PC由于胆碱较易质子化, 在正离子模式下离子峰强度相对较强, 其负离子模式下电离形成 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 也能被顺利检测到^[30]。因此, 本实验采用负离子模式监测水产品副产物中的磷脂。去簇电压和碰撞电压是影响磷脂信号强度最显著的因素, 通过选定特征碎片进行PreIS扫描爬坡测试, 得到最佳参数为去簇电压-100 V和碰撞电压-40 V。磷脂的基本结构由极性基团和脂肪酸链构成, 其中单条脂肪酸链的碳原子数在14~22之间, 考虑到溶血性磷脂, 质谱扫描范围设定为350~1 150 Da。

2.2 EPA链磷脂

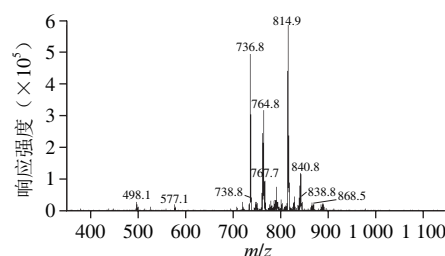


图2 水产副产物中含EPA链磷脂质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of EPA containing phospholipids in aquatic byproducts

含EPA链磷脂在质谱真空环境下经碰撞诱导解离, 其sn-2位置的EPA链断裂并生成碎片离子 m/z 301, 因此选定该碎片为特征离子进行PreIS扫描, 样品经针泵直接进样后进行数据采集得到图2。含EPA链磷脂质谱图特征较为明显, 共鉴定磷脂分子17种, 其中最大峰 m/z 814.9相对强度23.2%, 经搜库鉴定其结构可能为 $[\text{PC } 16:0/20:5+\text{Cl}]^-$ 、 $[\text{PE } 22:3/20:5-\text{H}]^-$ 或两者的重叠, 其后依次为 m/z 736.8、764.8、816.9、762.8, 结构分别为 $[\text{PE } 16:0/20:5-\text{H}]^-$ 、 $[\text{PE } 18:0/20:5-\text{H}]^-$ 、 $[\text{PE } 22:2/20:5-\text{H}]^-$ 和 $[\text{PE } 18:1/20:5-\text{H}]^-$, 其余离子峰强度相对较弱, 经结构鉴定结果见表1。根据水产品副产物中含EPA链磷脂结构特征表明, 其sn-1位置的脂肪酸链主要以 $\text{C}_{16:0}$ 、 $\text{C}_{18:1}$ 和 $\text{C}_{18:0}$ 为主。此外还检测到了2条脂肪酸

链均为EPA结构的磷脂，如PS 20:5/20:5 (m/z 826.9)；同时含DPA和EPA链结构的磷脂，如PI 22:5/20:5 (m/z 841.9)，以及溶血性磷脂lysoPC 20:5 (m/z 577.1)。

表1 水产副产物中EPA链磷脂相对丰度和分子结构
Table 1 Relative abundances and chemical structures of EPA containing phospholipids in aquatic byproducts

m/z	相对丰度/%	sn-1/sn-2			
		PC	PE	PS	PI
736.8	19.2		16:0/20:5		
760.9	1.4		18:2/20:5		
762.9	9.4		18:1/20:5		
764.8	13.9		18:0/20:5		
765.8	2.9				16:1/20:5
767.8	2.0				16:0/20:5
788.8	1.5		20:2/20:5		
790.9	2.2		20:1/20:5		
793.7	1.3				18:1/20:5
814.9	23.2	16:0/20:5	22:3/20:5		
816.9	10.3		22:2/20:5		
826.9	1.1	<i>O</i> -18:1/20:5		20:5/20:5	
828.9	1.1	<i>O</i> -18:0/20:5			
840.9	1.0	18:1/20:5			
841.9	4.5				22:5/20:5
842.9	1.5	18:0/20:5			

注：PC的母离子为[M+Cl]⁻，其余为[M-H]⁻； m/z 数据经软件中心化计算，因此与图中原始标注小数点后第1位略有偏差。下同。

2.3 DPA链磷脂

含DPA链磷脂经碰撞诱导解离，其sn-2位置的DPA链断裂并生成碎片离子 m/z 329，因此选定该碎片为特征离子进行PreIS扫描得图3。含DPA链磷脂分子种类多样，共鉴定磷脂分子17种，其推测结构和相对含量见表2，其中 m/z 791.0 ([PE 18:1/22:5-H]⁻)和 m/z 842.8 ([PC 16:0/22:5-H]⁻)为信号相对最强的磷脂分子，分别为18.7%和16.1%。水产品副产物中含DPA链磷脂的sn-1位置的脂肪酸链除C_{16:0}、C_{18:1}和C_{18:0}结构外，C_{20:1}和C_{22:2}信号也较强，如 m/z 818.9 ([PE 20:1/22:5-H]⁻)和 m/z 844.8 ([PE 22:2/22:5-H]⁻)。水产品副产物中DPA链磷脂分子种类丰富，且较传统的游离型、乙酯型和甘油三酯型DPA在消化吸收以及营养功效方面更加优越。因此，以水产品加工副产物为原料开发 ω -3脂肪酸链磷脂保健功能产品潜力较大。

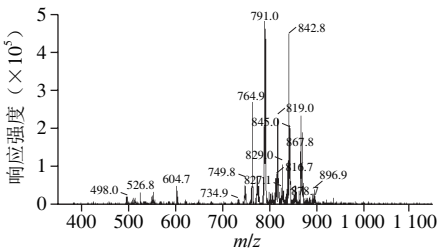


图3 水产副产物中含DPA链磷脂质谱图

Fig. 3 Mass spectrum of DPA containing phospholipids in aquatic byproducts

表2 水产副产物中DPA链磷脂相对丰度和分子结构
Table 2 Relative abundances and chemical structures of DPA containing phospholipids in aquatic byproducts

m/z	相对丰度/%	sn-1/sn-2			
		PC	PE	PS	PI
774.9	1.5		<i>O</i> -18:2/22:5		
778.9	1.7			14:1/22:5	
788.9	3.2		18:2/22:5		
790.9	18.7		18:1/22:5		
792.9	14.2		18:0/22:5		
793.9	2.5				16:1/22:5
815.0	1.6		20:3/22:5		
816.8	2.2		20:2/22:5		
818.9	6.6		20:1/22:5		
828.9	2.6	<i>O</i> -16:0/22:5			
840.8	3.5	16:1/22:5	22:4/22:5		
842.9	16.1	16:0/22:5		20:5/22:6	
843.6	3.7				20:4/22:5
844.8	6.7		22:2/22:5		
856.8	1.3	<i>O</i> -18:0/22:5			
868.8	7.7	18:1/22:5			
870.8	6.2	18:0/22:5			

2.4 DHA链磷脂

本方法在检测DHA链磷脂方面不同于目前常用的自上而下筛选法，即先鉴定所有磷脂分子结构，再从其中筛选含DHA链磷脂，而是采用自下而上的策略，即特异性筛查含DHA链磷脂，自动过滤非目标化合物。含DHA链磷脂经碰撞诱导解离，其sn-2位置的DHA链断裂并生成碎片离子 m/z 327，因此选定该碎片为特征离子进行PreIS扫描得图4。离子峰 m/z 840.9信号最强，相对丰度为20.8%，其结构鉴定为[PC 16:0/22:6-H]⁻和[PE 22:2/22:6-H]⁻。其后依次为 m/z 788.9 (14.5%)、 m/z 790.9 (11.1%)和 m/z 866.8 (9.6%)，结构分别为[PE 18:1/22:6-H]⁻、[PE 18:0/22:6-H]⁻和[PC 18:1/22:6-H]⁻，其余离子峰强度相对较弱，经鉴定结果见表3。水产品加工副产物中DHA磷脂种类丰富，共鉴定16种磷脂分子，部分磷脂不饱和度极高，如PS 20:5/22:6和PI 22:6/22:6，相对丰度分别为1.9%和3.6%。DHA是人体无法自身合成具有重要保健功能的脂质，本方法可一步快速筛查样品中含DHA链磷脂，为探索与发现磷脂新资源提供重要支持。

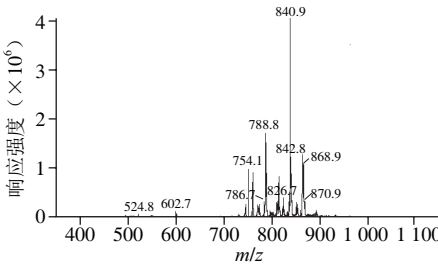


图4 水产副产物中含DHA链磷脂质谱图

Fig. 4 Mass spectrum of DHA containing phospholipids in aquatic byproducts

表3 水产副产物中DHA链磷脂相对丰度和分子结构
Table 3 Relative abundances and chemical structures of DHA containing phospholipids in aquatic byproducts

<i>m/z</i>	相对丰度/%	sn-1/sn-2			
		PC	PE	PI	PI
762.9	7.9		16:0/22:6		
763.6	2.3				14:1/22:6
776.9	1.3			14:1/22:6	
786.8	2.6		18:2/22:6		
788.9	14.5		18:1/22:6		
790.9	11.0		18:0/22:6		
812.9	2.6	14:0/22:6	20:3/22:6		
814.9	2.5				
816.9	7.1		20:1/22:6		
826.8	3.2	<i>O</i> -16:0/22:6			
840.8	20.8	16:0/22:6	22:2/22:6		
852.9	1.9	<i>O</i> -18:1/22:6		20:5/22:6	
854.8	2.6	<i>O</i> -18:0/22:6			
865.9	3.6				22:6/22:6
866.8	9.6	18:1/22:6			
868.8	6.5	18:0/22:6			

2.5 方法重复性实验结果

本实验针对每类 ω -3脂肪酸磷脂选取高低丰度各两种磷脂分子, EPA磷脂(m/z 814.9、736.8、765.8和767.8)、DPA磷脂(m/z 790.0、842.9、793.9和816.8)、DHA磷脂(m/z 840.8、788.9、763.6和854.8), 通过同1 d内对同一样品平行提取检测5份以及同一样品连续7 d每天各提取检测一次的方式, 计算日内及日间相对标准偏差, 见表4。结果表明, 所有磷脂分子相对标准偏差不高于7.3%, PreIS模式下质谱数据稳定性较好。

表4 水产副产物日内、日间相对标准偏差
Table 4 Intra-day and inter-day relative standard deviations in aquatic byproducts

项目	<i>m/z</i>													
	EPA				DPA				DHA					
	814.9	736.8	765.8	767.8	790.0	842.9	793.9	816.8	840.8	788.9	763.6	854.8		
相对标准	日内	4.6	4.3	4.2	3.7	3.9	3.6	4.1	3.8	3.2	2.8	2.4	3.3	
偏差/%	日间	7.3	7.1	6.9	6.5	6.5	6.3	7.0	6.4	6.1	5.9	5.5	6.1	

3 结 论

ω -3脂肪酸链磷脂不仅具有磷脂的生理功能, 还具有 ω -3多不饱和脂肪酸的生理功能, 比传统的游离型和甘油三酯型 ω -3脂肪酸在消化吸收和营养功效方面更佳。目前含EPA、DPA和DHA链磷脂的检测方法均为自上而下筛选法, 即先鉴定所有磷脂分子结构, 再从其中筛选目标磷脂。本方法采用针泵注射进样, 以 m/z 301、329和327为特征碎片离子峰扫描含EPA、DPA和DHA链磷脂质谱全谱图, 谱图内离子峰均为目标磷脂, 无杂质峰干扰。该方法可大大简化后期数据处理与鉴定分析, 方法稳定

可靠, 为快速筛查 ω -3脂肪酸链磷脂资源提供重要技术手段。

参考文献:

- [1] 徐雷雷, 王静凤, 柳东, 等. 二十碳五烯酸磷脂对糖尿病大鼠肾脏的保护作用机制研究[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(1): 56-61. DOI:10.3969/j.issn.1006-9577.2013.01.014.
- [2] 李阅兵, 刘承初, 谢晶, 等. ω -3脂肪酸及磷脂酰丝氨酸的益智作用研究进展[J]. 中国油脂, 2011, 36(9): 51-55.
- [3] 王萌, 王如兴. ω -3多不饱和脂肪酸对糖尿病心血管的保护作用[J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 5(10): 638-640. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2013.10.014.
- [4] 蒋汉明, 张凤珍, 翟静, 等. ω -3多不饱和脂肪酸与人类健康[J]. 预防医学论坛, 2005, 11(1): 65-69. DOI:10.3969/j.issn.1672-9153.2005.01.045.
- [5] 刘月娇, 徐雷雷, 柳东, 等. 海参磷脂型二十碳五烯酸对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠肾脏功能改善作用的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 331-334.
- [6] 肖玫, 欧志强. 深海鱼油中两种脂肪酸(EPA和DHA)的生理功效及机理的研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 522-526. DOI:10.3321/j.issn.1002-6630.2005.08.135.
- [7] STARK K D, VAN ELSWYK M E, HIGGINS M R, et al. Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults[J]. Progress in Lipid Research, 2016, 63: 132-152. DOI:10.1016/j.plipres.2016.05.001.
- [8] DAVIDSON M H. Omega-3 fatty acids: new insights into the pharmacology and biology of docosahexaenoic acid, docosapentaenoic acid, and eicosapentaenoic acid[J]. Current Opinion in Lipidology, 2013, 24(6): 467-474. DOI:10.1097/mol.000000000000019.
- [9] 巫小丹, 黎紫含, 张珊珊, 等. 二十二碳五烯酸代谢和功能研究进展[J]. 中国油脂, 2016, 41(6): 44-47. DOI:10.3969/j.issn.1003-7969.2016.06.011.
- [10] 汪志明, 余超, 陆姝欢, 等. DHA/EPA在心血管疾病防治中的重要作用[J]. 中国食品添加剂, 2014(9): 164-170. DOI:10.3969/j.issn.1006-2513.2014.09.018.
- [11] 杨贤庆, 吕军伟, 林婉玲, 等. DHA功能特性以及抗氧化性研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 390-394. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2014.02.069.
- [12] 代荣阳, 陈润, 周志远. DHA和EPA的抗炎及免疫调节功能[J]. 泸州医学院学报, 2004, 27(1): 83-84. DOI:10.3969/j.issn.1000-2669.2004.01.038.
- [13] EIDE I A, JENSSEN T, HARTMANN A, et al. The association between marine *n*-3 polyunsaturated fatty acid levels and survival after renal transplantation[J]. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 2015, 10(7): 1246-1256. DOI:10.2215/CJN.11931214.
- [14] 任双, 宋慧, 耿志明, 等. 正相高效液相色谱法测定腌腊肉制品中磷脂酰胆碱氢过氧化物的含量[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 154-159. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614027.
- [15] 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组学研究[J]. 食品科学, 2017, 38(2): 154-158. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201702025.
- [16] LANEKOFF I, THOMAS M, LASKIN J. Shotgun approach for quantitative imaging of phospholipids using nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(3): 1872-1880. DOI:10.1021/ac403931r.
- [17] JIN R Y, LI L Q, FENG J L, et al. Zwitterionic hydrophilic interaction solid-phase extraction and multi-dimensional mass

- spectrometry for shotgun lipidomic study of *Hypophthalmichthys nobilis*[J]. Food Chemistry, 2017, 216(1): 347-354. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.08.074.
- [18] 沈清, 冯俊丽, 金仁耀, 等. MALDI-TOFMS磷脂组学快速分析三文鱼肌肉组织[J]. 质谱学报, 2017, 38(2): 211-216. DOI:10.7538/zpxb.youxian.2016.0071.
- [19] 成琳, 陶冠军, 王淼, 等. 超高效液相色谱-质谱联用法快速测定豆酱中PC、LPC和GPC的含量[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 287-289.
- [20] 王斌, 陈意光, 温少楷, 等. 保健胶囊中磷脂酰胆碱的UPLC检测及质谱确证[J]. 现代食品科技, 2015(7): 336-341. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.052.
- [21] SHEN Q, DONG W, YANG M Y, et al. Lipidomic study of olive fruit and oil using TiO₂ nanoparticle based matrix solid-phase dispersion and MALDI-TOF/MS[J]. Food Research International, 2013, 54: 2054-2061. DOI:10.1016/j.foodres.2013.10.001.
- [22] SHEN Q, DONG W, YANG M Y, et al. Lipidomic fingerprint of almonds (*Prunus dulcis* L. cv nonpareil) using TiO₂ nanoparticle based matrix solid-phase dispersion and MALDI-TOF/MS and its potential in geographical origin verification[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 7739-7748. DOI:10.1021/jf4016448.
- [23] SHEN Q, YANG M Y, LI L Q, et al. Graphene/TiO₂ 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.
- [24] 李启亮, 徐桦巍, 宋文琪. 串联质谱仪不同扫描方式对检测美国CDC酰基肉碱定值质控纸片检测结果的影响[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(4): 90-93. DOI:10.3969/j.issn.1671-7414.2009.04.040.
- [25] DASENAKI M E, THOMAIDIS N S. Multi-residue determination of seventeen sulfonamides and five tetracyclines in fish tissue using a multi-stage LC-ESI-MS/MS approach based on advanced mass spectrometric techniques[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 672: 93-102. DOI:10.1016/j.aca.2010.04.034.
- [26] HAN X, YANG K, GROSS R W. Multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics and novel strategies for lipidomic analyses[J]. Mass Spectrometry Reviews, 2011, 13: 134-178. DOI:10.1002/mas.20342.
- [27] SHEN Q, WANG Y 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/jf303181.
- [28] HUANG K, HUANG L, VAN BREEMEN R B. Detection of reactive metabolites using isotope-labeled glutathione trapping and simultaneous neutral loss and precursor ion scanning with ultra-high-pressure liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(7): 3646-3654. DOI:10.1021/ac504737x.
- [29] 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(6): 893-898. DOI:10.3724/SP.J.1096.2012.11027.
- [30] ALMSTRAND A C, JOHNSON C, MURPHY R C. Evidence for an *N*-methyl transfer reaction in phosphatidylcholines with a terminal aldehyde during negative electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(17): 5045-5052. DOI:10.1007/s00216-015-8555-z.