

doi: 10.12452/j.fxcxb.25052602

基于微阵列等电聚焦电泳与曼哈顿算法的动物源性饲料筛查研究

卢秀楠¹, 田佑吏², 刘伟文², 张强², 许旭^{1*}, 曹成喜^{2*}

(1. 上海应用技术大学 化工与能源技术学部, 上海 201418; 2. 上海交通大学 自动化与智能感知学院, 上海 200240)

摘要: 基于微阵列等电聚焦电泳(mIEF)对动物源性饲料原料进行筛查研究。首先, 优化了饲料样本的mIEF流程, 包含样本前处理、水化上样、mIEF分离以及在线成像等, 解决了饲料样本由于成分复杂以及高盐环境带来的干扰。其次, 通过重复实验获取15种动物源性饲料的375个mIEF特征图谱, 构建了基于mIEF数据的饲料指纹图谱数据库。最后, 结合曼哈顿距离相似度算法对未知饲料样本进行比对分析, 实际样本鉴别准确率达84.3%, 验证了方法的可行性。相比传统饲料鉴定方法, mIEF技术结合曼哈顿算法具有高通量、高分辨率、操作简便且成本低的优势, 为饲料溯源与质量安全控制提供了新路径。

关键词: 等电聚焦电泳; 饲料原料; 饲料筛查; 曼哈顿距离

中图分类号: O657.7; S816.48 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)01-0040-10

Screening of Animal-derived Feed Materials via Microarray Isoelectric Focusing and Manhattan Distance Similarity Algorithm

LU Xiu-nan¹, TIAN You-li², LIU Wei-wen², ZHANG Qiang², XU Xu^{1*}, CAO Cheng-xi^{2*}

(1. Faculty of Chemical Engineering and Energy Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China; 2. School of Automation and Intelligent Sensing, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: This paper conducts a study on the identification of animal-derived feed materials based on microarray isoelectric focusing(mIEF). At first, a series of optimizations were carried out on the whole process of mIEF for screening of feed materials, which included sample pretreatment, rehydration loading, mIEF separation, and online imaging successfully solving the problems caused by the complex composition and high-salt content of feed materials. Secondly, through repeated experiments, 375 mIEF patterns of 15 kinds of animal-derived feeds were obtained, and a feed pattern database based on mIEF data was constructed for further similarity analysis. Finally, the similarity algorithm of Manhattan distance was selected for the comparison and analysis of unknown feed samples, the screening accuracy of actual samples was up to 84.3%, further verifying the technical feasibility of this method. Compared to conventional methods for feed screening, the mIEF technology integrated with the Manhattan algorithm offers advantages of high-throughput, high-resolution, simplified operation, and lower costs, providing a novel approach for feed traceability and quality and safety control.

Key words: isoelectric focusing; feed materials; feed screening; Manhattan distance

饲料作为畜牧业发展的基石, 在动物养殖过程中起着不可或缺的作用。饲料中动物源性饲料原料的溯源在保障动物饲料的安全性方面非常重要^[1-2]。例如, 牛海绵状脑病会导致牛群大量病死, 如果使用病死的牛肉骨作为饲料原料, 制成动物肉粉和骨粉用于同类动物牛群养殖, 将带来广泛的潜在疾病传播^[3-4], 对畜牧业造成重大打击^[5]。因此, 用于动物饲料原料的产品必须严格把控, 禁止使用动物源

收稿日期: 2025-05-26; **修回日期:** 2025-06-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(22104082, 31727801); 国家资助博士后研究人员计划(GZC20241027)

* **通讯作者:** 许旭, 博士, 教授, 研究方向: 药物分析与质量控制, E-mail: xuxu@sit.edu.cn

曹成喜, 博士, 教授, 研究方向: POCT诊断技术、糖尿病地贫诊断技术、自由流电泳技术、界面电泳与传感, E-mail: cxcxiao@sjtu.edu.cn

网络首发日期: 2025-08-15

性饲料喂养同类动物^[6]。

已有多种方法用于动物源性饲料原料的鉴定,包括显微检测法^[7-8]、感官鉴别^[9]、基因检测^[10]、光谱分析^[11-12]、色谱技术^[13-16]以及免疫学方法^[17]等。这些方法各有优势,如显微检测法已被欧盟法规认可^[7-8];基因检测法中聚合酶链式反应(PCR)方法准确可靠。然而,感官鉴别法高度依赖检测人员经验,仅能实现骨颗粒、羽毛等宏观形态的初步分类;PCR法^[18-20]需针对特定物种设计引物,普适性弱;光谱与色谱法仪器成本高且样品前处理复杂。

微阵列等电聚焦电泳(mIEF)以固定化pH梯度(IPG)微胶条为基质,基于蛋白质等电点(pI)在电场中实现蛋白质的分离。相比传统的等电聚焦电泳^[21]方法,其样品消耗低、通量高和稳定性好,更适合大规模样品检测。该方法近年来发展迅速,已经成功应用于糖尿病诊断、地中海贫血诊断和肉制品的质量控制及溯源^[22-25]。然而,现有的mIEF方法主要适用于成分简单(蛋白主成分为血红蛋白或肌红蛋白)且含盐量较低($< 10 \text{ mmol/L}$)的样本,无法用于骨粉和肉粉等饲料样本,需要针对饲料的复杂工艺和高盐环境进行针对性研究和优化。

针对以上问题,本文提出了一种基于mIEF的简便高效且成本低廉的动物源性饲料原料溯源鉴别方法(图1)。首先提取动物源性饲料原料中的可溶性蛋白进行mIEF电泳检测,并采用低压脱盐策略减少pH值梯度不稳定^[26]对mIEF的影响,随后使用动态扫描成像系统自动获取饲料原料样本的mIEF图谱。每种饲料通过重复实验获取25个图谱数据,以15种饲料原料图谱总计225个mIEF指纹图谱建立饲料指纹图谱数据库。进一步结合相似度算法,将未知饲料原料样本的mIEF图谱数据信息与数据库逐一比对,以实现准确、快速的未知样本鉴别。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

本研究使用的mIEF系统、IPG微型胶条($30 \text{ mm} \times 600 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$)和pH 3.0~10.0载体两性电解质(CAs)均购自上海伯楷安生物科技有限公司。ML204电子天平(梅特勒托利多,瑞士)。BCA蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。牛血清白蛋白(BSA)、氢氧化钠($>99\%$)、磷酸(85%)、精氨酸($\geq 98\%$)、亚氨基二乙酸($>99\%$)均购自上海泰坦科技股份有限公司。使用超纯水系统($18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$,美国默克密理博公司)制备去离子水。

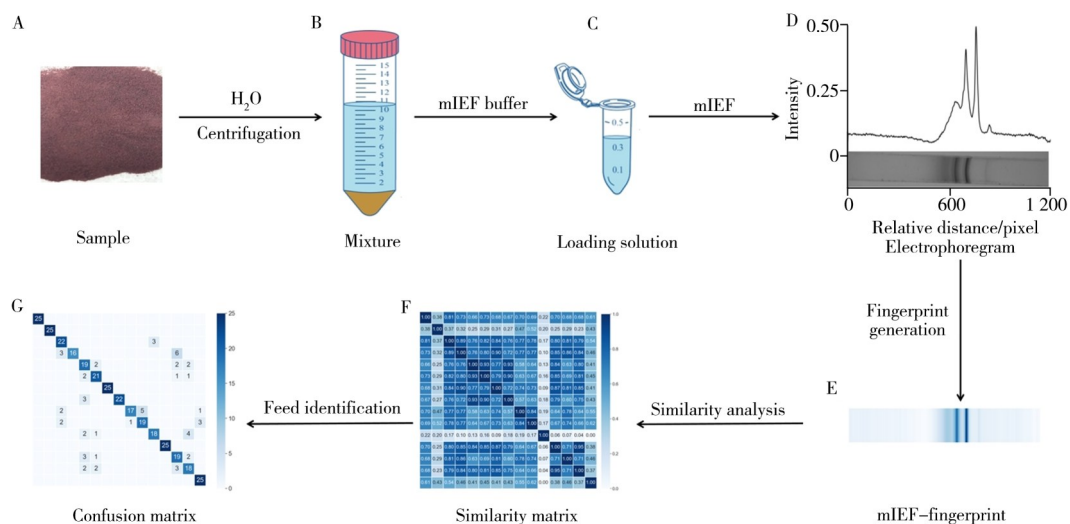


图1 动物源性饲料原料鉴别的整体实验步骤与流程图

Fig. 1 Overall procedure and flowchart for the identification of animal-derived feed materials

A. weigh feed samples and mix with ultrapure water to extract feed proteins via vortexing; B. centrifuge to collect the supernatant; C. prepare the mIEF loading solution and perform mIEF; D. generate electropherogram results; E. generate a fingerprint spectrum; F. plot a similarity matrix; G. confusion matrix for unknown samples(A: 称量饲料样品并与去离子水混合,通过涡旋提取饲料蛋白质;B: 收集离心后的上清液;C: 制备mIEF上样溶液并进行mIEF;D: 生成mIEF电泳图;E: 生成指纹图谱;F: 绘制相似度矩阵;G: 未知样本的混淆矩阵)

1.2 蛋白样品准备

动物源性饲料原料包括：(1)不同禽类来源：鸡肝粉(CLM)、鸡血粉(CBM-i)、鸡骨粉(CBM-ii)和鸡肉粉(CM)；(2)不同牛类来源：牛骨粉(BBM)和牛骨肉粉(BMBM)；(3)不同鱼类来源：普通鱼粉(FM)、白鱼粉(WFM)和鱼排粉(FSM)；(4)不同猪类来源：猪肉粉(PM)、猪骨粉(PBM-i)、猪血粉(PBM-ii)和猪血浆粉(PPM)；(5)不同处理方式羽毛来源：水解羽毛粉(HFM)和酶解羽毛粉(EHFM)。所有饲料均由山东新希望六和集团有限公司提供，使用前均密封冷藏(-20℃)保存。

动物源性饲料原料水溶性蛋白样本的制备步骤如下：称取1 g饲料原料样本于15 mL离心管中(图1A)，加入10 mL去离子水，并置于涡旋振荡仪上振荡3 min以提取样本中的水溶性蛋白。随后于4℃、5 000 r/min下离心10 min(图1B)，并在离心结束后吸取上清液，经滤膜(0.45 μm)过滤后作为蛋白溶液样本，置于4℃冰箱保存备用。

1.3 前处理条件优化

1.3.1 蛋白最佳提取时间优化 以猪血粉为例，称取1 g饲料原料样本置于15 mL离心管中，加入10 mL去离子水，使用涡旋振荡仪进行提取。分别在30、60、90、120、150、180、210 s时间点，吸取20 μL上清液按BCA法测定蛋白浓度。

1.3.2 IPG胶条吸水体积优化 将3根IPG胶条完全浸没于去离子水中，室温静置使其吸水溶胀。每间隔5 min称重，通过计算吸水前后的质量差，确定单根IPG胶条的吸水量。

1.3.3 考察稳定剂对聚焦结果的影响 取两组相同的猪血粉溶液，其中一组加入稳定剂(2 μL的500 mmol/L精氨酸和4 μL的200 mmol/L亚氨基二乙酸)，另一组不添加。分别制成上样溶液后进行mIEF。

1.4 微阵列等电聚焦电泳

取200 μL过滤液与4.44 μL pH 3.0~10.0的CAs、2 μL的500 mmol/L精氨酸、4 μL的200 mmol/L亚氨基二乙酸制成上样溶液(图1C)。其中CAs用于pH值梯度的建立，精氨酸与亚氨基二乙酸分别为阴、阳极稳定剂，可在一定时间内保持pH值梯度的稳定。随后各取20 μL上样溶液置于水化槽中，将IPG胶条覆于样本上，室温下水化30 min，最后转移IPG胶条至电泳槽中，倒入4 mL矿物油覆盖在胶条表面，以防止电泳过程中产生过多的焦耳热。

由于饲料原料样本中的盐分较高且IEF对高盐样本不耐受，故在实验初始阶段采用两步低压除盐程序：25 V(300 s)和50 V(600 s)，随后进行渐进梯度升压：100 V(400 s)、200 V(400 s)、500 V(400 s)以及700 V(600 s)，最终完成等电聚焦电泳。单批次样品电泳耗时合计45 min，可实现12~24个样品并行的电泳分离。设备在电泳运行结束前2 min，启动动态扫描成像系统，对每根微型胶条拍摄一张8位灰度图像(图1D)。

1.5 指纹图谱生成

将上述mIEF设备所获取的8位灰度图像转为饲料指纹图谱：(1)获取灰度图像沿电场方向的1D投影信号；(2)进行基线扣除以减少光源不均一和背景噪音的影响，实现Savitzky-Golay滤波以平滑数据；(3)将1D色谱数据归一化至[0, 255]区间，同时进行维度扩展，而后线性映射到渐变蓝色色系，使图谱彩色2D化，得到饲料指纹图谱。

1.6 相似度分析

对mIEF后得到的电泳图进行处理，通过泳道定位、基线校准、维度拓展(平铺)和彩色映射步骤，生成指纹图谱(图1E)。以15种饲料建立标准指纹图谱数据库，并对数据库中的指纹图谱进行两两相似度分析，得到相似度矩阵(图1F)。对于未知样品，基于前述过程获取该样品指纹图谱后，扫描标准数据库进行相似度比较，以相似度最高的图谱对应饲料原料作为预测分类，从而实现未知样品的溯源鉴定。375个测试样品的分类预测结果以混淆矩阵形式可视化呈现(图1G)。

1.7 蛋白浓度测定

(1)按照BCA试剂盒所提供的步骤说明，配制标准蛋白溶液：取1 mL的5 mg/mL BSA标准蛋白溶液，采用梯度稀释法制备质量浓度分别为2、1.5、1、0.75、0.5、0.25、0.125、0.025 mg/mL的溶液，依次标记为S1~S8。

(2)BCA 工作液配制：BCA 工作液由试剂 A 和试剂 B 组成。使用前按试剂 A：试剂 B=50：1(体积比)的比例现配。

(3)加样：吸取 20 μL 离心后的上清液(图 1B)，重复 3 次加入 96 孔板；同样，取 20 μL 各梯度 BSA 标准蛋白溶液 S1~S8 依次加入孔板。随后每孔添加 200 μL 工作液，轻拍 96 孔板震破气泡。

(4)孵育：将 96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育 30 min。

(5)检测与计算：孵育结束后，将酶标仪波长调至 562 nm，测定各孔溶液吸光度。以 BSA 标准蛋白溶液浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线，根据待测样本吸光度计算其浓度。

2 结果与讨论

2.1 实验条件优化

对实验条件进行优化，以确定蛋白最佳提取时间、IPG 胶条最大吸水体积并考察稳定剂对实验的影响，分析实验中电流电压的变化规律。

如图 2A 所示，随着提取时间的增加，蛋白浓度在起始 60 s 内上升较快，180 s 后趋于稳定。因此，综合考虑提取效率与时间成本，选择 180 s 作为最佳涡旋提取时间。以 3 根 IPG 胶条的平均质量增长量计算吸水体积。图 2B 结果显示，随着时间推移，吸水速率呈现由快至逐渐放缓的趋势，在第 30 min 左右吸收约 20 μL 水后趋于平衡，因此采用 20 μL 作为上样体积。图 2C 展示了稳定剂对 mIEF 实验聚焦结果的影响。图中“+”表示加入稳定剂后相同时间间隔内条带的迁移变化，“-”表示未添加稳定剂时相同时间间隔内条带的迁移变化。结果显示，未添加稳定剂时，随着时间延长，条带向阴极漂移的趋势更为显著，pH 值梯度相对更不稳定，将对样品测定产生干扰。因此，本研究中添加稳定剂。

为减轻未知饲料原料样本中高盐水平的影响，本研究采用在线低压脱盐法，通过施加较长时间的低电压(25 V 300 s、50 V 600 s)脱去样品中的盐分。如图 2D 所示，在初始低压除盐阶段，电流随时间显著下降，可确保后续梯度升压前达到足够低的电流水平，以保证 pH 值梯度稳定。随后采用逐步升压程序完成 mIEF 分离过程。

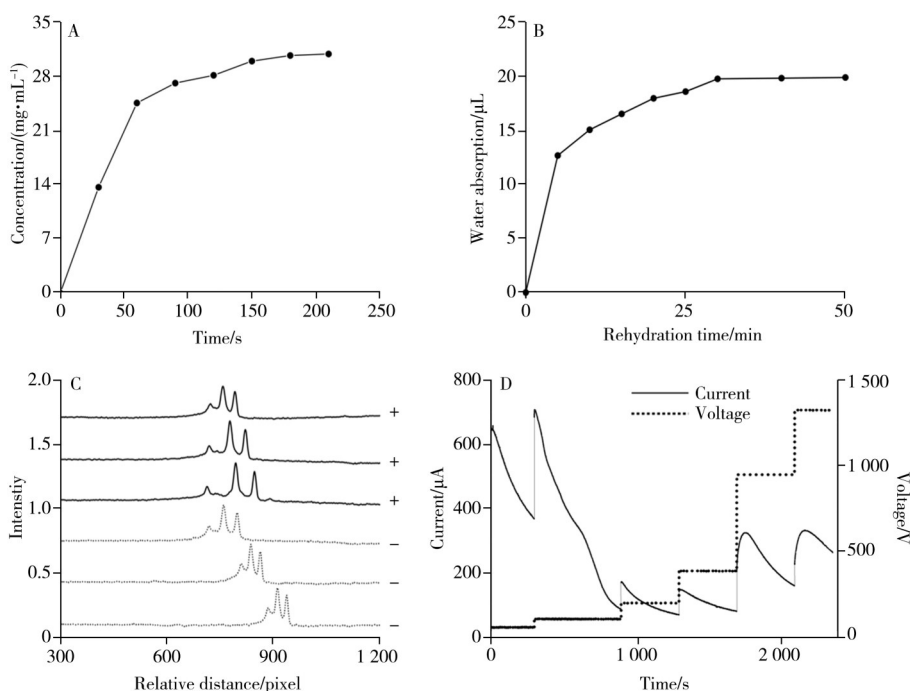


图2 实验条件的优化

Fig. 2 Optimization of experimental conditions

A. the optimal extraction time; B. the maximum water absorption volume of IPG strip; C. the influence of stabilizers; D. gradient pressure increase

2.2 mIEF 电泳结果

在实时监测模式下，mIEF可在设定间隔时间内连续采集电泳图和显示实时转换的 mIEF 数据。以

猪血粉样本为例,图3为第10、20、25、35、40 min时其在微胶条中的聚焦过程。电泳运行10 min后,阳极附近出现单条清晰条带,阴极附近则为弥散的团聚信号。20 min后两端的条带均向微胶条中心移动。第25 min时,条带信号集中在微胶条中心,在约40 min时,3根主条带聚焦在各自的等电点,实现样本分离。

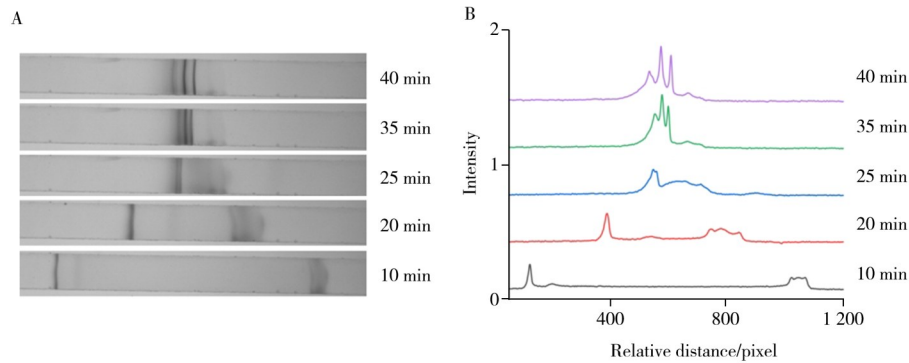


图3 猪血粉在不同时间内的电泳迁移变化

Fig. 3 The changes in electrophoretic migration of porcine blood meal over different time periods

A. mIEF electropherogram at different time; B. the electropherograms corresponding to the mIEF patterns

本研究选取15种不同动物源性饲料原料进行方法学验证。图4显示了15种样品的电泳图及mIEF图谱。白鱼粉(图4H)在色谱图中的信号强度呈现波动变化,与其mIEF电泳谱图的信号相对应。鱼排粉(图4I)在相对距离约500像素处出现明显强度峰值。水解羽毛粉(图4L)和酶解羽毛粉(图4M)的mIEF电泳条带具有相似性,但转化为色谱图后两者的信号幅值在相对距离500像素处存在显著差异,酶解羽毛粉在该处的强度显著高于水解羽毛粉。

此外,猪血浆粉(图4K)和猪血粉(图4O)的mIEF电泳条带颜色最深,且色谱图信号最强,这是由于这两个原料样品中的蛋白组成较为复杂,血浆蛋白粉含白蛋白、纤维蛋白等多种功能蛋白,猪血粉则以血红蛋白为主,因此在聚焦过程中更易产生丰富的条带分布,这种条带分布在色谱图中表现为多个信号峰。由此可见,不同饲料原料呈现的特征性色谱峰图,可用于饲料原料的筛查和溯源。

2.3 分析性能

以猪血粉为例对方法的重复性进行验证,如图5所示,在5张电泳图中,均有两条明显的灰度条带,通过计算色谱峰图中猪血粉最高峰的峰面积,得到其相对标准偏差(RSD)为3.2%。表明基于mIEF的饲料原料检测方法重复性良好。

2.4 饲料原料样品相似性比对

将上述15种动物源性饲料进行重复试验,每类饲料原料获取15个图谱数据,以每类指纹图谱的平均值作为该类饲料图谱的标准数据库,以减少提取效率、样品差异等带来的信号偏差影响。将15类饲料指纹图谱作为标准数据库,并引入相似度算法进行饲料原料样品的相似性比对,选择的6种算法分别为余弦距离^[27]、皮尔逊相关系数^[28]、欧氏距离^[29]、杰卡德距离^[30]、布雷柯西距离^[31]和曼哈顿距离^[32]。

为方便比较,将上述距离或相似度公式都归一化至[0, 1]区间,0表示完全不相似,1表示完全一致。对6种算法进行比较,首先利用相似度矩阵直观比较不同算法间的差异性,并选取平均相似度、相似度方差和分类准确率3个指标用于量化算法性能,计算公式如下:

$$\bar{S} = \frac{\sum_{i \neq j} S_{ij}}{n(n-1)} \quad (1)$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i \neq j} (S_{ij} - \bar{S})^2}{n(n-1) - 1}} \quad (2)$$

$$\text{Accuracy} = \frac{n_{\text{correct}}}{n_t} \quad (3)$$

其中, n 表示样本数量, i 和 j 分别取 1 到 n 的值, 且 $i \neq j$, S_{ij} 表示两两组合样本 (i, j) 间的相似度; $\bar{S}$ 为平均相似度, 可反映不同饲料间的平均相似度, 理论上越低越好; SD 为相似度方差, 可量化不同饲料间的相似度方差, 理论上越低越好; $n_{correct}$ 为相似度算法中被分类准确的样品个数, n_t 为用于测试的样品总数, Accuracy 为溯源分类准确率, 反映算法对 mIEF 指纹图谱的鉴定准确性, 越高越好。

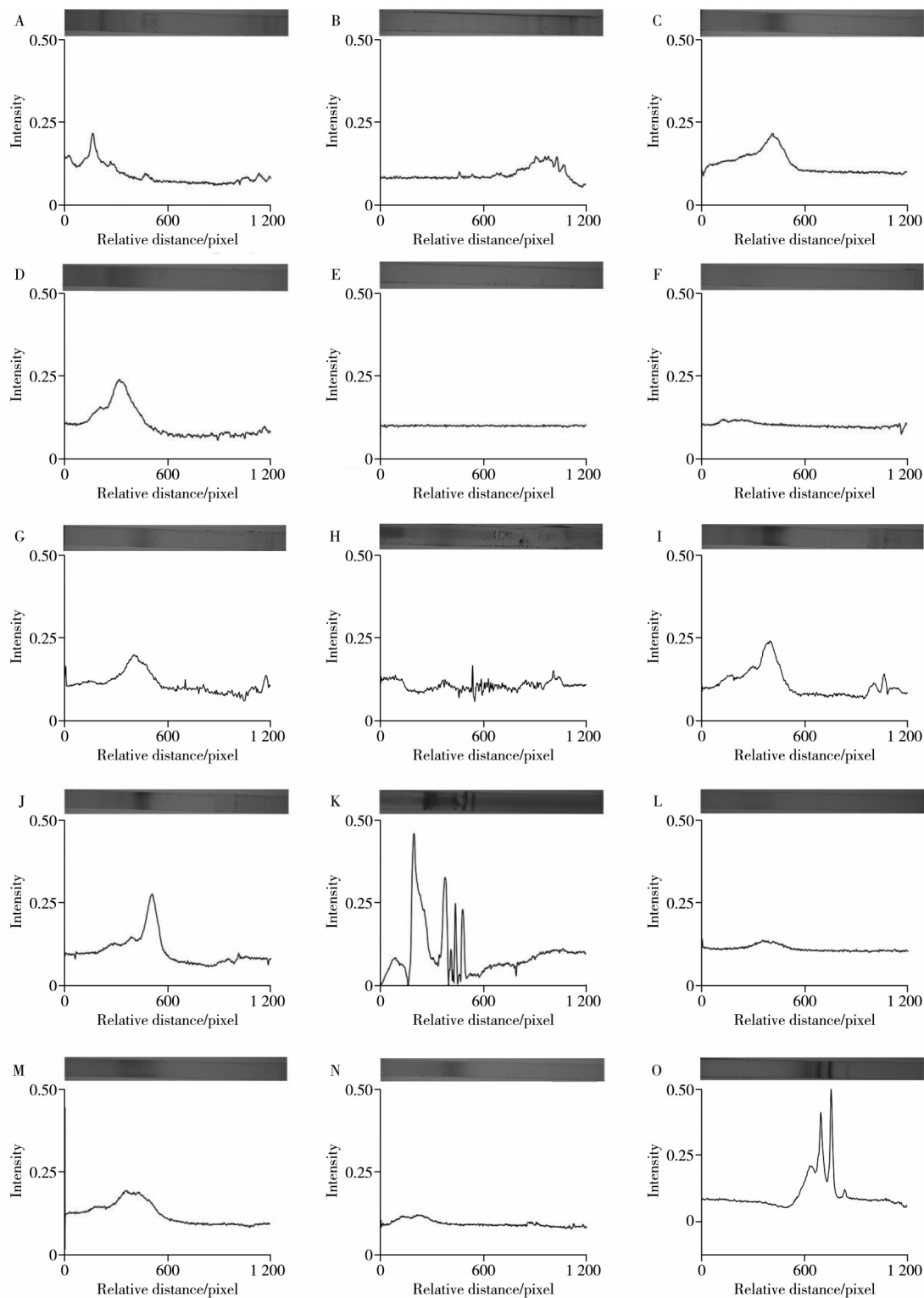


图 4 15 种动物源性饲料原料的 mIEF 电泳图

Fig. 4 The mIEF electrophoresis patterns of 15 kinds of animal-derived feed raw materials

A. CLM; B. CBM-i; C. CBM-ii; D. CM; E. BBM; F. BMBM; G. FM; H. WFM; I. FSM; J. PM; K. PPM; L. HFM;
M. EHFM; N. PBM-i; O. PBM-ii

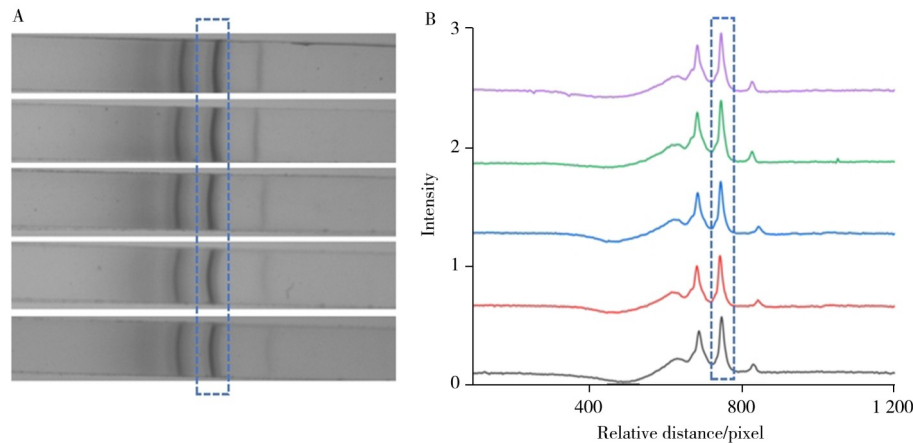


图5 同批次5次重复性验证实验的电泳图(A)及对应色谱图(B)

Fig. 5 Repeatability of electropherograms(A) and corresponding chromatograms(B) from 5 repeated verification experiments of the same batch

表1结果显示,曼哈顿距离显示出相对较低的平均相似度和相对较高的相似度方差,以及最高的鉴别准确度,因此,本研究采用曼哈顿距离算法。值得注意的是,杰卡德相似度矩阵呈现出明显的两极分化特征:数据库对角线元素(相同饲料样本间)相似度均为1,而非对角线元素(不同饲料样本间)相似度都为0。然而基于杰卡德相似度的分类准确率仅为36.6%,显著低于预期。此结果归因如下:由于杰卡德相似度作为基于特征存在性的度量,其计算过程要求对连续谱数据进行二值化转换(存在/不存在),导致mIEF饲料图谱中关键的灰度梯度信息丢失,无法有效捕捉实际生物样本间的渐进相似性,因而在连续型电泳数据上表现欠佳。进一步测试显示,单样本与数据库的曼哈顿距离比对平均耗时约10 ms(Python 3.10, Intel i5-12600KF),数据分析效率较高。

表1 基于15种动物源性饲料原料的6种相似性算法比较结果

Table 1 Comparison results of six similarity algorithms based on 15 animal-derived feed materials

Algorithm	Similarity matrix	$\bar{S}$	SD	Accuracy/%
Cosine distance		0.678	0.215	43.3
Pearson correlation coefficient		0.613	0.335	66.7
Euclidean distance		0.632	0.240	78.3
Jaccard distance		0.003	0.004	36.6
Manhattan distance		0.578	0.250	84.3
Bray Curtis distance		0.652	0.235	78.3

图6为由曼哈顿距离相似度算法获得的相似矩阵,图中方格的颜色越深表明越相似,各个方格之间的颜色深浅差异越大,表明该算法越能将不同的饲料原料区分开。如图所示,在对角线的方格为同一种饲料原料样品,颜色最深,相似度为1,证明两者之间完全一致;其他方格表示非同种的两种饲料原料之间的相似度,如CM和CBM-i的相似度为0.32;PPM与PBM-i的相似度为0.07。将饲料原料图谱与曼哈顿距离相似度结合,可精确量化样品的相似度,减少人工误判,有利于对动物饲料原料的精准溯源分类。

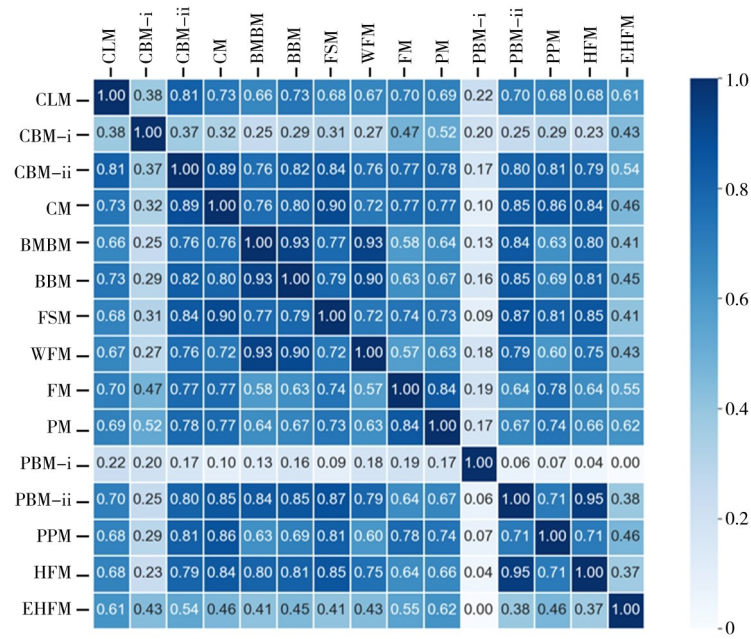


图6 利用曼哈顿距离得到的15种动物源性饲料原料两两之间的相似度矩阵

Fig. 6 The similarity matrix between every two of the 15 kinds of animal-derived feed materials obtained by using the Manhattan distance

对于未知样品，利用曼哈顿距离将重新获取的新批次的375个15类饲料原料(每类25个)样本进行分类鉴别，其鉴别混淆矩阵如图7所示。每一行代表实际类别，每一列代表预测类别，对角线元素为正确分类的数量。从图7中可以发现CLM、CBM-i、FSM、PBM-ii、EHFM的对角线元素均为25，表明这5种饲料原料的25个实验样本均被正确分类，曼哈顿距离对此类别的区分鉴别能力很强。然而，以CBM-ii为例，实际25个样本，其中22个正确分类，3个被错误分为PBM-i，说明CBM-ii存在错误分类。综上，曼哈顿距离用于15种实际饲料原料鉴别的准确率为84.3%(316/375)，证明了mIEF指纹图谱结合曼哈顿距离进行饲料溯源与鉴别的可行性。

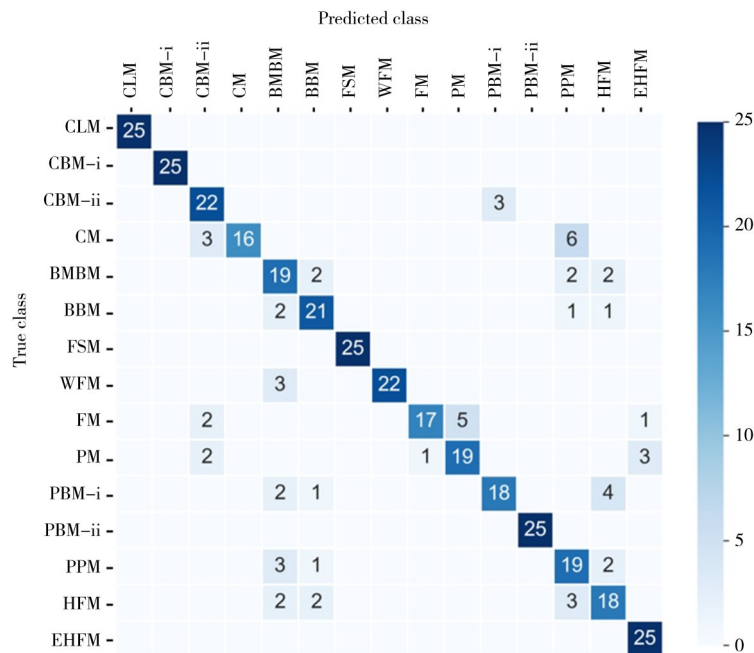


图7 15类实际饲料原料样本分类结果混淆矩阵可视化图

Fig. 7 Visualization chart of the confusion matrix for the classification results of 15 types of actual feed material samples

若不考虑信号相对较弱较相似的饲料图谱(包括 CM、BMBM、BBM、FM、PBM-i 和 HFM), 其余 9 种饲料的鉴别准确度为 92.0%(207/225)。造成准确率变化的原因可能是所剔除的 6 种图谱相似性较高且数据库数量不足。后续研究中, 将通过获取更多生产企业、多批次的饲料原料样本, 进一步扩充数据库; 并引入更多特征(如样品盐浓度或样品起始电流)以计算更多维度的样品间相似性, 改善溯源和筛查准确性。

2.5 讨论

在饲料筛查领域, 不同检测方法各有优势与局限性。显微检测法^[33], 仅能根据特殊的物理结构进行判别, 适用于具有明显形态特征的样品, 应用范围有限。PCR^[34]灵敏度较高, 通常需要复杂的引物设计和较高的检测环境要求, 容易出现假阳和假阴结果。质谱法^[35]能够提供高精度的成分分析, 但其设备成本高昂, 且样品前处理复杂。高效液相色谱法(HPLC)^[36]具有较高的分离能力和重现性, 但分析耗时较长, 且对流动相和色谱柱的要求较高, 运行和维护成本较高。傅里叶红外光谱法^[37]能够快速获取样品的分子结构信息, 但其前处理步骤繁琐, 且易受基质干扰, 影响检测准确性。

相比之下, 本研究建立的 mIEF 方法具有以下显著优势: 其一, 可对含颗粒骨粉及普通肉粉实现特征图谱分析, 适用性更广; 其二, 在常规实验室条件下即可完成检测, 对环境要求较低; 其三, 具有高通量检测特性, 单批次可在 45 min 内并行分离分析 12~24 个样本; 其四, 本方法的样品前处理步骤简便, 完整前处理时间在 15 min 以内。综上, 本方法具有电泳分离聚焦快速(平均单样本 2~4 min)、数据分析高效(单个电泳数据解析时间约 10 ms)、检测成本低廉(单样品 <30 元)等突出优点, 在动物饲料筛查中展现出良好的应用前景。

但不可否认的是, 本方法在实际饲料检测中也存在局限性。第一, 数据库覆盖不足。饲料指纹图谱收集的广度与深度不够, 无法识别库外原料, 且部分相似图谱(如 CM、BMBM 等)的鉴别准确率(84.3%)仍有提升空间。未来需扩充多来源、多批次样本数据, 并引入多维特征(如盐浓度、起始电流)优化相似性计算。第二, 设备便携性限制。现有 mIEF 设备(尺寸 495 mm×515 mm×430 mm, 重 25 kg)难以满足现场即时检测需求。未来将致力于设备微型化, 并探索与移动终端(如手机)集成, 提升方法时效性。

3 结论

本研究针对动物源性饲料原料的溯源需求, 首次构建了一种基于 mIEF 的高通量动物源性饲料原料筛查方法。该方法通过涡旋蛋白提取、水化上样、mIEF 结合动态扫描成像, 收集了 15 种饲料原料图谱并以此建立饲料的 mIEF 特征图谱数据库。依据所建立数据库, 结合曼哈顿距离, 成功实现了未知样本的精准鉴别。相较于现有检测方法, 本方法具有普适性强、样本前处理简单以及成本低廉的优势, 并具有良好的稳定性和重复性。在实际应用方面, 数字化图谱数据库的建立, 提升了饲料原料筛查与溯源的效率, 有利于饲料配方合规性与安全性的全程管控和动物源性饲料原料的全链条溯源。

参考文献:

- [1] Kleter G, Mcfarland S, Bach A, Bernabucci U, Bikker P, Busani L, Kok E, Kostov K, Nadal A, Pla M, Bonchi R, Terre M, Einspanier R. *Food Chem. Toxicol.*, **2018**, 117: 66–78.
- [2] Ye H P, Yang J, Xiao G S, Zhao Y, Li Z M, Bai W D, Zeng X F, Dong H. *Food Chem.*, **2023**, 402: 134216.
- [3] Olech M. *Int. J. Mol. Sci.*, **2023**, 24(8): 7135.
- [4] Okada H, Iwamaru Y, Imamura M, Miyazawa K, Matsuura Y, Masujin K, Murayama Y, Yokoyama T. *Emerg. Infect. Dis.*, **2017**, 23(2): 284.
- [5] Jeong B J, Kim S H, Yang K E, Kim S, Choi J S. *Sens. Actuators B*, **2025**, 424: 136755.
- [6] Elghandour M M Y, Tan Z L, Abu Hafsa S H, Adegbeye M J, Greiner R, Ugbogu E A, Cedillo Monroy J, Salem A Z M. *J. Appl. Microbiol.*, **2020**, 128(3): 658–674.
- [7] Woodgate S L, Wilkinson R G. *Ann. Appl. Biol.*, **2021**, 178(3): 430–441.
- [8] Veys P, Baeten V. *Food Addit. Contam.*, **2010**, 27(7): 926–934.
- [9] Hao M, Zhang M Y, Tian H Q, Sun J Y. *Agriculture*, **2024**, 14(9): 1484.
- [10] Fraiture M A, Deckers M, Papazova N, Roosens N H C. *Food Control*, **2020**, 108: 106873.
- [11] Gao F, Xu L Z, Zhang Y J, Yang Z L, Han L J, Liu X. *Food Chem.*, **2018**, 240: 989–996.

- [12] Shi G T, Han L J, Yang Z L, Liu X. *Spectrosc. Spectral Anal.* (石光涛, 韩鲁佳, 杨增玲, 刘贤. 光谱学与光谱分析), **2009**, 29(2): 362–366.
- [13] Herpin L, Bichon E, Rambaud L, Monteau F, Bizec B L. *J. Chromatogr. B*, **2018**, 1086: 130–137.
- [14] Wang W L, Lin X X, Liu Z N, Lin Y Y, Cui Z F, Ding C H, Wan K. *J. Instrum. Anal.* (王威利, 林雪贤, 刘振妮, 林奕云, 崔泽锋, 丁晨红, 万凯. 分析测试学报), **2025**, 44(4): 652–659.
- [15] Wang B, Zhang J, Gong S S, Zhang H R, Xu T, Chen S S, Wu J P, Yan F. *J. Instrum. Anal.* (王博, 张婧, 贡松松, 张浩然, 徐汀, 陈思思, 吴剑平, 严凤. 分析测试学报), **2022**, 41(12): 1779–1784.
- [16] Gong L, Luan F T, Wen T R, Chen M, Deng B W, Zhang Z J, Wei R C, Wang R. *J. Instrum. Anal.* (龚兰, 栾枫婷, 温天锐, 陈明, 邓博文, 张泽璟, 魏瑞成, 王冉. 分析测试学报), **2020**, 39(7): 874–880.
- [17] Xie M C, Yang J Y, Li R, Xiao Z L, Wang H, Xu Z L, Sun Y M, Shen Y D. *J. Instrum. Anal.* (谢美婵, 杨金易, 李然, 肖治理, 王弘, 徐振林, 孙远明, 沈玉栋. 分析测试学报), **2021**, 40(9): 1380–1385.
- [18] Zagon J, Winter R, Winkel M, Garino C. *Food Control*, **2025**, 171: 111069.
- [19] Asensio L. *Food Control*, **2008**, 19(11): 1096–1099.
- [20] Garino C, Zagon J, Nesic K. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **2021**, 280: 115057.
- [21] Li Z Q, Chen Q, Zhu J D, Zeng Y, Zhang D W, Yamaguchi Y. *J. Instrum. Anal.* (李振庆, 陈沁, 朱建东, 曾媛, 张大伟, 山口佳则. 分析测试学报), **2025**, 44(5): 931–935.
- [22] Sani A, Khan M I, Shah S, Tian Y L, Zha Z H, Fan L Y, Zhang Q, Cao C X. *Clin. Chim. Acta*, **2024**, 552: 117685.
- [23] Zha G H, Xiao X, Tian Y L, Zhu H Y, Chen P, Zhang Q, Yu C J, Li H G, Wang Y X, Cao C X. *Clin. Chim. Acta*, **2023**, 538: 124–130.
- [24] Li G Q, Li H G, Dong F F, Bi Y F, Zhang Q, Kong F Z, Liu X P, Saud S, Xiao H, Luo F, Peng Y, Lu H J, Fan L Y, Wang Y X, Cao C X. *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1063: 178–186.
- [25] Saud S, Li G Q, Kong H, Khan M I, Zhang Q, Sun Y J, Liu W W, Ding C, Xiao H, Wang Y X, Li H G, Cao C X. *J. Chromatogr. B*, **2019**, 1128: 121790.
- [26] Cao Y R, Tao Z M, Tian Y L, Chen E R, Zhang L, Ren J C, Xiao H, Zhang Q, Liu W W, Cao C X. *Biosens. Bioelectron.*, **2023**, 237: 115482.
- [27] George K K, Kumar C S, Sivadas S, Ramachandran K I, Panda A. *Pattern Recognit. Lett.*, **2018**, 112: 285–289.
- [28] Huang R B, Hanif M F, Siddiqui M K, Hanif M F. *Comput. Mater. Sci.*, **2024**, 240: 112994.
- [29] Breiding P, Sottile F, Woodcock J. *Found. Comput. Math.*, **2022**, 22(6): 1743–1765.
- [30] Gonzalez-Huitron V A, Rodriguez-Mata A E, Amabilis-Sosa L E, Baray-Arana R I, Robledo-Vega I, Valencia-Palomo G. *IEEE Lat. Am. Trans.*, **2023**, 21(5): 690–698.
- [31] Önder H. *J. Appl. Anim. Res.*, **2008**, 34(2): 133–136.
- [32] Liu X, Liu X M, Zhang R L, Luo D, Xu G, Chen X B. *Appl. Sci.*, **2022**, 12(22): 11705.
- [33] Veys P, Planchon V, Colbert R, Cruz C, Frick G, Ioannou L, Marchis D, Nordkvist E, Paradies-Severin I, Pohto A, Weiss R, Baeten V, Berben G. *Food Addit. Contam. A*, **2017**, 34(8): 1451–1460.
- [34] Liu Z H, Wang X K, Yan Z Q, Chu B B, Wang W J, Liu B. *Eur. Food Res. Technol.*, **2022**, 248: 1553–1561.
- [35] Sin J E V, Shen P, Huang L F, Wu Y S, Chan S H. *Foods*, **2024**, 13(16): 2581.
- [36] Han J, Jiang D, Chen T S, Jin W D, Wu Z Z, Cui F Y. *J. Chromatogr. B*, **2020**, 1152: 122253.
- [37] Hu W R, Yang B, Li B, Hao X Y, Zhao Z, Shao W K, Huang Q S. *Xinjiang Agric. Sci.* (胡文冉, 杨波, 李波, 郝晓燕, 赵准, 邵武奎, 黄全生. 新疆农业科学), **2022**, 59(2): 261–268.

(责任编辑: 盛文彦)