

# 使用 MALDI-8020 快速鉴定羊奶中乳杆菌

## MALDI-053

**摘要：** 益生菌能促进人体对营养物质的消化吸收，在乳制品中较常见。在微生物鉴定领域，基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF) 法，具有快速、准确、使用成本低、操作简便等特点。本文使用岛津 MALDI-8020 结合毅新博创微生物数据库，对羊奶中微生物进行了快速鉴定，检测到的微生物主要包括卷曲乳杆菌、发酵乳杆菌、类布氏乳杆菌等益生菌。

**关键词：** 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020 羊奶 微生物鉴定

### 技术特点：

- ❖ 质谱法操作简便、分析速度快，可以快速给出鉴定结果。
- ❖ 该方法适用于乳制品中微生物快速鉴定。

益生菌是指一类能够在人体内产生益处的微生物。它们能抑制有害细菌的生长，抵抗病原菌的感染，协助合成人体需要的维生素，促进人体对矿物质的吸收。益生菌还能帮助维持肠道菌群的平衡、增强肠道的消化和吸收能力、刺激人体免疫系统。

羊奶作为一种营养丰富的乳制品，不仅含有丰富的蛋白质、脂肪、维生素和矿物质，还含有多种益生菌。传统的乳制品微生物检测法如生化反应法、

PCR 法、DNA 探针技术等，耗时较长，试剂耗材成本较高。MALDI-TOF 质谱法作为近年兴起的微生物鉴定技术，鉴定过程耗时只需数分钟、日常使用成本低廉，已在临床及科研中得到广泛应用。

本文利用 MALDI-8020 结合微生物数据库，对羊奶中微生物进行快速鉴定。经过与数据库中的标准谱图对比，成功鉴定卷曲乳杆菌、发酵乳杆菌、类布氏乳杆菌等益生菌，结果与预期相符。

## 实验部分

### 1.1 仪器及数据库

质谱仪：岛津基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8020

数据库：毅新博创微生物鉴定平台 BE3.1.6.1

### 1.2 试剂与样品

样品：本次实验共测试羊奶样品培养得到的 8 个微生物，均采用固体培养基培养。

基质： $\alpha$ - 氰基 -4- 羟基肉桂酸 (CHCA) ， 5 mg/mL。

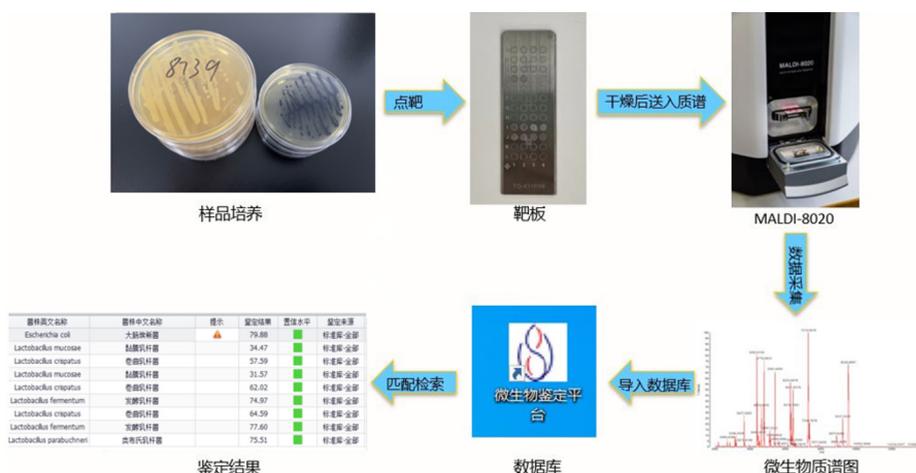


图 1 羊奶中微生物鉴定流程图

### 1.3 样品前处理

大肠杆菌标准菌株 ATCC 8739 及 8 个样品，均采用乙醇甲酸提取法前处理。

#### 1.3.1 乙醇甲酸提取法

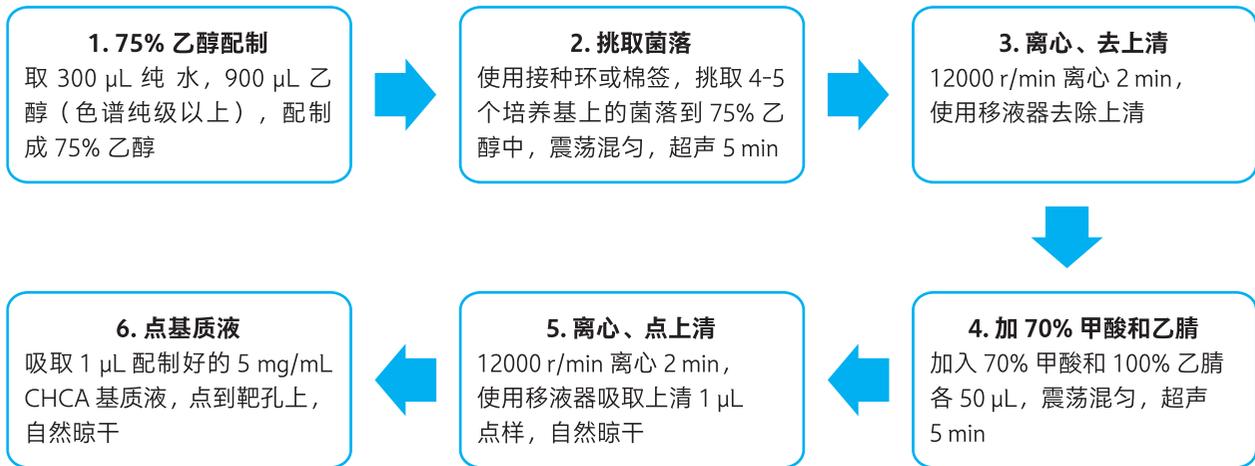


图 2 乙醇甲酸提取法流程图

### 1.4 分析条件

调谐模式：Linear Positive

激光器：355 nm 固体激光器

扫描范围：m/z 2000-20000

激光频率：100 Hz

脉冲引出质量：8330 Da

激光能量：70-75

## ■ 结果与讨论

将样品前处理后进行质谱分析，使用 MALDI-8020 采集质谱图，将数据导入微生物数据库鉴定。

标准菌株大肠杆菌 ATCC 8739 及部分测试样品使用 MALDI-8020 采集的质谱图如下所示（图 3-6）。

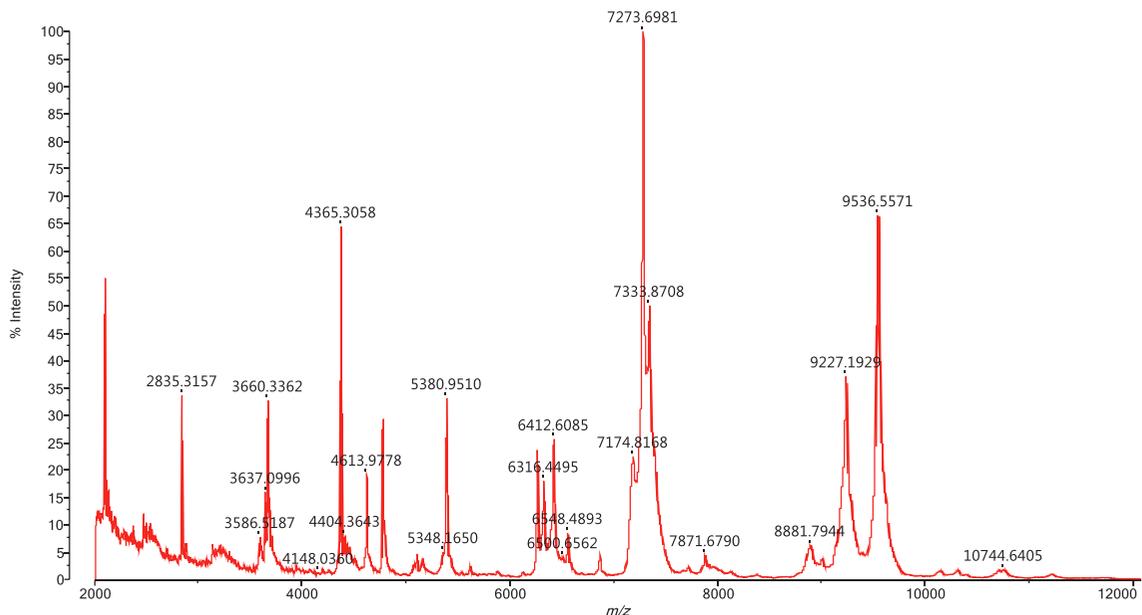


图 3 ATCC 8739 标准菌株的质谱图

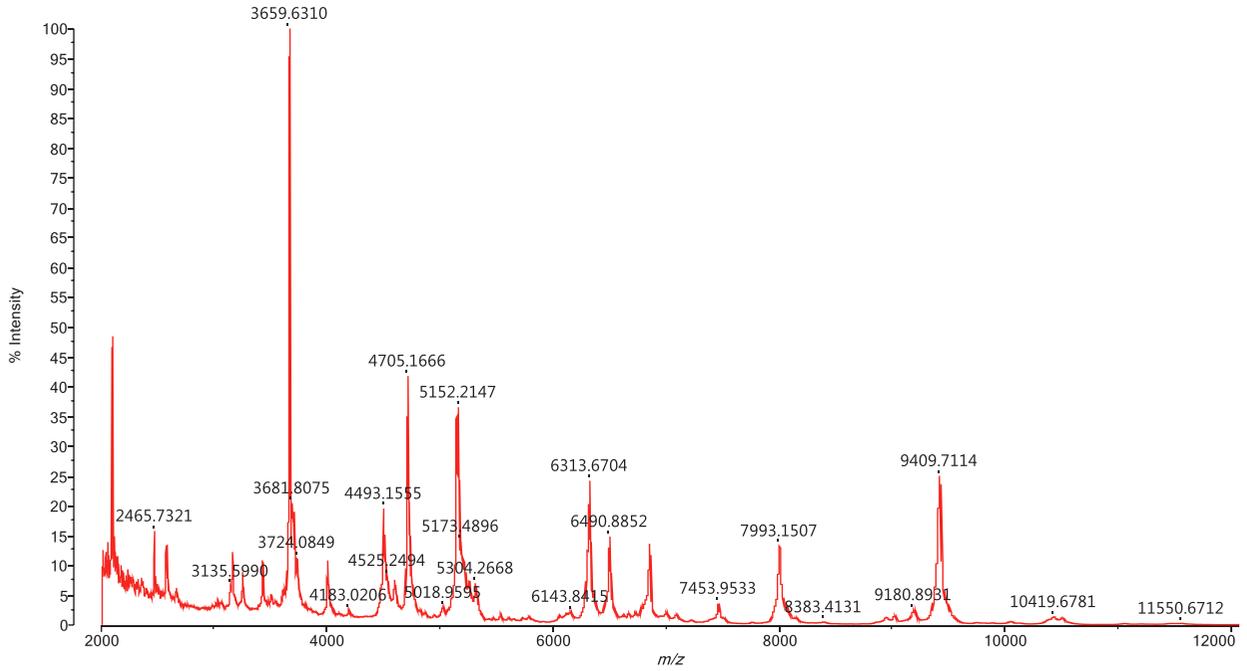


图 4 样品 1 的质谱图

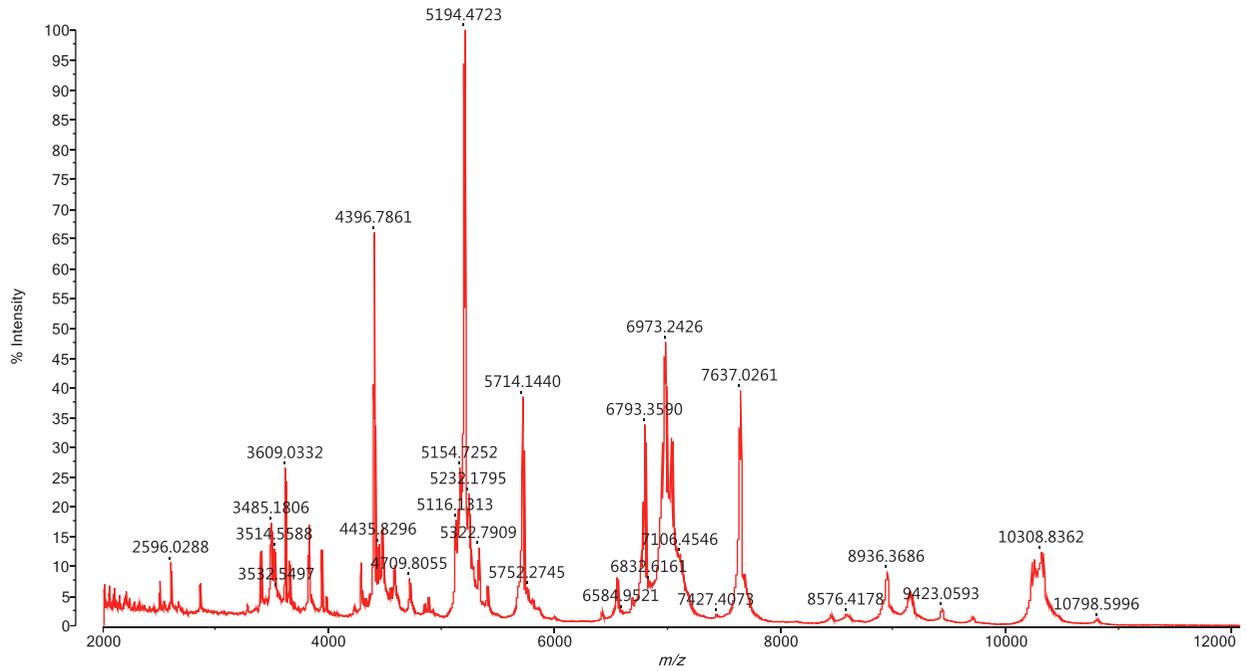


图 5 样品 2 的质谱图

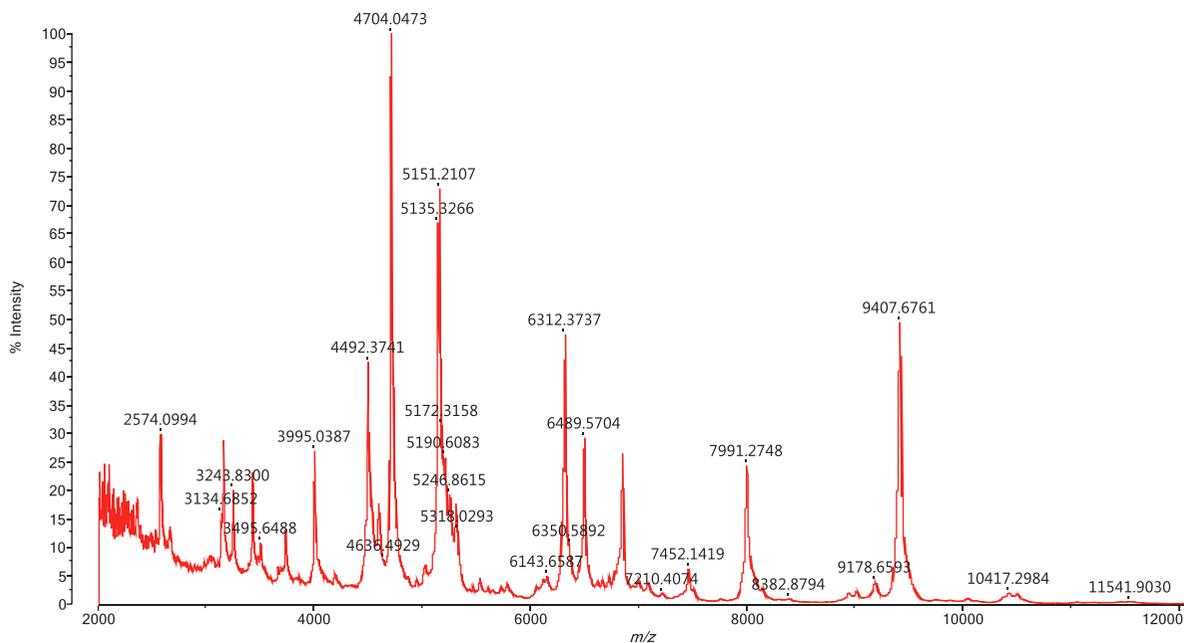


图 6 样品 3 的质谱图

选择	样本号	菌株英文名称	菌株中文名称	提示	鉴定结果	置信水平	鉴定来源	鉴定时间	鉴定次数	状态
<input type="checkbox"/>	F2_0001	Escherichia coli	大肠埃希菌	⚠	79.88	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:49	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	F1_0001	Lactobacillus mucosae	黏膜乳杆菌		34.47	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:44	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	E4_0001	Lactobacillus crispatus	卷曲乳杆菌		57.59	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:37	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	E1_0001	Lactobacillus mucosae	黏膜乳杆菌		31.57	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:33	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	D1_0001	Lactobacillus crispatus	卷曲乳杆菌		62.02	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:31	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	D3_0001	Lactobacillus fermentum	发酵乳杆菌		74.97	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:28	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	C1_0001	Lactobacillus crispatus	卷曲乳杆菌		64.59	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:23	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	C3_0001	Lactobacillus fermentum	发酵乳杆菌		77.60	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:26	1	已鉴定
<input type="checkbox"/>	A2_0001	Lactobacillus parabuchneri	类布氏乳杆菌		75.51	■	标准库-全部	2024/3/11 12:21:20	1	已鉴定

图 7 数据库检索结果界面

质谱数据经软件处理后，导入数据库检索（图 7）。数据库鉴定结果置信度阈值为 25，高于 25 即为阳性结果。经鉴定 8 个样品均为阳性结果，本次实验羊奶中检测到的微生物主要为卷曲乳杆菌、黏膜乳杆菌、发酵乳杆菌、类布氏乳杆菌等有益微生物，详细鉴定结果见表 1。

表 1 羊奶中微生物鉴定结果

菌株编号	鉴定菌种名称		鉴定得分
	英文名	中文名	
1	Lactobacillus mucosae	黏膜乳杆菌	34.47
2	Lactobacillus crispatus	卷曲乳杆菌	57.59
3	Lactobacillus mucosae	黏膜乳杆菌	31.57
4	Lactobacillus crispatus	卷曲乳杆菌	62.02
5	Lactobacillus fermentum	发酵乳杆菌	74.97
6	Lactobacillus crispatus	卷曲乳杆菌	64.59
7	Lactobacillus fermentum	发酵乳杆菌	77.6
8	Lactobacillus parabuchneri	类布氏乳杆菌	75.51
ATCC8739	Escherichia coli	大肠埃希菌	79.88

## ■ 结论

本文采用岛津公司台式飞行时间质谱 MALDI-8020，结合毅新博创微生物数据库，快速准确鉴定羊奶中的微生物菌群，本次实验检测到的微生物为卷曲乳杆菌、发酵乳杆菌、类布氏乳杆菌等有益微生物。MALDI-TOF 指纹图谱法前处理简单、速度快、操作简便，同时数据库中含有 3000 种以上的菌种标准谱图，是微生物鉴定的有力分析方法。

岛津应用云

