

代谢组学在牛奶质量安全中的应用研究进展

慕宇, 岳如玉, 张慧艳, 范慧艺, 祁艳霞*

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023)

摘要: 牛奶作为一种老少皆宜的食品, 具有丰富的营养价值。近年来, 牛奶质量与安全问题受到广泛关注, 鉴别牛奶质量与安全性成为乳制品研究的主要方向之一。牛奶中含有许多代谢物, 包括主要营养元素以及药物残留。代谢组学作为研究食品质量与安全的一类重要方法, 可以大规模、高通量的揭示食品的质量安全问题。该文综述了代谢组学技术在牛奶质量与安全领域的应用。分析了对不同品种奶牛、不同加热方式以及不同环境和饲料条件下得到的牛奶代谢物差异与牛奶质量的相关性; 并总结了代谢组学技术鉴定牛奶中药物残留的应用, 该技术可识别牛奶掺假问题; 同时归纳了不同技术方法在牛奶质量和安全领域应用的特点。总之, 该文阐明了代谢组学在鉴定牛奶品质中的应用范围, 总结了近年来代谢组学在牛奶质量和安全方面的进展。

关键词: 代谢组学; 牛奶; 质量; 安全

文章编号: 1673-9078(2024)02-321-328

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.1599

Research Progress on the Application of Metabonomics in Milk Quality and Safety

MU Yu, YUE Ruyi, ZHANG Huiyan, FAN Huiyi, QI Yanxia*

(Collage of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: Milk, as a kind of food for all ages both young and old, has high nutritional value. In recent years, the issues related to milk quality and safety have received widespread attention, and the determination of milk quality and safety has become one of the main research directions for dairy product research. Milk contains many metabolites, including major nutrients and drug residues. Metabolomics, as an important class of methods for studying food quality and safety, can reveal the quality and safety of food products on a large scale and with high throughput. This paper reviews the application of metabolomics techniques in the field of milk quality and safety. The correlation between the differences in milk metabolites and the quality of milk obtained from different breeds of cows, by different heating methods, and under different environmental and ration feeding conditions, is analyzed. The applications of metabolomics techniques in identifying drug residues in milk are summarized. This technique can be used for milk adulteration. The characteristics of different technical methods applied in the milk quality and safety field are also summarized. In conclusion, this paper clarifies the application scope of metabolomics in the determination of milk quality and summarizes the progress of metabolomics in milk quality and safety in recent years.

Key words: metabonomics; milk; quality; safety

引文格式:

慕宇,岳如玉,张慧艳,等.代谢组学在牛奶质量安全中的应用研究进展[J].现代食品科技,2024,40(2):321-328.

MU Yu, YUE Ruyi, ZHANG Huiyan, et al. Research progress on the application of metabonomics in milk quality and safety [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 321-328.

收稿日期: 2022-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31601538); 辽宁省教育厅基础项目 (JL202008); 辽宁省科技厅面上项目 (2022-MS-350)

作者简介: 慕宇 (1998-), 男, 在读硕士, 研究方向: 食品科学, E-mail: 915267613@qq.com

通讯作者: 祁艳霞 (1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: qiyanxia@dloou.edu.cn

随着生活水平不断提高,人们对于食物营养与安全的关注度越来越多。牛奶作为一种生活中比较常见的食品,具有很高的营养价值^[1],被认为是天然的“补品”。同时它也是一种复杂的营养食品,奶牛的品种、健康、饮食、哺乳期及产次都会影响牛奶的质量、成分以及功能^[2],其中脂肪、蛋白质、氨基酸、维生素、脂肪酸、矿物质等是区分牛奶品质的主要标准^[3]。科学水平的不断发展,检测牛奶的技术也在更新。拉曼光谱技术^[4]实现了对牛奶中脂肪、脂肪酸、蛋白质和乳糖的定性定量分析,但成本昂贵,并且存在一些技术障碍需要解决,从而阻碍了在乳制品行业检测的广泛使用。介电特性^[5]通过牛奶的介电常数随着频率的变化对牛奶的浓度以及新鲜度进行预测,但灵敏度较低,检测范围小。传感器技术^[6]用于监测牛奶中微生物生长改变的pH值、离子含量、气味、颜色等物理化学参数,但牛奶在保质期范围内,这些参数的变化是非常小的,可能不会被传感器信号检测到,并且传感器污垢可能也会产生影响,存在着根本的局限性。代谢组学作为一种新兴学科逐渐走向成熟且不断发展,主要研究相对分子量小于1 000 u的小分子代谢物,例如氨基酸、脂类、糖类等^[7],因其具有高通量、综合性的特点,广泛应用于医学、农业、食品科学及生命科学等研究领域^[8]。近年来,代谢组学在乳品科学领域的应用有了较快的发展,能够将生产加工过程中代谢物信息应用在牛奶质量和安全控制上^[9]。

随着核磁共振波谱(Nuclear Magnetic Resonance Spectrum, NMR)、气相色谱-质谱(Gas Chromatography-mass Spectrometry, GC-MS)和高效液相色谱-质谱(High Performance Liquid Chromatography-mass Spectrometry, HPLC-MS、HPLC-MS/MS)、超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(Ultra-high-performance Liquid Chromatography-quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry, UHPLC-QTOF-MS)、超高效液相色谱-串联质谱法(Ultra-high-performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry, UHPLC-MS/MS)等高分辨率分析技术的引入,牛奶和奶制品的质量、安全问题得到了有效的识别^[10]。此外,代谢组学还可鉴别在牛奶加工,运输,储存过程中是否存在掺假^[11],使得牛奶掺假现象也可被监测^[12],代谢组学逐渐成为解决牛奶质量和安全问题的有力工具^[13]。

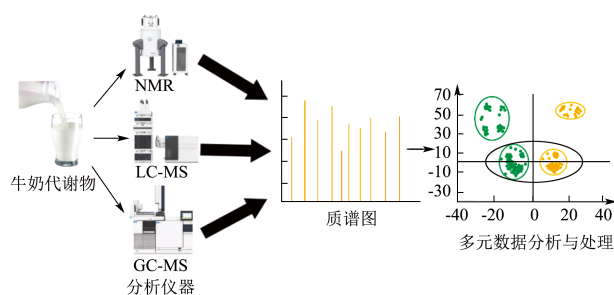


图1 牛奶代谢组学研究中分析平台工具

Fig.1 Analysis platform in milk metabolomics research

1 代谢组学在牛奶质量中的应用

牛奶质量与安全问题引起人们的高度关注。目前,一些快速检测技术,特别是光谱、介电特性以及传感器等,对牛奶中的脂肪、蛋白质、矿物质和维生素实现了快速检测,在评估牛奶营养成分方面取得了巨大的成功^[14]。与上述主要检测牛奶基本营养成分的技术不同,代谢组学主要用于研究牛奶小分子代谢物。通过代谢物的种类、含量以及浓度不同来区分牛奶的品质。由于代谢物种类繁多,更加有利于区分出奶制品品质差异,从而挑选出优质产品,保障人们的食用安全。

1.1 代谢组学技术测定不同品种的牛奶质量

由于不同乳制品动物种类和品种具有不同的遗传特征,其所产奶的成分、结构以及理化性质都有所不同。牛奶的来源包括牛、山羊,绵羊以及骆驼等动物,牛是牛奶生产的主要来源,在20世纪60年代占全球牛奶产量的90%以上。然而,不同品种牛奶代谢物种类以及浓度经过代谢组学检测发现是有显著差异的,这种差异对牛奶质量以及营养价值存在影响,不同代谢物对牛奶所具有的功能也存在区别。Sundekilde等^[15]基于NMR技术研究发现,荷斯坦奶牛牛奶中胆碱和乳糖浓度较高而泽西奶牛的牛奶中肉碱和柠檬酸盐浓度更高,造成这种现象的原因可能与奶牛品种相关。随后Yang等^[16]通过NMR以及LC-MS技术对该结果进行了验证,说明利用代谢组学可以区分不同奶牛品种来源的牛奶。

1.2 代谢组学技术测定热处理方式的牛奶质量

为了延长货架期通常会采用热加工的方式对生牛奶进行加工。巴氏杀菌是常见的处理生牛乳的方式之一,此方法广泛应用在乳制品加工领域,牛奶经过巴氏杀菌在冷藏条件下储存可达7~28 d^[17],这与生牛乳质量以及巴氏杀菌后的污染有关。经过巴

氏杀菌处理后的牛奶味道更新鲜，与生牛乳的味道相似。为了进一步验证牛奶质量，考虑采用代谢组学技术对巴氏杀菌处理前后的牛奶代谢物进行检测，观察经过处理前后代谢物种类以及浓度的变化来判断牛奶质量的变化。Zhu 等^[18,19]通过 NMR 和 LC-MS 检测并比较了巴氏杀菌处理前后的牛奶代谢组，经巴氏杀菌处理后的牛奶中脱氧鸟苷、腺嘌呤和牛磺胆酸的含量下降，精氨酸脯氨酸、2-甲基丁酰肉碱和溶血磷脂酶含量升高。但代谢物浓度变化幅度较小，说明巴氏杀菌处理是一种有效且温和的牛奶处理方法，基本保留了原有的牛奶营养价值。值得强调的是，代谢组学技术对代谢物细微变化的高灵敏检测，使其能够准确鉴定经过热加工处理后牛奶中的差异。

1.3 代谢组学技术测定不同环境和饲料的牛奶质量

环境因素（季节、地理条件）和营养条件等诸多因素对牛奶质量的影响不容忽视，不同的季节^[20]、地区、海拔^[21]以及营养状况都或多或少影响着牛奶质量，通过代谢组学对代谢物分析检测可以进行准确鉴定。

1.3.1 季节影响

季节变化对牛奶质量产生的影响是有必要考虑的，一方面新鲜牧草会随着季节变化而变化，另一方面，季节温差不同，也会影响牛奶成分。脂肪是牛奶组成成分之一，牛乳中含有 3%~6% 的脂肪，其中主要部分是三酰甘油，极性脂质也是脂肪的一部分，在牛奶中都发挥着不可或缺的作用，但都因季节而存在差异。比如极性脂类在秋季含量较高，特别是鞘磷脂，同时也为人体带来了更多的健康益处，如抗炎活性，抗癌活性，减少胆固醇的吸收以及降低心血管疾病的风险^[22]。Liu 等^[23]在 LC-MS 研究中发现三酰甘油的总体不饱和水平在 2 月和 3 月大幅下降，5 月才有所提高。同样，Liu 等^[24]基于 LC-MS 的研究发现脂质含量随季节而变化，极性脂类（磷脂酰胆碱、鞘磷脂等）由春季至秋季逐渐增加。表明对于不同季节牛奶成分的变化应用代谢组学是可以精确检测的，同时也了解到随季节变化牛奶的营养价值和功能也发生变化，这对乳制品的加工和质量有着重要的意义。

1.3.2 地理位置影响

牛奶的成分也可能会因环境因素而改变，如海

拔高度。事实上，许多乳制品的商业价值与牛奶的来源和成分密切相关。在高海拔地区，缺氧对人类和其他动物都是一种严重的压力，破坏氧气稳态，从而影响组织代谢。不同海拔高度的牛奶代谢物水平不尽相同，代谢组学被用来揭示不同海拔高度的牛奶代谢产物的差异，了解海拔高低对所产牛奶成分的影响。Pu 等^[21]利用 UHPLC-QTOF-MS 对不同海拔的牛奶代谢差异进行评估，发现低海拔地区牛奶碳水化合物含量较高，其主要参与半乳糖、氨基酸的代谢；高海拔地区牛奶含有较高水平的游离脂肪酸（辛酸、棕榈酸、十二酸等），这些游离脂肪酸主要参与脂肪酸的生物合成过程。低、中海拔地区的牛奶具有较高水平的氨基酸（如焦谷氨酸、谷氨酰胺）和微量营养物质（吡哆醇、维生素 B6）。不同海拔地区牛奶代谢物浓度不同，通过代谢组学分析出其优势代谢物并根据成分含量的不同生产适合的牛奶以及乳制品。

1.3.3 营养因素影响

营养因素对牛奶质量起决定性作用，饲养系统的差异显著影响了牛奶成分。与非放牧制度相比，放牧制度下饲养的奶牛生产的牛奶及奶制品被认为更健康、更天然。玉米秸秆，玉米青贮，新鲜饲料和干草等饲料改变了牛奶代谢组学特征，牧草饲料中不饱和脂肪酸水平较高^[25]，而玉米青贮中亚油酸含量较高^[26]。利用代谢组学技术筛选和分析牛奶代谢物，区分不同饲料方式对牛奶质量产生的影响。Ashokan 等^[27]利用 LC-MS/MS 研究发现大多数氨基酸在放牧和非放牧奶牛之间有不同的调节，并且丰度差异很大，放牧奶牛的牛奶氨基酸含量要高。Rocchetti 等^[28]基于 UHPLC-QTOF-MS 比较了喂食干草，玉米青贮以及混合日粮（新鲜饲料与干草的混合物）奶牛牛奶的不同代谢组学特征，揭示了酚类代谢物中 3,3',4',5-四羟基二苯乙烯、五味子苷等大多来源于饲料，而脂质代谢物中磷脂酰胆碱、甘油三酯、鞘磷脂则来源于动物。不同的饲养方式优势代谢物显著不同，放牧饲养相对于非放牧形式更有利于牛奶中氨基酸，脂质等物质的积累，应用代谢组学技术对其代谢物的鉴定更加证明了传统放牧饲养生产的牛奶营养价值更高，在允许的情况下应鼓励放牧饲养，提高牛奶质量。同时如表 1 所示，代谢组学工具优势明显，几种技术相互补充，基本覆盖了牛奶中不同挥发性、不同极性以及不同样品量的代谢物的高灵敏检测，使其成为了

分析牛奶中微量成分的重要技术。

表 1 代谢组学工具在牛奶中应用的优势以及局限性

方法	优势	局限性	参考文献
NMR	样品用量少, 高重现性, 选择性同位素检测, 无破坏性影响, 重新确定未知代谢物的关键结构参数。	灵敏度相对较低, 浓度范围在微摩尔至毫摩尔, 光谱分辨率差, 时间分辨率差, 仪器昂贵, 维修成本高。	[29-31]
GC-MS	适用于挥发性代谢物的检测, 高重复性, 定量分析, 高精度, 存在通用数据库有助于结构阐明。	样品制备要求高, 不适合不挥发和热不稳定的代谢物, 样品预处理过程繁琐。	[32-34]
LC-MS	样品制品简单, 检测代谢物覆盖范围广泛, 适用于极性和极性化合物, 高灵敏度, 可识别纳摩尔至皮摩尔的浓度。	受到离子抑制, 仪器昂贵, 代谢物数据库有限, 分离分辨率和再现性差。	[32,35,36]

2 代谢组学在牛奶安全中的应用

目前, 针对牛奶中的污染物, 天然毒素以及新病原体等问题的检测是代谢组学在评估牛奶安全领域最重要的应用^[37]。在牛奶生产、加工、运输、储存过程中伴随着安全问题的出现, 可能是天然污染物也可能是人为的化学, 物理毒物的污染^[38]。同时牛奶的掺假现象时常发生, 损害消费者利益, 给消费者带来潜在的健康风险。代谢组学通过对代谢物的分析检测出牛奶外源物质是否过量, 可以有效地识别牛奶的掺假物质。

2.1 代谢组学技术测定药物残留对牛奶安全的影响

目前, 各种分析方法已用于检测牛奶的药物残留, 并且进行了定量分析, 包括微生物抑制实验, 酶联免疫吸附试验和液相色谱分析等^[39]。利用固相萃取、液相色谱分离和紫外检测对磺胺二甲基嘧啶进行分析, 方法定量限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[40], 该方法可以监测牛奶中最大残留量, 但选择性不足, 无法区分不同类型的药物。酶联免疫吸附试验近年来有了新的进展^[41], 与传统酶联免疫吸附试验相比灵敏度更高, 检测黄曲霉毒素 M_1 时定量限为 0.003 ng/mL 且能同时检测三种目标, 但免疫筛查方法往往会产生假阳性的结果^[42]。而基于 LC-MS/MS 的代谢组学技术的灵敏度、准确度和重现性高于以往的分析方法, 被应用于检测牛奶的药物残留。Chen 等^[43]用

LC-MS/MS 检测牛奶中药物残留时, 黄曲霉毒素 M_1 的定量限可达到 0.002 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 且采用了自动样品预处理, 简化了操作, 减少了人为误差。Wittenberg 等^[44]利用 LC-MS/MS 检测 40 种兽药残留, 定量限范围为 0.02~82 ng/g 。比起以往的分析方法代谢组学技术更加精确, 检测灵敏度更高, 在检测牛奶药物残留领域有很大的发展前景。

2.1.1 影响牛奶安全的抗生素残留分析检测

抗生素作为一种具有抗微生物活性的化合物, 一直被应用在畜牧业用于治疗 and 预防常见病症, 但是由于不明智使用抗生素治疗产奶动物的疾病, 如使用抗生素的数量、类型以及方法等都可能部分药物无法通过尿液和粪便排出而残留体内, 并在牛奶及肉类中找到^[45]。此外, 牛奶中抗生素的另一个来源是一些抗生素被任意用作饲料添加剂。如果这些抗生素残留超出最大残留限量会给消费者造成严重的健康问题, 可能会引发过敏反应甚至是癌症的发生, 所以检测牛奶中抗生素残留是必要的。抗生素用于动物治疗的主要包括 β -内酰胺类、四环素类、氟喹诺酮类、磺胺类以及大环内酯类等^[45,46], 这些抗生素种类残留在牛奶中都可以被代谢组学技术检测到, 具体抗生素名称如表 2 所示。

表 2 应用代谢组学技术检测牛奶抗生素残留实例

Table 2 Application of metabolomics technique in the detection of antibiotic residues in milk

抗生素种类	抗生素	代谢组学技术	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	参考文献
β -内酰胺类	氯唑西林		0.30	[39,47-49]
	青霉素 V		0.34	
	头孢噻唑	LC-MS/MS	0.27	
	阿莫西林		1.00	
	头孢唑啉		0.92	
四环素类	氧四环素		1.70	[39,47]
	氯四环素	HPLC-MS/MS LC-MS/MS	1.70	
	四环素		1.70	
喹诺酮类	达氟沙星		0.30	[47,50]
	恩诺沙星	HPLC-MS/MS LC-MS/MS	0.30	
	环丙沙星		0.60	
磺胺类	磺胺嘧啶		0.20	[47,51]
	磺胺甲基嘧啶	LC-MS/MS	0.05	
	磺胺噻唑		1.00	
大环内酯类	红霉素 A	HPLC-MS/MS	2.00	[51,52]

2.1.2 影响牛奶安全的农药残留分析检测

大多数的植物源食品都可能经过农药处理从而对杂草、昆虫以及其他害虫进行控制，但这种方式可能会对人类健康产生间接的风险。研究发现，食草动物未经加工的奶中可能含有农药残留^[53]，其中牛奶的农药残留可能来源于受污染的食物（饲料、草、玉米青贮），被身体系统吸收、累计，导致牛奶中的微量农药达到毒性水平，影响消费者的慢性健康问题^[54]。代谢组学技术检测范围广泛，可以对牛奶中多种农药残留进行检测，具体检测农药名称见表3。

表3 应用代谢组学技术检测牛奶农药残留实例

Table 3 Application of metabolomics technique in the detection of pesticide residues in milk

农药名称	应用技术	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
氟乐灵	GC-MS	5.40	[54]
百菌清		1.05	
倍硫磷		2.44	
安果		6.15	
恶虫威	LC-MS/MS	10.00	[55]
灭多虫		10.00	
胺甲萘		10.00	
多菌灵		10.00	
涕灭威	UHPLC-MS/MS	10.00	[56]
百菌清杀菌剂		1.00	
艾氏剂		0.50	
溴硫磷		1.00	
狄氏剂		0.50	

2.2 代谢组学技术测定牛奶安全的掺假分析

2.2.1 牛奶中豆浆的掺假行为

牛奶在世界范围内生产并用于乳制品生产的原料占85%。部分生产者为了谋取更大的利益常常会将豆浆作为掺假剂放入牛奶中。豆浆价格便宜，且蛋白质的成分与牛奶相似，作为掺假剂放入牛奶中口感也不会受到影响。但是豆浆所含成分与牛奶有所差异，比如豆浆中含有大量的D-蔗糖，而在牛奶中并没有检测到，Li等^[57]建立了一种利用NMR检测高价值牛奶掺假的方法，通过NMR对代谢物标记进行鉴定，其中N-乙酰碳水化合物，乙酸酯，肉碱，柠檬酸，肌酸和卵磷脂可作为区分牛奶与豆奶的主要指标，并且定量确定了牛乳中豆奶的掺假定量限为2% (V/V)。欺骗者为了利益最大化且掺

假不被常规方法检测出来，通常将2%~10% (V/V)的廉价牛奶放入高价值牛奶中，这正在NMR的有效检测范围之内，牛奶掺假行为通过此方法得以检测，并且可将其应用到乳制品的质量监测中。

2.2.2 不同品种牛奶的掺假行为

添加较低价值的牛奶品种也是常见的乳制品欺诈行为，比如羊奶、牛奶和水牛奶这三种常见的牛奶在全球人类饮食中扮演着重要角色。由于生产和饲养条件等各种综合因素，牛奶的价格要低于水牛奶和羊奶，为了获取高额利润，利用不同品种牛奶价格差异造成乳品掺假的潜在行为。虽然牛奶品种不同，但具有相似的感官特性，外观和化学成分^[58]。UHPLC-MS/MS可以解决此类问题。Jia等^[59]研究中发现壬酸、癸酸和辛酸是羊奶的标志物， β -胡萝卜素是牛奶的标志物，麦角钙化醇是水牛奶的标志物。表明羊奶、牛奶和水牛奶各有独特的代谢物存在，根据标记的代谢物，我们可以对乳制品进行鉴定，以此来打击替代欺诈行为，此方法有可能成为乳制品行业中可靠且强大的欺诈分析工具。

3 总结

代谢组学作为一种检测小分子的新兴学科，在牛奶及乳制品行业显示出了良好的应用前景。本文综述了代谢组学在牛奶质量及安全研究中的主要应用，与其他检测技术相比，代谢组学检测范围多元化，对牛奶中不同挥发性、不同极性以及不同样品量的代谢物均可检测，实现了对牛奶品质、药物残留以及掺假问题的多样监测，基于其高灵敏度、高选择性、重现性好和高准确度使其成为分析牛奶品质的主要手段之一。目前，代谢组学技术不仅用于检测奶牛品种、地理环境、饲料条件、加工方式等不同因素引起的牛奶代谢物差异对牛奶质量的影响，还可以绝对定量牛奶中不同药物残留，并通过相对定量分析识别牛奶掺假问题。从而全方位保障牛奶的质量与安全。

4 展望

代谢组学已被证明是一种可应用在鉴定牛奶质量与安全的有力工具。然而，由于代谢组学所用的仪器设备体积较大，价格昂贵，而且一般分析所需时间相对较长，使其在牛奶品质鉴别方面受到较大的限制。未来开发更多微型化、便携式仪器用于分析代谢物有望大大拓展代谢组学技术的应用。同时

代谢产物信息库的不完善也限制了其发展。需要收集大量数据, 开发强大的软件工具来完善代谢组学信息库。在未来, 代谢组学技术的不断发展结合更新的数据库以及更多的统计软件, 有望发现牛奶中更多与奶牛健康和疾病相关的生物标志物, 有助于反映出奶牛的生理或病理状态, 以及实时监测牛奶在加工贮藏等过程中代谢物的变化, 为保障牛奶及乳制品质量与安全提供更多的技术支撑。

参考文献

- [1] AMETAJ B N. Introducing dairy: A transdisciplinary journal to advance understanding of dairy nutrition, health and productivity, welfare and well-being as well as milk synthesis-composition and health effects of its products [J]. *Dairy*, 2020, 1(1): 1-5.
- [2] ALOTHMAN M, HOGAN S A, HENNESSY D, et al. The “grass-fed” milk story: understanding the impact of pasture feeding on the composition and quality of bovine milk [J]. *Foods*, 2019, 8(8): 350.
- [3] SCHÖNFELDT H C, HALL N G, SMIT L E. The need for country specific composition data on milk [J]. *Food Research International*, 2012, 47(2): 207-209.
- [4] HE H, SUN D-W, PU H, et al. Applications of raman spectroscopic techniques for quality and safety evaluation of milk: a review of recent developments [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(5): 770-793.
- [5] JITENDRA MURTHY V, SAI KIRANMAI N, KUMAR S. Study of dielectric properties of adulterated milk concentration and freshness [J]. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2017, 225(1): 012285.
- [6] POGHOSSIAN A, GEISLER H, SCHÖNING M J. Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 140: 111272.
- [7] YANG Q, ZHANG A H, MIAO J H, et al. Metabolomics biotechnology, applications, and future trends: a systematic review [J]. *RSC Advances*, 2019, 9(64): 37245-37257.
- [8] LI S B, TIAN Y F, JIANG P Y Z, et al. Recent advances in the application of metabolomics for food safety control and food quality analyses [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(9): 1448-1469.
- [9] COOK P W, NIGHTINGALE K K. Use of omics methods for the advancement of food quality and food safety [J]. *Animal Frontiers*, 2018, 8(4): 33-41.
- [10] KAUFMANN A, BUTCHER P, MADEN K, et al. Reliability of veterinary drug residue confirmation: high resolution mass spectrometry versus tandem mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 856: 54-67.
- [11] LOUDIYI M, TEMIZ H T, SAHARA A, et al. Spectroscopic techniques for monitoring changes in the quality of milk and other dairy products during processing and storage [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(11): 3063-3087.
- [12] SANTOS P M, PEREIRA-FILHO E R, RODRIGUEZ-SAONA L E. Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis [J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(1): 19-24.
- [13] ARU V, KHAKIMOV B, SØRENSEN K M, et al. The foodome of bivalve molluscs: from hedonic eating to healthy diet [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, 69: 13-19.
- [14] ZHU Z, GUO W. Recent developments on rapid detection of main constituents in milk: a review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(2): 312-324.
- [15] SUNDEKILDE U K, FREDERIKSEN P D, CLAUSEN M R, et al. Relationship between the metabolite profile and technological properties of bovine milk from two dairy breeds elucidated by NMR-based metabolomics [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(13): 7360-7367.
- [16] YANG Y X, ZHENG N, ZHAO X W, et al. Metabolomic biomarkers identify differences in milk produced by Holstein cows and other minor dairy animals [J]. *Journal of Proteomics*, 2016, 136: 174-182.
- [17] MARTIN N H, BOOR K J, WIEDMANN M. Symposium review: effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality [J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(1): 861-870.
- [18] ZHU D, KEBEDE B, CHEN G, et al. Effects of the vat pasteurization process and refrigerated storage on the bovine milk metabolome [J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(3): 2077-2088.
- [19] ZHU D, KEBEDE B, CHEN G, et al. Impact of freeze-drying and subsequent storage on milk metabolites based on ¹H-NMR and UHPLC-QTOF/MS [J]. *Food Control*, 2020, 116: 107017.
- [20] YANO M, SHIMADZU H, ENDO T. Modelling temperature effects on milk production: a study on Holstein cows at a Japanese farm [J]. *Springer Plus*, 2014, 3(1): 129.
- [21] PU J H, VINITCHAIKUL P, GU Z B, et al. The use of metabolomics to reveal differences in functional substances of milk whey of dairy buffaloes raised at different altitudes [J]. *Food & Function*, 2021, 12(12): 5440-5450.
- [22] CONTARINI G, POVOLO M. Phospholipids in milk fat: composition, biological and technological significance, and analytical strategies [J]. *International Journal of Molecular*

- Sciences, 2013, 14(2): 2808-2831.
- [23] LIU Z Q, WANG J H, COCKS B G, et al. Seasonal variation of triacylglycerol profile of bovine milk [J]. *Metabolites*, 2017, 7(2): 24.
- [24] LIU Z Q, LOGAN A, COCKS B G, et al. Seasonal variation of polar lipid content in bovine milk [J]. *Food Chemistry*, 2017, 237: 865-869.
- [25] SLOTS T, BUTLER G, LEIFERT C, et al. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies [J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(5): 2057-2066.
- [26] SCHULZ F, WESTREICHER-KRISTEN E, MOLKENTIN J, et al. Effect of replacing maize silage with red clover silage in the diet on milk fatty acid composition in cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(8): 7156-7167.
- [27] ASHOKAN M, RAMESHA K P, HALLUR S, et al. Differences in milk metabolites in malnad gidda (*Bos indicus*) cows reared under pasture-based feeding system [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 2831.
- [28] ROCCHETTI G, GALLO A, NOCETTI M, et al. Milk metabolomics based on ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry to discriminate different cows feeding regimens [J]. *Food Research International*, 2020, 134: 109279.
- [29] MARKLEY J L, BRÜSCHWEILER R, EDISON A S, et al. The future of NMR-based metabolomics [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2017, 43: 34-40.
- [30] BINGOL K, BRUSCHWEILER-LI L, LI D, et al. Emerging new strategies for successful metabolite identification in metabolomics [J]. *Bioanalysis*, 2016, 8(6): 557-573.
- [31] GOLDANSAZ S A, GUO A C, SAJED T, et al. Livestock metabolomics and the livestock metabolome: a systematic review [J]. *Plos One*, 2017, 12(5): e0177675.
- [32] COURANT F, ANTIGNAC J P, DERVILLY-PINEL G, et al. Basics of mass spectrometry based metabolomics [J]. *Proteomics*, 2015, 14(21-22): 2369-2388.
- [33] REN J L, ZHANG A H, LING K, et al. Advances in mass spectrometry-based metabolomics for investigation of metabolites [J]. *Rsc Advances*, 2018, 8(40): 22335-22350.
- [34] SCANO P, MURGIA A, PIRISI F M, et al. A gas chromatography-mass spectrometry-based metabolomic approach for the characterization of goat milk compared with cow milk [J]. *J Dairy Sci*, 2014, 97(10): 6057-6066.
- [35] WISHART D S. Metabolomics: Applications to food science and nutrition research [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2008, 19(9): 482-493.
- [36] SCHRIMPE-RUTLEDGE A C, CODREANU S G, SHERROD S D, et al. Untargeted metabolomics strategies-challenges and emerging directions [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2016, 27(12): 1897-1905.
- [37] CASTRO-PUYANA M, PÉREZ-MÍGUEZ R, MONTERO L, et al. Application of mass spectrometry-based metabolomics approaches for food safety, quality, and traceability [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 93: 102-118.
- [38] RESETAR D, PAVELIC S K, JOSIC D. Foodomics for investigations of food toxins [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2015, 4: 86-91.
- [39] HAN R W, YU Z N, ZHEN T Y, et al. Survey of veterinary drug residues in raw milk in Hebei province, china [J]. *Journal of Food Protection*, 2017, 80(11): 1890-1896.
- [40] DE ZAYAS-BLANCO F, GARCÍA-FALCÓN M S, SIMAL-GÁNDARA J. Determination of sulfamethazine in milk by solid phase extraction and liquid chromatographic separation with ultraviolet detection [J]. *Food Control*, 2004, 15(5): 375-378.
- [41] SANG P, LU G, YU D, et al. Simultaneous determination of antibiotics, mycotoxins, and hormones in milk by an 8-17 dnzyme-based enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(39): 12681-12688.
- [42] MCGLINCHEY T A, RAFTER P A, REGAN F, et al. A review of analytical methods for the determination of aminoglycoside and macrolide residues in food matrices [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 624(1): 1-15.
- [43] CHEN J, YE J, LI L, et al. One-step automatic sample pretreatment for rapid, simple, sensitive, and efficient determination of aflatoxin M₁ in milk by immunomagnetic beads coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Control*, 2022, 137: 108927.
- [44] WITTENBERG J B, SIMON K A, WONG J W. Targeted multi residue analysis of veterinary drugs in milk-based powders using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(34): 7288-7293.
- [45] SACHI S, FERDOUS J, SIKDER M H, et al. Antibiotic residues in milk: past, present, and future [J]. *J Adv Vet Anim Res*, 2019, 6(3): 315-332.
- [46] VIRTO M, SANTAMARINA-GARCÍA G, AMORES G, et al. Antibiotics in dairy production: where is the problem? [J]. *Dairy*, 2022, 3(3): 541-564.
- [47] MEKLATI F R, PANARA A, HADEF A, et al. Comparative assessment of antibiotic residues using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and a rapid screening test in raw milk collected from the north-central algerian dairies [J].

- Toxics, 2022, 10(1): 19.
- [48] 刘洪斌,文一,刘勇军,等.LC-MS/MS法检测牛奶中14种 β -内酰胺类抗生素残留[J].分析试验室,2014,33(2):221-224.
- [49] OUMA J, GACHANJA A, MUGO S, et al. Antibiotic residues in milk from juja and githurai markets in Kenya by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chemistry Africa, 2021, 4(4): 769-775.
- [50] CHEN M X, WEN F, WANG H, et al. Effect of various storage conditions on the stability of quinolones in raw milk [J]. Food Additives and Contaminants: Part A, 2016, 33(7): 1147-1154.
- [51] MELEKHIN A O, TOLMACHEVA V V, GONCHAROV N O, et al. Multi-class, multi-residue determination of 132 veterinary drugs in milk by magnetic solid-phase extraction based on magnetic hyper crosslinked polystyrene prior to their determination by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132866.
- [52] ZHOU W, LING Y, LIU T, et al. Simultaneous determination of 16 macrolide antibiotics and 4 metabolites in milk by using quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction (quechers) and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1061-1062: 411-420.
- [53] WENG R, LOU S T, PANG X, et al. Multi-residue analysis of 126 pesticides in chicken muscle by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125503.
- [54] MANAV Ö G, DINÇ-ZOR Ş, ALPDOĞAN G. Optimization of a modified quechers method by means of experimental design for multiresidue determination of pesticides in milk and dairy products by GC-MS [J]. Microchemical Journal, 2019, 144: 124-129.
- [55] ČOŠIĆ M, TRIFUNOVIĆ B D Š, PETROVIĆ A, et al. Pesticide residues in cows milk [J]. Mljekarstvo, 2021, 71(3): 165-174.
- [56] RAMEZANI S, MAHDAVI V, GORDAN H, et al. Determination of multi-class pesticides residues of cow and human milk samples from Iran using UHPLC-MS/MS and GC-ECD: a probabilistic health risk assessment [J]. Environmental Research, 2022, 208: 112730.
- [57] LI Q Q, YU Z B, ZHU D, et al. The application of nmr-based milk metabolite analysis in milk authenticity identification [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(9): 2875-2882.
- [58] SHETTY S A, YOUNG M F, TANEJA S, et al. Quantification of b-vitamins from different fresh milk samples using ultra-high performance liquid chromatography mass spectrometry/selected reaction monitoring methods [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1609: 460452.
- [59] JIA W, DONG X Y, SHI L, et al. Discrimination of milk from different animal species by a foodomics approach based on high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(24): 6638-6645.