

不同乳源动物成分鉴别技术研究进展

苗金梁^{1,2}, 张九凯², 周正火³, 邢冉冉², 于宁², 倪雪², 王静¹, 陈颖^{2*}

[1. 北京工商大学食品与健康学院, 北京 100048; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176;
3. 中检邦迪(北京)智能科技有限公司, 北京 101399]

摘要: 随着我国经济的发展, 人民生活水平不断提高, 乳制品成为日常饮食的重要组成部分。乳制品含有促进人体生长发育及维持健康必需的营养成分, 驴乳、驼乳、牦牛乳等特种乳因其良好的营养价值而越来越受到人们欢迎。由于特种乳具有良好市场前景且其产量较低, 目前市场中特种乳价格普遍高于牛乳, 受经济利益驱动的影响, 乳源掺假问题日益凸显, 掺假鉴别成为近年来研究的热点。针对乳制品中乳源掺假问题, 国内外学者已经建立了多种鉴别的方法, 本文从基于核酸、蛋白、化合物的方法和智能无损检测 4 个方面对乳及乳制品乳源鉴别方法现状进行了概述, 并对 4 种方法做出总结和比较, 对未来需要解决的问题进行了探讨, 以期对乳源质量监控提供参考。

关键词: 乳源; 真伪鉴别; 核酸; 蛋白质; 无损检测

Research progress on identification technology of animal ingredients from different milk sources

MIAO Jin-Liang^{1,2}, ZHANG Jiu-Kai², ZHOU Zheng-Huo³, XING Ran-Ran², YU Ning²,
NI Xue², WANG Jing¹, CHEN Ying^{2*}

[1. School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China; 3. ZJ Bondi Labs (Beijing) Intelligent Technologies Co., Ltd., Beijing 101399, China]

ABSTRACT: With the development of China's economy and the continuous improvement of people's living standards, dairy products have become an important part of the daily diet. Milk and dairy products contain nutrients necessary to promote the growth and development of the body and maintain health. Characteristic milks such as donkey milk, camel milk and yak milk are more and more popular because of their good nutritional value. Due to the good market prospects of special milk and its low production, the price of characteristic milks in the market is now generally higher than that of cow's milk. Driven by economic interests, the problem of adulteration of characteristic dairy has become increasingly prominent, thus identification of milk animal ingredients has become a hotspot for research in recent years. At present, domestic and foreign researchers have established a number of identification methods. This article reviewed the current situation of the identification methods of milk animal ingredients in the characteristic dairy, from 4 aspects: Nucleic acid, protein, compound-based method and intelligent non-destructive

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1604204)、中国检验检疫科学研究院基本科研业务费项目(2020JK044)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1604204), and the Science Basic Research Operations Fund Project of China Academy of Inspection and Quarantine (2020JK044)

*通信作者: 陈颖, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: chenyingcai@163.com

*Corresponding author: CHEN Ying, Ph.D, Professor, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, No.11, Rong Hua South Road, Beijing Economic-Technological Development Area, Beijing 100176, China. E-mail: chenyingcai@163.com

rapid testing. This article summarized and compared 4 kinds of methods, and discussed the problems to be solved in the future, in order to provide reference for milk sources quality monitoring.

KEY WORDS: milk sources; authenticity identification; nucleic acid; protein; non-destructive testing

0 引言

乳是营养非常丰富的食物, 富含蛋白质、碳水化合物、矿物质和维生素等, 乳中蛋白质含量在 37 g/L 以上^[1]。乳制品是以牛、羊、马、骆驼等的乳为主要原料加工制成的食品^[2]。乳制品目前已成为我国居民日常饮食的重要组成部分。据中国海关数据, 2019 年我国各类乳制品进口总量为 313.16 万 t, 同比增长 11.19%^[3]。随着人民日益增长的美好生活需要, 非牛乳乳源的特种乳制品因其各自的价值特色而逐渐受到人们的青睐, 如山羊乳脂有着更好的消化率^[4], 牦牛乳富含共轭亚油酸和钙, 被认为是天然的浓缩牛奶^[5], 驴乳与人乳成分相似^[6]等。《中国统计年鉴》数据显示: 2017—2019 年, 特种乳总产量仅为牛乳的 3.6% 左右^[7]。由于特种乳的良好市场前景和较低的产量, 目前市场中特种乳价格普遍较高, 由此出现出于经济原因的乳源掺假现象, 主要是用价格较低的牛乳掺入价格较高的特色乳中。乳源掺假问题不仅对消费者合法权益造成损害, 而且对牛奶过敏消费者的健康构成一定威胁。

为保护消费者合法权益, 世界各国颁布了相应的法律法规和标准以规范乳和乳制品市场。例如美国《联邦食品、药品和化妆品法案》对于乳制品的生产、标签方面及防止掺假行为做出了明确规定^[8]。欧盟为保障乳制品质量, 也出台了一系列法规, 涉及乳制品生产、加工和消费等方面。在我国, 《食品安全法》第七十一条规定: 食品标签应当清楚明显, 不得含有虚假内容^[9]。GB 7718—2011《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》也对配料标签的内容和真实性做出了规定。

虽然各国对于乳及乳制品的生产、标识等都有着各自的法律法规体系, 但相关法律法规的执行还需要依靠相关科学的检测方法。本文从基于核酸、蛋白质、化合物的方法和智能无损快检等的鉴伪技术综述了近 5 年各国对于乳及乳制品乳源掺假问题的研究, 对各类技术进行分析总结并对未来需要解决的问题进行探讨, 以期对乳源掺假鉴别研究提供参考。

1 分子生物学方法

基于核酸的乳源鉴别方法不受动物泌乳期、健康状况及时间季节的影响, 具有特异性强、灵敏度高等特点。目前乳源鉴别的核酸检测方法主要有聚合酶链反应技术(polymerase chain reaction, PCR)、分子指纹图谱技术及环介导等温扩增技

术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)等。

1.1 PCR 技术

常规 PCR 技术模拟 DNA 天然的复制过程, 其特异性依赖于与靶序列两段互补的寡核苷酸引物。HAZRA 等^[10]采用 PCR 技术扩增奶牛 DNA 线粒体 *D-Loop* 区长度为 126 bp 目标片段, 实现了印度水牛奶酪中牛乳掺假检测, 检测限可达 1%。HAZRA 等^[11]基于线粒体基因设计奶牛特异性引物, 通过 PCR 扩增获得目的序列以区分水牛乳制品中牛乳掺假, 同时研究了奶牛乳和血液中基因组 DNA 跨物种引物的特异性。结果表明, 此方法操作特异性强、简便快捷, 但仅可用于乳制品中牛乳掺假的单一成分检测。多重 PCR 技术解决了掺假成分检测单一的问题。多重 PCR 反应体系含有多对引物, 能够同时扩增多个 DNA 区域和检测多种成分, 具有检测效率高、成本低、时间短等优点。CHOOPAN 等^[12]基于细胞色素氧化酶亚基 I (*COI*)和细胞色素 b (*cyt b*)基因设计了 3 对特异性引物, 建立了基于毛细血管电泳检测的三重 PCR 方法, 实现了鲜乳及乳制品中奶牛、绵羊和山羊乳源性成分鉴定。刘建兰^[13]通过双重 PCR 获得牛、羊目标 DNA 片段(牛: 256 bp、羊: 326 bp), 并基于该方法对 4 种不同市售品牌羊奶粉进行鉴定, 其中有 3 种羊奶粉存在掺假问题。

实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 通过荧光信号对 PCR 过程进行实时监测, 无需琼脂糖凝胶电泳, 方法灵敏度高、重现性好, 且可以有效降低污染。GUO 等^[14]采用 qPCR 探针法检测到马奶酒中酸牛乳清(奶酪发酵副产物)、山羊乳及奶酪中的牛乳掺假^[15], 方法特异性和可重复性良好。宋宏新等^[16]建立了结合染料 SYBR Green I 的 qPCR 方法, 并对市售 11 份羊乳制品进行检测, 其中有 7 个样品存在不同程度的牛乳掺假, 该方法牛乳检测限为 2.5%。HAI 等^[17]建立了基于线粒体 12S rRNA 的三重 qPCR 方法, 可用于检测乳粉、发酵乳及奶酪中骆驼源性和牛源性成分。qPCR 相比较常规 PCR 方法来说, 不需要凝胶电泳, 减少了污染, 但需要合成荧光标记探针, 增加了检测成本, 且 qPCR 可以通过对每个样品循环阈值 (cycle threshold, Ct) 的计算, 根据标准曲线进行定量。

1.2 分子指纹图谱技术

分子指纹图谱技术是根据物种特有的细胞遗传学特征, 利用分子标记技术进行相近品种或品系区分鉴别或目标基因定位。随着分子生物学的不断发展, 各类分子标记技术也不断涌现, 如限制性片段长度多态性(restriction

fragment length polymorphism, RFLP)、随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)等^[2]。

RFLP 是近年来用于乳和乳制品中种类鉴定的分子技术之一。PCR-RFLP 采用 PCR 技术可将少量甚至微量的 DNA 进行扩增, 然后进行酶切、电泳分离, 达到基于微量 DNA 构建 RFLP 图谱目的^[18], YAN 等^[19]通过线粒体 12S rRNA 动物通用引物扩增得到奶牛、牦牛、水牛目标基因片段, 利用 *Msp1* I 酶对奶牛和水牛目标基因进行酶切, 对于牦牛和奶牛目标基因使用 *Msp1* I 和 *Pac* I 酶进行双酶切。结果显示, 对 PCR 产物酶切得到的 285、144 和 203 bp DNA 片段分别是奶牛、水牛和牦牛特征片段, 该方法可以检测牦牛乳和水牛乳中的牛乳掺假。EWIDA 等^[20]使用 *Hinf* I 酶对水牛和奶牛 *cyt b* 基因中 360 bp 的目标基因进行特异性酶切, 利用该方法检测 50 个市售水牛乳样品, 掺假比例高达 90%。PCR-RFLP 操作简单、成本低, 但方法依赖于酶切位点的选择。酶切位点种内变异可能使酶切位点消失, 深加工乳制品中 DNA 可能发生裂解导致选择合适的酶切位点较难等都是此方法的制约因素。

RAPD 可以利用随机引物对物种基因组 DNA 进行多态性检测, 无需专门设计引物, 已被广泛应用于遗传多样性评价和物种鉴定^[21-23]。特征性片段扩增区域(sequence characterized amplified region, SCAR)标记技术是在 RAPD 技术的基础上发展而来的。2016 年 CUNHA 等^[24]开发出一

种有效鉴别绵羊乳中掺牛乳的 RAPD 方法。考虑到奶酪加工过程会对方法准确性产生影响, 因此在原方法基础上设计了 SCAR 标记, 用于检测绵羊奶酪中牛乳掺假。RAPD 的重复性差, 可能原因有模板的质量和浓度、短的引物序列、PCR 的循环次数等。

1.3 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术是一种能在等温(60~65 °C)条件下, 短时间(通常是 1 h)内进行核酸扩增, 是一种简便、快速、低成本的基因扩增方法。李婷婷等^[25]基于山羊的甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)基因和奶牛 *cyt b* 基因分别设计引物, 建立了可以检测山羊乳中牛乳掺假的方法。实验使用了钙黄绿素染料, 可直接对检测结果进行观察, 该方法的灵敏度可达 1%, 为山羊乳真伪识别现场检测提供了技术支撑。KIM 等^[26]使用双重实时 LAMP 结合便携荧光设备对市售山羊液体乳和发酵乳中牛乳成分进行检测, 实验结果显示, 检测限为 2%, 采样至结果分析只需 30 min, 实现了现场山羊乳中牛乳掺假的快速检测。与 PCR 相比, 不需要模板热变性, 温度循环, 电泳及紫外观察等过程, 可肉眼观察结果, 具有快速高效、特异性强等优点, 可以用于现场快速检测。表 1 是乳源检测分子生物学方法研究总结, PCR 技术是应用较多的技术, 也是目前较成熟的技术。

表 1 基于核酸方法的乳源掺假鉴别国内外研究进展

Table 1 Research progress of milk adulteration identification based on nucleic acid method at home and abroad

物种	分析技术	扩增目的基因	参考文献
水牛、奶牛	常规 PCR	<i>mtDNA</i>	[10]
水牛、奶牛	常规 PCR	线粒体 <i>D-Loop</i> 区	[11]
羊、奶牛	常规 PCR	<i>12S rRNA</i>	[13]
绵羊、山羊、奶牛	常规 PCR	<i>COI</i> 、 <i>cyt b</i>	[12]
水牛、绵羊、山羊、奶牛	RT-PCR	<i>12S rRNA</i> 、 <i>cyt b</i>	[27]
马、牛	RT-PCR	<i>12S rRNA</i>	[14]
山羊、奶牛	RT-PCR	<i>12S rRNA</i>	[28]
牛、羊	RT-PCR	<i>12S rRNA</i>	[15]
水牛、山羊、绵羊、奶牛	RT-PCR	<i>12S rRNA</i> 、 <i>cyt b</i>	[29]
奶牛、绵羊、山羊	RT-PCR	<i>16S rRNA</i>	[30]
山羊、绵羊、牛	RT-PCR	<i>12S rRNA</i> 、 <i>cyt b</i>	[31]
羊、牛、大豆、谷物	RT-PCR	<i>12S rRNA</i> 、 <i>cyt b</i> 、 <i>lectin</i> 、 <i>rbcL</i>	[32]
奶牛、水牛、牦牛	RFLP	<i>12S rDNA</i>	[18]
奶牛、水牛	RFLP	<i>cyt b</i>	[19]
奶牛、绵羊	RAPD-SCAR	/	[23]
奶牛、绵羊	LAMP	<i>GAPDH</i> 、 <i>cyt b</i>	[24]
奶牛、山羊	LAMP	<i>cyt b</i>	[25]
奶牛、羊	LAMP	<i>mtDNA</i>	[33]

注: RT-PCR: 逆转录聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction); “/”表示无。

2 蛋白质检测方法

蛋白质是乳制品中主要的营养物质, 基于蛋白的方法在检测乳制品中不同乳源掺假的同时, 还可以直接呈现出蛋白种类与含量。近年来用于乳源掺假检测的蛋白方法主要有: 电泳法、酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫层析法和质谱法等。

2.1 电泳法

基于凝胶的电泳方法是一种传统的检测方法。近几年应用在乳源掺假检测的电泳方法主要有聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、双向凝胶电泳(2-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)、毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)等。

聚丙烯酰胺凝胶中加入去污剂 SDS 后, 蛋白迁移率仅取决于蛋白分子量大小, 因此能够有效分离蛋白质, 达到检测的目的。阿力木·吾布力等^[34]使用 SDS-PAGE 找出牛乳乳清与特种乳(骆驼乳、山羊乳、驴乳)乳清差异蛋白从而实现对不同乳源的鉴定。与牛乳乳清相比, 驼乳清中无 β -乳球蛋白, 山羊乳清无乳铁蛋白、驴乳清无 α -乳白蛋白, 根据模拟掺假比例, 得到有效鉴别体积分别为 1:10、1:4 和 1:10 ($V_{\text{牛乳}}:V_{\text{特种乳}}$)。此方法对乳制品中低丰度、疏水性蛋白检测效果差, 无法区分分子量相同的蛋白, 分辨率不高。2-DE 是根据水平方向上蛋白的等电点(isoelectric point, pI)和垂直方向上分子量不同进行蛋白质的分离纯化。刘鸣畅等^[35-36]使用 2-DE 对牛羊乳蛋白指纹图谱进行分析, 实验结果证明, 建立的方法可以实现牛羊乳的区分鉴别, 可识别羊乳制品中质量分数不小于 5%的牛乳蛋白成分。

CE 是以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力的分离技术。TRIMBOLI 等^[37]以牛乳的 α 乳清蛋白为掺假标记物, 检测和定量水牛奶酪中的牛乳掺假。

电泳法是一种较为便捷的方法, 但电泳法有着分辨率低、蛋白质重叠、低丰度检测效果差等各种问题, 在通量和准确度方面都显现出了不足。

2.2 酶联免疫法

ELISA 是利用抗原-抗体反应的特异性进行成分鉴别的一种方法。REN 等^[38]开发了一种基于高亲和力抗牛 β -酪蛋白单克隆抗体的 ELISA 检测试剂盒, 用于快速检测牦牛乳中的牛乳掺假。此方法特异性较高, 对牦牛乳测试时, 交叉反应率<1%, 牦牛乳中牛乳掺假检出限为 1%(体积/体积)。实验结果显示, 加热、酸化和添加凝乳酶等不同处理方法均不会干扰检测。ZELENKOVA 等^[39]研究了在热处理后, 使用 ELISA 检测试剂盒检测羊液态乳和奶酪样品中牛乳掺假的可靠性。使用回归分析检查了液态乳和奶酪中的实际牛乳含量与检测到的含量(%)之间的关系, 结果显

示, R^2 值从 0.4058(奶酪)到 0.5175(液态乳)不等, 这意味着在未知样品检测中, 无法确定牛乳的掺假量。

ELISA 方法较质谱法和电泳法优点在于操作简便, 开发的检测试剂盒对检测人员实验等相关技能要求不高。实验成本低, 可以同时检测多个样品。但其依赖于一个稳定的抗原或特异性的单克隆抗体, 且在鉴别同属不同种的物种时, 很可能发生交叉反应, 产生假阳性的结果。此外, 由于加热发酵等因素会破坏乳中蛋白质, 因此产品的加工工艺也会对此方法的准确度产生影响。

2.3 胶体金免疫层析法

免疫胶体金技术(immune colloidal gold technique, GICT)是待检测抗原通过层析进入检测区与胶体金标记抗体结合显色, 从而实现检测的目的^[40]。张颖^[41]以 β -乳球蛋白对象, 建立了胶体金标记层析法进行牛羊乳的区分检测, 优化相关实验条件后, 可检测羊乳中最低 2%的牛乳掺假。王士峰等^[42]的研究建立了一种可以快速检测羊乳粉中牛 β -乳球蛋白的免疫层析方法, 并通过此方法开发了试纸条, 实验结果表明, 试纸条检测限为 50 $\mu\text{g/mL}$, 且没有与其他成分产生有效的交叉反应。该方法前处理快速简单, 在 5 min 内即可观察到结果, 不需要借助其他分析工具。

胶体金免疫层析技术优点在于操作简便, 特别是对于开发的试纸条来说, 检测速度快、成本低。但此方法检测目标单一, 而且不同原料来源和保存条件等对检测结果的准确性都存在一定影响。

2.4 质谱法

质谱法是蛋白质高通量鉴定、表征和定量的常用方法, 可在一个实验中分析成千上万种蛋白质。质谱分析数据可以结合多种生物信息学工具来获得有关肽序列和蛋白丰度的信息。基于质谱的蛋白质定性研究技术以肽质量指纹图谱(peptide mass fingerprinting, PMF)和“鸟枪”法为主。

PMF 核心技术是 2-DE 和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)。YANG 等^[43]通过 2-DE 结合质谱技术分析牛乳、山羊乳、骆驼乳、牦牛乳和水牛乳的主要蛋白质谱及这些乳的二元混合物, 以检测混合物中的特定乳源种类。结果表明, 凝胶图谱上的 α -乳白蛋白和/或 β -乳球蛋白斑点分布可用于检测山羊、骆驼、牦牛和水牛乳中的牛乳掺假。此种方法需要在质谱前进行双向电泳分离蛋白, 耗时较长。

“鸟枪”法是指样品经酶水解为肽段混合物, 利用液相色谱法(liquid chromatography, LC)分离肽段和串联质谱法检测, 具体流程见图 1。BERNARDI 等^[44]使用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)分析技术, 用于奶酪中不同乳源的准确鉴别。筛选牛乳、绵羊乳、山羊乳和水牛乳候

选特征肽段,通过多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)验证后获得可靠的物种特异性肽段,实现对 4 个物种同时定性检测。研究还对样品进行发酵处理,验证所获得肽段在奶酪中的稳定性,结果表明加工方式并不会影响特异性肽段的稳定性。CAMERINI 等^[45]基于 LC-MS/MS 分析技术,挖掘了来自 β -乳球蛋白和 α -乳清蛋白的 3 种物种(羊、水牛、奶牛)特异性肽,用以检测水牛或羊乳清干酪中的牛乳清掺假。通过提取离子峰面积与制作的梯度掺假样品拟合曲线进行了相对定量,检出限均 $\leq 0.5\%$ ($V:V$)。CHEN 等^[46]通过超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole-mass spectrometry, UPLC-TQ-MS)对乳制品原料中牛、绵羊和山羊乳进行定性和定量检测。实验筛选得到了奶牛、绵羊和山羊乳的标志肽,设计并合成了 2 个肽段作为内标进行绝对定量。实验结果表明,羊乳中牛乳的掺假定量限为 1%,回收率为 96.2%~104.4%。此方法具有良好的灵敏度、特异性和可重复性,但对于掺假的定量检测并未考虑到小于 1%的无意污染可能会给牛乳过敏人群带来潜在的过敏危险。NARDIELLO 等^[47]基于 LC-MS/MS 技术,对牛乳和山羊乳样品使用胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶进行双酶酶切,可以检测出低于 1%的牛乳污染。此方法优点在于使用双酶酶切,对于亲缘关系较近的物种,单酶酶切可能无法获得特异性肽段,双酶酶切得到的肽段更为简短,有利于特征肽段的发掘。

基于质谱的蛋白方法解决了电泳法存在的诸如分辨

率低等问题,对于食品掺假检测来说,仅需进一针样品,即可检测多种靶向物质,是一种高通量、高灵敏度、高准确性的方法,但质谱法在蛋白鉴定时对蛋白数据库和生物信息学分析依赖性较大,对于蛋白库信息较少的物种,所得到的鉴定结果可能不能满足研究需求。相信随着数据库不断扩大和生物信息学不断发展,质谱法的应用前景会更为广阔。

近年来基于蛋白方法的乳源掺假研究见表 2,从乳源鉴别物种来看,基于蛋白方法覆盖了大部分特种乳,其中涉及较多的是羊乳和水牛乳。从技术来看,相比较分子生物学方法来说,基于凝胶和质谱的蛋白方法不仅可以实现物种检测,更能直接呈现出乳中的蛋白种类,且质谱法做绝对定量更为成熟。分子生物学方法优点在于定性检测的特异性和灵敏度。从检测时间来说,无论是凝胶电泳的染色脱色或质谱进样前的蛋白质处理,相比分子生物学方法来说,耗时都较长。

3 基于化合物的方法

基于化合物的检测方法主要通过现代仪器结合化学计量学方法对生物体内代谢产物进行定性定量分析^[49],具体流程图见图 2。脂质在不同食品中的组成和含量上的差异使得其可以作为食品真实性鉴别的一个依据^[50]。用于乳制品乳源鉴别的常用方法有色谱质谱联用和核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)等。

表 2 基于蛋白质方法的乳源掺假鉴别国内外研究进展

Table 2 Research progress of milk adulteration identification based on protein method at home and abroad

鉴别对象	分析技术	鉴别依据	参考文献
牛乳、驼乳、山羊乳、驴乳	SDS-PAGE	乳清差异蛋白	[34]
牛乳、羊乳	2-DE	蛋白指纹图谱	[35]
水牛乳、牛乳	CE	α -乳清蛋白	[36]
羊乳、牛乳	CE	酪蛋白 C1 号蛋白标志峰	[37]
牛乳、牦牛乳	ELISA	抗牛 β -酪蛋白单克隆抗体	[38]
羊乳、牛乳	ELISA	牛血清蛋白	[39]
牛乳、羊乳、驼乳、牦牛乳、水牛乳	2-DE、MS	α -乳清蛋白、 β -乳球蛋白	[43]
牛乳、山羊乳、绵羊乳、水牛乳	HPLC-MS	特异性肽段	[44]
羊乳、水牛乳、牛乳	LC-MS/MS	特异性肽段	[45]
牛乳、绵羊乳、山羊乳	UPLC-TQ-MS	特异性肽段	[46]
牛乳、山羊乳	LC-MS/MS	特异性肽段	[47]
牛乳、驼乳	HPLC-MS/MS	差异蛋白	[48]
羊乳、牛乳	GICT	β -乳球蛋白	[41]
羊乳、牛乳	GICT	β -乳球蛋白	[42]

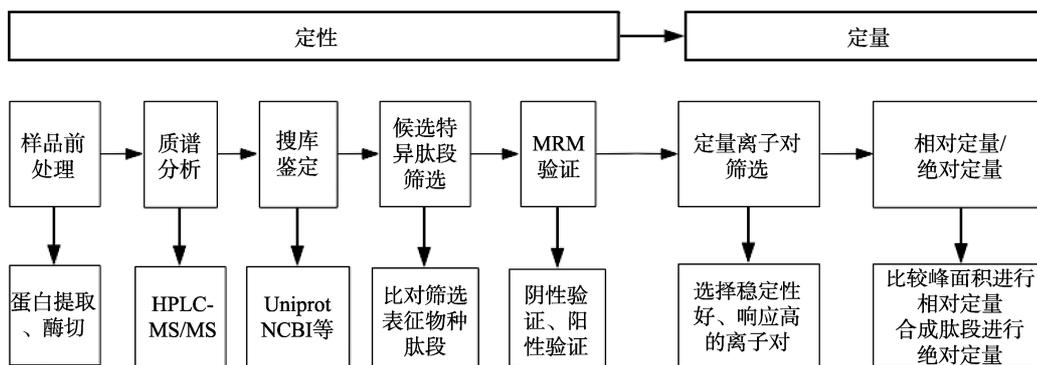


图 1 “鸟枪”法定性定量基本流程图

Fig.1 Basic flow chart of the qualitative and quantitative "shotgun" method

3.1 GC-MS

气相色谱-质谱技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)是兼具气相色谱分离能力和质谱检测能力的检测技术,可以同时完成对待测样品的分离和鉴定^[51],应用于肉制品掺假检测^[52]、大米产地溯源^[53]等食品真伪鉴别方面。GC-MS可以通过鉴定乳制品中的特征化合物对样品真伪进行判别。2014年 SCANO等^[54]使用GC-MS结合偏最小二乘判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)鉴别了牛乳和山羊乳。结果显示,缬氨酸、甘氨酸和塔罗糖、苹果酸分别是山羊乳和牛乳的特有代谢物。SALZANO等^[55]则使用此技术对水牛乳和马苏里拉奶酪代谢物进行表征。从受保护原产地(protected designation of origin, PDO)与非PDO地区的液体乳和奶酪中共检测到185种代谢物。在PDO液体乳样品中,半乳糖吡喃糖苷、羟基丁酸、阿洛糖、柠檬酸含量较低,而非PDO样品中吡喃糖、泛酸、甘露二糖等浓度较低。GC-MS适合于挥发性较强物质的分析,且因其柱温基本为100℃以上,所以对于挥发性弱和热稳定性差的物质则需要进行衍生化处理,样品前处理的衍生化率则会对准确性产生一定的影响。

3.2 LC-MS

液相色谱-质谱法是较常用的质谱技术,可以得到丰富的化合物信息,较为全面地鉴别样品中化合物种类,从而达

到对不同乳源的鉴别。LI等^[56]使用高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱法(HPLC Q exactive orbitrap, HPLC-QE)测定了山羊乳、牛乳和豆奶中共13类脂质含量,发现13类脂质在3种样品中种类和含量差异显著,如山羊乳富含甘油三酯和不饱和脂肪酸等。基于脂质谱建立了PLS-DA模型以区分3种样品类型。MUNG等^[57]针对报道的加拿大存在网络售卖人乳且怀疑存在使用动物乳或植物蛋白掺假情况,使用基于高性能化学同位素标记的LC-MS方法分析未知乳样代谢物,将获得的代谢物图谱与人乳的化合物图谱进行主成分分析(principal component analysis, PCA)比较以确定胺/酚代谢物之间的差异,从而实现人乳与可能存在的掺假物的区分鉴别。LC-MS方法与GC-MS相比,柱温温和,适合热不稳定的物质分析,但化合物的鉴别依赖于数据库,目前非挥发性化合物数据库还需进一步完善。

3.3 NMR

核磁共振是利用原子核在磁场作用下的物理过程来分析检测样品的一种技术^[58],常用的为氢核磁共振(¹H-NMR)。SANCHEZ等^[59]使用¹H-NMR分析山羊乳粉中的44种代谢物,鉴定了来自脂族、糖和芳族区域的代谢产物,结合GC-MS鉴定到的烷烃、酮、醇、芳烃等共50种挥发物,可以实现对山羊乳粉的真实表征。斯仁达尔^[60]使用低场核磁共振技术结合PCA分析检测驼乳中的牛乳和羊乳掺假,最低检测限为10%,但检测限结果受到不同杀菌方式和不同产地驼乳的影响,灵敏度和准确性都需要进一步加强。

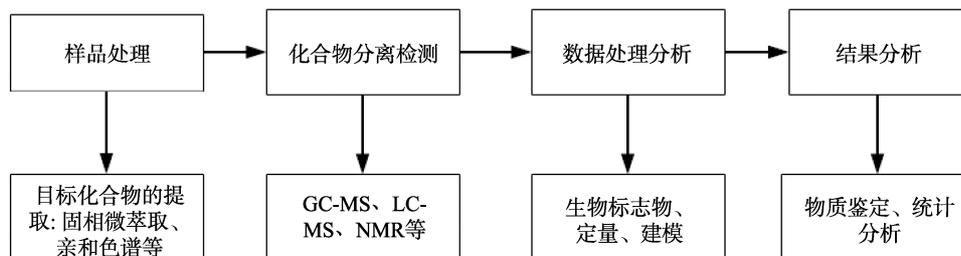


图 2 基于化合物的方法基本流程图

Fig.2 Basic flow chart of the compound-based approach

4 智能无损检测技术

无损检测是指在不破坏样品物化性质的前提下,利用样品构造和物化性质的不同所引起的光、声、电、磁和力等信息的不同从而实现对待测样品检测的一种方法。与上述3类检测方法相比,无损检测具有操作方便和易于实现现场检测等优点。目前用于乳源掺假鉴别中主要的快检技术有电子鼻/电子舌技术和光谱技术。

4.1 电子鼻/舌技术

电子鼻/舌主要由传感器构成,配以适当的模式识别方式或多元统计分析对风味物质进行定性定量分析。马利杰等^[61]使用电子鼻采集羊乳粉中不同比例牛乳粉掺假样品的挥发性成分响应值,结合PCA和Fisher线性判别分析(fisher linear discriminant analysis, FLDA)及线性回归拟合进行定性判别和定量分析。结果表明,FLDA及PCA都能够区分不同比例的掺假样品,FLDA区分效果优于PCA。金螺等^[62]基于同样技术,利用PCA和LDA对羊乳牛乳混合物进行分析,结果表明,经过巴氏杀菌的羊乳原有的风味物质挥发,而牛乳则产生了新的风味物质,且2种巴氏乳的感应值有明显区别,由此确立了方法在杀菌条件后的适用性。

韩慧等^[63]使用电子舌建立了羊乳中牛乳掺假的快速预测模型。用2种不同扫描模式分别获得了掺假羊乳的“指纹”数据和特征信息。通过PCA和粒子群优化极限学习机(particle swarm optimization extreme learning machine, PSO-ELM)对不同掺假比例的羊奶分别进行了定性和定量。结果显示,实验样品定性区分可达到100%,定量预测模型也具有较高精确度。HAN等^[64]使用电子舌,通过核主成分分析(kernel-PCA, KPCA)定性鉴定不同梯度的山羊乳中牛乳掺假,通过比较极限学习机(extreme learning machine, ELM)的4种算法,确定了用改进的ELM方法建立掺假山羊乳的定量预测模型,结果显示模型 R^2 为0.998,平均绝对误差为0.083,证明定量模型具有较高的预测精度。

电子鼻和电子舌技术具有成本低、操作方便、样本预处理简单等优点,可以用于现场的快速检测。但对于建立的定量模型,需要有足够的样本量以完善模型数据,确保实际检测的准确度。

4.2 光谱技术

光谱技术是基于每种物质的特征谱线鉴别物质和确定其化学组成。

MABOOD等^[65]使用近红外光谱(near infrared, NIR)结合PCA、PLS-DA、PLS回归分析建立模型,鉴别骆驼乳中的掺假牛乳,掺假检出限为0.5%。GENIS等^[66]使用同步荧光光谱(synchronous fluorescence spectroscopy, SFS)来鉴定发酵乳制品(酸乳和奶酪)中的乳源种类。通过牛乳、山羊乳、

绵羊乳和水牛乳的荧光团化合物差异进行判别,并使用PLS模型来量化二元混合物中的掺假比例,奶酪样品的掺假检出限低于3.3%。后来,GENIS等^[67]研究了牛、山羊、绵羊和水牛乳的SFS的差异,通过建立的二元液态乳混合物SFS校准模型,结合PLS-DA分析实现了4种乳的区分。

光谱技术虽然在灵敏度和准确性方面不如其他技术高,也需要依靠模型数据库的建立,但其在快速检测和现场检测方面则显现出优势和发展空间。目前光谱的方法仍然更多应用于乳制品中非法添加物的检测,对乳源检测还相对较少。

5 结束语

针对乳源掺假检测不同方法有着各自的优缺点。基于核酸的分子生物学方法对于不同乳源定性具有很好的灵敏度(可达纳克级)、重复性和特异性,是乳制品中乳源掺假的主要定性检测方法。蛋白方法立足于蛋白的角度,可以实现对乳源掺假的定性和定量,特别是基于质谱的“鸟枪”法,通过合成肽段或根据特异肽段的峰面积可以实现蛋白质的绝对和相对定量,根据乳中蛋白质含量比得到大致掺假比例,可以检测低至1%的掺假。基于化合物的方法检测处于生理生化等生命活动的末端产物,可以通过对样品中脂质或其他小分子物质的鉴定,实现对不同乳源的区分。但化合物数据库不够完整准确,通过化学计量学构建的模型通用性不强等问题是此方法需要进一步解决的。以上3种方法都具有高效、灵敏等优点,但很少能够实现现场的快速检测。智能无损检测具有效率高、耗时短、可以实现现场快速检测等优点,而准确度和灵敏度则是智能无损检测需要发展的一个方向。但在目前的研究中,乳源掺假定性检测报道较多,而掺假定量的研究则较少,是后续研究的一个方向。鉴于乳制品种类繁多,要实现对市场乳制品的乳源掺假快速且准确全面的检测,还需要多方法的联合。

参考文献

- [1] 马露. 奶牛、水牛、牦牛、娟珊牛、山羊、骆驼和马乳特征性成分分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
MA L. Identification of the characteristic component in milk from Holstein cow, buffalo, yak, Jersey cattle, goat, camel and horse [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014.
- [2] 陈颖, 葛毅强. 食品真实属性表征分子识别技术[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
CHEN Y, GE YQ. Molecular identification techniques for the characterisation of real food properties [M]. Beijing: Science Press, 2015.
- [3] 工业和信息化部消费品工业司. 食品工业发展报告[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2019.
Department of Consumer Goods Industry, Ministry of Industry and Information Technology. China food industry annual report [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2019.
- [4] WATSON RR, COLLIER RJ, PREEDY VR. Nutrients in dairy and their

- implications for health and disease [M]. USA: Academic Press, 2017.
- [5] SHENG Q, LI J, ALAM MS, *et al.* Gross composition and nutrient profiles of Chinese yak (Maiwa) milk [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2008, 43(3): 568–572.
- [6] MARTINI M, ALTOMONTE I, LICITRA R, *et al.* Nutritional and nutraceutical quality of donkey milk [J]. *J Equine Vet Sci*, 2018, 65: 33–37.
- [7] 中华人民共和国统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2020.
National Bureau of Statistics of the People's Republic of China. China statistical yearbook [M]. Beijing: China Statistics Press, 2020.
- [8] U.S. Food and Drug Administration. Federal food, drug, and cosmetic act [EB/OL]. [2018-03-28]. <https://www.epa.gov/laws-regulations/summary-federal-food-drug-and-cosmetic-act> [2021-06-08].
- [9] 全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国食品安全法[EB/OL]. [2018-12-28]. http://www.npc.gov.cn/wxzl/gongbao/2015-07/03/content_1942866.htm [2021-06-08].
The National People's Congress of the People's Republic of China. Food safety law of the People's Republic of China [EB/OL]. [2018-12-28]. http://www.npc.gov.cn/wxzl/gongbao/2015-07/03/content_1942866.htm [2021-06-08].
- [10] HAZRA T, SHARMA V, SHARMA R, *et al.* PCR based assay for the detection of cow milk adulteration in buffalo milk [J]. *Indian J Anim Res*, 2018, 52(3): 383–387.
- [11] HAZRA T, SHARMA V, SHARMA R, *et al.* Detection of cow milk paneer in mixed/buffalo milk paneer through conventional species specific polymerase chain reaction [J]. *Indian J Anim Res*, 2017, 51(5): 962–966.
- [12] CHOOPAN R, THANAKIATKRAI P, KITPIPI T. Simultaneous species identification in milk and dairy products using direct PCR [J]. *Forensic Sci Int*, 2017, 6: 214–215.
- [13] 刘建兰. 牛羊乳区别检验的 PCR 检测技术研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2018.
LIU JL. Development of a multimerase chain reaction based technique to test the maturity of goat's milk versus cow's milk [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science & Technology, 2018.
- [14] GUO L, QIAN J, GUO YS, *et al.* Simultaneous identification of bovine and equine DNA in milks and dairy products inferred from triplex TaqMan real-time PCR technique [J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101(8): 6776–6786.
- [15] GUO L, YA M, HAI X, *et al.* A simultaneous triplex TaqMan real-time PCR approach for authentication of caprine and bovine meat, milk and cheese [J]. *Int Dairy J*, 2019, 95: 58–64.
- [16] 宋宏新, 刘建兰, 徐丹, 等. 羊乳制品中牛乳成分的荧光定量 PCR 检测方法研究[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(7): 283–287, 99.
SONG HX, LIU JL, XU D, *et al.* Identification of bovine milk components in goat dairy products using real-time PCR [J]. *Food Ferment Ind*, 2018, 44(7): 283–287, 99.
- [17] HAI X, LIU GQ, LUO JX, *et al.* Triplex real-time PCR assay for the authentication of camel-derived dairy and meat products [J]. *J Dairy Sci*, 2020, 103(11): 9841–9850.
- [18] AGINDOTAN BO, SHIEL PJ, BERGER PH. Simultaneous detection of potato viruses, PLRV, PVA, PVX and PVY from dormant potato tubers by TaqMan® real-time RT-PCR [J]. *J Virol Methods*, 2007, 142(1): 1–9.
- [19] YAN BJ, HAI W, DONG JH, *et al.* Identification of bovine, buffalo and yak milk with polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism [J]. *J Food Agric Environ*, 2013, 11(3-4): 455–457.
- [20] EWIDA RM, EL-MAGIUD D. Species adulteration in raw milk samples using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism [J]. *Vet World*, 2018, 11(6): 830–833.
- [21] 徐苏丽. 利用 RAPD 标记法鉴定新安地区多花黄精及长梗黄精的分析与研究[J]. *普洱学院学报*, 2019, 35(3): 10–11.
XU SL. On the identification of polygonatum cyrtoneura hua and polygonatum filipes in Xin'an area by RAPD [J]. *J Puer Univ*, 2019, 35(3): 10–11.
- [22] SINGH N, ANAND G, KAPOOR R. Virulence and genetic diversity among *Fusarium oxysporum* f. sp. *carthami* isolates of India using multilocus RAPD and ISSR markers [J]. *Trop Plant Pathol*, 2019, 44(5): 409–422.
- [23] CUNHA JT, DOMINGUES L. RAPD/SCAR approaches for identification of adulterant breeds' milk in dairy products [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1620: 183–193.
- [24] CUNHA JT, RIBEIRO TI, ROCHA JB, *et al.* RAPD and SCAR markers as potential tools for detection of milk origin in dairy products: Adulterant sheep breeds in Serra da Estrela cheese production [J]. *Food Chem*, 2016, 211: 631–636.
- [25] 李婷婷, 赵路遥, 张桂兰, 等. 环介导等温扩增技术检测山羊奶中的牛奶成分[J]. *生物技术通讯*, 2018, 29(6): 836–839.
LI TT, ZHAO LY, ZHANG GL, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of goat milk adulteration with cow milk [J]. *Lett Biotechnol*, 2018, 29(6): 836–839.
- [26] KIM MJ, KIM HY. Direct duplex real-time loop mediated isothermal amplification assay for the simultaneous detection of cow and goat species origin of milk and yogurt products for field use [J]. *Food Chem*, 2018, 246: 26–31.
- [27] 宋宏新, 刘建兰, 徐秦峰. 羊乳及其制品中掺入牛乳成分的双重 PCR 检测[J]. *陕西科技大学学报*, 2018, 36(1): 34–38, 44.
SONG HX, LIU JL, XU QF. A duplex real-time PCR for the detection of bovine milk in goat's milk [J]. *J Shaanxi Univ Sci Technol*, 2018, 36(1): 34–38, 44.
- [28] AGRIMONTI C, PIRONDINI A, MARMIROLI M, *et al.* A quadruplex PCR (qxPCR) assay for adulteration in dairy products [J]. *Food Chem*, 2015, 187: 58–64.
- [29] DI DOMENICO M, DI GIUSEPPE M, WICOCHIA RJD, *et al.* Validation of a fast real-time PCR method to detect fraud and mislabeling in milk and dairy products [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(1): 106–112.
- [30] KEMAL SA, YILMAZ B, TOSUN H. Real-time PCR is a potential tool to determine the origin of milk used in cheese production [J]. *LWT*, 2017, 77: 332–336.
- [31] DIPINTO A, TERIO V, MARCHETTI P, *et al.* DNA-based approach for species identification of goat-milk products [J]. *Food Chem*, 2017, 229: 93–97.
- [32] 陈筱婷. 乳及乳制品真实属性多重实时荧光 PCR 检测方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
CHEN XT. Research on Multiplex PCR detection method of the real property of milk and dairy products [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [33] 澹台玮. 乳及乳制品中牛羊源性成分的现场 LAMP 检测方法研究[D].

- 西安: 陕西科技大学, 2020.
- DAN TW. Study on LAMP method for on-site detection of bovine and goat derived components in milk and dairy products [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science & Technology, 2020.
- [34] 阿力木·吾布力, 杨洁, 苏力坦·阿巴百克力. SDS-PAGE 电泳在鉴别用牛乳掺伪的新疆特种乳中的应用[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(23): 99-102.
- ALIMU WBL, YANG J, SULITAN ABBKL. Use of SDS-PAGE in detecting bovine milk content in adulterated Xinjiang non-bovine milk [J]. J Anhui Agric Sci, 2016, 44(23): 99-102.
- [35] 刘鸣畅, 侯艳梅, 王斌, 等. 双向电泳技术鉴别牛羊乳品真实性[J]. 食品科学, 2019, 40(4): 324-331.
- LIU MC, HOU YM, WANG B, *et al.* Authentication of cow and goat milk products by two-dimensional electrophoresis [J]. Food Sci, 2019, 40(4): 324-331.
- [36] 刘鸣畅, 侯艳梅, 杨艳歌, 等. 毛细管电泳技术检测羊乳婴幼儿配方粉中的牛乳成分[J]. 中国食品学报, 2019, 19(5): 270-275.
- LIU MC, HOU YM, YANG YG, *et al.* Detection of cow milk components in goat milk from infant formula using capillary gel electrophoresis method [J]. J Chin Instit Food Sci Technol, 2019, 19(5): 270-275.
- [37] TRIMBOLI F, COSTANZO N, LOPREIATO V, *et al.* Detection of buffalo milk adulteration with cow milk by capillary electrophoresis analysis [J]. J Dairy Sci, 2019, 102(7): 5962-5970.
- [38] REN QR, ZHANG H, GUO HY, *et al.* Detection of cow milk adulteration in yak milk by ELISA [J]. J Dairy Sci, 2014, 97(10): 6000-6006.
- [39] ZELENKOVA L, ZIDEK R, CANIGOVA M, *et al.* Research and practice: Quantification of raw and heat treated cow milk in sheep milk, cheese and bryndza by ELISA method [J]. Potravinarstvo, 2016, 10(1): 14-22.
- [40] 刘静. 羊乳中掺入牛乳的免疫检测技术研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014.
- LIU J. Preparation of immunomagnetic microspheres and application research of colloidal gold labeling technology [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2014.
- [41] 张颖. 基于 β -乳球蛋白的牛羊乳区别检测技术研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2019.
- ZHANG Y. Study on the differential detection technology of bovine and sheep milk based on β -lactoglobulin [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2019.
- [42] 王士峰, 姚添淇, 冯荣虎, 等. 胶体金免疫层析法快速检测配方羊奶粉中的牛 β -乳球蛋白[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 60-64.
- WANG SF, YAO TQ, FENG RH, *et al.* Colloidal gold immunochromatographic assay for rapid detection of bovine β -lactoglobulin in goat milk formulas [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(15): 60-64.
- [43] YANG Y, ZHENG N, YANG J, *et al.* Animal species milk identification by comparison of two-dimensional gel map profile and mass spectrometry approach [J]. Int Dairy J, 2014, 35(1): 15-20.
- [44] BERNARDI N, BENETTI G, HAOUET NM, *et al.* A rapid high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for unambiguous detection of different milk species employed in cheese manufacturing [J]. J Dairy Sci, 2015, 98(12): 8405-8413.
- [45] CAMERINI S, MONTEPELOSO E, CASELLA M, *et al.* Mass spectrometry detection of fraudulent use of cow whey in water buffalo, sheep, or goat Italian ricotta cheese [J]. Food Chem, 2016, 197: 1240-1248.
- [46] CHEN Q, KE X, ZHANG JS, *et al.* Proteomics method to quantify the percentage of cow, goat, and sheep milks in raw materials for dairy products [J]. J Dairy Sci, 2016, 99(12): 9483-9492.
- [47] NARDIELLO D, NATALE A, PALERMO C, *et al.* Milk authenticity by ion-trap proteomics following multi-enzyme digestion [J]. Food Chem, 2018, 244: 317-323.
- [48] FELFOUL I, JARDIN J, GAUCHERON F, *et al.* Proteomic profiling of camel and cow milk proteins under heat treatment [J]. Food Chem, 2017, 216: 161-169.
- [49] 俞邱豪, 张九凯, 叶兴乾, 等. 基于代谢组学的食品真实属性鉴别研究进展[J]. 色谱, 2016, 34(7): 657-664.
- YU QH, ZHANG JK, YE XQ, *et al.* Progress on metabolomics for authenticity identification of food [J]. Chin J Chromatogr, 2016, 34(7): 657-664.
- [50] 胡谦, 张九凯, 韩建勋, 等. 脂质组学在食品质量安全领域的应用进展[J]. 食品科学, 2019, 40(21): 324-333.
- HU Q, ZHANG JK, HAN JX, *et al.* Recent progress in the application of lipidomics in food safety and quality [J]. Food Sci, 2019, 40(21): 324-333.
- [51] 马先发. 气相色谱-质谱联用技术简介及应用[J]. 广东化工, 2020, 47(18): 173-176.
- MA XF. Introduction and applications of GC-MS [J]. Guangdong Chem Ind, 2020, 47(18): 173-176.
- [52] 李璐. 电子鼻结合 GC-MS 对羊肉掺假鸭肉肉的快速检测[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2016.
- LI L. The rapid detection of mutton adulterated with duck by electronic nose combined with GC-MS [D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2016.
- [53] 冯玉超, 富天昕, 李雪, 等. 基于 GC-MS 技术的不同产地稻米代谢组学研究[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(8): 902-909.
- FENG YC, FU TX, LI X, *et al.* Metabolomics of rice of different origins based on GC-MS technology [J]. Chin J Biological, 2018, 31(8): 902-909.
- [54] SCANO P, MURGIA A, PIRISI FM, *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.
- [55] SALZANO A, MANGANIELLO G, NEGLIA G, *et al.* A preliminary study on metabolome profiles of buffalo milk and corresponding mozzarella cheese: Safeguarding the authenticity and traceability of protected status buffalo dairy products [J]. Molecules, 2020, 25(2): 11.
- [56] LI Q, ZHAO Y, ZHU D, *et al.* Lipidomics profiling of goat milk, soymilk and bovine milk by UPLC-Q-exactive orbitrap mass spectrometry [J]. Food Chem, 2017, 224: 302-309.
- [57] MUNG D, LI L. Applying quantitative metabolomics based on chemical isotope labeling LC-MS for detecting potential milk adulterant in human

- milk [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1001: 78–85.
- [58] 陈利利, 李云志, 李丽. 代谢组学技术及其在食品鉴别中的应用[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(12): 585–589.
- CHEN LL, LI YZ, LI L. Metabolomics technology and its application in food identification [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2011, 32(12): 585–589.
- [59] SANCHEZ LJ, ZHU D, FREW R, *et al.* Optimization of nuclear magnetic resonance and gas chromatography-mass spectrometry-based fingerprinting methods to characterize goat milk powder [J]. *J Dairy Sci*, 2021, 104(1): 102–111.
- [60] 斯仁达来. 利用低场核磁共振技术快速检测掺假驼乳的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- SI RDL. Research on rapid detection of adulterated camel milk by low-field NMR techniques [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016.
- [61] 马利杰, 贾茹, 杨春杰, 等. 基于电子鼻技术对羊奶粉中掺假牛奶粉的快速检测[J]. *中国乳品工业*, 2014, 42(11): 47–50.
- MA LJ, JIA R, YANG CJ, *et al.* Rapid detection of goat milk powder adulterated milk powder based on electronic nose [J]. *Chin Dairy Ind*, 2014, 42(11): 47–50.
- [62] 金螺, 白丽娟, 彭小雨, 等. 采用电子鼻检测羊奶中的牛奶掺入[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(4): 165–168.
- JIN L, BAI LJ, PENG XY, *et al.* Discrimination of cow milk in goat milk by electronic nose [J]. *Food Ferment Ind*, 2015, 41(4): 165–168.
- [63] 韩慧, 王志强, 李彩虹, 等. 基于电子舌的掺假羊奶快速定量预测模型[J]. *食品与机械*, 2018, 34(12): 53–56.
- HAN H, WANG ZQ, LI CH, *et al.* Rapid quantitative prediction model of adulterated goat milk based on electronic tongue [J]. *Food Mach*, 2018, 34(12): 53–56.
- [64] HAN H, WANG ZQ, LI CH, *et al.* Purity detection of goat milk based on electronic tongue and improved artificial fish swarm optimized extreme learning machine [J]. *IFAC-PapersOnLine*, 2019, 52(30): 391–396.
- [65] MABOOD F, JABEEN F, AHMED M, *et al.* Development of new NIR-spectroscopy method combined with multivariate analysis for detection of adulteration in camel milk with goat milk [J]. *Food Chem*, 2017, 221: 746–750.
- [66] GENIS DO, BILGE G, SEZER B, *et al.* Identification of cow, buffalo, goat and ewe milk species in fermented dairy products using synchronous fluorescence spectroscopy [J]. *Food Chem*, 2019, 284: 60–66.
- [67] GENIS DO, SEZER B, BILGE G, *et al.* Development of synchronous fluorescence method for identification of cow, goat, ewe and buffalo milk species [J]. *Food Control*, 2020, 108: 106808.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介

苗金梁, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量安全。
E-mail: 643861702@qq.com

陈颖, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全。
E-mail: chenyingcai@163.com