

# 食品掺假检测方法

## 获得可靠实验结果的技巧

### 摘要

我们知道食品掺假丑闻通常会推动公众意识的增强和法规的变革，本文的目的是讨论分析技术和实验方法，并介绍与食品掺假相关的多变量统计和样品类别预测。例如分子光谱等一些方法变得越来越经济，并且其中某些仪器已经小型化到能够在测试现场部署的程度。光谱仪可用于对食品进行指纹图谱分析，因为最新的技术可以检测到样品光谱曲线的细微变化，但前提是要采用适当的数据归一化技术。类似地，在食品掺假检测中使用基于单位分辨率和高分辨率的质谱 (MS) 可能也很重要，因为这些技术可根据其检测到的离散化合物的模式对食品进行指纹图谱分析。而电感耦合等离子体质谱 (ICP/MS) 和电感耦合等离子体发射光谱 (ICP/OES) 等其他技术也已被证明能够基于痕量元素分析来鉴定原产地。基因组学检测可准确鉴定甚至经过处理的样品中的鱼类 DNA。从方法学的角度来看，非靶向方法已被证明能够有效用于样品的指纹图谱分析。廉价的计算机工作站和统计软件的出现，使得能够将非靶向工作流程与多变量统计分析结合起来，从分析数据中提取有用的信息。之前，这些方法对研究人员而言一直过于昂贵或复杂，无法独立完成；相反，数据被移交给了专门的统计人员分析，或者从未对这些数据进行过全面分析。但是现在，有一些价格适中的工具可以使研究人员更容易地使用统计方法来测定样品质量等属性，并建立样品类别预测模型。

## 前言

作为产品掺假之所以成为一个重要问题的背景，您可能还记得 2007 年爆发的三聚氰胺丑闻，当时宠物猫狗发生大面积食物中毒<sup>[1]</sup>。调查发现，宠物猫粮狗粮被三聚氰胺及其三嗪类似物（三聚氰酸一酰胺、三聚氰酸二酰胺和三聚氰酸）的混合物污染。这些廉价但含氮量高的工业化学品被用于提高食品中的含氮量，使人们认为这些食品中富含蛋白质<sup>[2]</sup>。

随着公众意识的增强，食品中三聚氰胺掺假很快成为一个国际性问题。随后在美国生产的婴儿配方奶粉、加拿大销售的饼干、亚洲和澳大利亚销售的巧克力、泰国的炼乳以及香港的鸡蛋中均检测到了这些物质。在这一丑闻期间，世界卫生组织、联合国粮食及农业组织、欧洲食品安全协会和国际食品安全当局网络等国际机构共同努力，以弄清并控制此次危机。在 68 个国家禁止或召回怀疑含有三聚氰胺的食品的同时<sup>[3]</sup>，许多国家制定了三聚氰胺的允许限量，其中 FDA 规定婴儿配方奶粉中的最大残留限量 (MRL) 为 1 ppm，其他产品中的 MRL 为 2.5 ppm<sup>[4]</sup>。FDA 还成立了一个经济利益驱动型掺假 (EMA) 工作小组。2009 年，FDA 将 EMA 定义为在产品中欺诈性、有目的地替代或添加某种物质，目的是提高该产品的表面价值或降低其生产成本（即，为了经济利益）<sup>[5]</sup>。

除了基本的安全问题以外，食品掺假是一种欺骗消费者的行为，正如特级初榨橄榄油 (EVOO) 所证明的那样。2010 年的一项研究发现，进口橄榄油（当时占美国市场 EVOO 的 99%）经常无法通过 EVOO 分类的感官测试<sup>[6]</sup>。现在，专家声称多达 80% 的 EVOO 都存在标签造假现象<sup>[7]</sup>。执行成熟可靠的检测来区分 EVOO 及其他等级的橄榄油相对而言更加简单。两个常见的示例是二酰甘油或焦脱镁叶绿素（叶绿素的分解产物）的 HPLC 测量<sup>[8]</sup>。然而，这些检测可能产生假阳性和假阴性结果，并且食品掺假者可能使用替代掺假油来通过检测。

此外，一些风味缺陷会导致真正的 EVOO 无法通过感官测试。发霉、酸败和酸度都可能成为问题，特别是对于那些存放不当的 EVOO。化学分析提供了基于特定标记物（例如，以高 ppb 级至低 ppm 浓度存在的酸、酯和醛）的浓度来筛查这些问题的潜在解决方案<sup>[9]</sup>。

随着化学家致力于寻找针对 EMA 的更可靠的检测方法，新型分析仪器和方法也不断得到探索与开发。最关键在于，要找到适合您应用和预算的技术。

## 基于 MS 的食品检测

全谱（飞行时间）、扫描（四极杆）和图像构建（傅立叶变换）MS 技术是良好的样品分类工具。它们的价格各不相同，从价格较低的气质联用仪 (GC/MS)、价格更昂贵一点的傅里叶变换质谱仪 (FTMS) 到高价格、高价值的液相离子淌度四极杆飞行时间仪器 (IM/Q-TOF)。



Agilent 8890 气相色谱系统和 Agilent 5977B GC/MSD

许多挥发性和半挥发性化合物通常利用基于电子轰击电离 (EI) 的 GC/MS 进行分析。这种技术的优势在于，可以使用大型 NIST 17/Wiley Registry 11 谱库轻松实现对 EI 谱图的谱库搜索，该谱库中包含 59.7 万种化合物和超过一百万张谱图。它提供了一种前所未有的能力，能够初步鉴定许多挥发性和半挥发性化合物。还有一些有限的结构解析工具，例如 NIST 提供的 MS Interpreter 和亚结构搜索功能，它们对单位质量数据非常有用。添加全谱精确质量数仪器（例如 GC/TOF 或 GC/Q-TOF）后，能够提供结构信息，并能通过生成碎片树和基于热力学的结构解析工具（例如安捷伦分子结构关联软件）来鉴定未知化合物。FT 离子阱仪器具有优异的质量分辨率，但是图像构建用于 EI 分析尚不成熟，并且会由于峰丢失而导致匹配因子下降。针对这一问题的解决方案是开发一种专有的鉴定算法，该算法更重视质量数准确度，并减小丢失离子的权重。

## 特征查找分析

还存在一种商业和学术特征查找工具的组合，可追溯到 NIST 于 20 世纪 90 年代早期公开的 AMDIS<sup>[10]</sup>。对于 EI 峰对齐和数据提取，一种很好的学术解决方案是 AMDIS/手动修正/SpectConnect。与 XCMS 和 MZmine 不同，SpectConnect 专为 EI 数据而设计。

GC 还适用于多维色谱，安捷伦、LECO 和 ZOEX 等公司均提供了各种市售解决方案。这些技术的一项优势在于，与相应的未经调制的技术相比，它们具有更高的信噪比 (S/N)。而它们的缺点在于，需要来自 GC Image 等公司的专用硬件和色谱峰解卷积工具。该软件工具非常适合依次分析样品，但是尚未针对批量分析进行优化，而批量分析是非靶向分析的重要基础<sup>[11]</sup>。

非靶向工作流程依赖于可重现的特征查找软件，理想情况是基于递归技术。递归特征查找旨在最大程度减少假阳性和假阴性结果。它通过消除被视为噪音的离子、对齐保留时间、对齐质量数和离子归类以创建一致性谱库（由复合特征列表及相应的复合特征谱图组成），从而实现上述目的。算法使用一致性谱库来重新分配单个离子。这样能减少假阳性结果的数量。然后使用剩余未分配的特征执行靶向搜索。该过程利用严格性稍弱一点的标准来重新检查目标物列表，从而减少了由于缺失值而导致的假阴性结果的数量。递归性特征提取旨在提高总体结果的质量。由于没有一种算法是完美的，因此在批量递归性特

征提取之后，应当允许对结果进行批量手动编辑。XCMS 是由斯克里普斯研究所 (The Scripps Research Institute) 开发的一种用于小分子非靶向分析的在线公共资源，其遵循类似的工作流程以填充丢失的峰数据<sup>[12]</sup>。

一旦完成对特征查找数据的审查并解决了任何积分错误，即可将数据导出为文本文件。如果未找到某个峰，则认为其丢失。统计软件中可能存在一个选项，将缺失值视为零丰度或视为未找到的峰（缺失值）。选择零丰度将严重影响统计数据。仅在数据经过仔细审查并确认峰丢失时才选择此选项。如果数据未经仔细审查并且缺失的组分可能是假阴性结果，则需要选择缺失值。

## 靶向和非靶向方法

在评估样品时，靶向和非靶向化学计量方法的组合提供了一种良好的解决方案，不仅能够准确鉴定预期化合物，而且能够鉴定存在的意外组分。该方法的一个很好的例子是 Hjelmeland 和同事所开展的利用 HS-SPME 来评估赤霞珠葡萄酒的化学和感官特征。该研究展示了使用非靶向工作流程和同步 SIM/Scan 所进行的靶向分析<sup>[13]</sup>。其中考虑到非目标组分，允许随后进行回顾性分析。

由于 fgr 基因产物中的功能突变丧失，印度香米 (Basmati) 和茉莉香米 (Jasmine) 等香米中的 2-酰基-1-吡咯啉浓度较高<sup>[14]</sup>。DNA 检测可以寻找突变基因，但是在大米中还发现了其他重要的挥发性物质，例如与脂质氧化有关的己醛。挥发性组分

(例如，那些相对容易通过色谱分离的组分) 可用于评估感官属性以及与大米掺假相关的特性<sup>[15]</sup>。随后，将顶空固相微萃取集成到方法中，可省去大部分样品前处理工作<sup>[16]</sup>。



Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统与 Agilent 6546 LC/Q-TOF

为建立可重现的预测模型，基于 MS 的 EMA 方法应专注于寻找稳定可靠的鉴定物而不是所有鉴定物。该方法的一个例子是当 LC/Q-TOF 用于全谱模式时，该仪器可用于区分芒果品种。该方法依赖于新型软件工具来识别稳定的分类物并创建类别预测模型。即使使用最新的软件工具，也需要一定的技能和专业知识来开发稳定的预测方法。但是，运行类别预测模型的后续步骤不应需要那么高的技术技巧。因此，创建了一种软件自动化工具，其中包含特征查找方法以及样品类别预测模型。这样可以在之前开发的基于 MS 的模型上，以一种简化的方式运行生产数据文件<sup>[17]</sup>。

## 用于地理标志鉴定的元素指纹图谱分析技术

元素指纹图谱分析可用于许多应用，例如过程质量控制、元素污染物的鉴定以及基于痕量元素分析确定样品物种。具有原产地特征且产量有限的高价值食品和饮料是 EMA 的目标。为阐明地理标志 (GI) 的定义，世界贸易组织的所有 164 个成员国达成了《与贸易有关的知识产权协议》(TRIPS)。这些义务与两个条款相关，其中第 22 条规定每个国家都应立法禁止使用会使公众对商品产地产生误解的标记。第 23 条规定，政府应拒绝注册与葡萄酒或烈酒 GI 相冲突的商标或可以判定此类商标无效，无论此类商标是否产生误导<sup>[18]</sup>。

食品和饮料可通过元素含量追溯其原产地。微量元素和稀土元素可以有多种来源，例如原料或当地的土壤、环境、肥料和农用化学品。加工步骤也可能引入这些元素，例如向葡萄酒中加入  $\text{CuSO}_4$  以除去硫醇或从钢发酵设备中浸出 Zn 和 Fe 或从蒸馏设备中浸出铜等。最后，装瓶和储存可能导致铅从酒瓶的金属容器密封件中浸出。

用于测定食品中痕量金属的常用分析方法包括简单的离子色谱法、电化学分析法或原子吸收光谱法。电化学技术简单且便宜，但是仅适用于测定少数特定的金

属。更昂贵的仪器，例如原子发射光谱 (AES)、ICP-OES 和 ICP-MS，能够以较低的检测限同时检测痕量和稀土元素<sup>[19]</sup>。

同位素比质谱 (IR-MS) 已被证明适用于通过稳定同位素比来确定地理标志。首先使用连接到稳定的 IR-MS 的元素分析仪，将样品转变为简单的气体，例如氢气、二氧化碳、一氧化碳、氮气、氧气或二氧化硫。可以将同位素对比率（例如， $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  和  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ）绘制在一张图中，以帮助区分地理位置，其中  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  比率主要取决于植物的生物化学类型，而氮比率则反映当地的土壤条件。氮比率受所用肥料类型的影响非常大，其中无机肥料中的氮比率取决于大气中的氮，比值接近于零，而有机肥料则具有较高的  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  比率<sup>[20]</sup>。



Agilent 7900 ICP-MS 系统

ICP-MS 是一种强大的元素分析工具，能够为 70 多种元素提供十亿分之一 (ppb) 或万亿分之一 (ppt) 的分析检测限。痕量元素的可用性取决于各种地理因素，例如土壤 pH 值、湿度、粘土和腐殖酸络合物<sup>[21]</sup>，

例如中国云南省普洱茶的真伪检测。利用 ICP-MS 检测 30 个茶叶样品中的总共 29 种元素，每个样品一式三份。利用监督式学习通过多变量统计对结果进行分析。规范变量分析显示了两个向量。第一个向量基于常量元素（例如 Na、Mg 和 Ca）以及微量元素（例如 Sr、Zr、Mo）和痕量元素。该主向量在不同的茶产地之间有所不同。第二个向量将绿茶与红茶和发酵茶分开。该向量取决于 Rb、Mn、W、Re 和 Tl 的含量，所有这些元素的含量在红茶和发酵茶中更高<sup>[22]</sup>。

大多数 ICP-MS 干扰物质为多原子离子，并且相对于单原子离子具有更大的离子横截面。可利用这一特征，通过与惰性气体碰撞来除去背景干扰物质。这一过程被称为动能歧视，会导致所有离子按其碰撞横截面成比例地损失能量。动能歧视最终使多原子离子损失足够的能量，从质谱图中去除。使用惰性碰撞气体（例如氦气），不会产生副反应或新的干扰性产物<sup>[23]</sup>。串联四极杆 ICP-MS 也获益于动能歧视。但是，也可以在碰撞室中使用反应性气体来消除单原子干扰<sup>[22]</sup>。在两种情况下，现代化 ICP-MS 仪器均比其前代产品具有更高的选择性和灵敏度。

## 光谱技术在真伪检测中的应用

对于葡萄酒和烈酒，存在多种类型的 EMA。其中包括简单的采购正品的瓶子，然后用更便宜的替代品稀释产品或用廉价的酒和添加剂伪造优质产品来模拟原有产品，也包括肆无忌惮地使用稀释的免税变性（工业）酒精进行危险的造假<sup>[24]</sup>。

### 傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、近红外光谱 (NIR) 和拉曼光谱

牛奶是七种最常见的掺假食品之一<sup>[25]</sup>。不法商家会将水、乳清、氢氧化钠、尿素、三聚氰胺和过氧化氢掺入牛奶中，以增加牛奶体积，获得更高的蛋白质含量值，或对产品进行消毒。尽管理想情况是直接测量牛奶样品，但是水和脂肪会掩盖某些谱图信号。利用氯仿萃取除去脂肪，并在衰减全反射 (ATR) 钻石晶体上干燥除水。无论使用哪种技术，都存在明显的吸收谱带。中红外光谱 (MIR) 显示了对照样品与掺假牛奶在 1600 至 1200  $\text{cm}^{-1}$  之间的主要谱图差异。掺有乳清的牛奶的谱图中在 1635  $\text{cm}^{-1}$  处存在明显的酰胺 I 伸缩振动 (C=O) 和 1530  $\text{cm}^{-1}$  处的酰胺 II (N-H 弯曲振动/C-H 伸缩振动)。掺有尿素、合成乳和尿液的样品在 1615  $\text{cm}^{-1}$  处表现出较强的尿素伸缩振动 (C=O)，在 1454  $\text{cm}^{-1}$  处表现出  $\text{NH}_4^+$  变形。在 3700 至 3200  $\text{cm}^{-1}$  的 O-H 伸

缩振动区域中也观察到较强的谱带，并在 1200 至 800  $\text{cm}^{-1}$  的复杂指纹区域中观察到额外的吸收谱带<sup>[26]</sup>。NIR 区域的波数范围为 13300 至 4000  $\text{cm}^{-1}$ 。该能量范围不足以激发电子，但是高于激发分子达到其最低振动状态所需的能量。NIR 谱图基于分子泛音和组合谱带，这是量子力学所不允许的微弱信号。NIR 吸收率较低的一个优势在于，相比 MIR 它能更深地穿透到样品中<sup>[27]</sup>。具体而言，牛奶掺假样品的 NIR 分析结果显示，在 7700 和 5000  $\text{cm}^{-1}$  处存在两个明显的吸收谱带。

虽然 MIR 和 NIR 仪器都能用于掺假检测，但 MIR 往往能够在基于主成分分析 (PCA) 的化学计量分析后提供更出色的分类模型和定量分析<sup>[26]</sup>。UV-Vis 和 IR 技术均基于吸光度，并且吸收的光量是一种绝对测量。这并不是说它们不依赖于其他物理参数，例如样品的粒度非常重要，如下面的大米真伪检测讨论部分所示，其中需要利用多元散射校正来校正大米的颗粒性质。

世界上一半以上的人口以大米为主食，每年精米产量大约为 4.8 亿吨，其中 85% 供人类消费<sup>[28]</sup>。遗憾的是，EMA 是一个值得关注的问题，因为很容易使用不合格的大米稀释优质大米或添加掺杂物<sup>[29]</sup>。现已开发出现场 NIR 技术，通过分类来鉴定大米（例如地理标志<sup>[30]</sup> 或样品质量测量）。在这些 NIR 研究中，归一化是 NIR 方法中预测质量的重要组成部分。在样品

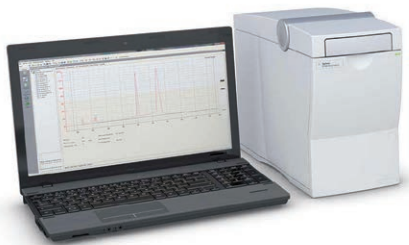
质量研究中，多元散射校正能够区分大米的样品类别，而去趋势化和均值中心化不足以满足要求<sup>[31]</sup>。使用多元散射校正 NIR 大米真伪研究中的一种常用思路<sup>[32]</sup>。

空间位移拉曼光谱 (SORS) 技术被欧洲机场用于进行安全检查<sup>[33]</sup>。作为一种技术，它在 EMA 方面也展现出了应用前景，因为荧光等限制因素正随着科学进步而得到解决。传统的拉曼系统使用大约 785 nm 的激光，它能够实现更高的灵敏度，但存在荧光干扰。新型拉曼系统使用更长的波长。Agilent Resolve 手持式 SORS 仪器通过将波长增加到 830 nm 解决了荧光问题，生成的信号响应更小，更不容易受到荧光的影响。SORS 方法还可以减少包装材料（例如彩色塑料或玻璃）的荧光。SORS 的操作包括谱图归一化步骤。该仪器首先采集零模式谱图，其类似于传统的背散射模式，此时表面会导致结果产生偏差。在执行位移测量之前，激光器自动移位，以校正容器对谱图的影响。

用于 SORS 评估的 EMA 样品由苏格兰威士忌研究所提供，其中包含真实水平的变性剂和掺杂物。六种常用的变性剂包括：甲基乙基酮、异丙醇、甲基异丙基酮、乙基仲戊基酮、甲醇和苯酸苄铵酰胺。使用手持式 SORS 仪器，能够检测低至 ppm 至亚 ppm 级的这些化合物。用于威士忌掺假的典型调味剂包括香草醛、蔗糖、柠檬烯和反式茴香脑。这些化合物在

低 ppm 范围内被检出。所有这些化合物均在密闭的玻璃螺纹口样品瓶中进行检测。为了将该技术的应用扩展到实际条件,从商店购买了其他样品,利用葡萄酒和烈酒的常用容器类型(透明燧石、绿色玻璃和棕色玻璃)来测试 SORS 的实用性。深色玻璃减小了透光率,因此需要进行更多次测量以获得最高的 S/N。利用这些规则,检测到低至 250 ppm (远低于 20000 ppm 或 2% 的容许浓度)的甲醇,并且所有其他掺杂物均在 ppm 范围内检出。Resolve 作为麻醉剂、爆炸物和危险物质的现场检测系统出售。在上述研究中获得的检测限 (LOD) 使用离线处理方法实现,这些方法目前在 Agilent Resolve 手持式 SORS 仪器上不可用。

## 用于真伪检测的遗传学分析



Agilent 2100 生物分析仪

传统的鱼类真伪检测基于目视检查。但是,许多鱼在活着时难以通过目视区分,并且在加工过程中去除鳍和鳞片后根本无法进行目视识别。基于抗体的解决方案可用于现场检测。然而,这种方法在肉被制熟后便不起作用了,因为蛋白质通常会在加热过程中变性。另一种方法是 DNA 检

测,其对于食品加工相对稳定<sup>[34]</sup>。在谱图重叠没有复杂到难以解析的情况下,该方法还可用于鉴定肉类和蛋白质的简单掺杂物<sup>[35]</sup>。尽管 DNA 检测具有良好的应用前景,但是仍需要考虑以下几点。一个缺点是核基因组很大,并在很大程度上是保守的。但是来自单一母细胞的线粒体 DNA (mtDNA) 具有相对较快的突变率,并且大小仅为核基因组 DNA 的 1/100000<sup>[36]</sup>。最初,mtDNA 方法是针对线粒体细胞色素 b 和 c 区域开发的。最终,采用了生命条形码数据库系统 (Barcode of Life Data System)。动物鉴定标准变成细胞色素 C 氧化酶 I (COI) 基因的 684 个碱基对区域<sup>[37]</sup>。鱼类鉴定方案即符合该标准<sup>[38]</sup>。

鱼类 mtDNA 分析的其他进展来自硬件改进。初始实验中使用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术、毛细管凝胶电泳和染色进行终点检测<sup>[39]</sup>。利用芯片实验室毛细管电泳系统替代凝胶电泳步骤,进一步改进了这一方法<sup>[40]</sup>。

然而,由于植物物种中存在很高的遗传多样性,因此需要更长的时间来开发用于陆地植物的生命条形码方法。研究者认为靶向保守的核转录区域是可靠的<sup>[41]</sup>。生命条形码联盟植物工作组 (CBOL Plant Working Group) 在 2009 年曾建议使用 rbcL 和 matK 基因组序列<sup>[42]</sup>。在该标准方法达成一致之前,各种微卫星标记与 PCR-RFLP 一起使用。这方面的一个例子是印度香米真伪概念验证计划。在该研究中,结果表明 DNA 检测可快速测定 10% 至 20% 的非印度香米的掺杂物<sup>[43]</sup>。

PCR-RFLP 方法代表标准的真伪检测方法,并且适于生成单一序列,以与基于生命条形码的公共数据库进行比较<sup>[44]</sup>。一种基于新一代测序 (NGS) 的方法正在兴起,旨在鉴定未知物种的混合物。NGS 消除了通过细菌克隆 DNA 片段的需要。相反,它是一种无细胞技术,可以在一次运行中对多个样品进行测序,并且可以在不采用凝胶电泳的情况下观察结果<sup>[45]</sup>。由于 NGS 基于 DNA 片段化和处理的平行进行,因此适用于鉴定多物种海产品,例如鱼糜。为了区分鱼类和软体动物,实验可以使用物种特异性通用引物和宏条形码方法,对鱼类和软体动物的种属进行分类。基本局部比对搜索工具 (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) 是一种用于比对和评估结果的专用软件<sup>[46]</sup>。

## 其他值得注意的技术

电子鼻 (e-Nose) 使用化学 (电流和电导)、压电和光学 (气味感应) 传感器以及那些基于 GC 和 MS 的传感器来检测挥发性物质<sup>[47,48]</sup>。最常用的电子鼻传感器为电化学型传感器。传感器的数量和类型以及它们的选择性和灵敏度取决于 e-Nose 应用。e-Nose 凭借其快速筛查能力,能够替代传统 GC。它已经用于鉴定来自不同地理区域的 Emmentaler 奶酪<sup>[49]</sup>。这种方法的缺点是不含色谱或质谱数据,因此无法鉴定需要监测的特定的挥发性化合物。

利用多变量统计处理的 1D 和 2D HR-NMR 已经检测出蜂蜜行业中的欺诈行为,并且有助于鉴定和定量分析多种参数 (例如糖

和氨基酸)。为了在最大程度减少安全问题的同时确保质量控制, 将所筛查食品的特征与真实食品样品的大型数据库进行比较<sup>[50]</sup>。

## 一般的非靶向分析工作流程

对于非色谱技术(例如质谱分析), 我们不关心单个组分的鉴定。在这些实验中, 我们仅查找区分样品类型的谱图特征。但是, 借助基于 MS 的技术, 我们可以选择通过鉴定方案来处理样品。这样能够获得丰富的数据, 并使我们能够将结果与已知的掺杂物、感官缺陷和潜在污染物进行比较。因此, 将目标组分添加到非靶向方法中可以提供有价值的见解。

不正确的鉴定会降低实验结果的统计显著性, 认识到这一点非常重要。因此, 将结果保留为未识别比包含虚假鉴定结果更可取。如果您对一致地鉴定样品的能力充满信心, 则只需要在实验中包含目标(已知)组分。对于色谱分离的组分, 许多问题都对鉴定造成了巨大挑战, 例如: 保留时间一致性差、峰分离不完全、异构体和同质异位化合物以及峰未实现分离。这些挑战会导致对齐问题、错误的峰检测结果(假阳性和假阴性)以及鉴定出错。即使在最好的情况下, 数据审查也是工作流程中的重要一环。

用于掺假检测的大多数化学测试仅筛查一些得到充分表征的属性。以 EVOO 为例, 用于样品质量分析的已知降解产物是焦脱镁叶绿素(一种叶绿素的降解产物)和

1-辛烯-3-醇(导致产生霉味)等化合物。其他已知化合物具有发酵、腐臭或霉味特性。

我们可以通过一个专家感官小组来强化化学测试。但此方法最大的缺点是费力(昂贵)且缓慢(专家们只能工作很短的一段时间, 然后他们识别细微特征的能力就会减弱)。感官训练集和多变量统计的组合可提供更经济、更高效且可重现的方法来确定真伪。

## 多变量统计的关键实验因素

理想情况下, 需要对原料而不是下游产品进行掺假检测, 因为下游产品可能会稀释和掩盖掺杂物。在可能的情况下, 对多种分析技术进行评估, 以确定哪种技术最能满足您的要求。光谱、质谱以及核磁共振都可选择用于特定的食品掺假检测。成本、复杂性、灵敏度和便携性会影响对这些竞争方法的选择。

对于真实样品和掺假样品采用相似的组大小来平衡样品类别预测实验或不均匀抽样可能导致统计结果偏差, 因为方差的异质性是单因素方差分析(ANOVA)实验中的一个假设。现代统计软件工具可以补偿一些偏差, 但是最好能避免出现这些问题, 而不是在采集数据后再最大程度减小偏差的影响。

可轻松设置多变量统计样品类别预测方法, 并基于测试数据集获得看起来具有预测性的结果。但是, 自变量过多可能导致类别预测方法即使拟合训练数据集, 也无

法预测后续样品。这种情况通常是由过度拟合数据引起的。为减小发生这种情况的可能性, 可以观察简化为二维 PCA 能否有效分离样品类别。一般而言, 需要较少自变量来预测类别差异的预测模型是更为强大的模型, 并且更不容易发生数据过度拟合。

数据质量至关重要, 因此需要基于良好的分析原则来设计实验。首先, 需要最大程度减少非靶向工作流程的样品前处理过程, 因为它会导致检测结果产生偏差。在必要时, 使用稀释和简单萃取来应对基质效应。考虑到成功的模型使用谨慎的类别特异性特征进行预测, 因此一旦确认了这些因素, 即可优化样品前处理和色谱分析方法, 以确保在最终的靶向预测方法中可靠地测量这些变量。

还需要仔细考虑数据归一化。对于小样品类别预测方法, 可以混合样品以进行归一化控制。该方法的优势在于, 每种组分都存在, 并且可以减小基质效应和仪器影响。然而, 它不适用于随后的生产样品类别预测方法, 因为定期混合样品并运行这些混合样品的行为比添加适当的内标需要更多的资源。相反, 内标应代表待评估的掺杂物的类别。类似地, 在每个分析批次开始和结束时使用能力测试样品来确认仪器的性能是否稳定。应针对高通量生产优化靶向样品类别预测方法。

样品类别预测是一种监督式学习。限制因变量的数量是一种很好的做法, 理想情况是每种预测方法只有一个变量。例如, 样

品类型为变量，载体空白、对照和已知掺杂物为实例。以牛奶为例，掺杂物可能是水、乳清、氢氧化钠、尿素、三聚氰胺和过氧化氢。对于此类明显的掺杂物，如果需要，对每种样品进行三次技术重复测定，可确认色谱结果的重现性，并且在每种条件下使用五个样品应当足以满足统计显著性要求。可能每种目标掺杂物的区别足以通过其在样品谱图中的吸收频率来表征。在这些情况下，可以使用手持式 FTIR 通过光谱法现场鉴定食品掺假，从而避免更多涉及实验室的方法。

在其他情况下，正如我们通过猖獗的 EVOO 错误分类所看到的那样，其中某些替换非常微妙，因此更难以暴露出来。在这些情况下，需要采用色谱和样品类别预测工作流程来检测掺假。提前确定方法的范围。例如，异味、霉味、酸败和醋味都可能成为问题，特别是对于存放不当的 EVOO，这些问题导致等级下降，例如初榨橄榄油或更差。这四种缺陷已得到充分表征，但是还有许多其他因素会导致依赖于表型的 EVOO 分类失败。是否有必要建立一种足够稳定的方法来识别导致最常见的风味特征的主要原因，以及应当在训练集中包括多少橄榄品种？

在细微的类别预测实验中确定训练数据中是否存在适量的生物学差异以覆盖表型差

异和各种目标特征，这一点非常重要。是否有足够的样品以获得统计功效？事后功效分析可基于先导试验的统计功效来确定所需的最小样品数量<sup>[51]</sup>。

色谱重现性非常重要，对于质谱技术而言尤其如此。尽管色谱峰变形工具有助于校正色谱漂移，但是如果保留时间在运行过程中发生漂移，则峰对齐可能无法正确鉴定接近共洗脱的结构异构体。最好避免色谱问题，而不是在事后处理它们。为确保任何运行顺序不影响总体结果，应当按随机顺序分析样品。例如，基质干扰物质可能导致信号抑制或增强。这通常在整个批次中逐渐发生。

采集数据后，对它们进行审查以查找可能使结果产生偏差的色谱或光谱异常值。一种简单的方法是直观地审查数据。如果问题看起来是基于批次的色谱效应，则可以通过位置和尺度归一化进行校正。可轻松在线获得的 Combat 算法集成在各种多变量统计软件包中<sup>[52]</sup>。另外，为检测良好批次内的不良样品，需要查找 PCA 中的不良聚类以及组内较差的相关性，并检查箱线图的非高斯分布。为进行更系统的处理，需要确定马氏距离 (Mahalanobis distance)，以显示该值与平均值之间的标准偏差个数<sup>[53]</sup>。

另一种有用的方法是，在开发基于质谱法的样品类别预测方法时使用递归工作流程来处理数据。这有助于解决分析数据中的假阴性和假阳性问题。对多种特征查找和数据对齐方案进行了优化，以处理色谱漂移和仪器响应的变化。这些工具将对齐作为特征提取的一部分来执行，并有助于解决各种原因造成的色谱不稳定性而导致的样品变异性。如果递归并非一个选项，并且手动检查结果涉及的数据过多，请考虑将缺失值视为缺失，而不是统计软件中的零值。这应当是所有多变量统计软件包的一种数据导入功能。最后一条建议是追踪所有可用的元数据。可能有必要追踪使数据解析复杂化的混淆因素。Warwick Dunn 等人撰写了一篇论文，更深入地讨论了质谱实验设计和质量控制<sup>[54]</sup>。

## 多变量统计、显著性检验和确认

虽然多变量统计本身并非一种仪器，但其在鉴定食品掺假方面发挥着重要作用。例如产地真伪检测、食品质量评估或掺假检测。无论评估哪种类型的 EMA，都需要提取生物和参比样品数据，以鉴定与可接受性相关的特征（和基础化合物）以及哪些特征会导致失败。这通常通过仔细搜索失败的样品和参比样品之间的差异来手动



完成。随着评估的失败样品越来越多，发现的属性也越来越多，将向谱库中添加目标组分列表。这就是许多实验室现在所处的状态，将已知降解产物的检测与感官评估相结合。无论是化学测试还是感官测试本身单独使用都不理想。

Agilent Profinder 软件可同时进行质量数和保留时间对齐。因此，它可以导入中值保留时间和质量数值，从而在将数据作为 Profinder 存档文件导入时，无需在 Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 软件中执行保留时间对齐这一步骤。然而，MPP 中仍有一个质量数对齐选项，允许用户导入 CEF 文件。使用 CEF 文件时，由于 Profinder 中的质量数定义与 MPP 相比存在细微差别，因此最好增加 MPP 中的质量数对齐窗口以适应这些差异。要从第三方仪器导入数据文件，需要将文件作为文本文件导入并使用靶向工作流程。

还有在线统计工具可以对成对实验进行特征提取和简单的化学计量分析，此时只有一个自变量<sup>[55,56]</sup>。幸运的是，当实验中包含多个自变量时，也存在可用的统计工具，并且研究人员发现了复杂技术（例如数据聚类、类别预测、多组学分析或通路分析）的价值。在这些情况下，可以使用其他工具进行差异分析并实现复杂数据集的可视化。例如来自 IBM 的 MPP、SPSS

以及来自沃特世的 Progenesis Q1。安捷伦了解到许多用户对非靶向分析和样品分析感兴趣，但是对学习如何使用复杂的统计软件包关注较少，因此，我们专注于使 MPP 实现用户友好化并以仪器为中心。如前文所述，开发稳定的预测方法仍然需要具备科学技能和分析专业知识。但是，运行类别预测模型的后续步骤不应如此复杂。我们开发了分类器以实现 LC/Q-TOF 分类模型分析的自动化。

最后，重要的是要独立测试您的结果的统计功效。可利用独立的功效分析程序来验证实验结果的统计功效<sup>[51]</sup>。事后功效分析是在给定所测试样品量的情况下计算结果的功效，其中功效被定义为当特定替换假设为真时拒绝零假设的概率。

## 类别预测/分类器

首先，多变量统计采用最能区分类别的分量（实体或特征）对样品类别进行分离。然后使用这些预测分量创建样品类别预测 (SCP) 模型。这样解释，就可以理解为什么样品类别预测又称为监督式学习。

可能存在一个似乎能够区分类别，但无法创建有效的 SCP 模型的实体列表。模型描述训练数据中的随机错误而不是样品中的基础关系的情况被称为数据过度拟合<sup>[57]</sup>。

为了生成具有最高预测准确度的 SCP 模型，数据质量至关重要。这有利于创建正确的样品过滤和预测模型。当样品数据得到正确过滤后，SCP 将提供最佳结果。正如多变量统计部分所述，安捷伦开发的用于递归性数据提取的 Profinder 可以减少研究人员需要评估的假阴性和假阳性结果的数量。该工具适用于扫描和全谱质谱数据。类似地，对于仪器（从 4300 手持式 FTIR 到用于化学成像的 8700 LDIR）所生成的 IR 数据，安捷伦在 MicroLab Expert 软件中提供了可选的化学计量和预测模块。

多种预测模型可用于评估和定制，因为每种预测模型都具有使其适用于特定情况的特征：

- **偏最小二乘判别分析法**执行向量分析，以开发用于解释类别之间差异的模型。异常值对结果具有显著影响，并可能导致该模型失败。它适用于数据质量一致的情况，并且一种简单的模型就可以区分不同类别
- **支持向量机**适用于重叠的样品类别。该算法将每个样品想象为二维或三维空间中的一个点。当存在分离类别的多个平面时，该算法可最大程度增加类别之间的分离度
- **朴素贝叶斯算法**假设类别彼此间独立（称为类别条件独立）。该算法适用于较小的实体集，因为只需要确定每个类别中的方差即可

- **决策树**在所有或几乎所有样品中都存在实体时非常有效。它通过一系列“if-then-else”（如果-则-否则）决策来分离类别
- **神经网络**适用于在类别之间存在复杂（或未知）关系时进行分类。当数据中存在两个或以上类别时，它是一种很好的选择

通常，一旦模型创建完成，即可利用两种方法对模型进行验证。“留一法”是指将来自每个类别的一个数据文件排除在训练集之外并随后利用预测模型对其进行分类的验证方法。所有文件都经过这一过程以生成混淆矩阵，该矩阵显示了训练数据与模型的适用性。另一种方法是“N重法”，其中训练数据被随机分配到N组。除其中一个组以外的所有组都用于训练模型，而最后一个组用于验证模型。重复该过程N次，生成混淆矩阵。一般来讲，N值达到3即可。一旦模型创建、训练和验证完成，应使用已知样品进行验证，因为我们需要能够预测它们完全独立于训练数据。

步骤非常之多，并且对于缺乏多变量统计经验的研究人员来说，整个过程看起来相当复杂。对于此类研究人员，提供了向导式工作流程选项和工具，它们在开发监督式学习模型时将特征查找、显著性检验、模型构建和验证集成到了单个流程中<sup>[17]</sup>。

安捷伦的目标是为客户提供包括样品前处理产品、分析仪器、软件、工作流程和技术支持的解决方案。本指南旨在帮助学术研究人员评估打击食品掺假最常用的技术。其中涵盖了使用便携式仪器（例如 Agilent Resolve 拉曼光谱系统和 4300 手持式 FTIR）的可现场部署的光谱测量方法。文中介绍了 Agilent 2100 生物分析仪系统作为基于实验室的基因组检测方法可准确鉴定鱼类，甚至适用于 DNA 已经降解的加工样品。本指南还表明，借助耐受基质的 7900 ICP-MS 和经济型 5110 ICP-OES 等仪器，基于痕量元素分析鉴定原产地将变得异常简单。安捷伦为基于单位分辨率和高分辨率 MS 的食品分类提供了良好的解决方案。

安捷伦为基于单位分辨率和高分辨率 MS 的食品分类提供了良好的解决方案。将 8890 气相色谱系统与 5977B 单四极杆质谱仪联用，可通过谱库鉴定挥发性和半挥发性掺杂物。Agilent 6546 LC/QTOF 是一种适用于非挥发性污染物的高分辨率、精确质量数研究型仪器。安捷伦提供了样品分类工作流程解决方案，其中包括用于四极杆质谱仪和飞行时间质谱仪的递归性质谱数据分析的 MassHunter Profinder 软件。提供用于常见食品掺杂物和过敏原的优化的精确质量和单位质量谱库。安捷伦提供了以仪器为中心的统计工具，如 Mass Profiler Professional 和用户友好的 MassHunter Classifier，使研究人员能够自行创建样品类别预测模型，并预测样品质量等属性。

## 参考文献

1. Barboza, D.; Barrionuevo, A. Filler in Animal Feed Is Open Secret in China. *The New York Times* 30 April **2007**
2. Litzau, J. J.; Mercer, G. E.; Mulligan, K. J. GC-MS Screen for the Presence of Melamine, Ammeline, Ammelide, and Cyanuric Acid. v. 2.1, *FDA Center for Veterinary Medicine*, original posting May 5, **2007**
3. Bhalla, V.; et al. Melamine Nephrotoxicity: an Emerging Epidemic in an Era of Globalization *Kidney International* **2009**, 75, 774-779
4. GC-MS Screen for the Presence of Melamine, Ammeline, Amelide, and Cyanuric Acid. *U.S. Food and Drug Administration*, LIB No. 4423, vol. 4, October **2008**
5. FDA Notice of Public Meeting on Economically Motivated Adulteration. *74 Fed. Reg.* 15,497 (April 6, **2009**)
6. Frankel, E. N.; et al. Tests Indicate That Imported "Extra Virgin" Olive Oil Often Fails International and USDA Standards. *UC Davis Olive Center*, July **2010**
7. Cord, C. 80 Percent is the New 69 Percent. *Olive Oil Times* Nov. 30, **2016**
8. Ayton, J.; Mailer, R. J.; Graham, K. The Effect of Storage Conditions on Extra Virgin Olive Oil Quality. *RIRDC* April **2012**, 12/024
9. Morales, M. T.; Luna, G.; Aparicio, R. S. Comparative Study of Virgin Olive Oil Sensory Defects. *Food Chem.* **2005**, 91(2), 293-301
10. Stein, S. E.; Scott, D. R. Optimization and Testing of Mass Spectral Library Search Algorithms for Compound Identification. *J. Amer. Soc. Mass Spectrom.* **1994**, 5(9), 859-866

11. Taro, Q.; *et al.* New Investigator Tools for Finding Unique and Common Components in Multiple Samples with Comprehensive Two-Dimensional Chromatography. *Chromatography Today* **2018**, 13–18
12. Smith, C. A.; *et al.* XCMS: Processing Mass Spectrometry Data for Metabolite Profiling Using Nonlinear Peak Alignment, Matching, and Identification. *Anal. Chem.* **2006**, 78(3), 779–782
13. Hjelmeland, A. K.; *et al.* Characterizing the Chemical and Sensory Profiles of United States Cabernet Sauvignon Wines and Blends. *Am. J. Enol. Vitic.* **2013**, 64(2), 169–179
14. Bradbury, L. M.T.; *et al.* The Gene for Fragrance in Rice. *Plant Biotechnol. J.* **2005**, 3, 363–370
15. Bergman, C. J.; *et al.* Rapid Gas Chromatograph Technique for Quantifying 2-Acetyl-1-Pyrroline and Hexanal in Rice (*Oryza sativa*, L). *Cereal Chem.* **2000**, 77(4), 454–458
16. Grimm, C. C.; *et al.* Screening for 2-Acetyl-1-Pyrroline in the Headspace of Rice using SPME/GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 245–249
17. Yannell, K. E.; Cuthbertson, D. 采用 Agilent 6546 LC/Q-TOF 和 MassHunter Classifier 检测食品真伪, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5994-0694ZHCN, **2019** 年 3 月
18. WTO Analytical Index, *TRIPS Agreement Articles* **2018** 22, 23
19. Ibanez, J. G.; *et al.* Metals in Alcohol Beverages: A Review of Sources, Effects, Concentrations, Removal, Speciation, and Analysis. *J. Food Compos. Anal.* **2008**, 21, 672–683
20. Förstel, H. The Natural Fingerprint of Stable Isotopes – Use of IRMS to Test Food Authenticity. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 541–544
21. Drivelos, S. A.; Georgiou, C. A. MultiElement and Multisotope-Ratio Analysis to Determine the Geographic Origin of Foods in the European Union. *Trends Anal. Chem.* **2012**, 40, 38–51
22. Nelson, J.; Hopfer, H. Authentication of Specialty Teas: An Application Note. *Food Qual. Saf.* **2019**, December/January, 32–33
23. Woods, G. 7500cx ICP-MS 测定麦芽酒精饮料 (威士忌酒) 中的痕量元素, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5989-7214CHCN, **2007** 年 8 月
24. Ellis, D. I.; *et al.* Through-Container, Extremely Low Concentration Detection of Multiple Chemical Markers of Counterfeit Alcohol Using a Handheld SORS Device. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 12082
25. Moore, J. C.; Spink, J.; Lipp, M. Development and Application of a Database of Food Ingredient Fraud and Economically Motivated Adulteration from 1980 to 2010. *J. Food Sci.* **2012**, 77(4), R118–R126
26. Santos, P. M.; Pereira-Filho, E. R.; Rodriguez-Saona, L. E. Application of Hand-Held and Portable Infrared Spectrometers in Bovine Milk Analysis. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 1205–1211
27. Pasquini, C. New Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14(2), 198–219
28. Muthayya, S.; *et al.* An Overview of Global Rice Production, Supply, Trade, and Consumption. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2014**, 1324, 7–14
29. Vemireddy, L. R.; *et al.* Review of Methods for the Detection and Quantification of Adulteration of Rice: Basmati as a Case Study. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, 52(6), 3187–3202
30. Kim, S. S.; *et al.* Authentication of Rice Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Cereal Chem.* **2003**, 80(3), 346–349
31. Teye, E.; *et al.* Innovative and Rapid Analysis for Rice Authenticity Using Hand-Held NIR Spectrometry and Chemometrics. *Spectrochim. Acta A* **2019**, 217, 147–154
32. Yu, Y.; *et al.* Accuracy and Stability Improvement in Detecting Wuchang Rice Adulteration by Piece-Wise Multiplicative Scatter Correction in the Hyperspectral Imaging System. *Anal. Methods* **2018**, 10, 3224–3231
33. Izake, E. L. Forensics and Homeland Security Applications of Modern Portable Raman Spectroscopy. *Forensic Sci. Int.* **2010**, 202(1-3), 1–8
34. Dooley, J.; *et al.* Improved Fish Species Identification by the Use of Lab-on-a-Chip Technology. *Food Control* **2005**, 16, 601–607
35. Dooley, J. J.; *et al.* Fish Species Identification Using PCR-RFLP Analysis and Lab-on-Chip Capillary Electrophoresis: Application to Detect White Fish Species in Food Products and an Interlaboratory Study. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 3348–3357
36. Hebert, P. D.; *et al.* Biological Identifications Through DNA Barcodes. *Proc. Biol. Sci.* **2003**, 270(1512), 313–21
37. Ratnasingham, S.; Hebert, P. D. BOLD: The Barcode of Life Data System ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). *Mol. Ecol. Notes* **2007**, 7, 355–364

38. Handy, S. M.; *et al.* Evaluation of the Agilent Technologies Bioanalyzer-Based DNA Fish Identification Solution. *Food Control* **2017**, *73*, 627–633
39. Cespedes, A.; *et al.* Identification of Flatfish Species Using Polymerase Chain Reaction (PCR) Amplification and Restriction Analysis of the Cytochrome b Gene. *J. Food. Sci.* **1998**, *63*, 206–209
40. Dooley, J. J.; *et al.* Improved Fish Species Identification by the Use of Lab-on-a-Chip Technology. *Food Control* **2005**, *16*, 601–607
41. Wattoo, J. I.; *et al.* DNA Barcoding: Amplification and Sequence Analysis of rbcL and matK Genome Regions in Three Divergent Plant Species. *Adv. Life Sci.* **2016**, *4*(1), 3–7
42. CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. *PNAS* **2009**, *106*(31), 12794–12797
43. Garrett, S.; Clarke, M. Agilent 2100 生物分析仪用于印度香米真实性测试, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5989-6836CHCN, **2007**
44. Wong, E. H; Hanner, R. H. DNA Barcoding Detects Market Substitution in North American Seafood. *Food Res. Int.* **2008**, *41*(8), 828–837
45. Xing, R-R; *et al.* Application of Next Generation Sequencing for Species Identification in Meat and Poultry Products: A DNA Metabarcoding Approach. *Food Control* **2019**, *101*, 173–179
46. Giusta, A.; *et al.* Seafood Identification in Multispecies Products: Assessment of 16SrRNA, cytb, and COI Universal Primers' Efficiency as a Preliminary Analytical Step for Setting Up Metabarcoding Next-Generation Sequencing Techniques. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65*(13), 2902–2912
47. Dymerski, T.; Chmiel, T.; Wardencki, W. Invited Review Article: An Odor-Sensing System—Powerful Technique for Foodstuff Studies. *Rev. Sci. Instrum.* **2011**, *82*, 111101–111132
48. Śliwińska, M.; *et al.* Food Analysis Using Artificial Senses. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 1423–1448
49. Pillonel, L.; *et al.* Analytical Methods for the Determination of the Geographic Origin of Emmental Cheese: Volatile Compounds by GC/MS-FID and Electronic Nose. *Eur. Food Res. Technol.* **2003**, *216*, 179–183
50. Bertelli, D.; *et al.* Detection of Honey Adulteration by Sugar Syrups Using One-Dimensional and Two-Dimensional High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 8495–8501
51. Faul, F.; *et al.* Statistical power analyses using G\*Power 3.1: Tests for Correlation and Regression Analyses. *Behav. Res. Methods* **2009**, *41*(4), 1149–1160
52. Johnson, W. E.; Li, C. Adjusting Batch Effects in Microarray Expression Data Using Empirical Bayes Methods. *Biostatistics* **2007**, *8*:1, 118–127
53. Schultz-Trieglaff, O.; *et al.* Statistical Quality Assessment and Outlier Detection for Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Experiments. *BioData Mining* **2009**, *2*:4
54. Dunn, W; *et al.* The Importance of Experimental Design and QC Samples in Large-Scale and MS-Driven Untargeted Metabolomic Studies of Humans. *Bioanalysis* **2012**, *4*:18, 2249–2264
55. Tautenhahn, R.; *et al.* XCMS Online: A Web-Based Platform to Process Untargeted Metabolomic Data. *Anal. Chem.* **2012**, *84*(11), 5035–5039
56. Styczynski, M. P.; *et al.* Systematic Identification of Conserved Metabolites in GC/MS Data for Metabolomics and Biomarker Discovery. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 966–973
57. Smilde, A. K.; *et al.* Metabolomics in Practice: Successful Strategies to Generate and Analyze Metabolic Data. M. Lämmerhofer; W. Weckwerth, Eds. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag & Co., 2013, p. 266

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2019  
2019 年 7 月 15 日, 中国出版  
5994-1076ZHCN