

代谢组学及其在环境毒理学中的应用

林嘉意, 谢炬, 朱越平*, 谢文玉

广东石油化工学院, 广东省石油化工污染过程与控制重点实验室, 广东高校石油化工污染控制重点实验室, 广东茂名 525000

摘要: 代谢组学作为系统生物学的一部分,因其具有分析速度快等特点,被广泛用于生物医学等方面的研究。目前代谢组学在环境毒理学方面的研究主要针对单一污染物,但也需要考虑到被污染地的复杂情况。通过介绍代谢组学及其发展历程,总结了目前主流代谢组学技术的各自特点,讨论了代谢组学在环境重金属、有机污染物和抗生素中的毒性评估以及环境胁迫耐受性中的评价等方面内容,综述了其在环境毒理学中的应用,并指出其应用不足,旨在为代谢组学应用于环境毒理学的研究提供参考。

关键词: 代谢组学;环境毒理学;重金属;有机污染物;抗生素

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2022.0057

中图分类号:Q959,X171.5 文献标志码:A

Metabolomics and its Application in Environmental Toxicology

LIN Jiayi, XIE Ju, ZHU Yueping*, XIE Wenyu

Guangdong Provincial Key Laboratory of Petrochemical Pollution Process and Control, Key Laboratory of Petrochemical Pollution Control of Guangdong Higher Education Institutes, Guangdong University of Petrochemical Technology, Guangdong Maoming 525000, China

Abstract: As a part of system biology, metabolomics is widely used in biomedical research because of its fast analysis. At present, the studies of metabolomics in environmental toxicology mainly focus on single pollutants, and the complex situation of contaminated areas should also be considered. The application of metabolomics in environmental toxicology was reviewed by introducing metabolomics and its development process. We also summarized the respective characteristics of the current mainstream metabolomics technology, and discussed the research and application progress of metabolomics in the toxicity evaluation of environmental heavy metals, organic pollutants and antibiotics, and environmental stress tolerance evaluation. At last, we pointed out that the application of metabolomics in environmental toxicology needs to be strengthened. The paper was expected to provide reference for the application research of metabolomics in environmental toxicology

Key words: metabolomics; environmental toxicology; heavy metals; organic pollutants; antibiotics

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门学科,是系统生物学的重要组成部分。代谢组学旨在研究生物细胞内相对分子质量小于1 000的内源性小分子,也用来描述整个组织中可观察到的代谢物化学特征或指纹图谱^[1]。

由于有些药物或者毒物的毒理学效应与生物体内的基因表达或蛋白质合成完全无关,所以代谢组学相较于基因组学和蛋白质组学能够更好地

对某些药物或毒物进行评估。同时,相较于基因组学和蛋白质组学,代谢组学的实验费用更低,分析速度也更快^[2]。

1 代谢组学发展历史

代谢组学的研究可以追溯到20世纪70年代的气相色谱定量代谢谱分析,通常用于疾病诊

收稿日期:2022-04-14; 接受日期:2022-07-12

基金项目:茂名市科技计划项目(2020KJZX031)

联系方式:林嘉意 E-mail:lero_lin@163.com; *通信作者 朱越平 E-mail:gdmmyzp@163.com

断^[3]。1999年英国帝国理工大学的Jeremy K Nicholson^[2]正式提出“metabonomics”这一概念,即代谢组学,并将其定义为“生命系统对病理生理刺激或基因修饰的动态多参数代谢反应的定量测量”。2000年德国马普所的Oliver Fiehn^[4]提出了新的代谢组学概念,并称之为“metabolomics”,也可以称作“代谢物组学”。他提出代谢物图谱可以作为基因功能比较展示的新工具,并且认为代谢物图谱是植物功能基因组学中一个有价值的辅助工具,值得在植物界内外广泛应用。1985年,Nicholson^[5]首次将代谢组学应用到环境毒理学的研究中。他将不同剂量的HgCl₂注入大鼠体内,24 h内收集大鼠尿液,利用核磁共振氢谱(¹H-NMR)进行监测,发现汞会降低肾小管细胞对 α -酮戊二酸和琥珀酸盐的吸收。此后,代谢组学开始逐渐在环境毒理学评估研究中得到应用和发展。

2 代谢组学分析平台

2.1 核磁共振

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)^[6-7]是基于化学位移理论发展起来的当前研究代谢组学的主要技术。随着科技的发展,科学家们对NMR技术进行不断地改进。核磁共振氢谱(¹H-NMR)是一种关于分子中¹H在核磁共振波谱法中的应用^[8]。¹H-NMR技术对含氢化合物均有响应,能检测样品中大多数的化合物并确定分子结构,因此能够满足代谢组学中对尽可能多的化合物进行检测的目标^[6,8]。固态¹³C核磁共振技术(solid ¹³C nuclear magnetic, ¹³C-NMR)^[9-10]以固体样品为研究对象,是分析含碳或骨架是由碳原子组成的有机化合物结构的有效方法,目前作为有效手段在土壤有机质化学结构和转化等研究领域中广泛应用。PR-¹H NMR^[11]是一种将模式识别与核磁共振氢谱相结合的技术,该技术不仅可以快速便捷地研究组织提取物的代谢情况,也可以有效鉴别不同的药材。

2.2 质谱及其联用技术

质谱(mass spectrum, MS)^[6]因其具有普适性、特异性和高灵敏度的优点,在代谢组学研究领域得到了广泛应用。将MS与其他技术联用,应用范围更广,并且能够获得更多、更准确的特定信息,这是现代分析技术发展的趋势,也将促进代谢

组学的研究发展^[12]。

气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[6,12]在植物代谢组学研究中作为初级代谢分析的“黄金标准”,具有较高的分辨率和检测灵敏度,并且能够避免交叉感染,提高检测速度,但它在分析挥发性低的代谢产物时需要对样品做预处理,且不能分析体系中难挥发性代谢组分。与GC-MS相比,液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS)^[13-14]具有较高的灵敏度,且无需繁杂的样品预处理过程。但由于LC-MS通常采用反相填料和梯度洗脱程序,导致大量的亲水性代谢产物不能保留或很难保留在反相色谱上^[6]。超高效液相色谱-质谱联用仪(ultra-high performance liquid chromatography mass spectrometry, UPLC-MS)^[15-16]大大提升了色谱率,不仅具有高效选择性,还提高了灵敏度、分析速率和分辨率,能够检测到更多的代谢物。随着设备的进一步改善,UPLC-MS在代谢组学研究中发挥着重要作用,并广泛应用于药物研究、毒物检测、食品安全等各个领域。高分辨质谱(high-resolution mass spectrometry, HRMS)可以对全扫描数据进行回溯性分析,它在高分辨率、准确质量和高全扫描灵敏度等方面的优势,将会广泛应用于环境毒理学、食品安全等领域的研究中^[17-18]。傅立叶变换离子回旋共振质谱仪(Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, FT-ICR MS)^[19-20]采用回旋共振的方式记录所有离子信号,不仅能够充分利用所有离子的信息,还能够最大程度削弱由于离子分离不彻底带来的相互干扰,因此具有卓越的分辨率、高的精确度和极快的分析速率。该技术可以获得化合物的精确质量数,为未知物鉴定提供强有力的工具,但FTICR-MS的价格昂贵,运行成本也高。

代谢组学的分析技术发展至今多种多样,本文对几个常用分析技术的优缺点以及取样特点进行了比较,见表1和表2。

3 代谢组学在环境毒理学研究中的应用

3.1 重金属

重金属在自然界中分布广泛,但由于人类过度开采等活动,导致人类生活环境出现大量重金属。进入到环境中的重金属不仅难以被降解,还

表1 代谢组学研究中NMR分析技术的比较

Table 1 Comparison of NMR analysis techniques in metabolomics research

方法	取样特点	优点	缺点	参考文献
NMR	预处理简单、无偏向、范围广、无创性	良好的重现性、较高通量和较低检测成本	灵敏度低、分辨率低、需要大量样品、仪器所需的投资大	[6-7]
¹ H-NMR	预处理简单、无偏向、范围广、无创性	样品用量少可回收、分析时间短、准确度高、重复性好、易制备	灵敏度低、峰信号重叠	[8, 21]
¹³ C-NMR	预处理要求低、一些含有矿物质的样品需要做脱矿处理	可获得结构上的细微变化	容易产生干扰峰	[10, 22]

表2 代谢组学研究中MS分析技术的比较

Table 2 Comparison of MS analysis techniques in metabolomics research

方法	取样特点	优点	缺点	参考文献
GC-MS	样品需要衍生化来生成挥发性化合物	灵敏度高,有可供参考、比较的标准谱图库,可以用于代谢产物定性	对样品有破坏性,进样需前处理增大误差,预处理过程繁杂	[6, 23]
LC-MS	样品预处理复杂	适合分析复杂混合体系,高通量、高灵敏度、较宽的动态范围,避免了GC-MS中繁杂的样品前处理	对样品有破坏性,与GC-MS比较,标准谱图库较少、定性较差、有机物识别方面比较差	[6, 24]
FT-ICR MS	样品预处理简单	高分辨率、高质量精度,可进行多级质谱分析	扫描速度慢、成本较高	[19, 20]
MALDI FTICR MS	样品预处理简单	分析速度快、灵敏度高、质量精度高,可提供精确的分子质量信息	损害MS谱的质量,降低目标化合物的响应,降低了MALDI定量分析的准确性和重现性	[25-26]

会参与食物链循环并最终积累到生物体内,造成人类及环境中其他生物体产生不同程度的毒性效应。在我国,污染环境的重金属主要有汞(Hg)、砷(As)、镉(Cd)等生物毒性突出的元素^[27]。

Hg具有剧毒性,会对生物体健康产生巨大的危害。张瑞兴等^[28]发现低浓度汞离子(20 μmol·L⁻¹)进入宫颈癌Hela细胞株内会结合含巯基和酰胺基的酶,或者产生超氧阴离子,从而影响细胞的能量代谢及氨基酸代谢,同时细胞也会作出相应的应激反应以免受汞离子侵害。当Hg进入土壤环境中,也会对土壤环境及生物造成不利的影响。Tang等^[29]将蚯蚓暴露于0.77±0.09 mg·kg⁻¹汞污染的土壤中培养2周后,发现低水平汞土壤会显著降低蚯蚓的谷氨酰胺和2-己基-5-乙基-3-呋喃磺酸盐含量,而甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、肌醇、t-甲基组氨酸和肌醇的含量显著升高。土壤汞污染使蚯蚓的渗透调节、氨基酸和能量代谢发生显著变化,可能导致其细胞正常代谢功能发生障碍而死亡,这一结果说明含低浓度汞的环境会对生物造成一定的影响。

Cd和As的毒性较大,进入生物体后也会产

生危害。将紫贻贝成贝分别暴露在50 μg·L⁻¹ Cd、50 μg·L⁻¹ As(V)和海水环境中培养48 h,发现50 μg·L⁻¹ Cd能够使紫贻贝的甘氨酸、牛磺酸和龙虾肌碱发生明显变化,说明Cd的暴露干扰了紫贻贝的渗透压调节过程;而丙二酸和磷酸胆碱的下降,以及糖原和葡萄糖的上升说明Cd暴露影响了紫贻贝的能量代谢过程。50 μg·L⁻¹ As(V)导致紫贻贝中龙虾肌碱和牛磺酸等渗透压调节物质明显升高,但亚牛磺酸、苏氨酸和甘氨酸等渗透压调节相关物质明显下降,从而导致紫贻贝渗透压调节紊乱。而丙二酸和琥珀酸含量的变化与Cd暴露相反,说明As(V)干扰了紫贻贝的能量代谢过程^[30]。利用蛋白质组学和代谢组学研究Cd和As(V)对海洋生物的毒理机制,发现高浓度Cd能够使许氏平鲉幼鱼(*Sebastes schlegelii*)引起强烈的免疫和氧化应激反应,而在应对低浓度As(V)胁迫时,能更全面地做出能量代谢调整。这两种组学研究内容互相验证和补充能更好地解释Cd和As(V)对许氏平鲉幼鱼的毒理效应^[31]。

3.2 有机污染物

有机污染物是指以碳水化合物、蛋白质、氨

基酸以及脂肪等形式存在的天然有机物质及某些可生物降解的人工合成有机物质为组成部分的污染物。近年来,越来越多的有机污染物被鉴定出来,主要包括二噁英类(dioxins)、多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)、多氯联苯(polychlorinated biphenyl, PCB)、持久性有机污染物(persistent organic pollutant, POPs)等。

多氯代二苯并-对-二噁英和多氯代二苯并呋喃统称为二噁英类,共包含有210种化合物,其中2,3,7,8-四氯代二苯并-对-二噁英(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin, TCDD)的毒性最强。TCDD不仅能够干扰生物体内分泌活性,还具有强致癌性和致畸性等^[32]。张保琴等^[33]使用四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)法和HPLC-MS/MS发现 $0.01 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ TCDD会使人体内脯氨酸和谷氨酸含量明显下降,且随着TCDD浓度的增加,谷氨酸合成能力逐渐降低(剂量-效应关系)。此外,有研究表明,采用基于LC-MS的代谢组学研究PCBs(Aroclor 1254, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、TCDD($10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)以及联合染毒($10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ TCDD和 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Aroclor 1254)对大鼠代谢的影响,发现3种污染物均会干扰大鼠的脂代谢,并对免疫系统、肝脏以及神经系统产生障碍,其中毒性大小为:联合染毒>TCDD>PCBs^[34]。

多氯联苯因其具有独特的物理和化学性质,被广泛的应用于生产中。但由于废物排放以及消费过程中的渗漏,导致PCBs污染范围不断变大,进而影响生物体的健康^[35]。刘耀轩等^[36]将赤子爱胜蚓放在不同氯代多氯联苯环境中,通过结合GC-MS、TEM、流式细胞和酶反应检测等方法,发现随着氯代数目的增加,糖代谢的促进作用减弱,蛋白代谢和脂代谢的影响增强。其中三氯联苯PCB28的暴露使淀粉、蔗糖和三羧酸循环等代谢增强,四氯联苯PCB52则主要影响蛋白代谢,五氯联苯PCB101会抑制类固醇和脂肪酸合成。复合PCBs的代谢毒性最强,糖、蛋白和脂质代谢都被显著影响。这些结果说明不同浓度的PCBs以及不同氯代多氯联苯都会对生物体产生一定影响,且随着氯原子数目增多,其毒性也会增加,对生物体代谢的影响也愈加显著。此外,Liao等^[37]通过UPLC-MS/MS方法,发现PCB95及其代谢产物的毒性作用还可能扰乱鸡胚肝细胞的免疫系统,导致能量代谢紊乱和肝功能障碍,其中PCBs

的代谢产物羟基多氯联苯(OH-PCBs)对鸡胚干细胞的毒性大于PCBs。

持久性有机污染物是一类有机化合物,因其在环境中具有持久性而受到全球关注。越来越多的证据表明,暴露在POPs中会影响肠道微生物区系与宿主的相互作用,改变生物体的新陈代谢,使其活性降低。Li等^[38]采用基于UPLC-MS的代谢组学方法,发现全氟辛酸(perfluorooctanoic acid, PFOA)改变了人体淋巴细胞中与免疫功能相关代谢物的含量,而代谢物的变化可以作为风险评估的生物标志物,用以确定环境污染物对淋巴细胞的毒性。Tian等^[39]用UPLC-MS分析肠道微生物暴露在POPs后的脂质变化,发现POPs的短期暴露会影响肠道微生物的总新陈代谢能力,导致微生物代谢活性显著下降。此外,多种POPs的联合对肠道微生物会产生更大的影响。

3.3 抗生素

目前抗生素可分为两类,一类是抑菌抗生素,包括林可酰胺类、四环素类和氯霉素类等;另一类是杀菌抗生素,包括氨基糖苷类、 β -内酰胺类、喹诺酮类等。在过去一段时间内,抗生素因其具有良好的杀菌或抑菌作用被人们过度使用,但由于没有注意到抗生素在人体和环境中具有富集性,导致细菌耐药性呈迅速上升趋势^[40]。

抗生素虽然具有杀菌或抑菌作用,但对生物体也具有一定毒性。Zhang等^[41]采用UPLC-MS/MS技术研究三氯卡班(triclocarban, TCC)在大鼠体内的分布,利用HRMS的非靶向代谢组学监测小鼠肝脏内源性代谢的扰动和生物转化产物的产生。发现当皮肤反复暴露在与化妆品中TCC浓度(0.5%和1.5%)相似的环境时,会对小鼠肝脏氧化受损,上游糖酵解和叶酸依赖的一碳代谢增加,且因耐药性的增加,导致肠道微生物群的组成发生改变,对生物体产生危害。此外,Antunes等^[42]通过使用基于傅里叶变换离子回旋共振直接进样(DI-FTICR MS)的代谢组学方法,发现 $450 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素、 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 万古霉素(vancomycin)、 $750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲硝唑(metronidazole)和 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 四环素(tetracycline, TET)的联合染毒不仅破坏小鼠肠道内环境的稳定,还会影响肠道内糖、核苷酸和脂肪酸的代谢,以及胆汁酸、二十烷类化合物和类固醇激素合成等,表明多种抗生素联用会扰乱生物体机体代谢及其代谢产物的合成。

不同种类的抗生素对生物体产生的影响也不同,例如倪江等^[43]用基于¹H-NMR代谢组学方法,发现4 mg·kg⁻¹盐酸林可霉素会减少肉鸡肠道中三甲胺、乳酸盐、延胡索酸盐和盐酸盐等代谢产物含量,对肠道菌群的代谢和合成产生了显著的影响,而20 mg·kg⁻¹硫酸粘杆菌素减少了乳酸盐含量,增加了烟盐酸含量,对其影响较小。

不同抗生素剂量也对生物体的代谢具有显著差异。采用UPLC-Q-TOF/MS方法研究4-差向土霉素(4-epioxytetracycline, 4-EOTC)对大鼠尿液和血液的代谢组学,发现4-EOTC通过减少大鼠体内的氨基乙酸、5-L-谷氨酰甘氨酸、精氨酸-丝氨酸和脱氧辅蛋白含量,引起大鼠机体糖代谢和氨基酸代谢的紊乱;并且中、高剂量4-EOTC还会导致大鼠血液中溶血卵磷脂显著增加,从而影响大鼠体内的脂肪酸代谢。这些结果表明随着4-EOTC剂量的增加,对大鼠血液及尿液代谢组变化的影响也越来越大^[44]。尹金宝等^[45]运用基于¹H-NMR的代谢组学技术研究酸四环素对小鼠血清和尿液代谢物质的变化,发现随着TET剂量的增加,小鼠肝脏切片细胞脂滴数量逐渐增加,造成小鼠肝脏细胞病变愈加严重,并且存在剂量效应。此外,还发现中高浓度的TET(10 g·L⁻¹)对小鼠代谢产生的影响在短时间内难以消除,具有持久性,这表明抗生素在生物体内富集成中高浓度可能会对机体产生不可逆或持久性的影响。

4 展望

代谢组学是系统生物学中发展较晚但处于核心地位的一种组学。高通量、高分辨率的分析技术与完整的生物信息学相结合,使代谢组学在疾病诊断、新药研发、药物毒性评价、环境毒理学等方面的研究中快速发展。随着科技的不断进步,代谢组学从NMR和MS技术的单独使用到目前LC-MS、GC-MS、UPLC-MS、FTICR-MS等多技术的联用,其在检测评估的灵敏度、分辨率、分析速度、选择性得以不断提升。代谢组学作为环境毒理学研究中重要的检测分析手段,不仅能发现环境中污染物暴露的相应靶器官和生物标志物,还能高效地解释其毒理作用及机制。

将代谢组学与基因组学、蛋白组学、转录组学联用不仅更加有利于科学家们探索环境污染物对

机体的毒理作用及其发生机制,还可以为环境污染的监测、健康损害及其综合治理提供理论依据和新思路^[12]。基于转录组学和代谢组学联用发现环烷的脂溶性成分(lipophilic components, LPC)调节了拟南芥的特定代谢途径,从而增强其对冰冻胁迫的耐受性^[46]。采用转录组学和代谢组学研究麻蝇耐冷性的分子机制,发现快速硬化(rapid cold-hardening, RCH)对麻蝇的耐寒性有显著影响,但对其转录组的影响不大^[47]。组学的联用将会成为探究污染物毒理学效应的有力工具,从而促进环境毒理学的发展。

目前关于某些污染物对生物体的毒性及其作用机理的研究较少,并且在代谢组学研究中选择和/或识别生物标记物后,很少发表有关回归模型预测方面的研究论文^[37, 41]。大部分研究环境毒理学实验所用的重金属、有机污染物或抗生素的暴露方式是单一的化合物暴露,而污染地区的实际情况往往较为复杂,应进一步考虑模拟污染地区的实际情况再开展复合暴露研究,这将成为研究者们长期探索研究的重任^[30, 48]。随着代谢组学技术的发展及其在环境毒理学中应用的不断成熟,它必将帮助人们更好地了解环境污染物对生态环境及生物体各种机制的影响。

参 考 文 献

- [1] K-HOTT, ARANÍBAR N, SINGH B, *et al.* Metabonomics classifies pathways affected by bioactive compounds. Artificial neural network classification of NMR spectra of plant extracts[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(6): 971-985.
- [2] NICHOLSON J K, LINDON J C, HOLMES E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [3] GATES S C, SWEELEY C C. Quantitative metabolic profiling based on gas chromatography[J]. *Clin. Chem.*, 1978(10): 1663-1673.
- [4] FIEHN O, KOPKA J, DÖRMANN P, *et al.* Metabolite profiling for plant functional genomics[J]. *Nat. Biotechnol.*, 2000, 18(11): 1157-1161.
- [5] NICHOLSON J K, TIMBRELL J A, SADLER P J. Proton NMR spectra of urine as indicators of renal damage. Mercury-induced nephrotoxicity in rats[J]. *Mol. Pharmacol.*, 1985, 27(6): 644-615.
- [6] 许国旺, 路鑫, 杨胜利. 代谢组学研究进展[J]. *中国医学科学院学报*, 2007, 29(6): 701-711.
- [7] NICHOLSON J K, CONNELLY J, LINDON J C, *et al.* Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function[J].

- Nat. Rev. Drug Discov., 2002, 1(2):153-161.
- [8] SILVERSTEIN R M, WEBSTER F X, KIEMLE D J, *et al.* Spectrometric identification of organic compounds[M]. 8th edition Spectrometric Identification of Organic Compounds, 1980.
 - [9] 罗隽飞, 李文华, 陈亚飞. 中低变质程度煤显微组分结构的 ^{13}C -NMR研究[J]. 燃料化学学报, 2005(5): 540-543.
 - [10] 李娜, 盛明, 尤孟阳, 等. 应用 ^{13}C 核磁共振技术研究土壤有机质化学结构进展[J]. 土壤学报, 2019, 56(4): 796-812.
 - [11] GRIFFIN J L, WILLIAMS H J, SANG E, *et al.* Metabolic profiling of genetic disorders: a multitissue (^1H) nuclear magnetic resonance spectroscopic and pattern recognition study into dystrophic tissue[J]. Anal. Biochem., 2001, 293(1): 16-21.
 - [12] 付金, 胡建安. 代谢组学在环境污染物的毒作用及其机制研究中的进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2019, 44(6): 692-700.
 - [13] WAGNER S, SCHOLZ K, SIEBER M, *et al.* Tools in metabolomics: an integrated validation approach for LC-MS metabolic profiling of mercapturic acids in human urine[J]. Anal. Chem., 2007, 79(7): 2918-2926.
 - [14] DETTMER K, ARONOV P A, HAMMOCK B D. Mass spectrometry-based metabolomics[J]. Mass Spectrom. Rev., 2007, 26(1): 51-78.
 - [15] GUO R, WU H, YU X, *et al.* Simultaneous determination of seven anthraquinone aglycones of crude and processed semen cassiae extracts in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a comparative pharmacokinetic study[J/OL]. Molecules, 2017, 22(11):1803[2017-10-28]. <https://doi.org/10.3390/molecules22111803>.
 - [16] WILSON I D, GIKA H, THEODORIDIS G, *et al.* Global metabolic profiling procedures for urine using UPLC-MS[J]. Nat. Protoc., 2010, 5(6): 1005-1018.
 - [17] HERNÁNDEZ F, IBÁÑEZ M, BADE R, *et al.* Investigation of pharmaceuticals and illicit drugs in waters by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry[J]. TrAC-Trend. Anal. Chem., 2014, 63: 140-157.
 - [18] DELAPORTE G, CLADIÈRE M, CAMEL V. Missing value imputation and data cleaning in untargeted food chemical safety assessment by LC-HRMS[J]. Chemometr. Intell. Lab., 2019, 188: 54-62.
 - [19] LI H, WONGKONGKATHEP P, ORDEN S V, *et al.* Revealing ligand binding sites and quantifying subunit variants of noncovalent protein complexes in a single native top-down FTICR MS experiment[J]. J. Am. Soc. Mass Spectr., 2014, 25(12): 2060-2068.
 - [20] SIMONE N, BOGDAN B, ANDRÉ D, *et al.* Developments in FTICR-MS and its potential for body fluid signatures[J]. Int. J. Mol. Sci., 2015, 16(11): 27133-27144.
 - [21] 徐博, 吴翠, 李卓俊, 等. ^1H -NMR技术在中药分析领域的应用现状[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(10): 1663-1669.
 - [22] 梁小蕊, 孙晓伟, 刘存海, 等. 一种海洋天然产物分子的红外光谱及核磁共振碳谱的理论研究[J]. 当代化工, 2018, 47(12): 2542-2544+2548.
 - [23] ZHANG A, SUN H, WANG P, *et al.* Modern analytical techniques in metabolomics analysis[J]. Analyst, 2012, 137(2): 293-300.
 - [24] MIR S A, RAJAGOPALAN P, JAIN A P, *et al.* LC-MS-based serum metabolomic analysis reveals dysregulation of phosphatidylcholines in esophageal squamous cell carcinoma[J]. J. Proteomics, 2015, 127(Pt A): 96-102.
 - [25] WANG H Y, CHU X, ZHAO Z X, *et al.* Analysis of low molecular weight compounds by MALDI-FTICR-MS[J]. J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2011, 879(17-18): 1166-1179.
 - [26] XIE J, YIN J, SUN S, *et al.* Extraction and derivatization in single drop coupled to MALDI-FTICR-MS for selective determination of small molecule aldehydes in single puff smoke[J]. Anal. Chim. Acta, 2009, 638(2): 198-201.
 - [27] 曾奇玉, 梁丽妮, 杨永凤, 等. 一株重金属高耐受菌的分离及鉴定[J]. 生物技术进展, 2015, 5(5): 387-391.
 - [28] 张瑞兴, 刘舒, 皮子凤, 等. 汞离子对细胞代谢通路影响的代谢组学[J]. 高等学校化学学报, 2014, 35(6): 1146-1151.
 - [29] TANG R, DING C, DANG F, *et al.* NMR-based metabolic toxicity of low-level Hg exposure to earthworms[J]. Environ. Pollut., 2018, 239: 428-437.
 - [30] 于德良. 镉和砷对不同发育阶段紫贻贝毒理效应的组学研究[D]. 烟台: 中国科学院烟台海岸带研究所, 2017.
 - [31] 徐兰兰. 镉和砷对许氏平鲉幼鱼毒理效应蛋白质组学和代谢组学研究[D]. 烟台: 中国科学院烟台海岸带研究所, 2020.
 - [32] 杨永滨, 郑明辉, 刘征涛. 二恶英类毒理学研究新进展[J]. 生态毒理学报, 2006(2): 105-115.
 - [33] 张保琴, 张海军, 杨常青, 等. 2,3,7,8-TCDD的短期暴露对HepG2肝癌细胞内小分子代谢产物的影响[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(3): 292-298.
 - [34] 陈蓉, 王以美, 汪江山, 等. 液质联用代谢组学研究多氯联苯和二噁英对大鼠毒性作用[J]. 环境化学, 2013, 32(7): 1226-1235.
 - [35] 毕新慧, 徐晓白. 多氯联苯的环境行为[J]. 化学进展, 2000(2): 152-160.
 - [36] 刘耀轩. 多氯联苯对赤子爱胜蚓的生长毒性作用及机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
 - [37] LIAO G, SONG X, WANG X, *et al.* Cytotoxicity of 2,2',3,5',6 (PCB-Pentachlorobiphenyl95) and its metabolites in the chicken embryo liver cells of laying hens[J/OL]. Ecotoxicol. Environ. Saf., 2020, 194: 110338[2020-03-02] <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110338>.
 - [38] LI R, GUO C, TSE W, *et al.* Metabolomic analysis reveals metabolic alterations of human peripheral blood lymphocytes by perfluorooctanoic acid[J/OL]. Chemosphere, 2019, 239(7): 124810[2019-09-07]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124810>.
 - [39] TIAN Y, GUI W, RIMAL B, *et al.* Metabolic impact of persistent organic pollutants on gut microbiota[J]. Gut Microbes., 2020, 12(1): 1-16.
 - [40] 陈敏玲, 韦献虎, 张菊梅, 等. 基于代谢组学的抗生素与细菌间作用研究进展[J]. 微生物学报, 2022, 62(2): 403-413.
 - [41] ZHANG H, LIANG Y, WU P, *et al.* Continuous dermal exposure to triclocarban perturbs the homeostasis of liver-gut axis in mice: insights from metabolic interactions and microbiome shifts[J]. Environ. Sci. Technol., 2021, 55(8): 5117-5127.

- [42] ANTUNES L C, HAN J, FERREIRA R B, *et al.*. Effect of anti-biotic treatment on the intestinal metabolome[J]. *Antimicrob. Agents. Ch.*, 2011, 55(4): 1494-503.
- [43] 倪江. 不同抗生素对肉鸡肠道免疫以及盲肠代谢影响的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [44] 韩红兴. 4-差向土霉素对大鼠的毒性及其肠道菌群与代谢组学影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [45] 尹金宝. 四环素胁迫下小鼠肠道微生物群落变化及代谢毒理效应研究[D]. 南京: 南京大学, 2014.
- [46] NAIR P, KANDASAMY S, ZHANG J, *et al.*. Transcriptional and metabolomic analysis of *Ascohyllum nodosum* mediated freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BMC Genom.*, 2012, 13(1): 1-23.
- [47] TEETS N M, PEYTON J T, RAGLAND G J, *et al.*. Combined transcriptomic and metabolomic approach uncovers molecular mechanisms of cold tolerance in a temperate flesh fly[J]. *Physiol. Genom.*, 2012, 44(15): 764-77.
- [48] KEERTHISINGHE T P, YANG Q, CHOW A, *et al.*. Feeding state greatly modulates the effect of xenobiotics on gut microbiome metabolism: a case study of tetracycline[J/OL]. *J. Hazard Mater.*, 2021, 413: 125441[2021-02-16]. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125441>.