

刘梦培, 李佳, 靳学远, 等. 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的香气成分分析 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(9): 36-43. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070173

LIU Mengpei, LI Jia, JIN Xueyuan, et al. Analysis of Aroma Components in Water Extract of *Eucommia ulmoides* Leaf Fermented by Different *Lactobacillus* Species [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(9): 36-43. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070173

· 研究与探讨 ·

不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的 香气成分分析

刘梦培¹, 李 佳¹, 靳学远², 王 霞¹, 王维静¹, 纵 伟^{1,*}

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院, 河南郑州 450002;

2. 海南科技职业大学临床医药学院, 海南海口 571126)

摘要: 利用电子鼻辅助同时蒸馏萃取-气相色谱-质谱 (Simultaneous distillation-extraction-gas chromatography-mass, SDE-GC-MS) 联用技术研究不同乳酸菌 (植物乳杆菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌和嗜热链球菌) 发酵杜仲叶水提液的主要香气成分差异性。SDE-GC-MS 分析结果表明, 未发酵液的挥发性成分共鉴定出 31 种, 以醛类相对含量最高 (14.3591%); 植物乳杆菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌和嗜热链球菌发酵后鉴定出的挥发性成分依次为 45、38、51 和 43 种, 分别以酮类 (18.8255%)、杂环类 (25.7828%)、醇类 (18.3376%) 和醇类 (14.1481%) 相对含量最高。通过电子鼻分析, PCA 和 LoA 主成分贡献率均大于 95%, 说明传感器识别效应和样品间的风味区分度较好。同时, ROAV 分析结果显示, 乳酸菌发酵增加了杜仲叶提取液关键香气成分含量, 降低原本杜仲叶的青叶味。经乳酸菌发酵后的杜仲叶提取液, 不仅挥发性成分数量较多, 且关键香气成分含量增加显著, 更有利于杜仲叶提取液香气提升。研究结果为杜仲叶产品后期研发提供了参考依据。

关键词: 杜仲叶, 发酵, 香气成分, 电子鼻, 同时蒸馏萃取 (SDE), 气相色谱-质谱法 (GC-MS)

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)09-0036-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070173

Analysis of Aroma Components in Water Extract of *Eucommia ulmoides* Leaf Fermented by Different *Lactobacillus* Species

LIU Mengpei¹, LI Jia¹, JIN Xueyuan², WANG Xia¹, WANG Weijing¹, ZONG Wei^{1,*}

(1. School of Food and Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Clinical Medicine, Hainan Vocational University of Science and Technology, Haikou 571126, China)

Abstract: In order to research the effect of different *Lactobacillus* species on the aroma components of water extract of *Eucommia ulmoides* leaf, electronic nose (E-nose) and simultaneous distillation extraction (SDE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the volatile flavor composition of water extract of *Eucommia ulmoides* leaf fermented by *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus*. The results of SDE-GC-MS showed that 31 aroma components were identified in unfermented samples, with aldehyde being the most abundant constituents (14.3591%). The volatile components identified by *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus* after fermentation were 45, 38, 51 and 43, with ketones (18.8255%), heterocycles (25.7828%), alcohols (18.3376%) and alcohols (14.1481%) as the highest relative contents, respectively. In principal component analysis (PCA) and Loading Analysis (LoA) the cumulative contribution of the first 2 principal components accounted for greater than 95%, suggesting that the E-nose sensors had good recognition performance and discrimination between samples on the basis of their flavor

收稿日期: 2020-07-16

基金项目: “十三五”国家重点研发项目 (2017YFD060130205)。

作者简介: 刘梦培 (1984-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 杜仲综合利用, E-mail: mengpei0402@163.com。

* 通信作者: 纵伟 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 果蔬深加工, E-mail: zongwei1965@126.com。

characteristics was excellent with clear distinctions. The relative odor activity value (ROAV) indicated that *Lactobacillus* fermentation increased the content of key aroma components in *Eucommia ulmoides* leaf extract, and reduced its green leaf flavor. After *Lactobacillus* fermentation, the extract of *Eucommia ulmoides* leaf not only had more volatile components, but also significantly increased the content of key aroma components, which was more conducive to the improvement of aroma in the extract of *Eucommia ulmoides*. The results of this study provide a reference for the later research and development of *Eucommia ulmoides* leaf.

Key words: *Eucommia ulmoides* leaf; fermentation; aroma components; electronic nose; simultaneous distillation extraction (SDE); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)为杜仲科杜仲属多年生落叶乔木,中国传统中草药,具有药食同源性^[1]。传统多以皮入药,造成数万吨的杜仲叶腐烂损失^[2]。现代药理研究表明,杜仲叶提取物具有抗炎、抑菌、降血压及免疫调节等功效^[3-5],且通过对杜仲叶毒理学安全性实验,验证了其食用安全性^[6]。所以,利用杜仲叶的保健功能来开发功能性食品成为目前研究的热点。杜仲叶主要化学成分有木脂素类、环烯醚萜类、苯丙素类、黄酮类、多糖等化合物,包含多种单体化合物,在乳酸菌发酵杜仲提取液过程中伴随着大分子降解、代谢合成和生物转化等一系列生化反应,产生有益人体健康的新产物,使乳酸菌数量升高的同时,发挥其补益功效^[7-8]。向敏等^[9]也研究发现乳酸菌发酵可以改善桑叶的青草、腥味等,产生令人愉悦的花果香。因此,本文通过乳酸菌发酵杜仲叶水提物改善其风味,更易被人们接受。目前,对杜仲叶产品的研究较多集中在工艺、营养成分及理化性质等方面,如张丽华等^[2]研究了添加不同益生元对植物乳杆菌发酵杜仲鲜叶饮料的影响,王翔等^[10]研究了杜仲叶干品的营养价值和抗氧化能力,但对香气成分研究鲜为少见。

随着检测技术的发展,食品挥发性成分常用电子鼻技术(E-nose)和气相色谱-质谱(GC-MS)等分析方法进行评价。电子鼻是利用气体传感器阵列的响应图案来识别气味的电子系统,能快速识别简单和复杂的挥发性成分^[11],与气相色谱-质谱联用分析食品的挥发性组分,从而对其总体信息气味进行全面评估。而同时蒸馏萃取(simultaneous distillation-extraction, SDE)法提取挥发性成分具有良好的重复性和较高的萃取量,对微量成分提取效率高,便于定量分析^[12]。目前针对杜仲叶挥发性成分分析多采用GC-MS方法分析,研究方向多集中在杜仲皮、叶在有机溶剂中提取的挥发油的成分差异^[13-14],而对杜仲叶提取液发酵后香气物质的差异性研究尚不深入。因此,本实验选取4种乳酸菌菌种(植物乳杆菌、德式乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌),分别对杜仲叶水提液进行发酵,采用SDE-GC-MS与电子鼻技术相结合的方式进行测试分析,探索不同乳酸菌发酵的杜仲叶水提液香气成分及发酵前后杜仲叶水提液香气成分的差异性,旨在为杜仲叶发酵食品开发、风味评价及工艺改进提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

杜仲叶 中国林科院杜仲研究基地;植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)GIM1.191 中国微生物菌种保藏中心;嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)GIM1.540、德氏乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)GIM1.155、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)GIM1.412 广东省微生物菌种保藏中心;MRS琼脂培养基、MRS肉汤培养基 北京奥博星生物技术有限责任公司;无水硫酸钠(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;二氯甲烷(色谱纯) 天津市富宇精细化工有限公司。

PAL-1 数显折光糖度仪 日本 ATAGO 公司; BPH-9272 型精密恒温培养箱 上海一恒科学仪器有限公司; JY92-2D 型超声波仪 宁波新芝生物科技有限公司; LDZX-50KBS 型立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂; HC-3618R 高速冷冻离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司; PEN3 型便携式电子鼻传感器 德国 Airsense 公司; 7890B-5977A 气相色谱质谱联用仪 美国安捷伦公司; JY92-2D 同时蒸馏萃取装置 郑州华峰试剂有限公司; RE-52 AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 杜仲叶水提液制备 杜仲鲜叶 50 °C 烘箱烘干,杜仲干叶与蒸馏水按 1:20 的比例 50 °C 超声提取 30 min,双层纱布过滤^[10,15],加入 6% 蔗糖(碳源)和 1% 的菊粉(益生元),121 °C 灭菌 20 min,冷却至 37 °C 左右,涂布平板法检查无菌后使用。

1.2.2 杜仲叶水提液发酵 将甘油保藏的 4 种乳酸菌分别按接种量 1%(v/v)接种到灭菌后的 MRS 液体培养基,37 °C 培养 48 h,活化 2 代后菌液离心(4 °C, 6000 r/min, 15 min),倾去培养基,用无菌水洗涤沉淀 2~3 次后得到菌泥,再将其转入无菌水中振荡均匀,活菌数可达到 10⁶ CFU/mL,接种量 4%(v/v)接种到杜仲叶水提液发酵(37 °C, 48 h)。

乳酸菌检验参照 GB 4789.35-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》^[16];杜仲叶发酵液的大肠杆菌检验参考 GB 4789.3-2016《食品安全国家标准,食品微生物学检验,大肠菌群计数》^[17]。

1.2.3 电子鼻传感器检测 PEN3 型电子鼻传感器由 10 种金属氧化物半导体型化学传感元件组成,不

同传感器的性能描述如表1所示。准确量取5 mL不同样品,放入样品瓶,50 ℃水浴10 min后,插入电子鼻探头吸取顶端空气,测定挥发性物质。电子鼻的设置参数为:样品间隔时间1 s,清洗时间100 s,归零时间5 s,样品准备时间5 s,测定时间80 s,载气流速400 mL/min,进样流量400 mL/min。传感信号在65 s后基本稳定,选定采集信号时间为70 s,连续测定10次,利用电子鼻自带的Win Muster软件对数据进行PCA及LoA。

表1 电子鼻传感器名称与其响应物质
Table 1 Electronic nose sensors and their response to odorant compounds

序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	对芳香性化合物敏感
2	W5S	对氮氧化物灵敏
3	W3C	对氨类、芳香成分灵敏
4	W6S	主要对氢气有选择性
5	W5C	对烯烃芳香成分
6	W1S	对甲基类灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对醇类、醛酮类灵敏
9	W2W	芳香成分,对有机硫化物灵敏
10	W3S	对烷烃灵敏

1.2.4 SDE法萃取挥发性成分 取250 g杜仲发酵液,放入500 mL单口圆底烧瓶中,加入沸石,置于同时蒸馏装置重相端,采用电热套加热,温度控制在(100±1) ℃范围内。另取50 mL色谱级二氯甲烷和适量沸石加入到100 mL圆底烧瓶中,置于同时蒸馏装置轻相端,采用水浴加热,温度控制在(55±1) ℃范围内,左侧物料开始回流时计时,蒸馏萃取3 h。萃取结束后,收集有机溶剂萃取液,无水硫酸钠对萃取液进行干燥,冷藏过夜,过滤,将滤液旋转蒸发浓缩至约2 mL,进行GC-MS检测。

1.2.5 GC-MS分析条件 GC条件:HP-5MS型石英毛细柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm),进样口温度250 ℃,载气为He,载气流量为1.0 mL/min;升温程序:起始温度40 ℃(保持2 min),然后以3 ℃/min的速度升到150 ℃(保持2 min),再以6 ℃/min的速率升到220 ℃(保持2 min)。进样方式:不分流,进样量0.5 μL。

MS条件:电子离子源,电子能量70 eV,离子源温度230 ℃,四极杆温度150 ℃,全扫描模式,扫描质量范围为50~550 amu,溶剂延迟3 min。检索图库为NIST 2011。GC-MS测定结果通过NIST 2011图库检索,并用峰面积归一法测算各化学成分的相对含量。

1.2.6 气味活度值(ROAV)的计算方法 参考姚远等^[18]的方法,利用相对气味活度值(ROAV)来描述发酵杜仲叶水提液香气物质对提取液主体风味的贡献,ROAV的计算公式如下:

$$ROAV_i = \frac{C_i}{C_{\max}} \times \frac{T_{\max}}{T_i}$$

式中,ROAV_i代表各香气组分相对气味活度值;C_i和T_i分别为各香气组分的相对含量(%)和香气阈值(μg/kg);C_{max}和T_{max}分别为对样品风味贡献最大的香气成分的相对含量(%)和香气阈值(μg/kg)。

一般认为,ROAV值越大的组分对样品总体香气的贡献也越大。且ROAV≥1的物质为所分析样品的关键香气成分。

1.3 数据处理

采用Origin 9.5和SPSS Statistics 32软件进行处理并制图。

2 结果与分析

2.1 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的香气风味区分度分析

2.1.1 主成分分析(PCA) 主成分分析(Principal component analysis, PCA)是一种多元统计方法,用于解释样本之间的差异,通过电子鼻传感器对样品提取信息,降低数据矩阵的维数,建立了传感器与风味特征之间的相关性,得出贡献率最大和最主要的因子^[19-20]。一般来说,贡献率越高,主成分反映原始多指标信息越好,总贡献率超过85%表明了方法的可行性^[21]。从图1可以看出,第1主成分贡献率为89.43%,第2主成分贡献率为10.18%,累积贡献率为99.61%,大于95%,表明2个主成分已经能够反映样品的整体信息,可以代表样品挥发性风味的主要特征。同时每组样品测定数据在横、纵坐标上聚集度较高,说明同组样品的稳定性和重复性较好^[22]。因此,PCA方法适用于不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液后样品挥发性成分分析。

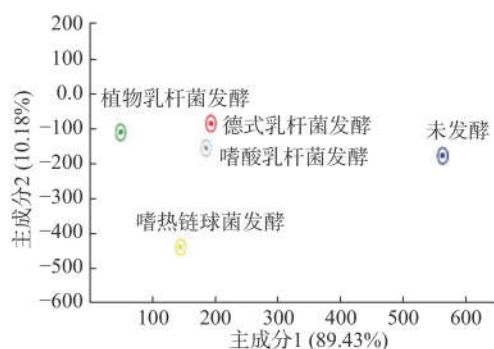


图1 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液后挥发性成分PCA图
Fig.1 Linear discriminant analysis of volatile components of water extract of *Eucommia ulmoides* leaf fermented by different *Lactobacillus* species

通过比较各组图形的横纵坐标发现,德式乳杆菌和嗜酸乳杆菌发酵后的杜仲叶水提液第1、2主成分差异不大,说明这两种菌发酵后的风味较为接近,而未发酵的杜仲叶水提液与其他4种乳酸菌发酵的杜仲叶水提液第1、2主成分差异较为明显,说明乳酸菌发酵后的风味与其未发酵风味差别较明显。结合表2所示,区分指数越接近1说明区分度

表 2 不同乳酸菌发酵杜仲水提液电子鼻风味检测的判别指数

Table 2 Discriminant index of e-nose flavor of water extract of *Eucommia ulmoides* leaf fermented by different *Lactobacillus* species

区别指数	未发酵组	植物乳杆菌发酵组	德式保加利亚乳杆菌发酵组	嗜酸乳杆菌发酵组	嗜热链球菌发酵组
未发酵组		1.000	1.000	1.000	1.000
植物乳杆菌发酵组	1.000		1.000	1.000	1.000
德式保加利亚乳杆菌发酵组	1.000	1.000		1.000	1.000
嗜酸乳杆菌发酵组	1.000	1.000	1.000		1.000
嗜热链球菌发酵组	1.000	1.000	1.000	1.000	

越大,区分越明显。结合主成分分析图可以清晰地看出植物乳杆菌发酵组、德式乳杆菌发酵组、嗜酸乳杆菌发酵组、嗜热链球菌发酵组有明显的区分,且与未发酵组有明显区别。因此,利用电子鼻来区分不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的风味是非常有效的方法。

2.1.2 载荷分析(LoA) LoA>Loading Analysis)分析法,主要是对传感器进行研究,利用该分析法可以确定该实验条件下传感器的相对重要性,即样品区分过程中哪一类气味起主要区分作用^[23]。如图 2 所示,若单个传感器的响应值越偏离于零,说明该传感器在识别中作用较大,从而确认为识别传感器^[24],结合图 2 可得 7 号(对硫化物灵敏)和 9 号(芳香成分,对有机硫化物灵敏)传感器对第一主成分区分贡献率最大,6 号(对甲基类灵敏)和 8 号(对醇类、醛酮类灵敏)传感器对第二主成分区分贡献率最大;若单个传感器横、纵坐标的响应值趋近于零,则此传感器的识别作用较小可以忽略,即传感器 1、2、3、4、5、10 响应较小,对区分所起作用不明显;总体来说传感器 6、7、8、9 号发挥了较大的作用,即未发酵组与 4 组不同菌种发酵杜仲水提液的风味差异主要体现在硫化物、醇类、醛酮类、芳香类物质等。这表明在进行更深一步分析时,可以着重对响应大的 6、7、8、9 号传感器对应的风味化合物种类进行分析。因此,可以通过电子鼻分析来辅助区分不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的风味,与气相色谱分析法相互验证。

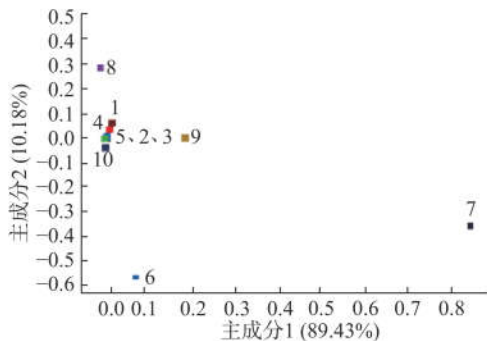


图 2 不同乳酸菌发酵杜仲水提液后挥发性成分 LoA 分析图
Fig.2 Loading analysis of volatile components of water extract of *Eucommia ulmoides* leaf fermented by different *Lactobacillus* species

2.2 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液的香气成分差异性比较

图 3 是主要香气化合物的类别分析。经 SDE-

GC-MS 分离和鉴定,未发酵挥发性成分共鉴定出 31 种,以醛类相对含量最高,为 14.36%。4 种乳酸菌发酵的杜仲叶水提液挥发性风味物质差异明显,其中植物乳杆菌发酵后鉴定出的挥发性成分为 45 种,以酮类相对含量最高,为 18.83%;德式乳杆菌发酵后鉴定出的挥发性成分为 38 种,以杂环类相对含量最高,为 24.84%;嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌发酵后鉴定出的挥发性成分分别为 43、51 种,均以醇类相对含量最高,分别为 14.15% 和 19.03%。乳酸菌发酵对杜仲叶水提液的挥发性物质具有一定的影响,且四种菌种发酵有明显的区分,主要集中在醇类、醛类、酮类、杂环类物质,这与电子鼻 PCA 和 LoA 结果相一致。经乳杆菌发酵后的杜仲提取液,不仅挥发性成分数量较多,且主要香气成分含量增加显著,更有利于杜仲叶香气提升。

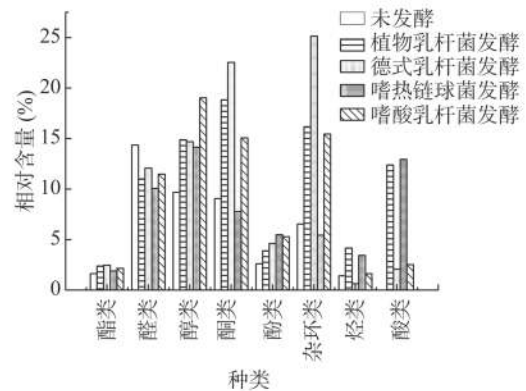


图 3 不同乳酸菌发酵杜仲水提液后挥发性成分类别分析
Fig.3 Loading analysis of volatile components of water extract of *Eucommia ulmoides* leaf fermented by different *Lactobacillus* species

2.3 不同乳酸菌种发酵杜仲叶水提液的香气特征分析

不同菌种发酵的杜仲叶水提液在相同条件下用 GC-MS 检测的定性和定量结果见表 3。

2.3.1 醇类物质 醇类物质是乳酸菌发酵过程中一类重要的挥发性香气成分,大部分醇类物质的感知阈值较高,只有少量的高级醇能够赋予淡雅的花果香气^[30]。4 种乳酸菌发酵杜仲叶水提液挥发性成分中醇类物质均含有反-3-己烯醇、3-呋喃甲醇、苯甲醇、芳樟醇、苯乙醇、alpha-松油醇等。与未发酵液相比,苯甲醇、芳樟醇、苯乙醇、alpha-松油醇等香气成分含量明显提高。具有青草香气^[29]的反-3-己烯醇,在嗜热链球菌发酵液中相对含量最高为 4.9911%;3-呋

表3 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液后挥发性成分的种类及相对含量

Table 3 Species and relative contents of volatile components in *Eucommia ulmoides* leaf fermented by different *Lactobacillus*

种类	序号	化合物名称	保留时间 (min)	香气阈值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	相对含量(%)				
					未发酵	植物乳杆菌	德式乳杆菌	嗜热链球菌	嗜酸乳杆菌
酯类 化合物	1	3-呋喃甲基 乙酸酯	14.9396	nd	0.7031 \pm 0.0003 ^c	0.6734 \pm 0.0007 ^b	0.7702 \pm 0.005 ^c	0.6506 \pm 0.0053 ^a	0.7163 \pm 0.0024 ^d
	2	3-甲基-2,3-二氧苯并呋喃- 3-羧酸甲酯	45.1027	nd	0.9276 \pm 0.0008 ^a	1.7035 \pm 0.0004 ^a	1.6894 \pm 0.0005 ^d	1.2456 \pm 0.0009 ^b	1.4365 \pm 0.0018 ^c
		总计			1.6307	2.3769	2.4596	1.8962	2.1528
醛类 化合物	1	3-糠醛	6.4223	14.1 ^[25]	1.6359 \pm 0.0005 ^a	5.0227 \pm 0.0003 ^c	2.5977 \pm 0.0003 ^c	1.8323 \pm 0.0005 ^b	3.4396 \pm 0.0005 ^d
	2	反式-2-己烯醛	7.1928	17 ^[26]	1.3585 \pm 0.0004 ^d	0.3109 \pm 0.0002 ^a	3.4281 \pm 0.0003 ^c	0.8456 \pm 0.0008 ^c	0.3657 \pm 0.0005 ^b
	3	苯甲醛	12.2868	350 ^[26]	0.6413 \pm 0.0004 ^b	—	—	2.2924 \pm 0.0004 ^c	0.3147 \pm 0.0002 ^a
	4	反,反-2,4-庚二烯醛	15.4924	49 ^[27]	5.7457 \pm 0.0009 ^e	1.1480 \pm 0.0007 ^a	1.5568 \pm 0.0003 ^b	3.1619 \pm 0.0003 ^d	2.1719 \pm 0.0002 ^c
	5	苯乙醛	17.5156	4 ^[26]	2.0376 \pm 0.0002 ^c	—	—	1.1134 \pm 0.003 ^b	0.6291 \pm 0.0003 ^a
	6	1,2-胍二乙醛	23.2743	nd	0.5227 \pm 0.0005 ^a	—	—	—	—
	7	桂皮醛	25.8802	160 ^[27]	0.4341 \pm 0.0004 ^b	4.5180 \pm 0.0015 ^c	4.1027 \pm 0.0002 ^d	0.2833 \pm 0.0002 ^a	4.0256 \pm 0.0003 ^c
	8	2-氟-4-(三氟甲基) 苯甲醛	29.2623	nd	1.9833 \pm 0.0008 ^d	—	0.3928 \pm 0.0003 ^a	0.5304 \pm 0.0005 ^b	0.5330 \pm 0.0015 ^c
	总计			14.3591	10.9996	11.6853	10.0593	11.4796	
醇类 化合物	1	反-3-己烯醇	7.2576	1000 ^[26]	3.3072 \pm 0.0002 ^c	1.9776 \pm 0.0004 ^a	3.4281 \pm 0.0004 ^d	4.9911 \pm 0.0004 ^c	2.6794 \pm 0.0003 ^b
	2	3-呋喃甲醇	7.8516	nd	3.3078 \pm 0.0002 ^d	4.1968 \pm 0.0003 ^c	3.2744 \pm 0.0004 ^c	2.2924 \pm 0.0006 ^a	3.0663 \pm 0.0003 ^b
	3	顺-2-己烯-1-醇	8.4105	100 ^[26]	—	—	0.5369 \pm 0.0003 ^c	0.4348 \pm 0.0004 ^b	0.2967 \pm 0.0002 ^a
	4	苯甲醇	17.0219	10000 ^[26]	1.0524 \pm 0.0004 ^a	1.7695 \pm 0.0003 ^d	1.4611 \pm 0.0004 ^c	1.2278 \pm 0.0003 ^b	5.4991 \pm 0.0005 ^c
	5	3-溴-1-丙醇	19.5041	nd	—	0.2769 \pm 0.0004 ^a	—	—	—
	6	2-溴乙醇	20.5511	nd	—	0.4260 \pm 0.0010 ^b	—	0.7978 \pm 0.0002 ^c	0.2895 \pm 0.0004 ^a
	7	芳樟醇	21.4452	6 ^[26]	0.7842 \pm 0.0002 ^a	1.4952 \pm 0.0002 ^c	1.9920 \pm 0.0017 ^c	1.0045 \pm 0.0002 ^b	1.6787 \pm 0.0007 ^d
	8	苯乙醇	22.1215	1100 ^[26]	—	0.9873 \pm 0.0003 ^c	0.7844 \pm 0.0003 ^b	0.3906 \pm 0.0002 ^a	2.3751 \pm 0.003 ^d
	9	1-氨基-2-丁醇	27.0802	nd	—	0.3584 \pm 0.0004 ^a	—	—	—
	10	alpha-松油醇	27.3683	330 ^[26]	—	0.5234 \pm 0.0002 ^c	0.6162 \pm 0.0002 ^d	0.2531 \pm 0.0005 ^a	0.4596 \pm 0.0005 ^b
	11	2-(4-甲氧基苯氧基)- 乙醇	34.6268	nd	—	—	—	—	0.8696 \pm 0.0004 ^a
	12	3,7-二甲基-(E, E)- 2,4,6-辛三烯-1-醇	36.362	nd	—	0.3164 \pm 0.0003 ^a	—	—	—
	13	2,6-二异丙醇	42.3735	nd	0.8665 \pm 0.0003 ^b	1.6533 \pm 0.0004 ^c	1.9592 \pm 0.0003 ^d	2.6739 \pm 0.0002 ^c	1.1236 \pm 0.0004 ^b
	14	3,7-二甲基-(E, E)- 2,4,6-辛三烯-1-醇	45.4614	nd	0.3641 \pm 0.0005 ^b	—	—	0.0821 \pm 0.0003 ^a	—
	总计			9.6822	13.9808	14.0595	14.1481	18.3376	
酮类 化合物	1	3-羟基-2-丁酮	3.2108	nd	—	—	0.3682 \pm 0.0004 ^b	0.0203 \pm 0.0007 ^a	0.4405 \pm 0.0005 ^c
	2	(E, E)-5,6,10-二甲基- 9-十二烯-2-酮	7.4458	nd	3.3589 \pm 0.0003 ^a	—	—	—	—
	3	螺环[2.3]己-5-酮	14.7043	nd	—	0.3127 \pm 0.0002 ^a	—	—	—
	4	1,2,5,5,6,7-六甲基双环 [4.1.0]庚-2-烯-4-酮	33.121	nd	—	1.6208 \pm 0.0004 ^b	2.4767 \pm 0.0005 ^c	—	1.1614 \pm 0.0004 ^a
	5	2-羟基-6-甲基-3-(1-甲基)- 2-环己烯-1-酮	34.7679	nd	—	—	—	—	0.5067 \pm 0.0003 ^a
	6	大马士酮	40.0617	6.0000 ^[28]	2.9509 \pm 0.0002 ^a	4.9188 \pm 0.0003 ^c	6.9427 \pm 0.0004 ^c	3.2168 \pm 0.0005 ^b	5.0491 \pm 0.0006 ^d
	7	1-[4-(1-甲基-2-丙烯基) 苯基]-乙酮	40.360	nd	1.3483 \pm 0.0003 ^a	5.8335 \pm 0.0004 ^d	7.3520 \pm 0.0015 ^c	1.6476 \pm 0.0003 ^b	4.9465 \pm 0.0002 ^c
	8	二氢- α -紫罗兰酮	41.3264	11.0000 ^[29]	—	2.4663 \pm 0.0004 ^c	3.4499 \pm 0.0005 ^d	1.7275 \pm 0.0003 ^b	1.2059 \pm 0.0006 ^a
	9	Alpha-大马酮	41.9028	nd	1.4008 \pm 0.0004 ^c	1.1871 \pm 0.0004 ^d	0.7401 \pm 0.0006 ^b	0.7952 \pm 0.0003 ^c	0.7341 \pm 0.0004 ^a
	10	1,2,3-三甲基-1H-吡啶- 5(2H)-酮	43.1204	nd	—	0.7172 \pm 0.0002 ^c	0.8172 \pm 0.0002 ^d	0.1792 \pm 0.0003 ^a	0.5295 \pm 0.0004 ^b
	11	乙基环戊烯醇酮	44.2557	nd	—	0.2220 \pm 0.001 ^b	—	—	0.1876 \pm 0.0003 ^a
	12	3-甲氧基苯乙酮	47.8143	nd	—	0.7848 \pm 0.0003 ^a	—	—	—
	13	α -异甲基紫罗兰酮	48.3261	nd	—	0.7623 \pm 0.0003 ^c	0.3956 \pm 0.0003 ^d	0.2011 \pm 0.0004 ^a	0.3065 \pm 0.0004 ^b
	总计			9.0589	18.8255	22.1742	7.7674	14.6273	
酚类 化合物	1	5-甲基-2-丙基苯酚	32.1975	nd	0.9775 \pm 0.0004 ^c	1.1252 \pm 0.0003 ^c	1.0326 \pm 0.0003 ^d	0.5320 \pm 0.001 ^a	0.5731 \pm 0.0002 ^b
	2	对乙烯基愈疮木酚	35.5444	50 ^[29]	—	—	—	—	0.3775 \pm 0.0003 ^a
	3	2-(1-甲基-2-丁烯基)- 4-甲氧基苯酚	37.0972	nd	—	1.9431 \pm 0.0003 ^b	2.7614 \pm 0.0004 ^d	1.3633 \pm 0.0003 ^a	2.2679 \pm 0.0003 ^c
	4	2,4-二叔丁基苯酚	48.1024	200 ^[28]	1.6264 \pm 0.0003 ^c	0.8229 \pm 0.0003 ^b	0.8153 \pm 0.0004 ^d	3.5945 \pm 0.0003 ^c	2.0743 \pm 0.0003 ^d
	总计			2.6039	3.8912	4.6093	5.4898	5.2928	

续表 3

种类	序号	化合物名称	保留时间 (min)	香气阈值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	相对含量(%)				
					未发酵	植物乳杆菌	德式乳杆菌	嗜热链球菌	嗜酸乳杆菌
杂环类 化合物	1	5-异恶唑胺	4.5165	nd	0.4296 \pm 0.0004 ^d	0.1712 \pm 0.0005 ^b	0.3027 \pm 0.0004 ^c	0.4859 \pm 0.0004 ^e	0.1561 \pm 0.0004 ^a
	2	对甲基苯乙胺	7.7223	nd	0.9873 \pm 0.0003 ^e	—	—	0.6568 \pm 0.0005 ^b	0.3735 \pm 0.0005 ^a
	3	N-(3-甲基丁基)乙酰胺	26.4037	nd	—	—	—	—	0.6315 \pm 0.0003 ^a
	4	正丁烯-1-丁胺	29.9387	nd	0.8275 \pm 0.0003 ^a	—	—	—	—
	5	苯并呋喃	19.1511	nd	—	—	5.1563 \pm 0.0003 ^b	—	2.2091 \pm 0.0004 ^a
	6	1-氰乙基-2-乙基-4-甲基咪唑	40.8618	nd	—	0.9039 \pm 0.0004 ^e	0.6363 \pm 0.0004 ^d	—	0.6962 \pm 0.0005 ^b
	7	2-氨基环戊基甲胺	45.8321	nd	—	0.0911 \pm 0.0007 ^a	—	—	—
	8	奥克巴胺	46.2496	nd	0.6447 \pm 0.0005 ^b	—	—	0.1584 \pm 0.0004 ^a	—
	9	1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基萘	28.5800	nd	—	1.2561 \pm 0.0005 ^e	2.2228 \pm 0.0003 ^d	0.2532 \pm 0.0004 ^a	1.1424 \pm 0.0003 ^b
	10	1,2,3,4-四氢-1,6,8-三甲基萘	33.7798	nd	—	2.0312 \pm 0.0003 ^e	3.2066 \pm 0.0003 ^d	0.4617 \pm 0.0005 ^a	1.8360 \pm 0.0006 ^b
	11	1,2,3,4-四氢-1,5,8-三甲基萘	37.9443	nd	—	1.9955 \pm 0.0003 ^e	2.8065 \pm 0.0004 ^d	0.1299 \pm 0.0003 ^a	1.8071 \pm 0.0005 ^b
	12	3,4,4a, 5,6,8a-六氢-2,5,5,8a-四甲基-, (2 α , 4 α , 8 α , α)-2H-1-苯并吡喃	34.0797	nd	1.6761 \pm 0.0004 ^e	—	—	0.5120 \pm 0.001 ^b	0.4204 \pm 0.0008 ^a
	13	2-(3-丁炔氧基)四水-2H-吡喃	38.2618	nd	0.4504 \pm 0.0005 ^a	—	—	—	—
	14	2-乙基对二甲苯	42.0911	nd	1.5197 \pm 0.0003 ^a	9.4002 \pm 0.0008 ^d	10.5789 \pm 0.0007 ^e	2.6739 \pm 0.0004 ^b	6.2555 \pm 0.0004 ^e
	15	2-(2-丁烯基)-1,3,5-三甲基苯	50.9142	nd	—	1.2127 \pm 0.0004 ^d	0.8727 \pm 0.0005 ^c	0.1171 \pm 0.0004 ^a	0.6192 \pm 0.0003 ^b
	总计				6.5335	17.0619	25.7828	5.4489	16.1470
烃类 化合物	1	苯乙烯	8.7105	730 ^[25]	—	0.0805 \pm 0.0001 ^b	—	2.2924 \pm 0.0004 ^b	0.0755 \pm 0.0003 ^a
	2	3-羟基苯基乙炔	19.2041	nd	—	2.6296 \pm 0.0003 ^a	—	—	—
	3	(3-氯丙基)亚甲基-环丙烷	14.6748	nd	1.1248 \pm 0.0004 ^b	—	—	0.8992 \pm 0.0002 ^a	0.8992 \pm 0.0003 ^a
	4	1,4-双氧甲基环己烷	21.7569	nd	—	0.6162 \pm 0.0006 ^a	—	—	—
	5	1-甲基-1,2-二氧杂螺环[2.5]辛烷	48.7731	nd	—	0.3656 \pm 0.0004 ^a	—	—	—
	6	1,9-二氧基壬烷	49.373	nd	0.2950 \pm 0.0006 ^b	0.4793 \pm 0.0004 ^d	0.6253 \pm 0.0003 ^e	0.2495 \pm 0.0003 ^a	0.4239 \pm 0.0002 ^c
	7	1-三丁基硅氧基-3-苯基丙烷	55.3727	nd	—	—	—	—	0.2266 \pm 0.0003 ^a
	总计					0.6253			
酸类 化合物	1	己酸	14.275	3000 ^[26]	—	0.5020 \pm 0.0006 ^a	—	—	—
	2	异辛酸	24.4744	nd	—	10.5118 \pm 0.0005 ^b	—	12.7924 \pm 0.0004 ^e	1.1409 \pm 0.0004 ^a
	3	3-氯-2-甲氧基-5-吡啶硼酸	31.3093	nd	—	1.3733 \pm 0.0003 ^b	2.0700 \pm 0.001 ^d	0.1623 \pm 0.0004 ^a	1.3811 \pm 0.0003 ^c
	总计					12.3871	2.0700	12.9547	2.5220

注: 相对含量数值为“均值 \pm s”; 同一行不同字母表示差异显著($P<0.05$); “—”表示未检出; “nd”表示未查询到。

喃甲醇在植物乳杆菌发酵后相对含量最高, 为 4.1968%; 具有甜果香的苯甲醇和玫瑰香^[26]的苯乙醇, 在嗜酸乳杆菌发酵液中相对含量较高, 分别为 5.4991%、2.3751%; 具有木青^[31]和紫罗兰香气^[32]的芳樟醇、 α -松油醇, 在德式乳杆菌发酵液中相对含量最高, 分别为 1.9920%、0.6162%。

2.3.2 醛类物质 醛类物质多为花香及果香, 为杜仲叶复杂的清香气味提供了积极贡献。4 种乳酸菌发酵样品挥发性成分中醛类物质均有 3-糠醛、反式-2-己烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛、桂皮醛。具有青香、蔬菜香^[32]的反,反-2,4-庚二烯醛在未发酵液中相对含量最高为 5.7457%; 具有芳香气^[33]的桂皮醛和 3-糠醛在植物乳杆菌发酵后相对含量最高, 分别为 4.5180%、5.0227%; 具有绿叶清香^[34]的反式-2-己烯醛在德式乳杆菌发酵后相对含量最高, 为 3.4281%; 具有杏仁味及花香^[26]的苯甲醛、苯乙醛在嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌发酵后检测出, 而在其它 3 组中未测出。且嗜热链球菌发酵液中苯甲醛、苯乙醛相对含量较高, 分别为 2.2924%、1.1134%。

2.3.3 酮类物质 酮类物质性质稳定, 并且香气持久, 一般具有花香气味。4 种发酵杜仲叶水提液挥发性成分中共有的酮类物质有大马士酮、 α -大马

酮、二氢- α -紫罗兰酮、 α -异甲基紫罗兰酮等(前两者都具有类似玫瑰的芳香, 后两者具有紫罗兰香气^[35]), 但含量差距较大。大马士酮和二氢- α -紫罗兰酮在德式乳杆菌发酵液中相对含量最高分别为 6.9427% 和 3.4499%; α -大马士酮在未发酵液中相对含量最高为 1.4008%; 在所有甲基紫罗兰酮中香气最佳^[36]的 α -异甲基紫罗兰酮在植物乳杆菌发酵后相对含量最高为 0.7623%。

2.3.4 其他类化合物 其他类化合物中杂环类物质在发酵前后的杜仲提取液中相对含量较高, 可能是由于 SDE 法在加热过程中促使美拉德反应加剧生成一些许多含氮杂环化合物, 如呋喃、吡喃、吡咯衍生物等^[37]。酯类、酚类、酸类、烃类物质在发酵前后的杜仲提取液所占比例虽然较低, 但是因其阈值不同, 对杜仲液发酵后的风味同样起到重要作用。酯类物质多为花、果香。德氏乳杆菌发酵液中酯类物质相对含量较高, 占总挥发性成分的 2.4596%。具有果香气^[38]的 2,4-二叔丁基苯酚在嗜热链球菌发酵液中的相对含量是所有酚类物质里最高(3.5945%)。具有奶酪、酯香味^[26]的己酸是植物乳杆菌发酵液特有的物质(相对含量 0.5020%)。嗜热链球菌发酵液中检测到的苯乙烯是烃类物质中相对含量最高的为 2.2924%。

2.4 不同乳酸菌种发酵杜仲叶水提液的关键香气成分分析

采用 ROAV 分析发酵杜仲叶水提液中主要香气物质对发酵液总体风味的贡献程度。根据表 3 中部分发酵液风味物质的香气阈值和相对含量,以德式乳杆菌发酵液中的大马士酮为 $ROAV_{max}=100$,并计算样品中其它风味物质的 ROAV,计算结果见表 4。

未发酵的提取液有 6 种关键香气成分,对其风味贡献率大小依次为苯乙醛、大马士酮、芳樟醇、反,反-2,4-庚二烯醛、3-糠醛、反式-2-己烯醛;植物乳杆菌发酵液有 7 种关键香气成分,对其风味贡献率大小依次为大马士酮、3-糠醛、芳樟醇、二氢- α -紫罗兰酮、桂皮醛、反,反-2,4-庚二烯醛、反式-2-己烯醛;德式乳杆菌发酵液有 7 种关键香气成分,对其风味贡献率大小依次为大马士酮、芳樟醇、二氢- α -紫罗兰酮、反式-2-己烯醛、3-糠醛、反,反-2,4-庚二烯醛、桂皮醛;嗜热链球菌发酵液有 8 种关键香气成分,对其风味贡献率大小依次为大马士酮、苯乙醛、芳樟醇、二氢- α -紫罗兰酮、3-糠醛、反,反-2,4-庚二烯醛、反式-2-己烯醛、2,4-二叔丁基苯酚;嗜酸乳杆菌发酵液有 9 种关键香气成分,对其风味贡献率大小依次为大马士酮、芳樟醇、3-糠醛、苯乙醛、二氢- α -紫罗兰酮、对乙烯基愈疮木酚、反,反-2,4-庚二烯醛、桂皮醛、反式-2-己烯醛,其中对乙烯基愈疮木酚是嗜酸乳杆菌发酵液所特有的关键香气成分。

大马士酮、反,反-2,4-庚二烯醛、芳樟醇、3-糠醛、反式-2-己烯醛为 5 种样品共有关键香气成分,提供了主体的花香、果香和青叶香。具有绿叶青香的反,反-2,4-庚二烯醛、反式-2-己烯醛在未发酵提取液中贡献率较高,在发酵后的样品中明显下降。另外,发酵后产生独特花香气的二氢- α -紫罗兰酮,说明发酵过程不仅可以增加主体香气,还可以降低原本杜仲

叶的青叶味,产生更浓郁的花香。

3 结论与讨论

通过 SDE-GC-MS 联用技术对乳酸菌发酵杜仲叶水提液的挥发性成分进行分析,研究结果表明,未发酵杜仲叶提取液的挥发性成分共鉴定出 31 种,以醛类相对含量最高(14.3591%);植物乳杆菌发酵后鉴定出的挥发性成分为 45 种,以酮类相对含量最高(18.8255%);德式乳杆菌发酵后鉴定出的挥发性成分为 38 种,以杂环类相对含量最高(25.7828%);嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌发酵后鉴定出的挥发性成分分别为 43 和 51 种,均以醇类相对含量最高(14.1481%和 18.3376%)。与未发酵杜仲叶提取液相比,嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、德氏乳杆菌、嗜热链球菌发酵后挥发性成分分别增加 20、14、7、12 种;4 类主要挥发性物质相对含量分别增加了 2、2、2.4、1.2 倍。因此,经乳酸菌发酵后的杜仲叶提取液,不仅挥发性成分数量较多,且主要香气成分含量增加显著,更有利于杜仲叶提取液香气提升。通过电子鼻分析,PCA 和 LoA 主成分贡献率均大于 95%,香气成分差异与 SDE-GC-MS 检测结果相一致。

由 ROAV 分析可知,未发酵的杜仲叶提取液关键香气成分有 6 种,植物乳杆菌、德式乳杆菌、嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌发酵的杜仲叶提取液关键香气成分依次为 7、7、8 和 9 种,其中大马士酮、反,反-2,4-庚二烯醛、芳樟醇、3-糠醛、反式-2-己烯醛为它们共有的香气成分。具有绿叶青香的反,反-2,4-庚二烯醛,反式-2-己烯醛在未发酵杜仲叶提取液中含量较高,发酵后显著下降。另外,发酵后产生独特花香气的二氢- α -紫罗兰酮,不仅可以增加主体香气,还可以降低原本杜仲叶的青叶味,产生更浓郁的花香。研究结果为杜仲叶相关产品的研发提供了参考依据。

表 4 不同乳酸菌发酵杜仲叶水提液后关键香气成分分析

Table 4 Analysis of key odor compounds in water extract of *Eucommia ulmoides* leaf fermented by different *Lactobacillus*

编号	化合物名称	未发酵	植物乳杆菌	德式乳杆菌	嗜热链球菌	嗜酸乳杆菌	香气描述
1	大马士酮	42.50	70.85	100.00	46.33	72.72	果香,花香
2	反,反-2,4-庚二烯醛	10.13	2.02	2.75	5.58	3.83	青香
3	苯乙醛	44.02	-	-	24.06	13.59	花香
4	芳樟醇	11.30	21.54	28.69	14.47	24.18	花香、果香
5	3-糠醛	10.03	30.78	15.92	11.23	21.08	果香、花香、焦香
6	反式-2-己烯醛	6.91	1.58	17.43	4.30	1.86	青叶香
7	二氢- α -紫罗兰酮	-	19.38	27.10	13.57	9.47	花香
8	桂皮醛	0.23	2.44	2.22	0.15	2.17	辛香、花香、果香
9	2,4-二叔丁基苯酚	0.70	0.36	0.35	1.55	0.90	果香
10	反-3-己烯醇	0.29	0.17	0.30	0.43	0.23	青叶香
11	苯甲醛	0.16	-	-	0.57	0.08	果香、焦香
12	alpha-松油醇	-	0.14	0.16	0.07	0.12	花香
13	顺-2-己烯-1-醇	-	-	0.46	0.38	0.26	青叶香
14	苯乙烯	-	0.01	-	0.27	0.01	芳香味
15	苯乙醇	-	0.08	0.06	0.03	0.19	花香
16	苯甲醇	0.01	0.02	0.01	0.01	0.05	花香
17	己酸	-	0.01	-	-	-	脂香
18	对乙烯基愈疮木酚	-	-	-	-	9.32	辛辣

参考文献

- [1] 张子东,付冬梅,张威鹏,等. HPLC 法同时测定不同生长年限不同部位杜仲中 5 种苯丙素类成分[J]. *食品科学*, 2019, 40(8): 186-191.
- [2] 张丽华,李珍珠,乜晓爽,等. 植物乳杆菌发酵杜仲鲜叶饮料的研制[J]. *食品科技*, 2019, 44(2): 129-133.
- [3] Wang J Y, Yuan Y, Chen X J, et al. Extract from *Eucommia ulmoides* Oliv. ameliorates arthritis via regulation of inflammation, synoviocyte proliferation and osteoclastogenesis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 194(194): 609-616.
- [4] Shao P, Zhang J F, Chen X X, et al. Microwave-assisted extraction and purification of chlorogenic acid from by-products of *Eucommia ulmoides* Oliver and its potential anti-tumor activity[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(8): 4925-4934.
- [5] Xing Y F, He D, Wang Y, et al. Chemical constituents, biological functions and pharmacological effects for comprehensive utilization of *Eucommia ulmoides* Oliver[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2019, 8(2): 177-188.
- [6] 朱周靓,严峻,郑云燕,等. 杜仲叶安全性的毒理学评价[J]. *预防医学*, 2017, 29(5): 443-448.
- [7] Takamura C, Hirata T, Yamaguchi Y, et al. Studies on the chemical constituents of green leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv.[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2007, 61(2): 220-221.
- [8] Takemoto M. Method of producing fermented tea drink rich in theaflavins: US20090934693[P]. 2009-3-27. <https://www.surechembl.org/document/US-20110064851-A1>.
- [9] 向敏,徐茂,王子涵,等. 混合乳酸菌发酵对桑叶中挥发性关键异味组分的影响[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-11[2020-08-22]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024204>.
- [10] 王翔,胡凤杨,杨秋玲,等. 杜仲叶的营养评价及体外抗氧化活性分析[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(21): 290-299.
- [11] 陆宽,王雪雅,孙小静,等. 电子鼻结合顶空 SPME-GC-MS 联用技术分析贵州不同品种辣椒发酵后挥发性成分[J]. *食品科学*, 2018, 39(4): 199-205.
- [12] 孙洁雯,杨克玉,李燕敏,等. SDE 结合 GC-MS 分析王致和臭豆腐中的特征香气成分[J]. *食品科学*, 2015, 36(16): 127-131.
- [13] 林杰,江汉美,卢金清. HS-SPME-GC-MS 法分析杜仲和杜仲叶中挥发性成分[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(10): 165-166, 199.
- [14] 李岩,赵德刚. 杜仲挥发性成分测定及差异性研究[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(10): 1641-1644.
- [15] 罗威,耿敬章. 杜仲叶绿茶复合饮料的工艺优化[J]. *食品工业*, 2012, 33(5): 28-30.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB/T 4789.35-2016 《食品安全国家标准,食品微生物学检验,乳酸菌检验》[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 4789.3-2016 《食品安全国家标准,食品微生物学检验,大肠菌群计数》[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [18] 姚远,陶玉贵,葛飞,等. 两种酿酒酵母发酵对桑葚米酒理化品质及香气成分的影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(24): 242-250, 261.
- [19] Liu M, Han X M, Tu K, et al. Application of electronic nose in Chinese spirits quality control and flavour assessment[J]. *Food Control*, 2012, 26(2): 564-570 (in Chinese).
- [20] Dong W J, Hu R S, Long Y Z, et al. Comparative evaluation of the volatile profiles and taste properties of roasted coffee beans as affected by drying method and detected by electronic nose, electronic tongue, and HS-SPME-GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2019, 272(272): 723-731.
- [21] Yang W J, Yu J, Pei F, et al. Effect of hot air drying on volatile compounds of *Flammulina velutipes* detected by HS-SPME-GC-MS and electronic nose[J]. *Food Chemistry*, 2016, 196(196): 860-866.
- [22] 蓬桂华,李文馨,殷勇,等. 电子鼻和电子舌在分析桑果汁风味上的应用[J/OL]. *食品工业科技*: 1-9[2020-03-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20191213.1655.040.html>.
- [23] 周围,王波,刘倩倩,等. 基于电子鼻和 GC-MS 对不同品种玫瑰“活体”香气的研究[J]. *香料香精化妆品*, 2017, 2(2): 1-6, 72.
- [24] 范霞,陈荣顺. SPME/GC-MS 法结合电子鼻技术测定茶叶中的香气成分[J]. *检验检疫学刊*, 2019, 29(2): 1-6, 12.
- [25] 刘威,张永瑞,鲁静,等. 不同加工工艺刺槐花代用茶香气成分分析[J/OL]. *食品工业科技*: 1-11[2020-08-17]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200721.0859.002.html>.
- [26] Wu Y S, Zhang W W, Yu W J, et al. Study on the volatile composition of table grapes of three aroma types[J]. *LWT*, 2019, 115(1): 1-9.
- [27] Du X F, Chad E. F, Michael C Q. Volatile composition and odour-activity value of thornless ‘Black Diamond’ and ‘Marion’ blackberries[J]. *Food Chemistry*, 2009, 119(3): 1127-1134.
- [28] 杨婷,祝霞,赵宾宾,等. 不同酿酒酵母对甜瓜酒香气品质的影响分析[J]. *食品科学*, 2015, 36(14): 145-150.
- [29] Pato R N, Barreiro C G, Grande B C. Aroma potential of Brancellao grapes from different cluster positions[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(1): 112-124.
- [30] 李维妮,郭春锋,张宇翔,等. 气相色谱-质谱法分析乳酸菌发酵苹果汁香气成分[J]. *食品科学*, 2017, 38(4): 146-154.
- [31] 石渝凤,邱太妹,杨绍兰,等. 花香型红茶加工过程中香气成分变化分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(8): 167-175.
- [32] 杨素华,安家成,谭桂菲,等. 樟树挥发油成分分析[J]. *广西林业科学*, 2018, 47(3): 350-353.
- [33] 王秋亚,马艳阳. 肉桂精油的成分分析、抑菌和抗氧化活性及在食品保鲜中的应用进展[J]. *中国调味品*, 2020, 45(3): 183-187.
- [34] 张华. 反式-2-烯醛类化合物和反,反-2,4-二烯醛类化合物在香精中的应用[J]. *香料香精化妆品*, 2006, 2(2): 30-34.
- [35] 王华,宋建强,梁艳英,等. 搅拌棒萃取-气相色谱-质谱联用法分析‘媚丽’桃红葡萄酒中的香气成分[J]. *食品科学*, 2014, 35(2): 177-181.
- [36] 唐健. 甲基紫罗兰酮的合成[J]. *河北化工*, 2011, 34(2): 56-58.
- [37] 朱晓凤,刘政权,宛晓春,等. SDE 和 HS-SPME 结合 GC-MS 分析霍山黄大茶香气成分的比较[J]. *食品科学*, 2020, 41(4): 214-221.
- [38] 吕艳杰. 同时蒸馏萃取和固相微萃取对双孢蘑菇风味物质的提取分析[J]. *食品科学*, 2015, 36(10): 185-188.