

## 研究报告

# 固相微萃取-气相色谱-质谱结合电子鼻技术分析发酵乳中挥发性风味物质

胡海敏<sup>#</sup>, 田佳乐<sup>#</sup>, 孙思霖, 聂佳莹, 何彬彬, 丹彤<sup>\*</sup>

内蒙古农业大学 乳品生物技术与工程教育部重点实验室 农业农村部奶制品加工重点实验室 内蒙古自治区乳品生物技术与工程重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010018

胡海敏, 田佳乐, 孙思霖, 聂佳莹, 何彬彬, 丹彤. 固相微萃取-气相色谱-质谱结合电子鼻技术分析发酵乳中挥发性风味物质[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 273-288.

HU Haimin, TIAN Jiale, SUN Silin, NIE Jiaying, HE Binbin, DAN Tong. Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose[J]. Microbiology China, 2023, 50(1): 273-288.

**摘要:**【背景】德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)和嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)作为酸奶的常用发酵剂,在乳制品生产中的应用十分广泛。

【目的】在前期研究基础上,以筛选出的具有良好风味的复配发酵剂(复配比为 1:100) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMAU20312 与 *S. thermophilus* IMAU80809 为实验对象,分析牛乳在发酵及贮藏期间风味物质的动态变化规律,为发酵剂的开发与应用提供依据。【方法】采用固相微萃取-气相色谱-质谱联用(solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, SPME-GC-MS)结合电子鼻技术检测并解析新鲜牛乳在发酵及贮藏阶段所产生的挥发性风味物质。【结果】该发酵剂在牛乳发酵及贮藏期间产生酸类物质 23 种,醛类物质 13 种,醇类物质 15 种,酮类物质 18 种,酯类物质 11 种,烷烃类物质 22 种。香气活度值(odor activity value, OAV)结果表明发酵乳中关键性风味物质(OAV $\geq$ 1)有 2 种,而其他化合物如 1-辛烯-3-醇、3-羟基丁醛、3-甲基-正丁醛、2,3-丁二酮、2-壬酮及己酸乙酯等对发酵乳的整体风味起修饰作用(0.1 $\leq$ OAV $<$ 1)。热图聚类分析的结果表明牛乳在发酵与贮藏期间产生的风味物质有显著差异,类似的分析结果在电子鼻系统检测分析中也有发现。【结论】该复配发酵剂在牛乳发酵和贮藏期间能产生的多种风味物质,这些化合物能赋予产品良好的风味。

**关键词:** 德氏乳杆菌保加利亚亚种; 嗜热链球菌; 固相微萃取-气相色谱-质谱; 挥发性风味物质; 电子鼻

资助项目: 国家自然科学基金(31460446)

<sup>#</sup>对本文贡献相同

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31460446).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

<sup>\*</sup>Corresponding author. E-mail: dantong813218@aliyun.com

Received: 2022-03-24; Accepted: 2022-05-06; Published online: 2022-07-05

# Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose

HU Haimin<sup>#</sup>, TIAN Jiale<sup>#</sup>, SUN Silin, NIE Jiaying, HE Binbin, DAN Tong<sup>\*</sup>

Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education; Key Laboratory of Dairy Products Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Inner Mongolia Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, Inner Mongolia, China

**Abstract:** [Background] *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* are commonly used as yogurt starters, which are widely used in dairy production. [Objective] Based on the previous study, the compound starter with good flavor was screened out (1:100). *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMAU20312 and *S. thermophilus* IMAU80809, and the dynamic variation of flavor compounds in cow milk during the fermentation and storage was analyzed. The result is expected to lay a basis for the development and application of related starters. [Methods] We employed solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) and electronic nose to detect and analyze the dynamic changes of the volatile flavor compounds in milk during fermentation and storage. [Results] A total of 23 acids, 13 aldehydes, 15 alcohols, 18 ketones, 11 esters, and 22 alkanes were produced in the fermentation and storage of milk. According to odor activity values (OAV), there were two key flavor compounds ( $OAV \geq 1$ ) in the fermented milk. Moreover, other compounds such as 1-octene-3-ol, 3-hydroxybutyraldehyde, 3-methyl-n-butyraldehyde, 2,3-butanedione, 2-nonanone, and ethyl ester modified the overall flavor of the fermented milk ( $0.1 \leq OAV < 1$ ). According to the cluster heatmap, the flavor substances produced during fermentation and storage were significantly different. Similar results were also found by electronic nose detection. [Conclusion] The flavor compounds produced by the compound starter in milk during fermentation and storage endow fermented milk a good flavor.

**Keywords:** *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS); volatile flavor compounds; electronic nose

酸奶是以新鲜牛奶为原料经乳酸菌发酵制成的发酵乳制品。其品质的好坏受发酵剂的影响。用于酸奶生产的乳酸菌发酵剂主要有德氏乳杆菌保加利亚亚种 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) 和嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*)<sup>[1-2]</sup>。目前具有优良发酵特性酸奶发酵剂的筛选已成为人们关注的热点。刘娜<sup>[3]</sup>

通过分析菌株在牛乳中的发酵特性及感官评价, 筛选出具有优良发酵特性的 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMAU80319, 并通过与 *S. thermophilus* ND03 的复配发酵分析确定了最佳复配比例。王磊等<sup>[4]</sup>以 10 株 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 为研究对象, 通过分析单菌株发酵特性和益生特性, 最终筛选出具有良好产香能力

且对大部分抗生素敏感、具有较高安全性的菌株 KSDB-1。

顶空固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)方法的原理是相似相溶, 将吸附涂层直接裸露于试样上方, 再经过加热处理, 试样中的挥发性物质被分离, 这些物质聚积在涂层表面, 用于定性、定量检测<sup>[5]</sup>。气质联用技术 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)始于 20 世纪 50 年代, 具有色谱分离效率高、定性准确, 以及质谱选择性高、鉴别能力强、提供丰富的结构信息等特点<sup>[6]</sup>, 广泛应用于发酵乳中风味物质的检测。周亭亭等<sup>[7]</sup>利用 SPME-GC-MS 检测分析发酵乳中的挥发性风味化合物, 发现发酵乳的风味物质种类繁多, 一些重要的风味物质如乙醛、乙酸、双乙酰、乙偶姻等对于构成其特征风味具有重要作用。

电子鼻系统是在 20 世纪 90 年代由 Persaud 等<sup>[8]</sup>提出。该系统是基于待测样的挥发性成分, 由气敏传感器阵列将化学输入转化为电信号, 最后由多个传感器对其进行响应从而形成该样品的气味响应曲线。该技术结合了传统仪器和感官分析的优点, 能够达到对样品的快速分析且成本较低, 应用于食品的品质检测及掺假鉴别等。近年来, 一些研究学者<sup>[9]</sup>将 SPME-GC-MS 和电子鼻技术相结合研究食品的风味。如罗静等<sup>[10]</sup>利用这 2 种技术分别从宏观和微观上分析了罗非鱼片中的挥发性成分, 发现不同的干燥方式对罗非鱼片挥发性风味化合物的影响, 互补了仪器之间的不足。

实验室前期开展了不同复配比例酸奶发酵剂的筛选及其发酵特性研究, 筛选出具有良好发酵特性的菌株复配菌剂, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 的复配比为 1:100, 本文研究该复配菌剂对牛乳发酵及贮藏期间产

生风味物质的动态变化研究结果, 以期为发酵剂的开发与利用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验菌株

实验所用菌株均由内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室乳酸菌菌种资源库 (Lactic Acid Bacteria Collection Center, LABCC) 提供。实验菌株及其来源见表 1。

### 1.2 培养基和主要试剂、仪器

MRS 液体培养基, 赛默飞世尔科技(北京)有限公司; M17 液体培养基, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。脱脂乳粉、全脂乳粉, Fonterra 公司。气相色谱-质谱联用仪、色谱柱为 HP-5 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), Agilent 公司; 萃取头、手动固相微萃取进样手柄, Supelco 公司; 电子鼻, AIRSENSE 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 菌株活化

将冷冻干燥保藏的 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMAU20312 和 *S. thermophilus* IMAU80809 于脱脂乳培养基(10%脱脂乳粉, 0.1%酵母粉)中活化, 再以 2%的接种量接种于 MRS 和 M17 液体培养基中, 37 °C 连续培养 3 代, 使菌株活力达到最大。

表 1 实验菌株及其分离源

Table 1 The experimental strains and isolated sources

Strain	Isolates No.	GenBank number	Isolated source
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	IMAU20312	HM058042	Yoghurt
<i>Streptococcus thermophilus</i>	IMAU80809	HM058974	Qula

### 1.3.2 菌悬液制备

将活化后的菌株扩大培养, 4 000 r/min 离心 10 min, 离心 2 次后收集菌体, 制备菌悬液, 置于 4 °C 贮存。

### 1.3.3 发酵乳的制备

将蒸馏水加热至 50 °C, 加入 11.5% 的全脂乳粉, 混匀后加入 6.5% 的蔗糖, 待温度升至 60 °C 保持恒定, 水合 30 min 使混合物充分混匀。均质 2 次(65 °C, 低压 15 MPa、高压 35 MPa)后进行巴氏杀菌(95 °C, 5 min), 再迅速冷却至 4 °C, 备用。以 *S. thermophilus* 接种量为  $5 \times 10^6$  CFU/mL 为基准, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 以 1:100 比例复配, 接种于全脂乳中, 分装至 15 mL 样品瓶, 42 °C 发酵, 待样品 pH 值达到发酵终点(pH 4.5)停止发酵, -20 °C 保存。测定样品中挥发性风味化合物。

## 1.4 发酵乳挥发性风味物质的测定

### 1.4.1 SPME-GC-MS 测定条件

将萃取头老化(250 °C, 5 min)后插入气相瓶萃取发酵乳样品中的风味物质。于 50 °C、300 r/min 条件下萃取 60 min。再在 250 °C 下解吸附 3 min。

GC 条件: 采用程序升温, 起始温度设置为 35 °C, 保持 5 min; 再以 5 °C/min 的速率将温度升至 140 °C, 保持 2 min; 最后以 10 °C/min 速率升温, 直至温度达到 250 °C。实验使用的载气是氦(He)气, 流速为 1.0 mL/min, 汽化室温度 250 °C, 不分流进样。

MS 条件: 电离方式 EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 质量扫描范围  $m/z$  35-500, 发射电流 100  $\mu$ A, 检测电压 1.4 kV, 无溶剂延迟。

### 1.4.2 定性与定量分析

一般采用谱库检索定性法进行定性分析。

将 1,2-二氯苯溶液作为内标物加入到样品中进行定量分析。发酵乳中每种化合物的浓度

计算公式:

$$c_i = \frac{A_i}{A_s} \times c_s \quad (1)$$

式中,  $c_i$ : 待测样品中各风味物质的质量浓度( $\mu$ g/L),  $c_s$ : 内标物的质量浓度( $\mu$ g/L),  $A_i$ : 待测发酵乳样品中各风味化合物对应的色谱峰面积,  $A_s$ : 内标物对应的色谱峰面积。

### 1.4.3 关键挥发性风味物质的评价

香气活度值(odor activity value, OAV)是指样品中各挥发性成分的质量浓度与该成分在水中的感觉阈值之间的比值。一般采用该值评估各挥发性成分对样品香气的影响程度。 $OAV_i$  计算公式:

$$OAV_i = \frac{C_i}{OT_i} \quad (2)$$

式中,  $OAV_i$ : 样品中化合物 i 的 OAV 值;  $C_i$ : 样品中化合物 i 的浓度( $\mu$ g/L);  $OT_i$ : 所测风味物质在水中的感觉阈值。

### 1.5 电子鼻对发酵乳风味物质的测定

采用 PEN3 电子鼻检测样品中的风味物质。

电子鼻检测条件: 传感器清洗时间 60 s; 样品准备时间 5 s; 样品测定时间 90 s, 内部流量 300 mL/min, 进样流量 200 mL/min。

### 1.6 数据分析

利用 Microsoft Excel 2010、SPSS 23、Origin 2021 等软件对获得的原始数据进行处理, 采用 Metabo Analyst 3.0 网站对数据进行多维统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵乳中挥发性风味化合物鉴定分析

采用 SPME-GC-MS 技术检测分析发酵乳中的风味物质, 共检测到 102 种挥发性风味物质(表 2), 主要包括酸类、醛类、酮类、醇类、酯类、烷烃类等化合物。

表 2 发酵乳发酵及贮藏期间挥发性风味物质鉴定结果

Table 2 Identification of volatile flavor compounds in fermented milk during fermentation and storage by SPME-GC-MS

No.	Compound name	Molecular formula	Retention time	Content (ug/L)										
				0 h	2 h	4 h	6 h	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d		
Acids														
1	Octadecanoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	35.98	—	0.65	0.11	0.47	0.16	0.26	6.76	—	—		
2	4-hydroxy-butanoic acid	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	12.18	—	—	—	0.30	—	—	—	—	—		
3	Octanoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	19.48	—	1.89	1.42	1.28	1.87	1.96	1.24	1.37	1.77		
4	Nonanoic acid	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	22.09	—	—	—	—	—	—	—	—	0.17		
5	n-acetyl- DL-alanine	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	1.781	—	—	2.29	2.83	2.45	2.01	—	—	—		
6	Butanoic acid	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	5.892	—	—	0.18	0.99	0.95	0.75	0.86	0.85	0.31		
7	Hexanoic acid	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	13.56	—	8.45	2.74	2.52	1.56	1.24	1.54	0.99	0.33		
8	Tetradecanoic acid	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	33.51	0.06	0.07	0.04	0.40	0.70	0.10	0.14	0.11	0.19		
9	Pentanoic acid	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	5.848	—	—	—	0.73	0.89	0.95	1.28	1.34	2.05		
10	n-decanoic acid	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	24.76	5.06	5.09	0.14	0.21	0.21	0.24	0.65	0.64	0.75		
11	3-hydroxy-decanoic acid	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	32.77	—	—	0.11	1.04	—	—	—	—	—		
12	Octadecynoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	37.95	1.46	1.46	0.67	0.61	0.04	0.03	—	—	—		
13	Pentadecanoic acid	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	34.78	—	0.13	0.16	0.18	0.07	0.02	—	—	—		
14	Acetic acid	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	3.488	—	2.59	1.78	1.82	1.26	1.18	1.42	1.56	2.69		
15	Heptanoic acid	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	16.33	—	—	0.05	0.06	0.08	0.21	0.09	—	0.23		
16	Lactic acid	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	10.03	—	—	2.37	—	—	—	—	—	—		
17	D-alanine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	1.413	1.37	1.52	2.71	2.17	2.10	1.69	0.20	—	—		
18	Dodecanoic acid	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	30.08	2.33	2.33	2.03	2.05	0.03	0.09	0.04	0.05	0.07		
19	Alanine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	1.157	12.33	12.33	1.12	0.72	0.65	0.75	0.18	0.66	0.63		
20	Propanoic acid	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	4.02	—	8.19	—	—	—	—	—	—	—		
21	9-hexadecenoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	35.69	—	—	—	0.20	—	—	—	—	13.77		
22	n-hexadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	35.92	0.18	2.79	2.15	2.67	0.16	0.27	0.27	0.11	0.22		
23	cis-vaccenic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	37.72	—	0.81	0.04	—	—	—	—	—	—		
Aldehydes														
1	Nonanal	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	17.12	—	1.37	0.34	0.21	0.23	0.08	0.37	0.03	0.42		
2	Dodecanal	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O	17.18	—	—	—	—	0.05	0.25	—	—	—		
3	2,4-dimethyl-benzaldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	20.47	—	—	—	0.30	—	—	—	—	—		
4	3-hydroxy-butanal	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	3.933	0.18	1.29	0.17	0.06	0.14	0.26	0.35	0.54	0.53		
5	Octanal	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	5.582	—	1.14	0.08	0.12	0.02	0.10	0.22	0.02	0.27		
6	3-methyl-butanal	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	2.434	—	—	—	0.27	—	—	—	—	—		
7	5-hydroxymethylfurfural	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	20.89	—	1.47	0.46	—	—	—	—	—	—		
8	Heptanal	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	12.90	0.09	—	0.03	0.23	0.11	0.17	0.26	0.05	0.23		
9	Acetaldehyde	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O	1.331	—	—	—	0.21	0.24	0.32	0.54	—	—		
10	2-chloro-hexanal	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ClO	2.458	0.04	—	0.35	—	—	—	—	0.35	—		
11	Decanal	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	17.12	—	—	—	—	—	—	0.05	0.03	—		
12	(E,E)-2,4-nonadienal	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	13.29	0.20	3.07	—	—	—	—	—	—	—		
13	3,4-dimethyl-benzaldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	20.47	—	—	—	0.54	—	—	—	—	—		
Alcohols														
1	1-heptanol	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O	12.57	1.13	1.67	1.65	1.66	1.83	3.56	1.37	1.23	1.21		
2	3-methyl-2-heptanol	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	5.447	—	—	—	—	—	—	0.18	—	—		
3	1-nonanol	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O	19.23	0.15	—	—	—	—	0.32	0.23	0.04	—		
4	2-heptanol	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O	11.14	—	—	0.04	—	—	—	—	—	—		

(待续)

(续表 2)

No.	Compound name	Molecular formula	Retention time	Content ( $\mu\text{g/L}$ )									
				0 h	2 h	4 h	6 h	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	
5	1-hexanol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O	8.697	1.08	1.95	1.07	1.15	1.02	1.74	1.25	1.84	1.25	
6	1-octen-3-ol	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	12.88	0.046	0.71	—	—	—	—	—	—	—	
7	tert-hexadecanethiol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> S	30.88	—	—	—	0.33	—	—	—	—	12.1	
8	(E)-2-pentenal	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O	5.336	—	—	0.02	0.03	0.04	0.13	0.16	0.04	0.26	
9	1-heptyn-3-ol	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	5.02	—	—	—	—	—	—	—	0.13	—	
10	2-furanmethanol	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	9.065	—	0.63	0.47	0.22	0.21	—	—	—	—	
11	2-butyl-1-octanol	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	28.50	—	—	0.02	0.40	0.09	0.08	0.03	0.01	—	
12	(E)-2-octen-1-ol	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	12.9	—	—	0.04	0.03	0.02	—	—	—	—	
13	3-methyl-1-butanol	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O	4.726	—	—	—	—	—	—	—	0.48	—	
14	1-octyn-3-ol	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	15.58	—	—	—	—	—	—	—	—	0.23	
15	3,4-dimethylcyclohexanol	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	17.17	0.10	0.13	0.09	0.08	0.05	0.31	0.36	0.02	—	
Ketones													
1	2-heptanone	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	1.78	—	—	—	0.20	—	—	—	—	—	
2	2-methyl-cyclopentanone	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	11.26	—	2.27	—	—	—	—	—	—	—	
3	4-methyl-cyclohexanone	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	13.60	0.09	1.62	0.09	0.14	0.07	0.28	0.35	0.19	0.33	
4	2-methyl-3-pentanone	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	2.961	0.07	1.03	—	—	—	—	—	—	—	
5	5-methyl-2-hexanone	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	9.747	1.45	1.23	1.34	1.23	1.67	1.78	1.60	—	—	
6	Acetoin	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	3.31	—	—	—	—	—	—	—	—	2.79	
7	3,6-dimethyl-octan-2-one	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	22.55	—	—	—	0.31	—	—	—	—	—	
8	3,3-dimethyl-2-hexanone	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	1.936	3.37	3.75	4.13	3.79	3.64	3.4	3.20	6.71	6.09	
9	2,3-butanedione	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	1.752	0.04	—	—	0.25	—	—	—	—	0.20	
10	2-nonanone	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	16.73	0.15	2.02	0.19	—	0.18	—	—	—	—	
11	2,3-pentanedione	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2.917	1.82	—	—	—	—	4.07	4.20	4.90	11.95	
12	2-heptanone	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	9.476	0.13	0.23	0.11	1.74	1.58	1.08	0.93	—	—	
13	2-tridecyne	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub>	24.67	—	0.72	0.033	—	—	—	—	—	—	
14	Acetophenone	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	15.81	4.42	5.62	4.78	3.81	3.20	3.4	3.31	3.52	3.57	
15	3,5-octadien-2-one	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	16.02	0.21	3.12	0.22	0.27	0.14	0.59	0.58	0.22	0.22	
16	5-methyl-3-hepten-2-one	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	14.97	0.933	1.09	0.77	0.78	0.61	0.69	0.48	0.86	—	
17	2-pentanone	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	12.41	1.71	2.53	1.98	2.21	1.56	1.74	1.77	2.40	2.24	
18	1-oxiranyl-ethanone	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	2.811	—	1.93	—	—	—	—	—	—	—	
Esters													
1	Hexadecanoic acid, methyl ester	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	35.50	—	—	—	—	—	—	—	—	4.00	
2	Isopropyl myristate	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	34.37	—	2.71	—	—	—	—	—	0.09	—	
3	Propanoic acid, butyl ester	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	10.29	—	—	0.20	—	—	0.69	0.03	0.71	—	
4	Chloroacetic acid, t-butyl ester	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> ClO <sub>3</sub>	12.09	—	2.15	—	—	—	0.41	—	—	—	
5	4-methylcyclohexanol acetate	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3.12	—	—	—	0.93	—	—	—	—	0.32	
6	Hexanoic acid, ethyl ester	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	13.64	—	—	—	0.19	—	—	—	—	—	
7	Acetic acid, nonyl ester	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	19.22	—	—	0.05	0.05	0.05	0.08	—	—	0.15	
8	Hydrazinecarboxylic acid, phenylmethyl ester	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5.118	0.04	—	—	—	—	0.11	—	0.07	—	
9	Propanedioic acid, propyl-	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	6.593	—	—	—	—	—	—	—	—	1.25	
10	Formic acid, ethenyl ester	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1.665	—	—	—	0.30	—	—	—	—	0.70	
11	1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	34.92	—	—	—	—	—	—	—	—	3.06	

(待续)

(续表 2)

No.	Compound name	Molecular formula	Retention time	Content ( $\mu\text{g/L}$ )										
				0 h	2 h	4 h	6 h	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d		
Alkanes														
1	2-nonen-1-ol	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	17.12	0.056	-	-	-	0.07	0.09	-	0.02	-		
2	1-chloro-hexane	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{Cl}$	4.784	-	-	0.35	-	-	-	-	0.35	-		
3	D-limonene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	14.53	0.11	-	0.07	0.04	0.02	0.09	0.04	0.06	0.17		
4	1,3,5-cycloheptatriene	$\text{C}_7\text{H}_8$	4.61	0.17	-	0.16	0.19	0.06	0.39	0.15	-	0.43		
5	Ethylbenzene	$\text{C}_8\text{H}_{10}$	8.18	-	-	-	-	0.02	-	-	0.13	-		
6	Trichloromethane	$\text{CHCl}_3$	1.955	-	-	-	4.32	3.49	-	0.21	0.31	-		
7	Ethylene oxide	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$	1.133	-	-	-	-	0.41	-	0.30	-	-		
8	Butylated hydroxytoluene	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	28.91	-	-	-	-	0.04	-	3.04	-	0.15		
9	Lactose	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	16.32	0.17	-	0.42	0.10	-	-	-	-	-		
10	D-fucose	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$	5.868	-	0.81	0.27	-	-	-	0.22	0.24	-		
11	6-methyl-octadecane	$\text{C}_{19}\text{H}_{40}$	25.62	0.074	0.99	-	0.13	-	-	-	-	0.23		
12	2,4-dimethyl-heptane	$\text{C}_9\text{H}_{20}$	5.805	-	-	0.16	0.18	-	-	0.24	-	-		
13	1-chloro-pentane	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{Cl}$	4.736	0.43	-	0.33	0.31	0.37	1.04	0.47	-	1.04		
14	Dodecane	$\text{C}_{12}\text{H}_{26}$	15.58	0.10	1.34	0.31	0.85	0.35	0.60	1.84	0.02	-		
15	Tetradecane	$\text{C}_{14}\text{H}_{30}$	25.61	0.05	-	0.11	0.15	0.04	0.18	3.20	0.03	-		
16	1-(ethenyloxy)-octadecane	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$	17.49	-	-	-	0.20	-	0.08	-	-	-		
17	Butane	$\text{C}_4\text{H}_{10}$	7.522	-	-	-	1.18	-	-	-	-	-		
18	p-xylene	$\text{C}_8\text{H}_{10}$	8.494	0.05	1.21	0.06	0.11	-	0.15	0.16	0.15	0.20		
19	2,4-dimethyl-heptane	$\text{C}_9\text{H}_{20}$	5.805	-	-	0.16	0.18	-	-	0.24	-	-		
20	o-xylene	$\text{C}_8\text{H}_{10}$	8.499	0.058	1.45	-	-	0.08	-	-	-	-		
21	(+)-4-carene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	10.99	0.043	-	-	-	0.05	0.08	0.04	0.01	-		

-: 未检测到该物质

-: The substance is not detected.

牛乳发酵过程中产生的酸类化合物主要是来源于微生物发酵与脂肪的分解<sup>[11]</sup>。酸类化合物能赋予发酵乳酸爽的口感<sup>[12]</sup>。本实验中共检测到 23 种酸类化合物, 主要有乙酸、己酸及辛酸。己酸可赋予发酵乳香甜的干酪香气<sup>[13-14]</sup>, 在发酵(2、4、6 h)和贮藏期间(1、3、7、14 d)含量分别为 8.45、2.74、2.52、1.56、1.24、1.54 和 0.99  $\mu\text{g/L}$ 。辛酸赋予发酵乳类似于水果的淡酸味<sup>[15]</sup>, 在发酵(2、4、6 h)和贮藏(1、3、7、14 d)期间的含量为 1.89、1.42、1.28、1.87、1.96、1.24 和 1.37  $\mu\text{g/L}$ , 于贮藏期(3 d)含量到达峰值。乙酸赋予发酵乳尖酸、辛辣气味<sup>[16]</sup>, 对发酵乳口感有较大的影响, 在发酵及贮藏期间均被检出。

醛类化合物阈值低, 对发酵乳风味贡献较大<sup>[17]</sup>。此类物质主要由氨基酸的降解产生, 化

学性质较活泼, 一般不能稳定存在, 易被还原成相应的酸类和醇类物质<sup>[18-19]</sup>。发酵乳中共检测到 13 种醛类化合物, OAV 值大于 0.1 的醛类物质有 4 种, 分别为 3-甲基正丁醛、正辛醛、3-羟基丁醛和正壬醛。3-甲基正丁醛具有麦芽香味<sup>[20]</sup>。庚醛、正辛醛和正壬醛等主要由油酸氧化生成<sup>[11]</sup>, 正壬醛阈值较低, 赋予发酵乳柑橘香与脂肪香<sup>[20]</sup>, 在发酵 0 h 未检测到。3-羟基丁醛化学性质不稳定, 在发酵及贮藏期间均被检测到。乙醛是发酵乳中的特征性风味物质, 一定浓度的乙醛可以赋予酸奶清爽的芳香味<sup>[21]</sup>。在发酵 6 h、贮藏(1、3、7 d)检测到乙醛, 含量分别为 0.21、0.24、0.32 和 0.54  $\mu\text{g/L}$ 。

醇类物质可能来源于乳糖代谢、氨基酸代谢、甲基酮还原及亚油酸的降解<sup>[22]</sup>。本次实验

测得的醇类化合物共 15 种。OAV 值大于 0.1 的只有 1-辛烯-3-醇, 仅在发酵初期检测到。此外, 本实验检测到一些如 1-己醇、1-庚醇等含量较高的醇类物质。由于醇类物质的阈值偏高, 一般认为此类物质对发酵乳的香气作用不大。

本实验共检测到 18 种酮类化合物, 主要有 2,3 丁二酮、2-壬酮、2-庚酮、2-戊酮等。其中 2,3 丁二酮、2-壬酮 OAV 值大于 0.1, 对发酵乳的整体风味起修饰作用。2,3-丁二酮是甲基酮通过  $\alpha$ -氧化脂肪酸而形成<sup>[23]</sup>, 在发酵 6 h 时浓度达到最大 0.25  $\mu\text{g/L}$ 。2-庚酮和 2-壬酮均是发酵乳风味中的重要风味物质, 是由辛酸的  $\beta$ -氧化和癸酸的脱羧反应生成, 赋予发酵乳奶油香味和果香<sup>[24]</sup>, 在发酵及贮藏期间均被检出。

发酵乳中的酯类化合物多是低级脂肪酸化酯<sup>[25]</sup>, 发酵乳中比较多见的酯类物质是己酸乙酯、甲酸乙烯酯等。甲酸乙烯酯具有水果和花香味, 能极大地降低脂肪酸和胺带来的苦味<sup>[26]</sup>, 己酸乙酯能赋予发酵乳类似苹果、香蕉气味<sup>[27]</sup>, 在发酵乳发酵及贮藏期间均被检测到。

烷烃类化合物的风味阈值偏高, 一般认为该类物质对发酵乳的呈味作用不大, 但发酵乳中存在一定含量的此类物质可使产品的口感更

加鲜爽、醇厚<sup>[28]</sup>。

一些主要风味化合物 OAV 值, 见表 3。一般认为  $\text{OAV} \geq 1$  的挥发性物质对发酵乳整体香气的影响较大,  $0.1 \leq \text{OAV} < 1$  的挥发性物质对发酵乳的呈味作用起重要修饰。

## 2.2 发酵乳中挥发性风味化合物热图聚类分析

热图是根据挥发性风味化合物的种类及其含量所绘制, 并通过层次聚类对其进行分析, 使牛乳发酵及贮藏期间的挥发性化合物动态变化可视化的一项技术<sup>[29]</sup>。本研究利用热图对发酵乳发酵及贮藏过程中所产生的风味物质进行聚类分析, 结果如图 1 所示。发酵 0、2 h 聚为一类, 说明发酵初期菌株所产生的风味物质与其他时间的风味物质的构成不同; 发酵 4、6 h 聚为一类, 而且与贮藏初期 1 d 距离较近, 说明发酵乳发酵后期和贮藏初期所产生的风味物质相似; 贮藏 3、7 d 聚为一类且与贮藏 14 d 距离较近, 说明发酵乳贮藏中后期的风味物质相近; 贮藏 21 d 与其他发酵及贮藏时间有差异, 这可能是因为在贮藏末期发酵乳中菌体大量死亡, 风味化合物的种类和含量与其他发酵及贮藏时间点区别明显。

表 3 发酵乳中关键性风味物质及其 OAV 值

Table 3 OAV of crucial volatile compounds in fermented milk

No.	Compound name	Sensory threshold ( $\mu\text{g/L}$ )	OAV								
			0 h	2 h	4 h	6 h	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
1	1-octen-3-ol	1.5	0.033	0.47	-	-	-	-	-	-	-
2	3-hydroxy-butanal	27.0	0.007	0.05	0.006	0.002	0.005	0.01	0.01	0.02	0.10
3	3-methyl-butanal	1.2	-	-	-	0.220	-	-	-	-	-
4	Nonanal	1.0	-	1.37	0.340	0.210	0.230	0.08	0.37	0.03	0.42
5	Octanal	0.7	-	1.62	0.110	0.170	0.030	0.14	0.31	0.02	0.39
6	2,3-butane-dione	2.3	0.020	-	-	0.110	-	-	-	-	0.09
7	2-nonanon-e	5.0	0.030	0.40	0.030	-	0.030	-	-	-	-
8	Hexanoic acid, ethyl ester	1.0	-	-	-	0.190	-	-	-	-	-

OAV $\geq$ 0.1 的风味物质; -: 未检测到该物质

Flavor substance with OAV $\geq$ 0.1; -: The substance is not detected.



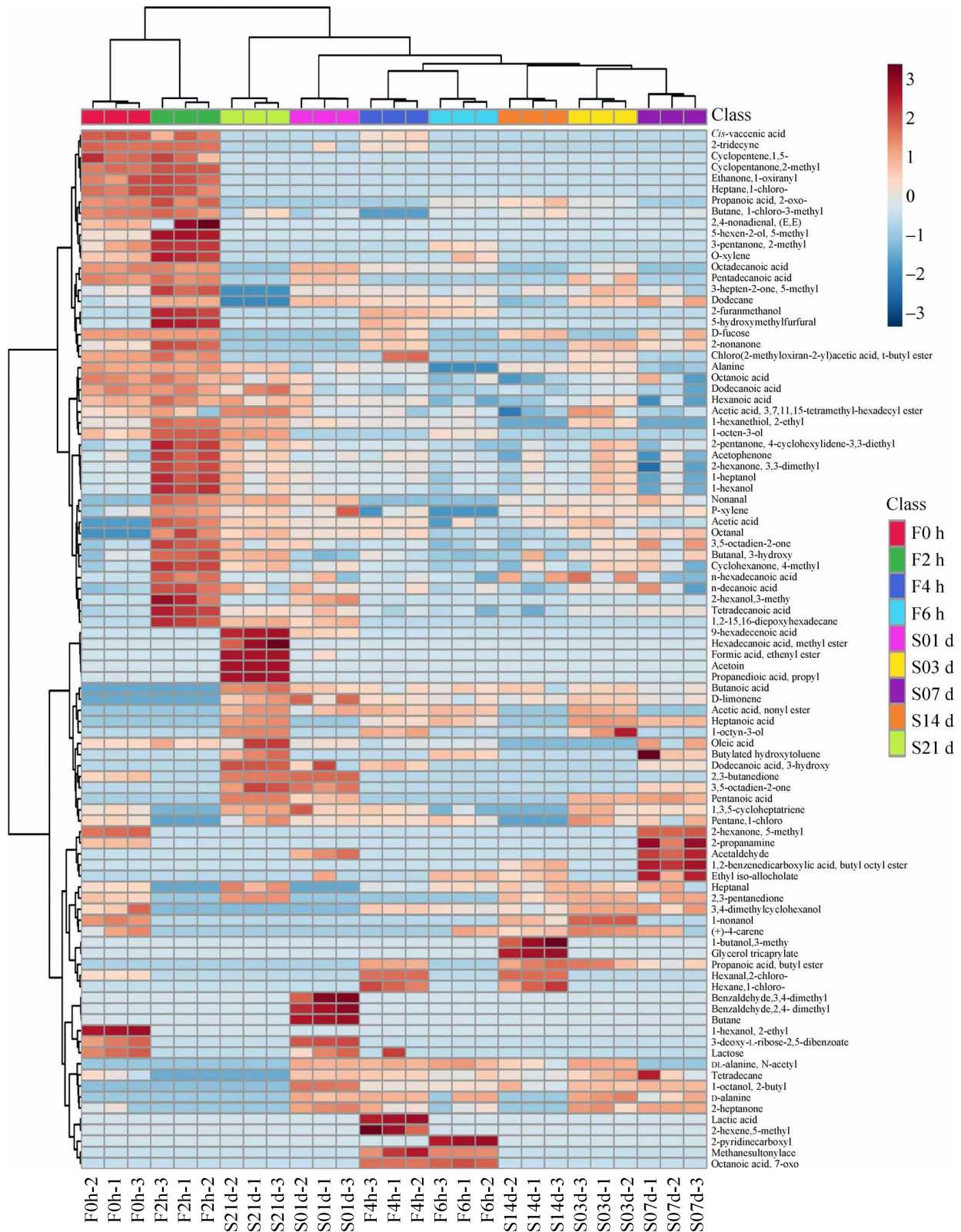


图 1 发酵乳中挥发性风味化合物热图聚类分析

Figure 1 Heat map cluster analysis of volatile flavor compounds in fermented milk.

### 2.3 发酵乳代谢差异物分析

发酵乳在牛乳发酵和贮藏期间差异代谢物分析结果如图 2 所示。发酵 0 h 时，发酵乳风味不明显，各风味物质含量均偏低；发酵 2 h 时，十八酸、2-甲基-3-戊酮、2-壬酮和 2-十三烷酮等物质含量较高，含量分别为 1.46、1.03、2.02 和 0.72  $\mu\text{g/L}$ ；发酵 4 h 时，十八酸、5-甲基-3-庚二酮、2-壬酮等化合物含量逐渐减少；发酵 6 h 时，叔十六硫醇、9-十六碳二烯酸等化合物较为突出，含量显著增多；贮藏 1、3 d 时，N-(苯甲酰氧基)-环己胺、2,3-乙酰基丙酮、庚醛等含量明显升高；贮藏 7、14 d 时，风味物质 N-(苯甲酰氧基)-环己胺、丁酸、5-甲基-3-庚二酮等化合物含量逐渐降低；贮藏 21 d 时，挥发性风味化合物丁酸、2,3-乙酰基丙酮、庚酸、戊酸和叔十六硫醇等物质含量较高，分别达到 0.31、11.95、0.23、2.05 和 12.1  $\mu\text{g/L}$ 。

### 2.4 发酵乳电子鼻检测结果分析

#### 2.4.1 电子鼻传感器响应值结果分析

雷达图分析是电子鼻检测技术中重要的多元分析方法之一，能够揭示电子鼻各传感器阵列对样品信号响应的总体和个体差异<sup>[30]</sup>。图 3 展示了电子鼻系统中 10 个传感器对发酵乳的箱型图(图 3A)和响应雷达图(图 3B)。由图 3A 可知，10 个传感器均有响应，由此表明发酵乳中风味物质整体变化显著，其中 W1C 传感器变化明显，该传感器对发酵乳中芳香成分敏感，说明芳香成分对该发酵乳香气检测贡献较大。由图 3B 可知，在发酵和贮藏期间，不同时间段的风味物质种类差异较大，0 h、21 d 的雷达线能够和其他时间点的线条清晰区分开，有显著区别。

#### 2.4.2 电子鼻热图聚类分析

采集牛乳发酵和贮藏期间的发酵乳样品进行电子鼻检测并绘制热图，所得结果如图 4 所

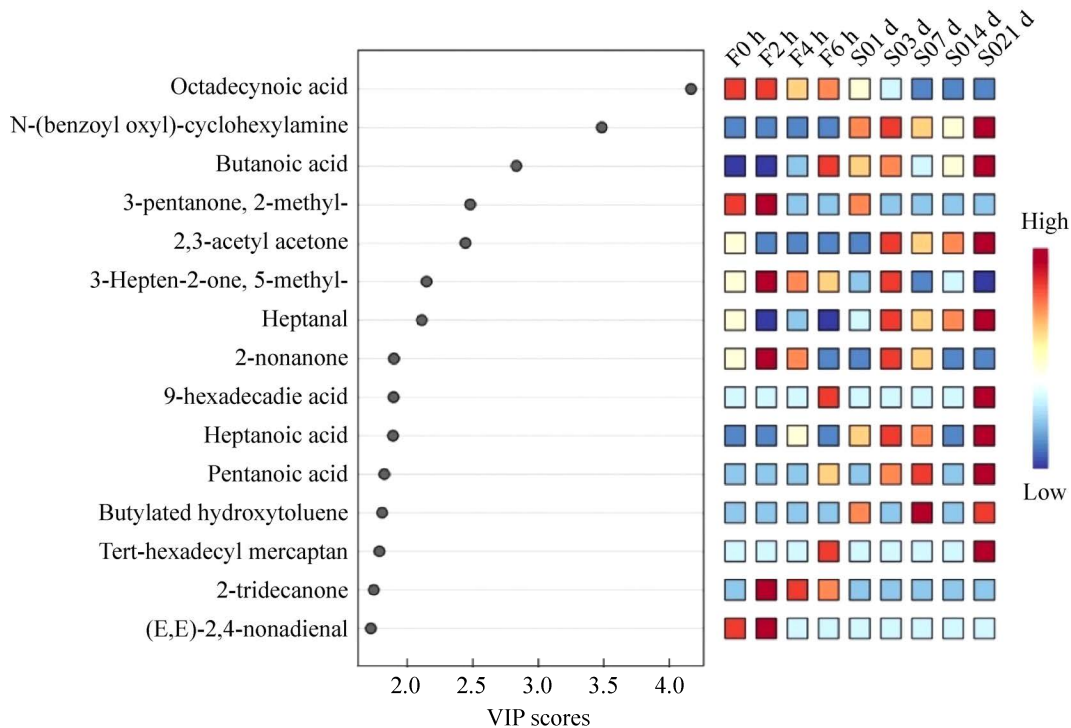


图 2 发酵乳挥发性风味物质差异代谢物分析

Figure 2 Analysis of metabolites of volatile flavor compounds in fermented milk.

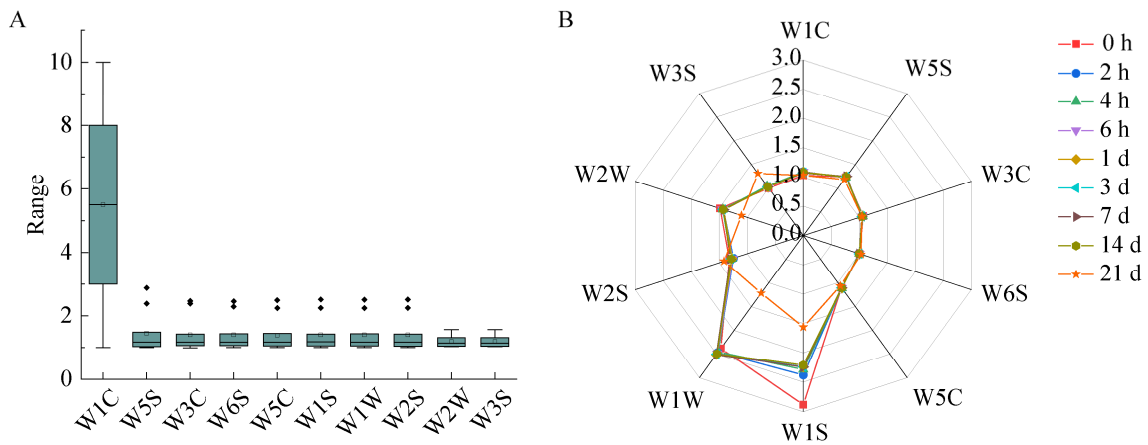


图 3 电子鼻各传感器阵列箱型图(A)及雷达图(B)  
Figure 3 Box (A) and radar (B) diagram of electronic nose sensor response.

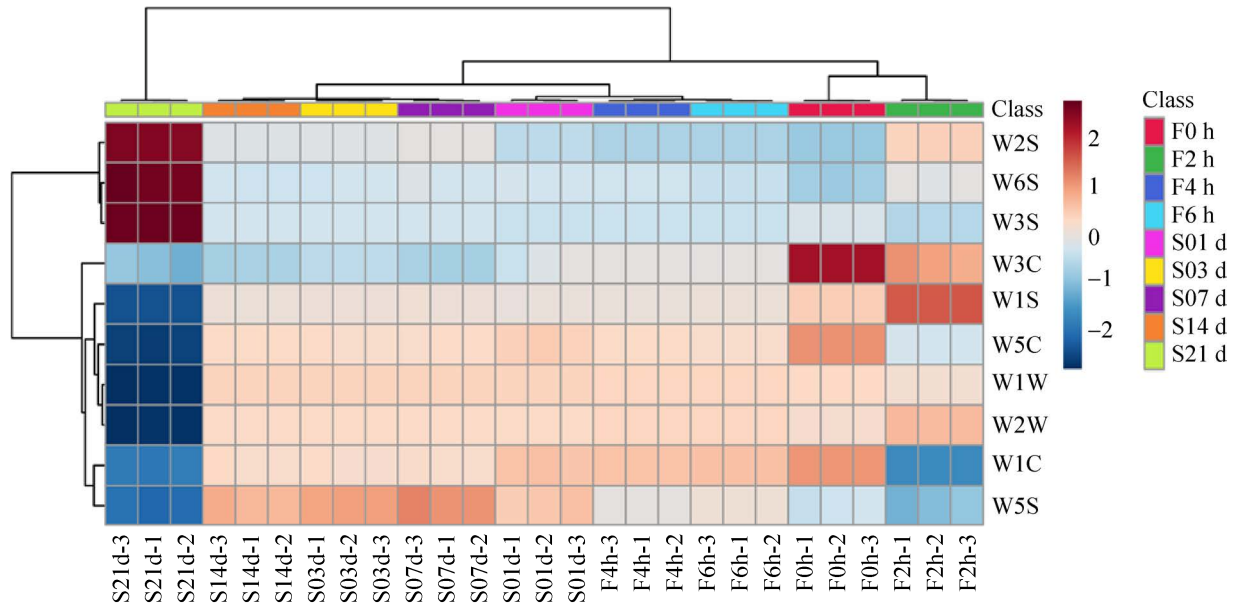


图 4 电子鼻热图聚类分析  
Figure 4 Heat map cluster analysis of electronic nose.

示。聚为同一类的风味物质相似，不同类的风味物质具有差异性。由图 4 可知，发酵乳发酵中后期(4、6 h)及贮藏初期(1 d)所产生的风味化合物相似，发酵乳贮藏中期(3 d)和贮藏后期(7、14 d)所产生的风味化合物相似，发酵初期(0、2 h)及贮藏末期(21 d)发酵乳样品风味物质与其他时间点存在差异，此分析结果与上述 2.2 中热图聚类分析的结果一致。

### 3 讨论

*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 作为酸奶的常用发酵剂，在乳品发酵工业中占有重要地位。通常酸奶发酵剂中 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 的复配比例为 1:1 或 1:2，但随着发酵工业对商业发酵剂需求的不断增加，人们发现 *L. delbrueckii* subsp.

*bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 的复配比例对乳制品风味物质的影响较大,受到业界的广泛关注。赵春雨等<sup>[31]</sup>研究发现,将 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 混合于牛乳中发酵有利于提高发酵乳的品质和风味,进而满足消费者需求。同样的结果在崔欣等<sup>[32]</sup>的研究中也有发现。*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 在牛乳环境中的协同共生是一个非常复杂的相互作用体系。两者混合发酵时,发酵前期 *S. thermophilus* 产酸速度快,乳中 pH 值降低则促进了 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 的生长繁殖,而 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 含有胞外蛋白酶 PrtB,能够产生多种氨基酸,从而促进 *S. thermophilus* 的生长<sup>[33]</sup>。*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 所产生的代谢物会促进 *S. thermophilus* 胞外多糖产量,从而赋予了发酵乳良好的质构特性。此外,氨基酸、短肽、乳糖、半乳糖等物质的生成则有助于发酵乳中风味物质的形成。两者的共生关系促进了彼此的生长繁殖,提高了产酸速度,在一定程度上提高了发酵乳的品质。李莎等<sup>[34]</sup>将 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 以 1:1 的复配比例发酵,发现复配发酵乳的发酵特性和风味口感等均强于单菌发酵。秦南冰等<sup>[35]</sup>发现将 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 按照 1:1 比例进行发酵时发酵剂产酸速度最快。赵鑫等<sup>[36]</sup>将 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 和 *S. thermophilus* 按照不同比例进行发酵,发现当球杆菌比例为 3:2 时更有利于风味物质的形成,而且货架期较长。

SPME-GC-MS 是常用的风味物质检测方法,能够较为准确地分析出乳中的风味物质动态变化。本研究利用 SPME-GC-MS 技术检测复配发酵剂 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMAU20312 与 *S. thermophilus* IMAU80809 (复

配比为 1:100)中的挥发性风味化合物并进一步确定发酵牛乳中的关键性风味物质,共检测到 102 种风味化合物,其中关键性风味物质共有 8 种。正壬醛、正辛醛(OAV $\geq$ 1)对发酵乳风味有重要作用,1-辛烯-3-醇、3-羟基丁醛、3-甲基-正丁醛、2,3-丁二酮、2-壬酮、己酸乙酯(0.1 $\leq$ OAV $<$ 1)等对发酵乳的整体风味起修饰作用。李婷等<sup>[20]</sup>采用 SPME-GC-MS 检测复配发酵乳中的风味物质,发现 3-羟基丁醛、3-甲基-正丁醛、2,3-丁二酮和 2-壬酮等物质对发酵乳风味物质贡献较大,与本实验检测到的结果较一致。牛云蔚等<sup>[37]</sup>在利用 SPME-GC-MS 技术检测分析不同品牌酸奶中的挥发性成分时也得到与本实验类似的结果。刘南南等<sup>[38]</sup>利用 SPME-GC-MS 技术检测酸牛奶中香气成分时,其检测结果也与本实验结果较一致。

电子鼻是一种通过模拟人类对气味响应<sup>[39]</sup>的客观、快速检测食品中香气成分变化的工具。该技术不受检验人员主观的影响,目前已被证实是研究食品整体风味的有效工具。SPME-GC-MS 结合 SPME 和 GC-MS 的技术优势于一体,从而实现微量挥发性香气成分的定性、定量分析。1997 年,Constant 等<sup>[40]</sup>首次将 SPME 技术用于果味啤酒的香气成分鉴定。目前该技术已广泛应用于食品风味物质的鉴定。电子鼻可以辨别发酵乳中挥发性风味化合物的类别,却不能对其进行定量分析,而 GC-MS 技术可以和电子鼻这一缺陷互补,SPME-GC-MS 检测技术与电子鼻技术的结合能够全面研究食品风味。周元等<sup>[41]</sup>基于 SPME-GC-MS 和电子鼻技术解析酶解猕猴桃汁的风味物质动态变化,发现 SPME-GC-MS 检测结果与电子鼻响应值之间的变化存在较好的对应关系。刘学艳等<sup>[42]</sup>利用该技术检测勐海县晒青茶中的香气成分,发现青茶中风味化合物的构成受产地的影响,不同产地



的青茶具有不同的优势风味物质。蒲璐璐等<sup>[43]</sup>利用 SPME-GC-MS 结合电子鼻技术测定不同酒龄的酱香型白酒品质及风味变化规律, 发现不同酒龄的白酒香气种类不同, 风味物质具有差异。尽管已有一些研究人员利用 SPME-GC-MS 与电子鼻技术相结合等技术研究食品中的风味物质, 但是截止目前同时利用这两种技术研究发酵乳中挥发性风味化合物的报道依然很少。本研究采用 SPME-GC-MS 结合电子鼻对发酵乳风味进行分析, 发现发酵乳中风味物质整体变化显著。在发酵和贮藏期间, 不同时间段的风味物质种类差异较大, 发酵初期(0、2 h)和贮藏 21 d 与其他时间点风味物质有显著差异。这一分析结果也与上述热图聚类分析的结果一致, 验证了上述结果的正确性。

## 4 结论

(1) 发酵乳中共检测出 102 种挥发性风味物质, 其中 3-羟基丁醛, 正壬醛、2-壬酮和正辛醛等特征风味物质明显, 在发酵乳中的含量较高, 呈味作用显著, 赋予发酵乳醇正、浓厚的风味口感。

(2) 发酵乳在发酵与贮藏期间产生的风味物质有显著差异, 其中发酵中后期(4、6 h)与贮藏初期(1 d)发酵乳中的香气物质相似, 贮藏中后期(3、7、14 d)发酵乳中的挥发性风味物质种类和含量相似, 而贮藏末期(21 d)发酵乳中的挥发性风味物质的种类和含量与其他时间点有显著差异, 类似的分析结果在电子鼻系统检测分析中也有发现。

## REFERENCES

[1] KANEKO D, IGARASHI T, AOYAMA K. Reduction of the off-flavor volatile generated by the yogurt starter culture including *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in

- soymilk[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(7): 1658-1663.
- [2] RASCON-DIAZ MP, TEJERO JM, MENDOZA-GARCIA PG, GARCIA HS, SALGADO-CERVANTES MA. Spray drying yogurt incorporating hydrocolloids: structural analysis, acetaldehyde content, viable bacteria, and rheological properties[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 5(2): 560-567.
- [3] 刘娜. 德氏乳杆菌保加利亚亚种优良菌株的筛选[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2013. LIU N. Screening of superior strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [4] 王磊, 高宗露, 宗丽娜, 吕田, 鲁茂林, 王文琼, 陈大卫, 徐粉林, 顾瑞霞. 具有优良发酵特性德氏乳杆菌保加利亚亚种的筛选及其益生特性[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(5): 43-51. WANG L, GAO ZL, ZONG LN, LV T, LU ML, WANG WQ, CHEN DW, XU FL, GU RX. Screening of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with superior fermentation properties and its probiotic properties[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(5): 43-51 (in Chinese).
- [5] 廖顺. 利用顶空固相微萃取与气质联用技术分析食品中的挥发性成分[A]//广东省食品学会. 现代食品工程与营养健康学术研讨会暨 2020 年广东省食品学会年会论文集[C]. 广东省食品学会, 2020. LIAO S. Volatile components in food were analyzed by solid phase microextraction and GC-MS[A]//Guangdong Food Institute. Symposium on Modern Food Engineering and Nutrition and Health and Annual Conference Proceedings of Guangdong Food Institute of 2020[C]. Guangdong Food Institute, 2020 (in Chinese).
- [6] 刘艳霞, 骆传环. 色谱: 质谱联用法在新药研究中的应用[J]. *生命科学仪器*, 2004, 2(5): 6-8. LIU YX, LUO CH. Some application of chromatography-mass spectrometry in new drug research[J]. *Life Science Instruments*, 2004, 2(5): 6-8 (in Chinese).
- [7] 周亭亭, 王丹, 陈永福, 孙天松, 张和平, 丹彤. 基于 SPME-GC-MS 法分析发酵乳中挥发性风味物质[J]. *中国乳品工业*, 2017, 45(3): 4-8. ZHOU TT, WANG D, CHEN YF, SUN TS, ZHANG HP, DAN T. Volatile compounds analysis in fermented milk by SPME-GC-MS[J]. *China Dairy Industry*, 2017, 45(3):

- 4-8 (in Chinese).
- [8] PERSAUD K, DODD G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose[J]. *Nature*, 1982, 299(5881): 352-355.
- [9] 许文娟, 赵晗, 王洪涛, 刘东霞, 孔彩霞, 马蕾. 电子鼻在食品安全检测领域的研究进展[J]. *食品工业*, 2022, 43(2): 255-260.
- XV WJ, ZHAO H, WANG HT, LIU DX, KONG CX, MA L. Research progress of electronic nose in the field of food safety detection[J]. *The Food Industry*, 2022, 43(2): 255-260 (in Chinese).
- [10] 罗静, 李敏, 张莹, 刘岩, 关志强. 电子鼻结合 GC-MS 分析不同干燥方式对罗非鱼片挥发性风味成分的影响[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(1): 135-143.
- LUO J, LI M, ZHANG Y, LIU Y, GUAN ZQ. Effect of different drying methods on volatile components of tilapia fillets analyzed by electronic nose combined with GC-MS[J]. *South China Fisheries Science*, 2022, 18(1): 135-143 (in Chinese).
- [11] 任为一, 陈海燕, 李婷, 田佳乐, 丹彤, 张和平. 嗜热链球菌发酵乳中挥发性风味物质的 GC-MS 指纹图谱[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(9): 190-202.
- REN WY, CHEN HY, LI T, TIAN JL, DAN T, ZHANG HP. Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk with *Streptococcus thermophilus* by gas chromatographic fingerprints[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(9): 190-202 (in Chinese).
- [12] 程音. 乳酸菌在食品中的应用[J]. *安阳工学院学报*, 2019, 18(4): 41-43.
- CHENG Y. Application of lactic acid bacteria in food[J]. *Journal of Anyang Institute of Technology*, 2019, 18(4): 41-43 (in Chinese).
- [13] SINGH TK, DRAKE MA, CADWALLADER KR. Flavor of cheddar cheese: a chemical and sensory perspective[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2003, 2(4): 166-189.
- [14] 李婷. 酸奶发酵剂菌株筛选及其发酵特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2020.
- LI T. Screening of yogurt starter strains and study on its fermentation characteristics[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [15] 丹彤, 乔少婷, 田佳乐. 具有良好风味嗜热链球菌的筛选及其产香特性分析[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(16): 99-105.
- DAN T, QIAO ST, TIAN JL. Screening of *Streptococcus thermophilus* with good flavor and analysis of its aroma production characteristics[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(16): 99-105 (in Chinese).
- [16] 田佳乐. 不同复配比例酸奶发酵剂的筛选及其发酵特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2021.
- TIAN JL. Study on the screening and fermentation characteristics of yogurt starters with different compound proportions[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [17] 丹彤, 包秋华, 孟和毕力格, 王俊国, 张和平. 发酵乳风味物质乙醛、双乙酰的合成途径及其调控机制[J]. *食品科技*, 2012, 37(7): 75-79.
- DAN T, BAO QH, MENGHEBILIGE, WANG JG, ZHANG HP. Gene regulation to increase acetaldehyde and diacetyl production by lactic acid bacteria[J]. *Food Science and Technology*, 2012, 37(7): 75-79 (in Chinese).
- [18] MADRUGA MS, ELMORE JS, DODSON AT, MOTTRAM DS. Volatile flavour profile of goat meat extracted by three widely used techniques[J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(3): 1081-1087.
- [19] 荣建华, 熊诗, 张亮子, 谢淑丽, 熊善柏. 基于电子鼻和 SPME-GC-MS 联用分析脆肉鲩鱼肉的挥发性风味成分[J]. *食品科学*, 2015, 36(10): 124-128.
- RONG JH, XIONG S, ZHANG LZ, XIE SL, XIONG SB. Analysis of volatile flavor components in crisp grass carp muscle by electronic nose and SPME-GC-MS[J]. *Food Science*, 2015, 36(10): 124-128 (in Chinese).
- [20] 李婷, 田佳乐, 刘洋, 李嘉雯, 乔少婷, 丹彤, 孙天松. 基于固相微萃取-气相色谱-质谱与电子鼻技术分析发酵乳中的挥发性风味物质[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(10): 233-241.
- LI T, TIAN JL, LIU Y, LI JW, QIAO ST, DAN T, SUN TS. Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk by SPME-GC-MS and electronic nose technology[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(10): 233-241 (in Chinese).
- [21] 王建辉, 王秀, 陈奇, 王发祥, 李向红, 俞健, 刘永乐. 氧化分解过程中亚油酸组成成分及挥发性物质的变化[J]. *食品与机械*, 2016, 32(5): 5-10.
- WANG JH, WANG X, CHEN Q, WANG FX, LI XH, YU J, LIU YL. Study on oxidation degradation products of linoleic acid[J]. *Food & Machinery*, 2016, 32(5): 5-10 (in Chinese).

- [22] CARROLL AL, DESAI SH, ATSUMI S. Microbial production of scent and flavor compounds[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2016, 37: 8-15.
- [23] MARCO A, NAVARRO JL, FLORES M. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage[J]. *Meat Science*, 2006, 73(4): 660-673.
- [24] LI N, ZHENG FP, CHEN HT, LIU SY, GU C, SONG ZY, SUN BG. Identification of volatile components in Chinese Sinkiang fermented camel milk using SAFE, SDE, and HS-SPME-GC/MS[J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(3): 1242-1252.
- [25] FARES K, LANDY P, GUILARD R, VOILLEY A. Physicochemical interactions between aroma compounds and milk proteins: effect of water and protein modification[J]. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81(1): 82-91.
- [26] GULER Z. Changes in salted yoghurt during storage[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2007, 42(2): 235-245.
- [27] MAJCHER M, JELEN HH. Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2009, 22(6): 606-612.
- [28] SUDUN, WULIJIDELIGEN, ARAKAWA K, MIYAMOTO M, MIYAMOTO T. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in airag, an alcoholic fermented milk[J]. *Animal Science Journal*, 2013, 84(1): 66-74.
- [29] SELLE K, ANDERSEN JM, BARRANGOU R. Short communication: transcriptional response to a large genomic island deletion in the dairy starter culture *Streptococcus thermophilus*[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(9): 7800-7806.
- [30] 高薇, 张兰威. 电子鼻对不同地理来源西藏开菲尔粒的发酵乳风味轮廓分析[J]. *食品科技*, 2019, 44(12): 316-322.  
GAO W, ZHANG LW. Flavor profile analysis of Tibetan kefir milk fermented from Tibetan kefir grains of different geographical origins by using electronic nose[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(12): 316-322 (in Chinese).
- [31] 赵春雨, 曲晓军, 崔艳华, 徐婷婷. 德氏乳杆菌保加利亚亚种和嗜热链球菌的共生机制研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2015, 38(4): 21-24.  
ZHAO CY, QV XJ, CUI YH, XV TT. Review on proto-cooperation between *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*[J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2015, 38(4): 21-24 (in Chinese).
- [32] 崔欣, 孙亚琳, 王开云, 王哲, 梁琰, 徐振上, 王婷. 嗜热链球菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种共生关系的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(6): 184-189.  
CUI X, SUN YL, WANG KY, WANG Z, LIANG Y, XV ZS, WANG T. Research progress on symbiotic relationship between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(6): 184-189 (in Chinese).
- [33] MARKRKIOU S, GASPAR P, JOHANSEN E, ZEIDAN AA, NEVES AR. Harnessing the metabolic potential of *Streptococcus thermophilus* for new biotechnological applications[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 61: 142-152.
- [34] 李莎, 马成杰, 徐志平, 徐爱才, 华宝珍. 不同发酵特性的嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌共发酵的特性[J]. *食品科学*, 2015, 36(15): 123-127.  
LI S, MA CJ, XV ZP, XV AC, HUA BZ. Fermentation characteristics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* co-cultured with different *Streptococcus thermophilus* strains[J]. *Food Science*, 2015, 36(15): 123-127 (in Chinese).
- [35] 秦南冰, 李妍, 袁珠妮, 张列兵. 保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌的比例变化对酸奶品质的影响[J]. *中国乳品工业*, 2011, 39(2): 37-40.  
QIN NB, LI Y, YUAN ZN, ZHANG LB. Vary of the ratio of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during inoculation and fermentation and its effect on yoghurt quality[J]. *China Dairy Industry*, 2011, 39(2): 37-40 (in Chinese).
- [36] 赵鑫, 赵洪双, 姜国龙. 不同比例的嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌对酸奶品质的影响[J]. *农产品加工(学刊)*, 2009(3): 177-180.  
ZHAO X, ZHAO HS, JIANG GL. The effects of the different ratios of the hot chain *Coccus* and the Bulgarian *Lactobacillus* on yoghurt quality[J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing*, 2009(3): 177-180 (in Chinese).
- [37] 牛云蔚, 肖作兵, 张喆, 朱建才, 吴旻玲. 不同品牌酸奶香气成分研究[J]. *粮食与油脂*, 2013, 26(9): 49-52.  
NIU YW, XIAO ZB, ZHANG Z, ZHU JC, WU ML. Study on aroma compounds of yogurt of different

- brands[J]. *Cereals & Oils*, 2013, 26(9): 49-52 (in Chinese).
- [38] 刘南南, 郑福平, 张玉玉, 范婷婷, 黄明泉, 陈海涛, 刘玉平, 谢建春, 孙宝国. SAFE-GC-MS分析酸牛奶挥发性成分[J]. *食品科学*, 2014, 35(22): 150-153.  
LIU NN, ZHENG FP, ZHANG YY, FAN TT, HUANG MQ, CHEN HT, LIU YP, XIE JC, SUN BG. Analysis of volatiles in yogurt by solvent-assisted flavor evaporation and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2014, 35(22): 150-153 (in Chinese).
- [39] GARDNER JW, BARTLETT PN. A brief history of electronic noses[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1994, 18(1/2/3): 210-211.
- [40] CONSTANT M, COLLIER J. Headspace gas chromatography profiles of fruit-flavored malt beverages using solid-phase microextraction[J]. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 1997, 55(3): 112-118.
- [41] 周元, 傅虹飞, 胡亚云. 基于电子鼻和 GC-MS 的酶解猕猴桃汁香气成分动态解析[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2021, 49(3): 101-109.
- ZHOU Y, FU HF, HU YY. Evolution analysis of enzymatically released volatiles from kiwifruit juices using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry analysis[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2021, 49(3): 101-109 (in Chinese).
- [42] 刘学艳, 黄飞燕, 周启武. 基于电子鼻和 SPME/GC-MS 技术对勐海县晒青茶的挥发性物质分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(19): 84-91.  
LIU XY, HUANG FY, ZHOU QW. Analysis of volatile substances in sun-dried green tea in Menghai county based on electronic nose and GC-MS technology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(19): 84-91 (in Chinese).
- [43] 蒲璐璐, 戴怡凤, 李豆南, 郭灿, 姚键梅, 徐浩, 邱树毅. 电子鼻和气质联用技术分析不同酒龄酱香型白酒挥发性成分[J]. *中国酿造*, 2021, 40(7): 171-175.  
PU LL, DAI YF, LI DN, GUO C, YAO JM, XU H, QIU SY. Analysis of volatile components in sauce-flavor Baijiu with different ages by electronic nose and GC-MS[J]. *China Brewing*, 2021, 40(7): 171-175 (in Chinese).