

引用格式:

张琪, 岳思君, 武彦路, 焦焱辉. 基于非靶向代谢组学分析阿维菌素发酵液的挥发性代谢物[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(6): 36–42.

ZHANG Q, YUE S J, WU Y L, JIAO Y H. Analysis of volatile metabolites in avermectin fermentation broth based on untargeted metabolomics[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(6): 36–42.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



基于非靶向代谢组学分析阿维菌素发酵液的挥发性代谢物

张琪¹, 岳思君^{2,3*}, 武彦路¹, 焦焱辉¹

(1.宁夏大学新华学院, 宁夏 银川 750021; 2.宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021; 3.西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 宁夏 银川 750021)

摘要: 为了解阿维菌素发酵液挥发性成分的组成及不同发酵时期的挥发性差异代谢物, 运用顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱-质谱(GC/MS)广泛非靶向代谢组学技术, 结合异味活度值(OAV), 对发酵前期(36 h)和末期(168 h)的挥发性成分进行定性和定量分析, 通过主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)、聚类分析(HCA)等方法对其挥发性差异代谢物进行分析。结果表明: 阿维菌素发酵液共检测出 396 种挥发性有机物, 以烃及卤代烃、醇类、酮类、酯类、杂环类化合物、萜类化合物为主, 其中 OAV>200 的杂环类、醛类、酮类和萜类化合物共有 11 种, 这些物质是阿维菌素发酵液呈现异味的关键物质; 从 2 个发酵时期筛选出 5-甲基-2-庚酮和邻伞花烃 2 种挥发性差异代谢物。

关键词: 阿维菌素发酵液; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱; 挥发性有机化合物; 异味活度值

中图分类号: O652

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)06-0036-07

Analysis of volatile metabolites in avermectin fermentation broth based on untargeted metabolomics

ZHANG Qi¹, YUE Sijun^{2,3*}, WU Yanlu¹, JIAO Yanhui¹

(1.Xinhua College, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China; 2.College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China; 3.Key Laboratory of Ministry of Education for Conservation and Utilization of Special Biological Resources in the Western China, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: This experiment aimed to investigate the components of volatile substances in avermectin fermentation broth and the volatile differential metabolites across different fermentation periods. Utilizing headspace solid-phase microextraction(HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS) non-targeted metabolomics technology in conjunction with odor activity value(OAV), the volatile components in 36 h and 168 h fermentation broths were qualitatively and quantitatively analyzed. The differential volatile metabolites were analyzed by principal component analysis(PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis(OPLS-DA) and cluster analysis(HCA). The findings revealed that 396 volatile organic compounds were detected in the fermentation broth of avermectin, primarily consisted of hydrocarbons, halogenated hydrocarbons, alcohols, ketones, esters, heterocyclic compounds and terpenoids; among them, there were 11 substances with OAV>200, which were the key components contributing to the odor of avermectin fermentation broth. There were two distinct metabolites identified from the two fermentation periods, namely 5-methyl-2-heptanone and o-cymene.

Keywords: avermectin fermentation broth; headspace solid-phase microextraction(HS-SPME); gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS); volatile organic compounds(VOC); odor activity value(OAV)

收稿日期: 2024-01-31

修回日期: 2024-10-20

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2021BEG02003); 宁夏大学新华学院科学研究基金项目(23XHXY04)

作者简介: 张琪(1980—), 男, 宁夏银川人, 硕士, 副教授, 主要从事微生物资源开发与利用研究, 506066916@qq.com; *通信作者, 岳思君, 博士, 教授, 主要从事微生物资源开发与利用研究, yue_sj@nxu.edu.cn

绝大多数抗生素原料药都通过特定微生物发酵生产而来^[1-2]。随着抗生素产量的增加,发酵异味污染环境日益严峻。

微生物发酵产生的挥发性有机化合物(VOCs)是异味污染的主要来源。不同发酵产品的挥发性气味特征、物质组分和含量的差异较大^[3-4]。青霉菌发酵尾气中的 VOCs 以氯代烃为主,其次是酯类,这 2 类物质占 VOCs 总量的 90%以上^[5];四环素和泰乐菌素发酵产生的 VOCs 由醛、醚等含氧有机物和有机硫化物混合而成^[6]。VOCs 的嗅阈值越低,越容易产生异味污染^[7]。红色链霉菌(*Streptomyces erythreus*)发酵产生的 VOCs 以 2 种阈值较低的萜烯类物质为主,而金黄色链霉菌(*Streptomyces auratus*)、灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)、天蓝链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)等在发酵过程中则产生烃类、芳香族化合物、醇类、硫化物、酮类、酯类和萜类等阈值极低的异味物质,这些化合物中的大部分会污染环境,并构成健康风险^[8-9]。链霉菌属微生物发酵普遍产生异味,识别关键 VOCs,明晰异味污染因子的产生规律,是制定治理方案的核心^[10]。

阿维菌素(ivermectin, AVM)是由阿维链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)发酵产生的一类高效、低毒、低残留的大环内酯类抗生素,已广泛应用于农业、畜牧业领域^[11]。鉴于阿维菌素发酵过程中产生的挥发性异味的关键因子尚不明确,笔者基于顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱-质谱联用(GC/MS)广泛非靶向代谢组学方法,分析阿维菌素不同发酵时期发酵液中的挥发性差异代谢物,结合异味活度值(OAV)值筛选关键异味污染因子,以期为阿维菌素工业生产过程中挥发性异味污染的治理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

阿维链霉菌菌种购自美国菌种保藏中心, ATCC 编号 31271。

1.2 方法

1.2.1 阿维菌素发酵液的制备

将阿维链霉菌菌种接种于含酵母提取物

4.0 g/L、葡萄糖 4.0 g/L、麦芽提取物 10.0 g/L 的活化培养基中,将 pH 调整至 7.3,于 30 °C、150 r/min 摇床活化培养 36 h。

参照文献^[12-13]中的方法,取活化后经镜检未污染的活化培养液,按体积分数 10%的接种量接种到含可溶性淀粉 50 g/L、MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L、KCl 4 g/L、CoCl₂·6H₂O 0.005 g/L、酵母粉 12 g/L、K₂HPO₄·3H₂O 0.5 g/L、CaCO₃ 2 g/L、耐高温 α-淀粉酶 0.04 g/L 的培养基中,将 pH 调整至 7.3,于 28 °C、240 r/min 摇床培养 7 d。

1.2.2 阿维菌素发酵液挥发性代谢物的检测

分别取摇瓶培养菌株生长初期(36 h)和末期(168 h)经镜检无污染菌的发酵液 10 mL,8 000 r/min 离心 10 min,上清液经孔径为 0.2 μm 的滤膜过滤后装入带盖离心管中,每个处理设置 6 个重复。分别取 36 h 发酵液(Y-36)和 168 h 发酵液(Y-168),于-80 °C低温储存、备用。

样品用液氮研磨,涡旋混匀,取 0.2 mL 于顶空瓶中,分别加入 0.2 g NaCl 粉末、10 μL 3-己酮内标溶液,采用全自动顶空固相微萃取(HS-SPME)进行萃取,采样前萃取头在 Fiber Conditioning Station 中 250 °C 下老化 5 min,60 °C 恒温振荡 5 min,120 μm DVB/CWR/PDMS 萃取头插入样品顶空瓶,顶空萃取 15 min,于 250 °C 下解析 5 min 后进行 GC/MS 分离鉴定。

GC/MS 色谱条件:DB-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm,膜厚 0.25 μm,Agilent J&W Scientific),载气为高纯氦气(纯度>99.99%),恒流流速 1.2 mL/min,进样口温度 250 °C,溶剂延迟 3.5 min。40 °C 保持 3.5 min,以 10 °C/min 升至 100 °C,再以 7 °C/min 升至 180 °C,最后以 25 °C/min 升至 280 °C,保持 5 min。电子轰击离子源(EI)温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,质谱接口温度 280 °C,电子能量 70 eV,采用选择离子检测模式(SIM)进行定性定量离子精准扫描^[14-15]。

1.3 数据分析

依据文献^[16],根据检出的挥发性物质的浓度和嗅阈值计算异味活度值(OAV),从而表征气味物质对样品整体气味的贡献程度,并筛选关键异味物质。OAV 大于 1 表示物质可以被嗅觉感知^[17]。

运用 MassHunter 软件处理质谱分析后的下机原始数据,数据经过积分和校正后生成代谢物峰面积、保留时间及质荷比等数据集合。基于文献、NIST 数据库,如果检测离子的保留时间与标准参考相一致,并且在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的离子均出现,则判定为该物质^[18]。对发酵液中异味物质进行鉴定时添加 3-己酮内标物。用面积归一化法对各峰面积进行积分,根据 3-己酮的质量浓度与体积、异味物质峰面积与内标峰面积比较,计算异味物质相对于内标物质的含量,认定内标的因子为 1^[19]。

用 R 软件(www.r-project.org/)的内置统计 prcomp 函数、OPLSR.Anal 函数对数据进行主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA),寻找阿维菌素发酵液挥发性有机化合物中的差异代谢产物。

2 结果与分析

2.1 阿维菌素发酵液 VOCs 的种类及其相对含量

采用 HS-SPME-GC/MS 对发酵 36 h 和 168 h 的阿维菌素发酵液的挥发性成分进行测定,共鉴定出 396 种 VOCs,主要包括 6 种含硫化物、24 种含氮化合物、172 种含氧化合物(醇、醛、酸、酮、酯)、99 种烃及卤代烃、21 种苯系物、49 种杂环化合物和 25 种萜类化合物等 7 大类物质。

在阿维菌素发酵产生的 VOCs 中,烃及卤代烃、含氧化合物(醇、酮、酯类)、杂环化合物及萜类化合物的相对含量较高(图 1)。经统计,相对含量超过 5% 的物质共有 8 种,分别是 2,2 二甲基戊烷、2-异丁基-3-甲氧基吡嗪、八氢-3-甲基-1H-吡啶、奥昔菊环、3-氨基吡啶、环戊烷-1,2-二醇、2-甲氧基苯基乙醇、4-戊基-苯甲醛。总体来看,阿维菌素发酵液 VOCs 中含氧化合物的种类多、相对含量高。

不同发酵期产生的 VOCs 的种类和浓度存在差异。从检测结果来看,阿维菌素不同培养期的 VOCs 的种类没有发生变化,但它们的含量变化较大,表明阿维菌素发酵液挥发性异味物质在发酵初期就已经产生,VOCs 含量与发酵时期相关。

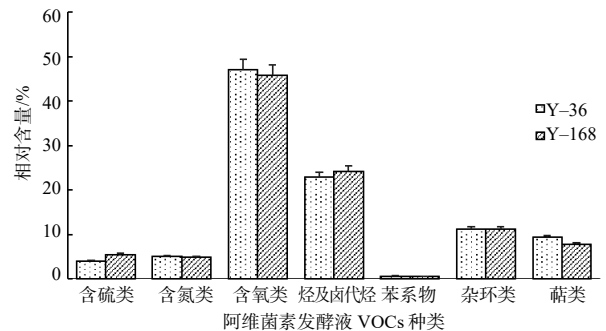


图 1 不同发酵期阿维菌素发酵液 VOCs 的相对含量

Fig.1 Relative content of VOCs in avermectin fermentation broth at different fermentation stages

2.2 阿维菌素发酵液的关键 VOCs

为了明确阿维菌素发酵液的关键 VOCs,从检出的 396 种物质中共筛选出了 31 种 OAV 大于 1 的挥发性物质(表 1),包括 5 种杂环物质(其中吡嗪类物质 3 种)、5 种酮类物质、8 种萜类物质(其中 C10 共 6 种)、8 种醛类物质、2 种含硫化物、2 种酚类和 1 种醇类物质,这些物质是发酵液的气味来源。OAV 为 1~20 的 VOCs 有 13 种,OAV 为 21~200 的有 7 种,OAV 最大值高于 200 的共有 11 种物质,分别是呋喃酮、2-异丁基-3-甲氧基吡嗪、甲基 A-紫罗兰酮、3-庚酮、 α -紫罗兰酮、柠檬醛、(Z)-3-己烯醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、二甲基三硫化物、二烯丙基二硫化物、愈创木酚,其中 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪不仅相对含量超过 5%,而且阈值极低,说明这些物质是阿维菌素发酵液气味呈现的关键 VOCs,它们之间互相协同、掩蔽,共同构成了阿维菌素发酵液独特的气味。

表 1 阿维菌素发酵液中检出的 OAV>1 的异味物质

Table 1 Odor substances with OAV>1 detected in avermectin fermentation broth

序号	物质名称	物质类型	嗅阈值/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	异味活度值(OAV)	
				最大值	最小值
1	2-乙基-5-甲基吡嗪	杂环化合物	0.1	1.15	0.90
2	呋喃酮	杂环化合物	0.000 04	1 014.31	663.79
3	三甲基吡嗪	杂环化合物	0.071	7.49	6.66
4	2,5-二甲基-4-甲氧基-3(2H)-呋喃酮	杂环化合物	0.025	4.99	4.53
5	2-异丁基-3-甲氧基吡嗪	杂环化合物	0.000 002	102 219 891.03	97 683 453.05
6	2,2,6-三甲基-环己酮	酮	0.10	10.20	10.21

表 1(续)

序号	物质名称	物质类型	嗅阈值/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	异味活度值(OAV)	
				最大值	最小值
7	甲基 A-紫罗兰酮	酮	0.002 4	9 543.65	8 749.95
8	十一烷酮	酮	0.007	89.22	84.70
9	2-十三酮	酮	0.50	2.05	1.96
10	3-庚酮	酮	0.000 04	537.11	524.24
11	薄荷醇	萜类	0.95	22.79	20.53
12	(+)- δ -卡丁烯	萜类	0.006	9.09	7.96
13	α -紫罗兰酮	萜类	0.001 64	364.79	351.89
14	柠檬烯	萜类	0.01	8.60	8.34
15	邻伞花烃	萜类	0.013 3	2.26	1.19
16	月桂烯	萜类	0.016 6	12.71	11.87
17	β -水芹烯	萜类	0.036	1.03	1.00
18	柠檬醛	萜类	0.005	3 384.37	3 223.41
19	反式癸二烯醛	醛	0.008	2.24	2.08
20	月桂醛	醛	0.001 07	47.16	40.51
21	十四烷基醛	醛	0.06	1.73	1.69
22	(Z)-3-己烯醛	醛	0.000 25	704.46	638.96
23	十一醛	醛	0.014	4.51	3.92
24	正辛醛	醛	0.000 7	46.26	43.63
25	苯乙醛	醛	0.009	22.78	21.98
26	(E,E)-2,4-壬二烯醛	醛	0.000 06	444.71	447.77
27	二甲基三硫化物	含硫化合物	0.000 008	3 243.96	2 691.40
28	二烯丙基二硫化物	含硫化合物	0.05	215.16	198.84
29	愈创木酚	酚	0.000 17	1 888.01	1 708.11
30	丁香酚	酚	0.001	22.92	20.93
31	1-辛醇	醇	0.054	21.27	20.78

嗅阈值数据引自文献[20-23]及数据库 <http://www.flavornet.org/flavornet.html>、<http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>、<http://www.thegoodscentscompany.com>。

2.3 阿维菌素发酵液异味挥发性 VOCs 差异代谢物的多元统计分析

2.3.1 主成分分析

为了评估阿维菌素发酵液不同发酵期 VOCs 的变化,通过 R 软件对 396 种挥发性成分的相对含量进行 PCA 分析,结果(图 2)表明,每个样本的 6 个重复结合紧密,说明组内样品的差异小,重复性较好,同时也可以看出,2 个发酵期的组间数据存在明显分离,说明这 2 组样品中的 VOCs 存在着较大的差异。其中,第一主成分(PC1)的方差贡献率为 55.48%,第二主成分(PC2)的方差贡献率为 14.08%,两者的累计方差贡献率之和为 69.56%,这 2 个主成分能够反映阿维菌素发酵液不同发酵期 VOCs 的绝大部分信息。

由 PCA 载荷图(图 3)可以看出各种挥发性物质对主成分的影响程度,其中邻伞花烃、2-乙基-5-

甲基吡嗪、呋喃酮、4-乙基苯酚、糠醛、正十六烷酸、正辛醛、2, 3, 5-三甲基吡嗪等 8 种代谢物与主成分呈负相关,二甲基三硫化物、庚酸与主成分呈正相关,这些物质载荷系数较大,对主成分有较大的影响;其他物质由于距离原点较近,影响较小。

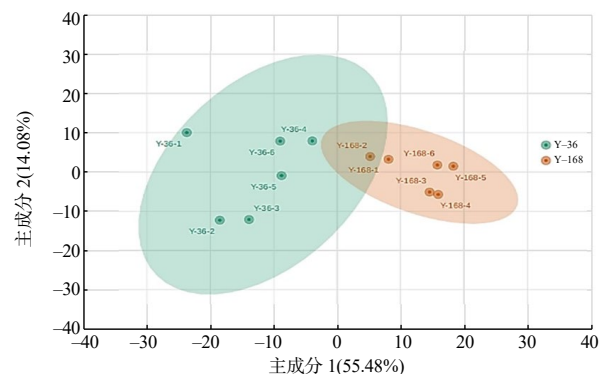


图 2 不同发酵期阿维菌素发酵液 VOCs PCA 分析
Fig.2 PCA plots for VOCs in avermectin fermentation broth at different fermentation stages

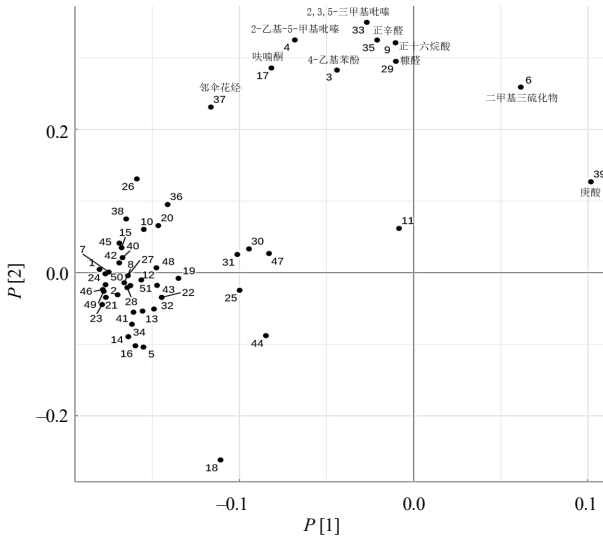


图3 阿维菌素发酵液 VOCs 的载荷图

Fig.3 Load plots for VOCs in avermectin fermentation broth

2.3.2 不同发酵期阿维菌素发酵液的差异 VOCs

为了找出不同发酵期阿维菌素发酵液的差异 VOCs, 利用正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)对 2 个发酵期发酵液的差异 VOCs 进行模型构建, 并计算各组间代谢物的 VIP、代谢物差异倍数(FC)和 P 值。差异代谢物同时满足 FC 大于 2 或小于 0.5、VIP>1、 $P<0.05$ 认定为差异代谢物^[24]。OPLS-DA 得分图(图 4)表明, 2 个发酵时期的样品组内各点距离相近, 且各自聚集成一类, 组间发生明显的分离, 建立的模型 $R^2(X)$ 为 0.597; $R^2(Y)$ 为 0.996, $Q^2=0.831(P<0.005)$, 说明所建模型对 X 和 Y 矩阵的解释率较好, 可信度较高。从图 5 可以看出, 同时满足以上条件的差异代谢物有 2 种,

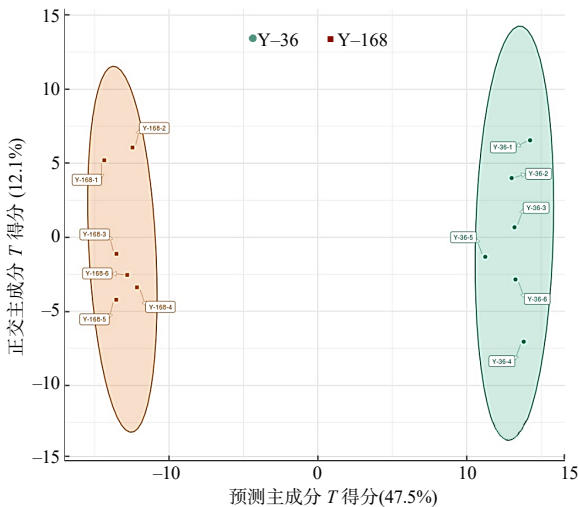


图4 不同发酵期阿维菌素发酵液 VOCs OPLS-DA 得分图

Fig.4 OPLS-DA score plots for VOCs in avermectin fermentation broth at different fermentation stages

分别是 5-甲基-2-庚酮和邻伞花烃, 其中, 5-甲基-2-庚酮在发酵前期含量较高, 随后降低, 而邻伞花烃则正好与之相反(图 6), 这 2 种差异代谢物分别属于酮类和萜类物质, OAV 较低, 不会对阿维菌素发酵液气味呈现造成显著影响。

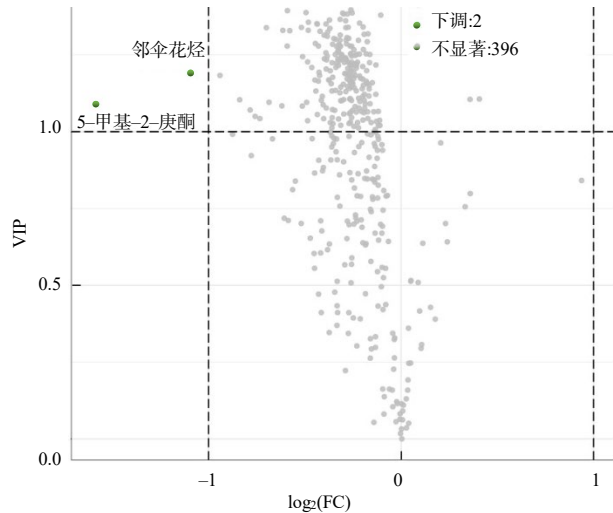


图5 阿维菌素发酵液差异 VOCs 火山图

Fig.5 Volcano map for differential VOCs in avermectin fermentation broth

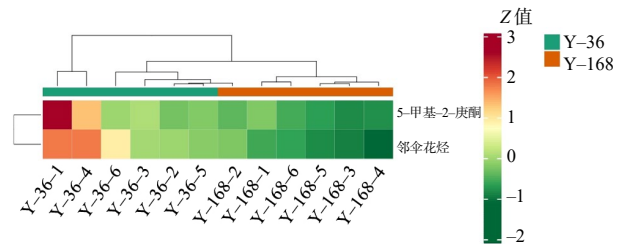


图6 不同发酵期阿维菌素发酵液 VOCs 聚类热图

Fig.6 Cluster heat map for VOCs in avermectin fermentation broth at different fermentation stages

3 结论与讨论

通过 HS-SPME-GC/MS 非靶向代谢组学技术对阿维菌素发酵液发酵初期和末期的挥发性物质进行鉴定, 共检测到 396 种 VOCs, 以含氧化合物(醇类、酮类、酯类)、烃及卤代烃、杂环化合物及萜类化合物为主。这些挥发性成分在发酵前期就已经产生, 发酵末期其含量发生了较大的变化。这与红霉素挥发性物质产生的规律一致^[25]。

一般而言, 碳氢化合物、芳烃类物质、酸类物质、饱和醇类的气味嗅阈值普遍比较高^[26], 不易察觉。酮醛类物质^[27]、不饱和醇、杂环类化合物、萜类物质的气味嗅阈值较低^[28-29], 气味强度较高, 即使在较低浓度时, 也会被嗅到, 这几类

物质也是生物发酵过程中普遍存在的致臭物质^[6]。结合 OAV 及相对含量初步判断,使阿维菌素发酵液呈现挥发性异味的主要是杂环类化合物、醛类、酮类和萜类化合物。其中,呋喃酮、异丁基甲氧基吡嗪、甲基 A-紫罗兰酮、3-庚酮、 α -紫罗兰酮、柠檬醛、(Z)-3-己烯醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、三硫化二甲基、二烯丙基二硫化物、愈创木酚等 11 种 OAV 最大值大于 200 的物质对发酵液气味有重要作用,因此,这 11 种物质是控制阿维菌素挥发性成分的关键。吡嗪类物质在抗生素发酵液中普遍存在,其主要通过乙酰基化合物和氨基酸之间进行反应,再经过氧化脱水等反应而形成^[30-31]。阿维菌素发酵液中异丁基甲氧基吡嗪的阈值低、含量高,对异味的形成尤为重要。此外,链霉菌普遍可以产生阈值极低的土臭素、2-甲基异冰片这两种具有土霉味的化合物^[32],但两种化合物的产量与菌种、碳源、氧浓度、pH、微量元素、培养温度等因素密切相关^[33-35]。本试验培养条件下,只检测到微量 2-甲基异冰片,未能检测到土臭素,推测其原因如下:一是和菌种有关,有些链霉菌菌株能同时产生土臭素和 2-甲基异冰片,而有些菌株只产生土臭素或 2-甲基异冰片^[32];二是和发酵方式有关,ŘEZANKA 等发现,发酵液通气效果越好,越有利于土臭素的产生^[8];三是和试验方法有关,土臭素存在于细胞内部,只有细胞破裂后才会大量释放,而本试验在样品处理时采用离心和过滤的方式已完全去除菌体。

多元统计分析表明,发酵初期和末期挥发性代谢物组成存在着较大的差异。根据 VIP 筛选发现,不同培养时期 5-甲基-2-庚酮和邻伞花烃含量显著下调。这 2 种物质 OAV 较低,不会显著改变气味呈现的特征。挥发性物质往往作为某种调节代谢活动的信号分子发挥作用^[36-37],这 2 种物质含量的下调可能与此有关,其作用机理有待深入研究。

VOCs 作为 PM_{2.5} 和 O₃ 的重要前体物^[38],严重危害自然环境和人体健康,是大气污染防治的工作重点之一。2023 年 12 月 7 日,国务院印发的《空气质量持续改善行动计划》已明确,到 2025 年,全国地级及以上城市氮氧化物和 VOCs 排放总量比 2020 年均下降 10%以上。阿维菌素发酵液 VOCs 整体呈现种类多、阈值低、含量变化大、

治理难度大的特点,建议进一步从关键 VOCs 入手,结合基因工程的方法,采取综合防治措施,真正实现阿维菌素的“绿色智造”。

参考文献:

- [1] HU Y M, SHEN Y P, WANG J L. Pretreatment of antibiotic fermentation residues by combined ultrasound and alkali for enhancing biohydrogen production[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 268: 122190.
- [2] 周睫雅,侯立安,田书磊,等.新污染物抗生素菌渣环境污染防控策略[J].*科技导报*, 2024, 42(11): 29-35.
- [3] 王东升,朱新梦,杨晓芳,等.生物发酵制药 VOCs 与臭味治理技术研究与发展[J].*环境科学*, 2019, 40(4): 1990-1998.
- [4] 么瑞静.青霉素发酵尾气 VOCs 治理技术研究[D].石家庄:河北科技大学,2016.
- [5] 郭斌,么瑞静,张硕,等.青霉素发酵尾气 VOCs 污染特征及健康风险评估[J].*环境科学*, 2018, 39(7): 3102-3108.
- [6] 杨晓芳,焦茹媛,朱新梦,等.抗生素发酵制药工程中异味的特征与关键污染物识别[J].*环境工程学报*, 2020, 14(8): 2020-2029.
- [7] 邹克华,翟增秀,李伟芳,等.典型生物发酵企业挥发性有机物及恶臭污染物排放特征[J].*环境化学*, 2020, 39(12): 3574-3580.
- [8] ŘEZANKA T, PRELL A, SIGLER K. Identification of odorous compounds from nine fermentor-cultivated *Streptomyces* strains[J]. *Folia Microbiologica*, 2008, 53(4): 315-318.
- [9] WANG W J, YAN Y Z, FANG H, et al. Volatile organic compound emissions from typical industries: implications for the importance of oxygenated volatile organic compounds[J]. *Atmospheric Pollution Research*, 2023, 14(1): 101640.
- [10] 侯仲轩,和风,李紫莹,等.阿维菌素研究进展与产业综述[J].*中国抗生素杂志*, 2022, 47(11): 1139-1148.
- [11] ZHANG H, ZHANG S Y, ZHANG J, et al. Acyltransferase domain swapping for the production of tenvermectin B metabolites in genetically engineered strain *Streptomyces avermitilis* HU02[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(38): 11994-12003.
- [12] GAO H, LIU M, LIU J T, et al. Medium optimization for the production of avermectin B1a by *Streptomyces avermitilis* 14-12A using response surface methodology[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(17): 4012-4016.

- [13] 徐瑶, 吴涛, 郭美锦, 等. 氮源对阿维菌素合成的影响及基于二氧化碳释放速率的阿维菌素发酵调控[J]. 生物工程学报, 2020, 36(2): 287-294.
- [14] GB/T 32470—2016 生活饮用水臭味物质 土臭素和 2-甲基异莰醇检验方法[S].
- [15] GB 23200.8—2016 食品安全国家标准水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S].
- [16] VAV GEMERT L J. Odour Thresholds: compilations of odour threshold values in air, water and other media (edition 2011)[M]. Zeist: Oliemans Punter & Partners BV, 2011.
- [17] FISHER R M, LE-MINH N, ALVAREZ-GAITAN J P, et al. Emissions of volatile sulfur compounds(VSCs) throughout wastewater biosolids processing[J]. Science of the Total Environment, 2018, 616/617: 622-631.
- [18] YUAN H L, CAO G P, HOU X D, et al. Development of a widely-targeted volatilomics method for profiling the volatilomes in plants[J]. Molecular Plant, 2022, 15(1): 189-202.
- [19] STARK W, FORSS D A. A compound responsible for mushroom flavour in dairy products[J]. Journal of Dairy Research, 1964, 31(3): 253-259.
- [20] ZHU L, WANG X L, SONG X B, et al. Evolution of the key odorants and aroma profiles in traditional Laowuzeng Baijiu during its one-year ageing[J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125898. 1-11.
- [21] 范小芬, 刘杰民, 伊芹, 等. 异味阈值与分子结构特征关系的研究进展[J]. 环境化学, 2013, 32(7): 1194-1197.
- [22] RINCÓN C A, DE GUARDIA A, COUVERT A, et al. Odor concentration(OC) prediction based on odor activity values(OAVS) during composting of solid wastes and digestates[J]. Atmospheric Environment, 2019, 201: 1-12.
- [23] 里奥·范·海默特. 化合物香味阈值汇编[M]. 2 版. 刘强, 冒德寿, 汤峨, 译. 北京: 科学出版社, 2015.
- [24] WORLEY B, POWERS R. PCA as a practical indicator of OPLS-DA model reliability[J]. Current Metabolomics, 2016, 4(2): 97-103.
- [25] YANG X F, JIAO R Y, ZHU X M, et al. Profiling and characterization of odorous volatile compounds from the industrial fermentation of erythromycin[J]. Environmental Pollution, 2019, 255: 113130.
- [26] NAGATA Y, TAKEUCHI N. Measurement of odor threshold by triangle odor bag method[J]. Bulletin of Japan Environmental Sanitation Center, 1990, 17: 13.
- [27] 顾聆琳. 牡蛎中风味物质的研究及调味料的制备[D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [28] 张冬梅. 接种发酵萝卜及挥发性风味物质的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [29] 梁建兰, 李晓颖, 赵玉华, 等. SPME-GC-MS 结合 ROAV 分析糖炒燕山早丰板栗中的特征性香气[J]. 食品科技, 2019, 44(12): 300-305.
- [30] ŘEZANKA T, LÍBALOVÁ D, VOTRUBA J, et al. Identification of odorous compounds from *Streptomyces avermitilis*[J]. Biotechnology Letters, 1994, 16(1): 75-78.
- [31] ZAITLIN B, WATSON S B. Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: myths, tenets and truths[J]. Water Research, 2006, 40(9): 1741-1753.
- [32] PERSSON P E. The odor of 2-methyliso borneol[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1980, 28(6): 1344.
- [33] POLLAK F C, BERGER R G. Geosmin and related volatiles in bioreactor-cultured *Streptomyces citreus* CBS 109.60[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(4): 1295-1299.
- [34] SUNESSON A L, NILSSON C A, CARLSON R, et al. Production of volatile metabolites from *Streptomyces albidoflavus* cultivated on gypsum board and tryptone glucose extract agar-influence of temperature, oxygen and carbon dioxide levels[J]. The Annals of Occupational Hygiene, 1997, 41(4): 393-413.
- [35] ANUAR N S S, KASSIM A A, UTSUMI M, et al. Characterization of musty odor-producing actinomycetes from tropics and effects of temperature on the production of musty odor compounds[J]. Microbes and Environments, 2017, 32(4): 352-357.
- [36] ŘEZANKA T, VOTRUBA J. Fermentation odor and bioprocess scale-up[J]. Bioprocess Engineering, 1998, 19(2): 159-160.
- [37] KAI K J. Bioorganic chemistry of signaling molecules in microbial communication[J]. Journal of Pesticide Science, 2019, 44(3): 200-207.
- [38] HUANG R J, ZHANG Y L, BOZZETTI C, et al. High secondary aerosol contribution to particulate pollution during haze events in China[J]. Nature, 2014, 514: 218-222.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 罗维