

黄海绿潮漂移过程中浒苔挥发性风味物质研究

赵莉娟^{1,2}, 李崇翔¹, 乔桥¹, 王钰珺¹, 曹轩¹, 杨丽丽¹, 张建恒^{1,2*}, 何培民^{1,2*}

¹ 上海海洋大学 海洋生态与环境学院; ² 水域环境生态上海高效工程研究中心, 上海 201306

摘要: 2007年以来, 浒苔绿潮灾害年度周期性由江苏近岸向山东近海漂移, 对黄海海域生态环境和生态安全造成严重威胁, 如何利用大规模漂浮浒苔生物量, 实现变害为宝迫在眉睫。为了探究黄海绿潮漂移过程中优势种浒苔挥发性风味物质的差异, 本研究利用顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱-质谱联用技术(GC-MS), 对绿潮漂移过程中的8个区域浒苔的挥发性成分进行提取和分析, 共检测出包括醛类、醇类、酯类、酚类、酮类、烯类、烷类及其他化合物等187种物质; 其中, 这8个区域浒苔分别检测出72、64、49、53、34、48、41和54种化合物。通过对绿潮浒苔香气成分在水中的阈值和化合物含量分析, 发现绿潮在向北漂移过程中, 主体香气成分发生变化, 每个区域浒苔均呈现独特的风味, 总体上南黄海绿潮漂移早期浒苔风味品质较好。本研究为绿潮浒苔食品风味研发和资源化利用提供了数据支撑。

关键词: 绿潮; 浒苔; 黄海; 挥发性风味物质; 资源化利用

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)8-1356-15

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.8.012

Volatile flavor compounds of *Ulva prolifera* during the whole drifting process of green tides in Yellow Sea

ZHAO Li-juan^{1,2}, LI Chong-xiang¹, QIAO Qiao¹,

WANG Yu-jun¹, CAO Xuan¹, YANG Li-li¹, ZHANG Jian-heng^{1,2*}, HE Pei-min^{1,2*}

¹ College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University;

² Water Environment and Ecology Engineering Research Center of Shanghai Institution of Higher Education, Shanghai 201306, China

Abstract: Since 2007, the green tides have periodically occurred Yellow Sea, drifting from south Jiangsu to Shandong Peninsula. The large-scale blooms of *Ulva prolifera* have resulted in tremendous economic loss due to the destruction of marine ecosystems and damage to ecological service functions. How to use the large-scale floating biomass of *U. prolifera* is urgent now. In order to explore the differences of volatile flavor compounds during green tide drifting in Yellow Sea, headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) were used to extract and analyze the volatile components of *U. prolifera* from eight sea areas in Yellow Sea. A total of 187 compounds were detected, including aldehydes, alcohols, esters, phenols, ketones, olefins, alkanes and other compounds; 72, 64, 49, 53, 34, 48, 41 and 54 compounds were detected from samples in eight different sea areas, respectively from south to north in Yellow Sea. Through the analysis of the threshold value and compound content of all aroma components in water, it was found that the main aroma components of green tide algae changed in the process of drifting northward, and they showed unique flavor in each region. Generally, flavor quality of *U. prolifera* from south Yellow Sea was better than north Yellow Sea. This study supplies the possibility of development of food flavor and resource utilization of *U. prolifera*, which has high research values and broad applications in the future.

Key words: green tide; *Ulva prolifera*; Yellow Sea; volatile substances; resource utilization

收稿日期: 2020-11-26 接受日期: 2021-04-20

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0901500); 自然资源部海洋生态监测与修复重点实验室开放基金(202008); 上海市青年科技杨帆计划(17YF1407900)

* 通信作者 E-mail: jh-zhang@shou.edu.cn, pmhe@shou.edu.cn

浒苔类绿藻广泛分布于世界各地, 有的生长在海水或淡水河流中, 有的生长在潮间带的岩石或泥沙滩的竹筏等附着基上^[1]。目前全世界已知的浒苔种类有80余种, 中国约有11种^[2]。有些绿藻快

速生长聚集在一起而引起绿潮。绿潮暴发会带来一系列的次生环境问题,如藻体大量漂浮在海水表面,引起遮荫效应,导致底层植被无法进行光合作用而退化死亡;藻体堆积在岸上腐败散发恶臭,甚至滋生病菌;藻体沉降到海底后会引起缺氧和底质腐败,改变底层水体和沉积的物理化学性质,进而对海洋生态环境和生态服务功能造成严重影响^[3]。

自2007年以来,我国黄海已连续14年暴发大规模绿潮灾害,造成了巨大经济损失,甚至威胁到我国近海生态安全。目前,国内外科研工作者已对黄海绿潮源头探索^[4]、暴发机制^[5]、漂移路径^[6]、预测预警^[7]等进行了深入研究,取得了一系列重要成果。引起黄海绿潮暴发的优势种浒苔(*Ulva prolifera*)其实是一种经济海藻,据《本草纲目》和《随恩居饮食谱》记载,它具有凉血、泄热、利尿、消痰、软坚散和降低胆固醇等功效^[8]。现代研究内容主要体现在浒苔多糖上,浒苔多糖已被证明具有降血脂、抗氧化、提高免疫力和抑制皮肤癌等药理活性^[1]。此外,浒苔还有除菌洗涤、做纤维纺丝、吸声材料以及修复富营养化海域生态^[9]等作用。近年来,浒苔越来越多的被用于食品行业中,在日本和韩国,浒苔是一种奢侈的调味料,只在高档料理中使用,价格高昂。在我国,浒苔被磨成藻粉,可添加到其他食品中,目前已产业化生产浒苔虾仁、浒苔面条、浒苔麻花等产品。浒苔在应用的过程中主要归功于其具有独特的香味。因此,摸清绿潮浒苔藻体中的挥发性风味物质及成分对绿潮资源合理利用和发展至关重要。

目前国内关于绿潮藻的研究常见于其种类鉴定^[10]、生活史^[11,12]、组织培养^[13,14]、实验生态^[15]等方面,对绿潮藻营养成分分析的研究已经有了一定进展,但多集中在对具体某一个地点或某一海域的绿潮藻进行成分分析,关于绿潮藻在整个漂移过程中成分变化情况的研究,尤其是绿潮藻在整个漂移过程中的挥发性风味物质的变化情况的研究鲜有报道。本研究通过对绿潮漂移全程各个阶段进行样品采集,并开展挥发性风味物质分析,结合香气阈值,筛选和确定不同区域绿潮优势种浒苔的主要香气成分,为绿潮浒苔食品开发和资源化利用提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

根据历年绿潮发生发展规律,2020年3月~7月采用船舶实时跟踪监测绿潮漂移路径,并采集不

同区域的漂浮绿潮藻(采样站位见图1,具体站位名称见图注),将采集的样品低温条件下运回实验室,用灭菌海水及毛笔刷去附着在藻体上的杂藻等。然后挑选出单株的健康绿潮藻,去除多余水分,用天根植物基因组DNA提取试剂盒DP305进行总DNA的提取并测序鉴定。剩余样品进行干燥粉碎后备用。

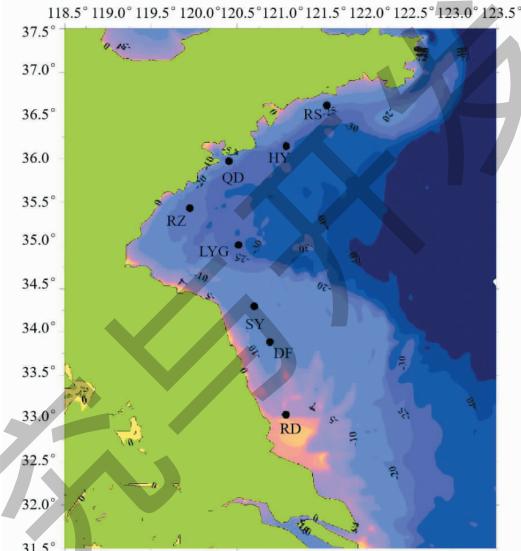


图1 采样点位置图

Fig. 1 Location diagram of sampling stations

注:RD:如东;DF:大丰;SY:射阳;LYG:连云港;RZ:日照;QD:青岛;HY:海阳;RS:乳山,下同。Note: RD: Rudong; DF: Dafeng; SY: Sheyang; LYG: Liangyungang; RZ: Rizhao; QD: Qingdao; HY: Haiyang; RS: Rushang, the same below.

1.2 试剂与仪器

DNA提取试剂盒(DP305,天根);水浴锅(KW-1000DC,金坛市科析仪器有限公司);丁位辛内酯标准品(色谱纯,上海源叶生物科技有限公司);固相微萃取装置(57330-U,supelco);固相微萃取针50/30 um DVB/CAR/PDMS(57348U,supelco);7890A-5975C型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司);气相色谱柱:HP-5MS(60 m×250 μm×0.25 μm,美国安捷伦公司)。

1.3 漂浮绿潮藻种类分子鉴定

每个站位随机选取5株完整藻体用无菌海水清洗干净,按照天根公司植物基因组小量抽提试剂盒DP305说明书提取基因组DNA,5S rDNA间隔序列引物设计以及扩增程序同2012年。利用5S rDNA间隔区序列进行PCR扩增,PCR扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,扩增产物直接送生工生物工程(上海)有限公司测序。应用Clustal X(ver 2.0)软

件对样品的 5S rDNA 间隔序列进行多序列比对分析,然后应用 Mega 4.0 软件基于 Kimura 双参数法计算遗传距离,采用邻接法(neighbor joining, NJ)构建聚类树,以自举检验(bootstrap test)估计系统树分支节点的置信度,自举值为 1 000^[10]。

1.4 挥发性风味物质提取方法

称取 5.0 g 绿潮浒苔样品放入 10 mL 顶空瓶中,密封,置顶空进样器中进样。顶空条件:样品瓶加热温度 60 ℃;样品瓶加热时间 30 min,样品平衡时间 10 min,进样时间 5 min。

1.5 GC-MS 条件

气相色谱条件:进样口温度 250 ℃,气质接口温度 250 ℃,载气流速 1.5 mL/min。升温程序:初始 50 ℃,保持 1 min,以 5 ℃/min 升温到 100 ℃ 保持 2 min,4 ℃/min 升温到 180 ℃ 保持 3 min,5 ℃/min 升温到 250 ℃ 保持 5 min。

质谱条件:离子源温度 230 ℃,四级杆温度 150 ℃,E 电离 70 eV,全扫描 35~550 Da。

1.6 挥发性风味物质鉴定

采用 Agilent MSD 化学工作站,匹配 Agilent NIST 质谱库,将检测的各组分质谱信息与 NIST 质谱库进行匹配定性,结合人工图谱解析、文献核对等多种方法进行综合分析鉴定。仅报道正反匹配度均大于 80(最大值 100)的结果,除去仪器自身带有的挥发性硅烷类杂质、各类塑化剂与烷烃类成分,采用内标法定量。

2 结果与分析

2.1 漂浮绿潮藻分子鉴定和分析

将 8 个站位随机选取的 40 株漂浮绿潮藻样品序列进行比对分析,并构建系统发育树,如图 2 所示,所有样品均被划分至同一个进化枝,其序列与 Genebank 中所录入的样品基因序列(HM584772.1)完全一致,确定所有漂浮绿潮藻样品均为浒苔(*Ulva prolifera*)。

2.2 不同区域绿潮藻挥发性风味物质鉴定结果

8 个区域绿潮藻样品一共鉴定到 187 个化合物,如下图所示,这些化合物被分成了 7 类,分别是醇类、醛类、烯类、酯类、酚类、烷类和其他类。

从上表 1 和上图 3 可以看出,8 个区域浒苔样品的化合物类别大致相同,而各类别化合物数量和含量存在一定差异。如东绿潮藻浒苔样品中的烯类、酮类和酯类物质含量最高,射阳样品醇类和酚类物质含量最高,大丰样品烷类物质含量最高,青岛样

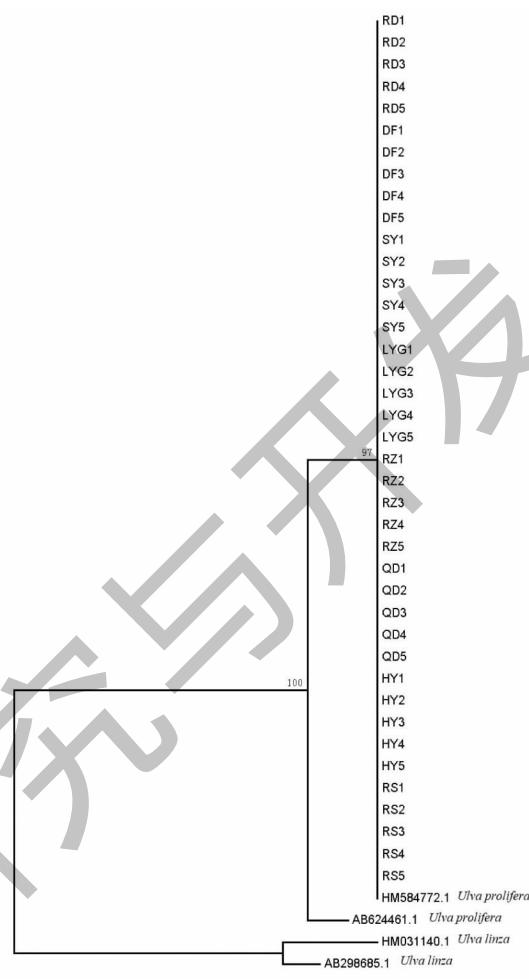


图 2 基于 5S rDNA 间隔序列构建系统发育树

Fig. 2 A neighbor joining tree constructed from the analysis based on 5S rDNA spacer sequences

品醛类物质含量最高。每个区域绿潮藻的化合物组成和含量有很大的差别。

2.3 不同区域绿潮浒苔挥发性风味物质气味描述和气味阈值

表 2 为不同区域绿潮藻浒苔挥发性化合物的气味描述和香气阈值。通过查阅相关文献,共得到 58 个挥发物的气味描述,其中如东至乳山 8 个区域的绿潮藻分别含有 19、19、19、19、18、17、14、21 种化合物的挥发物气味描述;在 8 个区域绿潮藻样品中,酯类化合物含量较高且种类丰富,其中除海阳绿潮藻外均含有二氢猕猴桃内酯,二氢猕猴桃内酯具有木香和麝香气味,其香气阈值未见报道;除青岛样品外,其他样品均含有棕榈酸甲酯,而棕榈酸甲酯具有轻微果香,其香气阈值大于 2 μg/kg。结合香气成分在水中的阈值和化合物含量,初步分析如东绿潮

表1 黄海不同区域绿潮藻浒苔挥发性物质含量分析

Table 1 Contents of volatile components for *U. prolifera* in the whole Yellow Sea

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
醇类 Alcohols								
丁醇 1-Butanol	10.70	-	-	-	-	-	-	-
戊烯-3-醇 1-Pentene-3-ol	7.21	-	-	-	-	-	-	-
异戊醇 Isobutyl alcohol	0.96	-	-	-	-	-	-	-
正戊醇 1-Pentanol	5.83	-	-	-	-	-	-	-
庚醇 Heptanol	3.81	-	-	-	-	-	-	-
十六醇 1-Hexadecanol	5.11	0.52	-	-	-	-	-	-
Z,E-3,13-十八二烯-1-醇 Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol	1.18	-	-	-	-	16.37	-	-
异植醇 Isophytol	3.47	0.22	-	-	-	-	-	-
3,7,11,15-四甲基-1-十六烯-2-醇 3,7,11,15-Tetramethyl-1-cetene-2-alcohol	20.15	0.65	-	-	-	-	-	-
DL-薄荷醇 DL-menthol	-	0.86	0.83	0.74	0.70	1.50	1.66	2.11
叶绿醇 Phytol	-	2.03	-	-	-	-	-	-
11-二十碳醇 11-Eicosanol	-	1.61	-	-	-	-	-	-
十八醇 1-Octadecanol	-	-	108.79	16.24	12.35	-	10.17	-
苯基-2-丙醇 2-Phenyl2-propanol	-	-	-	0.54	-	-	-	-
异辛醇 Isooctyl alcohol	-	-	-	-	3.23	-	-	-
柏木油醇 Cedrol	-	-	-	-	-	1.71	-	-
3,5-辛二烯-2-醇 3,5-Octadiene-2-alcohol	-	-	-	-	-	2.84	-	-
正辛醇 Octyl alcohol	-	-	-	-	-	-	-	1.56
月桂醇 Lauryl	-	-	-	-	-	-	-	1.68
烯类 Alkene								
柠檬烯 Limonene	3.78	8.18	13.66	5.61	9.79	7.89	12.66	265.12
8-十七烯 8-Heptadecene	368.82	153.99	2.27	0.45	-	-	-	18.43
苯乙烯 Styrene	4.61	2.59	9.88	-	17.90	-	-	-
1,13-十四烷二烯 1,13-Tetradecadiene	6.00	-	-	-	-	-	-	-

续表1(Continued Tab. 1)

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
环己烯 Cyclohexene	15.18	-	-	-	-	-	-	-
6-丁基-1,4-环庚二烯 6-Butyl-1,4-cycloheptadiene	-	1.24	-	-	-	-	-	-
3-乙基-1-十二烯 3-Ethyl-1-dodecene	-	1.70	-	-	-	-	-	-
戊二烯 Neophytadiene	20.68	1.22	0.77	-	-	-	-	-
1-十二烯 1-Dodecene	-	-	1.14	0.38	-	-	-	0.29
长叶烯 Junipene	-	-	0.44	-	-	-	-	-
1,5,5-三甲基-6-甲基亚环己烯 1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene	-	-	0.32	-	-	-	-	-
1,3-环辛二烯 1,3-Cyclooctadiene	-	-	0.84	-	-	-	-	-
6,9-十七二烯 6,9-Heptadecadiene	-	-	1.41	-	-	-	-	-
十八烯 9-Octadecene	-	-	0.33	-	-	-	-	-
萜烯 Terpene	-	-	-	0.28	-	-	-	-
顺式-7,10,13-十六三烯 <i>cis</i> -7,10,13-Hexadecatrienal	-	-	-	1.40	-	-	-	-
乙位石竹烯 <i>trans</i> -Caryophyllene	-	-	-	-	0.94	-	-	-
苯并环丁烯 Benzocyclobutene	-	-	-	-	-	20.62	-	-
α-柏木烯 α-Cedrene	-	-	-	-	-	0.60	-	0.50
α-蒎烯 α-Pinene	-	-	-	-	-	-	-	1.10
3,7-二甲基-1-辛烯 3,7-Dimethyl-1-octene	-	-	-	-	-	-	-	1.79
十七烯 Heptadecene	-	-	-	-	-	-	-	0.77
酮类 Ketone								
3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮 3-Ethyl-4-methylpyrrole-2,5-dione	2.36	1.22	1.09	0.57	-	0.90	0.39	-
α-紫罗兰酮 α-Ionone	2.78	1.63	1.01	0.41	-	-	-	0.66
二氢β-紫罗兰酮 Dihydro-β-ionone	1.22	0.62	-	-	-	-	-	-
β-紫罗兰酮 β-Ionone	24.26	16.49	23.15	4.96	4.97	0.44	4.72	-
3,4-脱氢-β-紫罗兰酮 3,4-Dehydrogenation-β-violetone	5.80	1.70	0.70	-	-	-	-	-
异戊基丙酮 Isopentyl acetone	0.63	-	-	-	-	-	-	-
6,10,14-三甲基-2-十五酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadone	50.31	2.33	1.06	0.44	-	0.41	-	-

续表 1(Continued Tab. 1)

续表1(Continued Tab. 1)

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
十二醛 Dodecanal	-	-	-	-	-	-	-	5.62
十六醛 Hexadecanal	-	3.84	-	-	-	-	-	1.14
己醛 Hexanal	-	1.63	3.43	4.75	14.36	27.36	13.92	-
反,反-2,4-庚二烯醛 (E,E)-2,4-Heptadienal	-	3.82	11.41	3.38	4.47	8.45	5.00	3.06
反,反-2,4-壬二烯醛 (E,E)-2,4-Nonadienal	-	1.30	3.00	-	-	2.17	3.13	1.99
3,5-二甲基苯甲醛 3,5-Dimethyl benzaldehyde	-	2.93	3.29	-	-	-	-	-
反,反-2,4-癸二烯醛 (E,E)-2,4-Decadienal	-	1.10	-	-	-	0.69	-	-
3-羟基-β-环柠檬醛 3-Hydroxyl-β-cyclocitral	-	0.85	-	-	-	-	-	-
顺,顺-10,12-十六二烯醛 cis,cis-10,12-Hexadecenal	-	2.46	-	-	-	-	-	-
十三醛 Tridecyclic aldehyde	-	0.72	-	-	0.57	-	-	-
壬醛 Aldehyde	-	-	6.56	6.04	6.63	16.91	8.95	-
1-甲基-3-环己烯乙醛 1-Methyl-3-cyclohexene acetaldehyde	-	-	2.22	-	-	-	-	-
4-乙基苯甲醛 4-Ethylbenzaldehyde	-	-	4.36	2.61	-	-	-	-
肉豆蔻醛 Myristaldehyde	-	-	0.91	-	-	-	-	-
8,11-庚二烯醛 8,11-Heptadienal	-	-	0.80	-	-	-	-	-
反-2-辛烯醛 trans-2-Octenal	-	-	-	1.63	1.52	3.90	1.80	-
反,顺-2,6-壬二烯醛 (E,Z)-2,6-Nonadienal	-	-	-	1.39	1.96	-	-	-
1,2,5,6-四氢苯甲醛 1,2,5,6-Tetrahydrobenzaldehyde	-	-	-	-	1.39	-	-	-
1-甲基-3-环己烯乙醛 1-Methyl-3-cyclohexene acetaldehyde	-	-	-	-	-	-	2.03	-
烷类 Alkanes								
2,6,10,14-四甲基十六烷 2,6,10,14-Tetramethylcetane	1.17	-	-	-	-	-	-	-
十一烷 Undecane	-	-	-	-	-	-	-	3.91
十二烷 Dodecane	-	3.01	1.34	0.58	-	-	0.74	-
十三烷 Tridecane	-	-	-	-	-	-	0.57	3.42
十四烷 Tetradecane	2.19	3.25	2.90	1.35	1.88	1.32	2.05	7.89
十五烷 Pentadecane	51.41	48.77	11.94	4.74	1.51	-	0.63	6.02

续表1(Continued Tab. 1)

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
十六烷 Hexadecane	2.73	1.39	1.10	0.43	-	0.94	1.25	2.51
十七烷 Heptadecane	13.80	12.78	12.65	1.04	-	2.29	-	2.89
十八烷 Octadecane	0.80	3.43	-	-	-	-	-	-
二十烷 Eicosane	-	-	-	-	-	-	0.54	-
二十五烷 Pentacosane	-	0.41	-	-	-	-	-	-
二十九烷 Nonacosane	-	-	-	0.34	-	-	-	-
3,5-二甲基十二烷 3,5-Dimethyl dodecane	-	2.87	-	-	-	-	0.94	-
壬基环戊烷 Nonylcyclopentane	-	1.48	0.98	0.62	1.08	-	-	1.34
2,6,10-三甲基十三烷 2,6,10-Trimethyltridecane	-	0.57	0.96	-	-	-	-	0.98
3-甲基十七烷 3-Methyl heptadecane	-	0.26	0.17	-	-	-	-	-
甲基十六烷 3-Methyl hexadecane	-	-	1.35	-	-	-	-	-
十一环戊烷 Undecyclopentane	-	-	0.33	0.21	-	0.39	-	-
3-甲基十三烷 3-Methyl tridecane	-	-	-	1.09	-	-	1.23	-
1-环己基壬烷 1-Cyclohexylnonane	0.83	-	-	0.28	-	0.45	-	-
1-碘-十四烷 1-Iodotetradecane	-	-	-	0.83	-	-	-	-
2,6,10-三甲基十二烷 2,6,10-Trimethyldodecane	-	-	-	-	-	-	0.88	-
癸环戊烷 Decyl cyclopentane	-	-	-	-	-	-	-	0.50
酯类 Esters	-	-	-	-	-	-	-	-
十二酸甲酯 Methyl laurate	2.02	1.11	-	0.45	0.47	0.81	-	-
二氢猕猴桃内酯 Dihydrokiwiactone	12.66	4.76	2.97	0.87	0.43	0.90	-	0.76
二氢茉莉酮酸甲酯 Methyl dihydrojasmonate	4.06	-	-	-	-	-	-	-
肉豆蔻酸甲酯 Methyl myristate	13.23	2.69	-	0.84	0.60	2.32	-	0.64
十五酸甲酯 Methyl myristate	3.90	-	-	-	-	-	-	-
十二甲基十四酸甲酯 Methyl dodecyl tetradecanoate	2.09	-	-	-	-	-	-	-
邻苯二甲酸酯 Phthalates	10.04	-	-	-	-	-	-	-
4,7,10,13-十六烯酸甲酯 4,7,10,13-Methyl hexadecanoate	12.25	-	-	0.30	-	-	-	-

续表 1(Continued Tab. 1)

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
7,10-癸酸甲酯 7,10-Methyl decanoate	1.97	-	-	-	-	-	-	-
棕榈油酸甲酯 Methyl palmitoleate	13.75	0.71	-	0.30	-	-	-	0.41
棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	134.03	3.64	1.15	1.37	1.04	-	1.51	2.60
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	3.50	-	-	-	-	-	-	-
十七酸甲酯 Methyl stearate	0.63	-	-	-	-	-	-	-
棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	2.24	0.33	0.15	-	-	4.07	-	-
9,12,15-十八三烯酸甲酯 9,12,15-Methyl octadecatrienoic acid	1.90	-	-	-	-	-	-	-
顺-10-十七碳烯酸甲酯 cis-10-Methyl heptadecaenoic acid	1.47	-	-	-	-	-	-	-
巴西酸乙二醇酯 Ethylene glycol Brazilian acid ester	1.86	-	-	-	-	-	-	-
8,11,14,17-四烯酸甲酯 8,11,14,17-Methyl tetraenoic acid	0.75	-	-	-	-	-	-	-
亚麻酸甲酯 Methyl linolenate	7.71	-	-	-	-	-	-	-
亚油酸甲酯 Methyl linoleate	4.74	-	-	-	-	-	-	-
亚麻酸乙酯 Ethyl linolenate	16.53	1.38	2.91	-	0.96	3.94	2.41	0.24
反油酸甲酯 Methyl trans oleate	23.94	-	-	-	-	-	-	-
硬脂酸甲酯 Methyl stearate	1.04	-	-	-	-	-	-	-
10-十六碳烯酸乙酯 10-Ethyl hexadecenoic acid	0.28	0.18	-	-	-	-	-	-
二氯乙酸十三酯 Tridecyl dichloroacetate	-	0.40	-	-	-	-	-	-
壬酸甲酯 Methyl nonanoate	-	1.32	-	-	-	-	-	-
邻苯二甲酸-7-溴庚基异丁酯 7-Bromoheptyl isobutyl phthalate	-	1.01	-	-	-	-	-	-
邻苯二甲酸丁基异丁酯 Butyl isobutyl phthalate	-	0.25	-	-	-	-	-	-
邻苯二甲酸酯 Phthalate	-	-	1.11	0.49	-	-	-	-
5,8,11,14,17-二十碳五烯酸甲酯 5,8,11,14,17-Methyl eicosapentaenoic acid	-	0.11	0.53	-	-	-	-	-
9,12,15-十八碳三烯酸丁酯 9,12,15-Butyl octadecatrienoic acid	-	-	-	0.05	-	-	-	-
2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇双异丁酸酯 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	-	-	-	0.83	1.40	6.85	2.16	-
邻苯二甲酸十二烷基异丁酯 Dodecyl butyl phthalate	-	-	-	-	0.37	-	-	-
乙酸乙酯 Ethyl acetate	-	-	-	-	1.64	0.81	-	-

续表1(Continued Tab. 1)

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
十一烷基-10-烯基甲酸异丁酯 Isobutyl undecyl-10-alkenylformate	-	-	-	-	-	0.85	-	-
11,14,17-二十碳三烯酸甲酯 11,14,17-Eicosatrienoic acid methyl ester	-	-	-	-	-	0.22	-	-
邻苯二甲酸十一烷基异丁酯 Undecylisobutyl phthalate	-	-	-	-	-	1.07	-	-
4-羟基-2,2,4-三甲基戊基-2-甲基丙酸盐 4-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl-2-methylpropionate	-	-	-	-	-	-	0.78	-
十二烷基-2,2,2-三氯乙烯酯 Dodecyl-2,2,2-trichloroethylene ester	-	-	-	-	-	-	0.40	-
三氟乙酸辛酯 Octyl trifluoroacetate	-	-	-	-	-	-	0.45	-
乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	-	-	-	-	-	-	0.39	-
邻苯二甲酸丁基-2-乙基己基酯 Butyl-2-ethylhexyl phthalate	-	-	-	-	-	-	0.62	-
丁酸乙酯 Ethyl butyrate	-	-	-	-	-	-	-	5.69
己酸乙酯 Ethyl caproate	-	-	-	-	-	-	-	11.49
邻苯二甲酸-8-溴辛基异丁酯 8-Bromoocetyl isobutyl phthalate	-	-	-	-	-	-	-	0.72
4-羟基-2,4-癸二酸内酯 4-Hydroxy-2,4-sebacic acid lactone	-	5.55	5.03	1.18	-	-	-	-
酚类 Phenols								
3-乙基苯酚 3-Ethylphenol	0.64	-	-	-	-	-	-	-
4-烯丙基苯酚 4-Allyl phenol	2.15	-	1.30	0.61	-	-	-	-
2,4-二特丁基苯酚 2,4-Ditert-butyl phenol	2.63	1.22	1.77	-	1.53	3.66	2.30	-
六氢间-2-甲基苯酚 Hexahydro-2-dimethylphenol	-	8.53	18.78	-	-	-	-	-
2,6-二叔丁基对甲酚 2,6-Ditert-butyl p-cresol	-	0.54	-	0.33	0.32	0.40	0.90	-
4-甲基愈创木酚 4-Methylguaiacol	-	-	0.56	-	-	-	-	-
2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Ditert-butyl phenol	-	-	-	1.44	-	-	-	3.15
对甲酚 <i>p</i> -Cresol	-	-	-	-	-	-	0.62	-
2-甲酚 2-Cresol	-	-	-	-	-	-	-	0.52
2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 2,6-Ditert butyl4-methyl phenol	-	-	0.35	-	-	-	-	-
其他类 Others								
1-十六炔 1-Hexadecyne	8.11	-	-	-	-	-	-	-
油酰腈 Oleoyl nitriles	1.65	-	-	-	-	-	-	-

续表1(Continued Tab. 1)

化合物 Compound	含量 Content(μg/g)							
	RD	DF	SY	LYG	RZ	QD	HY	RS
对二甲苯 <i>p</i> -Xylene	1.32	-	-	-	8.78	-	2.44	4.02
乙二醇丁基醚 Ethylene glycol butyl ether	3.52	-	7.50	-	-	20.80	-	-
2-乙基呋喃 2-Ethylfuran	10.28	-	-	-	-	-	-	-
2-戊烯基呋喃 2-Pentenyl furan	4.41	-	3.04	-	-	-	-	-
硅胶 Silica gel	-	-	-	-	0.59	-	-	-
2-乙酰基噻唑 2-Acetylthiazole	-	-	-	-	-	-	-	1.14
2-甲基-3-甲硫基吡嗪 2-Methyl-3-methylthiopyrazine	-	-	-	-	-	-	-	0.57
萘 Naphthalene	-	-	-	-	-	-	-	0.35
4-羟基-2,2,4-三甲基戊基-2-甲基丙酸盐 4-Hydroxy-2, 2, 4-trimethylpentyl-2-methylpropionate	-	-	-	-	-	-	-	0.72
五氟丙酸 Pentafluoropropionic acid	-	-	-	-	-	-	-	2.01
碳酸 Carbonic acid	-	-	-	-	-	-	-	0.58
顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸 <i>cis</i> -5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid	3.47	-	-	-	-	-	-	-
反亚油酸 Trans linoleic acid	40.01	-	-	-	-	-	-	-
亚油酸 Linoleic acid	-	-	-	-	-	0.22	-	0.26
3-羟基-2,2,4-三甲基戊基-2-甲基丙酸盐 3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl-2-methylpropionate	0.44	-	-	-	-	-	-	-

注：“-”表示该成分未检出。

Note: “-” means that the component was not detected.

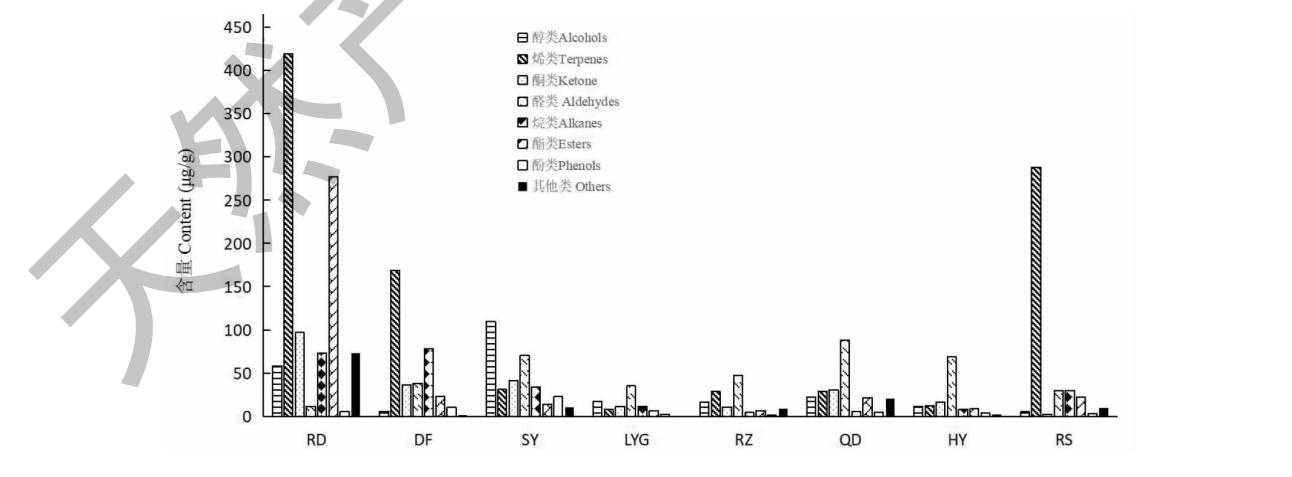


图3 不同区域绿潮浒苔各类挥发性风味物质含量

Fig. 3 Contents of various volatile flavor substances for *U. prolifera* in different areas of Yellow Sea

藻的主要香气成分为丁醇、1-戊烯-3-醇、环己烯、 β -紫罗兰酮、6,10,14-三甲基-2-十五酮、二氢猕猴桃二

酯、邻苯二甲酸酯、棕榈酸甲酯；大丰样品的主要香气成分为柠檬烯、 β -紫罗兰酮、6,10,14-三甲基-2-

五酮、3,5-辛二烯-2-酮、藏红花醛、苯甲醛、二氢猕猴桃内酯;射阳绿潮藻的主要香气成分为十八醇、柠檬烯、 β -紫罗兰酮、(E,E)-2,4-庚二烯醛、环高柠檬醛、苯甲醛、二氢猕猴桃内酯、乙二醇丁基醚;连云港绿潮藻的主要香气成分为十八醇、 β -紫罗兰酮、己醛、壬醛、棕榈酸甲酯、乙酸乙酯;日照绿潮藻的主要香气成分可能为十八醇、柠檬烯、 β -紫罗兰酮、反-2-己烯醛、己醛、壬醛、乙酸乙酯、对二甲苯;青岛绿潮藻的主要香气成分为柠檬烯、苯甲醛、反-2-己烯醛、己

醛、(E,E)-2,4-庚二烯醛、壬醛、棕榈酸乙酯、乙二醇丁基醚;海阳绿潮藻的主要香气成分为十八醇、柠檬烯、 β -紫罗兰酮、庚醛、己醛、壬醛、棕榈酸甲酯;乳山绿潮藻的主要香气成分为柠檬烯、十二醛,反-2-己烯醛、棕榈酸甲酯、己酸乙酯、丁酸乙酯、对二甲苯。8个不同区域的绿潮藻存在相同的主要香气成分,也有各自独特的成分,导致不同地点的绿潮藻的气味存在差异。

表2 部分挥发性风味物质的气味描述和阈值

Table 2 Odor description and threshold of some component

化合物 Compound	气味描述 ^[16-23] Odor description	香气阈值 ^[24] Odor threshold (mg/kg)
丁醇 1-Butanol	酒味	0.5
1-戊烯-3-醇 1-Pentene-3-ol	果香,蔬菜香	0.358 1
异戊醇 Isoamyl alcohol	-	0.25
正戊醇 1-Pentanol	苦味	880 ~ 2 650
庚醇 Heptanol	芳香气味	-
十八醇 1-Octadecanol	香味	-
正辛醇 Octyl alcohol	有强烈的刺激性气味	0.054
月桂醇 Lauryl alcohol	具有月下香及紫罗兰的香气,具有颇弱但很持久的油脂气息	0.066
柠檬烯 Limonene	柑橘,薄荷	1 ~ 1.2
环己烯 Cyclohexene	有特殊刺激性气味	-
1-十二烯 1-Dodecene	有强烈的刺激性气味	-
乙位石竹烯 <i>trans</i> -Caryophyllene	-	0.5 ~ 2.5
α -蒎烯 α -Pinene	有松节油的气味	-
β -紫罗兰酮 β -Ionone	木香,紫罗兰香	0.005 67
二氢- β -紫罗兰酮 Dihydro- β -ionone	具有木香、花香、果香香气	-
α -紫罗兰酮 α -Ionone	具有甜花香味	1.08
6,10,14-三甲基-2-十五酮	烧焦甜香味	-
6,10,14-Trimethyl-2-pentadone	-	-
甲基-5-庚烯-2-酮	-	0.1 ~ 1
6-Methyl-5-heptene-2-ketone	-	-
3,5-辛二烯-2-酮	辛辣,不愉快气味	0.2
3,5-Octadiene-2-ketone	木香,果香,霉味	-
茶香酮 Tea ketone	具有新鲜、清、淡的花香香气,略带甜蜜玫瑰香韵味	0.01 ~ 0.1
香叶基丙酮 Geraniol acetone	-	0.05
2-壬酮 2-Nonyl ketone	-	-
藏红花醛 Safranal	具有木香、辛香、药香、粉香	-
环高柠檬醛 Cyclamate citral	甜	-
苯甲醛 Benzaldehyde	果香,苦杏仁	0.3
反-2-己烯醛 <i>trans</i> -2-Hexenal	青草,动物油脂	0.04
庚醛 Heptanal	青叶,抹茶香气	0.031

续表2(Continued Tab. 2)

化合物 Compound	气味描述 ^[16-23] Odor description	香气阈值 ^[24] Odor threshold (mg/kg)
反-2-庚烯醛 <i>trans</i> -2-Heptenal	具青草香气及刺激臭	0.75
苯乙醛 Phenylethanal	蜂蜜,玫瑰花香	0.009
对甲基苯甲醛 <i>p</i> -Tolualdehyde	有温柔的花香和杏仁香气味	-
反-2-壬烯醛 <i>trans</i> -2-Nonenal	-	0.000 065
癸醛 Decanal	薄荷,青叶	0.005
十二醛 Dodecanal	具有强烈脂肪香气,并有类似松叶油和橙油的强烈香气蜡质,肥皂	0.001 07
十六醛 Hexadecanal	有花和蜡的弱香气	-
己醛 Hexanal	有刺激性气味	0.21
反,反-2,4-庚二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	脂肪油腻气息	0.03
反,反-2,4-壬二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	-	0.000 06
反,反-2,4-癸二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	具强烈清香气味,浓度大时具柑橘样的甜香, 浓度低时具有类似葡萄柚和柑橘的香味脂肪香	0.000 03 ~ 0.000 05
十三醛 Tridecyclic aldehyde	-	10
壬醛 Aldehyde	具有玫瑰、柑橘等香气,有强的油脂气味甜橘香,脂肪香,花香	0.003 5
肉豆蔻醛 Myristaldehyde	具有脂肪香、蜡香、牛奶香、奶油香、鱼香、果香	0.06
反-2-辛烯醛 <i>trans</i> -2-octenal	呈脂肪和肉类香气,并有黄瓜和鸡肉香味	0.061
反,顺-2,6-壬二烯醛 (<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadien-al	黄瓜似香气	0.000 02
十二酸甲酯 Methyl laurate	具有脂肪、花香、葡萄酒样香气	-
二氢猕猴桃内酯 Dihydrokiwiactone	木香,麝香	-
邻苯二甲酸酯 Phthalates	有特殊气味	-
棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	轻微果香	>2
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	有芳香气味	-
棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	清香,甜	-
壬酸甲酯 Methyl nonanoate	具有葡萄酒、椰子香气	-
乙酸乙酯 Ethyl acetate	有甜味	7.5
乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	有类似铃兰、薰衣草等香精油的幽雅香气	0.1 ~ 1
丁酸乙酯 Ethyl butyrate	清灵强烈的甜果香,有菠萝、香蕉、苹果气息	0.007
己酸乙酯 Ethyl caproate	具有曲香、菠萝香型的香气	0.000 5
3-乙基苯酚 3-Ethylphenol	-	0.000 05
4-甲基愈创木酚 4-Methylguaiacol	具有辛香、药香、丁香、香荚兰香气	0.01
对甲酚 <i>p</i> -Cresol	草药,烟熏味	0.002
对二甲苯 <i>p</i> -Xylene	具有芳香味	-
乙二醇丁基醚 Ethylene glycol butyl ether	-	2.6
乙酰基噻唑 2-Acetylthiazole	-	0.01
萘 Naphthalene	樟木	0.05

注：“-”表示该物质香气描述或阈值未查询出。

Note: “-” means that the aroma description or threshold value of the compounds was not searched.

3 讨论

本研究采用 HS-SPME 提取了黄海 8 个不同区域漂浮绿潮浒苔的挥发性风味物质,通过 GC-MS 分析,结果表明这 8 个区域漂浮浒苔的主要风味成分和含量不完全相同。醇类化合物一般气味柔和,具有植物香,对绿潮藻整体气味有着有益影响^[24]。如东区域绿潮藻醇类物质种类较丰富;其中,1-戊烯-3-醇、庚醇都具有芳香气味,射阳绿潮藻中的十八醇含量较高,其呈香味,对绿潮藻气味具有较大贡献。对其他区域而言,尤其是绿潮漂移后期的山东近岸区域,其醇类物质的含量和种类都在显著下降。

在如东、大丰以及乳山绿潮藻检测出的所有挥发性成分中,烯类是含量最高的成分,主要是 8-十七烯、柠檬烯、苯乙烯等;其中,如东和大丰区域绿潮藻含有较高含量的 8-十七烯,而日照、青岛、海阳绿潮藻均未检测到,8-十七烯是大型海藻共有的特征风味物质^[24],在龙须菜、紫菜、红毛菜中都被检测到;而 8-十七碳烯是酶促反应生成的一类化学感应物质,作为生物信息素在愈伤中起到一定的作用^[25],射阳、连云港及乳山绿潮藻中含有 1-十二烯,其有强烈的刺激性气味,对绿潮藻风味有不利的影响。

酮类化合物一般具有花果香味,在绿潮藻漂移的过程中,各个区域绿潮藻的酮类物质的含量和种类都在逐步下降,除乳山绿潮藻外均检测到 β -紫罗兰酮; β -紫罗兰酮具有类似松木香,稀时类似紫罗兰香,是维生素 A 的重要合成原料,有利于绿潮藻的芳香味产生^[24];另外,茶香酮、香叶基丙酮、二氢- β -紫罗兰酮这些物质都是具有花香、果香等令人愉快的气味,但在漂浮后期的绿潮藻中均未检测到。

醛类化合物与形成各种特异香气风格有密切关系,有文献报道醛类化合物阈值很低,对产品的风味贡献较大^[24]。如东绿潮藻中藏红花醛、环高柠檬醛含量较高,它们具有木香、辛香和甜香。在生物体内,很多醛类物质都来自脂肪酸,如己醛和戊醛是亚油酸的氧化裂解产物;脂肪醛大多呈现浓烈的果香风味,还带有些许面包香气^[24]。在漂浮后期的绿潮藻中均检测到反-2-庚烯醛,其具有刺激臭气味,对藻类的风味产生不利的影响。

在所有绿潮藻检测出的所有挥发性成分中,酯类化合物含量较高且种类丰富,一般酯类化合物具有令人愉悦的香气,而且酯类化合物的气味阈值一般较低,推测酯类化合物对绿潮藻的整体气味有很大贡献。研究结果表明,随着绿潮藻的北向漂移,其酯类物质的总体含量在逐步下降,例如二氢猕猴桃

内酯、棕榈酸甲酯,它们都具有果香、木香的气味,而且二氢猕猴桃内酯在食品工业和卷烟工业中也有着重要的应用价值^[26],但其含量随着漂移整体在逐渐减少,对整体的风味贡献也在减少。

值得注意的是在乳山样品中检测出一定含量的萘,这类化合物一般是由环境污染物不断富集而形成的,这可能是导致乳山绿潮藻风味不佳的原因^[27],另外,只在乳山样品中检测到噻唑和吡嗪类物质,据有关文献报道^[28],其与浒苔的苦味有关系,这也间接证明了漂移后期绿潮藻风味不佳。

挥发性风味物质的种类及含量决定着绿潮藻的品质。结合 8 个不同区域绿潮藻中化合物的含量和阈值,可知不同区域绿潮藻不仅具有特有的香气特征成分,还具有相同的关键香气成分,例如苯甲醛、环高柠檬醛、柠檬烯、 β -紫罗兰酮等。参考 Li^[29]的研究成果,海藻类挥发性成分的变化跟养殖海域有着密切的关系,且由于藻体本身对环境物质有着较大的吸附能力,挥发性组分的变化就可能会跟养殖海区本底物质的变化有关。结合对不同区域绿潮藻的分子鉴定结果,当绿潮藻品种相同时,环境因子对绿潮藻的挥发性风味物质影响较大,在今后可深入研究环境因子如温度,光照,海水水质、营养盐成分等方面对挥发性代谢物的影响。

4 结论

绿潮藻作为一种海洋资源,且有多种保健功效,具有很好的生产利用价值和市场开发前景。本研究通过采用顶空固相微萃取方法萃取绿潮藻的挥发性风味成分并结合 GC-MS 联用仪分析鉴定,可准确检测出黄海海域漂浮绿潮藻挥发性风味物质的组分,初步确定了各个区域绿潮藻的主要香气成分。结果表明不同区域的绿潮藻风味不尽相同,在绿潮藻漂移过程中,从江苏如东到山东乳山,其挥发性物质种类和含量都在逐渐下降,也表明了其整体品质在下降。相比较而言,南黄海绿潮藻品质较好,在实际应用中可用作食品产品制作;而北黄海绿潮藻由于处于漂浮区域后期,其藻体状态挥发性风味都不佳,可打捞后用作饲料、肥料以及生物质能源的开发。本研究为绿潮藻风味物质的深入研究奠定了基础,也为后续绿潮藻的开发利用提供了理论依据。

参考文献

- Qian SB, Liu DY, Sun J. Phylology(海藻学) [M]. Qingdao: Ocean University of China Press, 2005:495.
- Wang WJ, Zhao H, Mi K, et al. Advances in the study of *Enteromorpha macrophyta* [J]. Hunan Agr Sci (湖南农业科

- 学), 2009, 8: 1-4.
- 3 Fletcher RL. The occurrence of "green tides": a review. In: Schramm W, Nienhuis PH, editors. Marine benthic vegetation: recent changes and the effects of eutrophication [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1996: 7-43.
- 4 Hua L. Quantitative distribution properties of *Ulva* microscopic propagules in the south Yellow Sea and source tracing [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University (上海海洋大学), 2014.
- 5 Li XS, Xu JT, Yao DR, et al. Effects of eutrophication and growth density on the fulminant growth mechanism of algal bloom[J]. J Fisheries China(水产学报), 2013, 37: 1206-1212.
- 6 Gao S, Huang J, Bai T, et al. The drift path analysis of the Yellow Sea green tide in 2008 and 2009 [J]. Mar Sci(海洋科学), 2014, 38(2): 86-90.
- 7 Bai T, Huang J, Gao S, et al. Operational research and application of the Yellow Sea green tide emergency prediction system[J]. Mar Forec(海洋预报), 2013, 30(1): 51-58.
- 8 Ma LH. New Marine food-seaweed [J]. Shandong Food Sci Technol(山东食品科学与技术), 2004, 6(7): 19-20.
- 9 Xue ZX, Ye NH, Jiang XQ, et al. An exploratory study on the spinning performance of *Enteromorpha* polysaccharide [J]. Mar Sci(海洋科学), 2012, 36(1): 65-68.
- 10 Chen LP. Molecular and taxonomic succession of green algae from the Yellow Sea[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University(上海海洋大学), 2012.
- 11 Zhang JH, Chen LP, Huo YZ, et al. Distributing characteristics of green tide algae growing on settled sediment in Rudong coastal area [J]. Mar Environ Sci(海洋环境科学), 2013, 32(1): 1-5.
- 12 Ye NH, Zhang XW, Mao YZ, et al. A preliminary study of the life history of *Enteromorpha prolifera* in Yellow Sea [J]. J Fishery Sci China(中国水产科学), 2008, 15: 853-859.
- 13 Chen BB, Ma JH, Gao S, et al. Preliminary studies on certain autologous nutrition proliferation pattern of floating species in green tide [J]. J Shanghai Ocean Univ(上海海洋大学学报), 2013, 22(1): 189-193.
- 14 Cui JJ. Study on adaptation and proliferation potential of green algae in the Yellow Sea [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University(上海海洋大学), 2014.
- 15 Li J. Removal efficiency of several HABs species using modified clay and its environmental effects[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences (中国科学院大学), 2017.
- 16 Sun BG. Food Flavoring(食用调香术) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- 17 Zhu Y, Yang T, Shi J, et al. Analysis of aroma components in Xihu Longjing tea by comprehensive two dimensional gas chromatography time of flight mass spectrometry [J]. Sci Agr Sin(中国农业科学), 2015, 48: 4120-4146.
- 18 Yu AN, Yang YN, Yang Y, et al. Free and bound volatile compounds in the *Rubus coreanus* fruits of different ripening stages [J]. J Food Biochem, 2019, 43(3): e12964.
- 19 Yang J, Sun SH, Jiang J, et al. Chemical composition and aromatic profiles of essential oil from *Rosa laevigata* by GC-MS/GC-O analysis [J]. Adv J Food Sci Technol, 2016, 11: 147-152.
- 20 Pang XL, Yu W, Cao CD, et al. Comparison of potent odorants in raw and ripened Pu-Erh tea infusions based on odor activity value calculation and multivariate analysis: understanding the role of pile fermentation [J]. Agr Food Chem, 2019, 67: 13139-13149.
- 21 Zhu L, Wang X, Song X, et al. Evolution of the key odorants and aroma profiles in traditional Laowuzeng baijiu during its one-year ageing [J]. Food Chem, 2020, 310: 125898.
- 22 Neta MTS, De Jesus MS, Da Silva JLA, et al. Effect of spray drying on bioactive and volatile compounds in soursop (*Annona muricata*) fruit pulp [J]. Food Res Int, 2019, 124: 70-77.
- 23 Joshi R, Gulati A. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in Kangra orthodox black tea [J]. Food Chem, 2015, 167: 290-298.
- 24 Van Gemert L. Compilations of Flavour Threshold Values in Water and Other Media(化合物香味阈值汇编) [M]. Beijing: Science Press(科学出版社), 2015.
- 25 Akakabe Y, Iwamoto S, Miyamura S, et al. Induction of (Z)-8-heptadecene in marine green alga *Bryopsis maxima* by mechanical wounding [J]. Fisheries Sci, 2007, 73: 1057-1060.
- 26 Wang ZZ, Yang YH, Zhang HX, et al. Volatile and aroma components of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino herbal tea from five different origins [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 1717-1729.
- 27 Mei KL, Li GS, Chen YT, et al. Effect of electron beam irradiation on the smell and key odor compounds of *Ovalipes punctatus* meat [J]. Food Sci(食品科学), 2018, 39(24): 203-208.
- 28 Yu HW, Su XR, Zhang LY, et al. Study on the bitter flavor of *Enteromorpha interspinis* by GC-MS and electronic nose [J]. J Chin Inst Food Sci Technol(中国食品学报), 2012, 12(7): 212-215.
- 29 Li W, Amannisa MMT, Xu JL, et al. Comparative analysis of volatile components of different varieties of *Porphyra haitanensis* in different sea areas [J]. Prog Fishery Sci(渔业科学进展), 2016, 37(5): 147-156.