

基于新型 SPME/GC×GC-QTOF-MS 技术检测 4 种食源性致病菌挥发性代谢物

黄宝华^{1,2}, 方舒婷^{2,3}, 黄毅权², 陈智勇², 刘舒芹^{*3}, 周志^{*1}

(1. 广州医科大学药学院, 广东广州 511436; 2. 广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心), 广东广州 510070; 3. 暨南大学环境与气候学院, 广东广州 511443)

摘要: 致病菌诱发的食源性疾病严重威胁食品安全, 因此, 亟需开发便捷且有效的食品病原体识别方法。近年来, 随着代谢组学技术的成熟和微生物挥发性代谢产物数据库的完善, 挥发性代谢产物分析已成为食品和临床中致病菌鉴别的重要替代方法。因此, 为实现食源性致病菌的快速、无损识别, 将固相微萃取(Solid-phase microextraction, SPME)技术与全二维气相色谱四极杆飞行时间质谱(Comprehensive two-dimensional gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry, GC×GC-QTOF-MS)技术耦合, 构建了一种基于细菌挥发性代谢物指纹的原位检测策略。采用新型自制 SPME 探针, 对蜡样芽孢杆菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌和阪崎肠杆菌培养体系中释放的挥发性代谢物进行高覆盖捕获与分析, 成功鉴定出 107 种微生物挥发性有机化合物。进一步的多变量统计分析表明, 不同致病菌的响应挥发性代谢特征明显分离, 并筛选出 21 种潜在的差异性挥发性代谢物, 其中在蜡样芽孢杆菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌和阪崎肠杆菌分别筛选出 5、5、7 和 4 种。随后的食品样品验证结果显示, 吡啶可作为阪崎肠杆菌的特征性挥发性标志物, 在乳制品基质中仍能够被稳定检出。总体而言, 基于微生物挥发性代谢指纹的分析方法在食源性致病菌快速识别中具有一定应用潜力, 可为食品安全检测和风险防控提供技术参考。

关键词: 食源性致病菌; 微生物挥发性有机化合物; 代谢组学; 固相微萃取; 全二维气相色谱-质谱; 多变量统计分析

中图分类号: O657 文献标识码: A 文章编号: 0258-3283 (2026) --

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2026.0056

Detection of Volatile Metabolites in Four Foodborne Pathogens Using a Novel SPME/GC×GC-QTOF-MS Strategy HUANG Bao-hua^{1,2}, FANG Shu-ting², HUANG Yi-quan², CHEN Zhi-yong², LIU Shu-qin^{*3}, ZHOU Zhi^{*1} (1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China; 2. Guangdong Academy of Sciences Institute of Testing and Analysis (China National Analytical Center), Guangzhou 510070, China; 3. College of Environment and Climate, Jinan University, Guangzhou 511443, China)

Abstract: Foodborne diseases caused by pathogenic bacteria pose a serious threat to food safety, creating an urgent need for convenient and effective pathogen detection methods. With the maturation of metabolomics technology and limitations in existing microbial volatile metabolite databases, the analysis of foodborne pathogen volatile metabolites has emerged as a promising alternative for pathogen identification in both food and clinical settings. To enable rapid, non-destructive identification of foodborne pathogenic bacteria, a volatile metabolite fingerprint-based in situ detection strategy was developed by coupling solid-phase microextraction (SPME) with comprehensive two-dimensional gas chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-QTOF-MS). A novel self-fabricated SPME probe was employed to achieve high-coverage capture and efficient enrichment of microbial volatile metabolites released by *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Shigella*, and *Enterobacter sakazakii*, resulting in the identification of 107 microbial volatile organic compounds. Multivariate statistical analysis revealed significant separation of volatile metabolic features among the different pathogenic bacteria. A total of 21 potential differential volatile metabolites were identified, comprising 5, 5, 7, and 4 metabolites from *B. cereus*, *S. pyogenes*,

收稿日期: 2026-03-05; 修回日期: 2026-04-03; 接受日期: 2026-04-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(22376037)。

作者简介: 黄宝华(2001-), 女, 广东台山人, 硕士生, 主要研究方向为分析化学。

通讯作者: 刘舒芹, E-mail: liushuqin@jnu.edu.cn; 周志, E-mail: zhouzhi@gzhu.edu.cn。

Shigella, and *E. sakazakii*, respectively. Subsequent validation in food samples demonstrated that indole could serve as a characteristic volatile marker for *E. sakazakii* and remained detectable in dairy matrices. These results indicate that volatile metabolite fingerprint analysis has potential for rapid identification of foodborne pathogens and may provide a valuable reference for food safety monitoring.

Key words: foodborne pathogenic bacteria; microbial volatile organic compounds; metabolomics; solid phase microextraction; comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry; multivariate statistical analysis

食源性致病菌是引发食源性疾病的主要诱因，其可通过食品传播，导致急性中毒或感染性疾病，严重威胁公共健康与食品安全^[1,2]。根据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）统计，食源性致病性微生物每年在全球范围内造成大量疾病负担，其中仅在欧洲导致 2300 万例食源性疾病和 5000 万人死亡，可见食源性致病菌引发的食源性疾病仍然是食品安全领域面临的严重问题^[3,4]。因此，发展快速、灵敏且适用于食品体系的致病菌检测技术，对保障食品安全具有重要意义。目前，微生物检验技术主要以培养法、生化法为主，耗时长、分析速度慢且人员成本高，难以满足当下市场日益增长的食源性致病菌快速检测需求^[5,6]。在此背景下，基于微生物代谢特征的快速检测策略逐渐受到关注。

细菌挥发性代谢产物（Microbial volatile organic compounds, MVOCs）是细菌代谢过程中释放的化合物，与细菌生长状态和代谢途径密切相关，可作为反映细菌生命活动的重要信息分子^[7]。已有研究表明，尽管细菌在挥发性代谢产物组成上存在一定重叠，但由于其代谢途径和生理特征的差异，不同菌种或属通常具有相对稳定且具有特异性的挥发性代谢指纹^[8,9]。因此，MVOCs 被认为具有作为微生物识别和区分标志物的潜力，相关检测技术已在临床诊断、环境监测及食品安全领域中得到初步应用^[10-12]。在 MVOCs 分析过程中，样品前处理方法对检测结果具有决定性影响。由于挥发性代谢物通常含量低、理化性质差异大，如何在不破坏微生物生理状态的前提下实现高效富集，是该领域面临的关键问题之一。固相微萃取（Solid-phase microextraction, SPME）是一种集采样、

萃取与富集于一体的无溶剂样品前处理技术，具有操作简便、绿色环保和易于与气相色谱联用等优势，近年来在 MVOCs 分析中展现出良好的应用前景^[13-15]。同时，随着新型萃取材料和探针结构的不断发展，SPME 在非靶向代谢物的高覆盖捕获方面表现出显著优势^[16,17]。另一方面，全二维气相色谱（Comprehensive two-dimensional gas chromatography, GC×GC）技术与四极杆飞行时间质谱（Quadrupole time-of-flight mass spectrometry, QTOF-MS）相结合，通过串联或并联两根分离机理不同而又相互独立的色谱柱，实现复杂样品的高效分离，兼具高分辨率和高容量等特点，已成功应用于 MVOCs 和复杂食品基质的分析研究^[18,19]。因此，SPME 与 GC×GC-QTOF-MS 的结合，可充分发挥 SPME 的高效吸附、气相色谱法对复杂混合物的高效分离及质谱在鉴定化合物中的高分辨能力，实现多组分混合物的一次性定性、定量分析^[20,21]。

综上所述，本研究采用新型自制 SPME 探针与 GC×GC-QTOF-MS 联用技术，对蜡样芽孢杆菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌和阪崎肠杆菌等 4 种常见食源性致病菌的挥发性代谢特征进行系统表征与比较分析。通过构建不同致病菌的 MVOCs 指纹图谱，并结合多元统计分析方法解析不同致病菌之间的挥发性代谢特征，挖掘潜在的代谢靶标分子，为该方法在食源性致病菌快速识别中的应用潜力提供关键依据。同时，通过实际食品样品验证，进一步探讨该技术在食品安全检测中的可行性与实用价值。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

7890A-5975C 型 GC×GC-QTOF-MS 分

析仪、20 mL 带盖无菌顶空瓶（美国安捷伦科技公司）；IS-RSD3 型台式恒温振荡器（美国精骐有限公司）；LS-50HD 兴数全自动立式高压蒸汽灭菌锅（江阴滨江医疗设备有限公司）；JE3002G 型电子天平（瑞士梅特勒托利多公司）；SIMCA 14 软件（瑞典 Umetrics 公司）。

蜡样芽孢杆菌（CMCC(B) 63303）、乙型溶血性链球菌（CMCC 32210）、痢疾杆菌（ATCC 12202）、阪崎肠杆菌（ATCC 29544）、胰蛋白胨大豆肉汤培养基、改良胰蛋白胨大豆肉汤培养基、GN 增菌液、缓冲蛋白胨水（广东环凯微生物科技有限公司）。

金属有机骨架/聚苯乙烯（ZIF-67-PS）新型 SPME 探针，35 μm ，依据文献[22]制备。

1.2 实验方法

1.2.1 细菌复苏与增菌培养

实验中使用的玻璃器皿、培养基和其他试剂均在高压灭菌锅中 121°C 灭菌 15 min。

细菌复苏：将保存在 -80°C 的菌株取出恢复室温后，接种至相应的液体培养基上（100 mL），150 r/min 恒温振荡培养 18~24 h。根据平板计数结果将各菌浓度在相应培养基中稀释至 1×10^8 CFU/mL，作为后续接种的细菌种子液。考虑到不同菌株在营养需求与生理特征上的差异，本研究参考食品安全国家标准及相关文献，分别为食源性致病菌选择最适培养条件，以确保其处于最佳生长与代谢状态。具体而言，阪崎肠杆菌接种于缓冲蛋白胨水，37°C 下孵育^[23]；蜡样芽孢杆菌接种于胰蛋白胨大豆肉汤，30°C 下孵育^[24]；痢疾杆菌接种于 GN 增菌液，37°C 下孵育^[25]；乙型溶血性链球菌接种于改良胰蛋白胨大豆肉汤培养基，37°C 下孵育^[26]。

增菌培养：将菌株接种到用 PTFE 盖密封的 20 mL 顶空瓶中。每个菌株的采样体积为 1 mL。将阪崎肠杆菌、蜡样芽孢杆菌、痢疾杆菌和乙型溶血性链球菌分别接种于 9 mL 灭菌的相应培养基中。恒温震荡（180 r/min）培养过夜后，直接用于 GC×GC-QTOF-MS 检测，每组样品 3 个平行，同时

设立等体积的灭菌肉汤培养基作为空白对照组。

1.2.2 SPME/GC×GC-QTOF-MS 检测参数

SPME 探针萃取富集 MVOCs：MVOCs 的萃取采用顶空萃取模式。将培养过夜的顶空瓶于 37°C 加热箱中摇晃预热 20 min 后，将自制 SPME 纤维暴露于玻璃瓶的顶空萃取 60 min。萃取完成后，SPME 探针插入 GC×GC 进样器的进样口 5 min，以便在 250°C 下将 MVOCs 热解吸至 GC 色谱柱。上述步骤完成后，在 GC 的另一个进样口中更新纤维，在 250°C 下 20 min 去除残留的 MVOCs。

气相色谱参数：一维色谱柱 HP-5MS（30 m × 0.25 mm × 0.25 μm ），二维色谱柱 DB-17MS（1.1 m × 0.18 mm × 0.18 μm ）；进样口温度 250°C，不分流；载气为氦气（99.999%），流速恒定为 1 mL/min。柱箱温度采用程序升温，起始温度为 50°C，保持 1 min，后以 5°C/min 升温至 280°C，保持 2 min。全二维调制周期为 5 s。总运行时间为 45 min。

质谱参数：电子轰击离子源（EI），电离能量 70 eV，传输线温度 280°C，离子源温度 250°C。扫描范围质荷比为 45~500 m/z 。采集速率为 25 amu/s。

1.2.3 食品样品验证实验

样品制备：选取市售的蒙牛牛奶作为实际食品样品，购自沃尔玛超市（中国广州）。样品经过常规标准特定培养方法预先确定不存在相应的接种菌株。为了制备受污染的食品样品，无菌操作均匀取 25 mL 牛奶样品，加入 225 mL 缓冲蛋白胨水，用拍击式均质器拍击 2 min，得样品均液。随后以阪崎肠杆菌对样品均液进行阳性污染，将其制备成 0.5 麦氏浊度的阳性菌悬液，取 10 μL (10^8 CFU/mL) 接种至样品均液，并充分均匀。

SPME/GC×GC-QTOF-MS 定性检测：无菌操作取 10 mL 混合均匀的经阳性菌株污染的样品均液于 20 mL 无菌顶空瓶中，36°C±1°C、150 r/min 恒温振荡培养 8~12 h，经 SPME/GC×GC-QTOF-MS 进行检测。

1.3 数据处理

定性分析：挥发性成分的定性分析主

要参考前期工作方法^[17,27]。首先,采用全二维数据处理工作站软件 Canvas 载入采集完成的数据,自动绘制全二维总离子电流(TIC)色谱图,设置信噪比为 3,标识出的每一个峰点即代表一种化合物,每个化合物由一对保留时间确定, X 轴方向为第一维保留时间(min), Y 轴方向为第二维保留时间(s)。然后,选择正、反匹配度 >700 的化合物,在 Canvas 软件上通过对每个化合物的质谱图进行美国国家标准与技术研究所(NIST)标准质谱数据库比对检索(匹配度大于 700),结合 $C_8\sim C_{25}$ 的 17 种正构烷烃标准品的保留指数(RI, ± 40)和高分辨质谱的精确质量数($\leq 2 \times 10^{-5}$)等信息,对每个化合物进行定性分析,同时采用峰面积归一化法计算生成的各挥发性组分的相对含量。

定量分析:采用峰面积标准化得到所鉴定化合物的体积分数(3个重复试验的平均值)的半定量信息。在响应因子相等的假设下,将所有化合物的峰面积之和视为 1,然后计算各组分的峰面积占总峰面积的百分比,即组分含量。此外,借助 SIMCA 14 软件,采用主成分分析技术(Principal components analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(Orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)进行多变量统计分析,以评估 4 种病原菌产

生的代谢物的差异。在 PCA 和 OPLS-DA 分析之前对数据进行对数转换和标准化。使用 Origin 9.0 和 SPSS 19.0 进行数据计算和可视化。

2 结果与讨论

2.1 不同致病菌 MVOCs 的检测与分析

基于团队先前制备的 ZIF-67-PS 复合材料 SPME 探针^[22],其多孔结构和表面理化特性有利于不同极性和分子量 MVOCs 的高效吸附与富集(图 1)。自制 SPME 探针以 ZIF-67-PS 为涂层材料,利用硅胶密封剂作为粘合介质,涂层厚度约为 $35\ \mu\text{m}$ 。该新型自制 SPME 探针对 MVOCs 的萃取性能与保留能力均优于聚丙烯酸酯(Polyacrylate, PA, $85\ \mu\text{m}$)、二乙烯基苯/羧基/聚二甲硅氧(Divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, DVB/CAR/PDMS, $50/30\ \mu\text{m}$)和聚二甲硅氧烷(Polydimethylsiloxane, PDMS, $30\ \mu\text{m}$) 3 种商用探针,对不同理化性质 MVOCs 具有更优的适用性,可获得更全面的 MVOCs 谱,为后续研究提供了高效可靠的分析工具^[12,22]。鉴于此,将其应用于蜡样芽孢杆菌、乙型溶血性链球菌、阪崎肠杆菌及痢疾杆菌等 4 种食源性致病菌的 MVOCs 检测中,成功实现活体微生物内源代谢物的高覆盖捕获。总的来说,4 种致病菌共产生 107 种 MVOCs,其中共有代谢物为 20 种,独有代谢物为 56 种,体现了 MVOCs 的物种特异性。

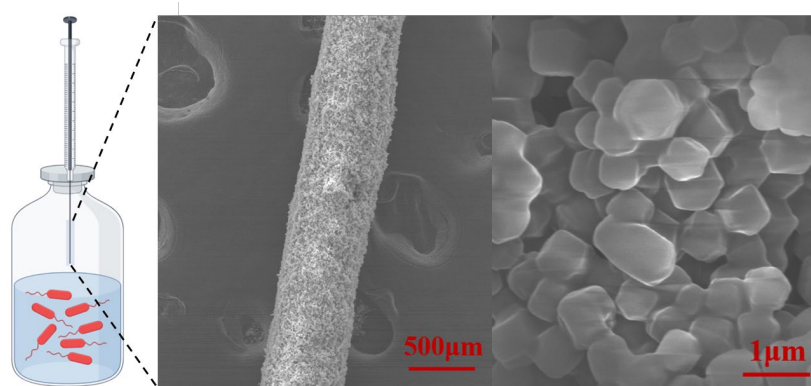


Fig.1 SPME 装置示意图和 ZIF-67-PS 纤维及其复合材料的扫描电镜图像

Fig.1 Diagram of SPME device, and scanning electron microscopy images of ZIF-67-PS fiber and its composite

蜡样芽孢杆菌、乙型溶血性链球菌、阪崎肠杆菌和痢疾杆菌等 4 种致病菌培养过夜后产生的 MVOCs 的全二维 TIC 轮廓图如图 2 所示。通过 NIST 17 标准谱库检索,确定其化学组成,并应用峰面积归一化法测

定了它们的相对含量,其结果见表 1 至表 4。

具体言之,蜡样芽孢杆菌共检测出 26 种物质,其中 2,4-二叔丁基苯酚、1,3-双(1,1-二甲基乙基)-苯和十六烷为主要优势组分,分别占有所有化合物总含量的

10.37%、7.56%和 7.11%。此外，相对于空白培养基新产生的物质有 11 种，包括乙酸氰基-2-甲氧基乙酯、乙酸 2-乙基己酯、十二烷、2-十三烷酮、2,4-二叔丁基苯酚、4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯酚、2-十四烷酮、2-十六烷酮、3-甲基-2-丙酰基-苯甲酸、2-十五烷酮以及 2,5-双(1-甲基丙基)-苯酚。

乙型溶血性链球菌共检测出 29 种物质，其中苯甲醛的组分含量最为丰富，占有所有化合物总含量的 28.5%。然而，相对于空白培养基则无新产生的物质。

阪崎肠杆菌共检测出 21 种物质，其中吡啶是最丰富的挥发性代谢物，占有所有化合物总含量的 65.35%。此外，相对于空白培养基新产生的物质有 4 种，分别为(Z)-3-

十一烯、3-(羟甲基)-2-壬烯酮、吡啶以及邻苯二甲酸 6-乙基-3-辛基丁酯。

痢疾杆菌共检测出 31 种物质，其中 2,5-二甲基-吡嗪、1-癸醇及 2,4,6-三叔丁基苯酚为主要优势组分，分别占有所有化合物总含量的 16.02%、13.20%以及 10.65%。此外，相对于空白培养基新产生的物质有 21 种，包括羟基乙酸、1,4-二氯苯、正辛醇、2-壬酮、十二烷、1-癸醇、1-碘-2-甲基十一烷、2-十一酮、2,5-二甲基-3-(3-甲基丁基)-吡嗪、正十四烷、1-氯-十二烷(e)-3-癸烯-1-醇、1-十二烷醇、十六烷、2,4,6-三叔丁基苯酚、2,6,10-三甲基-十五烷、1,2-15,16-二环氧十六烷、2-十五烷酮、11-(1-乙基丙基)-二十二烷、邻苯二甲酸丁基异十六烷酯以及二十烷。

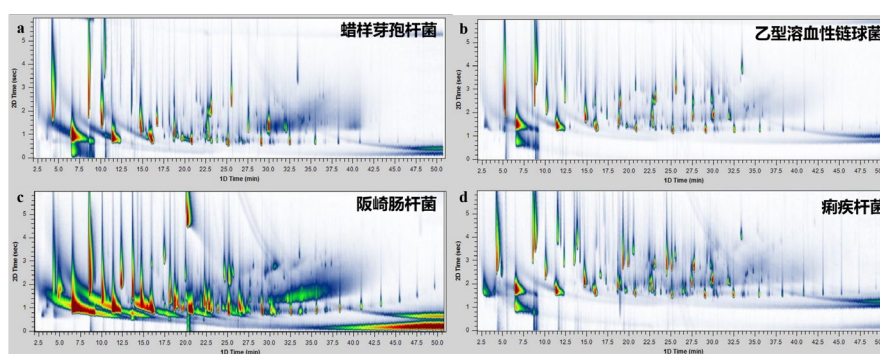


图 2 蜡样芽孢杆菌 (a)、乙型溶血性链球菌 (b)、痢疾杆菌 (c)、阪崎肠杆菌 (d) 培养过夜后释放的 MVOCs 全二维 TIC 色谱图

Fig.2 TIC chromatograms of comprehensive two-dimensional spectrum MVOCs released after overnight cultivation of *Bacillus cereus*(a), *Streptococcus pyogenes*(b), *Shigella dysenteriae* (c) and *Enterobacter sakazakii* (d)

表1 蜡样芽孢杆菌产生的挥发性代谢产物^注Tab.1 Volatile metabolites released by *Bacillus cereus*

| 序号 | 化合物 | 一维保留时间/min | 二维保留时间/s | CAS | 化学式 | 正向匹配度 | 反向匹配度 | RI | NIST RI | 精确质量数 | 实测质量数 | 百分比含量/% | RSD /% |
|----|---|------------|----------|------------|----------|-------|-------|------|---------|----------|----------|---------|--------|
| 1 | Acetic acid, cyano-, 2-methoxyethyl ester | 2.9704 | 1.46 | 10258-54-5 | C6H9NO3 | 803 | 877 | - | - | 143.0582 | 143.0837 | 1.61 | 0.15 |
| 2 | Dimethyl sulfone | 5.1708 | 1.262 | 67-71-0 | C2H6O2S | 706 | 739 | - | - | 94.0089 | - | 1.40 | 0.26 |
| 3 | 1-Hexanol, 2-ethyl- | 12.3704 | 2.592 | 104-76-7 | C8H18O | 802 | 856 | 1031 | 1015±3 | 130.1358 | 130.0949 | 4.69 | 0.02 |
| 4 | Acetic acid, 2-ethylhexyl ester* | 15.9703 | 2.448 | 103-09-3 | C10H20O2 | 759 | 827 | 1152 | 1144±3 | 172.1463 | 172.9454 | 1.81 | 0.05 |
| 5 | Dodecane* | 17.3704 | 1.821 | 112-40-3 | C12H26 | 866 | 883 | 1200 | 1200 | 170.2035 | 170.2014 | 1.92 | 0.35 |
| 6 | Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)- | 18.9705 | 2.338 | 1014-60-4 | C14H22 | 888 | 913 | 1258 | 1247±2 | 190.1722 | 190.1704 | 7.56 | 0.07 |
| 7 | Menthyl acetate | 20.0704 | 2.627 | 89-48-5 | C12H22O2 | 812 | 883 | 1297 | 1281±3 | 198.1620 | 198.3917 | 0.40 | 0.16 |
| 8 | 3-tert-Butyl-2-pyrazolin-5-one | 20.7705 | 3.072 | 29211-68-5 | C7H12N2O | 749 | 775 | 1324 | - | 140.0950 | 140.0820 | 1.37 | 0.09 |
| 9 | Tetradecane | 22.7705 | 1.771 | 629-59-4 | C14H30 | 871 | 877 | 1400 | 1400 | 198.2348 | 198.2328 | 4.51 | 0.33 |
| 10 | 2-Tridecanone | 25.1706 | 2.623 | 593-08-8 | C13H26O | 726 | 851 | 1497 | 1477±3 | 198.1984 | 198.1954 | 0.37 | 0.58 |
| 11 | 2,4-Di-tert-butylphenol* | 25.1706 | 1.759 | 96-76-4 | C14H22O | 882 | 882 | 1496 | 1502±8 | 206.1671 | 206.0470 | 10.37 | 0.15 |
| 12 | Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)- | 26.5707 | 3.252 | 140-66-9 | C14H22O | 767 | 784 | 1558 | 1601±29 | 206.1671 | 206.1659 | 1.26 | 0.19 |
| 13 | 2-Tetradecanone | 26.6709 | 2.5 | 2345-27-9 | C14H28O | 819 | 848 | 1562 | 1579±9 | 212.2140 | 212.2114 | 1.34 | 0.37 |
| 14 | Hexadecane | 27.5707 | 1.733 | 544-76-3 | C16H34 | 876 | 876 | 1600 | 1600 | 226.2661 | 226.2638 | 7.11 | 0.04 |
| 15 | 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate | 27.6709 | 2.415 | 6846-50-0 | C16H30O4 | 850 | 860 | 1605 | 1591 | 286.2144 | 286.7858 | 2.78 | 0.06 |
| 16 | Pentadecane, 2,6,10-trimethyl- | 28.6709 | 1.676 | 3892-00-0 | C18H38 | 829 | 877 | 1650 | 1652±2 | 254.2974 | 254.9823 | 0.57 | 0.12 |
| 17 | 3-Methyl-2-propionyl-benzoic acid | 29.3703 | 3.16 | 92945-59-0 | C11H12O3 | 723 | 778 | 1683 | - | 192.0786 | 192.1831 | 0.57 | 0.24 |
| 18 | Heptadecane | 29.7704 | 1.8 | 629-78-7 | C17H36 | 822 | 830 | 1700 | 1700 | 240.2817 | 240.2784 | 1.28 | 0.02 |
| 19 | 2-Pentadecanone | 29.8706 | 2.522 | 2345-28-0 | C15H30O | 881 | 885 | 1705 | 1682±4 | 226.2297 | 226.2261 | 3.27 | 0.11 |
| 20 | Phenol, 2,5-bis(1-methylpropyl)- | 30.6709 | 2.894 | 54932-77-3 | C14H22O | 745 | 784 | 1744 | - | 206.1671 | 206.0469 | 0.54 | 0.30 |
| 21 | 2-Hexadecanone | 31.3703 | 2.553 | 18787-63-8 | C16H32O | 777 | 817 | 1777 | 1782±4 | 240.2453 | 240.2416 | 0.87 | 0.07 |
| 22 | Octadecane* | 31.8706 | 1.817 | 593-45-3 | C18H38 | 852 | 852 | 1800 | 1800 | 254.2974 | 254.2947 | 2.55 | 0.12 |
| 23 | Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-* | 32.0703 | 1.75 | 638-36-8 | C20H42 | 851 | 868 | 1810 | 1813±1 | 282.3287 | 282.0543 | 2.29 | 0.05 |
| 24 | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester | 33.4705 | 3.815 | 84-69-5 | C16H22O4 | 874 | 874 | 1878 | 1853±12 | 278.1518 | 278.1443 | 1.11 | 0.34 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|----------------------------|---------|-------|------------|-----------|-----|-----|------|---|----------|----------|------|------|
| 25 | Octadecanal, 2-bromo- | 33.9708 | 2.118 | 56599-95-2 | C18H35BrO | 715 | 719 | 1900 | - | 346.1871 | 346.0877 | 2.63 | 0.17 |
| 26 | Ethanol, 2-(octadecyloxy)- | 35.8706 | 1.939 | 2136-72-3 | C20H42O2 | 788 | 805 | 2000 | - | 314.3185 | 314.3043 | 0.57 | 0.09 |

注：表中“*”化合物为蜡样芽孢杆菌特定的潜在差异挥发性代谢物。

表 2 乙型溶血性链球菌产生的挥发性代谢产物[‡]

Tab.2 Volatile metabolites released by *Streptococcus pyogenes*

| 序号 | 化合物 | 一维保留时间/min | 二维保留时间/s | CAS | 化学式 | 正向匹配度 | 反向匹配度 | RI | NIST RI | 精确质量数 | 实测质量数 | 百分比含量/% | RSD/% |
|----|--|------------|----------|-------------|-----------|-------|-------|------|---------|----------|----------|---------|-------|
| 1 | Styrene* | 8.479 | 2.495 | 100-42-5 | C8H8 | 824 | 887 | 897 | 893±5 | 104.0626 | 104.0604 | 2.81 | 0.20 |
| 2 | Pyrazine, 2,5-dimethyl- | 8.9786 | 2.987 | 123-32-0 | C6H8N2 | 786 | 875 | 915 | 916±7 | 108.0687 | 108.0666 | 2.03 | 0.19 |
| 3 | Benzaldehyde* | 10.4789 | 3.384 | 100-52-7 | C7H6O | 864 | 871 | 967 | 962±3 | 106.0419 | 106.0396 | 28.50 | 0.06 |
| 4 | Benzene, 1,3-dichloro- | 11.9786 | 3.409 | 541-73-1 | C6H4Cl2 | 794 | 828 | 1018 | 1018±7 | 145.9690 | 145.9659 | 0.81 | 0.13 |
| 5 | Dodecane* | 17.3787 | 1.284 | 112-40-3 | C12H26 | 892 | 892 | 1200 | 1200 | 170.2035 | 170.1994 | 0.40 | 0.17 |
| 6 | Dodecane, 2,7,10-trimethyl- | 19.5791 | 1.229 | 74645-98-0 | C15H32 | 794 | 885 | 1279 | - | 212.2504 | 212.2462 | 0.25 | 0.18 |
| 7 | 8,10-Undecadiene-3,7-dione, 6,6,10-trimethyl-, (E)- | 19.879 | 1.955 | 88725-77-3 | C14H22O2 | 704 | 731 | 1290 | - | 222.1620 | 222.5338 | 0.34 | 0.07 |
| 8 | Decane, 2,3,5,8-tetramethyl- | 20.1789 | 1.381 | 192823-15-7 | C14H30 | 792 | 837 | 1300 | 1318 | 198.2348 | 198.2212 | 0.56 | 0.26 |
| 9 | 6-Tridecene, 2,2,4,10,12,12-hexamethyl-7-(3,5,5-trimethylhexyl)- | 21.0787 | 1.305 | 55255-73-7 | C28H56 | 766 | 767 | 1335 | - | 392.4382 | 392.9626 | 0.30 | 0.17 |
| 10 | 3-Heptene, 2,2,4,6,6-pentamethyl- | 20.6786 | 1.304 | 123-48-8 | C12H24 | 756 | 811 | 1319 | - | 168.1878 | 168.1842 | 0.35 | 0.15 |
| 11 | Cyclopentanecarboxylic acid, 4-hexadecyl ester | 21.6786 | 1.365 | 0-0-0 | C22H42O2 | 728 | 754 | 1358 | - | - | - | 0.48 | 0.03 |
| 12 | 3-(6,6-Dimethyl-5-oxohept-2-enyl)-cyclohexanone | 21.879 | 2.421 | 83040-95-3 | C15H24O2 | 723 | 726 | 1366 | - | 236.1776 | 236.5519 | 0.78 | 0.15 |
| 13 | Tridecane, 3-methyl- | 21.9792 | 1.355 | 6418-41-3 | C14H30 | 768 | 826 | 1369 | 1371±1 | 198.2348 | 198.2310 | 0.38 | 0.43 |
| 14 | Tetradecane* | 22.7788 | 1.273 | 629-59-4 | C14H30 | 876 | 876 | 1400 | 1400 | 198.2348 | 198.2308 | 6.03 | 0.06 |
| 15 | 3-Tetradecyn-1-ol | 23.7788 | 2.514 | 55182-74-6 | C14H26O | 701 | 744 | 1441 | - | 210.1984 | 210.2168 | 0.43 | 0.20 |
| 16 | (2,6,6-Trimethylcyclohex-1-enylmethanesulfonyl)benzene | 24.1789 | 1.419 | 56691-74-8 | C16H22O2S | 797 | 825 | 1456 | - | 278.1341 | - | 0.33 | 0.29 |
| 17 | Dimethyl phthalate | 24.2791 | 4.703 | 131-11-3 | C10H10O4 | 871 | 881 | 1462 | 1454±4 | 194.0579 | 194.1985 | 0.77 | 0.18 |
| 18 | 1-Iodo-2-methylundecane | 25.1789 | 1.35 | 73105-67-6 | C12H25I | 718 | 891 | 1496 | - | 296.1001 | 296.9080 | 0.81 | 0.03 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|--|---------|-------|------------|----------|-----|-----|------|---------|----------|----------|------|------|
| 19 | 2,4-Di-tert-butylphenol | 25.579 | 2.447 | 96-76-4 | C14H22O | 874 | 874 | 1514 | 1514±5 | 206.1671 | 206.1632 | 2.64 | 0.03 |
| 20 | Tetradecane, 2,6,10-trimethyl- | 26.4788 | 1.279 | 14905-56-7 | C17H36 | 756 | 830 | 1552 | 1539±1 | 240.2817 | 240.9887 | 0.50 | 0.13 |
| 21 | Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-* | 26.4788 | 2.75 | 140-66-9 | C14H22O | 794 | 795 | 1553 | 1601±29 | 206.1671 | 206.1629 | 1.79 | 0.12 |
| 22 | Dodecane, 5,8-diethyl- | 26.8789 | 1.388 | 24251-86-3 | C16H34 | 739 | 776 | 1570 | 1572 | 226.2661 | 226.2339 | 0.32 | 0.33 |
| 23 | Hexadecane | 27.579 | 1.243 | 544-76-3 | C16H34 | 871 | 871 | 1600 | 1600 | 226.2661 | 226.2611 | 3.17 | 0.05 |
| 24 | phenol, 2-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)- | 27.8789 | 2.973 | 0-0-0 | C14H22O | 882 | 911 | 1614 | - | - | - | 0.66 | 0.13 |
| 25 | Propanal, 2-(4-ethoxyphenyl)-2-methyl- | 28.4788 | 2.737 | 93622-71-0 | C12H16O2 | 746 | 806 | 1640 | - | 192.1150 | 192.1398 | 0.33 | 0.15 |
| 26 | Phenol, 2-(1,1-dimethylethyl)-4-ethyl- | 29.3786 | 2.632 | 96-70-8 | C12H18O | 712 | 730 | 1679 | 1439 | 178.1358 | 178.1279 | 0.70 | 0.10 |
| 27 | 3-Methyl-2-propionyl-benzoic acid | 29.579 | 2.582 | 92945-59-0 | C11H12O3 | 787 | 805 | 1688 | - | 192.0786 | 192.9753 | 2.04 | 0.09 |
| 28 | Octadecane | 31.8789 | 1.429 | 593-45-3 | C18H38 | 817 | 827 | 1795 | 1800 | 254.2974 | 254.2912 | 0.57 | 0.16 |
| 29 | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester | 33.4787 | 3.409 | 17851-53-5 | C16H22O4 | 865 | 868 | 1877 | 1944±29 | 278.1518 | 278.2716 | 0.98 | 0.10 |

注：表中“*”化合物为乙型溶血性链球菌特定的潜在差异挥发性代谢物。

表3 阪崎肠杆菌产生的挥发性代谢产物^注

Tab.3 Volatile metabolites released by *Enterobacter sakazakii*

| 序号 | 化合物 | 一维保留时间/min | 二维保留时间/s | CAS | 化学式 | 正向匹配度 | 反向匹配度 | RI | NIST RI | 精确质量数 | 实测质量数 | 百分比含量/% | RSD /% |
|----|--|------------|----------|-------------|-----------|-------|-------|------|---------|----------|----------|---------|--------|
| 1 | Dimethylamine | 2.952 | 2.478 | 124-40-3 | C2H7N | 796 | 956 | - | 430±5 | 45.0578 | 45.0341 | 1.07 | 0.09 |
| 2 | Heptane, 2,2,4,6,6-pentamethyl- | 11.2525 | 2.718 | 13475-82-6 | C12H26 | 809 | 847 | 993 | 994±2 | 170.2035 | 170.1812 | 1.27 | 0.09 |
| 3 | Benzene, 1,2-dichloro- | 11.9519 | 4.785 | 95-50-1 | C6H4Cl2 | 863 | 883 | 1018 | 1016±11 | 145.9690 | 145.9669 | 1.42 | 0.05 |
| 4 | 1-Hexanol, 2-ethyl- | 12.352 | 3.689 | 104-76-7 | C8H18O | 770 | 862 | 1030 | 1015±3 | 130.1358 | 130.1306 | 1.70 | 0.13 |
| 5 | 3-Undecene, (Z)- | 14.1523 | 3.238 | 821-97-6 | C11H22 | 743 | 860 | 1090 | 1091±6 | 154.1722 | 154.1685 | 0.21 | 0.26 |
| 6 | 2-Nonanone, 3-(hydroxymethyl)- | 14.2525 | 3.765 | 67801-33-6 | C10H20O2 | 763 | 940 | 1094 | 1093 | 172.1463 | 172.4740 | 3.39 | 0.03 |
| 7 | Dodecane | 17.352 | 2.883 | 112-40-3 | C12H26 | 895 | 895 | 1200 | 1200 | 170.2035 | 170.2011 | 2.11 | 0.18 |
| 8 | Decane, 2,3,5,8-tetramethyl- | 19.5524 | 2.892 | 192823-15-7 | C14H30 | 769 | 836 | 1279 | - | 198.2348 | 198.0795 | 0.15 | 0.19 |
| 9 | Indole* | 20.2524 | 0.573 | 120-72-9 | C8H7N | 906 | 915 | 1302 | 1273±12 | 117.0578 | 117.0561 | 65.35 | 0.02 |
| 10 | Sulfurous acid, cyclohexylmethyl hexyl ester | 21.6519 | 2.971 | 0-0-0 | C13H26O3S | 711 | 807 | 1358 | - | - | - | 0.78 | 0.12 |
| 11 | Tetradecane* | 22.7521 | 2.854 | 629-59-4 | C14H30 | 877 | 881 | 1400 | 1400 | 198.2348 | 198.2319 | 5.26 | 0.11 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|---|---------|-------|------------|-----------|-----|-----|------|---------|----------|----------|------|------|
| 12 | 1 <i>H</i> -Indene, octahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-, trans- | 23.2524 | 2.958 | 54832-83-6 | C15H28 | 708 | 719 | 1420 | 1427 | 208.2191 | 208.0324 | 0.50 | 0.08 |
| 13 | (2,6,6-Trimethylcyclohex-1-enylmethanesulfonyl)benzene | 24.1522 | 3.006 | 56691-74-8 | C16H22O2S | 793 | 803 | 1456 | - | 278.1341 | 278.5986 | 0.37 | 0.05 |
| 14 | Dimethyl phthalate | 24.3519 | 0.544 | 131-11-3 | C10H10O4 | 821 | 866 | 1462 | 1426±12 | 194.0579 | 194.0544 | 0.96 | 0.18 |
| 15 | 2,4-Di-tert-butylphenol | 25.5523 | 4.144 | 96-76-4 | C14H22O | 876 | 881 | 1514 | 1514±5 | 206.1671 | 206.1633 | 0.46 | 0.07 |
| 16 | Hexadecane* | 27.5523 | 2.859 | 544-76-3 | C16H34 | 875 | 877 | 1600 | 1600 | 226.2661 | 226.2624 | 2.90 | 0.11 |
| 17 | phenol, 2-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)- | 27.752 | 4.663 | 0-0-0 | C14H22O | 858 | 907 | 1610 | - | - | - | 0.68 | 0.24 |
| 18 | 3-Methyl-2-propionyl-benzoic acid | 29.5523 | 4.193 | 92945-59-0 | C11H12O3 | 777 | 794 | 1688 | - | 192.0786 | 192.1046 | 1.86 | 0.05 |
| 19 | Isophthalic acid, ethyl tridec-2-ynyl ester* | 30.6525 | 3.979 | 0-0-0 | C23H32O4 | 759 | 789 | 1739 | - | - | - | 1.64 | 0.09 |
| 20 | Tetradecane, 2,6,10-trimethyl- | 31.8522 | 3.114 | 14905-56-7 | C17H36 | 721 | 770 | 1795 | 1655 | 240.2817 | 240.2723 | 0.25 | 0.04 |
| 21 | Phthalic acid, 6-ethyl-3-octyl butyl ester | 33.4521 | 5.128 | 0-0-0 | C22H34O4 | 850 | 906 | 1877 | - | - | - | 0.71 | 0.12 |

注：表中“*”化合物为阪崎肠杆菌特定的潜在差异挥发性代谢物。

表 4 痢疾杆菌产生的挥发性代谢产物^注

Tab.4 Volatile metabolites released by *Shigella dysenteriae*

| 序号 | 化合物 | 一维保留时间/min | 二维保留时间/s | CAS | 化学式 | 正向匹配度 | 反向匹配度 | RI | NIST RI | 精确质量数 | 实测质量数 | 百分比含量/% | RSD/% |
|----|---------------------------------|------------|----------|------------|---------|-------|-------|------|---------|----------|----------|---------|-------|
| 1 | Acetic acid, hydroxy- | 2.8661 | 1.636 | 79-14-1 | C2H4O3 | 759 | 814 | - | - | 76.0160 | 76.0270 | 4.83 | 0.05 |
| 2 | Pyrazine, 2,5-dimethyl-* | 8.9656 | 3.599 | 123-32-0 | C6H8N2 | 811 | 869 | 918 | 889±4 | 108.0687 | 108.0663 | 16.02 | 0.03 |
| 3 | Pyrazine, 2-ethyl-5-methyl- | 11.5661 | 4.294 | 13360-64-0 | C7H10N2 | 839 | 860 | 1005 | 1005±7 | 122.0844 | 122.0810 | 5.38 | 0.12 |
| 4 | Benzene, 1,4-dichloro- | 11.9656 | 3.967 | 106-46-7 | C6H4Cl2 | 794 | 887 | 1018 | 995±10 | 145.9690 | 145.9657 | 0.31 | 0.24 |
| 5 | 1-Hexanol, 2-ethyl-* | 12.3657 | 2.878 | 104-76-7 | C8H18O | 801 | 871 | 1031 | 1015±3 | 130.1358 | 130.0544 | 2.06 | 0.06 |
| 6 | 1-Octanol | 13.5661 | 2.985 | 111-87-5 | C8H18O | 783 | 847 | 1071 | 1057±4 | 130.1358 | 130.0619 | 3.93 | 0.03 |
| 7 | Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl- | 13.9656 | 3.683 | 13360-65-1 | C8H12N2 | 858 | 872 | 1084 | 1055±3 | 136.1000 | 136.0963 | 3.99 | 0.08 |
| 8 | 2-Nonanone | 14.2662 | 3.722 | 821-55-6 | C9H18O | 702 | 908 | 1094 | 1092±2 | 142.1358 | 142.1325 | 0.69 | 0.15 |
| 9 | Dodecane | 17.3657 | 2.077 | 112-40-3 | C12H26 | 823 | 863 | 1200 | 1200 | 170.2035 | 170.1992 | 0.56 | 0.14 |
| 10 | 1-Decanol* | 19.3657 | 2.74 | 112-30-1 | C10H22O | 878 | 879 | 1272 | 1272±3 | 158.1671 | 158.0104 | 13.20 | 0.04 |
| 11 | 1-Iodo-2-methylundecane | 19.5661 | 1.91 | 73105-67-6 | C12H25I | 705 | 868 | 1279 | - | 296.1001 | 296.9114 | 0.16 | 0.14 |
| 12 | 2-Undecanone | 19.9655 | 2.849 | 112-12-9 | C11H22O | 885 | 885 | 1293 | 1273±2 | 170.1671 | 170.1631 | 4.53 | 0.04 |

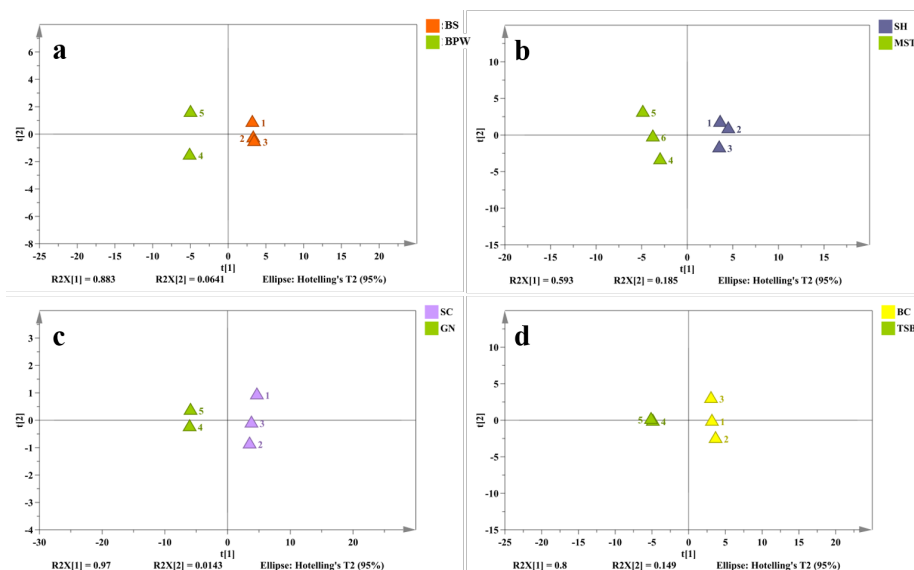
| | | | | | | | | | | | | | |
|----|--|---------|-------|------------|----------|-----|-----|------|--------|----------|----------|-------|------|
| 13 | Pyrazine, 2,5-dimethyl-3-(3-methylbutyl)- | 20.6656 | 3.387 | 18433-98-2 | C11H18N2 | 885 | 898 | 1320 | 1317±5 | 178.1470 | 178.1307 | 2.02 | 0.03 |
| 14 | Tetradecane* | 22.7658 | 2.013 | 629-59-4 | C14H30 | 854 | 866 | 1400 | 1400 | 198.2348 | 198.2299 | 5.58 | 0.05 |
| 15 | Dodecane, 1-chloro- | 24.566 | 2.454 | 112-52-7 | C12H25Cl | 829 | 834 | 1472 | 1469 | 204.1645 | 204.1641 | 0.33 | 0.22 |
| 16 | 3-Decen-1-ol, (E)-* | 24.566 | 2.863 | 10339-60-3 | C10H20O | 790 | 811 | 1273 | 1232 | 156.1514 | 156.0825 | 8.64 | 0.01 |
| 17 | 1-Dodecanol | 24.566 | 2.699 | 112-53-8 | C12H26O | 815 | 820 | 1473 | 1461±5 | 186.1984 | - | 2.90 | 0.09 |
| 18 | 2-Tridecanone* | 25.1659 | 3.395 | 593-08-8 | C13H26O | 820 | 873 | 1497 | 1496±3 | 198.1984 | 198.1936 | 5.47 | 0.07 |
| 19 | 2,4-Di-tert-butylphenol | 25.566 | 3.244 | 96-76-4 | C14H22O | 885 | 888 | 1514 | 1514±5 | 206.1671 | 206.1626 | 1.59 | 0.04 |
| 20 | Hexadecane | 27.566 | 1.976 | 544-76-3 | C16H34 | 880 | 880 | 1600 | 1600 | 226.2661 | 226.2610 | 4.86 | 0.08 |
| 21 | Phenol, 2,4,6-tri-tert-butyl-* | 27.8659 | 2.671 | 732-26-3 | C18H30O | 867 | 867 | 1614 | 1627 | 262.2297 | 262.2250 | 10.65 | 0.04 |
| 22 | 2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-(1-oxopropyl)phenol | 28.566 | 2.69 | 14035-34-8 | C17H26O2 | 794 | 835 | 1646 | 1635 | 262.1933 | 262.2244 | 0.13 | 0.05 |
| 23 | Pentadecane, 2,6,10-trimethyl- | 28.6655 | 1.95 | 3892-00-0 | C18H38 | 803 | 859 | 1650 | - | 254.2974 | 254.2854 | 0.67 | 0.06 |
| 24 | 1,2-15,16-Diepoxyhexadecane | 29.3656 | 3 | 0-0-0 | C16H30O2 | 746 | 802 | 1683 | - | - | - | 0.55 | 0.23 |
| 25 | Heptadecane | 29.7657 | 2.044 | 629-78-7 | C17H36 | 825 | 834 | 1700 | 1700 | 240.2817 | 240.2765 | 1.11 | 0.14 |
| 26 | 2-Pentadecanone | 29.7657 | 2.778 | 2345-28-0 | C15H30O | 848 | 873 | 1701 | 1682±4 | 226.2297 | 226.2237 | 0.92 | 0.09 |
| 27 | Heneicosane, 11-(1-ethylpropyl)- | 30.7657 | 2.007 | 55282-11-6 | C26H54 | 771 | 816 | 1748 | - | 366.4226 | 366.9429 | 0.68 | 0.22 |
| 28 | Octadecane | 31.8659 | 2.064 | 593-45-3 | C18H38 | 857 | 857 | 1800 | 1800 | 254.2974 | 254.2927 | 1.84 | 0.01 |
| 29 | Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- | 32.0656 | 1.991 | 638-36-8 | C20H42 | 814 | 830 | 1810 | 1813±1 | 282.3287 | 282.0322 | 1.05 | 0.11 |
| 30 | Phthalic acid, butyl isohexyl ester | 33.4658 | 4.035 | 0-0-0 | C18H26O4 | 877 | 879 | 1878 | - | - | - | 1.14 | 0.23 |
| 31 | Eicosane | 35.8659 | 2.132 | 112-95-8 | C20H42 | 795 | 865 | 2000 | 2000 | 282.3287 | 282.3249 | 0.46 | 0.17 |

注：表中“*”化合物为痢疾杆菌特定的潜在差异挥发性代谢物。

2.2 PCA 与 OPLS-DA 结合解析不同致病菌 MVOCs 的代谢谱特征

为系统评估不同食源性致病菌 MVOCs 的整体代谢特征差异, 采用 PCA 对各菌及对应空白培养基的挥发性代谢数据进行无监督分析(图 3)。其中, 蜡样芽孢杆菌模型 X 轴方向的累积解释率 (R^2X) 以及模型累计预测率 (Q^2) 分别为 0.948 和 0.858; 乙型溶血性链球菌模型 X 轴方向的 R^2X 以及 Q^2 分别为 0.779 和 0.302; 痢疾杆菌模型 X

轴方向的 R^2X 以及 Q^2 分别为 0.984 和 0.947; 阪崎肠杆菌模型 X 轴方向的 R^2X 以及 Q^2 分别 0.947 和 0.775。这说明模型稳定性和预测能力较好, 认为该结果可用于不同食源性致病菌挥发性代谢物的鉴别分析^[28]。此外, 进一步从 PCA 得分图分析可知, 各食源性致病菌均能与对照组呈现明显的分离, 说明不同食源性致病菌与空白培养基的挥发性成分含量存在较大差异。

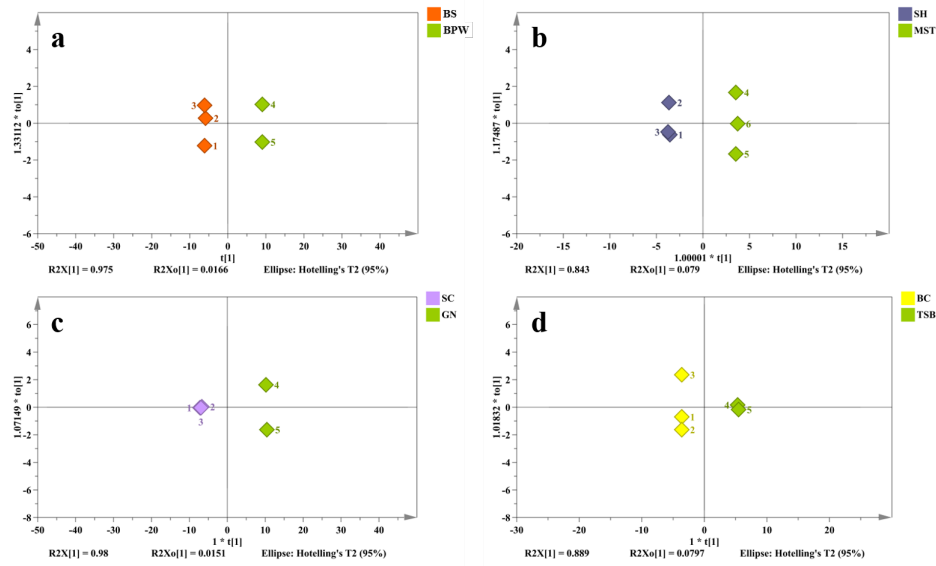


BPW、MST、GN 和 TSB 分别代表缓冲蛋白胨水、改良胰蛋白胨大豆肉汤培养基、GN 增菌液、胰蛋白胨大豆肉汤培养基
图 3 阪崎肠杆菌(BS, a)、乙型溶血性链球菌(SH, b)、痢疾杆菌(SC, c)、蜡样芽孢杆菌(BC, d)和空白培养基之间识别的挥发性代谢物的 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score plots of volatile metabolites identified between *Enterobacter sakazakii* (BS, a), *Streptococcus pyogenes* (SH, b), *Shigella dysenteriae* (SC, c), and *Bacillus cereus* (BC, d) and blank culture medium

差异性代谢物是基于 MVOCs 识别食源性致病菌策略的核心^[29]。MVOCs 种类繁多, 受微生物种类和生长基质等多种因素的影响, 从而导致 MVOCs 浓度差异巨大。因此, 进一步分析培养基与微生物的差异对于寻找微生物独特的代谢标志物具有重要意义。基于 PCA 的输出结果, 利用 OPLS-DA 构建具有代表性的变量组模型, 进一步分析空白培养基与各食源性细菌在 MVOCs 的整体差异性。如图 4 所示, 各细菌模型的 OPLS-DA 得分图均包含 2 个主成分, 其中蜡样芽孢杆菌模型 $R^2X=0.969$, $R^2Y=1$, $Q^2=0.999$; 乙型溶血性链球菌模型 $R^2X=$

0.965 , $R^2Y=1$, $Q^2=0.992$; 痢疾杆菌模型 $R^2X=0.995$, $R^2Y=1$, $Q^2=0.999$; 阪崎肠杆菌模型 $R^2X=0.991$, $R^2Y=1$, $Q^2=1$ 。这表明所建立的 OPLS-DA 模型的稳定性和预测能力均达到了要求^[30]。通过 200 次置换检验对模型进行验证(图 5)。结果显示, Q^2 回归线与纵轴交点小于 0, 表明模型无过拟合, 验证结果可靠。此外, OPLS-DA 结果显示食源性细菌与空白培养基之间的反应代谢特征在 OPLS-DA 评分图中呈现明显分离, 为后续食源性致病菌的特征代谢标志物的筛选提供了关键统计学支撑。



BPW、MST、GN 和 TSB 分别代表缓冲蛋白胨水、改良胰蛋白胨大豆肉汤培养基、GN 增菌液、胰蛋白胨大豆肉汤培养基
图 4 阪崎肠杆菌 (BS, a)、乙型溶血性链球菌 (SH, b)、痢疾杆菌 (SC, c)、蜡样芽孢杆菌 (BC, d) 和空白培养基之间识别的挥发性代谢物的 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score plots of volatile metabolites identified between *Enterobacter sakazakii* (BS, a), *Streptococcus pyogenes* (SH, b), *Shigella dysenteriae* (SC, c), and *Bacillus cereus* (BC, d) and blank culture medium

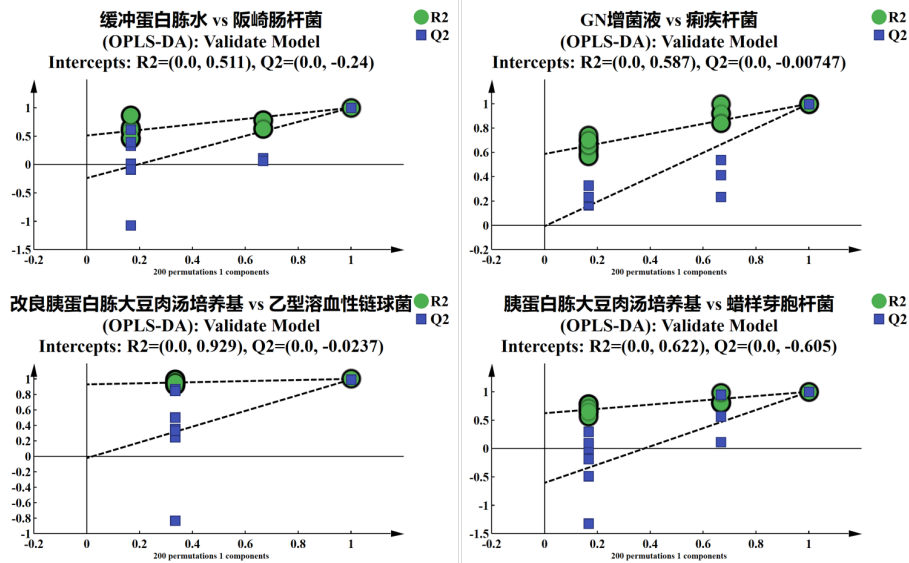


图 5 OPLS-DA 模型 200 次置换检验结果

Fig. 5 Results of 200 permutation tests for the OPLS-DA model

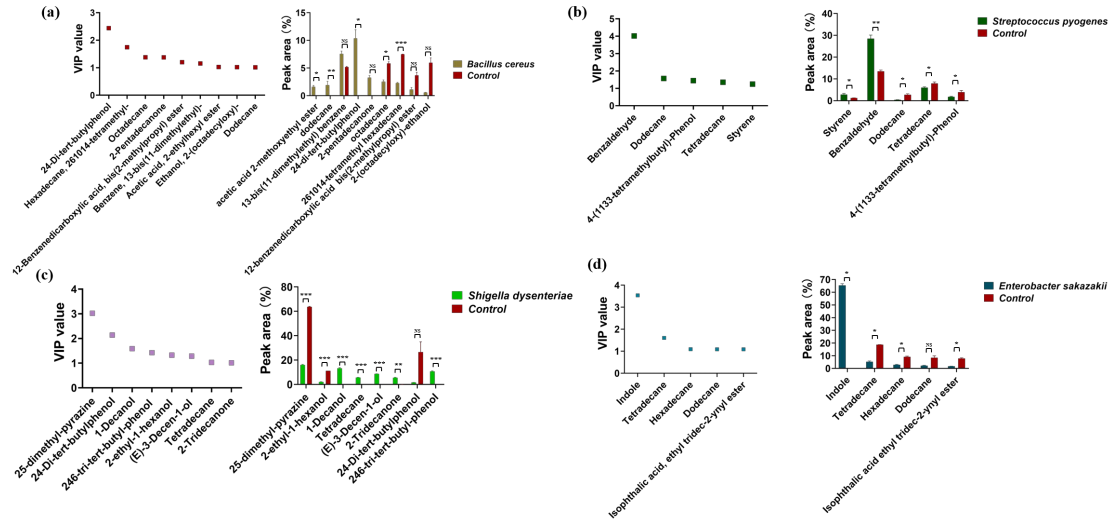
2.3 不同致病菌潜在差异性 MVOCs 的筛选与鉴定

OPLS-DA 模型得到的变量投影重要性 (Variable importance in projection, VIP) 可反映各代谢物的表达模式对样本分类判别中的影响强度和解释能力。一般来说, VIP 值越大, 说明该变量对模型的贡献度越高, 通常将 $VIP > 1$ 的物质作为重要差异物质^[31]。通过上述 OPLS-DA 判别分析结果发现, 食源性致病菌中的 107 种挥发性成分中,

共筛选出可区分无菌培养基的 27 种关键差异性成分。具体而言, 在蜡样芽孢杆菌中共筛选出代谢物 9 种, 约占测定代谢物成分的 34.6%; 在乙型溶血性链球菌中共筛选代谢物 5 种, 约占测定代谢物成分的 16.1%; 在痢疾杆菌中共筛选出代谢物 8 种, 占测定代谢物成分的 25%; 在阪崎肠杆菌中共筛选代谢物 5 种, 约占测定代谢物成分的 20.8%, 说明 4 种常见食源性细菌的挥发性代谢物存在差异 (图 6)。

为进一步分析不同挥发性成分对食源性细菌的贡献率，对各食源性细菌中的挥发性成分进行统计学分析，根据 VIP>1 且 $p<0.05$ 的标准，在蜡样芽孢杆菌、乙型溶

血性链球菌、痢疾杆菌和阪崎肠杆菌分别筛选出 5、5、7 和 4 种显著差异代谢物，总共为 21 种，为本研究核心的潜在差异性挥发性代谢物（图 6）。



*表示为 $p<0.05$ ，**表示为 $p<0.01$ ，***表示为 $p<0.001$ ，NS 表示无显著性差异

图 6 空白培养基和蜡样芽孢杆菌 (a)、乙型溶血性链球菌 (b)、痢疾杆菌 (c) 和阪崎肠杆菌 (d) 的 OPLS-DA 模型 VIPpred 值(散点图)及统计分析结果(柱状图)

Fig. 6 VIPpred values (scatter plot) and statistical analysis results (bar chart) of the OPLS-DA models for blank medium and *Bacillus cereus* (a), *Streptococcus pyogenes* (b), *Shigella dysenteriae* (c), and *Enterobacter sakazakii* (d)

为了更直观地展示不同食源性致病菌中差异代谢物的共有和独有数目，对各致病菌筛选得到的差异代谢物绘制韦恩图，结果如图 7 所示。由图可知，十四烷是乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌和阪崎肠杆菌的共有差异变量。十二烷是蜡样芽孢杆菌和乙型溶血性链球菌的共有差异变量。乙酸 2-乙基己酯、2,4-二叔丁基苯酚、十八烷和 2,6,10,14-四甲基十六烷等 4 个化合物可作为蜡样芽孢杆菌的特征性差异成分；苯乙烯、苯甲醛和 4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯酚等 3 个化合物可作为乙型溶血性链球菌的特征性差异成分；2,5-二甲基-吡嗪、2-乙基己醇、1-癸醇、(E)-3-癸烯-1-醇、2-十三烷酮和 2,4,6-三叔丁基-苯酚等 6 个化合物可作为痢疾杆菌的特征性差异成分；吡啶、十六烷和间苯二甲酸乙基十三碳-2-炔基酯等 3 个化合物可作为阪崎肠杆菌的特征性差异成分。

吡啶被鉴定为阪崎肠杆菌的潜在特征

性挥发性标志物^[32]，然而，其余挥发性化合物作为对应菌株特征性挥发性代谢物的相关研究尚未被报道。相关研究表明，烷烃类、脂肪醇类和酮类化合物通常被认为是脂肪酸氧化应激的产物^[33-35]，而吡啶与阪崎肠杆菌色氨酸的分解代谢过程密切相关^[35]。综上所述，不同食源性致病菌所鉴别出的差异性挥发性代谢物构成了具有物种特异性的代谢特征组合，可作为区分不同病原菌的重要化学指纹。这些差异物质为基于挥发性代谢特征的食源性致病菌识别提供了候选标志物基础，也为后续快速检测方法和分类模型的构建提供了关键特征变量。

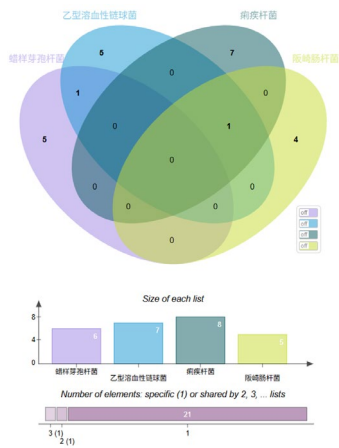


图 7 各食源性致病菌显著差异代谢物的韦恩图

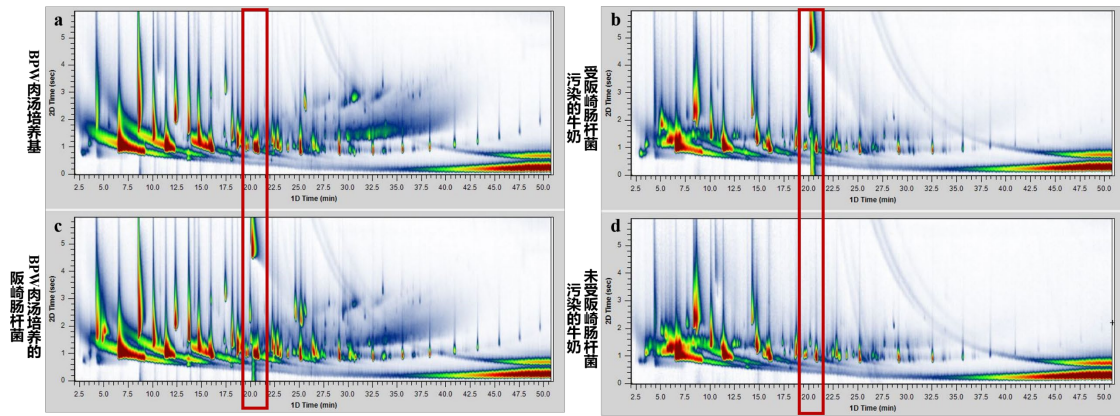
Fig. 7 Venn diagram of significant differential metabolites from various foodborne pathogenic bacteria

2.4 食品样品中致病菌潜在挥发性标志物的检测

微生物在生长过程中可通过代谢活动释放各种挥发性代谢物，但食品基质的复杂性可能影响标志物的检测特异性与灵敏性^[12,36]。根据上述结果发现，阪崎肠杆菌在代谢过程中产生的吲哚为其最具有特征

性的挥发性代谢产物，且该化合物在空白培养基及其它 3 种致病菌的代谢谱中均未被检出。因此，在确认所用增菌培养基对阪崎肠杆菌的促生长作用和选择性后，吲哚可作为该菌是否存在的特异性判断指标。鉴于乳制品是阪崎肠杆菌的高风险污染食品^[37]，选取蒙牛纯牛奶作为实际食品样品，验证 SPME/GC×GC-QTOF-MS 技术在识别病原菌方面发现的潜在挥发性代谢标志物，以支持所建立检测方法的实用性与可靠性。

结果显示，在经阪崎肠杆菌污染的牛奶样品中，可在全二维 TIC 轮廓图中检测到与吲哚对应的特征峰（图 8），而该信号在空白样品和阴性对照组中均为出现。通过 NIST 17 标准质谱数据库比对检索，结合保留指数和精确分子量信息，可明确判定该特征峰为吲哚。鉴于各样品检测前增菌培养使用的是选择性增菌培养基，保证了所检微生物在其中繁殖，而抑制了部分或全部其他微生物生长。检测结果可初步判定为蒙牛纯牛奶检出阪崎肠杆菌。



红色方框标示区域为特征标志物吲哚的色谱峰位置

- a. 空白 BPW 肉汤培养基； b. 受阪崎肠杆菌污染的牛奶样品；
c. BPW 肉汤培养的阪崎肠杆菌纯菌液； d. 未受污染的空白牛奶样品

图 8 食品样品中阪崎肠杆菌特征标志物吲哚的检测谱图

Fig. 8 Detection chromatograms of indole, the characteristic marker of *Enterobacter sakazakii* in food sample

上述结果表明，食品基质中的阪崎肠杆菌可利用食品中的营养物质生长繁殖，并持续产生其特有的挥发性代谢产物，证实了吲哚可作为实际食品基质中阪崎肠杆菌检测的潜在挥发性标志物，同时验证了基于新型 SPME 技术的检测方法可在实际

食品中实现阪崎肠杆菌的快速、准确检测，为该方法在食品安全实际监测中的应用提供了坚实的实验支撑。

3 结论

本研究基于新型 SPME 探针与

GC×GC-QTOF-MS 联用技术, 构建了一种无损、高通量的挥发性代谢物分析策略, 实现了对4种常见食源性致病菌(蜡样芽孢杆菌、乙型溶血性链球菌、痢疾杆菌和阪崎肠杆菌)挥发性代谢特征的系统解析。结果表明, 不同致病菌释放的MVOCs在组成和相对丰度上存在显著差异, 可形成具有物种特异性的挥发性代谢指纹。通过多元统计分析, 筛选出21种具有区分意义的潜在差异性挥发性代谢物, 其中吡嗪在阪崎肠杆菌中呈现高度特异性富集, 显示出良好的标志物潜力。进一步的食品样品验证结果表明, 该挥发性标志物在乳制品基质中仍可被稳定检测, 证实了所建立方法

在实际食品体系中的可行性。尽管本研究利用乳制品基质对潜在标志物(如吡嗪)进行了方法可行性验证, 但实际食品体系更为复杂, 未来也需将该方法应用于如肉制品、水产品等其他种类的高复杂基质食品中, 在后续探索中进一步验证此分析方法的普适性。综上所述, 研究表明, 基于挥发性代谢指纹的分析策略可为食源性致病菌的快速识别提供有效补充。该方法在食品安全快速筛查和风险防控中具有一定应用潜力, 可为后续基于挥发性标志物的检测技术开发提供参考。

参考文献:

[1] Liu Y, Wei Y M, Li L, Yi L C, Zhao W W, Shang Y, Cao J X. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2022, **43(12)**: 427-437.
刘耀, 魏元苗, 李玲, 易伦朝, 赵维薇, 商颖, 曹建新. 食品工业科技, 2022, **43(12)**: 427-437.

[2] Zhang D F, Gao L, Zhang M, Du Z X, Lv X R, Bai X, Zhang G Q, Li X P, Li J R. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2024, **45(13)**: 368-377.
张德福, 高乐, 张明, 杜知心, 吕欣然, 柏雪, 张国清, 李学鹏, 励建荣. 食品工业科技, 2024, **45(13)**: 368-377.

[3] Flynn K, Villarreal B P, Barranco A, Belc N, Björnsdóttir B, Fusco V, Rainieri S, Smaradóttir S E, Smeu I, Teixeira P, Jörnsdóttir H Ó. *Trends Food Sci. Technol.*, 2019, **84**: 1-3.

[4] Hoffmann S, Ashton L, Ahn J W. *Appl. Econ. Perspect. Policy*, 2021, **43(2)**: 680-700.

[5] Wang C, Zhang R H, Wang X F, Li X R, Yang Y, Cui S H, Guo Y C. *Food Res. Dev.*, 2021, **42(23)**: 183-189.
王纯, 张若鸿, 王晓芳, 李晓然, 杨洋, 崔生辉, 郭云昌. 食品研究与开发, 2021, **42(23)**: 183-189.

[6] Zhang S S, Liu X Q, Yang M T, Ji S, Guo Z J, Du Y. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2021, **49(10)**: 1631-1639.
张偲偲, 刘兴泉, 杨媚婷, 戢爽, 郭志军, 杜衍. 分析化学, 2021, **49(10)**: 1631-1639.

[7] Kai M, Hausteina M, Molina F, Petri A, Scholz B, Piechulla B. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2009, **81(6)**:

1001-1012.

[8] Wang Y, Li Y X, Yang J L, Ruan J, Sun C J. *Trac Trends Anal. Chem.*, 2016, **78**: 1-16.

[9] Deng F L, Zhao Z J, Wang R X, Xiang C F, Lv Y T, Li W W, Duan Y X. *J. Agric. Food Chem.*, 2023, **71(28)**: 10809-10818.

[10] Näsström E, Jonsson P, Johansson A, Dongol S, Karkey A, Basnyat B, Tran Vu Thieu N, Trinh Van T, Thwaites G E, Antti H, Baker S. *PLoS Neglected Trop. Dis.*, 2018, **12(1)**: e0006215.

[11] Huang Y Q, Ruan Q J, Fang S T, Duan Y M, Zheng J T, Xiang Z M, Shen Y, Liu S Q, Ouyang G F. *Environ. Sci. Technol.*, 2024, **58**: 281.

[12] Fang S T, Liu S Q, Song J Y, Huang Q H, Xiang Z M. *Food Res. Int.*, 2021, **142**: 110213.

[13] Rees C A, Franchina F A, Nordick K V, Kim P J, Hill J E. *J. Appl. Microbiol.*, 2017, **122(3)**: 785-795.

[14] Nasir M, Bean H D, Smolinska A, Rees C A, Zemanick E T, Hill J E. *Sci. Rep.*, 2018, **8(1)**: 826.

[15] Huang N, Wang Q, Chen Y, Xu F. *Chem. Reag.*, 2015, **37(6)**: 535-536; 544.
黄娜, 王强, 陈燕, 徐芳. 化学试剂, 2015, **37(6)**: 535-536; 544.

[16] Qiu J L, Chen G S, Xu J Q, Luo E L, Liu Y, Wang F X, Zhou H, Liu Y, Zhu F, Ouyang G F. *J. Hazard. Mater.*, 2016, **316**: 52-59.

[17] Liu S Q, Fang S T, Huang Y Q, Xiang Z M, Ouyang G F. *Chem. Commun.*, 2020, **56(52)**: 7167-7170.

[18] Antolak H, Jeleń H, Otlewska A, Kręgiel D. *Food*

- Res. Int.*, 2019, **121**: 379-386.
- [19] Wang Y, Liu S J, Pu Q K, Li Y X, Wang X X, Jiang Y, Yang D N, Yang Y, Yang J L, Sun C J. *Food Chem.*, 2018, **262**: 7-13.
- [20] Li Y M, Chen J, Long H, Tang J N, Wang Y L. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2020, **41(12)**: 207-213.
- 李延梅, 陈娟, 龙虎, 唐俊妮, 王月丽. 食品工业科技, 2020, **41(12)**: 207-213.
- [21] CAO Q G, GUO Q, LIU H, XU H T, LI D C. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2014, **35(23)**:290-297.
- [22] Huang Y Q, Fang S T, Xiang Z M, Liu S Q, Ouyang G F. *Sci. Total Environ.*, 2022, **845**: 157335.
- [23] GB 4789.40—2016. 《食品安全国家标准食品微生物学检验克罗诺杆菌属（阪崎肠杆菌）检验》, 2017-06-23.
- [24] GB 4789.14—2014. 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽胞杆菌检验》, 2015-05-01.
- [25] Wang L, Tao X B, Ouyang J, Yang Z P. *Inf. Tradit. Chin. Med.*, 2020, **37(5)**: 49-53.
- 王丽, 陶兴宝, 欧阳净, 杨钟平. 中医药信息, 2020, **37(5)**: 49-53.
- [26] Liang J, Zeng M M, Zheng C Y, Chen S Y, Chen X J, Yang X Q, Gong D Y, Chen X. *J. Med. Theory Pract.*, 2019, **32(12)**: 1797-1798; 1817.
- 梁婕, 曾敏敏, 郑晨韵, 陈深元, 陈锡姣, 杨雪琼, 龚道元, 陈鑫. 医学理论与实践, 2019, **32(12)**: 1797-1798; 1817.
- [27] Qian C Y, Quan W X, Xiang Z M, Li C C. *Molecules*, 2019, **24(18)**: 3327.
- [28] Ma T J, Chen J M, Meng H, Wei J H, Yang Y. *Microbiol. China*, 2025, DOI : 10.13344/j.microbiol.china.251058.
- 马天骄, 陈金梦, 孟慧, 魏建和, 杨云. 微生物学通报, 2025, DOI: 10.13344/j.microbiol.china.251058..
- [29] Lough F, Perry J D, Stanforth S P, Dean J R. *Trac Trends Anal. Chem.*, 2017, **87**: 71-81.
- [30] Yun J, Cui C J, Zhang S H, Zhu J J, Peng C Y, Cai H M, Yang X G, Hou R Y. *Food Chem.*, 2021, **360**: 130033.
- [31] Zhang L, Zeng Z D, Zhao C X, Kong H W, Lu X, Xu G W. *J. Chromatogr. A*, 2013, **1313**: 245-252.
- [32] Lee I P A, Andam C P. *BMC Microbiol.*, 2019, **19(1)**: 306.
- [33] Schulz S, Dickschat J S. *Nat. Prod. Rep.*, 2007, **24(4)**: 814.
- [34] Lammers A, Lalk M, Garbeva P. *Antibiotics*, 2022, **11(1)**: 109.
- [35] Audrain B, Farag M A, Ryu C M, Ghigo J M. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2015, **39(2)**: 222-233.
- [36] Wang Y, Wang X, Huang Y Y, Yue T L, Cao W. *Foods*, 2023, **12(14)**: 2782.
- [37] Cao C Y, Meng L Y, Wang J W, Zhao X Y, Yang B W. *J. Chin. Inst. Food Sci. Technol.*, 2019, **19(9)**: 45-52.
- 曹晨阳, 孟令缘, 王嘉炜, 赵晓阳, 杨保伟. 中国食品学报, 2019, **19(9)**: 45-52.