

电子鼻对草莓采后贮藏早期霉菌感染的检测

朱 娜, 毛淑波, 潘磊庆*, 袁丽佳, 屠 康

(南京农业大学食品科技学院, 南京 210095)

摘 要: 为了实现电子鼻对草莓贮藏期常见霉菌感染的早期检测, 对草莓果实分别接种灰霉、扩展青霉和根霉 3 种主要病原菌, 以无菌水处理为对照组, 每 2 d 采用 PEN3 电子鼻获取草莓的气味, 并用气质联用技术分析草莓气味。结果表明, 草莓接种病原菌 2 d 后, 主成分分析能够正确区分正常果实(对照组)与病害果实, 且可以较好区分草莓感染病原菌种类, 多元方差分析结果也显示接种不同病原菌对草莓果实挥发性物质的影响差异显著 ($P < 0.05$), 通过 Fisher 判别建立的回归函数对 3 种病原菌灰霉、扩展青霉和根霉及对对照组的判别正确率分别为 100%、93.3%、86.7%和 100%。载荷分析及气质联用技术结果表明病原菌对草莓果实挥发性物质的影响主要体现在烃类及酯类的变化。研究结果可为实现草莓采后贮藏和流通过程中质量变化和病原微生物的感染进行无损快速检测和监测提供参考。

关键词: 病害, 主成分分析, 无损检测, 电子鼻, 草莓, 气质联用

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2013.05.035

中图分类号: TS255.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2013)-05-0266-08

朱 娜, 毛淑波, 潘磊庆, 等. 电子鼻对草莓采后贮藏早期霉菌感染的检测[J]. 农业工程学报, 2013, 29(5): 266-273.

Zhu Na, Mao Shubo, Pan Leiqing, et al. Early detection of fungal disease infection in strawberry fruits by e-nose during postharvest storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2013, 29(5): 266-273. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

草莓系蔷薇科草莓属植物, 原产于欧洲, 于 20 世纪初引入中国, 因其色泽艳丽、美味可口且营养丰富而深受消费者喜爱^[1]。但草莓果实皮薄肉嫩, 采摘过程极易受损伤^[2], 且易被灰霉(*Botrytis* sp.)、根霉(*Rhizopus* sp.)和扩展青霉(*Penicillium* sp.)等病原菌侵染, 二者共同作用导致果实采后贮藏期间腐烂损伤率高达 30%以上。目前草莓果实的分选主要依靠人工识别, 发病早期的果实因无明显表面症状而常常被误判, 一旦该类果实进入包装中就会感染临近果实从而导致严重的经济损失。因此, 探讨快速、精确、无损的病害早期检测方法具有十分重要的意义。

草莓果实的挥发性物质有近百种^[3], 而且损伤

对果实的风味物质有明显的影 响^[4], 因此利用病原菌对草莓果实气味的影响进行病害的判别具有可行性。电子鼻是一种由具有部分选择性的化学传感器阵列和适当的模式识别系统组成的, 通过传感器的部分专一性和系统的模式识别功能, 用来检测简单或复杂气味的电子仪器, 广泛用于农畜产品的品质检测和分级^[5], 如橙汁^[6], 茶^[7-8], 蛋^[9-10], 肉类^[11-13], 水产品^[14-15], 酒^[16], 洋葱^[17]等均取得了较好的结果。水果方面的研究集中在品种区分、成熟度及货架期等方面^[18-23], 李长樱^[24]等对电子鼻检测蓝莓常见病害进行了研究, 证实了该方法的可行性。本研究利用 PEN3 电子鼻获取 3 种霉菌侵染的草莓果实的气味响应值, 利用主成分分析确定基于电子鼻识别草莓病害的可行性, 然后利用 Fisher 判别建立草莓果实病害的预测模型并进行验证, 最后通过载荷分析及气质联用确定区分病原菌种类的特征气体。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 草莓

试验所用草莓为八成熟“红颜”。2012 年 4 月 14 日采摘于南京江心洲草莓园, 选择色泽均匀、大小一致, 无表面损伤的草莓。

收稿日期: 2012-10-15 修订日期: 2013-02-22

基金项目: 国家自然科学基金(31101282); 中央高校基本科研业务费专项资金(KYZ201120); 农业部 948 项目(2011-S10); 江苏省高校优势学科建设工程; 中农-南农青年教师开放基金(NC2008004)和大学生创新训练(1218A24)资助

作者简介: 朱娜(1984-), 女, 河南南阳人, 主要从事农产品无损检测。南京农业大学食品科技学院, 210095。Email: 373632818@qq.com
*通信作者: 潘磊庆(1980-), 男, 湖北郧县人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事农产品贮藏加工及品质检测。南京农业大学食品科技学院, 210095。Email: pan_leiqing@njau.edu.cn

1.1.2 病原菌

选择草莓采后感染常见的3种病原菌：灰霉(*Botrytis* sp., BC)、扩展青霉(*Penicillium* sp., PE)和根霉(*Rhizopus* sp., RH)，其中灰霉、根霉购自广东省微生物研究所微生物菌种保藏中心，扩展青霉购自中国工业微生物菌种保藏中心，置于马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基上保存。使用前，病原菌接种到PDA培养基上在26℃活化培养7~10 d之后，用无菌水(含有0.05% Tween-80)冲洗下孢子，借助于血球计数板，调整至浓度为 10^5 个/mL的孢子悬浮液，备用。

1.2 试验仪器

便携式电子鼻(德国AIRSENSE公司, PEN3)，气质联用仪(美国安捷伦公司, 7890A/5975C)，20 mL样品瓶，固相微萃取装置(美国Supelco公司, 型号为100 μ m PDMS)，电子天平(美国奥豪斯公司, Adventure TM, 精度0.01 g)等。

1.3 试验方法

1.3.1 试验处理

将挑选出的草莓平均分为4组。用体积分数为75%酒精浸泡30 s，待酒精挥发完全后进行接种处理。处理组果实分别于 4×10^5 个/mL的灰霉(BC)、青霉(PE)和根霉(RH)的孢子悬浮液中浸泡30 s，对照组用无菌水(CK)做同样处理，晾干后每3颗果实(50 \pm 5 g)为1组，置于100 mL纸杯中5℃冷藏。

1.3.2 传感器响应值测定

应用德国AIRSENSE公司PEN3便携式电子鼻获取草莓气味的响应值。所用电子鼻传感器阵列包含10个传感器，分别为W1C(S_1 : 对芳香型化合物敏感)、W5S(S_2 : 对氮氧化物敏感)、W3C(S_3 : 对氨类和芳香型化合物敏感)、W6S(S_4 : 对氢气敏感)、W5C(S_5 : 对烯烃和芳香型化合物敏感)、W1S(S_6 : 对烃类物质敏感)、W1W(S_7 : 对硫化氢敏感)、W2S(S_8 : 对醇类和部分芳香型化合物敏感)、W2W(S_9 : 对芳香化合物和有机硫化物敏感)、W3S(S_{10} : 对烷烃敏感)^[25]。测定时，传感器涂层吸附样品中的挥发性物质产生电导率变化，记录传感器吸附样品挥发物后的电导率 G 与传感器吸附经活性炭过滤的空气后的电导率 G_0 的比值 G/G_0 (即相对电导率)，响应气体浓度越大， G/G_0 的值越偏离1(大于或者小于1)，如果浓度低于检测限或者没有感应气体，则该比值接近甚至等于1^[26]。

将装有草莓的纸杯自冰箱取出，于24℃、85%相对湿度条件下敞口回温2 h，使果实内部温度达到24℃，用锡纸封口于24℃中静置10 min。每次每组测定60个样本，共计240个，每组随机挑选45个共计180个作为建模组，剩余60个作为验证

组。试验参数为：流速120 mL/min，测定时间60 s，洗气时间80 s，样品准备时间5 s，自动调零时间5 s。试验发现传感器响应值在25 s左右趋于稳定，选择30 s处的响应值用于数据分析。

1.3.3 腐烂指数测定

草莓果实腐烂等级参照陈学红等^[27]的研究进行定义。按果实腐烂面积大小将果实划分为3级：0级，无腐烂；1级，果面有1~3个黄褐色病斑，且病变组织面积不超过果实总表面积的25%；2级，果实表面出现菌丝，或病变组织面积达到果实总表面积的25%以上。按下式计算腐烂指数(%)：腐烂指数= $\sum[(腐烂级别 \times 该级果实数) / (最高腐烂级别 \times 总果实数)] \times 100\%$ 。每次每组测定30个样本，共计120个，指标重复测定3次，取平均值进行分析。

1.3.4 气相质谱联用法测定挥发性物质

每个处理组取5颗草莓，切碎混匀，液氮处理后-18℃存放待用。将固相微萃取装置插入并推出纤维头进行老化；取10 g果浆于20 mL样品瓶中，40℃水浴，用老化过的萃取装置萃取40 min。气质联用(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)测定方法参照Thomas RH等^[28]的研究。气相色谱仪进样口温度设为240℃，PDMS萃取头于进样口解析3 min；柱温：50℃保持5 min，然后以2℃/min升至200℃，保持10 min；FID检测器，240℃；离子源温度230℃；载气He，流速1 mL/min；扫描范围：质荷比 m/z 30-450。各组分经NIST谱库(2008版)检索确定，仅选择匹配度大于80%的组分，相对含量以峰面积占检出气体总峰面积百分比表示。

1.3.5 数据处理

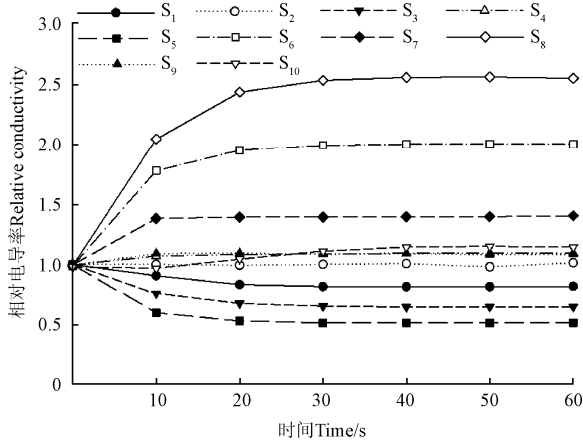
采用电子鼻自带的Winmuster软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、载荷(loading)分析，软件SPSS18进行多因素方差分析及Fisher判别分析。

2 结果与分析

2.1 传感器对草莓挥发性物质的响应

PEN3电子鼻为包含10个金属氧化物传感器阵列。电子鼻响应信号随时间变化如图1所示，图中每条曲线代表一个传感器，曲线上的点表示挥发性物质进入电子鼻时传感器相对电导率(G/G_0)随检测时间的变化情况。由图1可以看出，在测定初始阶段相对电导率快速变化，20 s后逐渐趋于平缓，另外， S_3 、 S_5 、 S_6 、 S_7 和 S_8 的相对电导率变化比其他传感器更大。通过电子鼻传感器对草莓果实挥发性物质的响应试验可知，电子鼻对草莓果实的挥发性物质有明显的响应，且每一个传感器对其响应值

各不相同。基于病害影响草莓果实挥发性风味物质的假设^[24]，表明利用 PEN3 电子鼻系统识别草莓病害可行。



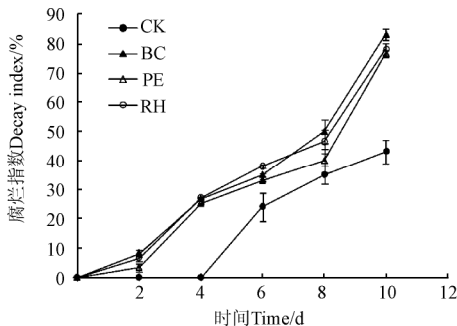
注：S₁：对芳香型化合物敏感；S₂：对氮氧化物敏感；S₃：对氨类和芳香型化合物敏感；S₄：对氢气敏感；S₅：对烯烃和芳香型化合物敏感；S₆：对烃类物质敏感；S₇：对硫化氢敏感；S₈：对醇类和部分芳香型化合物敏感；S₉：对芳香性化合物和有机硫化物敏感；S₁₀：对烷烃敏感，下同。
 Note: S₁: Sensitive to aromatic compounds; S₂: Sensitive to nitrogen oxides; S₃: Sensitive to ammonia and aromatic compounds; S₄: Sensitive to hydrogen; S₅: Sensitive to alkenes and aromatic compounds; S₆: Sensitive to methane broad range; S₇: Sensitive to sulphur compounds; S₈: Sensitive to alcohols and partially aromatic compounds; S₉: Sensitive to aromatics compounds and sulphur organic compounds; S₁₀: Sensitive to alkane; the same below.

图 1 10 个传感器对草莓挥发性物质的响应曲线

Fig.1 Responses of 10 sensors to strawberries volatiles

2.2 病害对贮藏期草莓腐烂指数的影响

不同病原菌处理的草莓贮藏期腐烂指数的变化如图 2 所示，从图中可以看出随贮藏时间的延长，各组果实的腐烂指数逐渐变大。CK 组草莓发病最迟，第 4 天时仍无病害发生，贮藏末期的腐烂指数最小，而处理组果实在冷藏 2 d 后即开始发病，且贮藏末期腐烂指数远高于 CK 组，因此，若能在贮藏早期将发生病害的果实及时检测并剔除则可以大大降低由此带来的损失。



注：CK 为对照组，BC 为灰霉处理组，PE 为扩展青霉处理组，RH 为根霉处理组，下同。
 Note: CK means control group; BC means *Botrytis* sp. treatment; PE: *Penicillium* sp. treatment; RH: means *Rhizopus* sp. treatment. The below is same.

图 2 腐烂指数

Fig.2 Decay index

2.3 不同处理的草莓果实传感器响应值主成分分析

主成分分析 (principal component analysis, PCA) 是一种降维统计方法，通过原始变量的线性组合构建几个新变量，从而将原来相关性较强的多个指标转化为较少的几个综合指标，降维后的综合指标之间互不相关，却能代替原来较多的变量信息。PCA 方法得到的特征是最佳描述特征，若两主成分的贡献率大于 85%，则表示主成分可以代表原始变量的大部分信息，可以据此进行进一步分析^[29]。不同处理组的草莓果实 PCA 分析结果见图 3，可以看出，各组果实第一、第二主成分累计贡献率均在 90% 以上，能够代表原始变量大部分的信息。CK 组果实贮藏第 4 d 时的样品点分布与贮藏前期 (0、2 d)、后期 (6、8、10 d) 均有明显差异；各处理组的主成分分析结果相似，贮藏第 0、2 天的样品点分布有别于贮藏后期 (4、6、8、10 d)，贮藏 2 d 时的样品点分布与贮藏后期差别最大。结合图 2 中果实腐烂指数的统计结果可知，果实出现表面病害前后挥发性物质可能产生了明显变化，推测可能是病原菌侵染后影响了果实的挥发性物质。在贮藏后期，果实代谢旺盛，分解反应快速进行并产生大量挥发性物质，不同霉菌对果实气味的影响可能被掩盖，因此当果实腐烂指数达到一定程度时果实传感器响应值主成分点反而聚集在一起。

2.4 电子鼻对草莓病害种类的区分

2.4.1 PCA 分析

利用 PCA 分别对处理后贮藏初期 (第 0 天)、第 2 天 (2 d) 的果实传感器响应值进行分析，结果如图 4 所示。由图可知，在处理结束后立刻进行检测，无法区分其病原菌种类，而处理后 5℃ 贮藏 2 d 后，不同处理样品点聚集在不同位置。表明在处理后期短期内病原菌对果实挥发性物质的影响不足以用于其种类的区分，而处理后 2 d 其差异性就表现出来，在发病早期即可区分，因此，利用主成分分析进行草莓病害的早期判别是可行的。

2.4.2 不同病害草莓传感器响应值方差分析

PCA 分析结果可以直观的显示出各组之间的差异，要精确说明其差异需进行方差分析。利用 SPSS18 进行多因素方差分析^[24]，结果如表 1 所示，其中 Wilks' Lambda 为组内变异与总变异的比值。当所有观测组的均值相等时，Wilks' Lambda 值为 1；当组内变异与总变异相比小时，Wilks' Lambda 值接近于 0。因此，Wilks' Lambda 值大，表示各个组的均值基本相等；Wilks' Lambda 小表示组间有差异^[29]，利用 F 检验分析差异的显著性水平 ($P < 0.05$)。由表 1 分析结果可知，第 2 天时，对照组与处理组间响应值间差异显著，不同病原菌处理组间响应值

也有显著差异。

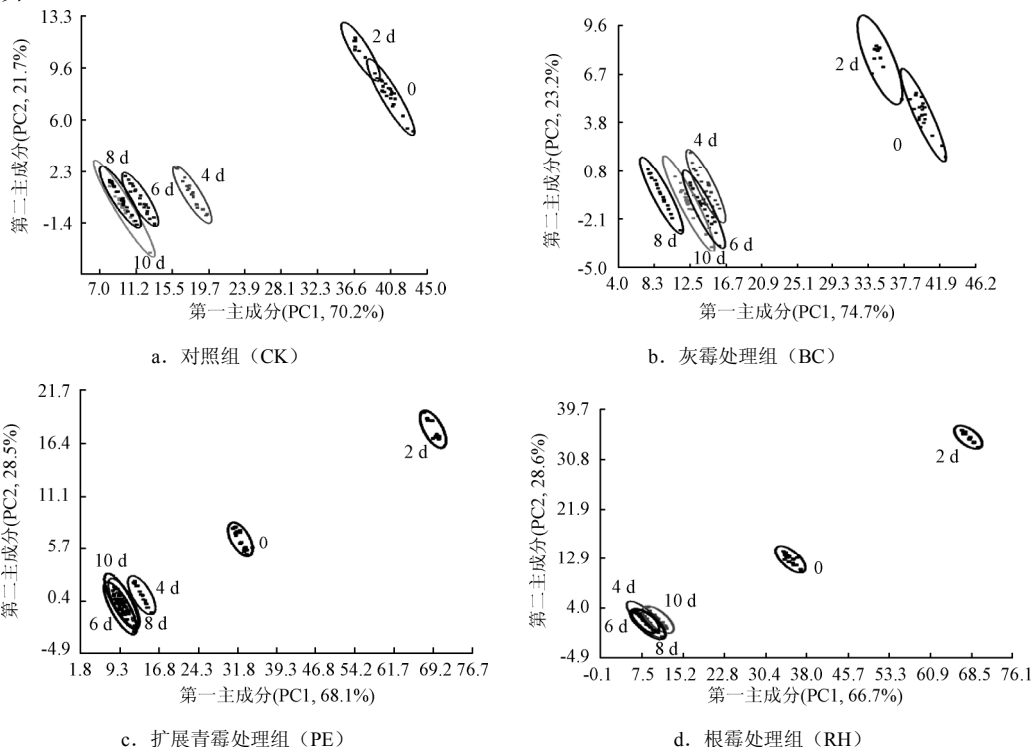


图 3 不同处理组草莓果实贮藏期电子鼻响应值主成分分析

Fig.3 PCA analysis of e-nose response for different treatment during storage

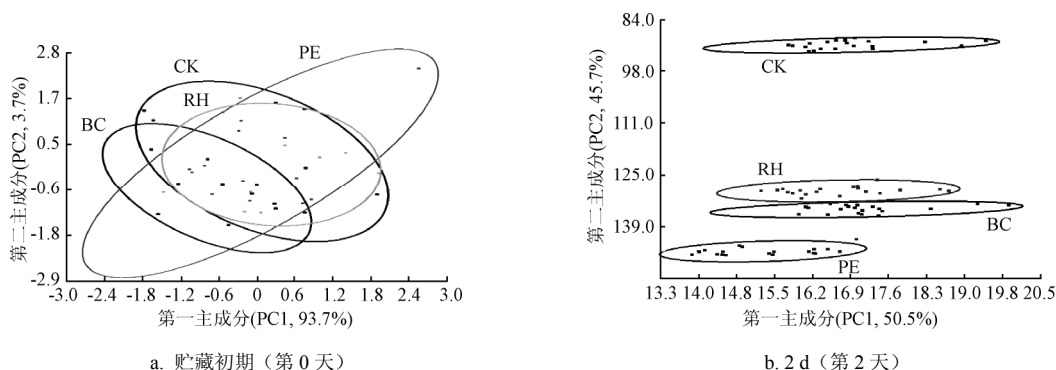


图 4 不同处理草莓传感器响应值主成分分析结果

Fig.4 PCA analysis of different treatment of strawberries during storage

表 1 处理后 2 d 不同霉菌处理间草莓的传感器响应值方差分析

Table 1 Analysis of variance of different treatment on the second day

	Wilks' Lambda	F 值	P 值
CK-BC	0.527	2.605	0.020
CK-PE	0.081	32.935	0
CK-RH	0.323	6.074	0
BC-PE	0.085	31.354	0
BC-RH	0.437	3.734	0.003
PE-RH	0.085	31.354	0

2.4.3 草莓病害区分模型的建立及验证

Fisher 线性判别分析方法是模式识别中一种行之有效的特征提取方法，通过将原始变量投影到最佳的方向上，以实现区分训练集中不同类别的样本的最佳区分^[30]。对处理后 5℃冷藏 2 d 的果实传感器响应值进行分析，利用逐步回归法 ($P < 0.05$ 时引入变量, $P > 0.1$ 时剔除该变量) 进行基于马氏距离的判别分析，引入 S_3 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 和 S_9 作为变量时，模型具有最高的判别准确率，因此，最终确定的变量为 S_3 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 和 S_9 。由图 1 可以看出传感器 3、5、6、7、8 有较高的电子鼻响应，被保留；而传感器 9 的响应虽然不高，但是对于霉

菌感染类型判断有较高的贡献, 故也被保留。感染霉菌类型判别式为:

$$\begin{cases} y_{CK} = -1.5 - 8.2 \times S_3 + 6.7 \times S_5 + 6.8 \times S_6 + 1.4 \times S_7 - \\ \quad 3.7 \times S_8 - 0.4 \times S_9 \\ y_{BC} = -1.2 - 7.5 \times S_3 + 6.1 \times S_5 + 6.2 \times S_6 + 1.3 \times S_7 - \\ \quad 3.4 \times S_8 - 0.4 \times S_9 \\ y_{PE} = -0.8 - 5.2 \times S_3 + 4.2 \times S_5 + 4.9 \times S_6 + 9.0 \times S_7 - \\ \quad 2.7 \times S_8 - 2.3 \times S_9 \\ y_{RH} = -0.8 - 5.8 \times S_3 + 4.7 \times S_5 + 5.0 \times S_6 + 1.0 \times S_7 - \\ \quad 2.7 \times S_8 - 0.3 \times S_9 \end{cases}$$

式中, S_3 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 和 S_9 分别代表各个传感器的响应值; y_{CK} 、 y_{BC} 、 y_{PE} 和 y_{RH} 为基于电子鼻响应的不同处理组的投影取值, 下标为处理组的类型, y 值最大组则代表其感染的霉菌类型。

对模型进行 Willks λ 检验, 引入的各变量其 P 值均小于 0.0001, 模型整体 P 值亦小于 0.0001, 表明所建模型具有统计学意义。将未知样品电子鼻响应信号值 S_3 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 、 S_9 对应值带入判别式, 得出 y 值最大的组即为其所感染的霉菌种类。对所得模型进行验证结果见表 2, 建模组总体准确率为 96.7%, 验证组总体准确率为 95.0%, 说明该模型能较好的区分草莓不同病害感染类型。

表 2 基于气味的病害预测模型的建立及验证结果

Table 2 Discrimination of training and testing set of predicted model of postharvest diseases of strawberry fruit by odor

病原菌种类	CK	BC	PE	RH	总计
总样本量/组	45	45	45	45	180
建模组	正确分类量/组	45	45	39	174
	错误分类量/组	0	0	6	6
	准确率/%	100.0	100.0	100.0	86.7
验证组	总样本量/组	15	15	15	60
	正确分类量/组	15	15	14	57
	错误分类量/组	0	0	1	3
	准确率	100.0	100.0	93.3	86.7

2.5 气味差异分析

2.5.1 载荷分析

通过载荷分析可以进一步得出每个传感器在 PCA 中的贡献大小。图 5 为果实接种处理 2 d 后草莓电子鼻响应信号的载荷分析图, 从图中可以看出 S_6 (对烃类物质较敏感)、 S_8 (对醇类、部分芳香型化合物敏感) 对第一主成分的贡献最大, 被病原菌感染的草莓果实的挥发性组分变化可能在于醇类、芳香类物质及烷烃类物质。

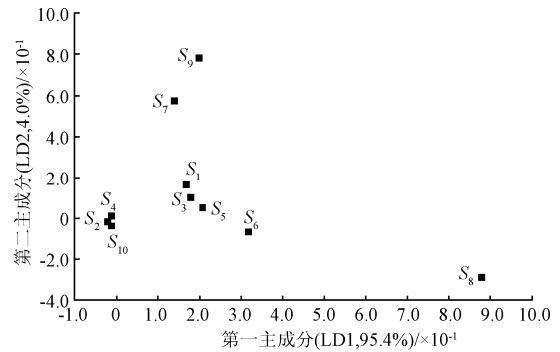


图 5 草莓接种处理 2 d 后响应信号的载荷分析
Fig.5 Loading analysis for response of strawberries after 2 days of inoculation

2.5.2 气相质谱联用法检测结果分析

草莓果实的特征香气物质为乙酸己酯、己酸甲酯、己酸乙酯、辛酯类、橙花叔醇等^[31], 对不同处理后 2 d 的样品进行测定, 结果显示不同处理组果实特征香气物质占检出物质总峰面积的比例不同, CK、BC、PE、RH 组分别为 88.99%、76.49%、89.88%、89.36%。除此之外, 接种霉菌处理还对丁酸-2-己烯酯等其他 11 种物质产生了影响, 结果见表 3。对比 CK 组及霉菌处理组, 发现挥发性的组分差异主要体现在异戊酸己酯、乙酸肉桂酯及香芹烯上, 上述酯类在处理组果实中均有不同程度体现, 而对照果实并未检出, 香芹烯 (0.94%) 则只在 CK 组测出; 不同霉菌处理组果实中挥发性物质的组分也不尽相同, 丁酸-2-己烯酯 (0.62%)、5-羟甲糠醛 (9.13%)、麦芽酚 (1.51%) 只在 BC 组检出, 肉桂酸甲酯 (0.10%)、苯并环丁烯 (1.63%) 及石竹烯 (0.16%) 只在 PE 组果实中出现, RH 组挥发性组分中含有 3-萜烯及乙酸辛酯但无 5-羟甲糠醛。因此, 异戊酸己酯、乙酸肉桂酯及香芹烯可初步确定为区分霉菌感染组及对照组的特征组分, 而丁酸-2-己烯酯、5-羟甲糠醛、麦芽酚可能是灰霉感染草莓的特征性气体; 肉桂酸甲酯、苯并环丁烯及石竹烯可用于扩展青霉感染草莓的初步识别; 3-萜烯和乙酸辛酯的存在与否可用于鉴别根霉感染草莓的果实的依据。Moalemiyan 等^[32]在被根霉侵染的芒果中检测出了苯乙烯; Li Changying 等^[24]研究了灰霉、链格孢霉及炭疽对蓝莓挥发性物质的影响, 在 3 种处理中共检测出了苯乙烯、罗汉柏烯、桉油精、十一烷等 6 种特异性组分, 认为可以据此进行果实感染病原菌的检测。本研究利用气相质谱联用法检测出了染病果实的气体成分变化, 并推测出草莓感染不同霉菌后的特征气体成分, 能为电子鼻检测草莓病害提供理论支持。根据特征气体的类型, 发现香芹烯、苯并环丁烯、石竹烯、3-萜烯等烯烃应为电

子鼻中 S_6 的主要响应物质;乙酸肉桂酯、肉桂酸甲酯等芳香类物质应为 S_3 、 S_5 、 S_8 的主要响应物质,为电子鼻检测草莓病害提供了依据。

本研究表明霉菌侵染对草莓果实挥发性物质的影响是客观存在的,但指示霉菌种类的特征气体的确定还需进一步研究,可通过测定接种不同量病原菌后果实的挥发性组分在贮藏期的变化进行确定。在实际生产中,草莓果实通常会感染多种病原菌,产生交叉感染,由于果实染病后气味会发生较大变化,因此电子鼻对果实是否受到病害侵染检测依然具有极大地可行性。但是,果实同时受到多种病害感染以及病害发生后由于果实严重腐烂,对果实感染病害的种类区分会存在较大困难,可以考虑根据感染不同病原菌产生的特征气味,有选择的屏蔽和选择合适传感器进行识别。

表3 草莓果实部分挥发性物质相对含量(2 d)

Table 3 Relative contents of some aromas in strawberry after different treatment

种类	名称	相对含量/%			
		CK	BC	PE	RH
酯类	丁酸-2-己烯酯	0	0.62	0	0
	异戊酸己酯	0	0.76	0.25	0.33
	乙酸肉桂酯	0	0.58	0.87	0.11
	肉桂酸甲酯	0	0	0.10	0
	乙酸辛酯	0	0.54	0	0.36
醛类	5-羟甲糠醛	0	9.13	0	0
酚类	麦芽酚	0	1.51	0	0
	3-萜烯	0	2.10	0	1.96
烯烃	苯并环丁烯	0	0	1.63	0
	石竹烯	0	0	0.16	0
	香芹烯	0.94	0	0	0

3 结论

1) 通过腐烂指数的测定,确定经接种处理后 5°C 冷藏 2 d 的草莓果实腐烂等级为 1 级,以此作为霉菌早期感染的检测样本。

2) 通过电子鼻的检测及多元统计分析,所建判别模型可以准确区分不同霉菌早期感染的草莓果实,并筛选出可指示草莓霉菌感染种类的特征传感器 S_3 (对氨基类和芳香型化合物敏感)、 S_5 (对烯烃和芳香型化合物敏感)、 S_6 (对烃类物质敏感)、 S_7 (对硫化氢敏感)、 S_8 (对醇类和部分芳香型化合物敏感) 和 S_9 (对芳香性化合物和有机硫化物敏感),构建了草莓感染霉菌类型的判别模型,总体准确率达 95%。

3) 传感器载荷分析结果表明霉菌侵染草莓造成的挥发性成分变化可能主要为醇类、芳香类物质及烷烃类物质。气相质谱联用技术初步确定草莓感

染 3 种霉菌后产生了丁酸-2-己烯酯、异戊酸己酯、乙酸肉桂酯、肉桂酸甲酯、乙酸辛酯、5-羟甲糠醛、麦芽酚、3-萜烯、苯并环丁烯、石竹烯,这 10 种挥发性成分能够用于草莓采后霉菌感染早期的检测。

[参考文献]

- [1] 巩惠芳,杜正顺,汪良驹. 草莓贮藏保鲜技术研究进展[J]. 保鲜与加工, 2008, 45(2): 426.
Gong Huifang, Du Zhengshun, Wang Liangju. Advance of preservation and storage technology of strawberry[J]. Storage and Process, 2008, 45(2): 426. (in Chinese with English abstract)
- [2] 程赛,邵兴锋,郭安南,等. 茶树油熏蒸对草莓采后病害和品质的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(4): 383—388.
Cheng Sai, Shao Xingfeng, Guo Annan, et al. Effects of tea tree oil fumigation on disease and quality of postharvest strawberry Fruits[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(4): 383—388. (in Chinese with English abstract)
- [3] 赵密珍,生静雅,袁骥. 自然五倍体野生草莓果实风味物质分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(4): 613—618.
Zhao Mizhen, Sheng Jingya, Yuan Ji, et al. Analysis of fruit flavor components in wild pentaploid strawberry native to China[J]. Horticulturae Sinica, 2010, 37(4): 613—618. (in Chinese with English abstract)
- [4] Kyung Myung, Thomas R. Hamilton-Kemp, Douglas D. Archbold. Biosynthesis of trans-2-Hexenal in response to Wounding in strawberry fruit[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4): 1442—1448.
- [5] Alphas DW, Manuela BAietto. Applications and advances in electronic nose technologies[J]. Sensors, 2009, 9(7): 5099—5148.
- [6] 乔宇,潘思轶,徐晓云,等. 电子鼻检测不同品种和加工类型的柑橘汁[J]. 农业工程学报, 2011, 27(12): 364—368.
Qiao Yu, Pan Siyi, Xu Xiaoyun, et al. Detection of different variety and processing type of citrus juices using electronic nose[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(12): 364—368. (in Chinese with English abstract)
- [7] 史波林,赵镭,支瑞聪,等. 应用电子鼻判别西湖龙井茶香气品质[J]. 农业工程学报, 2011, 27(增刊 2): 302—306.
Shi Bolin, Zhao Lei, Zhi Ruicong, et al. Aroma quality discrimination of Xihu-Longjing tea by electronic nose[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural

- Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(Supp.2): 302—306. (in Chinese with English abstract)
- [8] Banerjee Roy R, Tudu B, Shaw L, et al. Instrumental testing of tea by combining the responses of electronic nose and tongue[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(3): 356—363.
- [9] 刘明, 潘磊庆, 屠康, 等. 电子鼻检测鸡蛋货架期新鲜度变化[J]. 农业工程学报, 2010, 26(4): 317—321.
Liu Ming, Pan Leiqing, Tu Kang, et al. Determination of egg freshness during shelf life with electronic nose[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(4): 317—321. (in Chinese with English abstract)
- [10] Liu Peng, Tu Kang. Prediction of TVB-N content in eggs based on electronic nose[J]. Food Control, 2012, 23(1): 177—183.
- [11] 贾洪锋, 卢一, 何江红, 等. 电子鼻在牦牛肉和牛肉猪肉识别中的应用[J]. 农业工程学报, 2011, 27(5): 358—363.
Jia Hongfeng, Lu Yi, He Jianghong, et al. Recognition of yak meat, beef and pork by electronic nose[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(5): 358—363. (in Chinese with English abstract)
- [12] Wang Danfeng, Wang Xichang, Liu Taiang, et al. Prediction of total viable counts on chilled pork using an electronic nose combined with support vector machine[J]. Meat Science, 2012, 90(2): 373—377.
- [13] Hong Xuezhen, Wang Jun, Hai Zheng. Discrimination and prediction of multiple beef freshness indexes based on electronic nose[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012, 161(1): 381—389.
- [14] 佟懿, 谢晶, 肖红, 等. 基于电子鼻的带鱼货架期预测模型[J]. 农业工程学报, 2010, 26(2): 356—360.
Tong Yi, Xie Jing, Xiao Hong, et al. Prediction model of shelf life of *Trichiurus haumela* using an electric nose[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(2): 356—360. (in Chinese with English abstract)
- [15] 唐琳, 屠康, 潘磊庆, 等. 基于气味与颜色的脊尾白虾新鲜度评价[J]. 农业工程学报, 2011, 27(9): 344—348.
Tang Lin, Tu Kang, Pan Leiqing, et al. Evaluation of *E. carinicauda* freshness based on odor and color models[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(9): 344—348. (in Chinese with English abstract)
- [16] Liu Min, Han Xiaomin, Tu Kang, et al. Application of electronic nose in Chinese spirits quality control and flavour assessment[J]. Food Control, 2012, 26(2): 564—570.
- [17] Li C, Schmidt N E, Gitaitis R. Detection of onion postharvest diseases by analyses of headspace volatiles using a gas sensor array and GC-MS[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(4): 1019—1025.
- [18] Solís-Solis HM, Calderón-Santoyo M, Gutierrez-Martinez P, et al. Discrimination of eight varieties of apricot (*Prunus armeniaca* L.) by electronic nose LLE and SPME using GC-MS and multivariate analysis[J]. Sensors and Actuators: B. Chemical, 2007, 125(2): 415—421.
- [19] Li Zhenfeng, Wang Ning, Vijaya Raghavan G S, et al. Ripeness and rot evaluation of ‘Tommy Atkins’ mango fruit through volatiles detection[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(2): 319—324.
- [20] Antihus Hernández Gómez, Wang Jun, Hu Guixian, et al. Monitoring storage shelf life of tomato using electronic nose technique[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 85(4): 625—631.
- [21] 江琳琳, 潘磊庆, 屠康, 等. 基于电子鼻对水蜜桃货架期评价的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 229—232.
Jiang Linlin, Pan Leiqing, Tu Kang, et al. Freshness Evaluation of Juicy Peach by Electronic Nose[J]. Food Science, 2010, 31(12): 229—232. (in Chinese with English abstract)
- [22] Pallottino F, Costa C, Antonucci F, et al. Electronic nose application for determination of *Penicillium digitatum* in Valencia oranges[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2012, 92(9): 2008—2012.
- [23] Hui Guohua, Wu Yuling, Ye Dandan, et al. Study of peach freshness predictive method based on electronic nose[J]. Food Control, 2012, 28(1): 25—32.
- [24] Li Changying, Krewerb G W, Ji Pingsheng, et al. Gas sensor array for blueberry fruit disease detection and classification[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 55(3): 144—149.
- [25] Benedetti S, Buratti S, Spinardi A, et al. Electronic nose as a non-destructive tool to characterize peach cultivars and to monitor their ripening stage during shelf-life[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 47(2): 181—188.
- [26] Amalia Berna. Metal oxide sensors for electronic noses and their application to food analysis[J]. Sensors 2010, 10(4): 3882—3910.
- [27] 陈学红, 郑永华, 杨震峰, 等. 高氧处理对草莓果实采后活性氧代谢和腐烂的影响[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(1): 99—102.
- [28] Thomas R Hamilton-Kemp, Douglas D Archbold, Randall W Collins. Emission patterns of wound volatile compounds following injury of ripe strawberry fruit[J]. Journal of the science of food and agriculture, 2003, 83(4): 283—288.

- [29] 李静萍, 谢邦昌. 多元统计分析方法与应用[M]. 北京: 中国人民大学出版社, 2005.
- [30] Liang Yixiong, Li Chengrong, Gong Weiguo, et al. Uncorrelated linear discriminant analysis based on weighted pairwise Fisher criterion[J]. Pattern Recognition, 2007, 40(12): 3606–3615.
- [31] 张运涛, 王桂霞, 董静. 33 个欧美草莓品种果实挥发性物质的分析[J]. 果树学报, 2011, 28(3): 438–442.
- Zhang Yuntao, Wang Guixia, Dong Jing, et al. Analysis of volatile compounds in 33 Euramerican strawberry cultivars[J]. Journal of Fruit Science, 2011, 28(3): 438–442. (in Chinese with English abstract)
- [32] Moalemiyan M, Vikram A, Kushalappa A C, et al. Volatile metabolite profiling to detect and discriminate stem-end rot and anthracnose diseases in mango fruits[J]. Plant Pathology, 2006, 55(6): 792–802.

Early detection of fungal disease infection in strawberry fruits by e-nose during postharvest storage

Zhu Na, Mao Shubo, Pan Leiqing^{*}, Yuan Lijia, Tu Kang

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Strawberry postharvest diseases usually cause heavy losses in storage. Electronic nose (PEN3) containing an array of 10 different metal oxide sensors was used to detect and classify three kinds of common postharvest fungal diseases of strawberry fruit: *Botrytis sp.* (BC), *Penicillium sp.* (PE) and *Rhizopus sp.* (RH) in this paper. Ripe strawberry fruits were inoculated individually with the three pathogens and non-inoculated samples with sterile water treatment as control. Volatile compounds emanating from strawberry fruit were assessed using PEN3 every two days after inoculation. On the second day after invocation, the principal component analysis (PCA) of volatile profiles can clearly distinguish between normal and infection strawberry fruit; Furthermore, it can discriminate three groups of strawberry fruit with different pathogenic bacteria. Multivariate analysis of variance (MANOVA) was conducted on the e-nose sensors' response to the strawberry fruit with different treatment on the second day and the volatile compounds were analyzed by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). The results confirmed that the four treatments were significantly different ($P < 0.05$). A Fisher classifier was set up and achieved classification accuracy of 100%, 93.3%, 86.7% and 100% for treatment of BC, PE, RH and CK, respectively. Loading analysis and GC-MS were used to characterize volatile compounds emanated from the four groups of strawberry fruit, hydrocarbons and esters were identified as contributing mostly in distinguishing differences in the volatiles emanating from the fruit due to infection. This study showed the potential feasibility for the rapidly nondestructive detection and monitoring of quality and fungal disease infection of strawberry fruits during postharvest storage using an electronic nose.

Key words: diseases, principal component analysis, nondestructive examination, e-nose, strawberry, gas chromatography mass spectrometry