

HS-SPME-GC-MS 结合 HPLC 分析 5 种食用菌鲜品中的风味成分

殷朝敏^{1,2}, 范秀芝^{1,2}, 史德芳^{1,2}, 樊喆¹, 程薇^{1,2}, 高虹^{1,2,*}

(1.湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所,湖北武汉 430064;

2.国家食用菌加工技术研发分中心,湖北武汉 430064)

摘要:挥发性香气成分和非挥发性滋味成分是食用菌品质的重要指标,为探究平菇、香菇、双孢蘑菇、金针菇和杏鲍菇等 5 种食用菌鲜品中的风味成分,采用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)、高效液相色谱(HPLC)等方法对 5 种食用菌鲜品中的风味物质进行分析,通过相对气味活度值(Relative odor activity value, ROAV)研究了不同组分对整体风味的贡献,并测定了 5 种食用菌的总游离氨基酸和 5'-核苷酸的含量。结果显示:5 种食用菌中共鉴定出 35 种挥发性化合物,包括醛类 5 种、酮类 5 种、醇类 9 种、烷烃类 8 种、杂环和硫化物 6 种、酯类 1 种和含氮化合物 1 种;其中共有成分 8 种,分别为苯甲醛、3-辛酮、1-辛烯-3-酮、3-辛醇、2-乙基己醇、5-甲基-2-乙酰基呋喃、2-戊基呋喃和甲氧基苯胺。平菇鲜品中主体挥发性香气成分(ROAV \geq 1)为 1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇和 3-辛酮;香菇鲜品中主体挥发性香气成分为二甲基二硫醚、二甲基三硫醚、1-辛烯-3-酮和甲硫醇;双孢蘑菇和金针菇鲜品中主体挥发性香气成分为 1-辛烯-3-酮、3-辛酮和 3-辛醇;而杏鲍菇鲜品中的主体挥发性香气成分是 1-辛烯-3-酮和 1-辛烯-3-醇。5 种食用菌中总游离氨基酸含量为 2.72~3.65 mg/g,总呈味核苷酸含量为 154.40~1013.60 μ g/g,不同品种间总游离氨基酸和呈味核苷酸含量差别较大。本研究有助于深入了解食用菌风味特征,对食用菌品种的改良、定向培育及食用菌的加工应用具有指导作用。

关键词:顶空固相微萃取(HS-SPME),相对气味活度值(ROAV),风味成分,游离氨基酸,呈味核苷酸

Flavor Compounds Analysis of 5 Fresh Mushrooms Using HS-SPME-GC-MS and HPLC

YIN Chao-min^{1,2}, FAN Xiu-zhi^{1,2}, SHI De-fang^{1,2}, FAN Zhe¹, CHENG Wei^{1,2}, GAO Hong^{1,2,*}

(1. Institute of Agro-Products Processing and Nuclear-Agricultural Technology,
Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China;

2. National Research and Development Center for Edible Fungi Processing, Wuhan 430064, China)

Abstract: The volatile and non-volatile flavor composition are important indicators to evaluate the quality of mushroom. In order to explore the composition and relative content of flavor compounds in 5 fresh mushrooms, the flavor components were investigated and classified using high performance liquid chromatography (HPLC), headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the contribution of different components to the whole volatile was studied by the relative odor activity value (ROAV). The results showed that 35 volatile compounds were identified in 5 fresh mushrooms, including 5 aldehydes, 5 ketones, 9 alcohols, 8 alkanes, 6 heterocycles and sulfides, 1 esters and 1 nitrogen-containing compounds. Among the obtained compounds, 8 volatile ingredients including benzaldehyde, 3-octanone, 1-octen-3-one, 3-octanol, 2-ethyl-1-hexanol, 2-acetyl-5-methylfuran, 2-pentylfuran and methoxy-phenyl-oxime were detected in all the species. The key volatile aroma components of *Pleurotus ostreatus* were 1-octen-3-one, 1-octen-3-ol and 3-octanone, and those of *Lentinus edodes* were dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide, 1-octen-3-one and methanethiol. 1-octen-3-one, 3-octanone and 3-octanol were the key volatile aroma components of *Agaricus bisporus* and *Flammulina velutipes* while 1-octen-3-one and 1-octen-3-ol were the key volatile aroma components of *Pleurotus eryngii*. The content of total free amino acid in 5 fresh mushrooms was 2.72~3.65 mg/g, the content of flavor 5'-nucleotides was 154.40~1013.60 μ g/g and the contents of which were significantly difference. This study helped to understand the flavor characteristics of edible mushroom and provide guidance for breed improvement, directive breeding and the processing of edible

收稿日期:2018-05-28

作者简介:殷朝敏(1987-),男,博士,助理研究员,主要从事食用菌活性物质功能方面的研究,E-mail:yinchaomin@163.com。

*通讯作者:高虹(1971-),男,博士,研究员,主要从事食用菌功能产品开发方面的研究,E-mail:highong@163.com。

基金项目:湖北省农业科学院青年基金(2017nkyj04);湖北省自然科学基金项目(2018CFB188);湖北省技术创新专项重大项目(2017ABA148)。

mushroom.

Key words: headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME); relative odor activity value (ROAV); flavor compounds; free amino acid; flavor 5'-nucleotides

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)03-0254-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.03.040

引文格式: 殷朝敏, 范秀芝, 史德芳, 等. HS-SPME-GC-MS 结合 HPLC 分析 5 种食用菌鲜品中的风味成分[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 254-260.

食用菌是一类子实体硕大、可供食用的大型真菌的总称, 多属于担子菌亚门^[1]。食用菌不仅富含蛋白质、纤维素、维生素等营养成分以及多糖、萜类、凝集素、甾醇等生物活性成分^[2-3], 而且还拥有独特的风味, 深受消费者青睐。研究表明, 食用菌的风味主要由挥发性物质和非挥发性物质组成, 其中挥发性物质是食用菌风味的主要组分, 而非挥发性风味组分主要影响食用菌的滋味^[4]。食用菌挥发性物质主要包括八碳化合物及其衍生物、含硫化合物以及醛类、酸类、酮类和酯类等; 而非挥发性风味物质主要有氨基酸、核苷酸和碳水化合物等^[4-5]。

目前, 食用菌中挥发性风味物质的提取方法主要有蒸馏法、有机溶剂萃取法、超临界 CO₂ 萃取法以及固相微萃取法等^[4-5]。顶空固相微萃取 (HS-SPME) 是一种集萃取浓缩为一体的分离技术, 该技术所需样品量少, 样品前处理简单, 与气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 结合, 可有效对样品中挥发性风味成分进行定量和定性分析^[6]。目前, 该方法已广泛应用于食用菌^[7]、油脂^[8]、肉类^[9] 以及酒类^[10] 等的挥发性成分分析。本实验采用 HS-SPME-GC-MS 和高效液相色谱 (HPLC) 技术对平菇 (*Pleurotus ostreatus*)、香菇 (*Lentinus edodes*)、双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*)、金针菇 (*Flammulina velutipes*) 和杏鲍菇 (*Pleurotus eryngii*) 等 5 种食用菌鲜品的挥发性和非挥发性成分进行了分析, 以期对食用菌的加工及品质调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜平菇、香菇、双孢蘑菇、金针菇和杏鲍菇 武汉市武商量贩省农科院店; 谷氨酸标准品、腺苷酸 (5'-AMP) 标品、胞苷酸 (5'-CMP) 标品、肌苷酸 (5'-IMP) 标品、鸟苷酸 (5'-GMP) 标品、尿苷酸 (5'-UMP) 标品 纯度 ≥ 98%, 上海源叶生物科技有限公司; 甲醇 分析纯, Sigma 公司; 其他化学试剂 国药集团化学试剂有限公司。

手动 SPME 进样器, 50/30 μm 二乙基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷 (DVB/CAR/PDMS) 萃取头 美国 Supelco 公司; Agilent 7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪 美国 Agilent 公司; LC-20AT 高效液相色谱仪 (SIL-20A 自动进样器、SPD-M20A 二极管阵列检测器) 日本岛津公司; InertSustain AQ-C18 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 日本岛津公司; UV-1800 紫外可见分光光度计 日本岛津公司; DF101S 集热恒温磁力搅拌器 巩义市予华仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 挥发性风味成分的测定

1.2.1.1 固相微萃取条件 称取 10.00 g 切碎的新鲜样品于 40 mL 采样瓶中, 加入 3.00 g NaCl 和 20.0 mL 蒸馏水并混匀, 盖紧瓶盖后, 置于 60 °C 磁力搅拌器中平衡 10 min, 插入萃取头顶空吸附 35 min, 完成后立即收回萃取头, 并插入 GC-MS 进样口, 在 250 °C 条件下解析 5 min。

1.2.1.2 GC-MS 条件 参考李小林等^[11] 和陈万超等^[12] 实验条件并进行优化。

色谱条件: 采用 HP-5ms 非极性毛细管柱 (60 m × 250 μm × 0.25 μm)。程序升温, 初始温度 40 °C, 保持 2 min; 以 3 °C/min 的速率升至 180 °C, 保持 2 min, 再以 10 °C/min 的速率升至 260 °C, 保持 1 min; 载气为高纯氦 (He), 流速为 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C, 不分流。

质谱条件: 电子电离源; 电子能量 70 eV, 电压 350 V, 质量扫描范围 m/z 50 ~ 450; 传输线温度 280 °C; 离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C。

1.2.1.3 定性定量方法 利用 NIST 11.L 谱库的标准质谱图对得到的谱图数据进行串连检索和人工解析, 选择匹配度大于 80% 作为物质鉴定依据^[13]。采用峰面积归一化法定量, 确定各挥发性组分的相对含量。

1.2.1.4 主体挥发性风味物质的评定 采用相对气味活度值 (Relative odor activity value, ROAV) 评价各挥发性成分对样品总体风味的贡献^[14-15], 定义对样品风味贡献最大的组分的 ROAV_{stan} = 100, 则其他挥发性成分的 ROAV 小于 100, 按下式计算^[16]:

$$ROAV_i \approx \frac{C_i}{C_{stan}} \times \frac{T_{stan}}{T_i} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中, C_i、T_i 分别为挥发性成分的相对含量 (%) 和气味阈值 (μg/kg); C_{stan}、T_{stan} 分别为对样品整体风味贡献最大组分的相对含量 (%) 和气味阈值 (μg/kg)。

1.2.2 非挥发性风味成分的测定

1.2.2.1 总游离氨基酸含量的测定 总游离氨基酸含量测定采用茚三酮比色法^[17-18]。

标准曲线的绘制: 称取 200.00 mg 谷氨酸标准品, 溶于适量蒸馏水中, 并定容至 20 mL (标准液), 吸取一定量标准液, 配制成不同浓度梯度工作液; 分别吸取 1.0 mL 工作液, 于一组 25 mL 比色管中, 各加入 pH8.0 磷酸缓冲液 0.5 mL、2% 茚三酮溶液 0.5 mL, 在沸水浴中加热 15 min, 冷却后加水定容至 25 mL, 放置 10 min 后, 在 570 nm 处测定吸光度, 并绘制标准曲线。

样品的测定:取新鲜样品 10.00 g, 剪碎后加入 50.0 mL 蒸馏水, 沸水浴中加热 10 min, 冷却后用匀浆器打成汁, 8000 r/min 离心 5 min 后取上清并用蒸馏水定容至 50 mL (样品), 样品过 0.45 μm 滤膜后按照上述方法测定总游离氨基酸含量。

1.2.2.2 5'-呈味核苷酸含量的测定 标准曲线的绘制:称取 5'-呈味核苷酸标准品各 20.00 mg, 用水溶解并定容至 50 mL 容量瓶中, 此标准溶液浓度为 0.4 mg/mL。吸取一定量标准液, 配制成 2.0、5.0、10.0、30.0 和 50.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的不同浓度梯度工作液; 同一浓度不同工作液混合后过 0.45 μm 滤膜, 按照下述高效液相色谱条件测定 mAU 值, 依据测得的结果绘制不同 5'-呈味核苷酸标准品的标准曲线。

样品的测定:采用 TCA(三氯乙酸)-超声波法提取样品中 5'-呈味核苷酸^[19]:称取蘑菇样品 10.0 g, 剪碎后加入 50.0 mL 蒸馏水, 沸水浴中加热 10 min, 过滤后加入 30.0 mL TCA 溶液(5%), 匀浆 2 min 并超声处理 5 min, 完成后 4000 r/min 离心 10 min, 取上清转入 50 mL 容量瓶中定容。使用前用针管和 0.45 μm 滤膜过滤到进样瓶中。

高效液相色谱(HPLC)条件参考 Li 等^[20]方法。色谱柱: InertSustain AQ-C18 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 检测器:紫外检测器; 检测波长:260 nm; 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$; 流动相:甲醇/磷酸二氢钾溶液(0.05 mol/L, pH4.1)为 5/95(v/v), 流速为 0.8 mL/min; 每次进样前, 用甲醇溶液冲洗色谱柱 30 min 左右, 然后再用流动相平衡色谱柱约 30 min, 至基线平稳。进样量 10 μL , 分别测定三次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 5种食用菌鲜品挥发性风味成分的测定

2.1.1 GC-MS 分析结果 经 GC-MS 鉴定分析(如图 1)并剔除一些硅氧烷类物质^[11], 得到不同食用菌挥发性风味物质成分(如表 1 所示)。

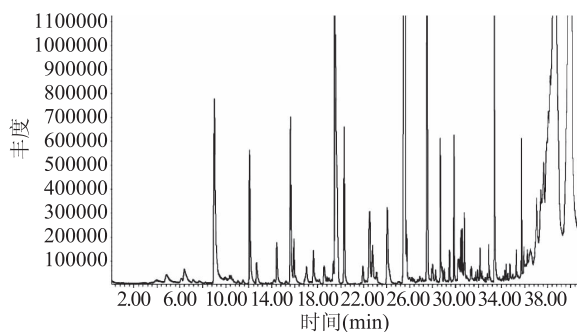


图1 新鲜香菇挥发性成分 GC-MS 总离子流图

Fig.1 Total ion current chromatograms of volatiles from fresh *L.edodes* by GC-MS

5种食用菌鲜品中挥发性化合物匹配度大于 80% 的共有 35 种, 包括 5 种醛类、5 种酮类、9 种醇类、8 种烷烃类、6 种杂环和硫化物、1 种酯类和 1 种含氮化合物, 其组成和含量如表 1 所示。在 35 种挥发性化合物中, 香菇中种类最多, 共 23 种; 其余依次为平菇 19 种、杏鲍菇 19 种、双孢蘑菇 18 种、金针菇 15 种。有 14 种化合物仅在个别样品中被检测到; 而

苯甲醛、3-辛酮、1-辛烯-3-酮、3-辛醇、2-乙基己醇、5-甲基-2-乙酰基呋喃、2-戊基呋喃和甲氧基苯酚为 5 种食用菌中所共有的挥发性成分, 但在不同食用菌中的相对含量有所差异。

平菇、香菇、双孢蘑菇和金针菇鲜品中相对含量最高的挥发性成分是 3-辛酮, 分别为 43.94%、28.53%、40.35% 和 41.27%; 而杏鲍菇中相对含量最高的是 1-辛烯-3-醇, 含量为 38.27%。除了 3-辛酮, 平菇中含量相对较高的还有 1-辛烯-3-醇(21.86%) 和 3-辛醇(17.12%); 香菇中相对含量较高的有二甲基二硫醚(21.30%) 和 3-辛醇(17.04%); 双孢蘑菇中相对含量较高的有二十四烷(15.70%)、苯甲醛(13.79%) 和 3-辛醇(8.31%) 等; 金针菇中相对含量较高的有甲氧基苯酚(8.23%) 和 2-乙基己醇(4.45%) 等。除了 1-辛烯-3-醇, 杏鲍菇中相对含量较高的还有 3-辛酮(6.21%) 和 2-乙基己醇(5.31%)。

香菇中特有的挥发性成分都是含硫化合物, 包括甲硫醇(0.37%)、二硫化碳(0.57%)、二甲基二硫醚和二甲基三硫醚(0.38%) 等。双孢蘑菇中烷烃类化合物较丰富, 其中十八烷(2.68%)、二十烷(0.16%)、二十四烷(15.70%)、7-己基-二十二烷(0.52%) 和二十八烷(2.37%) 等烷烃类化合物是双孢蘑菇特有的挥发性成分。金针菇中特有成分为 6-甲基-5-庚烯-2-酮(0.30%) 和 1-庚醇(0.48%)。杏鲍菇中特有成分是 2-辛烯醛(0.20%) 和癸烷(0.09%)。平菇中未发现特有的挥发性成分。

2.1.2 5种食用菌鲜品挥发性风味成分的种类及含量 不同种类食用菌中主要的挥发性成分种类和相对含量差别较大(表 1、图 2)。从表 1 中可知, 5 种常见食用菌中鉴定出的挥发性成分分别为平菇 19 种、香菇 23 种、双孢蘑菇 18 种、金针菇 15 种、杏鲍菇 19 种。其中平菇中, 分别含有醛类 4 种、酮类 3 种、醇类 7 种、烷烃类 1 种、杂环和硫化物 2 种、酯类 1 种、含氮化合物 1 种; 香菇中分别含有醛类 4 种、酮类 4 种、醇类 8 种、杂环和硫化物 6 种、含氮化合物 1 种; 双孢蘑菇中分别含有醛类 1 种、酮类 4 种、醇类 3 种、烷烃类 6 种、杂环和硫化物 2 种、酯类 1 种、含氮化合物 1 种; 金针菇中分别含有醛类 2 种、酮类 4 种、醇类 5 种、烷烃类 1 种、杂环和硫化物 2 种、含氮化合物 1 种; 杏鲍菇中分别含有醛类 4 种、酮类 3 种、醇类 7 种、烷烃类 2 种、杂环和硫化物 2 种、含氮化合物 1 种。

从图 2 中可知, 平菇、香菇和双孢蘑菇中被鉴定的挥发性成分的总相对含量超过 75%, 而杏鲍菇和金针菇中只有 63.97% 和 61.61%。在这些被鉴定的化合物中, 酮类是平菇、香菇、双孢蘑菇和金针菇中相对含量最高的挥发性成分, 其在平菇中相对含量达到 44.67%, 在双孢蘑菇和金针菇中相对含量也都超过 40%。杏鲍菇中酮类物质含量较少(6.51%), 但是醇类物质相对含量最高(51.64%); 而平菇和香菇中醇类物质相对含量也较高, 都超过 20%。此外, 双孢蘑菇中还含有较高相对含量的烷烃类物质(23.85%) 和醛类物质(13.79%), 香菇中杂环和硫化

表1 5种食用菌鲜品中挥发性物质组分及相对含量
Table 1 Volatile compounds and their relative contents identified in 5 fresh mushrooms

序号	挥发性化合物名称	分子式	保留时间 (min)	相对含量(%)				
				平菇	香菇	双孢蘑菇	金针菇	杏鲍菇
醛类(5种)								
1	正己醛 Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	18.707	0.13	0.03	-	-	0.94
2	正辛醛 Octanal	C ₈ H ₁₆ O	28.314	0.09	0.02	-	-	0.10
3	2-辛烯醛 2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	32.364	-	-	-	-	0.20
4	苯甲醛 Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	34.356	0.11	0.43	13.79	0.40	0.70
5	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	36.197	0.02	0.54	-	0.30	-
酮类(5种)								
6	3-庚酮 3-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	22.231	-	0.21	0.06	-	0.08
7	3-辛酮 3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	27.216	43.94	28.53	40.35	41.27	6.21
8	1-辛烯-3-酮 1-Octen-3-one	C ₈ H ₁₄ O	28.886	0.63	0.41	0.14	0.05	0.22
9	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-methyl-5-Hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O	30.018	-	-	-	0.30	-
10	2-十一烷酮 2-Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	35.729	0.10	0.10	0.02	0.15	-
醇类(9种)								
11	2-甲基-1-丁醇 2-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	25.354	-	0.05	-	-	1.84
12	1-己醇 1-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	30.347	0.12	0.02	-	0.87	2.66
13	3-辛醇 3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	31.370	17.12	17.04	8.31	1.83	1.72
14	1-庚醇 1-Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	32.848	-	-	-	0.48	-
15	1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	32.616	21.86	2.71	-	-	38.27
16	2-乙基己醇 2-ethyl-1-Hexanol	C ₈ H ₁₈ O	33.425	1.63	0.37	0.28	4.45	5.31
17	正辛醇 1-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	34.623	0.12	0.09	-	-	0.99
18	2-辛烯-1-醇 2-Octen-1-ol	C ₈ H ₁₆ O	35.529	1.25	0.06	0.30	-	0.85
19	α,α-二甲基苯甲醇 alpha, .alpha. -dimethyl- Benzenemethanol	C ₉ H ₁₂ O	37.512	0.30	0.03	-	0.77	-
烷烃类(8种)								
20	甲苯 Toluene	C ₇ H ₈	17.095	0.05	-	-	-	0.19
21	癸烷 Decane	C ₁₀ H ₂₂	23.872	-	-	-	-	0.09
22	十八烷 Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	38.356	-	-	2.68	-	-
23	二十烷 Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	32.819	-	-	0.16	-	-
24	二十一烷 Heneicosane	C ₂₁ H ₄₄	35.149	-	-	2.42	0.30	-
25	二十四烷 Tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	33.237	-	-	15.70	-	-
26	7-己基-二十二烷 7-hexyl- docosane	C ₂₈ H ₅₈	29.821	-	-	0.52	-	-
27	二十八烷 Octacosane	C ₂₈ H ₅₈	30.343	-	-	2.37	-	-
杂环和硫化物(6种)								
28	甲硫醇 Methanethiol	CH ₃ SH	8.602	-	0.37	-	-	-
29	二硫化碳 Carbon disulfide	CS ₂	9.120	-	0.57	-	-	-
30	二甲基二硫醚 Dimethyl disulfide,	C ₂ H ₆ S ₂	18.394	-	21.30	-	-	-
31	二甲基三硫醚 Dimethyl trisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	31.809	-	0.38	-	-	-
32	5-甲基-2-乙酰基呋喃 2-Acetyl-5-methylfuran	C ₇ H ₈ O ₂	34.644	2.28	0.08	1.25	2.02	0.65
33	2-戊基呋喃 2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	26.130	0.63	1.28	0.26	0.19	0.09
酯类(1种)								
34	乙酸乙酯 Hexanoic acid ethyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₂	26.239	0.03	-	0.04	-	-
含氮化合物(1种)								
35	甲氧基苯肟 Oxime, methoxy-phenyl-	C ₈ H ₉ NO ₂	36.911	0.99	0.50	0.91	8.23	2.86

物相对含量也较高(23.98%)。香菇中未检测到烷烃类和酯类,双孢蘑菇中未检测到杂环和硫化物,金针菇和杏鲍菇中都未检测到酯类物质。

2.1.3 5种食用菌鲜品的关键性风味物质 食用菌

的风味是由各挥发性成分的阈值与其在风味体系中的浓度共同决定的,一般只有一小部分挥发性化合物对食用菌的整体风味有重要贡献,还有一些成分可能只对整体风味起辅助作用^[11,21]。刘登勇等^[14]认

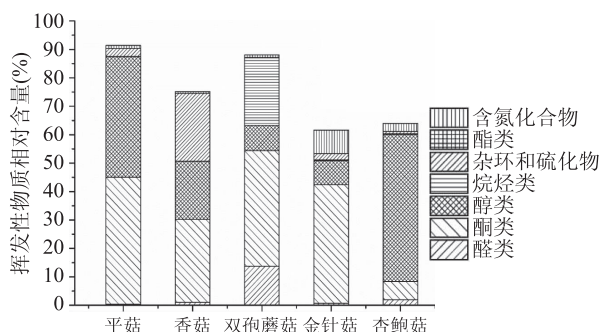


图2 5种食用菌挥发性成分种类及相对含量

Fig.2 Classes and relative contents of volatile compounds in 5 edible mushrooms

为, $ROAV \geq 1$ 的组分为所分析样品的关键风味化合物, $0.1 \leq ROAV < 1$ 的组分对样品的总体风味具有重要的修饰作用, 且 $ROAV$ 值越大的组分对样品总体风味的贡献越大。为进一步确定5种常见食用菌的关键性风味物质, 结合表1所示的共有组分的相对含量以及文献中报道的阈值, 确定各组分的 $ROAV$ 值, 其中 $ROAV \geq 0.1$ 的组分如表2所示。

平菇鲜品中关键挥发性风味成分 ($ROAV \geq 1$) 有3种, 分别是1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇和3-辛酮; 起修饰作用的挥发性成分 ($0.1 \leq ROAV < 1$) 有2种, 分别是正辛醛和3-辛醇。1-辛烯-3-酮具有强烈的壤香、蘑菇香, 而3-辛酮具有酮香、青香、蜡香、蔬菜香, 并有蘑菇、干酪、水果的味道^[22]; 正辛醛具有似甜橙、油脂、蜂蜜香气, 而3-辛醇具有蘑菇香、奶制品香、青香、辛香、薄荷香^[11], 这些化合物共同作用形

成了平菇特殊的香气。香菇鲜品中主体挥发性香气成分为二甲基二硫醚、二甲基三硫醚、1-辛烯-3-酮和甲硫醇; 其中二甲基二硫醚、二甲基三硫醚、甲硫醇阈值低, 且具有肉香、洋葱样香气^[22], 是香菇的特征性风味物质。双孢蘑菇和金针菇具有相同的主体挥发性香气成分, 分别为1-辛烯-3-酮、3-辛酮和3-辛醇。杏鲍菇鲜品中的主体挥发性香气成分有2种(1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇), 而起修饰作用的挥发性成分有5种, 分别为3-辛酮、正己醛、正辛醛、3-辛醇和2-辛烯醛。

八碳化合物 ($C_8H_{16}O$) 是食用菌最重要的风味物质, 主要包括1-辛烯-3-醇、1-辛烯-3-酮、3-辛醇、3-辛酮和正辛醇等, 这些物质是亚油酸及亚麻酸在脂肪氧化酶催化下的代谢产物^[23]。在5种食用菌鲜品中均检测到3-辛醇和3-辛酮的存在, 但1-辛烯-3-醇、1-辛烯-3-酮和正辛醇仅在部分样品中检测到。平菇、金针菇、双孢蘑菇和香菇中酮类物质, 尤其是3-辛酮的相对含量较高。3-辛酮具有酮香、青香、蜡香、蔬菜香并有蘑菇、干酪、水果的味道, 并且阈值较低 ($28 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[22], 是对这4种食用菌香气贡献较大的物质之一。杏鲍菇中醇类物质比较丰富, 鉴定的醇类物质有7种, 其中1-辛烯-3-醇相对含量最高, 1-辛烯-3-醇具有浓郁的蘑菇风味, 且香气阈值低 ($1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[22], 可能是杏鲍菇关键性风味成分。除此之外, 在香菇中还鉴定出相对含量较高的二甲基二硫醚、二甲基三硫醚等含硫化合物, 据研究, 这些含硫化合物是“香菇精”1,2,3,5,6-五硫杂环庚烷的裂解产物^[24]。在双孢蘑菇中鉴定出6种烷

表2 5种食用菌鲜品中挥发性成分及对应的 $ROAV$ 值Table 2 Volatile compounds and their $ROAV$ in 5 fresh mushrooms

挥发性成分	阈值 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$ROAV$ 值				
		平菇	香菇	双孢蘑菇	金针菇	杏鲍菇
醛类						
正己醛	4.5 ^[22]	0.02	<0.01	-	-	0.47
正辛醛	0.7 ^[22]	0.10	0.07	-	-	0.32
2-辛烯醛	3 ^[22]	-	-	-	-	0.15
苯甲醛	350 ^[22]	<0.01	<0.01	0.14	0.01	<0.01
苯乙醛	4 ^[22]	<0.01	0.04	-	0.75	-
酮类						
3-辛酮	28 ^[22]	1.25	0.29	5.15	14.74	0.50
1-辛烯-3-酮	0.005 ^[22]	100	23.10	100	100	100
2-十一烷酮	7 ^[22]	0.01	<0.01	0.01	0.21	-
醇类						
3-辛醇	18 ^[22]	0.75	0.27	1.65	1.02	0.22
1-辛烯-3-醇	1 ^[22]	17.35	0.76	-	-	86.98
杂环和硫化物						
甲硫醇	0.02 ^[22]	-	5.21	-	-	-
二甲基二硫醚	0.06 ^[22]	-	100	-	-	-
二甲基三硫醚	0.005 ^[22]	-	21.41	-	-	-
2-戊基呋喃	6 ^[22]	0.08	0.06	0.15	0.32	0.03
酯类						
乙酸乙酯	1 ^[22]	0.02	-	0.14	-	-

表3 5种常见食用菌中总游离氨基酸和5'-核苷酸含量
Table 3 The total free amino acids and 5'-nucleotides content of 5 fresh mushrooms

蘑菇种类	总游离氨基酸含量(mg/g)	5'-核苷酸含量($\mu\text{g/g}$)					合计
		5'-AMP	5'-CMP	5'-IMP	5'-GMP	5'-UMP	
平菇	3.65 \pm 0.27 ^a	24.40 \pm 0.10 ^d	646.20 \pm 2.00 ^b	50.10 \pm 0.00 ^a	3.00 \pm 0.10 ^a	48.90 \pm 0.50 ^d	772.40 \pm 1.70 ^b
香菇	3.49 \pm 0.21 ^{ab}	38.10 \pm 0.00 ^b	98.20 \pm 0.60 ^d	11.60 \pm 1.10 ^c	-	60.50 \pm 0.10 ^c	208.20 \pm 1.60 ^d
双孢蘑菇	2.72 \pm 0.07 ^d	36.50 \pm 0.10 ^c	89.40 \pm 0.70 ^e	8.40 \pm 0.10 ^d	-	28.10 \pm 0.10 ^c	154.40 \pm 0.80 ^c
金针菇	3.05 \pm 0.06 ^c	59.30 \pm 0.10 ^a	836.40 \pm 0.20 ^a	-	-	117.90 \pm 0.20 ^a	1013.60 \pm 0.40 ^a
杏鲍菇	2.75 \pm 0.04 ^d	-	418.70 \pm 3.20 ^e	22.50 \pm 0.20 ^b	-	112.70 \pm 0.20 ^b	553.90 \pm 2.90 ^c

注:同列不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

烃类物质,其相对含量达 23.85%,远高于其他食用菌。研究表明,烷烃作为植物蜡质重要组成部分在自然界植物的叶、茎、花以及果实等器官和组织的表面广泛存在^[25],而食用菌中烷烃是如何产生的还有待深入研究。

2.2 5种食用菌鲜品非挥发性风味成分的测定结果

挥发性风味物质是食用菌香味的主要组分,而非挥发性滋味物质主要影响食用菌的滋味^[5]。游离氨基酸是食用菌非挥发性滋味物质中一类重要成分,5种常见食用菌鲜品中总游离氨基酸含量结果如表3所示。总游离氨基酸含量最高的是平菇(3.65 mg/g),其次是香菇(3.49 mg/g)和金针菇(3.05 mg/g)。相对而言,双孢蘑菇和杏鲍菇中总游离氨基酸含量较低,分别为 2.72、2.75 mg/g。

除了游离氨基酸,呈味核苷酸也是食用菌重要的滋味物质^[5]。食用菌中的呈味核苷酸包括尿苷酸(UMP)、胞苷酸(CMP)、肌苷酸(IMP)、腺苷酸(AMP)和鸟苷酸(GMP)等,其中 5'-GMP、5'-IMP 和 5'-UMP 是自然界中存在的三种单核苷酸,具有强烈的呈味作用^[4]。由表3可知,5种常见食用菌中呈味核苷酸总量差别较大,金针菇中呈味核苷酸总量为 1013.60 $\mu\text{g/g}$,而双孢蘑菇中呈味核苷酸总量仅为 154.40 $\mu\text{g/g}$,二者相差约 7 倍。除杏鲍菇外,平菇、香菇、双孢蘑菇和金针菇中均检测到 5'-AMP,但是含量差异显著($p < 0.05$)。平菇和金针菇中 5'-CMP 含量较高,分别为 646.20、836.40 $\mu\text{g/g}$,显著高于其他三种食用菌中 5'-CMP 含量($p < 0.05$)。平菇、香菇、双孢蘑菇和杏鲍菇中均检测到 5'-IMP 的存在,相对而言,平菇中 5'-IMP 含量(50.10 $\mu\text{g/g}$)显著高于其他 3 种食用菌($p < 0.05$)。5 种食用菌中都检测到 5'-UMP,但金针菇和杏鲍菇中含量相对较高,分别为 117.90、112.70 $\mu\text{g/g}$ 。此外,除了平菇,其余 4 种蘑菇中均未检测到 5'-GMP 存在。

研究表明,食用菌种类不同,其游离氨基酸和呈味核苷酸的含量也各不相同。Li 等^[26]研究了茶树菇、鲍鱼菇、姬松茸、杏鲍菇和鸡腿菇等 5 种食用菌游离氨基酸和呈味核苷酸含量,结果显示,5 种食用菌游离氨基酸的含量为 4.09~22.73 mg/g,呈味核苷酸含量为 1.68~3.79 mg/g;Cohen 等^[27]测定了 15 种食药菌的游离氨基酸的含量,发现 15 种食用菌游离氨基酸的含量为 2.80~23.84 mg/g,且不同菌种之间差异较大。本实验测定了 5 种食用菌的总游离氨基酸和 5'-核苷酸的含量,发现不同品种间含量差别

较大,这与上述的报道结果相一致。

3 结论

本实验采用顶空固相微萃取和 GC-MS 联用方法分析了 5 种食用菌鲜品中的挥发性香味物质。5 种食用菌中共鉴定出 35 种挥发性成分,包括 5 种醛类、5 种酮类、9 种醇类、8 种烷烃类、6 种杂环和硫化物、1 种酯类和 1 种含氮化合物,其中 14 种化合物仅在个别样品中被检测到。5 种食用菌中所共有的挥发性成分有苯甲醛、3-辛酮、1-辛烯-3-酮、3-辛醇、2-乙基己醇、5-甲基-2-乙酰基咪唑、2-戊基咪唑和甲氧基苯酚。平菇鲜品中关键挥发性风味成分(ROAV ≥ 1)为 1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇和 3-辛酮;香菇鲜品中关键挥发性风味成分为二甲基二硫醚、二甲基三硫醚、1-辛烯-3-酮和甲硫醇;双孢蘑菇和金针菇鲜品中关键挥发性风味成分为 1-辛烯-3-酮、3-辛酮和 3-辛醇;而杏鲍菇鲜品中的关键挥发性风味成分是 1-辛烯-3-酮和 1-辛烯-3-醇。此外,本文还测定了 5 种食用菌的总游离氨基酸和 5'-核苷酸的含量,5 种食用菌中总游离氨基酸含量为 2.72~3.65 mg/g,总呈味核苷酸含量为 154.40~1013.60 $\mu\text{g/g}$,不同品种间总游离氨基酸和呈味核苷酸含量差别较大。本研究有助于深入了解食用菌风味特征,对食用菌品种的改良、定向培育及食用菌的加工应用具有指导作用。

参考文献

- [1] Wu Y Z, Choi M H, Li J S, et al. Mushroom cosmetics: the present and future[J]. Cosmetics, 2016, 3: 22.
- [2] Zhang J J, Li Y, Zhou T, et al. Bioactivities and health benefits of mushrooms mainly from China [J]. Molecules, 2016, 21 (7): E938.
- [3] Wang X M, Zhang J, Wu L H, et al. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China [J]. Food Chemistry, 2014, 151 (20): 279-285.
- [4] 程玉,孙进,叶兴乾,等.食用菌风味物质研究进展[J].食品工业科技,2012,33(10):412-414.
- [5] 余雄涛,潘鸿辉,谢意珍.食用菌风味物质的研究及应用进展[J].中国食用菌,2013,32(3):4-7.
- [6] 张妮,肖作兵,于海燕,等.顶空固相微萃取-气质联用测定樱桃酒中的挥发性成分[J].食品科学,2011,32(10):97-102.
- [7] Politowicz J, Lech K, Lipan L, et al. Volatile composition and sensory profile of shiitake mushrooms as affected by drying method [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(4):

1511-1521.

[8] Xu L R, Yu X Z, Li M J, et al. Monitoring oxidative stability and changes in key volatile compounds in edible oils during ambient storage through HS-SPME/GC-MS [J]. International Journal of Food Properties, 2018, 20(S3): S2926-S2938.

[9] Dermiki M, Phanphensophon N, Mottram D S, et al. Contributions of non-volatile and volatile compounds to the umami taste and overall flavour of shiitake mushroom extracts and their application as flavour enhancers in cooked minced meat [J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 77-83.

[10] Panighel A, Flamini R. Applications of solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry (SPME-GC/MS) in the study of grape and wine volatile compounds [J]. Molecules, 2014, 19(12): 21291-21309.

[11] 李小林, 陈诚, 清源, 等. 会东县不同品种块菌挥发性香气成分的 GC-MS 分析 [J]. 食品科学, 2015, 36(18): 132-136.

[12] 陈万超, 杨焱, 李文, 等. 香菇挥发性成分 SPME-GC-MS 分析及特征指纹图谱的建立 [J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(10): 1074-1080.

[13] 皋香, 施瑞城, 谷凤林, 等. 巴氏灭菌对不同品种菠萝蜜汁挥发性香气成分的影响 [J]. 食品科学, 2014, 35(9): 63-68.

[14] 刘登勇, 周光宏, 徐幸莲. 确定食品关键风味化合物的一种新方法: "ROAV" 法 [J]. 食品科学, 2008, 29(7): 370-374.

[15] 顾赛麒, 陶宁萍, 吴娜, 等. 一种基于 ROAV 值鉴别蟹类关键特征性风味物的方法 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 410-416.

[16] 王丹, 丹彤, 孙天松, 等. SPME-GC-MS 结合 ROAV 分析单菌及复配发酵牛乳中关键性风味物质 [J]. 食品科学, 2017, 38(8): 145-152.

[17] 谭建宁, 杜成智, 梁臣艳, 等. 龙胆叶总游离氨基酸含量测定 [J]. 南方农业学报, 2016, 47(4): 645-649.

[18] 黄松, 吴月娜, 刘梅, 等. 茚三酮比色法测定青天葵中总游离氨基酸的含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(12): 50-52.

[19] 陈丽花, 张健, 陈培琼, 等. 反相高效液相色谱法测定中国对虾肉中呈味核苷酸 [J]. 食品科学, 2009, 30(10): 215-218.

[20] Li Q, Zhang H H, Claver I P, et al. Effect of different cooking methods on the flavour constituents of mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing) soup [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2011, 46(5): 1100-1108.

[21] 李小林, 陈诚, 黄羽佳, 等. 顶空固相微萃取-气质联用分析 4 种野生食用菌干品的挥发性香气成分 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(9): 174-180.

[22] 孙宝国. 食用调香术 [M]. 第二版. 北京: 化学工业出版社, 2010, 23-28.

[23] Tietel Z, Masaphy S. Aroma-volatile profile of black morel (*Morchella importuna*) grown in Israel [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, DOI:10.1002/jsfa.8477.

[24] 薛梅, 杨文建, 胡秋辉. 香菇风味物质形成过程的研究进展 [J]. 食药用菌, 2013, 2013(6): 349-353.

[25] Yang J H, Lin H C, Mau J L. Non-volatile taste components of several commercial mushrooms [J]. Food Chemistry, 2001, 72(4): 465-471.

[26] Li W, Gu Z, Yang Y, et al. Non-volatile taste components of several cultivated mushrooms [J]. Food Chemistry, 2014, 143(1): 427-431.

[27] Cohen N, Cohen J, Asatiani M, et al. Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher basidiomycetes mushrooms [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2014, 6(3): 273-291.

(上接第 253 页)

3 结论

本文采用 EDTA-Mellvaine 缓冲溶液提取, 玻璃纤维滤膜过滤除杂, HLB 固相萃取柱净化, 液相色谱-串联质谱直接测定了鸡蛋中 11 种喹诺酮类和 4 种四环素类抗生素的含量, 回收率 (80.0%~114.0%) 和精密度 (<12.0%) 符合相关检测要求。检出限 (S/N=3) 为 0.2 μg/kg, 定量限 (S/N=10) 为 0.8 μg/kg。该方法快速简便、灵敏度高、重现性好, 对于加强宁夏地区该项目的监测工作具有重要意义。

参考文献

[1] 方小明, 丁卓平. 动物源食品兽药残留分析 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 306-309.

[2] 段留德. 家禽用药残留对人体的危害 [J]. 家禽科学, 2014, 11: 31-32.

[3] 辜雪冬, 陈一资, 胡滨, 等. 动物食品中四环素残留的研究进展 [J]. 肉类研究, 2007, 3: 30-32.

[4] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第 235 号 动物性食品中兽药最高残留限量 [S]. 2002.

[5] GB/T 5009.116-2003 畜、禽肉中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定 [S]. 2004.

[6] 2017 年国家食品污染和有害因素风险检测手册 [M]. 北京: 国家食品安全风险评估中心, 2017: 353-361.

[7] 廖艳华, 周劲桓, 林文斯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 11 种喹诺酮类抗生素残留的样品前处理方法优化 [J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(8): 910-921.

[8] He H B, Dong C, Li B, et al. Fabrication of enrofloxacin imprinted organic-inorganic hybrid mesoporous sorbent from nanomagnetic polyhedral oligomeric silsesquioxanes for the selective extraction of fluoroquinolones in milk samples [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1361: 23-33.

[9] F Tajabadi, M Ghambarian, Y Yamini, etc. Phase microextraction followed by HPLC-DAD and multivariate curve resolution to determine antibacterial residues in foods of animal origin, Talanta, 2016, 160: 400-409.

[10] 张鑫, 吴剑平, 李丹妮, 等. UPLC-MS/MS 检测七种动物源食品中四环素类药物残留量的研究 [J]. 中国兽医杂志, 2015, 49(12): 42-46.

[11] 王旭丹, 刘静, 王庚南, 等. 高效液相色谱法检测鸡蛋中四环素类药物残留方法研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(6): 1579-1584.