

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.05.027

不同羊肚菌干品挥发性成分检测及其差异性分析

张福生, 龙力, 余晓瑞, 方磊, 胡宗悦, 张予馨, 喻东, 龙章富
(四川大学生命科学学院 教育部生物资源与生态环境重点实验室, 成都 610065)

摘要: 为探究不同品种羊肚菌干品挥发性成分及其差异性, 采用顶空固相微萃取(HS-SPME)联用气相色谱-质谱(GC-MS)分析的方法对 M2、M3、M4、M5 和 M6 共 5 个人工栽培品种羊肚菌干品挥发性成分进行检测和分析。从 5 个品种中共检测出 173 种化合物, 其中不同化合物 134 种, 分别为 31 种烷烃、19 种醇类、16 种醛类、12 种胺类、9 种酸类、8 种烯烃、8 种酯类、6 种酮类、4 种苯类、4 种吡嗪、3 种炔烃、3 种呋喃、12 种其它类型化合物; 在 2 个及以上品种中含有的非特征化合物共 46 种, 在各品种中的相对含量为 70.13%~90.15%; 只在 1 个品种中检测到的特征化合物共 88 种, 在各品种中的相对含量为 9.85%~29.87%。主成分分析(PCA)表明不同品种间挥发性成分的差异大小与品种间亲缘远近关系表现出相一致的特点; 检测结果表明特征化合物种类少、但含量高, 是羊肚菌挥发性成分的主体, 而非特征化合物种类多、含量却较低是不同品种间香气成分差异的原因。

关键词: 羊肚菌; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱联用分析; 挥发性香气成分; 主成分分析
中图分类号: Q936 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)05-0963-08

Detection and analysis of volatile components in different varieties of morel

ZHANG Fu-Sheng, LONG Li, YU Xiao-Rui, FANG Lei, HU Zong-Yue,
ZHANG Yu-Xin, YU Dong, LONG Zhang-Fu

(Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment of Ministry of Education,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: In order to explore the volatile components and their differences among five varieties of dried morels, the methods of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the volatile components in varieties of M2, M3, M4, M5, and M6. The results showed that a total of 173 compounds were detected from 5 varieties, of which 134 were different compounds, including 31 alkanes, 19 alcohols, 16 aldehydes, 12 amines, 9 acids, 8 olefins, 8 esters, 6 ketones, 4 benzenes, 4 pyrazines, 3 alkynes, 3 furans, and 12 others. There are 46 kinds of non-characteristic compounds in 2 or more varieties, and the relative content in each variety was 70.13%~90.15%. A total of 88 kinds of characteristic compounds were detected in only 1 variety and the relative contents of which was 9.85%~29.87%. The PCA analysis indicated that the difference in the size of volatile components among varieties showed consistent characteristics with the close relationship among them. The results showed that the characteristic compounds are few kinds but higher contents, which is the main volatile components of the morel. The non-characteristic compounds contents are low but more species, and it is the reason for the difference of aroma components among different varieties.

Keywords: Morel; HS-SPME; GC-MS; Volatile components; PCA

收稿日期: 2019-02-20

基金项目: 四川省科技培训项目(2016KZ0006); 凉山州产学研合作项目(17CX0015)

作者简介: 张福生(1993-), 男, 湖北武穴人, 硕士生, 主要研究方向为资源微生物. E-mail: zxk0606@163.com

通讯作者: 龙章富. E-mail: lzf0028@163.com

1 引言

羊肚菌(*Morchella* spp.)是一种珍稀食药真菌,属于子囊菌门(Ascomycota),盘菌纲(Pezizomycetes),羊肚菌科(Morchellaceae),羊肚菌属^[1].羊肚菌子实体中含有大量的多糖、氨基酸、维生素等成分^[1-2],相关研究表明羊肚菌中的多糖在抗肿瘤、抗氧化、提高免疫力等方面有显著的功效^[2-3].

羊肚菌一直以风味鲜美并具有独特的芳香性气味而著称,这与其子实体中存在挥发性香气成分密切相关.Audouin等^[4]通过气相色谱法从尖顶羊肚菌中分离并鉴定出挥发性成分1-辛烯-3-醇,该化合物素有“蘑菇醇”的美称,使羊肚菌具有浓郁的鲜菇风味.Taskin^[5]分析土耳其的两株野生的羊肚菌*M. esculenta*和*M. elata*的挥发性成分,鉴定出31种芳香化合物其中包含7种醇类,7种酯类,7种酮类,3种酸类,2种醛类和1种萜烯.李小林等^[6]对高羊肚菌干品的主体挥发性香气成分进行分析发现了7种主要化合物,认为对其整体风味贡献从大到小的顺序依次为壬醛、正辛醛、2-戊基呋喃、正己醛、 α -蒎烯、芳樟醇、(R)-(+)-柠檬烯.综合相关研究发现目前国内外对羊肚菌香气成分的研究报道多为单一品种挥发性成分的研究,而对羊肚菌不同栽培品种间挥发性成分的差异,以及这些差异是由那些化合物引起的仍然缺少相关报道.

SPME(solid phase micro-extraction)与GC-MS联用具有操作时间短、样品量少、无需萃取溶剂、重现性好等优点^[7-8].为探究不同栽培品种羊肚菌香气成分及其差异,本实验采用该方法对人工栽培的不同品种羊肚菌香气成分进行检测分析,可以准确全面分析羊肚菌挥发性化合物的成分及其相对含量,并用PCA分析的方法对5个品种羊肚菌挥发性成分种类的相对含量进行差异性分析,以期发现不同羊肚菌栽培品种间挥发性成分的差异,以及引起这些的化合物的成分.

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 羊肚菌 实验所用的5种羊肚菌分别采自四川省的金川县、会理县龙肘山、绵阳人工羊肚菌基地、会理县人工羊肚菌基地及崇州人工羊肚菌基地.M2(*Morchella* sp, GenBank 序列号 MH100896)、M3(*Morchella galilaea*,

GenBank 序列号 MH100895)、M4(*Morchella sextelata*, GenBank 序列号 MH100894)、M5(*Morchella sextelata*, GenBank 序列号 MH137041)和 M6(*Morchella sextelata*, GenBank 序列号 MH137040).

2.1.2 仪器与设备 SPME 萃取装置,100 μ L CAR/PDMS(carbon/polydimethyl siloxane)萃取纤维头,美国 Supelco 公司制造;Agilent 6890N-5975B 气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司制造.

2.2 实验方法

2.2.1 羊肚菌栽培 通过人工分离菌种并在同一块试验田进行人工栽培试验,整个栽培过程和子实体加工过程均在相同条件下进行.

2.2.2 顶空固相微萃取(SPME)羊肚菌干品挥发性物质 将羊肚菌子实体干品选取菌盖部分用研钵磨碎,过60目筛,用电子天平准确称取研碎均匀的粉末1.0g置于10mL顶空瓶中,密封,于50 $^{\circ}$ C水浴下平衡20min,用固相微萃取针吸附30min,手动进样,萃取针在进样口解吸5min.

2.2.3 检测条件 采用HP-5MS毛细色谱柱(J&W Scientific Inc, Folsom, CA, USA, 30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m),载气纯度为99.999%氦气,体积流量1.0mL/min,不分流进样,进样口温度250 $^{\circ}$ C.色谱柱升温方式为程序升温,起始温度:35 $^{\circ}$ C,保持5min,以3 $^{\circ}$ C/min的速率升至150 $^{\circ}$ C,再以10 $^{\circ}$ C/min的速率升到240 $^{\circ}$ C,保持2min.质谱条件:离子源为EI(电子轰击电离)源,电子能量为70eV,温度230 $^{\circ}$ C,四级杆180 $^{\circ}$ C,扫描方式为全扫描,扫描质量范围35~500u.

2.2.4 数据处理 采集到的质谱图运用计算机检索与图谱库(NIST.11)的标准质谱图比较,匹配度大于80%作为鉴定依据,对所测样品中的各挥发性成分进行定性分析,用面积归一化法对样品中的各挥发性成分进行定量分析,确定各挥发性成分的相对含量.用SPSS Statistics 21.0软件中的因子分析对各样品香气成分含量进行PCA分析.

3 结果

3.1 羊肚菌样品 SPME-GC-MS 分析

对羊肚菌子实体香气挥发性成分进行定性和定量分析,采用内标物作为参照物^[9],通过参照物计算样品各成分相对保留时间、相对保留面积和各组分的含量,以及各样品GC-MS图谱的峰对各成分进行定量和定性分析.各羊肚菌样品的GC-MS图谱如图1所示.

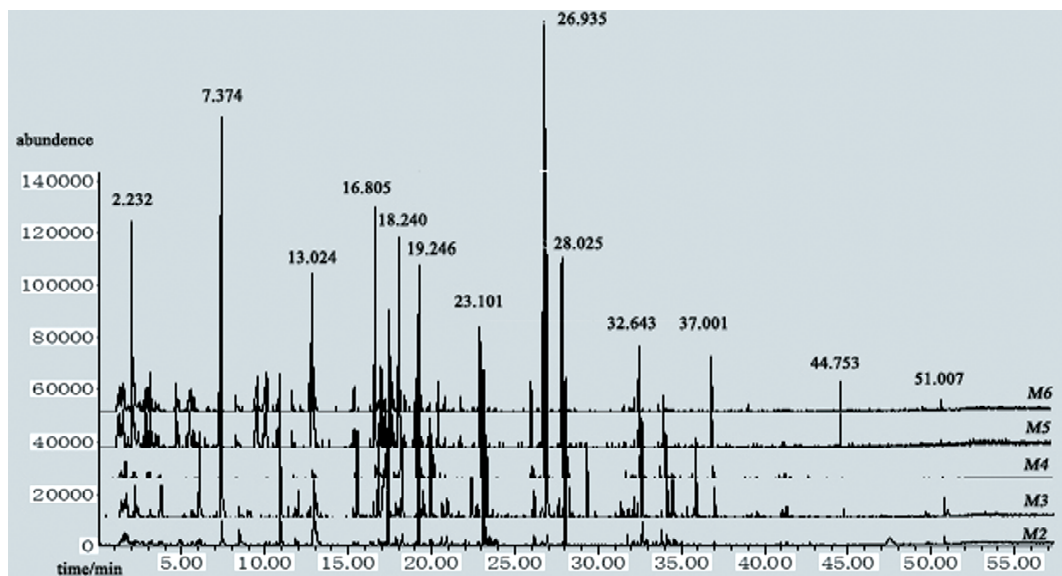


图 1 5 种不同栽培品种羊肚菌干品挥发性成分 GC-MS 图
 Fig. 1 The GC-MS charts of volatile components in five varieties of dried morels

表 1 5 种羊肚菌挥发性化合物的种类和相对含量

Tab. 1 The species and relative contents of volatile compounds from five varieties of morels

| 化合物 种类 | M2 | | M3 | | M4 | | M5 | | M6 | |
|-----------|----|--------|----|--------|----|--------|----|--------|----|--------|
| | 种数 | 相对含量/% | 种数 | 相对含量/% | 种数 | 相对含量/% | 种数 | 相对含量/% | 种数 | 相对含量/% |
| 烯烃类 | 4 | 39.85 | 2 | 7.87 | 4 | 9.35 | 1 | 0.56 | 2 | 1.78 |
| 烷烃类 | 16 | 28.79 | 9 | 14.42 | 14 | 31.32 | 5 | 16.12 | 7 | 15.95 |
| 羧酸类 | 3 | 1.57 | 2 | 9.77 | 2 | 0.83 | 4 | 12.67 | 4 | 10.89 |
| 呋喃类 | 0 | 0 | 1 | 3.19 | 1 | 0.4 | 1 | 1.46 | 1 | 0.58 |
| 醇类 | 8 | 9.36 | 8 | 19.21 | 3 | 1.83 | 6 | 16.44 | 6 | 16.38 |
| 醛类 | 3 | 4.1 | 7 | 22.21 | 4 | 8.73 | 5 | 5.24 | 6 | 4.32 |
| 酮类 | 1 | 0.72 | 1 | 1.63 | 1 | 0.27 | 2 | 0.79 | 1 | 2.08 |
| 酯类 | 0 | 0 | 5 | 2.95 | 2 | 1.1 | 2 | 9.96 | 2 | 10.43 |
| 苯类 | 3 | 2.9 | 1 | 2.81 | 2 | 7.76 | 1 | 8.74 | 1 | 9.87 |
| 萘类 | 1 | 1.51 | 1 | 8.83 | 1 | 35.24 | 1 | 15.85 | 1 | 20.19 |
| 酚类 | 0 | 0 | 1 | 0.61 | 1 | 0.24 | 1 | 0.42 | 1 | 0.79 |
| 吡嗪 | 2 | 4.42 | 2 | 1.74 | 1 | 0.99 | 2 | 2.83 | 1 | 1.62 |
| 咪唑 | 0 | 0 | 1 | 0.47 | 0 | 0 | 1 | 0.36 | 1 | 0.3 |
| 酰胺 | 4 | 5.34 | 2 | 2.5 | 2 | 1.11 | 3 | 2.41 | 2 | 1.73 |
| 炔烃 | 0 | 0 | 1 | 0.43 | 1 | 0.4 | 2 | 1.29 | 2 | 1.45 |
| 其他 | 1 | 1.44 | 2 | 1.36 | 1 | 0.43 | 2 | 4.86 | 3 | 1.64 |
| 总数 | 46 | 100 | 46 | 100 | 40 | 100 | 39 | 100 | 41 | 100 |

表 2 五种羊肚菌非特征挥发性化合物的成分和相对含量

Tab. 2 The relative contents of non-characteristic volatile compounds from five varieties of morels

| 编号 | 化合物名称 | CAS 号 | 相对含量/% | | | | |
|-----|--------------|--------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | | | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 |
| 1 | d-柠檬烯 | 5989-27-5 | 29.52 | 7.45 | 6.9 | / | / |
| 2 | 环庚三烯 | 544-25-2 | 0.4 | / | / | 0.56 | 0.57 |
| 3 | 月桂烯 | 123-35-3 | 8.49 | / | 1.74 | / | / |
| 4 | 正十二烷 | 112-40-3 | 7.52 | 3.86 | 8.09 | 5.28 | 6.23 |
| 5 | 正十三烷 | 629-50-5 | 3.18 | 2.7 | 5.38 | 1.88 | 2.73 |
| 6 | 正十一烷 | 1120-21-4 | 5.1 | / | 3.57 | 4.64 | 3.08 |
| 7 | 环五聚二甲基硅氧烷 | 541-02-6 | 1.13 | 0.79 | 1.06 | / | / |
| 8 | 十二甲基环六硅氧烷 | 540-97-6 | 1.21 | 2.24 | / | / | / |
| 9 | 2,2-二甲基丁烷 | 75-83-2 | 0.51 | / | 0.47 | / | / |
| 10 | 2,3,4-三甲基正己烷 | 921-47-1 | 1.45 | / | 1.07 | / | / |
| 11 | 2,2-二甲基戊烷 | 590-35-2 | / | 0.35 | 0.39 | / | / |
| 12 | 十六甲基八硅氧烷 | 19095-24-0 | / | / | 3.51 | / | 0.57 |
| 13 | 正十四烷 | 629-59-4 | / | / | 1.1 | / | 2.23 |
| 14 | 环丁烷 | 19465-02-2 | / | / | / | 2.15 | 0.58 |
| 15 | β -丙氨酸 | 107-95-9 | / | / | 0.55 | 1.46 | 1.24 |
| 16 | 乙酸 | 64-19-7 | 0.63 | 1.2 | / | / | / |
| 17 | 正己酸 | 142-62-1 | / | 8.57 | / | / | 0.62 |
| 18 | 2-甲基丁酸 | 116-53-0 | / | / | / | 4.7 | 4.41 |
| 19 | 异戊酸 | 503-74-2 | / | / | / | 4.32 | 4.62 |
| 20 | 异戊醇 | 123-51-3 | 0.37 | / | / | 1.65 | 1.4 |
| 21 | 1-辛烯-3-醇 | 3391-86-4 | / | 2.79 | / | 7.81 | 7.91 |
| 22 | 正戊醇 | 71-41-0 | 0.99 | 3.12 | / | / | / |
| 23 | 正己醇 | 111-27-3 | 4.55 | 4.91 | / | / | / |
| 24 | 2-乙基己醇 | 104-76-7 | / | 1.01 | 1.02 | / | / |
| 25 | DL-2-甲基-1-丁醇 | 34713-94-5 | / | / | / | 0.88 | 0.52 |
| 26 | 辛醇 | 589-98-0 | / | / | / | 4.45 | 4.52 |
| 27 | 正己醛 | 66-25-1 | 3.88 | 14.33 | 2.7 | 1.36 | / |
| 28 | 2-甲基丁醛 | 96-17-3 | / | / | / | 1.01 | 0.62 |
| 29 | 癸醛 | 112-31-2 | / | 0.86 | 1.77 | / | / |
| 30 | 2-羟基-4-甲基苯甲醛 | 698-27-1 | / | / | / | 0.41 | 0.63 |
| 31 | 庚醛 | 111-71-7 | / | / | / | 1.49 | 1.61 |
| 32 | 戊醛 | 110-62-3 | / | 0.76 | 0.43 | 0.97 | / |
| 33 | 萘 | 91-20-3 | 1.51 | 8.83 | 35.24 | 15.85 | 20.19 |
| 34 | 1,4-二氯苯 | 106-46-7 | 2.1 | 2.81 | 6.77 | 8.74 | 9.52 |
| 35 | 对二甲苯 | 106-42-3 | 0.41 | / | / | / | 0.35 |
| 36 | 1,5-己二炔 | 628-16-0 | / | 0.43 | 0.4 | 0.81 | / |
| 37 | 乙烯基乙炔 | 689-97-4 | / | / | / | 0.48 | 0.81 |
| 38 | 4-羟基丁酸内酯 | 96-48-0 | / | 0.89 | 0.42 | 9.13 | 8.55 |
| 39 | 草酸, 十六烷基异己酯 | 1000309-73-0 | / | / | 0.68 | 0.83 | 0.96 |
| 40 | 2,5-二甲基吡嗪 | 123-32-0 | 2.42 | / | 0.99 | 1.18 | 1.62 |
| 41 | 2,6-二甲基吡嗪 | 108-50-9 | / | 1.15 | / | 1.65 | / |
| 42 | 苯酚 | 108-95-2 | / | 0.61 | / | 0.42 | 0.79 |
| 43 | 2-正戊基咪喃 | 3777-69-3 | / | / | / | 1.46 | 0.58 |
| 44 | 1-乙酰基咪唑 | 2466-76-4 | / | 0.47 | / | 0.36 | 0.3 |
| 45 | 苯乙胺 | 10538-85-9 | / | / | / | 1.13 | 1.17 |
| 46 | 1,4-二氢吡啶-3-腈 | 23974-91-6 | 0.39 | / | / | 0.92 | 1.58 |
| sum | | | 75.76 | 70.13 | 84.25 | 87.98 | 90.51 |

注:“/”表示该品种中未检测到该种化合物

3.2 五种羊肚菌干品挥发性成分组成及相对含量

通过对 GC-MS 定性和定量分析结果按照化合物的种类进行分类与统计(表 1),从 5 个不同品种中共检测到 173 种成分,共包含 134 种不同化合物,按化合物的性质可分类为 31 种烷烃、19 种醇类、16 种醛类、12 种胺类、9 种酸类、8 种烯烃、8 种酯类、6 种酮类、4 种苯类、4 种吡嗪、3 种炔烃、3 种呋喃、2 种酚类、1 种醚类、1 种吡咯、1 种萘类、7 种其它类型化合物。其中 M2 和 M3 含有的化合物种数最多均为 46 种,其次是 M6(41 种)、M4(40 种)和 M5(39 种),各品种间化合物种数差异较小。

M2 品种中化合物种类最多为烷烃 16 种(28.79%),相对含量最高的则为烯烃类 39.85%(4 种);M3 品种中化合物种类最多为烷烃 9 种(14.42%),相对含量最高的则为醛类 22.21%(7 种);M4 品种中化合物种类最多为烷烃 14 种(31.32%),相对含量最高的则为萘 35.24%(1 种);M5 品种中化合物种类和相对含量最高的都为醇类 16.64%(6 种);M6 品种中化合物种类最多为烷烃 7 种(15.95%),相对含量最高的则为萘 20.19%(1 种)。烷烃类的种数在 M2、M3、M4 和 M6 中均为最高,在 M5 品种中为第 2 高,比最高的醇类少 1 种;萘类只有 1 种即萘,在 M3(8.83%)、M4(35.24%)、M5(15.85%)和 M6(9.87%)中相对含量均较高;其余种类的化合物的种数和相对含量在不同品种中变化较大,但总体所占比例趋势相同。

3.3 五种羊肚菌非特征挥发性成分组分及相对含量

从 5 个羊肚菌品种挥发性香气成分中检测到非特征化合物共 46 种,占 5 个品种中共检测到 134 种化合物的 34.33%,但非特征挥发性成分的相对含量占各自总挥发性成分的比例却较高,其中 M2 为 75.76%、M3 为 70.13%、M4 为 84.25%、M5 为 87.98%、M6 为 90.51%。这些非特征挥发性化合物种数较少,但相对含量在各品种中所占比例均较高。

非特征化合物在不同品种羊肚菌挥发性成分中的组成和含量均具有差异性。在 134 种不同化合物中有 46 种化合物在两个及以上的品种中检测到。其中有 4 种化合物在 5 个品种中均检测到,分

别为正十二烷、正十三烷、萘。这 4 种化合物在不同羊肚菌香气成分中相对含量较高。其中萘在 M5 中相对含量达到 35.24%,占到该品种总挥发性成分的三分之一以上,其余共有成分的相对含量在 1.51%~35.24%。在 4 个品种中检测到的化合物有 4 种,分别为正十一烷、正己醛、4-羟基丁酸内酯和 2,5-二甲基吡嗪。在 2 个或 3 个品种中检测到的化合物有 38 种,各化合物的相对含量在不同的品种中相对含量的差异较大。

3.4 五种羊肚菌特征挥发性成分及相对含量

从 5 种羊肚菌干品挥发性成分中共检测到 134 种不同化合物,其中只在 1 个品种中检测到的特征化合物有 88 种(表 3)。M2 中特征化合物有 26 种,相对含量占该品种总挥发性成分的比例为 24.24%;M3 中有 24 种,相对含量比例为 29.87%;M4 中有 18 种,相对含量比例为 15.75%;M5 中有 9 种,相对含量比例为 12.02%;M6 中有 11 种,相对含量比例为 9.49%。其中 M2 和 M3 中特征化合物种数分别占到其各自化合物总数的 56.52%和 52.17%,但相对含量所占比例却分别只有 24.24%和 29.87%;M5 和 M6 中特征化合物种数较少,其相对含量比例也较低。

M2 中特征化合物相对含量大于 2%的有 3 种,分别为 N-乙基-N-丙烯-2-亚硝基酰胺(2.29%)、3,5-二甲基丁烷(2.20%)和 2-甲基吡嗪(2.0%);大于 1%共有 9 种,其余 17 种特征化合物相对含量都小于 1%;M3 中特征化合物相对含量大于 3%有 2 种,分别为苯甲醛(3.67%)和 2-正丁基呋喃(3.19%),相对含量大于 1%也为 9 种,其余 15 种特征化合物相对含量均小于 1%;M4 中特征化合物含量最高的为壬醛(3.83%),相对含量大于 1%有 4 种,其余 14 种均小于 1%;M5 特征化合物中相对含量大于 1%有 3 种分别为 1,3-氧氮杂环戊烷(2.17%)、异丁酸(2.19%)和三甲基水杨酸酯(1.16%),其余 6 种相对含量均小于 1%;M6 特征化合物相对含量大于 1%有 3 种分别为苯并环丁烯(1.21%)、脞(1.21%)和 3-辛酮(2.08%),其余 8 种相对含量均小于 1%。特征化合物在各品种中种类十分丰富,在 M2 和 M3 中均超过总化合物的一半,但相对含量大部分均低于 1%,是不同品种羊肚菌香气成分差异的具体表现。

表 3 五种羊肚菌特征挥发性化合物的成分和相对含量

Tab. 3 The relative contents of characteristic volatile compounds from five varieties of morels

| 编号 | M2 | | M3 | | M4 | | M5 | | M6 | |
|----|-------------------|--------|------------------|--------|--------------|--------|------------|--------|--------------|--------|
| | 名称 | 相对含量/% | 名称 | 相对含量/% | 名称 | 相对含量/% | 名称 | 相对含量/% | 名称 | 相对含量/% |
| 1 | 环辛四烯 | 1.44 | 2-戊烯 | 0.42 | 正-3-己烯 | 0.37 | 1,3-氧氮杂环戊烷 | 2.17 | 苯并环丁烯 | 1.21 |
| 2 | 3,5-二甲基丁烷 | 2.20 | 3,3-二甲基庚烷 | 2.88 | 4,5-二甲基-1-己烯 | 0.34 | 二甲胺 | 0.59 | 亚甲基环丁烷 | 0.53 |
| 3 | 4,7-二甲基丁烷 | 1.83 | 5,7-二甲基丁烷 | 0.83 | 2-氢过氧庚烷 | 2.73 | 次乙亚胺 | 0.69 | 丙烯醛 | 0.44 |
| 4 | 2,4-二甲基庚烷 | 1.32 | 丁烷 | 0.41 | 1-硝基己烷 | 2.23 | 2-甲基环戊酮 | 0.42 | 苯乙醛 | 0.39 |
| 5 | 辛烷,5-乙基-2-甲基 | 1.09 | 1-异氰丙烷 | 0.35 | 正二十七烷 | 1.04 | 丁烯酮 | 0.37 | 2-羟基-4-甲基苯甲醛 | 0.63 |
| 6 | 3-乙基-3-甲基庚烷 | 0.58 | 3,5-3,5-2-胆固醇 | 2.85 | 五甲基二硅烷 | 0.43 | 异丁酸 | 2.19 | 3-甲基-1,5-戊二醇 | 0.63 |
| 7 | 11-戊基-3-乙基甲氧烷 | 0.50 | 2-丁基-2,7-丁二烯-1-醇 | 2.20 | 2,4-二甲基戊烷 | 0.26 | 三甲基水杨酸酯 | 1.16 | 甲酸乙烯酯 | 0.92 |
| 8 | 3,4-二甲基己烷 | 0.40 | 顺-2-甲基环戊醇 | 1.73 | 2-甲基-1-戊醇 | 0.44 | 吡咯 | 0.65 | 三甲胺 | 0.56 |
| 9 | (+/-)-2-甲基氮杂丁烷 | 0.39 | 6-甲基庚醇 | 0.59 | 3-己炔-1-醇 | 0.37 | N,N-二甲基胍 | 0.45 | 1-戊炔 | 0.64 |
| 10 | 3,3-二甲基己烷 | 0.38 | 3-甲基-1-戊醛 | 0.37 | 壬醛 | 3.83 | | | 肟 | 1.21 |
| 11 | 邻苯二甲酸 | 0.51 | 顺芷醛 | 1.34 | 2-壬炔酸 | 0.28 | | | 3-辛酮 | 2.08 |
| 12 | 甲基组氨酸 | 0.43 | 2-甲基戊醛 | 0.89 | 二甲乙酰胺 | 0.70 | | | | |
| 13 | 异辛醇 | 0.78 | 苯甲醛 | 3.67 | 2-氧代-环己烷甲酰胺 | 0.41 | | | | |
| 14 | 顺式-2-丁烯-1-醇 | 0.74 | 己酸戊酯 | 0.76 | (1-溴乙基)苯 | 0.99 | | | | |
| 15 | 正辛醇 | 0.53 | 丙位己内酯 | 0.52 | 乙醚,己基戊基 | 0.43 | | | | |
| 16 | 三缩四乙二醇 | 1.01 | 氰酸乙酯 | 0.42 | 2,3-二氢呋喃 | 0.40 | | | | |
| 17 | 2,2-二甲基-1-丁醇 | 0.39 | 2-甲烯基丁内酯 | 0.36 | 2,3-庚烷二酮 | 0.27 | | | | |
| 18 | 2-己烯醛 | 0.85 | N,N-二甲基辛酰胺 | 2.18 | 2,5-二叔丁基酚 | 0.24 | | | | |
| 19 | 异丁醛 | 0.37 | 甲基二氟胺 | 0.32 | | | | | | |
| 20 | 邻-异丙基苯 | 0.39 | 1-(3-丁氧烷-2-基)乙酮 | 1.63 | | | | | | |
| 21 | O-脱羟胺 | 1.21 | 2-羟基-3-氨基吡啶 | 0.63 | | | | | | |
| 22 | 丙烯酰胺 | 0.92 | 2,3,5-三甲基吡嗪 | 0.59 | | | | | | |
| 23 | N-乙基-N-丙烯-2-亚硝基酰胺 | 2.29 | 2-正丁基呋喃 | 3.19 | | | | | | |
| 24 | 2-甲基吡嗪 | 2.00 | 二(三甲基硅基)草酸盐 | 0.33 | | | | | | |
| 25 | β -亚乙酰酰亚甲基酮 | 0.72 | | | | | | | | |
| 26 | 1-甲氧基-2-丙胺 | 0.46 | | | | | | | | |

3.5 五种羊肚菌挥发性成分种类相对含量的差异性分析

主成分分析(PCA)是一种通过特征抽取和降维技术,通过对大量数据的简化及优化处理,快速实现模式或者关系的可视化识别^[12].本实验依据5种羊肚菌干品挥发性化合物种类和相对含量的信息数据(表1),采用SPSS Statistics 21.0软件数据分析中的降维因子分析功能对数据进行分析处理,将羊肚菌挥发性成分种类的相对含量作为分类变量,对5个品种羊肚菌挥发性成分进行分类,数据处理的载荷图结果如图2所示.PCA分

析中主成分1(61.825%)和主成分2(20.491%)累计方差贡献率82.316%,能够较好反映样本原始数据的大部分信息.M2与另外4个品种羊肚菌的聚集位点相聚距离较远,说明M2与其它4个品种挥发性成分种类和相对含量存在较大的差异;其中M3与M4聚集位点非常接近,说明这两种羊肚菌干品的挥发性成分种类和相对含量差异较小;M5与M6聚集位点十分接近,说明这两个品种间的差异也较小.

通过ITS分子鉴定M4、M5和M6均为Morchella sextelata,但M4与M5和M6在子实体形态

上差异较大,且PCA分析与M5和M6之间差异较大,而与M3品种间的差异性较小,这可能与ITS难以鉴定到种有关^[10],也可能与不同品种的遗传差异、栽培环境、储存时间和子实体含水量等多种因素有关,而这需要通过相关实验进一步验证,但其余4个品种均表现出与种间亲缘远近关系相近的特点。

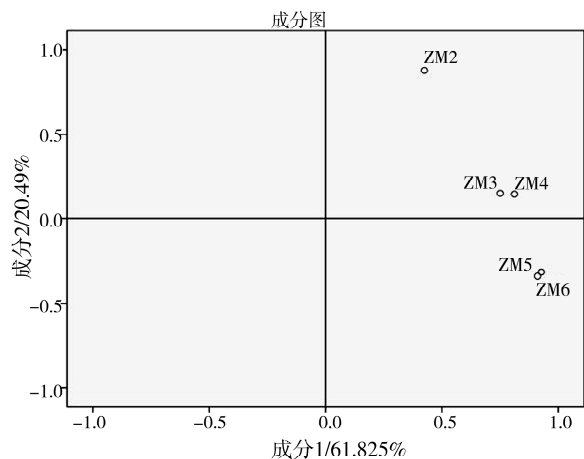


图2 5个品种羊肚菌干品挥发性成分种类PCA分析

Fig. 2 The PCA analysis of volatile components in five varieties of morels

4 讨论

羊肚菌在烘干过程中子实体中的蛋白质、脂肪、糖类生物大分子发生不同化学反应,产生了大量不同类型的可挥发性成分,如烷烃、醇类、醛类、胺类等,这些不同类型的化合物共同组成了羊肚菌独特的香气风味。在所有成分中烷烃在5个品种中种类最为丰富、相对含量也较高,但因烷烃气味阈值较高对整体风味贡献不大;烯烃相对饱和烷烃阈值较低并具有特殊香气,通常对香气贡献较大^[11],但在M2中相对含量达到了39.85%,而在M5中却只有0.56%,表明烯烃在不同的品种中差异性较大,对香气贡献的大小也不同;醇类数量仅次于烷烃类,相对含量较高,是样品中的香气成分主要贡献者,如:1-辛烯-3-醇具有浓烈的蘑菇香味、苯乙醇具有清甜的玫瑰花香等^[11];酯类物质一般具有水果的芳香味,且沸点较高香味较为持久^[12];醛通常具有特殊的香气,如庚醛具有坚果味和水果青香,辛醛具有青果皮香等^[13];呋喃、吡嗪等少量相对含量较低的化合物也都具有特殊的气味,虽然相对含量较低但由于阈值较低对香味也都起着重要的作用;其它类型化合物种类和

相对含量均较低,但对羊肚菌整体风味仍然发挥着不可或缺的辅助作用。

非特征化合物中1-辛烯-3-醇,在M3(2.79%)、M5(7.81%)和M6(7.91%)中能检测到且相对含量较高,但在M2和M4中没有检测到,这可能是干制过程中1-辛烯-3-醇易挥发,在相对含量较低的品种中挥发殆尽而没能检测到^[14];正十二烷、正十三烷、萘和1,4-二氯苯这四种化合物是5个品种中共有成分且相对含量较高,尤其是萘在M5中相对含量达到了35.24%,这四种化合物可能是构成羊肚菌属气味的基本的特征化合物;非特征化合物在每个品种中占总化合物数量的比例较低,但其相对含量在5个品种中最低在M3中占到了70.13%,最高在M6中为90.51%,非特征化合物种数较少却是挥发性成分的主体组成部分。在检测出的所有成分中只有少数具有特征性香气的化合物对于羊肚菌的香气性状起到了决定性作用,这些化合物被称之为“特征效应化合物”^[15]。特征化合物种数较多、相对含量较低,决定了每个品种羊肚菌特有的气味特征。PCA分析表明不同品种羊肚菌香气成分间的差异与羊肚菌品种间的亲缘远近关系具有相一致的特点,这一特点也可作为羊肚菌种属鉴定的依据之一。

对羊肚菌芳香作用的化合物既有在蘑菇类中广泛存在并且起着重要作用的C8类化合物,也有因不同的栽培品种而特有的化合物成分。通过各种挥发性化合物成分的共同作用使不同品种的羊肚菌既具有相同的气味特征,又使每个品种具有特有的芳香气味。

参考文献:

- [1] Vieira V, Fernandes A, Barros L, et al. Wild *Morchella conica* Pers. from different origins: a comparative study of nutritional and bioactive properties [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96: 90.
- [2] 刘蓓, 吴素蕊, 朱萍, 等. 滇西北地区四种羊肚菌营养成分分析比较 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33: 363.
- [3] Nitha B, Meera C R, Janardhanan K K. Anti-inflammatory and antitumour activities of cultured mycelium of morel mushroom, *Morchella esculenta* [J]. *Curr Sci*, 2017, 92: 235.
- [4] Audouin P, Vidal J P, Richard H. Volatile compounds in the aroma of some wild edible mushrooms: morel (*Morchella conica*), wood blewitt

- (*Lepista nuda*), clouded agaric (*Clitocybenedularis*) and false chanterelle [J]. *SCI Aliment*, 1989, 9: 185.
- [5] Taskin H. Detection of volatile aroma compounds of *Morchella* by headspace gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) [J]. *Not Bot Horti Agrob*, 2013, 41: 122.
- [6] 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: 174.
- [7] 芮汉明, 贺丰霞, 郭凯. 香菇干燥过程中挥发性成分的研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30: 255.
- [8] 唐超, 潘年松, 罗俊. 截叶铁扫帚提取物的 GC-MS 分析及羽扇烯酮的定性定量分析 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2018, 55: 643.
- [9] Oprean R, Tama M, Sanduldsen R, *et al.* Essential oils analysis. I. Evaluation of essential oils composition using both GC and MS fingerprints [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 1998, 18: 651.
- [10] Wipf D, Munch J C, Botton B, *et al.* DNA polymorphism in morels: complete sequences of the internal transcribed spacer of genes coding for rRNA in *Morchella esculenta* (yellow morels) and *Morchella conica* [J]. *Appl Environ Micob*, 1996, 62: 3541.
- [11] 周晓媛, 邓靖, 李福枝, 等. 发酵辣椒的挥发性风味成分分析 [J]. *食品与生物技术学报*, 2007, 1: 54.
- [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: 1074.
- [13] Caporaso F, Sink J D, Dimick P S. Volatile flavor constituents of ovine adipose tissue [J]. *J Agric Food Chem*, 1977, 25: 1930.
- [14] Maga J A. Mushroom flavor [J]. *J Agric Food Chem*, 1981, 29: 1.
- [15] 张曾, 曾维才, 唐维, 等. 红阳猕猴桃成熟过程中脂氧合酶基因的表达与香气成分变化关系的研究 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2017, 54: 857.

引用本文格式:

中文: 张福生, 龙力, 余晓瑞, 等. 不同羊肚菌干品挥发性成分检测及其差异性分析 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2019, 56: 963.

英文: Zhang F S, Long L, Yu X R, *et al.* Detection and analysis of volatile components in different varieties of morel [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2019, 56: 963.