

GC-IMS 分析不同菌龄香菇挥发性有机物的差异

董浩然^{1#}, 陆欢^{1#}, 姜宁¹, 李巧珍¹, 李玉¹, 尚晓冬¹, 李正鹏¹, 王作录², 宋春艳^{1*}, 周峰^{1*}

1 上海市农业科学院食用菌研究所 国家食用菌工程技术研究中心, 上海 201403

2 上海星秀食用菌种植专业合作社, 上海 201508

摘要: 通过气相色谱-离子迁移谱技术(gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS)对 2 个香菇品种的不同菌龄的重要农艺性状和挥发性有机物的差异进行了研究。研究表明: 不同菌龄阶段的香菇只在产量和蕾数上有显著差异, 同等菌龄、不同香菇品种间农艺性状差异显著。2 个香菇品种分别鉴定出包括单体和二聚体在内的 17 和 12 种挥发性物质, 包括醛类、酯类、醇类、酮类、酸类和烯类化合物。基于化学计量学主成分分析(principal component analysis, PCA)、指纹图谱和聚类分析对 2 个香菇品种的不同菌龄挥发性有机物分析发现, 不同菌龄的香菇中挥发性有机物有较大差异, 不同香菇品种中挥发性有机物质也呈现一定的差异, 菌龄为 95 d 和 105 d 时挥发性有机物均较为相似。2 个香菇品种中柠檬烯均是随着菌龄的增加逐步上升, 乙酸乙酯和壬醛均是逐步降低。此外, 3-甲基丁醇、戊醛、庚醛、己醛和柠檬烯可作为区别“申香 1513”不同菌龄阶段的特征挥发性有机物, 丁酸乙酯和柠檬烯则可作为区别“5550”不同菌龄阶段的特征挥发性有机物。GC-IMS 可快速对不同菌龄的香菇品种进行挥发性化合物的差异分析, 为香菇挥发性成分差异研究和品质育种提供参考依据。

关键词: 香菇; 菌龄; 气相-离子迁移谱; 挥发性有机物; 主成分分析

[引用本文]

董浩然, 陆欢, 姜宁, 李巧珍, 李玉, 尚晓冬, 李正鹏, 王作录, 宋春艳, 周峰, 2023. GC-IMS 分析不同菌龄香菇挥发性有机物的差异. 菌物学报, 42(6): 1330-1344

Dong HR, Lu H, Jiang N, Li QZ, Li Y, Shang XD, Li ZP, Wang ZL, Song CY, Zhou F, 2023. GC-IMS analyses of volatile organic compounds in *Lentinula edodes* at different ages. Mycosystema, 42(6): 1330-1344

资助项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-20); 金山区院士专家工作站平台项目(jszjz2021004N)

This work was supported by the China Agricultural Research System of MOF and MARA (CARS-20) and the Jinshan District Academician Expert Workstation Platform Project (jszjz2021004N).

*Corresponding authors. E-mail: SONG Chunyan, s62209760@163.com; ZHOU Feng, feng5412@126.com

[#]Co-first author

Received: 2022-07-25; Accepted: 2022-09-01

GC-IMS analyses of volatile organic compounds in *Lentinula edodes* at different ages

DONG Haoran^{1#}, LU Huan^{1#}, JIANG Ning¹, LI Qiaozhen¹, LI Yu¹, SHANG Xiaodong¹, LI Zhengpeng¹, WANG Zuolu², SONG Chunyan^{1*}, ZHOU Feng^{1*}

1 National Engineering Research Center of Edible Fungi, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

2 Xingxiu Edible Fungus Planting Professional Cooperative, Shanghai 201508, China

Abstract: GC-IMS technology was used to detect volatile compounds at different spawn ages of two cultivated strains of *Lentinula edodes*, and the types and content of volatile compounds were preliminarily determined by using fingerprint information base and stoichiometry. Seventeen monomers and twelve dimers volatile compounds were identified, among which 3-methyl butanol, glutaraldehyde, heptanaldehyde, hexanal and limonene could be used as the characteristic volatile organic compounds to distinguish the different age stages of strain “Shenxiang 1513”, while ethyl butyrate and limonene could be used as the characteristic volatile organic compounds to distinguish the different age stages of strain “5550”. The content of limonene increased with the increase of spawn age, and the content of ethyl acetate and nonanal decreased with the increase of age. Based on principal component analysis and thermogram, the changes of volatile organic compounds at different spawn age were studied. It was found that there were great differences in volatile organic compounds at different ages, and there were also certain differences in volatile organic compounds in different cultivars. The volatile organic compounds in spawns aged 95 d and 105 d are relatively similar. The volatile organic compounds in spawn aged 95 d are relatively rich, but less in spawn aged 105 d. *L. edodes* could produce a variety of flavor characteristic substances in different growth periods. The types and content of volatile organic compounds can make a notable impact on the quality of *L. edodes*, and the results of this study seem advantageous for the quality breeding selection of *L. edodes*.

Keywords: *Lentinula edodes*; fungus age; gas chromatography-ion mobility spectrometry; volatile organic compounds; principal component analysis

香菇 *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 具有高蛋白、低脂肪、低糖、多维生素、多氨基酸、多矿物质和多膳食纤维的营养特点, 还富含多糖、多酚等生物活性物质(Wu *et al.* 2019; 郑文妹 等 2021), 兼备提高免疫力、抗肿瘤等保健功效(戴玉成和杨祝良 2008; Dai *et al.* 2015; Ina *et al.* 2016), 是我国主要食用菌生产产品之一, 也是符合当代消费者健康膳食需求的食品之一。香菇的菌龄是指从接种菌棒到出菇所需时间, 可分为长菌龄(>110 d)、中间菌龄(80–110 d)和短菌龄

(<80 d) 3 种, 其中短菌龄品种主要包括 L856、L087 等, 中短菌龄品种主要包括武香 1 号、Cr04 和华香 8 号等, 中长菌龄品种包括 L135、L808 和 L241-4 等。菌龄的长短受栽培条件、品种等因素影响, 传统香菇品种的菌龄一般都在 120 d 以上。随着香菇生产模式向菌棒集约化生产模式转变升级, 香菇菌棒生产逐步实现了可控, 对实现短菌龄品种选育具有重要意义。

随着人民生活水平的提高, 食品的风味特征是影响消费者选择和偏好的主因之一。香菇

具有独特的鲜味和香气,据报道,香菇的香味主要依赖于含有的挥发性物质,主要包括八碳化合物和含硫化合物等,滋味主要依赖于有机酸、可溶性糖和糖醇、游离氨基酸和呈味核苷酸,鲜味依赖于游离氨基酸和呈味核苷酸(陈洪雨等 2018;冯涛等 2018;卢晓烁等 2019;侯娣等 2021;李延年等 2021)。香菇主要呈香物质在不同菌龄阶段和子实体不同部位都存在差异,对鲜香菇进行不同加工处理,如干制、复水、蒸煮等过程中,挥发性有机物也存在变化。目前对不同加工处理挥发性成分的变化已有报道(杨肖等 2017;余昌霞等 2017),李文等(2018)分析了香菇“申香 16”子实体的 6 个生长阶段中挥发性风味成分的种类及特征性风味成分,但综合比较不同品种在不同菌龄阶段挥发性成分的差异尚未见相关研究。因此,对香菇不同菌龄阶段中主要挥发性有机物进行特征分析,以缩短菌龄、提高香气品质为目标,为培育满足消费者对香菇风味个性化、多元化需求新品种提供科学依据。

气相-离子迁移谱技术(gas chromatography-ionmobility spectroscopy, GC-IMS)是一种将气相色谱技术和离子迁移谱技术相结合的检测技术,具有前处理更简单、灵敏度更高和检测时间更短等优势,现已广泛用于中药、果蔬、肉蛋制品、水产品、烟草和茶叶等领域的风味成分分析和检测(Liu *et al.* 2021; Qin *et al.* 2021; Zhang *et al.* 2021; Ai *et al.* 2022; Wu *et al.* 2022; Zhao *et al.* 2022),在食用菌中也已用于羊肚菌、猴头菇、荷叶离褶伞、牛肝菌、松茸和香菇等风味研究(Li *et al.* 2019; 殷朝敏等 2019; Chen *et al.* 2021; 杨芳等 2021; 李佳欢等 2021; 孙达锋等 2021; 张毅航等 2022)。香菇菌龄一般为 90–120 d,本研究以中长菌龄申香“1513”(菌龄 100–110 d)和长菌龄“5550”(菌龄 110–120 d)不同菌龄阶段的干制子实体为研究对象,通过比较重要农艺

性状指标,同时采用 GC-IMS 对其挥发性有机物进行分析,结合主成分分析(PCA)、指纹图谱和聚类分析等方法探究 2 个香菇品种不同菌龄中挥发性有机物的差异性,为品质育种提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 材料

上海市农业科学院食用菌研究所保藏中长菌龄品种“申香 1513”和“5550”。

1.1.2 试剂

没食子酸,分析纯,天津市致远化学试剂有限公司;福林酚试剂,分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司;无水乙醇、草酸、抗坏血酸、酚酞、邻苯二甲酸氢钾、碳酸钠、硝酸铝、亚硝酸钠、氢氧化钠、2,6-二氯酚靛酚、钨酸钠、磷酸、 H_3PO_4 、 Na_2CO_3 等,均为分析纯。

1.1.3 仪器和设备

电子天平(奥豪斯 CP-214):奥豪斯仪器(上海)有限公司;pH 计(雷磁 PUS-3C):上海仪电科学仪器股份有限公司;阿贝折光仪(2WJ):上海光学仪器厂;B-220 恒温水浴锅:上海亚荣生化仪器厂;GNP-9160BS-III隔水式电热恒温培养箱:上海圣科仪器设备有限公司;FlavourSpec[®]气相离子迁移谱联用仪 GC-IMS: G.A.S.公司。

1.2 方法

1.2.1 样品采集和处理

于河南金海生物科技有限公司开展香菇栽培试验,收集生长 95、105 和 115 d 的香菇子实体,子实体烘干后保存备用。

1.2.2 农艺性状测定

记录“申香 1513”和“5550”菌株的蕾数、第一潮单菇重、第二潮单菇重、第一潮产量、第二潮产量和总产量,并用游标卡尺测量和记录菌盖直径、菌盖厚度、菌柄长度和菌柄直径等农艺性状。

1.2.3 挥发性物质测定方法

用氮气(质量分数≥99.999%)作载气,采用气相色谱-离子迁移谱联用(GC-IMS)技术测量不同菌龄香菇样品中的挥发性成分。取 0.5 g 香菇粉末置于 20 mL 顶空瓶中,60 °C下保温孵化 15 min 后自动进样 500 μL,设 3 个重复。具体测定参数见表 1。

1.2.4 数据分析

使用 SPSS 22 软件对香菇农艺性状数据进行显著性差异分析。香菇中挥发性有机物质的相对定量及定性分析使用NIST数据库和IMS数据库,使用 LAV 软件中的 Dynamic PCA 插件进行主成分分析,使用 Reporter 和 Gallery Plot 插件绘制差异图谱和指纹图谱,通过 Mev 软件对数据进行非参数检验。采用 Origin Pro 2021 软件进行聚类热图绘制。

2 结果与分析

2.1 不同菌龄香菇农艺性状分析

“申香 1513”和“5550”不同菌龄子实体形态图见图 1,“申香 1513”和“5550”出菇后的相关农艺性状数据见表 2。“申香 1513”和“5550”的第一潮产量和第二潮产量都是在菌龄为 105 d 时最高,这可能与其为中长菌龄的品种特性相关,在 105 d 时活力达到最大值。在单菇重方面,“申香 1513”在菌龄为 95 d 时最高,“5550”在菌龄为 105 d 时最高,且与蕾数的多少结果是一致的,蕾数在低菌龄时较少。“5550”除菌柄直径小于“申香 1513”外,菌盖直径、菌盖厚度和菌柄长度都优于“申香 1513”。且“申香 1513”和“5550”的菌盖直径、菌盖厚度、菌柄长度和菌柄直径在不同菌龄之间均无

表 1 GC-IMS 分析条件
Table 1 GC-IMS analysis conditions

气相-离子迁移谱 GC-IMS		自动顶空进样 Automated headspace sampling	
分析时间	25	进样体积	500
Analysis time (min)		Injection volume (μL)	
色谱柱类型	FS-SE-54-CB-1	孵育时间 Incubation time (min)	15
Column type	(15 m×0.53 mm, 1 μm)	孵育温度 Incubation temperature (°C)	60
柱温	60	进样针温度	85
Column temperature (°C)		Syringe temperature (°C)	
IMS 温度	45	孵化转速	500
IMS temperature (°C)		Incubation speed (r/min)	



图 1 “申香 1513”和“5550”不同菌龄子实体形态图
Fig. 1 Morphology of basidiomata of *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” and “5550” at different spawn age.

表2 “申香 1513” 和 “5550” 子实体农艺性状统计分析

Table 2 Statistical analyses of agronomic traits of <i>Lentinula edodes</i> “Shenxiang 1513” and “5550” fruiting bodies						
农艺性状	“申香 1513” “Shenxiang 1513”			“5550”		
Agronomic traits	95 d	105 d	115 d	95 d	105 d	115 d
第一潮产量	474.22±12.14a	481.05±13.54a	401.42±11.87b	368.75±7.03b	399.27±11.66a	356.70±7.88b
Yield of first fruiting stage (g)						
第二潮产量	153.37±8.82b	187.78±7.89a	121.30±7.61c	109.50±11.17b	250.56±6.60a	114.42±7.16b
Yield of second fruiting stage (g)						
总产量	627.59±14.95a	668.83±18.10a	522.72±11.83b	478.25±11.68b	649.82±9.34a	471.12±10.77b
Total yield (g)						
第一潮单菇重	20.59±0.98a	12.48±1.33b	12.75±1.09b	28.80±1.58a	23.09±1.46b	22.90±1.01b
Single fruiting body weight of first fruiting stage (g)						
第二潮单菇重	24.30±2.32a	18.09±0.88b	19.49±0.71b	23.83±1.46b	34.28±1.85a	32.68±1.51a
Single fruiting body weight of second fruiting stage (g)						
蕾数	29.82±1.52c	40.43±1.57b	50.38±1.41a	16.11±1.10b	38.72±1.09a	17.81±0.75b
Number of fruiting body						
菌盖直径	5.11±0.08a	5.06±0.07a	5.01±0.06a	5.73±0.11a	5.78±0.09a	5.79±0.09a
Diameter of pileus (cm)						
菌盖厚度	1.10±0.01b	1.19±0.02a	1.18±0.01a	1.73±0.02a	1.75±0.04a	1.75±0.04a
Thickness of pileus (cm)						
菌柄长度	4.45±0.11a	4.43±0.13a	4.46±0.14a	4.58±0.14a	4.56±0.14a	4.55±0.09a
Length of stipe (cm)						
菌柄直径	1.98±0.05b	2.18±0.04a	2.16±0.03a	2.22±0.05a	2.10±0.04a	2.09±0.04a
Diameter of stipe (cm)						

同一列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$). 下同

The different lowercase letters in the same column indicated significant differences ($P<0.05$). The same below.

显著性差异。综上所述，香菇在不同菌龄阶段，除产量和蕾数有显著性差异外，其余农艺性状无显著性差异；同等菌龄、不同香菇品种间农艺性状差异显著。说明菌龄对香菇外观品质影响不显著，对产量影响显著。

2.2 不同菌龄香菇挥发性有机物质差异对比分析

不同菌龄“申香 1513”和“5550”的挥发

性有机物质 GC-IMS 三维谱图见图 2 和图 3。图 2 以菌龄为 95 d 的“申香 1513”为参照比，根据谱图颜色判断菌龄为 105 和 115 d 的“申香 1513”中差异挥发性物质。横坐标为 1.0 处红色竖线是经归一化处理的 RIP 峰，RIP 峰两侧的每个点代表一种挥发性有机物，每个点的颜色越深表示浓度越大，对比不同菌龄的挥发性有机物，若物质的浓度与参比一致则为白色，浓度高于参

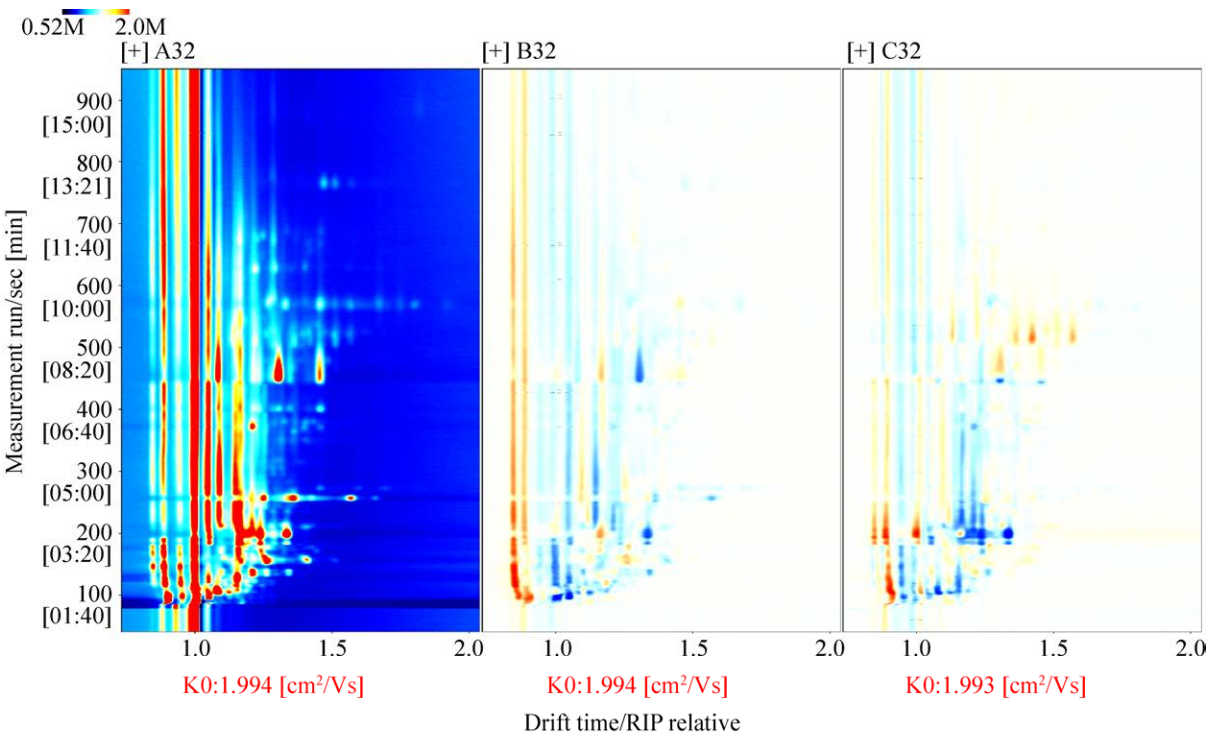


图 2 95、105 和 115 d 的“申香 1513”中挥发性有机物的 GC-IMS 差异谱图

Fig. 2 GC-IMS difference plot of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

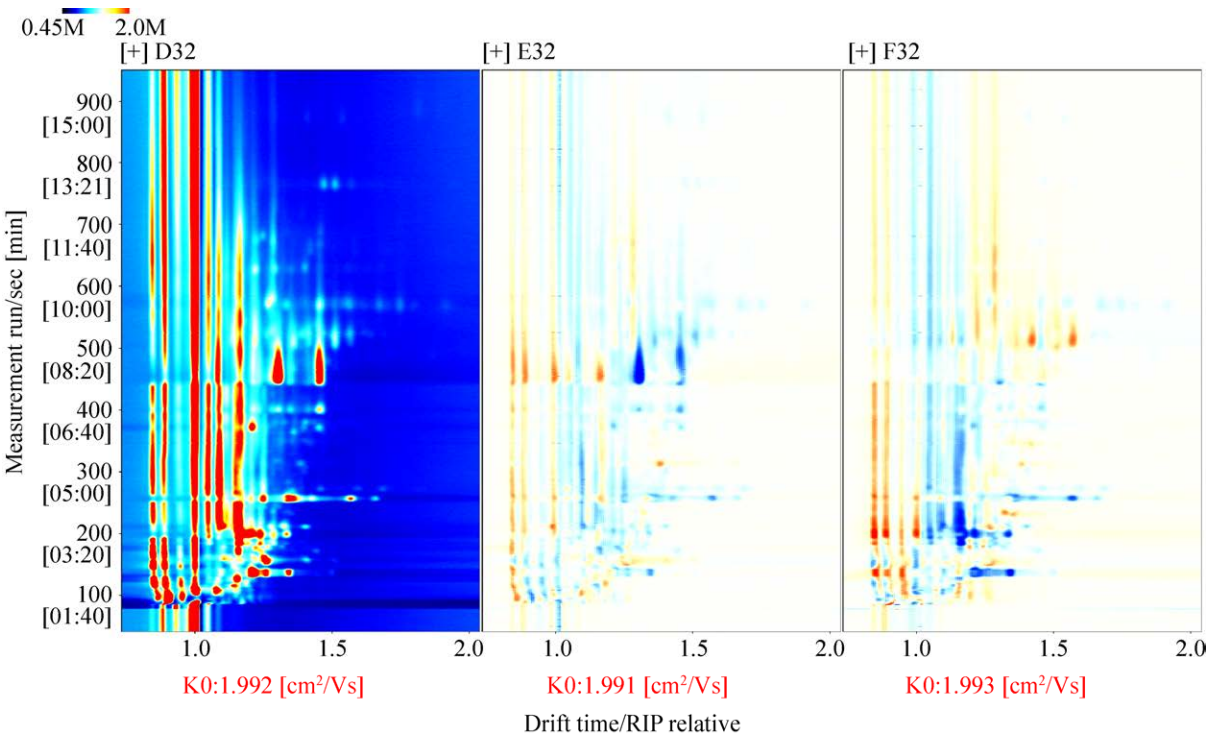


图 3 95、105 和 115 d 的“5550”中挥发性有机物的 GC-IMS 差异谱图

Fig. 3 GC-IMS difference plot of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “5550” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

比则为红色,浓度低于参比则为蓝色。图2显示出不同菌龄“申香 1513”的挥发性有机物存在明显差异,且均含有大量乙酸;在迁移时间为1–1.5 ms 范围内菌龄为105 d 和115 d 的挥发性物质含量显著低于95 d 菌龄的样品。图3以菌龄为95 d 的“5550”为参照比,根据谱图颜色判断菌龄为105 d 和115 d 的“5550”中差异挥发性物质。不同菌龄“5550”的挥发性有机物存在明显差异(图3),也均含有大量乙酸;在迁移时间为1–1.5 ms 范围内菌龄为105 d 和115 d 的挥发性物质含量也显著低于95 d 的样品。不同品种所含有机物质差异不显著,且不同菌龄的“申香 1513”和“5550”都含有大量的乙酸(图2,图3)。此外,菌龄越短所含挥发性物质含量越高,可能是由于随着菌龄的增加,有机物质随着子实体的生长和营养吸收而分解代谢导致的(朱海峰 2021)。

2.3 不同菌龄的香菇挥发性有机物质定性分析

利用 GC×IMS Library Search 内置的 NIST 数据库和 IMS 数据库将挥发性有机物质的气相保留时间和离子迁移时间进行比对和定性分析,不同菌龄的“申香 1513”和“5550”分别鉴定出包括单体和二聚体在内的17和12种挥发性物质,具体信息见表3,其中2个不同香菇品种中的挥发性有机物质种类基本一致。其中“申香 1513”包括6个醛类、3个酯类、3个醇类、2个酮类、2个酸类和1个烯类;“5550”包括4个醛类、3个酯类、2个酸类、1个醇类、1个烯类和1个酮类。其中柠檬烯、己酸乙酯、己醛和乙酸乙酯同时鉴定出了单体和二聚体。

2.4 不同菌龄的香菇挥发性有机物质指纹图谱对比分析

从指纹图谱上可以直观了解到不同菌龄香菇中的挥发性成分信息和不同样品间挥发性有机物质的差异。不同菌龄的“申香 1513”和“5550”的挥发性有机物质指纹图谱见图4和

图5,不同菌龄的香菇中挥发性有机物质有较大差异,不同香菇品种中挥发性有机物质也呈现一定的差异。图4红框中的物质包括丙酮、乙偶姻、异丙醇、壬醛、22和28在“申香 1513”的菌龄为95 d 时的含量最高,显著高于105和115 d 菌龄的含量;黄框中的物质包括己酸乙酯单体及二聚体、23、30和32在菌龄为105 d 中的含量最高,显著高于其他菌龄的含量;橙框中的物质包括3-甲基丁醇、戊醛、庚醛、33、34、35和36在菌龄为115 d 中的含量最高,显著高于其他菌龄的含量。而绿框中的物质如丁酸乙酯在菌龄为115 d 中的含量最低,显著低于其他菌龄的含量;丙酸在菌龄为95 d 中的含量最低;乙酸乙酯单体及二聚体、3-甲基丁醛、2-甲基丁醛、己醛单体及二聚体等在菌龄为105 d 中的含量最低。图5红框中的物质包括乙酸乙酯单体及二聚体和己醛单体及二聚体等在“5550”的菌龄为95 d 时的含量最高,显著高于105 d 和115 d 菌龄的含量;黄框中的物质包括22在菌龄为105 d 时的含量最高;橙框中的物质包括19、25、26、34、35和36在菌龄为115 d 时的含量最高。而绿框中的物质如乙偶姻、丙酸和己酸乙酯等在菌龄为115 d 中的含量最低,显著低于其他菌龄的含量;壬醛等在105 d 中的含量最低。比较“申香 1513”和“5550”品种中挥发性有机物质的信号峰强度,虽然所含的挥发性有机物质较为相似,但“申香 1513”相较于“5550”所含的挥发性有机物质更加丰富。比较不同菌龄之间挥发性有机物质的信号峰强度,菌龄为95 d 时所含的挥发性有机物质较为丰富,菌龄为105 d 时所含的挥发性有机物质较少。以上结果说明,不同香菇品种会导致挥发性有机物质的含量产生变化,不同菌龄的香菇也会导致挥发性有机物质的含量发生变化。且随着菌龄延长,挥发性有机物质含量逐渐减少,但所含物质变化相对较少,可能与菌龄越长营养生殖速度减缓有关。

表 3 不同菌龄的“申香 1513”和“5550”中挥发性有机物质定性分析

Table 3 Qualitative analyses of volatile organic compounds in *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” and “5550” at different spawn age

序号 Serial number	化合物名称 Compound	CAS	分子式 Formula	相对分 子质量 MW	保留 指数 RI	保留 时间 Rt (s)	迁移 时间 Dt (ms)	备注 Comment	“申香 1513” “Shenxiang 1513”	“5550”
1	壬醛 n-nonanal	C124196	C ₉ H ₁₈ O	142.2	1 104.5	769.584	1.469 81		√	√
2	柠檬烯 Limonene	C138863	C ₁₀ H ₁₆	136.2	1 036.9	625.245	1.224 17		√	√
3	柠檬烯 Limonene	C138863	C ₁₀ H ₁₆	136.2	1 039.2	629.617	1.295 06	二聚体 Dimer	√	√
4	己酸乙酯 Ethyl hexanoate	C123660	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.2	1 006.6	569.658	1.334 27		√	√
5	己酸乙酯 Ethyl hexanoate	C123660	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.2	1 006.9	570.282	1.806 38	二聚体 Dimer	√	
6	己醛 Hexanal	C66251	C ₆ H ₁₂ O	100.2	794.0	256.051	1.259 82		√	√
7	己醛 Hexanal	C66251	C ₆ H ₁₂ O	100.2	796.0	257.836	1.573 93	二聚体 Dimer	√	√
8	乙偶姻 3-hydroxy-2-butanone	C513860	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	724.6	198.591	1.337 2		√	√
9	2-甲基丁醛 2-methylbutanal	C96173	C ₅ H ₁₀ O	86.1	660.7	160.661	1.406 66		√	√
10	3-甲基丁醛 3-methylbutanal	C590863	C ₅ H ₁₀ O	86.1	649.9	155.83	1.410 54		√	√
11	乙酸乙酯 Ethyl acetate	C141786	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	602.5	136.138	1.099 98		√	√
12	乙酸乙酯 Ethyl acetate	C141786	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	605.9	137.439	1.346 49	二聚体 Dimer	√	√
13	异丙醇 2-propanol	C67630	C ₃ H ₈ O	60.1	513.3	105.558	1.084 37		√	√
14	乙醇 Ethanol	C64175	C ₂ H ₆ O	46.1	484.5	97.255	1.05 14		√	
15	丙酸 Propanoic acid	C79094	C ₃ H ₆ O ₂	74.1	695.7	178.549	1.266 09		√	√
16	丙酮 Acetone	C67641	C ₃ H ₆ O	58.1	508.1	104.013	1.126 87		√	
17	庚醛 Heptanal	C111717	C ₇ H ₁₄ O	114.2	903.8	381.775	1.327 97		√	
18	醋酸 Acetic acid	C64197	C ₂ H ₄ O ₂	60.1	574.6	125.728	1.155 62		√	√
19	戊醛 Pentanal	C110623	C ₅ H ₁₀ O	86.1	695.8	178.673	1.427 45		√	
20	丁酸乙酯 Ethyl butanoate	C105544	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	795.3	257.238	1.211 25		√	√
21	3-甲基丁醇 3-methylbutanol	C123513	C ₅ H ₁₂ O	88.1	739.9	210.047	1.496 46		√	

CAS, chemical abstracts service; MW, molecular weight; RI, retention index; Rt, residence time; Dt, drift time.

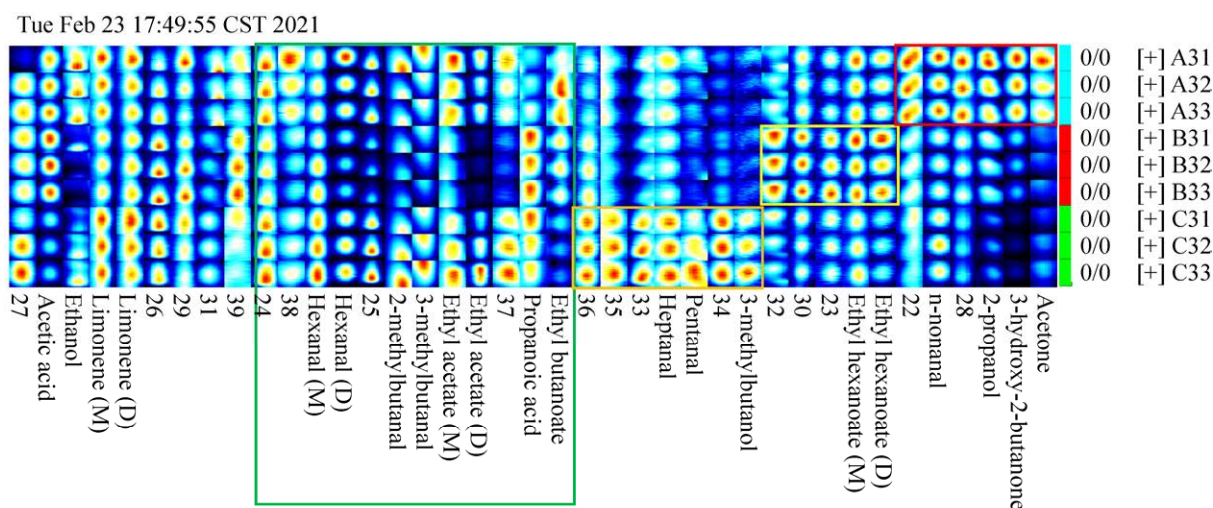


图 4 95、105 和 115 d 的“申香 1513”中挥发性有机物的指纹图谱

Fig. 4 Fingerprint of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” detected by GC-IMS at different spawn age (95, 105 and 115 d).

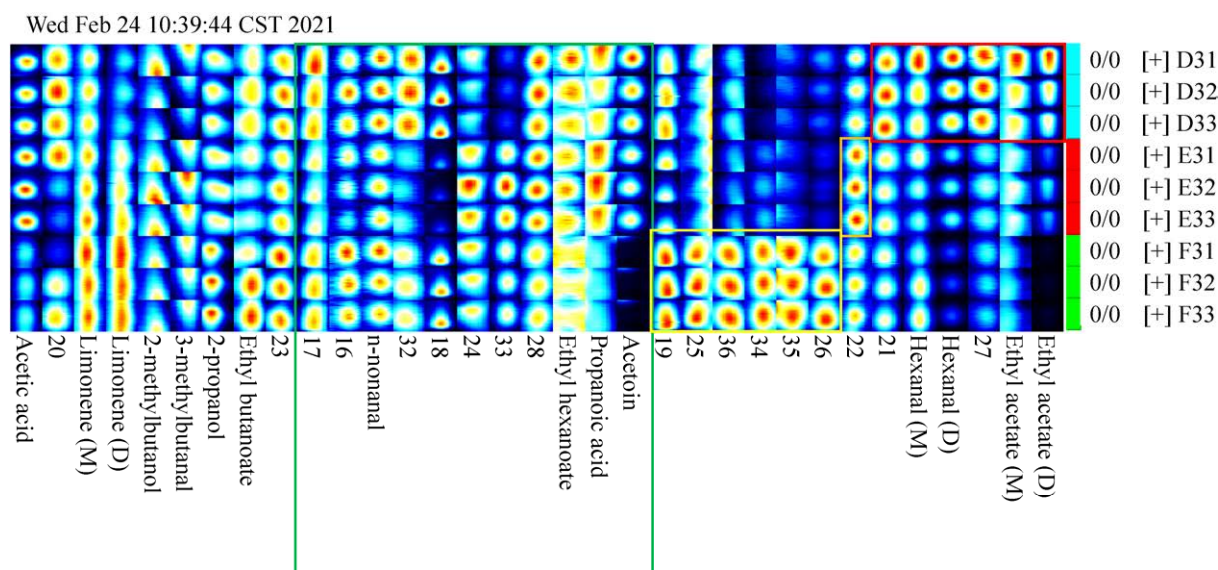


图 5 95、105 和 115 d 的“5550”中挥发性有机物的指纹图谱

Fig. 5 Fingerprint of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “5550” detected by GC-IMS at different spawn age (95, 105 and 115 d).

2.5 不同菌龄的香菇挥发性有机物质 PCA 分析

本研究以特征峰对应的峰强度值为参数变量,对不同菌龄的“申香 1513”和“5550”进行 PCA 分析和指纹图谱相似度分析(图 6–图 9)。

“申香 1513”的前 2 个 PC 的累计方差贡献率分别为 53%和 41% (图 6),说明前 2 个 PC 包含了

“申香 1513”不同菌龄中大部分挥发性有机物质的信息,可用于分析“申香 1513”中挥发性风味在不同菌龄阶段的动态变化。“5550”的前 2 个 PC 的累计方差贡献率分别为 59%和 32% (图 8),说明前 2 个 PC 包含了“5550”不同菌龄中绝大部分挥发性有机物质的信息并可用于分析挥发性风味的动态变化。且不同菌龄的“申香 1513”

和“5550”样品在PCA分布图上独立分布，同一菌龄的样品相对距离较近，说明检测重复性较好，不同菌龄的样品存在明显的差距，说明不同菌龄之间的挥发性有机物质差异性较明显。同样可以看出不同香菇品种之间的挥发性有机物质相对相似，但也存在一定差异，在菌龄为105 d

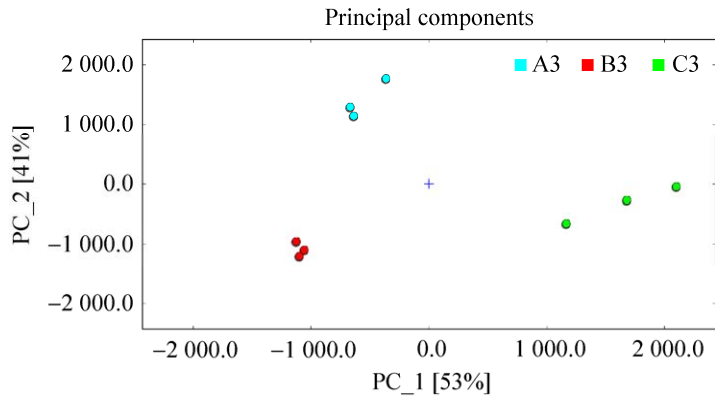


图 6 95、105 和 115 d 的“申香 1513”中挥发性有机物的 PCA 图 蓝色为 95 d，红色为 105 d，绿色为 115 d. 下同

Fig. 6 PCA score diagram of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” at different spawn age (95, 105 and 115 d). 95 d in blue, 105 d in red, and 115 d in green. The same below.

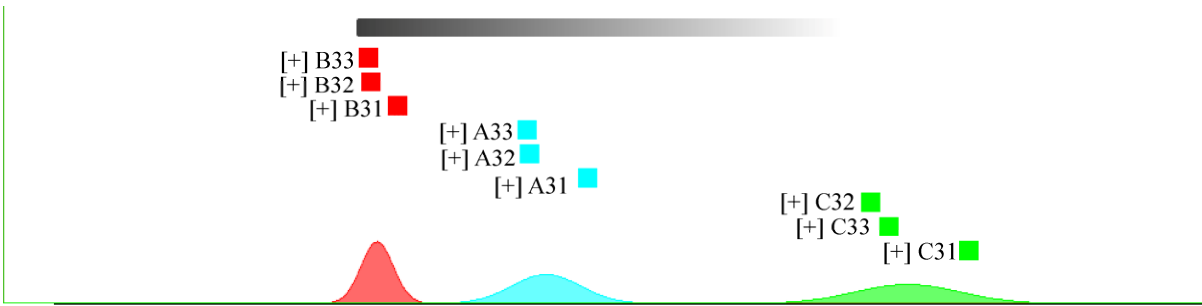


图 7 95、105 和 115 d 的“申香 1513”指纹图谱相似度分析

Fig. 7 Fingerprint similarity analysis of *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

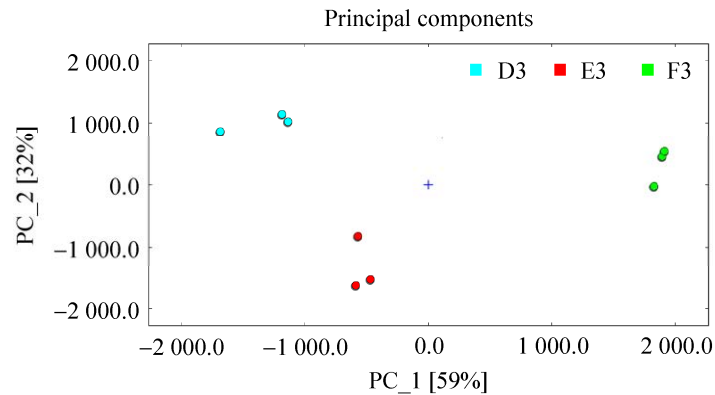


图 8 95、105 和 115 d 的“5550”中挥发性有机物的 PCA 图

Fig. 8 PCA score diagram of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “5550” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

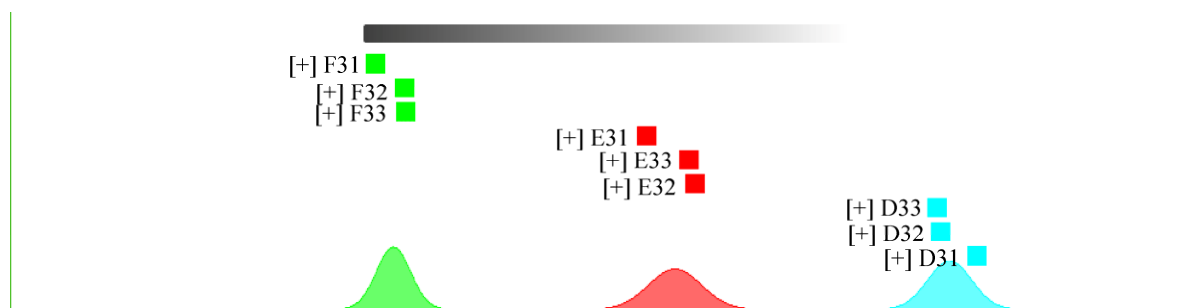


图9 95、105和115 d的“5550”指纹图谱相似度分析

Fig. 9 Fingerprint similarity analysis of *Lentinula edodes* “5550” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

时,“申香 1513”和“5550”有明显的差别。指纹图谱相似分析结果和 PCA 分析结果基本一致。其中,图 7 中菌龄为 95 d 和 105 d 的距离较小,说明样品所含的挥发性有机物质差异不明显;图 9 中 3 个不同菌龄样品间的距离都偏远,说明样品中所含的挥发性有机物质存在一定的差异。

2.6 不同菌龄的香菇标志性挥发性有机物质分析

以鉴定出来的特征性挥发性化合物变化峰强数据制作聚类热图,以分析不同菌龄的香菇标志性挥发性化合物的变化(图 10, 图 11),菌龄为 95 d 和 105 d 的“申香 1513”和“5550”样品中

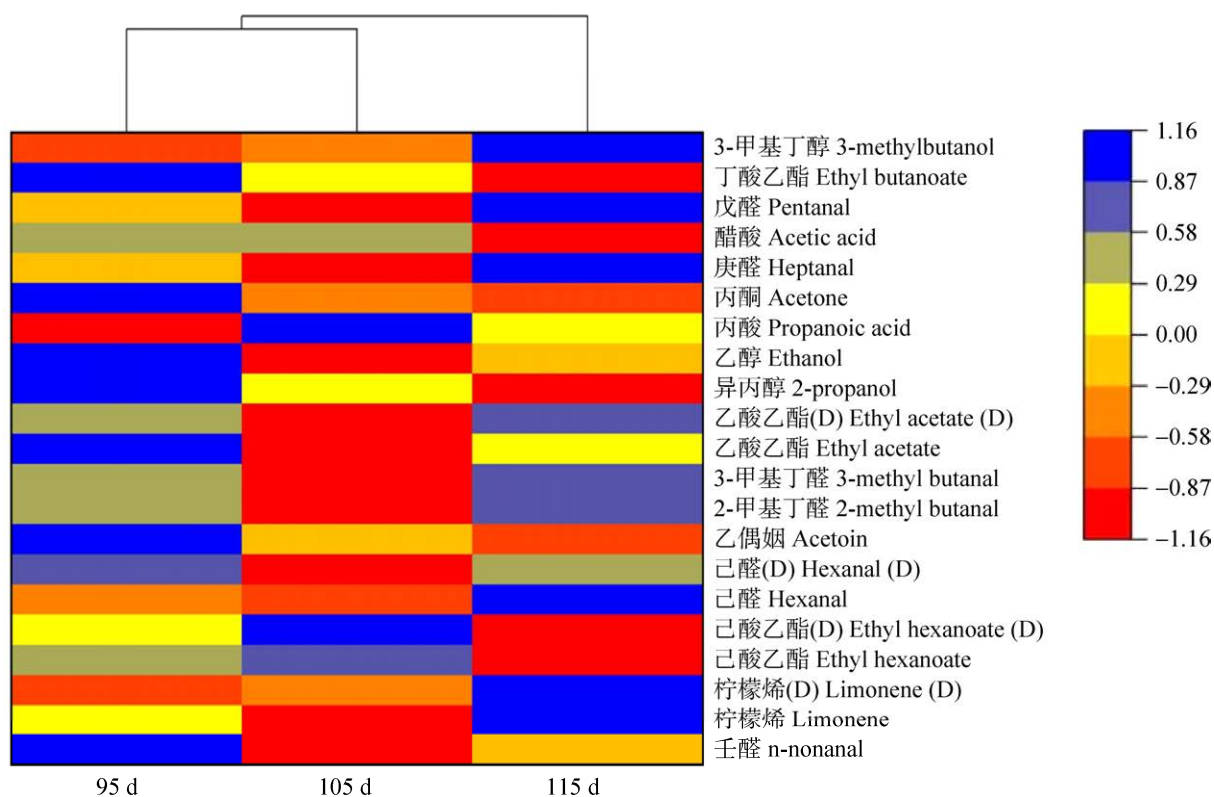


图10 95、105和115 d的“申香 1513”挥发性有机物的聚类分析热图

Fig. 10 Cluster heat map of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “Shenxiang 1513” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

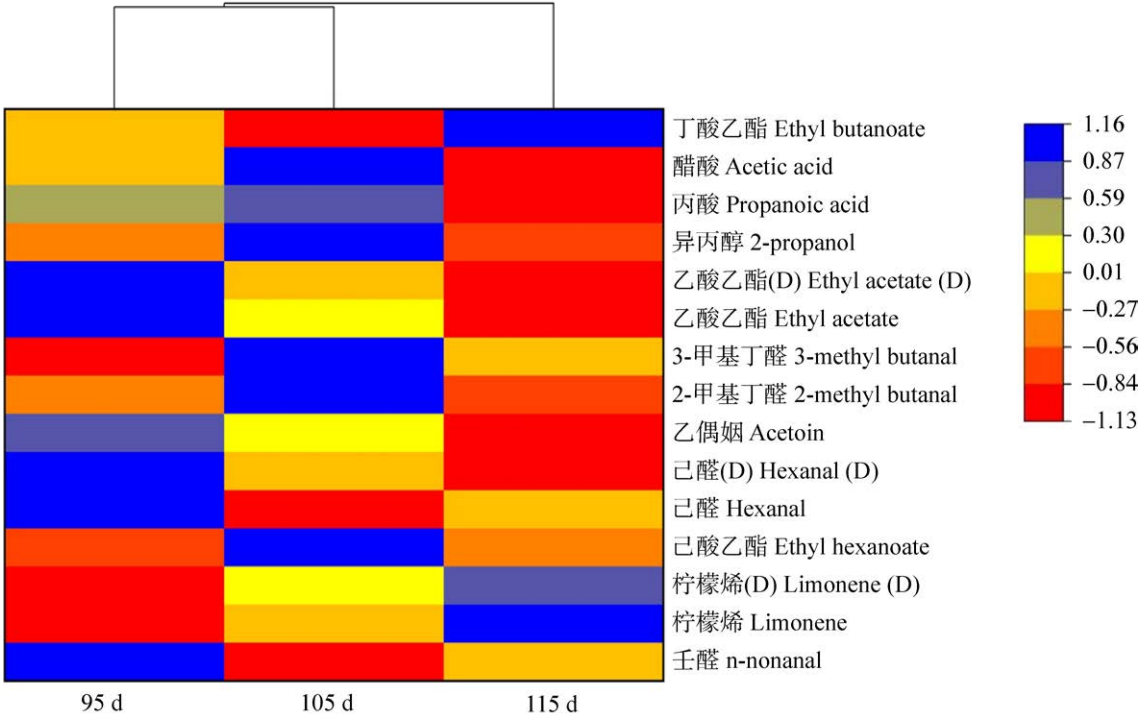


图 11 95、105 和 115 d 的“5550”挥发性有机物的聚类分析热图
Fig. 11 Cluster heat map of volatile organic compounds of *Lentinula edodes* “5550” at different spawn age (95, 105 and 115 d).

挥发性有机物均较为相似。其中“申香 1513”中 3-甲基丁醇、戊醛、庚醛、己醛和柠檬烯的含量随着菌龄的增加逐渐增加，而丁酸乙酯、乙酸乙酯、乙偶姻、丙酮、乙醇、异丙醇和壬醛的含量随着菌龄的增加逐渐下降。“5550”中丁酸乙酯和柠檬烯的含量随着菌龄的增加逐渐增加，乙酸乙酯、己醛和壬醛的含量随着菌龄的增加逐渐下降。“申香 1513”和“5550”样品中柠檬烯均是逐步增加，乙酸乙酯和壬醛均是逐步减少。

3 讨论

本研究通过 GC-IMS 鉴定分析了不同菌龄阶段不同香菇品种挥发性有机物的变化,结果表明 2 个不同香菇品种中的挥发性有机物种类基本一致,主要包含醛类、酯类、醇类、酮类、酸类和烯类,其中还同时鉴定出了部分有机物的单

体和二聚体,这些化合物构成了香菇的特有风味。此外,挥发性有机物在不同菌龄阶段含量也发生了明显的变化,主要是醛类、酯类和烯类化合物,其中柠檬烯均逐步增加,乙酸乙酯和壬醛均逐步减少。

香菇挥发性风味物质主要包括含硫化合物、八碳化合物、酸类、酮类、醛类和酯类化合物,其中二甲基二硫、二甲基三硫、1,2,4-三硫杂环戊烷、香菇精等含硫化合物和 1-辛烯-3-醇等是主要香气成分。其中,酯类具有水果的芳香味,酮类具有花香和果香风味,醛类具有花香及果香气味。本研究检测到的挥发性有机物质中,壬醛具有玫瑰、橙皮气味,柠檬烯具有柑橘气味,己酸乙酯具有菠萝甜果气味,己醛具有新鲜青草香味,乙偶姻具有甜黄奶油味,2-甲基丁醛具有咖啡、坚果香味,3-甲基丁醛具有巧克力味,乙酸乙酯具有水果甜味和青草香味,异丙醇具有木质

味,丙酸具有辛辣味,丙酮具有苹果和梨水果味,庚醛具有葡萄酒味,戊醛具有发酵的面包和坚果香味,丁酸乙酯具有菠萝等水果香味,3-甲基丁醇具有威士忌和香蕉风味。随着培养时间的增加,不同挥发性有机物质的相互交叉作用,使得香菇具有特殊风味特征。在本研究中,烯类、醛类和醇类等物质可能在香菇风味形成过程中起到积极作用。

香菇的风味和香味可能是由多种化合物混合导致的。本研究与殷朝敏等(2019)研究发现香菇鲜品中主体挥发性香气成分为硫化物和酮类有一致性。陈万超等(2016)通过顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术(SPME-GC-MS)对12个香菇品种挥发性成分进行了分析,构建了香菇特征图谱,且不同香菇品种的挥发性化合物分布与遗传亲缘关系一致,说明不同品种的香菇中挥发性物质存在差异。罗小叶等(2022)利用HS-SPME-GC-MS对不同栽培配方栽培的香菇子实体挥发性风味物质进行差异分析,结果表明在香菇子实体中,挥发性风味物质主要包括醇类、醛类、酮类、酯类、醚类、烷烃类和烯烃类等,且不同栽培配方的香菇子实体中挥发性物质含量和种类存在差异,说明不同栽培方式、环境条件和品种等因素可能影响香菇的挥发性物质组成,与本研究结果一致。梁怡等(2020)也采用HS-SPME-GC-MS对9种不同组成的培养基栽培的香菇挥发性风味物质进行了差异分析,结果表明挥发性物质主要为烃类、醇类和酮类物质,且9种培养基的挥发性成分的种类差异不显著,可能与所采用的栽培配方比较类似有关。肖冬来等(2018)利用GC-IMS分析27个不同香菇干样品挥发性风味成分,结果发现不同香菇品种的挥发性风味成分存在明显差异,不同栽培基质也能明显影响香菇的风味物质形成,与本研究结果类似。在本研究中,“申香1513”和“5550”都具有多种挥发性有机物,在不同菌龄阶段均存在明显差异。

本研究使用GC-IMS技术对2个香菇品种不同菌龄中的挥发性化合物进行了检测,并运用指纹图谱信息库和化学计量法初步确定2个香菇品种的3个不同菌龄阶段中挥发性物质的类型和含量。分别鉴定出包括单体和二聚体在内的17种和12种挥发性物质,其中3-甲基丁醇、戊醛、庚醛、己醛和柠檬烯可作为区别“申香1513”不同菌龄阶段的特征挥发性有机物,丁酸乙酯和柠檬烯则可作为区别“5550”不同菌龄阶段的特征挥发性有机物。柠檬烯的含量随着菌龄的增加呈上升趋势,乙酸乙酯和壬醛的含量随着菌龄的增加呈下降趋势。结合PCA和热图研究不同菌龄阶段挥发性化合物的变化,结果发现,不同菌龄的香菇中挥发性有机物质有较大差异,不同香菇品种中挥发性有机物质也呈现一定的差异。其中菌龄为95 d和105 d时挥发性有机物均较为相似,但菌龄为95 d时所含的挥发性有机物质较为丰富,菌龄为105 d时所含的挥发性有机物质相对较少。不同香菇品种及在不同生长时期会产生各种各样的风味特征物质,不同的特征风味物质影响了香菇的风味,进而影响了香菇的品质。通过对不同香菇品种和不同菌龄的挥发性物质差异进行研究,为明确香菇特征性风味关键物质及其形成提供了一定的数据支撑,并为香菇的品质育种选择上提供理论依据。

[REFERENCES]

- Ai ZP, Mowafy S, Liu YH, 2022. Comparative analyses of five drying techniques on drying attributes, physicochemical aspects, and flavor components of *Amomum villosum* fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 154: 112879
- Chen D, Qin L, Geng Y, Kong QL, Wang SL, Lin SY, 2021. The aroma fingerprints and discrimination analysis of shiitake mushrooms from three different drying conditions by GC-IMS, GC-MS and DSA. *Foods*, 10(12): 2991
- Chen HY, Bao DP, Kang QJ, Wu YY, 2018. Research progress of volatiles in *Lentinula edodes*. *Acta Edulis Fungi*, 25(4): 105-114 (in Chinese)
- Chen WC, Yang Y, Li W, Jiang J, Yu HL, Feng J, Li XB, Liu

- K, 2016. Analysis of volatile components in *Lentinula edodes* by SPME-GC-MS and establishment of fingerprint. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 35(10): 1074-1080 (in Chinese)
- Dai XS, Stanilka JM, Rowe CA, Esteves EA, Percival SS, 2015. Consuming *Lentinula edodes* (shiitake) mushrooms daily improves human immunity: a randomized dietary intervention in healthy young adults. *Journal of the American College of Nutrition*, 34(6): 478-487
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. *Mycosystema*, 27: 801-824 (in Chinese)
- Feng T, Shui MZ, Li X, Song SQ, Zhuang HN, Zhang JS, 2018. Advances in flavor substances research in edible mushrooms. *Acta Edulis Fungi*, 25(4): 97-104 (in Chinese)
- Hou D, Huang WH, Chen HY, Wu YY, Bao DP, Wang WC, Tao XS, Yang RH, 2021. Amino acid profile and protein quality of *Lentinula edodes* with ball-shaped fruiting bodies. *Mycosystema*, 40(9): 2412-2422 (in Chinese)
- Ina H, Yoneda M, Kanda M, 2016. Lentinan, a shiitake mushroom β -glucan, stimulates tumor-specific adaptive immunity through PD-L1 down-regulation in gastric cancer cells. *Medicinal Chemistry*, 6(12): 710-714
- Li JH, Yang B, Ren JY, Jin WS, Sun SJ, Hu KH, 2021. Effects of hot air drying temperature on drying characteristics and volatile flavor compounds for *Lyophyllum decastes*. *Mycosystema*, 40(12): 3304-3319 (in Chinese)
- Li MQ, Yang RW, Zhang H, Wang SL, Chen D, Lin SY, 2019. Development of a flavor fingerprint by HS-GC-IMS with PCA for volatile compounds of *Tricholoma matsutake* Singer. *Food Chemistry*, 290: 32-39
- Li W, Chen WC, Yang Y, Zhang JS, Feng J, Yu HL, 2018. Volatile flavor components and flavor quality evaluation of *Lentinula edodes* harvested at different growth stages. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 32(2): 325-334 (in Chinese)
- Li YN, Wang WL, Jia FJ, Gong ZQ, Zhao FC, Song SS, 2021. Flavor compounds research progress and product development of *Lentinus edodes*. *Food Research and Development*, 42(10): 186-192 (in Chinese)
- Liang Y, Liu GX, Li PT, Guo HZ, Chu ZD, Zhou ZG, Shang XL, 2020. Effects of different media on volatile flavor compounds of *Lentinus edodes*. *Food Research and Development*, 41(24): 17-23 (in Chinese)
- Liu HC, Xu YJ, Wu JJ, Wen J, Yu YS, An KJ, Zou B, 2021. GC-IMS and olfactometry analysis on the tea aroma of Yingde black teas harvested in different seasons. *Food Research International*, 150(Pt A): 110784
- Lu XS, Liu CY, Zhao LY, 2019. Advances in *Lentinus edodes* flavor and analytical technique. *Food Research and Development*, 40(22): 197-202 (in Chinese)
- Luo XY, Zhao HJ, Ban SD, Wang XD, 2022. Volatile components analysis by HS-SPME-GC-MS in different compound formulas of cultivated *Lentinus edodes*. *Food and Fermentation Industries*, 48(6): 250-256 (in Chinese)
- Qin GJ, Zhao GJ, Ouyang CB, Liu JL, 2021. Aroma components of tobacco powder from different producing areas based on gas chromatography ion mobility spectrometry. *Open Chemistry*, 19: 442-450
- Sun DF, Hu XS, Zhang SS, 2021. Changes in volatile compounds of *Lanmaoa asiatica* during controlled atmosphere storage using electronic nose combined with gas chromatography-ion mobility spectroscopy. *Science and Technology of Food Industry*, 42(21): 111-117 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Wu WW, Zhan JL, Tang XY, Li T, Duan SN, 2022. Characterization and identification of pork flavor compounds and their precursors in Chinese indigenous pig breeds by volatile profiling and multivariate analysis. *Food Chemistry*, 385: 132543
- Xiao DL, Zhang D, Huang XJ, Yang J, 2018. Aromatic volatiles in *Lentinula edodes* determined by gas chromatography-ion mobility spectrometry. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 33(3): 309-312 (in Chinese)
- Yang F, Fan CM, Jia HF, Ren F, 2021. Analysis of flavor compounds of *Morchella* spp. from different habitats based on gas chromatography-ion mobility spectrum. *Science and Technology of Food Industry*, 47(10): 207-213 (in Chinese)
- Yang X, Zhang LL, Kong Y, Zhang YY, Sun BG, Chen HT, 2017. Analysis of volatile flavor compounds of *Lentinula Edodes* with four different treatment methods by solid-phase micro-extraction combine with gas chromatography-mass spectrometry. *Food Science and Technology*, 42(11): 300-307 (in Chinese)
- Yin CM, Fan XZ, Shi DF, Fan J, Cheng W, Gao H, 2019. Flavor compounds analysis of 5 fresh mushrooms using HS-SPME-GC-MS and HPLC. *Science and Technology of Food Industry*, 40(3): 254-260 (in Chinese)
- Yu CX, Wang H, Zhao Y, Chen MJ, Song XX, Li ZP, Xi LP, Zhang MY, Wang CG, 2017. Comparison of volatile components in two *Lentinula edodes* strains by SPEME-GC-MS. *Acta Edulis Fungi*, 24(4): 65-70 (in Chinese)

- Chinese)
- Zhang GZ, Tian J, Zhang YZ, Li SS, Qing ZH, Hu FL, 2021. Investigation of the maturity evaluation indicator of honey in natural ripening process: the case of rape honey. *Foods*, 10(11): 2882
- Zhang YH, Fang DL, Zhong L, Hu QH, Zhao LY, 2022. Effects of hot air-drying and vacuum freeze-drying on flavor components in different parts of *Hericium erinaceus*. *Science and Technology of Food Industry*, 43(8): 58-67 (in Chinese)
- Zhao TF, Cao ZC, Yu J, Weng XD, Benjakul S, Guidi A, Ying XG, Ma LK, Xiao GS, Deng SG, 2022. Gas-phase ion migration spectrum analysis of the volatile flavors of large yellow croaker oil after different storage periods. *Current Research in Food Science*, 5: 813-822
- Zheng WM, Zhang LJ, Li QZ, Song CY, Shang XD, Tan Q, 2021. Genetic law of important agronomic traits of *Lentinula edodes* in F2 and F3 generations. *Mycosystema*, 40(12): 3129-3142 (in Chinese)
- Zhu HF, 2021. Study on the aging evaluation indicators of *Auricularia auricula* liquid spawn. Master Thesis, Northeast Agricultural University, Harbin. 1-55 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 陈洪雨, 鲍大鹏, 康前进, 吴莹莹, 2018. 香菇挥发性风味物质的研究进展. *食用菌学报*, 25(4): 105-114
- 陈万超, 杨焱, 李文, 蒋俊, 于海龙, 冯杰, 李晓贝, 刘昆, 2016. 香菇挥发性成分 SPME-GC-MS 分析及特征指纹图谱的建立. *食品与生物技术学报*, 35(10): 1074-1080
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. *菌物学报*, 27: 801-824
- 冯涛, 水梦竹, 李雪, 宋诗清, 庄海宁, 张劲松, 2018. 食用菌风味物质的研究进展. *食用菌学报*, 25(4): 97-104
- 侯娣, 黄卫华, 陈洪雨, 吴莹莹, 鲍大鹏, 王文成, 陶祥生, 杨瑞恒, 2021. 球状香菇菌株的氨基酸特征分析及蛋白质品质评价. *菌物学报*, 40(9): 2412-2422
- 李佳欢, 杨斌, 任佳媛, 金文松, 孙淑静, 胡开辉, 2021. 热风干燥温度对荷叶离褶伞干燥特性及挥发性风味物质的影响. *菌物学报*, 40(12): 3304-3319
- 李文, 陈万超, 杨焱, 张劲松, 冯杰, 于海龙, 2018. 香菇生长过程中挥发性风味成分组成及其风味评价. *核农学报*, 32(2): 325-334
- 李延年, 王文亮, 贾凤娟, 弓志青, 赵凤春, 宋莎莎, 2021. 香菇呈味物质研究进展及产品开发. *食品研究与开发*, 42(10): 186-192
- 梁怡, 刘改霞, 李朋泰, 郭红珍, 褚卓栋, 周志国, 尚校兰, 2020. 不同培养基对香菇挥发性风味物质的影响. *食品研究与开发*, 41(24): 17-23
- 卢晓烁, 刘常园, 赵立艳, 2019. 香菇风味及其分析技术研究进展. *食品研究与开发*, 40(22): 197-202
- 罗小叶, 赵皓静, 班世栋, 王晓丹, 2022. 顶空固相微萃取-气质联用法对不同多效价复合配方栽培香菇子实体挥发性风味成分分析. *食品与发酵工业*, 48(6): 250-256
- 孙达锋, 胡小松, 张沙沙, 2021. 电子鼻结合气相-离子迁移谱联用技术分析兰茂牛肝菌气调贮藏期间挥发性风味物质的变化. *食品工业科技*, 42(21): 111-117
- 肖冬来, 张迪, 黄小菁, 杨菁, 2018. 香菇挥发性风味成分的气相色谱-离子迁移谱分析. *福建农业学报*, 33(3): 309-312
- 杨芳, 范成梦, 贾洪锋, 任芳, 2021. 基于气相色谱-离子迁移谱对不同产地羊肚菌的风味化合物分析. *食品与发酵工业*, 47(10): 207-213
- 杨肖, 张莉莉, 孔琰, 张玉玉, 孙宝国, 陈海涛, 2017. 应用 SPME-GC-MS 对比分析 4 种不同处理方式下香菇中的挥发性风味成分. *食品科技*, 42(11): 300-307
- 殷朝敏, 范秀芝, 史德芳, 樊喆, 程薇, 高虹, 2019. HS-SPME-GC-MS 结合 HPLC 分析 5 种食用菌鲜品中的风味成分. *食品工业科技*, 40(3): 254-260
- 余昌霞, 汪虹, 赵妍, 陈明杰, 宋晓霞, 李正鹏, 奚莉萍, 张美彦, 王晨光, 2017. 两个香菇菌株的挥发性物质比较. *食用菌学报*, 24(4): 65-70
- 张毅航, 方东路, 仲磊, 胡秋辉, 赵立艳, 2022. 热风干燥和真空冷冻干燥对猴头菇不同部位风味物质的影响. *食品工业科技*, 43(8): 58-67
- 郑文妹, 章炉军, 李巧珍, 宋春艳, 尚晓冬, 谭琦, 2021. 香菇沪香 F2 菌株重要农艺性状在 F2 和 F3 代中的遗传规律. *菌物学报*, 40(12): 3129-3142
- 朱海峰, 2021. 黑木耳液体菌种老化评价指标的研究. 东北农业大学硕士论文, 哈尔滨. 1-55