

# 固相微萃取-气相-质谱联用法 分析黑蒜中的挥发性风味物质

张中义<sup>1,2</sup>, 张品峰<sup>1</sup>, 邵文科<sup>1</sup>, 柴颖<sup>1</sup>

(1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;

2. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001)

**摘要:**以新鲜大蒜为原料,自然发酵成黑蒜,利用固相微萃取法提取发酵黑蒜中的挥发性风味物质,对其进行气相-质谱(GC-MS)分析,并与新鲜大蒜进行比较.结果表明,黑蒜中相对含量较高的挥发性风味物质有14种,主要为2,2-二甲基-1,3-二噻烷(41.26%,有香味),二烯丙基硫醚(22.10%,有淡香味),二烯丙基二硫醚(9.67%,有强刺激性)等.与新鲜大蒜相比,黑蒜中二烯丙基二硫醚等刺激性物质含量显著降低,具有香味的噻烷类物质明显增加;同时,黑蒜中还生成了新鲜大蒜中所没有的吡嗪类香味物质,使黑蒜具有愉快的特殊香气.

**关键词:**黑蒜;固相微萃取;GC-MS;挥发性风味物质

**中图分类号:**TS207.3 **文献标志码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.2095-476X.2015.3/4.002

## Analysis of volatile flavor compound in black garlic by solid phase microextraction-GC-MS

ZHANG Zhong-yi<sup>1,2</sup>, ZHANG Pin-feng<sup>1</sup>, SHAO Wen-ke<sup>1</sup>, CHAI Ying<sup>1</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Collaborative Innovation Center for Food Production and Safety of He'nan, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Using fresh garlic as raw material to ferment black garlic naturally, volatile flavor compounds from black garlic were collected using solid-phase microextraction (SPME) and identified by GC-MS. The components were compared with the volatile components of fresh garlic. The results showed that 14 kinds of volatile flavor compounds content in black garlic were higher. The main compounds extracted from black garlic were 2,2-dimethyl-1,3-dithiane (41.26%, fragrant), diallyl sulfide (22.10%, light fragrant), diallyl disulphide (9.67%, strong irritant), and so on. Compared with fresh garlic, the excitant material content in black garlic such as diallyl disulphide decreased significantly while thiamethoxam alkanes with aromas material increased. At the same time, pyrazine flavoring substances also generated in black garlic which were nonexistent in the fresh garlic, and gave the black garlic special pleasant aroma.

**Key words:** black garlic; solid phase microextraction (SPME); GC-MS; volatile flavor compound

收稿日期:2015-03-10

基金项目:郑州轻工业学院重大项目(2011XJJZDYY005)

作者简介:张中义(1957—),男,河南省信阳市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为食品科学与技术.

## 0 引言

新鲜大蒜和普通大蒜制品均具有较强的刺激性气味,一定程度上限制了大蒜在食品中的应用.黑蒜是新鲜大蒜在特殊条件下发酵制成的一种新型大蒜制品,其鳞茎呈现黑色,抗氧化功能得到显著提高<sup>[1]</sup>,风味发生较大变化,口感酸甜,具有诱人的特殊香气,从而消除了新鲜大蒜的刺激气味,进一步拓宽了大蒜制品的调味应用领域.黑蒜的特殊香气表明,其加工过程中可能发生了较为复杂的香味化学变化,生成了新的香味物质.周春丽等<sup>[2]</sup>采用固相微萃取-气质联用法分析了新鲜大蒜的风味物质,发现其主要风味物质是二烯丙基二硫醚.周菊花<sup>[3]</sup>采用顶空固相微萃取-气质联用法分析了生、熟大蒜中的挥发性风味物质,发现大蒜的特殊风味主要是由挥发性成分中的含硫化合物提供的.目前对黑蒜中挥发性物质组成的研究少见报道,笔者<sup>[4]</sup>曾采用同时蒸馏萃取-气质联用法研究了黑蒜中的挥发性物质,结果表明,与新鲜大蒜相比,黑蒜中挥发性物质的组成发生了较大变化,刺激性挥发物质含量明显下降,香气化合物显著增加.但该方法萃取温度较高(100℃),可能会导致样品中热不稳定挥发性物质的破坏、降解,检测结果尚不能真实反映黑蒜中的挥发性物质组成.

固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)是1990年代出现的一种新颖的样品前处理技术,主要用于样品中挥发性物质的富集与萃取,属于非溶剂型选择性萃取法.样品萃取过程不需要高温加热,不会破坏样品中的热不稳定物质,能较准确地反映样品的挥发性物质组成,且避免溶剂萃取带来的污染.对食品中挥发性风味物质的分析检测多采用GC-MS联用法,这两种技术的结合是近年来发展起来的一种高效分析食品中挥发性风味物质的新方法<sup>[2-3]</sup>.本文拟采用SPME-GC-MS联用法分析黑蒜中的挥发性风味物质,以期进一步拓宽大蒜制品的调味应用领域.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

材料:新鲜大蒜,为中牟白皮大蒜,购于陈寨农贸市场;黑蒜,郑州轻工业学院实验室自制.

仪器:TZ/HS型恒温恒湿箱,上海腾尊仪器设备有限公司产;Agilent 7890GC/5975C型气质联用

仪,美国Agilent公司产;YP6102型电子天平(0.01g),上海光正医疗仪器有限公司产;HH-S2型数显恒温水浴锅( $\pm 1^\circ\text{C}$ ),金坛市医疗仪器厂产;SPME萃取头PDMS/DVB(65 $\mu\text{m}$ ),PDMS(100 $\mu\text{m}$ ),CAR/PDMS(75 $\mu\text{m}$ ),上海安谱科学仪器有限公司产.

### 1.2 实验方法

**1.2.1 黑蒜的制备** 新鲜大蒜自然发酵(60~80℃,相对湿度70%~95%)50 d.

#### 1.2.2 SPME萃取条件的优化<sup>[5]</sup>

**1.2.2.1 萃取头的选择** 分别将PDMS/DVB(65 $\mu\text{m}$ ),PDMS(100 $\mu\text{m}$ ),CAR/PDMS(75 $\mu\text{m}$ )在气相色谱的进样口处于250℃下老化30 min,然后准确称取3份新鲜大蒜,各2.00 g,用研钵研碎后放入3个15 mL样品瓶中,50℃水浴平衡30 min,再将老化好的固相萃取头插入各样品瓶上部,推出萃取头,在50℃下萃取30 min后,立即在GC进样口解析5 min,进行GC-MS分析.

**1.2.2.2 萃取温度的选择** 在其他条件不变的情况下,用PDMS/DVB(65 $\mu\text{m}$ )萃取头分别在30℃,40℃,50℃,60℃,70℃的水浴加热条件下顶空萃取30 min,然后在GC进样口解析5 min,进行GC-MS分析.

**1.2.2.3 萃取时间的选择** 在其他条件不变的情况下,用PDMS/DVB(65 $\mu\text{m}$ )萃取头在50℃的水浴加热条件下顶空萃取10 min,20 min,30 min,40 min,50 min,然后立即在GC进样口解析5 min,进行GC-MS分析.

**1.2.3 GC-MS检测条件** GC条件:色谱柱选用DB-5毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm,0.25 $\mu\text{m}$ );载气He,流量1.0 mL/min;进样量1 $\mu\text{L}$ ,不分流;进样口温度250℃;起始柱温50℃,以6℃/min的速率升至280℃,保持10 min.

MS条件:接口温度280℃;离子源温度230℃;四极杆温度150℃;电离方式EI;电子能量70 eV;扫描质量范围33~450 amu.

**1.2.4 重复实验** 在上述实验得到最佳条件的基础上,作3次重复实验,以保证GC-MS分析的准确性.

**1.2.5 数据分析** 利用MSD化学工作站软件并对照NIST11图谱库进行数据收集,成分先由谱库初步鉴定,再结合化学成分的保留时间、质谱等进行人工解析定性,采用面积归一化法相对定量.

## 2 结果与讨论

### 2.1 SPME 萃取条件的优化分析

**2.1.1 萃取头对新鲜大蒜挥发性风味物质萃取效果的影响** 将3种萃取头对新鲜大蒜挥发性风味物质的萃取效果进行比较,结果如表1所示.由表1可知,PDMS/DVB(65  $\mu\text{m}$ )萃取头检测到的峰个数最多,色谱峰总面积最大,即该萃取头可检测到的大蒜挥发性风味物质的种类最多.因此PDMS/DVB(65  $\mu\text{m}$ )萃取头更适于大蒜挥发性风味物质的分析.

表1 3种萃取头的萃取效果

| 检测项目                    | PDMS/DVB<br>(65 $\mu\text{m}$ ) | PDMS<br>(100 $\mu\text{m}$ ) | CAR/PDMS<br>(75 $\mu\text{m}$ ) |
|-------------------------|---------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 检测峰个数                   | 15                              | 9                            | 13                              |
| 色谱峰总面积( $\times 10^8$ ) | 18.86                           | 6.13                         | 15.34                           |

**2.1.2 萃取温度对新鲜大蒜挥发性风味物质萃取效果的影响** 萃取温度对新鲜大蒜挥发性风味物质萃取效果的影响如图1所示.由图1可以看出,在30~50  $^{\circ}\text{C}$ 之间,色谱峰总面积随着萃取温度的升高增加较为显著,而在50  $^{\circ}\text{C}$ 之后,色谱峰总面积增加趋势减缓,可能是由于萃取头吸附与解吸附挥发性风味物质达到了动态平衡,同时考虑到新鲜大蒜中一部分挥发性风味物质热不稳定,温度过高可能会使其分解,因此选择50  $^{\circ}\text{C}$ 为最佳萃取温度.

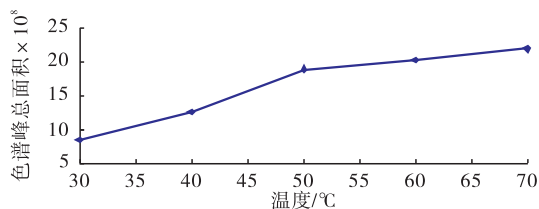


图1 萃取温度对萃取效果的影响

**2.1.3 萃取时间对新鲜大蒜挥发性风味物质萃取效果的影响** 萃取时间对新鲜大蒜挥发性风味物质萃取效果的影响如图2所示.由图2可以看出,萃取时间对萃取头吸附量影响很大,但达到吸附平衡后,萃取时间变化对其影响不明显.在10~30 min之间,色谱峰总面积随着萃取时间的延长而增加较为显著,30 min之后,色谱峰总面积的增加缓慢,说明此时萃取头吸附与解吸附挥发性风味物质达到了动态平衡,因此选择30 min为最佳萃取时间.

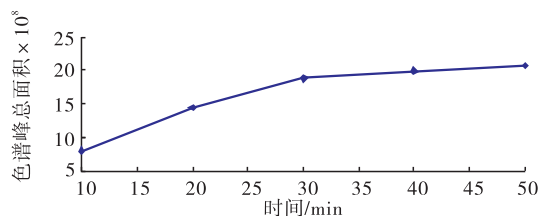


图2 萃取时间对萃取效果的影响

### 2.2 萃取条件优化后新鲜大蒜和黑蒜的GC-MS分析

新鲜大蒜和黑蒜SPME挥发性物质的GC-MS总离子流图,分别如图3和图4所示.新鲜大蒜中检测出的15种挥发性风味物质(见表2),黑蒜中检测出的14种挥发性风味物质(见表3).

由表2和表3可知,新鲜大蒜中相对含量较高的挥发性风味物质主要为二烯丙基二硫醚(42.18%),3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯(18.69%),乙基硫脲(9.58%),1,3-二噻烷(6.86%),二烯丙基硫醚(5.01%);黑蒜中相对含量较高的挥发性风味物质主要为2,2-二甲基-1,3-二噻烷(41.26%),二烯丙基硫醚(22.10%),二烯丙基二硫醚(9.67%).

新鲜大蒜样品在研碎的过程中,在蒜氨酸酶的作用下蒜氨酸生成大蒜素,随后大蒜素分子中不稳定的二硫键断裂,降解成多种刺激性含硫化合物<sup>[6]</sup>.新鲜大蒜在高温发酵过程中,发酵温度不足以使蒜氨酸酶迅速失活<sup>[7]</sup>,同时该加工条件下大蒜的细胞组织遭到破坏,蒜氨酸与蒜氨酸酶得以接触,生成的大蒜素裂解生成硫醚类、噻烷类等一系列新的含硫化合物.

新鲜大蒜中二烯丙基二硫醚的含量高达42.18%,黑蒜中二烯丙基二硫醚的含量降为9.67%.黑蒜中二烯丙基二硫醚的减少可能是由于高温发酵过程中,烯丙基硫醚类化合物分子中的不稳定C-S键发生断裂,生成了烷硫基和丙烯基自由基<sup>[8]</sup>,其中部分自由基在发酵过程中转化为带有香气的噻烷类物质,如1,3-二噻烷,2,2-二甲基-1,3-二噻烷,1,3,5-三噻烷,另一部分与其他低分子化合物反应生成二烯丙基硫醚<sup>[9]</sup>.二烯丙基二硫醚有刺激性气味,其含量的减少使发酵后的黑蒜刺激性气味显著降低,气味得到很大改善<sup>[10]</sup>.

新鲜大蒜中3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯的含量为18.69%,发酵后的黑蒜中其含量降低为1.07%,蒜氨酸酶与蒜氨酸作用可以生成大蒜

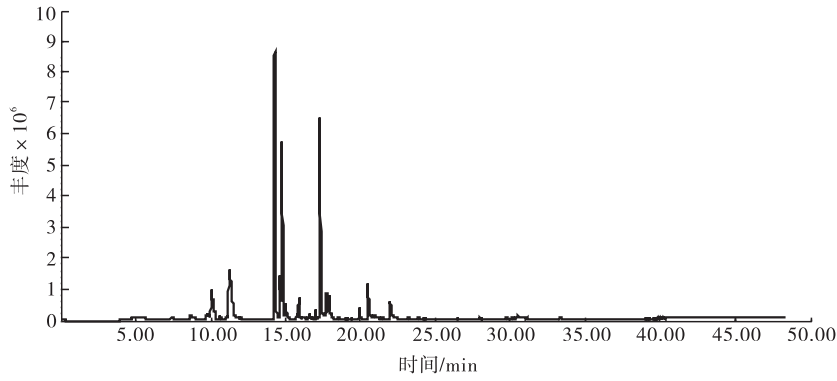


图3 新鲜大蒜中挥发性风味物质的总离子流图

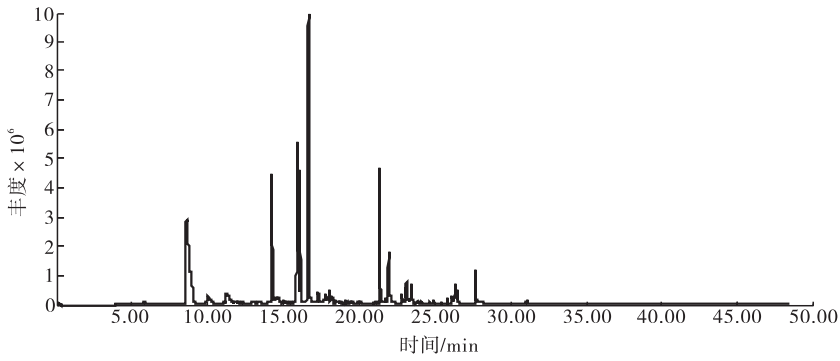


图4 黑蒜中挥发性风味物质的总离子流图

表2 新鲜大蒜中挥发性风味物质组成

| 峰号 | 名称                       | 分子式  | 相对分子质量 | 保留时间/min | 相对百分含量/% |
|----|--------------------------|--|--------|----------|----------|
| 1  | 3,4-二甲基噻吩                | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> S                | 112.03 | 9.78     | 1.25     |
| 2  | 1,3-二噻烷                  | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> S <sub>2</sub>   | 120.00 | 10.02    | 6.86     |
| 3  | 甲基-1-丙烯基二硫醚              | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> S <sub>2</sub>   | 120.00 | 10.59    | 0.65     |
| 4  | 乙基硫脲                     | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> S | 104.04 | 11.22    | 9.58     |
| 5  | 二烯丙基二硫醚                  | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S <sub>2</sub>  | 146.02 | 14.24    | 42.18    |
| 6  | 甲基-2-丙烯基三硫醚              | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> S <sub>3</sub>   | 151.97 | 15.88    | 1.11     |
| 7  | 1,3,5-三噻烷                | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> S <sub>3</sub>   | 137.96 | 16.57    | 0.66     |
| 8  | 2-巯基-3,4-二甲基-2,3-二氢噻吩    | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S <sub>2</sub>  | 146.02 | 16.99    | 1.12     |
| 9  | 3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯       | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> S <sub>2</sub>   | 144.00 | 17.30    | 18.69    |
| 10 | 二戊基二硫醚                   | C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> S <sub>2</sub> | 206.11 | 17.73    | 1.63     |
| 11 | 3-乙烯基-1,2-二硫环己-5-烯       | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> S <sub>2</sub>   | 144.00 | 17.90    | 1.51     |
| 12 | 二烯丙基硫醚                   | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S               | 114.05 | 20.48    | 5.01     |
| 13 | 二丙烯基三硫醚                  | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S <sub>3</sub>  | 177.99 | 20.87    | 1.74     |
| 14 | 5,7-二乙基-1,2,3,5,6-五硫杂环庚烷 | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> S <sub>5</sub>  | 243.95 | 21.98    | 1.41     |
| 15 | 1,3-苯二硫酚                 | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> S <sub>2</sub>   | 141.99 | 30.49    | 0.54     |

表3 黑蒜中挥发性风味物质组成

| 峰号 | 名称                        | 分子式  | 相对分子质量 | 保留时间/min | 相对百分含量/% |
|----|---------------------------|--|--------|----------|----------|
| 1  | 二烯丙基硫醚                    | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S               | 114.05 | 8.63     | 22.10    |
| 2  | 1,3-二噻烷                   | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> S <sub>2</sub>   | 120.00 | 10.05    | 1.48     |
| 3  | 乙基硫脲                      | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> S | 104.04 | 11.26    | 1.46     |
| 4  | 二甲基三硫醚                    | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> S <sub>3</sub>   | 125.96 | 11.51    | 0.63     |
| 5  | 2-乙基-6-甲基吡嗪               | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>  | 122.08 | 12.04    | 0.31     |
| 6  | 二烯丙基二硫醚                   | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S <sub>2</sub>  | 146.02 | 14.24    | 9.67     |
| 7  | 1,3,5-三噻烷                 | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> S <sub>3</sub>   | 137.96 | 16.58    | 2.15     |
| 8  | 2,2-二甲基-1,3-二噻烷           | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> S <sub>2</sub>  | 148.03 | 16.66    | 41.26    |
| 9  | 3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯        | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> S <sub>2</sub>   | 144.00 | 17.31    | 1.07     |
| 10 | 二戊基二硫醚                    | C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> S <sub>2</sub> | 206.11 | 17.77    | 0.66     |
| 11 | 1,1'-硫代双[3-(甲硫基)]-丙烷      | C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> S <sub>3</sub>  | 210.05 | 18.01    | 0.67     |
| 12 | 5,7-二乙基-1,2,3,5,6-五硫杂环庚烷  | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> S <sub>5</sub>  | 243.95 | 21.96    | 3.71     |
| 13 | 1-丙基-2-(4-硫代庚-2-烯-5-基)二硫醚 | C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> S <sub>3</sub>  | 222.05 | 23.13    | 1.67     |
| 14 | 3,5-二乙基-1,2,4-三硫杂环戊烷      | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> S <sub>3</sub>  | 180.01 | 23.45    | 2.02     |

素,大蒜素可以降解为3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯和3-乙烯基-1,2-二硫环己-5-烯<sup>[11]</sup>。此前,笔者曾研究了新鲜大蒜发酵过程中蒜氨酸含量的变化,发现新鲜大蒜发酵一周后蒜氨酸的含量由11.79 mg/g(湿基)减少至2.48 mg/g(湿基)。在黑蒜发酵过程中,大蒜素的前体物蒜氨酸无法持续供应,生成的3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯在发酵过程中持续挥发,使其含量不断降低。

新鲜大蒜中乙基硫脲的含量为9.58%,黑蒜中乙基硫脲的含量降为1.46%,这可能与发酵过程中乙基硫脲的不断挥发有关。新鲜大蒜中二烯丙基硫醚的含量为5.01%,黑蒜中二烯丙基硫醚的含量增加为22.10%,二烯丙基硫醚有香味特征,黑蒜中其含量显著增加,有助于增强黑蒜的香味。同时,新鲜大蒜中甲基-2-丙基三硫醚的含量为0.65%,黑蒜中未检测到该类物质,这种物质具有硫磺气味<sup>[4]</sup>,其含量的减少有助于黑蒜刺激性气味的降低。

另外,黑蒜中还发现了在新鲜大蒜中未出现的吡嗪类和硫烷类物质,如2-乙基-6-甲基吡嗪、3,5-二乙基-1,2,4-三硫杂环戊烷、1,1'-硫代双[3-(甲硫基)]-丙烷。吡嗪类物质是大蒜发酵过程中非硫氨基酸和果糖发生美拉德反应生成的一类香味物质,具有烤香气味<sup>[12]</sup>,对黑蒜的香味表现有重要的贡献。硫烷类物质有较弱的刺激性气味,黑蒜中少量硫烷及二硫醚类物质的存在,导致黑蒜仍具有较弱的刺激性气味,对此还需要进行深入的研究。研究表明,采用SPME-GC-MS联用法可以检测到同时蒸馏萃取-GC-MS联用法未检测到的黑蒜挥发性成分<sup>[4]</sup>,如对黑蒜气味有重要影响的吡嗪类和硫烷类挥发性物质。

### 3 结论

本文以新鲜大蒜为原料,自然发酵为黑蒜,利用SPME-GC-MS联用法分析了黑蒜中的挥发性风味物质,并与新鲜大蒜进行了比较。研究结果表明,SPME-GC-MS联用法可以检测到同时蒸馏萃取-GC-MS联用法不能检测到的挥发性风味物质(如吡嗪类、硫烷类),新鲜大蒜中相对含量较高的挥发性物质有15种,主要为二烯丙基二硫醚(42.18%,有强刺激性),3-乙烯基-1,2-二硫环己-4-烯

(18.69%,有刺激性),乙基硫脲(9.58%,有弱刺激性)等。黑蒜中相对含量较高的挥发性风味物质有14种,主要为2,2-二甲基-1,3-二噻烷(41.26%,有香味),二烯丙基硫醚(22.10%,有淡香味),二烯丙基二硫醚(9.67%,有强刺激性)等。由上述所得数据可知,黑蒜中二烯丙基二硫醚等刺激性物质含量显著降低,具有香味的噻烷类物质明显增加,同时,黑蒜中还生成了新鲜大蒜中不具有的吡嗪类香味物质,使黑蒜具有特殊香气,进一步拓宽了大蒜制品的调味应用领域。但黑蒜中少量硫烷及二硫醚类物质的存在,导致黑蒜仍具有较弱的刺激性气味,对此还需要进行深入的研究。

### 参考文献:

- [1] 孙月娥,吕丹娜,王卫东,等.美拉德反应对大蒜抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2013,34(9):119.
- [2] 周春丽,陈超,李玉萍,等.固相微萃取-气质联用鉴定新鲜大蒜风味成分[J].食品工业,2013,34(6):210.
- [3] 周江菊.顶空固相微萃取气质联用分析大蒜挥发性风味成分[J].中国调味品,2010,35(9):95.
- [4] 张中义,杨晓娟,张峻松,等.发酵黑蒜中挥发性物质的GC-MS分析[J].中国调味品,2012,37(7):74.
- [5] 杨敏.SPME-GC/MS联用技术在部分蔬菜挥发性成分分析中的应用研究[D].兰州:甘肃农业大学,2008.
- [6] 王瑜,邢效娟,景浩.大蒜含硫化合物及风味研究进展[J].食品安全质量检测学报,2014(10):3092.
- [7] 李燕,王荣,李冠,等.新鲜大蒜中蒜氨酸酶的分离纯化及性质[J].植物学通报,2005,22(5):579.
- [8] Yu T H, Wu C M, Rosen R T, et al. Volatile compounds generated from thermal degradation of alliin and deoxyalliin in an aqueous solution[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(1):146.
- [9] Block E, Iyer R, Grisoni S, et al. Lipoxigenase inhibitors from the essential oil of garlic [J]. Journal of the American Chemical Society, 1988, 110(23):7813.
- [10] Amagase H, Peteseh B L, Matsuura H, et al. Intake of garlic and its bioactive components [J]. The Journal of Nutrition, 2001, 131(3):955.
- [11] 田莉,杨秀伟,陶海燕.大蒜化学成分的气-质联用分析[J].天然产物研究与开发,2005,17(5):533.
- [12] 文冬梅,伍锦鸣,赵谋明,等.烟末酶解物美拉德反应配料的优化[J].现代食品科技,2013,29(2):354.