

doi:10.12301/spxb202100376

文章编号:2095-6002(2022)01-0100-09

引用格式:律诗,代暘鑫,刘野,等.食用菌鲜味强度评价及鲜味氨基酸和核苷酸提取工艺优化[J].食品科学技术学报,2022,40(1):100-108.



LÜ Shi, DAI Yixin, LIU Ye, et al. Evaluation of umami intensity of edible fungi and optimization of umami amino acid and nucleotide extraction[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022,40(1):100-108.

食用菌鲜味强度评价及鲜味氨基酸和核苷酸提取工艺优化

律诗,代暘鑫,刘野*,张雨,邹婷婷

(北京工商大学食品与健康学院,北京 100048)

摘要:通过高效液相色谱对9种食用菌的鲜味氨基酸、核苷酸含量进行检测并计算等鲜浓度(EUC)值,再结合感官分析和电子舌技术评价9种食用菌的鲜味强度。结果表明:鹿茸菇在9种食用菌中的感官评分和电子舌的鲜味评分值最高,EUC值为160.56 g/100 g,因此选用鹿茸菇为原料进行酶解提取工艺研究,以EUC值为考察指标,选用纤维素酶和风味蛋白酶复合,通过单因素实验和响应面法对鹿茸菇中鲜味氨基酸和核苷酸提取工艺进行优化,得到食用菌的优化酶解条件为:料液比(g/mL)1:44.78、纤维素酶添加量1607.52 U/g、风味蛋白酶添加量3044 U/g、酶解时间6.14 h、pH值6.50。以优化条件进行3次平行实验,得到EUC实际值为406.74 g/100 g,与预测值相对误差为6.12%。

关键词:食用菌;鲜味;氨基酸;核苷酸;等鲜浓度;电子舌

中图分类号:TS219

文献标志码:A

食用菌作为具有良好营养和保健功能的优良食品资源,其中的鲜味物质可以用于开发食用菌天然风味增强剂以及天然调味品^[1-2]。天门冬氨酸和谷氨酸是鲜味的基本组成成分,使食用菌产生了独特的味道。姜萍萍等^[3]测定了5种食用菌的氨基酸,发现其中含有的18种游离氨基酸,促进了食用菌的口味鲜美。除了游离氨基酸,核苷酸也是重要的鲜味物质,其中5'-鸟苷酸(5'-GMP)和5'-肌苷酸(5'-IMP)是最主要的鲜味核苷酸^[4]。Yamaguchi等^[5]提出用等鲜浓度(EUC)值来表示样品中鲜味物质含量,客观评价样品中的鲜味强度。Phat等^[6]测定了17种食用菌的鲜味化合物,包括5种核苷酸和2种游离氨基酸,其中双孢蘑菇5种核苷酸总含量最高[(36.90 ± 1.50) mg/g],EUC值为(1.51 ± 0.42) ~

(3890 ± 833) mg/g,多数食用菌呈现较高的鲜味值。

食用菌味道鲜美,目前提取食用菌中鲜味物质的主要方法是酶解法^[7-8]。Poojary等^[9]用酶法提取6种不同蘑菇的总游离氨基酸,发现复合酶提取率高,pH值、温度和酶浓度的增加也能增加提取率。邴芳玲^[10]利用食用菌水解酶对杏鲍菇进行酶解,通过单因素和响应面法对酶解条件进行优化,结果表明:复合酶酶解得到更多的氨基酸,实际氨基酸含量为83.12 mg/g,与预测值相对误差为4.89%。目前,食用菌鲜味评价主要是通过电子舌与感官评价相结合,缺少与EUC值结合的系统评价方法。

本研究通过电子舌、化学分析和感官评价对9种食用菌的鲜味强度进行评价,选定鹿茸菇为原料,以EUC值为指标,通过单因素和响应面法对鹿茸菇

收稿日期:2021-07-28

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0400502)。

第一作者:律诗,女,硕士研究生,研究方向为食品风味化学。

*通信作者:刘野,男,教授,博士,主要从事果蔬食品风味方面的研究。

中鲜味氨基酸和核苷酸的提取工艺进行优化,获得最佳提取条件,旨在为鹿茸菇的利用和深加工提供进一步的理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

香菇、杏鲍菇、花菇、茶树菇、姬松茸、猴头菇,福建省古菌农业发展有限公司;鹿茸菇、虫草花、牛肝菌,丽江安盛外贸有限责任公司;纤维素酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶,沧州夏盛酶生物技术有限公司;氨基酸混合标准试剂、邻苯二甲醛(OPA)、9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC)、硼酸盐缓冲溶液,美国 Agilent 公司;5'-肌苷酸二钠(5'-IMP)、5'-鸟苷酸二钠(5'-GMP)、5'-腺苷酸二钠(5'-AMP)、5'-胞苷酸二钠(CMP),美国 Sigma 公司;5'-黄苷酸二钠(5'-XMP),上海源叶生物科技有限公司;甲醇、乙腈、磷酸、正己烷,色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司;色谱纯磷酸二氢钠、磷酸二氢钾及分析纯氢氧化钠,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

BJ-800A 型拜杰多功能粉碎机,德清拜杰家居用品贸易有限公司;HH-2 型数显恒温水浴锅,北京天林恒泰科技有限公司;BSA124S 型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;CR22N 型高速冷冻离心机,天美(中国)科学仪器有限公司;MP511 型 pH 计,上海双旭电子有限公司;DDSJ-308F 型电导率仪,上海仪电科学仪器股份有限公司;DHG-9030A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;0.22 μm 有机过滤器,德国 Membrana 公司;Agilent 1200 型高效液相色谱-质谱联用仪,安捷伦科技有限公司;SA402B 型电子舌,日本 Insent 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

将 9 种食用菌干货在粉碎机中粉碎,过 100 目筛,密封保存于干燥器中备用,以料液比(g/mL)1:20 于室温下浸泡 2 h,再用电磁炉进行熬煮,先用 1 000 W 大火熬至沸腾,再用 200 W 小火熬煮 15 min,1 000 r/min 下离心 20 min,取上清液备用^[10]。

1.3.2 游离氨基酸的测定

采用高效液相色谱对 9 种菌菇汤中游离氨基酸进行测定。分析方法:OPAFMOC 柱前衍生化。色谱条件:Zorbax Eclipse-AAA 色谱柱(4.6 mm ×

150 mm,5 μm),柱温 35 °C^[11]。流动相 A:40 mmol/L NaH₂PO₄,配置时需用 10 mol/L NaOH 溶液调至 pH 值 7.8,过膜抽滤;流动相 B:乙腈-甲醇-水(体积比 45:45:10)。氨基酸标准品:用 0.1 mol/L HCl 将氨基酸混合标准试剂稀释为 12.5、25.0、50.0、75.0、100.0 mmol/L。

1.3.3 核苷酸含量的测定

利用 HPLC 对核苷酸进行分离检测,色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为 0.02 mol/L KH₂PO₄(pH 值 3.80),流速为 1 mL/min,进样量为 1 μL,二极管阵列检测波长 254 nm,柱温 35 °C^[9]。

定量采用外标定量方法,将 CMP、IMP、GMP、AMP 和 XMP 的标准品分别配置成 400、200、100、50、25 mg/L 的标准溶液进行测定,将已知的质量浓度与测定峰面积结果绘制成标准曲线,用 0.22 μm 的滤膜对一定量的菌汤过滤,过滤后进样,利用外标法测定核苷酸的含量。

1.3.4 等鲜浓度测定

Yamaguchi 等^[5]提出食物呈鲜作用的客观评价用 EUC 值来表示,单位 g/100 g。EUC 值是指在 100 g 干物质中,用 MSG(味精)的含量来表示呈鲜物质的总量,用式(1)计算。

$$EUC = \sum a_i b_i + 1.218 \left(\sum a_i b_i \right) \left(\sum a_j b_j \right) \quad (1)$$

式(1)中, a_i 为呈鲜氨基酸(Glu 或 Asp)的质量, a_j 为呈味核苷酸(5'-AMP、5'-IMP、5'-GMP、5'-XMP)的质量, b_i 为呈鲜氨基酸相对谷氨酸的值(Glu = 1.000、Asp = 0.077), b_j 为呈味核苷酸相对 5'-IMP 的值(5'-IMP = 1.00、5'-AMP = 0.18、5'-GMP = 2.30、5'-XMP = 0.61),1.218 为协同作用常数。

1.3.5 感官评价

感官评价小组由 6 男 6 女组成,年龄在 24 ~ 30 岁,以食用菌的鲜味强度作为评价指标。在感官评价之前用不同质量浓度(0.08、0.12、0.17、0.24、0.34、0.49、0.70、1.00 g/L)的谷氨酸钠溶液对评价员进行鲜味强度的培训。所有成员的感官测试在特定的实验室中进行,感官评价人员品尝菌菇汤并记录他们所尝到的鲜味强度和味觉感官属性,并采用定量描述分析法(QDA)对菌菇汤鲜味强度进行评分。评分采用 10 分制,0 ~ 2(不含 2),味觉强度很弱;2 ~ 4,弱;4 ~ 6,中等;6 ~ 8,强;8 ~ 10,非常强。感官评价之前,每个样品分成

3份,并随机编号放置于恒温水浴锅中保持40℃,当感官人员评价完一个样品后,用纯净水漱口再品评下一个样品。

1.3.6 电子舌分析

采用日本INSENT进口SA402B型电子舌,拟用同人舌头味觉工作原理相类似的人工脂膜传感器技术,客观数字化的评价食品或药品等样品的苦味、涩味、酸味、咸味、鲜味、甜味等基本味觉感官指标,同时还可以分析苦的回味、涩的回味和鲜的回味(丰富度)。

在检测之前需要对电子舌进行活化。样品检测4次,每次常温检测10min,取后3次为实验数据,利用电子舌自带的数据处理软件对味觉强度数据进行采集。

1.3.7 单因素实验

通过电子舌、化学分析和感官评价实验,选取鲜味强度最高的鹿茸菇进一步分析,选用复合酶1[纤维素酶(酶活 1.1×10^4 U/g)和木瓜蛋白酶(酶活 10×10^4 U/g)]、复合酶2[纤维素酶(酶活 1.1×10^4 U/g)和风味蛋白酶(酶活 5×10^4 U/g)]、复合酶3[风味蛋白酶(酶活 5×10^4 U/g)和木瓜蛋白酶(酶活 10×10^4 U/g)]在50℃进行酶解,酶解后,水浴锅90℃灭酶15min,12000 r/min离心15min。改变纤维素酶和风味蛋白酶添加量(1000、1500、2000、2500、3000、3500 U/g)、料液比(1:20、1:30、1:40、1:50 g/mL)、酶解时间(1、2、3、4、5、6、7 h)和酶解pH值(3、4、5、6、7、8),测定上清液鲜味氨基酸和鲜味核苷酸的含量,计算EUC值,以确定最佳实验条件。

1.3.8 响应面试验

根据单因素实验结果,采用Design-Expert中Box-Behnken方法设计响应面试验,寻找EUC值最高的酶解条件。

1.4 数据处理

表格制作由Microsoft Office Excel 2010软件完成,采用IMB SPSS Statistics 26进行单因素方差分析和显著性分析,显著性分析采用Duncan检验,利用Design-Expert 8.0.6软件对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 9种食用菌鲜味强度分析

2.1.1 游离氨基酸的检测结果

对9种食用菌中游离氨基酸含量进行检测,主

要对其鲜味氨基酸含量进行分析,结果见表1。

表1 9种食用菌中天冬氨酸、谷氨酸和总氨基酸质量比

Tab.1 Mass ratio of aspartic acid, glutamic acid and total amino acid in 9 kinds of edible fungi mg/g

食用菌	w		
	天冬氨酸	谷氨酸	总氨基酸
猴头菇	2.07 ± 0.05 ^c	6.28 ± 0.33 ^e	20.06 ± 1.14 ^h
杏鲍菇	1.34 ± 0.02 ^d	4.13 ± 0.21 ^f	23.75 ± 1.03 ^g
茶树菇	2.58 ± 0.07 ^b	11.23 ± 0.44 ^a	54.95 ± 1.09 ^a
香菇	0.30 ± 0.01 ^f	9.01 ± 0.12 ^d	44.8 ± 1.22 ^f
花菇	0.23 ± 0.01 ^f	9.11 ± 0.24 ^d	46.45 ± 1.83 ^f
虫草花	9.08 ± 0.15 ^a	32.87 ± 1.21 ^a	113.75 ± 2.09 ^a
牛肝菌	2.03 ± 0.10 ^c	9.93 ± 0.15 ^d	64.53 ± 1.90 ^c
鹿茸菇	0.78 ± 0.03 ^e	13.36 ± 0.36 ^b	100.24 ± 2.04 ^b
姬松茸	1.37 ± 0.11 ^d	4.48 ± 0.17 ^f	59.88 ± 1.48 ^d

所有数值均表示为平均值 ± 标准偏差($n=3$);上标不同表示同列数据差异显著($P<0.05$)。

从表1中可以看出,9种食用菌中天冬氨酸质量比较大的为虫草花(9.08 mg/g)、茶树菇(2.58 mg/g)、猴头菇(2.07 mg/g),花菇的天冬氨酸最低,只有0.23 mg/g;谷氨酸质量比较大的为虫草花(32.87 mg/g)、鹿茸菇(13.36 mg/g)、茶树菇(11.23 mg/g),杏鲍菇的谷氨酸质量比最低,只有4.13 mg/g。鹿茸菇的天冬氨酸含量在9种食用菌中较低,但是谷氨酸含量和总氨基酸含量仅次于虫草花。

2.1.2 5'-核苷酸的检测结果

以核苷酸标准溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,5种核苷酸的线性回归方程、相关系数和线性范围见表2。

表2 5'-核苷酸线性回归方程

Tab.2 Linear regression equation of 5'-nucleotide

5'-核苷酸	线性回归方程	相关系数	线性范围/ (mg·L ⁻¹)
5'-AMP	$y = 1.0993x + 12.933$	0.9992	8~400
5'-IMP	$y = 1.1126x + 8.6333$	1.0000	8~400
5'-CMP	$y = 0.6517x - 0.8167$	0.9993	8~400
5'-GMP	$y = 1.8817x - 12.358$	0.9994	8~400
5'-XMP	$y = 0.7935x - 3.9458$	0.9998	8~400

从表2中可以看出,5种5'-核苷酸的线性关系良好。根据保留时间对样品进行定性,用所得的标准曲线计算样品中各种核苷酸的含量,结果见表3。

食用菌中风味核苷酸包括5'-IMP、5'-GMP和5'-XMP,其中5'-GMP是最主要的风味核苷酸^[12]。

表 3 9 种食用菌 5'-核苷酸质量比
Tab. 3 5'-nucleotide mass ratio of 9 kinds of edible fungi

食用菌	w					总核苷酸
	5'-AMP	5'-IMP	5'-CMP	5'-GMP	5'-XMP	
杏鲍菇	0.79 ± 0.11	0.89 ± 0.09	5.91 ± 0.05	0.87 ± 0.06	—	8.46 ± 0.26
猴头菇	0.07 ± 0.09	0.46 ± 0.01	7.31 ± 0.11	—	—	7.84 ± 0.49
花菇	1.14 ± 0.13	0.19 ± 0.07	9.14 ± 0.16	0.47 ± 0.08	0.46 ± 0.03	11.41 ± 0.31
香菇	2.06 ± 0.03	0.73 ± 0.04	1.38 ± 0.21	0.59 ± 0.02	0.54 ± 0.05	5.30 ± 0.09
茶树菇	0.59 ± 0.06	0.51 ± 0.10	4.41 ± 0.17	0.71 ± 0.01	—	6.21 ± 0.18
牛肝菌	0.48 ± 0.07	0.44 ± 0.02	78.09 ± 1.33	0.84 ± 0.12	—	79.85 ± 1.97
鹿茸菇	0.30 ± 0.14	0.23 ± 0.13	3.53 ± 0.04	0.30 ± 0.01	—	4.36 ± 0.08
姬松茸	0.76 ± 0.01	0.98 ± 0.08	2.45 ± 0.19	0.58 ± 0.02	0.28 ± 0.02	5.05 ± 0.11
虫草花	1.44 ± 0.02	0.54 ± 0.06	3.49 ± 0.05	1.05 ± 0.02	—	6.51 ± 0.22

—代表未检测到;所有数值均表示为平均值 ± 标准偏差(n=3)。

从表 3 中可以看出,9 种食用菌的 5'-GMP 质量比较大的为虫草花(1.05 mg/g)、杏鲍菇(0.87 mg/g)、牛肝菌(0.84 mg/g);5'-IMP 质量比较大的为姬松茸(0.98 mg/g)、杏鲍菇(0.89 mg/g)、香菇(0.73 mg/g);而 5'-XMP 仅在花菇(0.46 mg/g)、香菇

(0.54 mg/g)和姬松茸(0.28 mg/g)中检测到。

2.1.3 9 种食用菌电子舌主成分和雷达指纹图谱分析

采用电子舌技术对不同品种的食用菌进行检测,将检测结果进行主成分分析,结果见图 1。

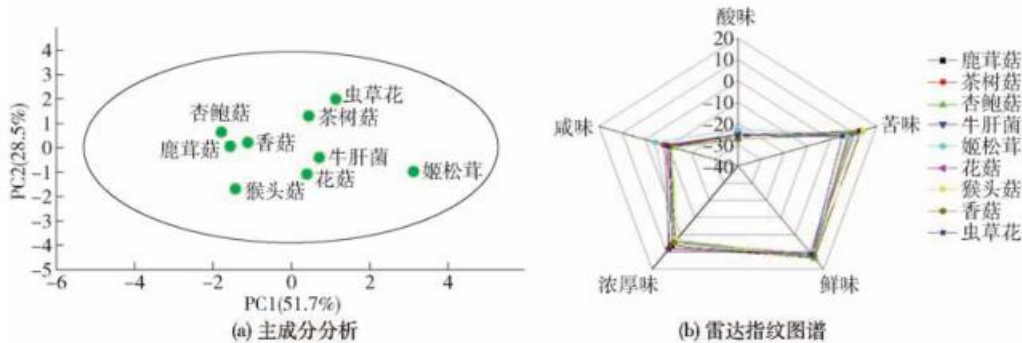


图 1 9 种食用菌电子舌测定结果

Fig. 1 Results of 9 kinds of edible fungi by electronic tongue technology

从图 1(a)可以看出,不同种类食用菌的 3 次重复数据点可以清晰地聚成一个独立的族群,说明 PCA 得到的实验数据重复性很好。PC1 和 PC2 两个主成分的贡献率分别为 51.7%、28.5%,累积方差贡献率为 80.2%,说明前两个主成分包含了较多的样品信息,样品的整体信息和食用菌样品的差异可以被很好地反映。图 1(b)显示测试样品的所有味觉指标情况,并在图形中可以看出样品之间口味的关系。从图 1(b)可以看出,9 种食用菌非挥发性呈味成分在 5 根味觉传感器上的响应信号差异不大,推测 9 种食用菌在非挥发性呈味成分上可能具有相似性。

2.1.4 9 种食用菌的鲜味强度分析

本研究通过电子舌与感官评价结合检测 9 种食用菌的鲜味强度,并依据 9 种食用菌的鲜味氨基酸和核苷酸计算 EUC 值,结果见表 4。

从表 4 中可以看出,电子舌检测到的 9 种食用菌的鲜味强度从 11.22 (姬松茸)到 13.53 (鹿茸菇),鹿茸菇鲜味响应强度最高,姬松茸鲜味强度最低。有报道称香菇在食用菌中鲜味性最强^[13],这可能是与样品的前处理方式有关。9 种食用菌的感官评分从 2.85 (猴头菇)到 5.55 (鹿茸菇),鹿茸菇的感官评价结果与电子舌检测结果都表明它的鲜味性最强,EUC 值为 160.56 g/100g,在 9 种食用菌中的 EUC 值较高,因此,选用鹿茸菇作为原料进行酶解提取工艺研究。

2.2 单因素实验结果

2.2.1 水解酶的确

由于酶的作用位点具有专一性,不同的酶具有不同的选择性和酶切位点,因此单一的酶不能将食用菌中的蛋白质和核酸等大分子物质完全水解,需

表4 基于电子舌、感官评价和 EUC 值的 9 种食用菌的鲜味强度

Tab.4 Umami intensity of 9 kinds of edible fungi based on electronic tongue, sensory evaluation and EUC value

编号	食用菌	电子舌鲜味强度	感官评分/分	EUC/(g·100g ⁻¹)
1	鹿茸菇	13.53 ± 0.09 ^a	5.55 ± 1.43	160.56 ± 1.21 ^f
2	杏鲍菇	13.37 ± 0.07 ^a	4.75 ± 1.47	156.84 ± 1.04 ^f
3	茶树菇	12.87 ± 0.02 ^b	4.20 ± 1.52	314.19 ± 2.76 ^b
4	猴头菇	12.53 ± 0.14 ^c	2.85 ± 1.43	37.70 ± 0.78 ^h
5	香菇	12.40 ± 0.11 ^c	3.50 ± 1.53	307.56 ± 0.89 ^c
6	花菇	11.48 ± 0.06 ^d	5.00 ± 1.43	196.18 ± 1.76 ^e
7	牛肝菌	11.42 ± 0.10 ^d	5.05 ± 1.77	303.17 ± 2.09 ^d
8	虫草花	11.40 ± 0.05 ^d	5.40 ± 1.49	1317.72 ± 3.01 ^a
9	姬松茸	11.22 ± 0.02 ^e	4.65 ± 1.69	147.02 ± 0.93 ^g

所有数值均表示为平均值 ± 标准偏差 (n = 3); 上标不同表示同列数据差异显著 (P < 0.05)。

要复合酶进行酶解,参考相关文献用不同组合的酶对鹿茸菇进行酶解,以 EUC 值为指标,选择最适合的复合酶进行下一步实验。不同复合酶酶解变化见图 2。

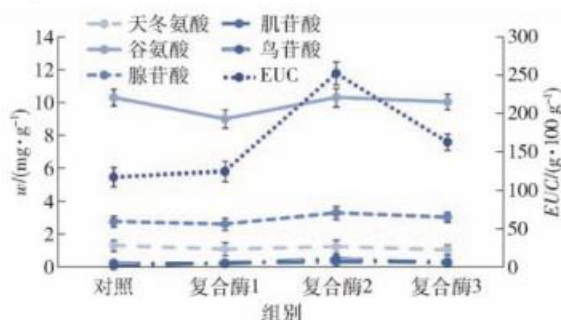


图2 不同酶对鲜味氨基酸、呈味核苷酸和 EUC 值的影响
Fig.2 Effects of different enzymes on umami amino acids, flavor nucleotides and EUC value

从图 2 可以看出,添加不同的复合酶进行酶解后,EUC 值都明显增高,其中添加纤维素酶和风味蛋白酶后 EUC 值最高,可能是因为纤维素酶和风味蛋白酶组合而成的复合酶,对细胞壁的降解作用更强,酶解得到更多的呈鲜氨基酸和呈味核苷酸。因此,选用纤维素酶和风味蛋白酶组合对鹿茸菇进行酶解提取。

2.2.2 料液比的确定

不同料液比对鹿茸菇酶解效果的影响如图 3。从图 3 可以看出,当料液比 (g/mL) 在 1:40 时,酶解液中 EUC 值最高,为 252.07 g/100 g。在较低的底物浓度下,随着底物浓度的升高,酶的催化能力提

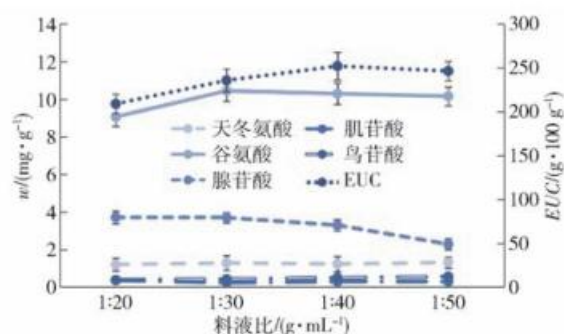


图3 料液比对鲜味氨基酸、呈味核苷酸和 EUC 值的影响
Fig.3 Effect of solid-liquid ratio on umami amino acid, flavor nucleotides and EUC value

高;而底物浓度过高时,底物分子会阻碍底物与酶分子的结合,从而使酶的活力受到限制导致酶的水解度下降,因此料液比过高或过低时氨基酸含量均会下降。因此,选择料液比为 1:40 作为酶解优化料液比。

2.2.3 纤维素酶添加量的确定

纤维素酶添加量对鹿茸菇酶解效果的影响如图 4。从图 4 可以看出,当纤维素酶的用量较少时,EUC 值随着纤维素酶的增加而增大,当酶添加量 1500 U/g 时,EUC 值达到一个相对稳定的最大值,为 265.10 g/100 g,此时所用的酶可以使鹿茸菇中的鲜味较佳。当酶添加量继续增加时,EUC 值降低,不再继续增大,因此选择 1500 U/g 为优化纤维素酶添加量。

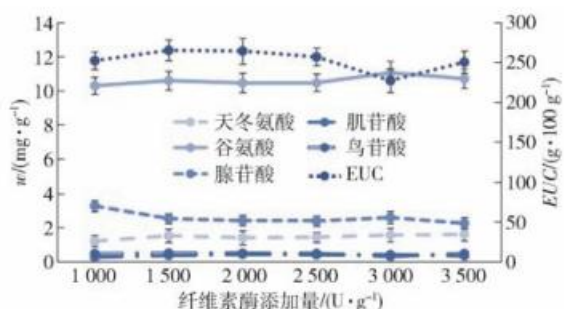


图4 纤维素酶添加量对鲜味氨基酸、呈味核苷酸和 EUC 值的影响

Fig.4 Effects of cellulase addition on umami amino acids, flavor nucleotides and EUC value

2.2.4 风味蛋白酶添加量的确定

风味蛋白酶添加量对鹿茸菇酶解效果的影响如图 5。从图 5 可以看出,EUC 值随着风味蛋白酶添加量的增加而增大,当风味蛋白酶添加量为 3000 U/g 时,EUC 值达到一个相对稳定的最大值,为 309.07 g/100g,此时所用的酶可以使鹿茸菇中的

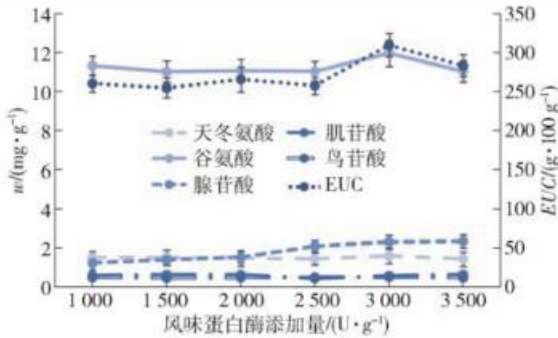


图5 风味蛋白酶添加量对鲜味氨基酸、呈味核苷酸和EUC值的影响

Fig. 5 Effects of flavor protease addition on umami amino acids, flavor nucleotides and EUC value

鲜味最佳。当酶添加量继续增加时,EUC值降低,因此选择3 000 U/g为优化风味蛋白酶添加量。

2.2.5 酶解时间的确定

酶解时间对鹿茸菇酶解效果的影响如图6。从图6可以看出,随着酶解时间的增加,EUC值逐渐增大,当酶解时间为6 h时,EUC值最大为265.10 g/100g,而后随着酶解时间的增加,EUC值下降,因此选择6 h作为优化酶解时间。

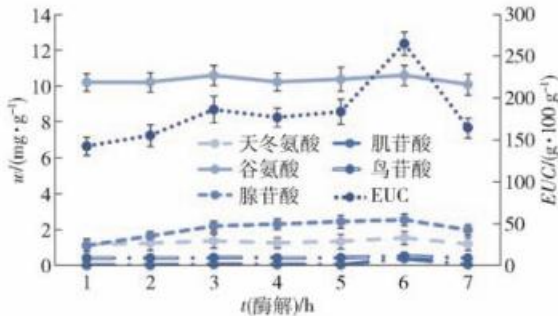


图6 酶解时间对鲜味氨基酸、呈味核苷酸和EUC值的影响

Fig. 6 Effects of enzymolysis time on umami amino acids, flavor nucleotides and EUC value

2.2.6 酶解pH值的确定

pH值对鹿茸菇酶解效果的影响如图7。从图7可以看出,当pH值为7时,EUC值最大,pH值低于或高于7时,EUC值均降低。因此,选择pH值为7作为优化酶解pH值。

单因素实验得到优化酶解方案为料液比(g/mL)1:40、纤维素酶添加量1 500 U/g、风味蛋白酶添加量3 000 U/g、酶解时间6 h、pH值7、酶解温度50℃。

2.3 响应面试验优化结果

2.3.1 模型的建立及显著性检验

根据单因素实验,选取料液比、纤维素酶添加

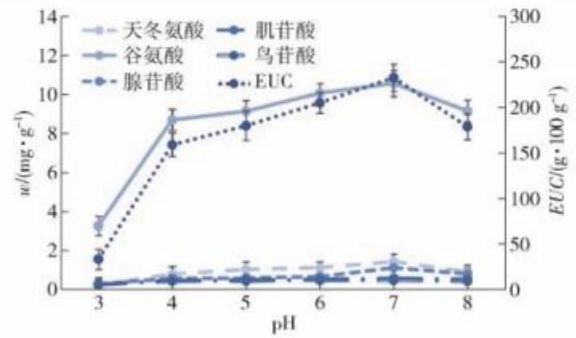


图7 pH值对鲜味氨基酸、呈味核苷酸和EUC值的影响

Fig. 7 Effects of pH on umami amino acids, flavor nucleotides and EUC value

量、风味蛋白酶添加量、酶解时间和pH值这5个影响因素,采用五因素三水平的响应面分析方法对酶解条件进行优化,以鹿茸菇酶解液中EUC值为响应值,响应面设计及结果见表5、表6。

表5 响应面法因素与水平

Tab. 5 Factors and levels of response surface method

因素	水平	水平		
		-1	0	1
X ₁	料液比/(g·mL ⁻¹)	1:30	1:40	1:50
X ₂	纤维素酶添加量/(U·g ⁻¹)	1 000	1 500	2 000
X ₃	风味蛋白酶添加量/(U·g ⁻¹)	2 500	3 000	3 500
X ₄	酶解时间/h	5	6	7
X ₅	pH	6.0	6.5	7.0

运用Design-Expert 8.0.6软件对表5的数据进行分析,得到料液比、纤维素酶添加量、风味蛋白酶添加量、酶解时间和pH值与EUC值之间的二次回归方程为:

$$EUC = 377.98 + 10.04X_1 + 16.23X_2 + 8.40X_3 + 11.20X_4 - 3.37X_5 - 1.39X_1X_2 - 4.26X_1X_3 - 1.64X_1X_4 + 5.85X_1X_5 + 6.03X_2X_3 + 16.40X_2X_4 + 0.30X_2X_5 - 13.55X_3X_4 + 1.45X_3X_5 + 0.21X_4X_5 - 9.54X_1^2 - 42.62X_2^2 - 32.32X_3^2 - 46.77X_4^2 - 34.89X_5^2$$

对该回归模型进行方差分析,结果见表7。由表7可知,回归模型显著(P < 0.000 1),决定系数R² = 0.937 5,调整决定系数R²_{adj} = 0.887 5,表明回归方程的拟合度和可信度均较高,失拟检验不显著,实验误差小,故可用该模型对鹿茸菇酶解液EUC值进行分析和预测。

2.3.2 响应曲面分析与优化

根据回归方程,通过考察响应曲面的形状,更好

表6 响应面试验结果

Tab.6 Results of response surface test

实验号	因素					EUC/(g·100g ⁻¹)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	实验值	预测值
1	0	0	1	0	1	320.55	317.25
2	0	0	-1	0	1	295.61	297.54
3	0	0	0	-1	-1	283.64	288.69
4	0	-1	0	0	1	280.98	280.57
5	0	0	-1	1	0	314.26	315.25
6	0	-1	1	0	0	288.96	289.19
7	1	0	1	0	0	338.41	350.31
8	1	0	0	0	1	330.84	346.07
9	1	1	0	0	0	349.91	350.71
10	0	0	0	1	1	309.75	304.36
11	0	1	0	0	-1	328.69	319.77
12	0	1	0	-1	0	270.10	277.22
13	0	0	0	1	-1	296.92	310.68
14	-1	0	1	0	0	346.31	338.74
15	-1	0	-1	0	0	334.16	313.42
16	0	-1	-1	0	0	280.87	284.44
17	0	-1	0	1	0	273.46	267.17
18	0	0	0	0	0	372.85	377.98
19	-1	0	0	1	0	315.42	324.47
20	0	0	1	0	-1	320.00	321.08
21	1	-1	0	0	0	321.19	321.03
22	0	0	-1	0	-1	300.87	307.19
23	0	0	0	-1	1	295.64	281.54
24	1	0	0	-1	0	328.44	322.15
25	0	-1	0	0	-1	284.62	287.91
26	-1	0	0	0	1	295.63	314.29
27	0	0	-1	-1	0	265.39	265.74
28	0	1	-1	0	0	295.99	304.84
29	0	0	1	1	0	308.54	304.94
30	0	0	0	0	0	377.96	377.98
31	1	0	0	0	-1	353.11	341.11
32	0	1	0	0	1	326.24	313.62
33	0	-1	0	-1	0	276.41	277.56
34	-1	0	0	-1	0	287.84	298.80
35	0	1	1	0	0	328.19	333.70
36	0	0	0	0	0	382.65	377.98
37	1	0	-1	0	0	343.29	342.02
38	0	0	0	0	0	376.09	377.98
39	1	0	0	1	0	349.47	341.28
40	0	0	0	0	0	388.44	377.98
41	-1	1	0	0	0	333.82	333.40
42	-1	-1	0	0	0	299.55	298.17
43	-1	0	0	0	-1	341.29	332.72
44	0	1	0	1	0	332.74	332.42
45	0	0	1	-1	0	313.89	309.65
46	0	0	0	0	0	369.87	377.98

表7 回归模型方差分析

Tab.7 Analysis of variance of regression model

来源	平方和	自由度	均方	F度	P值	显著性
回归模型	44 412.00	20	2 220.60	18.76	<0.000 1	显著
X ₁	1 612.83	1	1 612.83	13.62	0.001 1	
X ₂	4 213.31	1	4 213.31	35.59	<0.000 1	
X ₃	1 129.13	1	1 129.13	9.54	0.004 9	
X ₄	2 007.26	1	2 007.26	16.96	0.000 4	
X ₅	181.58	1	181.58	1.53	0.227 1	
X ₁ X ₂	7.70	1	7.70	0.07	0.800 8	
X ₁ X ₃	72.51	1	72.51	0.61	0.441 2	
X ₁ X ₄	10.73	1	10.73	0.09	0.765 9	
X ₁ X ₅	136.77	1	136.77	1.16	0.292 7	
X ₂ X ₃	145.32	1	145.32	1.23	0.278 4	
X ₂ X ₄	1 075.51	1	1 075.51	9.08	0.005 8	
X ₂ X ₅	0.35	1	0.35	0.00	0.956 8	
X ₃ X ₄	734.95	1	734.95	6.21	0.019 7	
X ₃ X ₅	8.44	1	8.44	0.07	0.791 7	
X ₄ X ₅	0.17	1	0.17	0.00	0.969 9	
X ₁ ²	793.55	1	793.55	6.70	0.015 8	
X ₂ ²	15 849.53	1	15 849.53	133.88	<0.000 1	
X ₃ ²	9 115.30	1	9 115.30	77.00	<0.000 1	
X ₄ ²	19 087.43	1	19 087.43	161.23	<0.000 1	
X ₅ ²	10 626.23	1	10 626.23	89.76	<0.000 1	
残差	2 959.66	25	118.39			
失拟项	2 732.78	20	136.64	3.01	0.1125	不显著
纯误差	226.88	5	45.38			
总和	47 371.66	45				

地分析料液比、纤维素酶添加量、风味蛋白酶添加量、酶解时间和 pH 值对 EUC 值的影响,如图 8。

用 Design-Expert 8.0.6 软件分析得到的鹿茸菇酶解液中 EUC 值的优化工艺条件为料液比(g/mL) 1:44.78、纤维素酶添加量 1 607.52 U/g、风味蛋白酶添加量 3 044 U/g、酶解时间 6.14 h、pH 值 6.50。为了检验响应面法的可行性,在此条件下进行 3 次平行实验得到 EUC 值 406.74 g/100 g,与预测值相对误差为 6.12%,预测值与实际值基本相符。因此,实验所得的优化工艺参数可靠。

3 结 论

本研究通过电子舌技术结合感官分析和化学分析法对 9 种食用菌进行鲜味强度评价,筛选出鲜味较强的食用菌,再采用不同酶制剂对其进行酶解,得到酶解效果较好复合酶,以 EUC 值为考察指标,通过响应面法优化食用菌中鲜味氨基酸和核苷酸提取工艺。

1) 通过高效液相色谱检测 9 种食用菌的鲜味

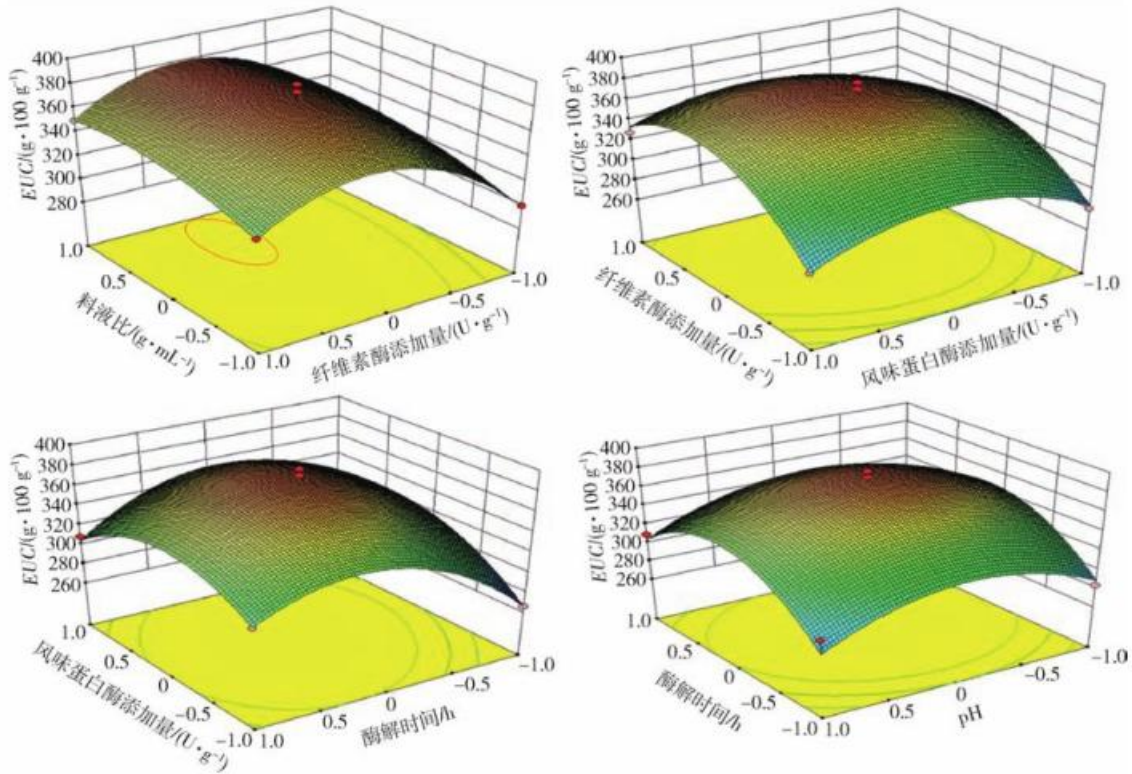


图8 响应面法分析结果

Fig. 8 Results analysis of response surface method

氨基酸和核苷酸含量,再结合电子舌和感官评价分析9种食用菌的鲜味,结果表明:鹿茸菇的感官评价价值与电子舌检测值最高,EUC值较高,为160.56 g/100 g,因此选用鹿茸菇作为原料进行酶解提取工艺研究。

2) 选用纤维素酶和风味蛋白酶组合酶,以EUC值为考察指标,通过响应面法优化鹿茸菇中鲜味氨基酸和核苷酸提取工艺,得到食用菌的优化酶解条件为料液比(g/mL)1:44.78,纤维素酶添加量1607.52 U/g,风味蛋白酶添加量3044 U/g,酶解时间6.14 h,pH值6.50,得到EUC值406.74 g/100 g,与预测值相对误差为6.12%。

参考文献:

- [1] 闫文杰,段昊,吕燕妮,等. 食用菌在我国保健食品中的应用研究进展[J]. 食品科学,2020,41(21):305-311.
YAN W J,DUAN H,LÜ Y N,et al. Recent development in the application of edible fungi in health foods in China [J]. Food Science,2020,41(21):305-311.
- [2] 杨文建,王柳清,胡秋辉. 我国食用菌加工新技术与产品创新发展现状[J]. 食品科学技术学报,2019,37(3):13-18.
YANG W J,WANG L Q,HU Q H. Development situation

on processing technology and product innovation of edible mushroom in China [J]. Journal of Food Science and Technology,2019,37(3):13-18.

- [3] 姜萍萍,韩焯,顾赛红. 五种食用菌氨基酸含量的测定及营养评价[J]. 氨基酸和生物资源,2009,31(2):67-71.
JIANG P P,HAN Y,GU S H. Amino acid content measuring and nutrition evaluation in five kinds of edible [J]. Amino Acids & Biotic Resources,2009,31(2):67-71.
- [4] 相丽新,杨道兴,魏彦梅,等. 鸡精中呈味核苷酸二钠的高效液相色谱法测定[J]. 北京工商大学学报(自然科学版),2011,29(6):32-34.
XIANG L X,YANG D X,WEI Y M,et al. Determination of flavor disodium nucleotide in chicken essence by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Beijing Technology and Business University (Natural Science Edition),2011,29(6):32-34.
- [5] YAMAGUCHI S,YOSHIKAWA T,IKEDA S,et al. Measurement of the relative taste intensity of some L- α -amino acids and 5'-nucleotides [J]. Journal of Food Science,1971,36(6):846-849.
- [6] PHAT C,MOON B K,LEE C. Evaluation of umami taste in mushroom extracts by chemical analysis, sensory evaluation and an electronic tongue system [J]. Food Chemistry,2016,192:1068-1077.

- [7] 崔文甲,曹世宁,王文亮,等.微波辅助提取金针菇、香菇柄中氨基酸的研究[J].食品工业,2018,39(9):96-99.
CUI W J, CAO S N, WANG W L, et al. Microwave-assisted extraction of amino acids from *Flammulina velutipes* and *Lentinus edodes* stalk [J]. Food Industry, 2018,39(9):96-99.
- [8] 李雪,冯涛,宋诗清,等.不同处理方法对蟹味菇呈味物质释放的影响[J].食品科学,2020,41(10):198-205.
LI X, FENG T, SONG S Q, et al. Effect of different pretreatment methods on the release of flavor substances from *Hypsizygus marmoreus* [J]. Food Science, 2020, 41(10):198-205.
- [9] POOJARY M M, ORLIEN V, PASSAMONTI P, et al. Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms [J]. Food Chemistry, 2017, 234(1):236-244.
- [10] 邴芳玲.食用菌中鲜味物质味感相互作用的研究[D].上海:上海应用技术大学,2016.
- BING F L. The taste interaction of umami substances in edible fungi [D]. Shanghai: Shanghai University of Applied Technology, 2016.
- [11] 徐欣如,尤梦晨,宋焕禄,等.不同酶对牛骨素热反应香精气味及滋味的影响[J].食品工业科技,2019,40(3):228-238.
XU X R, YOU M C, SONG H L, et al. Effect of different enzymes on the flavor and taste of thermal process flavorings made by bovine bone extract [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019,40(3):228-238.
- [12] PEI F, SHI Y, GAO X Y, et al. Changes in non-volatile taste components of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during different stages of freeze drying and freeze drying combined with microwave vacuum drying [J]. Food Chemistry, 2014, 165: 547-554.
- [13] 陈凤真.香菇风味化合物研究进展[J].生物学教学,2013,38(10):3-5.
CHEN F Z. Research progress on mushroom flavor compound [J]. Biology Teaching, 2013,38(10):3-5.

Evaluation of Umami Intensity of Edible Fungi and Optimization of Umami Amino Acid and Nucleotide Extraction

LÜ Shi, DAI Yixin, LIU Ye*, ZHANG Yu, ZOU Tingting

(School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: The umami amino acid and nucleotide contents extracted from 9 kinds of edible fungi were detected by high performance liquid chromatography and the equivalent umami concentration (EUC) value was calculated. Combined with sensory analysis and electronic tongue technology, the umami intensity of 9 kinds of edible fungi was evaluated. The results showed that the sensory score and the umami taste score of the electronic tongue of velvet antler mushroom were the highest among the 9 kinds of edible fungi and the EUC value was 160.56 g/100 g. Therefore, the velvet antler mushroom was selected as the raw material for the enzymatic extraction process study, and EUC value was used as the investigation index. Combination enzymes of cellulase and flavour protease were selected, and the extraction process of umami amino acids and nucleotides from velvet antler mushroom was optimized by single factor test and response surface method. The optimized enzymolysis conditions were solid-liquid ratio (g/mL) 1:44.78, cellulase addition 1607.52 U/g, flavor protease addition 3044 U/g, enzymolysis time 6.14 h, pH value 6.50. Three parallel experiments were carried out under optimal condition to obtain the actual EUC value. The actual EUC value was 406.74 g/100 g, and the relative error with the predicted value was 6.12%.

Keywords: edible fungi; umami; amino acid; nucleotide; equivalent umami concentration; electronic tongue

(责任编辑:张逸群)