

# 猴头菌不同发育阶段鲜品中非挥发性呈味物质的研究

周峰, 李巧珍, 李玉, 周帅, 李正鹏, 吴迪, 杨焱\*

农业部南方食用菌资源利用重点实验室 国家食用菌工程技术研究中心 上海市农业科学院食用菌研究所, 上海 201403

**摘要:** 本文对猴头菌(*Hericium erinaceus*) H5 菌株不同发育阶段子实体鲜品中的非挥发性呈味物质(可溶性糖及糖醇、游离氨基酸、核苷酸)进行了研究。结果表明: H5 菌株栽培得到的子实体在不同发育阶段各种非挥发性呈味物质的含量不同。阿糖醇是猴头菌中含量最高的可溶性糖醇, H5 菌株子实体鲜品中的阿糖醇含量在 6.87 ~ 13.98 mg/g 之间。H5 菌株 5'-核苷酸的含量则在 30.04 ~ 87.98  $\mu\text{g/g}$  之间波动, 在发育的第三、第四时期较高, 而后显著降低。游离氨基酸的含量甚微; 在生长发育过程中天冬氨酸和谷氨酸的含量变化没有规律性。H5 菌株在不同生长发育期的等鲜浓度(Equivalent umami concentration, EUC)值在 931.84.40 ~ 1798.06  $\mu\text{g MSG}/100\text{ g}$  之间变化, 且第 4 发育期的 EUC 值最高。

**关键词:** 猴头菌; 发育阶段; 可溶性糖及糖醇; 5'-核苷酸; 游离氨基酸

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

## Study on Non-volatile Tasting Components of Fresh Fruiting Body of *Hericium erinaceus* in Different Developmental Stages

ZHOU Feng, LI Qiao-zhen, LI Yu, ZHOU Shuai, LI Zheng-peng, WU Di, YANG Yan\*

Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization(South), Ministry of Agriculture, P. R. China; National Engineering Research Center of Edible Fungi; Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

**Abstract:** This paper studied on the non-volatile tasting components, including soluble sugar, sugar alcohol, free amino acid and nucleotide, of the fresh fruiting body of *Hericium erinaceus* strain H5 in different developmental stages. The results showed that the content of non-volatile tasting components in the fruiting body of *Hericium erinaceus* strain H5 varied among the developmental stages. In the fruiting body of Strain H5, the content of arabitol was the highest among all soluble sugar alcohols in *Hericium erinaceus*, which was 6.87 mg/g to 13.98 mg/g. The content of 5'-nucleotide was from 30.04  $\mu\text{g/g}$  to 87.98  $\mu\text{g/g}$ ; it was relatively high at Phase III and Phase IV while significantly reduced on the later phases. The content of free amino acid was very low. As for the content of aspartic acid and glutamic acid, no regularity of variation was found in the developmental stages. During each stage, EUC (Equivalent umami concentration) of H5 varied from 931.84.40 to 1798.06  $\mu\text{g MSG}/100\text{ g}$  and expected the highest density on Phase IV.

**Key words:** *Hericium erinaceus*; developmental stage; soluble sugar and sugar alcohol; 5'-nucleotide; free amino acid

猴头菌[*Hericium erinaceus* (Rull ex F.) Pers.] 在我国既是药用菌, 又是重要的食用珍品。它是我国著名的八大“山珍”之一, 自古就有“山珍猴头, 海味燕窝”之说, 与熊掌、海参和鲨鱼翅并列为四大名菜<sup>[1]</sup>。其菌肉鲜嫩, 香醇可口, 有“素中荤”之称, 明清时期被列为贡品。食用菌中所含的一些非挥发性呈味物质, 如可溶性糖、游离氨基酸、小肽和呈味核苷酸如鸟苷酸、肌苷酸等使其具有独特的滋味<sup>[2]</sup>。食用菌非挥发性呈味物质的研究, 国外相关研究较

多, 国内相关报道较少。猴头菌作为药食兼用菌具有很高的营养价值, 对其生长发育过程中非挥发性呈味物质的研究可以为生长发育过程中代谢产物的研究和选择合适的采收期提供理论基础。本文对猴头菌生长发育过程中可溶性糖及糖醇、游离氨基酸和 5'-核苷酸的含量变化进行了研究, 以期获得口感较好的采收期提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株及子实体鲜品材料收集

猴头菌供试菌株: H5(0605) 由上海农科院食用菌研究所提供。采用代料栽培的方式对 H5(0605)

菌株进行出菇,在出菇的过程中依据文献<sup>[3]</sup>的发育阶段划分标准对猴头菌发育过程中的后4个时期(分裂期 H5-3、小菌刺期 H5-4、中菌刺期 H5-5、成熟

期 H5-6,如图1所示)进行取样,用刀齐袋口取下子实体,所采子实体鲜品备用。

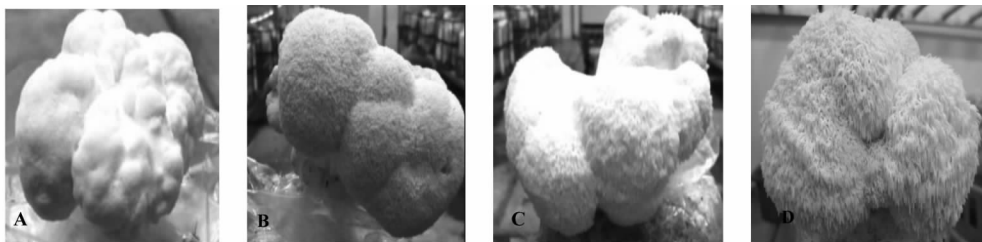


图1 H5(0605)菌株不同生长发育期收获的猴头菌

Fig. 1 *H. erinaceus* fruiting bodies harvested at different developmental stages

A:分裂期;B:小菌刺期;C:中菌刺期;D:成熟期

A:split age;B:small fungal spine age;C:mid-fungal spine age;D:maturing stage

## 1.2 H5 菌株子实体发育过程中可溶性糖、糖醇含量的测定

### 1.2.1 样品制备

采用高效阴离子色谱法进行不同生长阶段子实体中可溶性糖和糖醇的测定<sup>[4]</sup>。样品制备:分别精密称取不同生长发育期鲜品 60 g,设置 3 个重复,加入蒸馏水 400 mL,沸水浴提取 2 h 后定容至 150 mL,分别取 1 mL 溶液于 12000 rpm 条件下离心 15 min,取上清液,0.22 μm 滤膜过滤,待用。

### 1.2.2 离子色谱测定条件

Dionex ICS-2500 型高效离子色谱仪(HPIC),脉冲安培检测器,CarboPac MA1 阴离子交换柱(4 mm × 250 mm,7.5 μm),Chromeleon 6.0 软件,流动相为 480 mmol/L NaOH,流速 0.40 mL/min,进样量 25 μL,柱温 30 ℃。

### 1.2.3 标准曲线制作

分别精确称取甘露醇、海藻糖、阿拉伯糖醇标准物质 500 mg,用超纯水将混合标品配成质量浓度为 50 mg/mL 的母液。再用超纯水将母液分别稀释成质量浓度为 400、320、240、160、80、60、40、20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625 μg/mL 的标准溶液,按照上述色谱条件进行测定得到色谱图,以相应的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,制作标准曲线。

### 1.2.4 样品测定

将“1.2.1”项下制备所得待测液稀释 200 倍,按照“1.2.2”项所述色谱条件通过离子色谱仪进行测定。通过标准曲线计算得到各样品中甘露醇、海藻糖和阿拉伯糖醇的含量(本方法为笔者实验室建立,已进行方法学考察,方法成熟可靠,相关研究内

容已发表)。

## 1.3 H5 菌株生长发育过程中呈味核苷酸含量的测定

### 1.3.1 色谱分析条件

采用高效液相色谱法(HPLC)进行子实体鲜品中核苷酸含量的测定<sup>[5]</sup>,并根据实际情况进行色谱条件优化。色谱条件:Waters 公司 2695 型高效液相色谱仪;色谱柱:Ultimate C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相:甲醇(A)-10 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲液(pH 4.3)(B);梯度洗脱程序:0~20 min,100% B;20~30 min,100%~80% B;30~40 min,80%~20% B,流速 1 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 254 nm,进样量 10 μL。

### 1.3.2 标准曲线制作

分别精确称取 5'-CMP、5'-UMP、5'-GMP、5'-IMP、5'-AMP、5'-XMP 标准物质各 640、160、160、160、160、320 μg 置于 1.5 mL 离心管中,加 1 mL 超纯水,混匀,使标准物质溶解,得到混标 1;用超纯水将混标 1 稀释 2 倍,标为混标 2;再将混标 2 稀释 2 倍,标为混标 3;如此下去,分别得到混标 4、混标 5 和混标 6,按照上述色谱条件进行测定得到色谱图,以相应的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,制作标准曲线。

### 1.3.3 样品测定

取“1.2.1”项下制备的待测液,按照上述 HPLC 色谱条件对样品进行测定。通过标准曲线计算得到各样品中 6 种核苷酸的含量。

## 1.4 H5 菌株生长发育过程中游离氨基酸含量的测定

### 1.4.1 样品制备

采用高效阴离子色谱法(HAPEC)进行子实体鲜品中游离氨基酸的测定<sup>[6]</sup>。样品制备:分别精密称取不同生长发育期鲜品 10 g,设置 3 个重复,加入 50 mL 0.01 N 盐酸浸提 30 min,室温震荡 45 min,取 2 mL 滤液加 2 mL 8% 磺基水杨酸混匀,静置 15 min,1000 rpm 离心 10 min,0.22 μm 滤膜过滤,作为待测液。

### 1.4.2 色谱条件

Dionex ICS2500 系统,包括:GS50 四元梯度泵、LC<sub>30</sub>柱温箱(30 ℃)、ED50A 电化学检测器(金电极);Amino PacPA-10 柱(2 mm × 25 mm);Chromleon 6.5 色谱工作站;进样量 25 μL;流动相为纯水、1 M NaAc 和 0.25 M NaOH;流速 0.22 mL/min,柱温 30 ℃。

### 1.4.3 样品测定

将“1.4.1”项下所得待测液稀释 5 倍,采用“1.4.2”项所述色谱条件,以谷氨酸、天冬氨酸为标准品(外标一点法),通过离子色谱仪对待测液进行测定,利用以下公式进行计算。

游离氨基酸含量 = 样品面积 × 标准品浓度 × 体积 × 稀释倍数 / 标准品面积 / 称样量。

## 1.5 等鲜浓度计算

利用 Yamaguchi 等<sup>[5]</sup>提出的等鲜浓度计算公式进行计算。等鲜浓度(EUC)是指在 100 g 干重的食物中,以谷氨酸钠(MSG)的量来表示呈鲜物质的总量,计算公式如下:

$$Y = \sum a_i b_i + 1.218 \times (\sum a_i b_i) \times (\sum a_j b_j)$$

其中,Y 为等鲜浓度(g/100 g), $a_i$  为呈鲜氨基酸(Asp 或 Glu)的量, $b_i$  为呈鲜氨基酸相对谷氨酸(Glu)的值( $Glu = 1, Asp = 0.077$ ), $a_j$  为呈味核苷酸[5'-肌苷酸(inosinic acid, 5'-IMP)、5'-鸟苷酸(5'-GMP)、5'-黄苷酸(xanthylic acid, 5'-XMP)、5'-腺苷酸(adenylic acid, 5'-AMP)]的量, $b_j$  为呈味核苷酸相对 5'-肌苷酸的值( $5'-IMP = 1, 5'-GMP = 2.3, 5'-XMP = 0.61, 5'-AMP = 0.18$ ),1.218 为协同作用常数。

## 2 结果与分析

### 2.1 H5(0605)菌株生长发育过程中可溶性糖、糖醇含量的测定结果

食用菌中可溶性糖是产生甜味的主要物质,它的含量直接影响着食用菌的滋味和口感<sup>[1]</sup>。Mau

等<sup>[7]</sup>研究表明,食用菌中可溶性糖的主要成分是甘露醇和海藻糖,Chen<sup>[8]</sup>发现食用菌中的甘露醇是产生甜味的重要物质,甘露醇含量高的食用菌,吃起来有种爽口的甜味。图 2 为标准品和 H5-3 的离子色谱图,从图中可以看出阿糖醇、海藻糖和甘露醇的出峰时间分别为 16、18.13 和 21.27 min,猴头菌中阿糖醇的含量相比海藻糖和甘露醇的含量高出很多倍,甘露醇的含量相当低,这与周帅等<sup>[4]</sup>的测定结果相吻合。H5 菌株不同生长发育期新鲜子实体中可溶性糖、糖醇的含量见表 1,从表 1 中可以看出,H5 菌株子实体鲜品中阿糖醇的含量在 6.87 ~ 13.98 mg/g 之间变化,海藻糖和甘露醇的含量也出现上下波动现象,但没有特定的规律性。

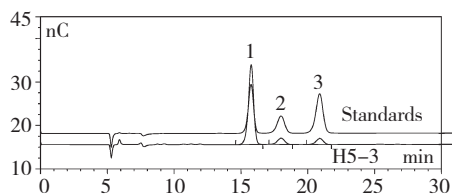


图 2 标准品及 H5-3 离子色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed standard and H5-3

1:阿糖醇;2:海藻糖;3:甘露醇;1:arabitol;2:trehalose;3:mannitol

表 1 H5 菌株不同生长发育期新鲜子实体中可溶性糖、糖醇的含量(mg/g)

Table 1 Contents of soluble sugar and sugar alcohol of fresh fruiting body of H5 strains at different developmental stages (mg/g)

样品 Sample	阿糖醇 Arabitol	海藻糖 Trehalose	甘露醇 Mannitol
H5-3	6.87 ± 1.79	1.97 ± 0.16	0.78 ± 0.10
H5-4	13.98 ± 0.25	0.53 ± 0.01	0.38 ± 0.01
H5-5	9.82 ± 0.78	1.75 ± 0.01	0.38 ± 0.02
H5-6	12.83 ± 1.18	1.49 ± 0.10	0.55 ± 0.01

### 2.2 H5(0605)菌株生长发育过程中 5'-核苷酸含量的测定结果

植物食品中含有丰富的三磷酸腺苷,在各种特定生物酶的作用下可以发生降解反应,最终分解成相应的核苷酸。其中 5'-核苷酸是典型的呈鲜味物质。这些呈味核苷酸不仅具有显著的增鲜作用,而且对于动物性食品的各种滋味也有一定的增减作用。Chen<sup>[8]</sup>研究食用菌中呈味组分特性时发现 5'-GMP、5'-IMP 和 5'-XMP 是风味 5'-核苷酸。图 3A 是六个核苷酸混合标准品的 HPLC 图谱,从图中可

以知道六种核苷酸的出峰时间分别为 5.3、7.0、11.0、12.0、15.1、22.8 min。从 H5 菌株 3、4、5、6 四个发育时期的 HPLC 图谱(图 3B)中可以看出,猴头菌发育过程中,第 4 期(小菌刺期)测得少量的 5'-XMP,而在其余发育时期没有检测到;其余 5 种核苷酸在发育的整个过程中都存在。H5 菌株子实体鲜品总的 5'-核苷酸的量在 492.83 ~ 700.17  $\mu\text{g/g}$  之

间波动(表 2),并且总的核苷酸在发育的第三时期最高,而后下降,到成熟期又有所上升。H5 菌株风味 5'-核苷酸的含量在 30.04 ~ 87.98  $\mu\text{g/g}$  之间波动,在发育的第三、第四时期较高,而后显著降低。一般情况下,食用菌中 5'-CMP 的含量相比其余的 5'-核苷酸的量都高,检测结果表明猴头菌也不例外,5'-CMP 的含量最高。

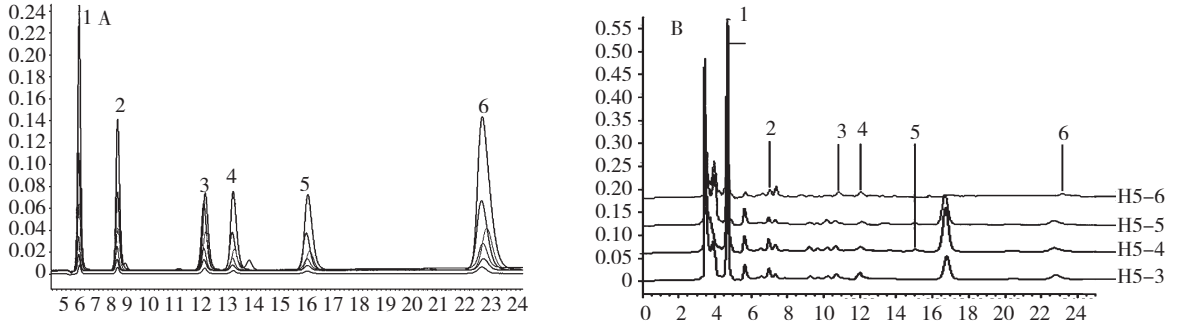


图 3 六个核苷酸混合标准品(A)及样品(H5-3、H5-4、H5-5、H5-6)(B)的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC chromatograms of six mixed standards (A) and samples (H5-3, H5-4, H5-5, H5-6) (B)

1:5'-胞苷酸;2:5'-尿苷酸;3:5'-鸟苷酸;4:5'-肌苷酸;5:5'-黄苷酸;6:5'-腺苷酸  
1:5'-CMP;2:5'-UMP;3:5'-GMP;4:5'-IMP;5:5'-XMP;6:5'-AMP

表 2 H5 菌株不同生长发育期新鲜子实体中 5'-核苷酸的含量( $\mu\text{g/g}$ )

Table 2 Content of 5'-nucleotide of fresh fruiting body of H5 strains at different developmental stages ( $\mu\text{g/g}$ )

样品 Sample	H5-3	H5-4	H5-5	H5-6
5'-胞苷酸 5'-CMP	451.03 $\pm$ 7.80	367.30 $\pm$ 5.40	373.24 $\pm$ 2.7	488.13 $\pm$ 8.05
5'-尿苷酸 5'-UMP	95.81 $\pm$ 2.36	44.55 $\pm$ 1.48	37.54 $\pm$ 0.36	39.62 $\pm$ 0.25
5'-鸟苷酸 5'-GMP	46.60 $\pm$ 0.55	29.58 $\pm$ 0.24	6.09 $\pm$ 0.18	30.93 $\pm$ 0.16
5'-肌苷酸 5'-IMP	41.38 $\pm$ 0.71	30.94 $\pm$ 0.27	23.95 $\pm$ 0.43	26.17 $\pm$ 0.38
5'-黄苷酸 5'-XMP	-	19.04 $\pm$ 1.34	-	-
5'-腺苷酸 5'-AMP	65.35 $\pm$ 0.55	64.35 $\pm$ 0.38	52.01 $\pm$ 0.55	62.77 $\pm$ 0.45
风味 5'-核苷酸 Flavor 5'-nucleotides	87.98 $\pm$ 1.26	79.56 $\pm$ 1.85	30.04 $\pm$ 0.61	57.10 $\pm$ 0.54
总 5'-核苷酸 Total 5'-nucleotides	700.17 $\pm$ 11.97	555.76 $\pm$ 9.11	492.83 $\pm$ 4.22	647.62 $\pm$ 9.29

注:“-”表示未检测到。  
Note:“-” means not detected.

### 2.3 H5(0605) 菌株生长发育过程中鲜味游离氨基酸含量的测定结果

Yamaguchi 等<sup>[5]</sup>研究表明天门冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)是鲜味的基本组成成分。食物所产生的鲜味或可口味是由谷氨酸盐和呈味核苷酸共同作用的结果,它们使食用菌产生了各自特有的可口味道。本文对猴头菌 H6 菌株子实体不同生长阶段鲜品中产生鲜味的两种氨基酸做了测定,测定结果如表 3 所示,从表中可以看出猴头菌中游离氨基酸的含量甚微,且生长发育过程中两种氨基酸含量的变化无相应的规律性。

表 3 H5 菌株不同生长发育期新鲜子实体中 Glu 和 Asp 的含量( $\mu\text{g/g}$ )

Table 3 Content of Glu and Asp of fresh fruiting body of H5 strains at different developmental stages ( $\mu\text{g/g}$ )

样品 Sample	谷氨酸 Glu	天门冬氨酸 Asp
H5-3	0.98 $\pm$ 0.04	0.02 $\pm$ 0.01
H5-4	1.25 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.02
H5-5	1.08 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01
H5-6	1.43 $\pm$ 0.05	0.03 $\pm$ 0.01

## 2.4 等鲜浓度计算结果分析

通过等鲜浓度计算公式计算得出 H5 菌株不同生长发育期的等鲜浓度如表 4 所示, H5 菌株不同生长发育期的 EUC 值在 931.84.40 ~ 1798.06  $\mu\text{g}$  MSG/100 g 之间变化, 其中第 4 发育期的 EUC 值最高。

表 4 H5 菌株不同生长发育期的等鲜浓度

Table 4 EUC of H5 strains at different developmental stages

发育阶段 Developmental stage	等鲜浓度 EUC ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )
H5-3	931.84
H5-4	1798.06
H5-5	996.63
H5-6	1276.52

## 3 讨论

菌菇类的风味是由非挥发性成分<sup>[9]</sup>和挥发性成分<sup>[10]</sup>组成的。食用菌的味道基本上都是由水溶性物质产生的, 包括 5'-核苷酸、游离氨基酸和可溶性糖、糖醇等<sup>[10]</sup>。本文通过先进的分析手段对食药兼用菌猴头菌生长发育阶段产生的水溶性风味物质进行了较为深入的研究。研究表明, 猴头菌 H5 菌株在不同生长发育阶段各种非挥发性风味物质含量不同。通过实验, 笔者发现, 猴头菌不同菌株在不同生长发育阶段各种非挥发性风味物质变化规律具有相似性(待发表)。在猴头菌子实体发育的分裂期或小菌刺期, 其所含可溶性风味物质的量都较高, 且 EUC 值也是最高的, 所以要获得口感较好的猴头菌, 尽量在菌刺刚刚长出或是菌刺较短的时期采摘。研究为猴头菌工厂化栽培获得品质风味佳的猴头菌子实体提供了科学数据, 为其进一步开发利用奠定了理论基础。

### 参考文献

1 Huang NL(黄年来), Lin ZB(林志彬), Chen GL(陈国

良), *et al.* Medicinal and Edible Fungi (中国食用菌学). Shanghai: ShangHai Scientific and Technological Literature Publishing House, 2010. 740-747.

- 2 You XY(游兴勇), Xu Y(许杨), Li YP(李燕萍). The studies of nonvolatile taste compounds of edible fungi. *China Condiment*, 2008, 8:32-35.
- 3 Li QZ(李巧珍), Liu CG(刘朝贵), Yu HL(于海龙), *et al.* Protein, polysaccharide and  $\beta$ -glucan levels in *Hericium erinaceus* fruit bodies farvested at different development stages and the effect of extracted polysaccharide on NO production by RAW264.7 cells. *Acta Edulis Fungi*, 2011, 18(4): 73-77.
- 4 Zhou S(周帅), Xue JJ(薛俊杰), Liu YF(刘艳芳), *et al.* Determination of arabitol, trehalose and mannitol in the fruit bodies of edible fungi using high performance anion chromatography-pulsed amperometric detection (HAPEC-PAD). *Acta Edulis Fungi*, 2011, 18:49-52.
- 5 Yamaguchi S, Yoshikawa T, Ikeda S, *et al.* Measurement of the relative taste intensity of some L- $\alpha$ -amino acid and 5'-nucleotides. *J Food Sci*, 1971, 36:846-849.
- 6 Zhou S(周帅), Tang QJ(唐庆九), Yang Y(杨焱), *et al.* Comparison of the efficacy of six different procedures for determining protein in crude polysaccharide preparations from medicinal fungi. *Acta Edulis Fungi*, 2010, 17:72-75.
- 7 Mau JL, Chyau CC, Li JY, *et al.* Flavor compounds in straw mushrooms *Volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity. *J Agric Food Chem*, 1997, 45:4726-4729.
- 8 Chen HK. Studies on the characteristics of taste-active components in mushroom concentrate and its powderization. Taiwan: National Chung-Hsing University, MSc. 1986.
- 9 Litchfield JH. Morel mushroom mycelium as a food-flavoring material. *Biotechnol Bioeng*, 1967, 9:289-304.
- 10 Maga JA. Mushroom flavor. *J Agric Food Chem*, 1981, 29:1-4.