

酶解方法对香菇风味物质的影响

吴珊珊¹, 许兴华¹, 卢星如¹, 艾洪湖¹, 吴蕊¹, 曹谨玲^{1,3*}, 程艳芬^{1,3},
云少君¹, 程菲儿¹, 冯翠萍^{1,2*}

¹山西农业大学食品科学与工程学院 山西太谷 030801

²山西省食用菌工程技术研究中心 山西太谷 030801

³黄土高原食用菌山西省重点实验室 山西太谷 030801

摘要 为探究不同酶解方法对香菇风味物质的影响,选用 2 种单酶(纤维素酶、风味蛋白酶)和 1 种复合酶(纤维素酶+风味蛋白酶)酶解香菇,比较不同酶处理的香菇风味物质的差别。结果显示:与对照组相比,纤维素酶组、风味蛋白酶组和复合酶组酶解液中可溶性糖总量分别显著上升 144.21%,114.24%和 438.28%,有机酸总量分别显著上升 9.06%,8.31%和 13.77% ($P<0.05$),复合酶处理组显著高于单一酶处理组。复合酶组的呈味核苷酸含量分别显著高于对照组、纤维素酶组、风味蛋白酶组 6.55%,4.90%和 5.75% ($P<0.05$)。与对照组相比,风味蛋白酶和复合酶处理组的游离氨基酸含量显著上升了 56.19%和 58.95% ($P<0.05$)。采用气相色谱-质谱联用分析共检出 62 种挥发性风味物质,其中醇类物质和含硫化合物最丰富。复合蛋白酶处理组中 1-辛烯-3-醇(蘑菇醇)和 1,2,3,5,6-五硫杂环庚烷(香菇素)相对含量较高,分别达到 68.27%和 8.06%。结论:纤维素酶和风味蛋白酶复合酶解能促进香菇可溶性糖、有机酸、呈味核苷酸和游离氨基酸及 1-辛烯-3-醇(蘑菇醇)和 1,2,3,5,6-五硫杂环庚烷(香菇素)等风味物质的释放。

关键词 香菇; 纤维素酶; 风味蛋白酶; 复合酶; 风味物质

文章编号 1009-7848(2024)09-0297-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.09.028

香菇是我国第一大食用菌生产品种,具有很高的营养、药用价值。香菇中丰富的风味物质使其滋味鲜美、独特,深受消费者的喜爱,已成为天然调味料和风味产品开发的主要原料^[1-2]。香菇风味物质主要由醇类、醛类、酯类及含硫化合物等挥发性的呈香物质和游离氨基酸、可溶性糖、核苷酸等非挥发性的呈味物质构成,两类物质彼此协作一起来呈现香菇的特有风味^[3]。

生物酶解技术是制作绿色、安全调味基料的主要方法之一,其具有反应过程温和,定向可控,耗能低,污染少等特点,是目前食用菌加工高值化利用的重要手段之一^[4-5]。应用酶解法对香菇水解,能够让原料蛋白质水解充分,风味前体物质释放

更多,让特殊风味在一定程度上得以加强^[2]。李延年^[6]研究发现使用纤维素酶-果胶酶对香菇复配草菇酶解,其游离氨基酸含量提升 78.57%,呈鲜味的游离谷氨酸酶解后含量提升 32.07%,其呈味阈值明显上升,鲜味较酶解前明显提高。沈文凤^[7]研究发现复合酶解可以增强香菇酶解液的酶解效率和感官品质,获得风味良好的香菇调味料。徐永霞等^[8]用复合蛋白酶和纤维素酶酶解菌菇鳕鱼汤,显著提高了鲜味,降低了苦味,表明酶解可以改善菌菇鳕鱼汤的风味。黄爱云等^[9]研究发现利用风味蛋白酶和复合蛋白酶的复配酶水解,能够更充分释放真姬菇菌盖和菌柄中的鲜味物质,使其在开发少盐鲜味调味品方面更有潜力。这些研究的侧重点在酶解工艺方面,对于不同蛋白酶酶解特性的对比研究较少。

由于不同的蛋白酶作用位点不同,会对酶解液风味产生比较大的影响^[10],因此蛋白酶的选择对酶解液的性质具有关键作用。本研究采用碱性蛋白酶、风味蛋白酶和中性蛋白酶对香菇粉进行单酶酶解,研究不同蛋白酶对香菇酶解液的水解度、营养成分、感官和挥发性风味物质的影响。以

收稿日期: 2023-09-09

基金项目: 山西省自然科学基金项目(202103021224126);
食用菌山西省科技创新重点团队项目(201805D
131009); 山西农谷建设科研专项(SXNGJSKY
ZX201903)

第一作者: 吴珊珊,女,硕士

通信作者: 曹谨玲 E-mail: caojinling7928@163.com
冯翠萍 E-mail: ndfcp@163.com

纤维素酶、风味蛋白酶及两种酶的复合酶解香菇,探究不同蛋白酶解对香菇风味物质的影响,旨在为香菇调味料的开发利用提供技术参考。

1 材料与amp;方法

1.1 主要材料与试剂

新鲜香菇购自太谷区香菇种养基地。纤维素酶(30 000 U/g 食品级)、风味蛋白酶(50 000 U/g 食品级),河南万邦实业有限公司;柠檬酸、酒石酸、苹果酸、琥珀酸、富马酸、甘露醇、海藻糖、葡萄糖、果糖,国药集团化学试剂有限公司;5'-腺苷酸(5'-AMP)、5'-胞苷酸(5'-CMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)和 5'-尿苷酸(5'-UMP),上海源叶生物科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

1260 型高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;ISC-3000 型离子色谱仪,Thermo;L-3000 型氨基酸自动分析仪,苏州美华辰有限公司;Trace ISQ 型气相色谱-质谱联用仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;MCR 型流变仪,奥地利安东帕有限公司;旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;ST3100 型 pH 计、AR224CN 型电子分析天平,奥豪斯仪器(常州)有限公司;高速冷冻离心机,北京德泉兴业商贸有限公司;DZKW-4 电子恒温水浴锅,北京中兴伟业仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 香菇前处理 选取新鲜香菇用水清洗干净,按 0.5 g/mL 的质量浓度加蒸馏水,于粉碎机打碎成匀浆,获得香菇匀浆液。

1.3.2 酶最适添加量的确定

1.3.2.1 纤维素酶用量的确定 称取 45 g 香菇匀浆液,分别添加纤维素酶 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 2.5%(以香菇质量计),在 55 ℃水浴条件下酶解 3 h,立即在沸水浴中灭酶 15 min,以纤维素的含量为指标,确定纤维素酶酶解香菇的最适添加量。纤维素含量的测定参照 GB/T 5009.10-2003《植物类食品中粗纤维的测定》进行^[1]。

1.3.2.2 风味蛋白酶用量的确定 称取 45 g 香菇匀浆液,分别添加风味蛋白酶 0.2%、0.4%、0.6%、0.8% 和 1.0%(以香菇质量计),在 55 ℃水浴条件下酶解 3 h,立即在沸水浴中灭酶 15 min,以氨基

酸态氮的含量为指标,确定风味蛋白酶酶解香菇的最适添加量。氨基酸态氮含量的测定参照 GB 5009.235-2016《植物类食品中粗纤维的测定》进行^[2]。

1.3.3 试验设计 试验分为 4 组,香菇匀浆液组(对照组),纤维素酶组(香菇匀浆液+纤维素酶),风味蛋白酶组(香菇匀浆液+风味蛋白酶),复合酶组(香菇匀浆液+纤维素酶和风味蛋白酶),按照 1.3.2 节所测最适添加量添加酶,每组 3 个重复。各组在 55 ℃水浴条件下复合酶解 3 h,立即在沸水浴中灭酶 15 min,随后于 4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用于指标的测定。

1.4 指标的测定

1.4.1 可溶性糖组成及含量测定 参考 Ajlouni 等^[3]的方法,将各组香菇上清液稀释 10 倍,经 0.45 μm 水系微孔滤膜过滤,用色谱检测可溶性糖组成及含量。色谱条件:Carbo Pac PA20 阴离子交换分析柱(150 mm×3 mm),流动相:纯水:0.1 mol/L NaOH = 19:1,流速 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,进样量 25 μL。根据标准品的出峰时间,将不同浓度梯度的标准品与峰面积建立标准曲线,计算各组样品中对应物质的组成及含量。

1.4.2 有机酸组成及含量测定 参考徐晓东等^[4]的方法,将各组香菇上清液过 0.45 μm 水系微孔滤膜。色谱条件:Aminex HPX-87H 色谱柱(300 mm×7.8 mm, 5 μm);流动相为 0.05 mol/L 的 H₂SO₄;用紫外检测器在波长 210 nm 处检测,流速 0.6 mL/min,柱温 30 ℃,进样量 25 μL。根据标准品的出峰时间,将不同浓度梯度的标准品与峰面积建立标准曲线,计算各组样品中对应物质的组成及含量。

1.4.3 呈味核苷酸组成及含量测定 参考 Taylor 等^[5]的方法,将各组香菇上清液过 0.45 μm 水系微孔滤膜。色谱条件:Agilent Eclipse Plus C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:称取 1.360 g 磷酸二氢钾,0.4753 g 四丁基硫酸氢铵定容至 1 000 mL,加入 2.5 mL 磷酸和 40 mL 甲醇,混匀后超声 10 min。用紫外检测器在波长 254 nm 处检测,流速 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。根据标准品的出峰时间,将不同浓度梯度的标准品与峰面积建立标准曲线,计算各组样品中对应物

质的组成及含量。

1.4.4 游离氨基酸组成及含量测定 将各组香菇上清液过 0.45 μm 水系微孔滤膜,用氨基酸自动分析仪测定,具体检测方法参照 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》^[12]。

1.4.5 呈味物质的呈味贡献分析 呈味强度值(Taste Activity Value, TAV),代表样品中呈味物质含量与其阈值之比,可用作判断各呈味组分对味觉的贡献效果,TAV>1 代表该物质对呈味有贡献,且数值越大,贡献效果越显著;反之,则代表该物质对味觉影响较小。TAV 值的计算公式如下:

$$\text{TAV} = \frac{\text{呈味物质在样品中的含量}(\text{mg/g})}{\text{该物质的呈味阈值}(\text{mg/g})} \quad (1)$$

1.4.6 挥发性风味物质的测定 参照卢嘉懿^[16]的方法,各组上清液取 5 g 置于 20 mL 螺口顶空瓶中,45 $^{\circ}\text{C}$ 条件下用固相微萃取头顶空吸附 40 min,在进样口于 250 $^{\circ}\text{C}$ 解析 5 min,用气相色谱-质谱(GC-MS)检测。

GC-MS 条件:色谱柱: TG-WAXMS (30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$, 0.25 μm)。进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,载气为 He,流速为 1.0 mL/min,进样口不分流。升温程序:初始温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min,后以速度为 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 120 $^{\circ}\text{C}$,再以 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 9 min。电离方式为电子电离 (electronic ionization) 源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,接口温度 230 $^{\circ}\text{C}$,质量扫描范围为 45~500 u。

1.5 数据分析

试验结果用平均值 \pm 标准差(SD)表示。使用 IBM SPSS Statistics 21.0 对数据进行单因素方差

分析,Duncan 进行多重比较,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义,使用 Graphpad Prism 7.00 软件作图。

2 结果与分析

2.1 酶最适添加量

2.1.1 纤维素酶添加量的确定 如图 1 所示,随着纤维素酶添加量的增加,纤维素含量呈下降的趋势,相关分析显示,纤维素酶添加量与香菇中纤维素含量呈负相关 (Pearson 系数为 -0.697, $p=0.001$)。当添加量为 0% 和 0.5% 时,各组差异均显著 ($P<0.05$); 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5% 添加量组,组间无显著差异。这可能是添加量为 1.0% 时,纤维素酶与香菇细胞壁中纤维素结合位点趋于饱和,从而使酶解反应减慢,导致纤维素酶解趋于稳定。因此,纤维素酶的最适添加量为 1.0%。

2.1.2 风味蛋白酶添加量的确定 如图 2 所示,随着风味蛋白酶添加量的增加,氨基酸态氮含量呈逐渐上升趋势,相关分析显示,纤维素酶添加量与香菇中纤维素含量呈正相关 (Pearson 系数为 0.913, $p=0.000$)。当添加量为 0%, 0.2% 和 0.4% 各组之间差异均显著 ($P<0.05$); 0.6%, 0.8% 和 1.0% 添加量组,组间无显著差异。在添加量为 0.6% 时,氨基酸态氮含量最高,达 2.74 g/mL; 继续增加风味蛋白酶含量,氨基酸态氮含量趋于稳定,这可能是由于当风味蛋白酶添加量为 0.6% 时,其已将底物水解完全,所以当继续增加风味蛋白酶添加量时,产物氨基酸态氮并没有相应增加。因此,风味蛋白酶的最适添加量为 0.6%。

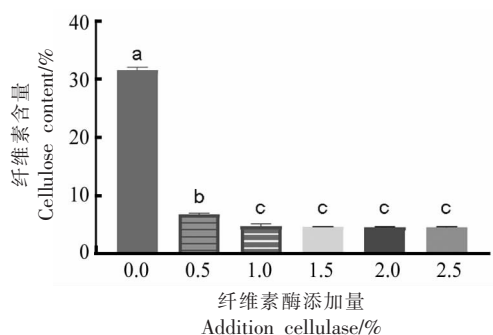


图1 纤维素酶添加量对纤维素含量的影响
Fig.1 Effects of cellulase addition on content of cellulose

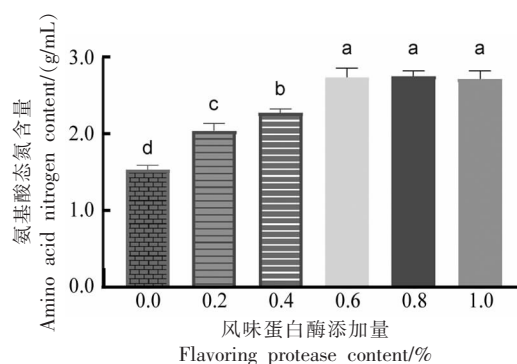


图2 风味蛋白酶添加量对氨基酸态氮含量的影响
Fig.2 Effects of flavourzyme addition on content of amino acid nitrogen

2.2 酶解对香菇非挥发性风味物质的影响

2.2.1 酶解对香菇可溶性糖含量的影响 可溶性糖是蘑菇中的一种味觉活性成分,有助于产生甜味。从表1可知,香菇中检测到的可溶性糖主要有4种。与香菇匀浆液(对照组)相比,纤维素酶组、风味蛋白酶组和复合酶组酶解液中可溶性糖总量分别上升144.21%,114.24%和438.28%,且升高均显著($P<0.05$)。与对照组比较纤维素酶组中甘露醇、海藻糖和葡萄糖的含量均显著提高($P<0.05$),而风味蛋白酶组中只显著增加了葡萄糖和果糖含量($P<0.05$)、复合酶组中甘露醇、海藻糖、葡萄糖和果糖均显著提高($P<0.05$),特别是葡萄糖升高尤甚。这可能是由于香菇细胞壁含有纤维素等大分子多糖,在适宜温度的水浴加热条件下,纤维素酶作用于纤维素等物质,使其分解成小分子的糖,特别是葡萄糖。食用菌的细胞壁是由葡聚糖、几丁质、糖蛋白和交联蛋白等大分子物质相互交织形成致密的网状结构^[17],使香菇细胞壁不易

分解破碎,细胞内的物质不易释放到细胞外,导致只用风味蛋白酶酶解很难完全释放细胞内的小分子风味物质^[18],因此,风味蛋白酶酶解只有葡萄糖和果糖含量显著增加。所以,单独纤维素酶和风味蛋白酶酶解后,各种可溶糖含量及总含量都没有复合酶解效果显著。李雪^[19]用复合酶(纤维素酶+风味蛋白酶)酶解蟹味菇亦发现葡萄糖含量和各类可溶性糖的含量均增加显著,徐晓东等^[14]利用复合酶(纤维素酶+风味蛋白酶)酶解草菇后,亦发现葡萄糖的含量和可溶性糖的含量显著增加,这与本试验研究结果一致。

结合阈值,从表2可以看出,在香菇匀浆液和风味蛋白酶酶解液中,可溶性糖的TAV均小于1,即味感影响较小。对比香菇匀浆液与其它组样品可以看出,经过各种处理后,纤维素酶处理和复合酶解液处理使葡萄糖的TAV值大于1,能够对味感产生影响。

表1 酶解对香菇可溶性糖含量的影响

Table 1 Effects of enzymatic hydrolysis on soluble sugar content of *Lentinus edodes*

可溶性糖	含量/(mg/g)			
	香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
甘露醇	0.59 ± 0.19 ^c	2.77 ± 0.22 ^b	1.11 ± 0.01 ^c	4.32 ± 0.37 ^a
海藻糖	0.71 ± 0.03 ^c	1.04 ± 0.03 ^b	0.76 ± 0.03 ^c	2.10 ± 0.09 ^a
葡萄糖	1.85 ± 0.06 ^d	4.08 ± 0.13 ^b	3.60 ± 0.19 ^c	8.78 ± 0.24 ^a
果糖	0.22 ± 0.01 ^c	0.34 ± 0.01 ^c	1.75 ± 0.04 ^b	2.94 ± 0.15 ^a
总量	3.37 ± 0.11 ^c	8.23 ± 0.36 ^b	7.22 ± 0.21 ^b	18.14 ± 0.84 ^a

注:同行标注不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下表同。

表2 酶解对香菇可溶性糖TAV的影响

Table 2 Effect of enzymatic hydrolysis on soluble sugar TAV of *Lentinus edodes*

可溶性糖	阈值/(mg/g)	TAV			
		香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
甘露醇	7.3	0.08	0.38	0.15	0.59
海藻糖	—	/	/	/	/
葡萄糖	3.9	0.47	1.05	0.92	2.25
果糖	—	/	/	/	/

注:可溶性糖阈值参考文献[13];—,未见报道;/,无法计算,下表同。

2.2.2 酶解对香菇有机酸含量的影响 有机酸是主要的酸味物质成分,与氨基酸、芳香化合物、酚和酯的合成和代谢密切相关。琥珀酸是一种天然

有机酸,是香菇中的主要有机酸,同时具备酸味和鲜味,可与鲜味氨基酸产生协同作用,进而赋予香菇独特的风味^[20]。从表3可知,与对照组比较纤维

素酶组、风味蛋白酶组和复合酶组香菇有机酸总量和琥珀酸含量均呈上升趋势,且升高都显著($P < 0.05$)。许锐等^[21]用复合酶(纤维素酶+风味蛋白酶)酶解也显著提高了灰树花中有机酸总量,这与本试验研究结果一致。说明酶解处理有利于香菇中有机酸的释放,且复合酶解的效果要优于纤维素酶酶解或风味蛋白酶酶解效果。

结合阈值,从表 4 可以看出,琥珀酸对味感贡献最大,是香菇中唯一一个 TAV 值大于 1 的有机酸。其余各种有机酸的 TAV 值均小于 1,即对味感产生的影响较小。对比香菇匀浆液与其它组样品可以看出,经过单一酶解处理,有机酸对味感的贡献率无明显变化;而复合酶解液处理会使琥珀酸的味感贡献率增加。

表 3 酶解对香菇有机酸含量的影响

Table 3 Effects of enzymatic hydrolysis on organic acid content of *Lentinus edodes*

有机酸	含量/(mg/g)			
	香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
柠檬酸	0.06 ± 0.00 ^a	0.06 ± 0.00 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.00 ^a
酒石酸	0.08 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.00 ^a
苹果酸	0.72 ± 0.02 ^b	0.74 ± 0.01 ^b	0.85 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.04 ^a
琥珀酸	6.93 ± 0.09 ^d	7.65 ± 0.06 ^b	7.47 ± 0.03 ^c	7.88 ± 0.09 ^a
乙酸	0.08 ± 0.00 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.00 ^a
富马酸	0.19 ± 0.00 ^a	0.19 ± 0.00 ^a	0.19 ± 0.00 ^a	0.21 ± 0.01 ^a
总量	8.06 ± 0.12 ^c	8.79 ± 0.08 ^b	8.73 ± 0.02 ^b	9.17 ± 0.12 ^a

表 4 酶解对香菇有机酸 TAV 的影响

Table 4 Effect of enzymatic hydrolysis on organic acid TAV of *Lentinus edodes*

有机酸	阈值/(mg/g)	TAV			
		香菇匀浆液	纤维素酶酶解液	风味蛋白酶酶解液	复合酶酶解液
柠檬酸	0.5	0.12	0.12	0.12	0.14
酒石酸	—	/	/	/	/
苹果酸	5.0	0.14	0.15	0.17	0.17
琥珀酸	1.1	6.30	6.95	6.79	7.16
乙酸	0.1	0.80	0.70	0.80	0.80

注:有机酸阈值参考文献[13]。

2.2.3 酶解对香菇呈味核苷酸含量的影响 由表 5 可知,香菇中一共检测出 4 种呈味核苷酸,分别为 5'-腺苷酸(5'-AMP)、5'-胞苷酸(5'-CMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)和 5'-尿苷酸(5'-UMP)。与对照组相比,纤维素酶组和风味蛋白酶组各种核苷酸含量和 5'-核苷酸总量均无差异;而复合酶组 5'-CMP 含量和 5'-核苷酸总量显著高于其它 3 组($P < 0.05$)。核苷酸可以增加食物滋味,改善食品味道,抑制食物不好的气味,从而改善味觉。总体来说,复合酶解对香菇核苷酸的释放有一定的促进作用,对酶解液整体鲜香味的提升有一定贡献。在本次试验中未检测到 5'-鸟苷酸(5'-GMP),可能

是因为酶失活期间的热分解效应导致的^[22]。

从表 6 中可以看出,虽然在香菇中检测出了 5'-IMP,但其含量相对较少,且无论是否酶解处理其 TAV 均小于 1,即对香菇滋味的贡献不大,但不能忽视其与鲜味氨基酸的协同增鲜作用。

2.2.4 酶解对香菇游离氨基酸含量的影响 由表 7 可知,香菇匀浆液和不同酶解液中都检测出 16 种氨基酸。根据呈味特性可以将游离氨基酸分为 4 类,其中呈鲜味的氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸,呈甜味包括脯氨酸、丙氨酸、甘氨酸和丝氨酸,呈苦味包括蛋氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、组氨酸、亮氨酸、精氨酸和苯丙氨酸,无味包括赖氨酸、酪氨

表5 酶解对香菇呈味核苷酸含量的影响

Table 5 Effects of enzymatic hydrolysis on flavor nucleotide content of *Lentinus edodes*

5'-核苷酸	含量/($\mu\text{g/g}$)			
	香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
5'-CMP	536.68 \pm 7.62 ^b	547.74 \pm 30.42 ^b	544.88 \pm 8.31 ^b	573.62 \pm 25.93 ^a
5'-AMP	6.68 \pm 0.27 ^a	5.69 \pm 0.05 ^a	5.55 \pm 0.08 ^a	5.74 \pm 0.17 ^a
5'-GMP	—	—	—	—
5'-IMP	12.57 \pm 0.61 ^a	10.53 \pm 0.87 ^a	11.14 \pm 0.56 ^a	11.09 \pm 0.05 ^a
5'-UMP	17.59 \pm 0.46 ^a	18.60 \pm 0.13 ^a	16.32 \pm 0.85 ^a	20.65 \pm 3.48 ^a
总量	573.51 \pm 7.46 ^b	582.55 \pm 29.69 ^b	577.89 \pm 8.37 ^b	611.1 \pm 24.49 ^a

表6 酶解对香菇呈味核苷酸 TAV 的影响

Table 6 Effect of enzymatic hydrolysis on flavor nucleotide TAV of *Lentinus edodes*

核苷酸	阈值/(mg/g)	TAV			
		香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
5'-CMP	—	/	/	/	/
5'-AMP	—	/	/	/	/
5'-IMP	1.8	0.007	0.006	0.006	0.006
5'-UMP	—	/	/	/	/

注:核苷酸阈值参考文献[13]。

酸和胱氨酸。酶解处理可显著影响酶解液中各种氨基酸的量和总量。纤维素酶组中各种游离氨基酸含量和总量与香菇匀浆液相比无显著差异,但从表8可以看出,纤维素酶解显著增加了甜味、苦味和无味3种呈味氨基酸的含量。风味蛋白酶组和复合酶组中游离氨基酸总量和15种氨基酸含量(除胱氨酸)均显著增加($P < 0.05$),特别是在复合酶酶解液中,游离氨基酸总量由2.22 mg/g增加到3.53 mg/g。这可能是由于纤维素酶将香菇细胞壁中的纤维素分解为小分子糖,破坏了香菇细胞壁的结构,使得细胞内的大分子物质溶出,而风味蛋白酶将溶出的大分子蛋白质分解成游离氨基酸和小分子肽。因此,在复合酶解液中游离氨基酸总量显著增加更多。此外,由表8可知,复合酶解处理使香菇各类呈味氨基酸总量增加:鲜味氨基酸的总量由320.15 $\mu\text{g/g}$ 增加到544.73 $\mu\text{g/g}$,甜味氨基酸的总量由709.68 $\mu\text{g/g}$ 增加到1 023.86 $\mu\text{g/g}$,苦味氨基酸的总量由776.02 $\mu\text{g/g}$ 增加到1 378.95 $\mu\text{g/g}$,无味氨基酸的总量由422.06 $\mu\text{g/g}$ 增加到575.04 $\mu\text{g/g}$ 。其中鲜味氨基酸谷氨酸是重要的鲜味氨基酸,并且与5'-IMP有协同作用,能够显著

增强风味^[23]。天冬氨酸和谷氨酸是类似味精的物质,可以赋予香菇独特的鲜味^[24]。甜味氨基酸丝氨酸是味觉活性氨基酸,和鲜味氨基酸一起构成香菇中令人愉悦的味道^[25]。虽然亮氨酸和精氨酸是苦味氨基酸,但精氨酸可以增强蔗糖的呈味作用,在增加鲜味和咸味的同时可以降低苦味^[26]。而酶解后苦味氨基酸含量的增加并不能说明香菇复合酶解液的苦味增强,因为酶解后使酶解液产生一定苦味的是苦味肽,而不是游离氨基酸^[27-28]。风味蛋白酶恰好具备内切酶和外切酶的切割特性,可以将苦味肽降解为氨基酸^[29]。

由表9可以看出,酶解后,香菇中各类呈味氨基酸的种类相较香菇匀浆液没有增加,但各类氨基酸的TAV值增加,即贡献率增加。其中,鲜味氨基酸中谷氨酸的TAV值大于1,是影响鲜味的主要氨基酸。且经过风味蛋白酶酶解后谷氨酸对味感的贡献率最大,其它氨基酸则是在经过复合酶处理后对味感的贡献效果最强。另外,酶解处理使呈甜味的丝氨酸和呈苦味的缬氨酸被释放,对味感的贡献略有增加。

表 7 酶解对香菇游离氨基酸含量的影响

Table 7 Effects of enzymatic hydrolysis on free amino acid content of *Lentinus edodes*

氨基酸	含量/($\mu\text{g/g}$)			
	香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
天冬氨酸	18.09 \pm 0.25 ^b	23.82 \pm 0.13 ^b	48.04 \pm 0.40 ^a	47.78 \pm 0.11 ^a
丝氨酸	529.26 \pm 1.32 ^b	542.95 \pm 1.03 ^b	681.82 \pm 0.57 ^a	689.3 \pm 4.64 ^a
谷氨酸	302.06 \pm 1.20 ^b	303.27 \pm 0.44 ^b	506.97 \pm 0.60 ^a	496.95 \pm 7.55 ^a
甘氨酸	41.16 \pm 0.09 ^b	46.82 \pm 2.23 ^b	90.51 \pm 0.12 ^a	90.64 \pm 0.36 ^a
丙氨酸	122.65 \pm 1.87 ^b	130.77 \pm 1.83 ^b	196.28 \pm 0.08 ^a	196.98 \pm 0.23 ^a
胱氨酸	16.53 \pm 3.16 ^a	16.57 \pm 1.85 ^a	21.33 \pm 0.09 ^a	27.72 \pm 0.03 ^a
缬氨酸	154.6 \pm 2.66 ^b	170.29 \pm 0.99 ^b	258.36 \pm 0.19 ^a	267.09 \pm 0.18 ^a
蛋氨酸	40.49 \pm 0.90 ^b	46.97 \pm 0.38 ^b	76.15 \pm 0.24 ^a	81.04 \pm 0.23 ^a
异亮氨酸	89.83 \pm 0.44 ^b	95.71 \pm 0.18 ^b	174.47 \pm 0.08 ^a	175.22 \pm 0.50 ^a
亮氨酸	158.75 \pm 0.92 ^b	171.84 \pm 0.22 ^b	286.51 \pm 0.38 ^a	295.09 \pm 0.63 ^a
酪氨酸	29.7 \pm 0.18 ^b	43.46 \pm 0.16 ^b	60.84 \pm 0.20 ^a	86.23 \pm 0.49 ^a
苯丙氨酸	100.19 \pm 1.20 ^b	107 \pm 0.50 ^b	167.85 \pm 0.13 ^a	171.43 \pm 1.16 ^a
组氨酸	45.48 \pm 0.13 ^b	49.65 \pm 0.13 ^b	94.57 \pm 0.82 ^a	95.86 \pm 2.09 ^a
赖氨酸	371.04 \pm 1.24 ^b	376.18 \pm 0.77 ^b	473.35 \pm 2.43 ^a	472.27 \pm 2.42 ^a
精氨酸	186.69 \pm 0.90 ^b	192.63 \pm 0.46 ^b	292.29 \pm 0.62 ^a	293.22 \pm 0.63 ^a
脯氨酸	16.61 \pm 0.95 ^b	20.2 \pm 2.15 ^b	42.82 \pm 1.20 ^a	46.93 \pm 0.85 ^a
总量	2 223.12 \pm 11.92 ^b	2 338.29 \pm 11.29 ^b	3 472.23 \pm 3.33 ^a	3 533.76 \pm 13.98 ^a

表 8 酶解处理香菇各类游离氨基酸含量

Table 8 Contents of free amino acids in *Lentinus edodes* treated by enzymatic hydrolysis

呈味特性	含量/($\mu\text{g/g}$)			
	香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
鲜味	320.15 \pm 1.44 ^c	327.09 \pm 0.31 ^c	555.01 \pm 0.39 ^a	544.73 \pm 7.60 ^b
甜味	709.69 \pm 2.91 ^d	740.74 \pm 0.70 ^c	1 011.50 \pm 0.76 ^b	1 023.86 \pm 4.13 ^a
苦味	776.02 \pm 5.24 ^d	834.09 \pm 1.94 ^c	1 350.20 \pm 0.59 ^b	1 378.95 \pm 4.54 ^a
无味	422.06 \pm 3.31 ^d	447.36 \pm 2.63 ^c	550.76 \pm 2.57 ^b	575.04 \pm 2.64 ^a

表 9 酶解对香菇游离氨基酸 TAV 的影响

Table 9 Effects of enzymatic hydrolysis on free amino acid TAV of *Lentinus edodes*

呈味特性	游离氨基酸	阈值/(mg/g)	TAV			
			香菇匀浆液(对照组)	纤维素酶组	风味蛋白酶组	复合酶组
鲜味	天冬氨酸	1.0	0.02	0.02	0.05	0.05
	谷氨酸	0.3	1.01	1.01	1.69	1.66
甜味	丝氨酸	1.5	0.35	0.53	0.45	0.46
	甘氨酸	1.3	0.03	0.04	0.07	0.07
苦味	丙氨酸	0.6	0.20	0.22	0.33	0.33
	脯氨酸	3.0	0.01	0.01	0.01	0.02
	缬氨酸	0.4	0.39	0.43	0.65	0.67
	蛋氨酸	0.3	0.14	0.16	0.25	0.27
	异亮氨酸	0.9	0.10	0.10	0.19	0.19
	亮氨酸	1.9	0.08	0.09	0.15	0.16
	苯丙氨酸	0.9	0.11	0.12	0.19	0.19
	组氨酸	0.2	0.23	0.25	0.47	0.48
	精氨酸	0.5	0.37	0.39	0.58	0.59

2.3 酶解对香菇挥发性风味物质的影响

图 3a~3d 分别为香菇浆液(对照组)、纤维素酶组、风味蛋白酶组和复合酶组的 GC-MS 总离子

流色谱图,不同酶解液中各组分的分析结果见表 10 和表 11。

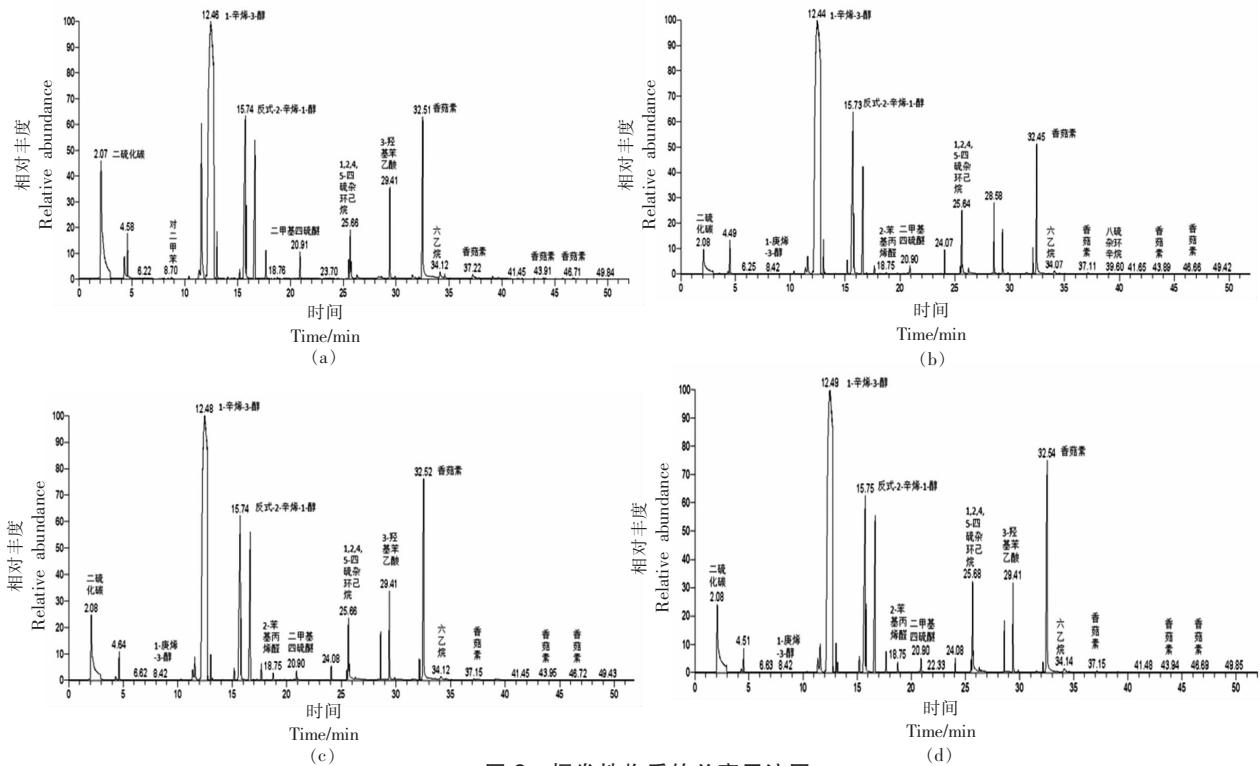


图 3 挥发性物质的总离子流图

Fig.3 Total ion flow diagram of volatile substances

表 10 酶解对香菇挥发性风味物质含量的影响

Table 10 Effects of enzymatic hydrolysis on volatile flavor substances content of *Lentinus edodes*

序号	化合物名称	相对含量/%			
		香菇浆液	纤维素酶酶解液	风味蛋白酶酶解液	复合酶酶解液
1	二硫化碳	4.55	0.99	2.51	2.44
2	二甲基二硫醚	0.77	0.10	0.13	0.12
3	二甲基三硫醚	5.46	0.74	0.94	1.02
4	二甲基四硫醚	0.71	0.27	0.30	0.39
5	1,4-氧硫杂环己烷	0.01	—	0.01	—
6	1,2,4-三硫杂环戊烷	5.45	4.72	6.38	6.15
7	2,3,5-三硫杂己烷	0.75	0.25	0.50	0.53
8	1,2,4,5-四硫环己烷	1.28	2.35	2.10	3.02
9	1,2,4,6-四硫杂环庚烷	0.05	0.04	0.06	0.05
10	1,2,3,5,6-五硫杂环庚烷	5.52	4.97	8.46	8.06
11	1,3-二硫杂环戊烷	—	—	—	0.01
12	三(甲基硫代)甲烷	2.31	2.35	2.25	2.00
13	1-庚烯-3-醇	0.01	0.01	0.01	0.01
14	1-辛烯-3-醇	59.89	62.83	62.90	68.27
15	3-辛醇	0.94	0.81	0.55	0.57
16	3-甲基-1,4-戊二烯-3-醇	0.01	—	—	—

(续表 10)

序号	化合物名称	相对含量/%			
		香菇浆液	纤维素酶 酶解液	风味蛋白酶 酶解液	复合酶 酶解液
17	反式-2-辛烯-1-醇	8.16	9.16	8.15	8.12
18	(2Z)-2-辛烯-1-醇	0.01	0.03	—	0.01
19	5-甲基-2-庚醇	—	0.04	—	—
20	辛醇	—	1.11	1.00	0.99
21	反式-2-壬烯-1-醇	—	0.01	—	0.01
22	α -松油醇	—	0.01	—	—
23	3-辛醇	—	—	0.05	0.20
24	苯乙醇	—	—	0.02	0.01
25	芳樟醇	—	—	—	0.01
26	(S)-(+)-2-辛醇	—	—	0.05	0.20
27	正己醛	0.02	0.02	—	—
28	2-甲基烯醛	0.01	—	—	—
29	苯甲醛	0.27	0.21	0.35	0.42
30	正辛醛	0.02	—	—	—
31	反-2-辛烯醛	0.28	0.46	0.38	0.46
32	壬醛	0.01	0.03	0.02	0.02
33	2-苯基丙烯醛	0.05	0.04	0.20	0.27
34	苯乙醛	—	0.01	0.01	0.01
35	癸醛	—	0.04	0.04	0.03
36	间二甲苯	0.02	—	—	—
37	对二甲苯	0.05	0.01	—	—
38	邻二甲苯	—	0.01	—	—
39	乙基苯	0.01	—	—	—
40	棕榈酸乙酯	0.01	—	—	—
41	氯乙酸异戊酯	—	0.01	—	—
42	辛酸乙酯	—	0.02	0.01	0.01
43	乙酸苯乙酯	—	0.01	—	—
44	(E)-10-十七烯-8-壬酸甲酯	0.02	—	—	—
45	1-庚烯-3-酮	0.05	—	—	—
46	甲基壬基甲酮	0.02	0.27	—	—
47	1-辛烯-3-酮	—	—	0.02	0.02
48	蒿酮	—	0.04	—	0.01
49	萜	0.01	0.04	0.03	0.02
50	六乙烷	—	0.13	0.13	0.15
51	三羟甲基氨基甲烷	—	—	0.01	—
52	1,4-氧硫杂环己烷	0.01	—	0.01	—
53	八硫杂环辛烷	—	0.02	—	0.02
54	1,3-二氧戊烷	—	—	—	0.01
55	醋酸	—	—	0.01	0.01
56	正戊酸	0.01	—	—	—
57	3-羟基苯乙酸	2.31	1.21	2.25	2.00
58	二乙基(甲基磺酰基)膦	0.01	—	—	—
59	双环[4.4.1]-1,3,5,7,9-五烯	—	0.02	0.02	0.02
60	十四醛三聚物	0.03	—	—	—
61	二甲基二硫代磷酸	0.39	—	0.25	0.25
62	2-氯乙基甲基硫醚	—	—	0.01	0.01

注:—表示未检测到,下同。

表 11 酶解对香菇挥发性风味物质相对含量的影响

Table 11 Effects of enzymatic hydrolysis on volatile flavor substances relative content of *Lentinus edodes*

化合物/%	香菇浆液	纤维素酶酶解液	风味蛋白酶酶解液	复合酶酶解液
(种类)	38	38	36	40
含硫化合物	26.86	16.78	23.64	23.79
醇类	69.02	74.01	72.73	78.40
醛类	0.66	0.81	1.09	1.21
酚类	0.08	0.02	—	—
酯类	0.03	0.04	0.01	0.01
酮类	0.07	0.31	0.02	0.03
烃类	0.02	0.19	0.18	0.20
酸类	2.32	1.21	2.26	2.01

经固相微萃取 GC-MS 测定分析了香菇匀浆液及不同酶解液中挥发性风味物质的成分和含量,共鉴定出 62 种挥发性物质,包括含硫化合物、醇类、醛类、酚类、酯类、酮类、烃类和酸类物质。香菇匀浆液鉴定出 38 种挥发性物质,纤维素酶酶解液中鉴定出 38 种,风味蛋白酶酶解液中鉴定出 36 种,复合酶酶解液鉴定出 40 种,主要成分为醇类和含硫化合物。醇类物质相对含量占比最大,各组分别为 69.02%,74.01%,72.73%和 78.40%,其中 1-辛烯-3-醇含量最高,其次是反式-2-辛烯-1-醇,这两种醇类都是八碳化合物,对香菇呈味有非常重要的作用^[30]。这可能是由于香菇内不饱和脂肪酸经过酶促氧化、裂解生成八碳化合物^[1]。1-辛烯-3-醇具有典型的蘑菇气味,且呈味阈值比较低,经过不同酶酶解后,该物质的相对含量都增加,因此,具有重要的呈味作用。含硫化合物是香菇重要的挥发性成分之一,它是香菇特有的洋葱味和略带硫磺味的特征物质,其主要特征性物质包括 1, 2, 3, 5, 6-五硫杂环庚烷(香菇素)和 1, 2, 4-三硫杂环戊烷,赋予香菇酶解液独特的风味^[31]。含硫化合物相对含量分别为 26.86%, 16.78%,23.64%和 23.79%,主要是 1, 2, 3, 5, 6-五硫杂环庚烷(香菇素)、1, 2, 4-三硫杂环戊烷和二硫化碳。经过纤维素酶酶解后,香菇素和 1, 2, 4-三硫杂环戊烷含量分别由 5.52%,5.45%降低到 4.97%,4.72%,而经过风味蛋白酶和复合酶酶解后,二者含量分别增加到 8.46%,8.06%和 6.38%,6.15%。香菇素含量增加的原因可能是风味蛋白酶将香菇素的前体物分解产生二硫杂环丙烷,后者

通过聚合作用生成香菇素。在酶解液中另外两种含量较多的含硫化合物,二硫化碳和二甲基三硫醚减少,这有助于减少香菇的硫磺味。有研究表明香菇素可以降解为二硫化碳^[32],因此这两种物质的减少可能是由于酶解过程中香菇素含量增加导致二硫化碳含量减少。挥发性酸类物质具有不愉快的气味^[33],因此,该类物质会影响香菇的独特风味。与香菇匀浆液相比,不同酶解液中酸类物质相对含量减少,这有利于降低酸类物质呈现出的不良气味。醇和酸发生酯化反应生成酯类物质,具有水果的芳香味和酒的醇香味,可以调配香菇酶解液的气味。酚类和酯类物质含量最少,在风味蛋白酶酶解液和复合酶解液中未检测到酚类物质。

3 结论

纤维素酶和风味蛋白酶复合酶解更能促进香菇风味物质的释放。纤维素酶酶解后,可溶性糖总量和有机酸总量显著增加,呈味核苷酸总量和游离氨基酸总量变化不显著;风味蛋白酶酶解后,可溶性糖总量和有机酸总量显著增加,游离氨基酸总量及各种氨基酸(除胱氨酸)含量显著增加;复合酶酶解后,可溶性糖总量及各种糖含量显著增加,有机酸和游离氨基酸变化与风味蛋白酶酶解结果一致,呈味核苷酸总量显著增加。表明复合酶更能促进香菇风味物质的释放,进而改变香菇的风味,为后续应用于香菇绿色安全调味基料的开发利用提供理论资料和技术支撑,从而促进香菇产品的多元化发展。

参 考 文 献

- [1] 陈洪雨, 鲍大鹏, 康前进, 等. 香菇挥发性风味物质的研究进展[J]. 食用菌学报, 2018, 25(4): 105-114.
CHEN H Y, BAO D P, KANG Q J, et al. Research progress of volatiles in *Lentinula edodes* [J]. Acta Edulis Fungi, 2018, 25(4): 105-114.
- [2] 刘丽娜, 李顺峰, 魏书信, 等. 不同蛋白酶对香菇酶解液性质的影响[J]. 中国酿造, 2022, 41(3): 152-157.
LIU L N, LI S F, WEI S X, et al. Effects of different protease on the property of *Lentinus edodes* enzymatic hydrolysate [J]. China Brewing, 2022, 41(3): 152-157.
- [3] 侯会, 陈鑫, 方东路, 等. 干燥方式对食用菌风味物质影响研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 4877-4883.
HOU H, CHEN X, FANG D L, et al. Research progress on influence of drying methods on flavor compounds of edible fungus [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(15): 4877-4883.
- [4] 徐永霞, 曲诗瑶, 李涛, 等. 不同蛋白酶对蓝蛤酶解液风味特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(4): 190-196.
XU Y X, QU S Y, LI T, et al. Effects of different proteases on the flavor characteristics of *Aloididae aloidida* muscle hydrolysates [J]. Food Science, 2021, 42(4): 190-196.
- [5] KONG Y, ZHANG L L, ZHAO J, et al. Isolation and identification of the umami peptides from shiitake mushroom by consecutive chromatography and LC-Q-TOF-MS [J]. Food Research International, 2019, 121: 463-470.
- [6] 李延年. 香菇复配草菇酶解呈味物质的研究与产品开发[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021.
LI Y N. Study on flavor substances of the enzymatic hydrolysate of *lentinus edodes* mixed with *volvaria volvacea* and product development [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021.
- [7] 沈文凤. 香菇酶解工艺研究及调味料开发[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
SHEN W F. Study on enzymatic hydrolysis of *Lentinus edodes* and development of condiment [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2017.
- [8] 徐永霞, 吕亚楠, 曲诗瑶, 等. 酶解处理对菌菇鳕鱼汤品质的影响及工艺优化[J]. 中国调味品, 2022, 47(3): 33-38.
XU Y X, LYU Y N, QU S Y, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on the quality of mushroom and cod soup and process optimization [J]. China Condiment, 2022, 47(3): 33-38.
- [9] 黄爱云, 董晓博, 康淑芳, 等. 不同蛋白酶处理对真姬菇菌盖与菌柄鲜味物质释放的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(8): 153-162.
HUANG A Y, DONG X B, KANG S F, et al. Effects of different protease treatments on the release of umami compounds in the pileus and stipe of *Hypsizygos marmoreus* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(8): 153-162.
- [10] 王雨生, 陈海华, 王莹钰, 等. 超声波协同酶法制备香菇酶解液及其鲜味物质研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(9): 134-141.
WANG Y S, CHEN H H, WANG Y Y, et al. Preparation of mushroom hydrolysate by ultrasonic-enzyme synergistic method and studies on its umami substances [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(9): 134-141.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 植物类食品中粗纤维的测定: GB/T 5009.10-2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. Determination of crude fiber in plant food: GB 5009.124-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2003.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品中氨基酸的测定: GB 5009.124-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. Determination of amino acids in food: GB 5009.124-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.
- [13] AJLOUNI S O, BEELMAN R B, DB THOMPSON, et al. Changes in soluble sugars in various tissues of cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*, during postharvest storage [J]. Developments in Food Sci-

- ence, 1995, 37(6): 1865–1880.
- [14] 徐晓东, 宋泽, 冯涛, 等. 不同处理方法对草菇呈味物质释放的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(12): 107–111.
XU X D, SONG Z, FENG T, et al. Effects of different treatments on the release of flavor substances from straw mushroom (*Volvariella volvacea*)[J]. Food Science, 2018, 39(12): 107–111.
- [15] TAYLOR M W, HERSHEY R A, LEVINE R A. Improved method of resolving nucleotide by reverse-phase high performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1981, 219(1): 133–139.
- [16] 卢嘉懿. 乳酸菌发酵果蔬汁风味品质研究与控制[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
LU J Y. Study and control on flavor quality of fruit and vegetable juice fermented by lactic acid bacteria [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [17] BOWMAN S M, FREE S J. The structure and synthesis of the fungal cell wall[J]. Bioessays News & Reviews in Molecular Cellular & Developmental Biology, 2010, 28(8): 799–808.
- [18] 刘培基. 香菇柄酶解液美拉德反应引起的风味及抗氧化性变化的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
LIU P J. Study on the changes of flavor and antioxidant activity induced by Maillard reaction of *Lentinus edodes* stalk hydrolysate[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020.
- [19] 李雪. 蟹味菇风味物质研究及其呈味肽的提取鉴定[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2020.
LI X. Research of flavor substance of *Hypsizygus marmoreus* and its taste peptides preparation [D]. Shanghai: Shanghai University of Technology, 2020.
- [20] LI B, KIMATU B M, PEI F, et al. Non-volatile flavour components in *Lentinus edodes* after hot water blanching and microwave blanching[J]. International Journal of Food Properties, 2018, 20(3): S2532–S2542.
- [21] 许锐, 徐晓东, 宋泽, 等. 不同提取方法对灰树花呈味物质释放的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 88–94.
XU R, XUE X D, SONG Z, et al. Effects of different extraction methods on the release of flavor substances from *Grifola frondosa*[J]. Food Science, 2019, 40(11): 88–94.
- [22] BOEKEL M A J S V. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction [J]. Biotechnology Advances, 2006, 24(2): 230–233.
- [23] 吕敏, 甘晖, 陈田聪, 等. 瓦氏黄颡鱼在稻田和池塘养殖中的生长性能和肌肉品质比较[J]. 水产学杂志, 2022, 35(1): 75–81.
LÜ M, GAN H, CHEN T C, et al. Comparison of growth performance and muscle quality of yellow catfish (*Pseudobagrus vachelli*) cultured in rice fields and ponds[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2022, 35(1): 75–81.
- [24] HU S, FENG X, HUANG W, et al. Effects of drying methods on non-volatile taste components of *Stropharia rugoso-annulata* mushrooms [J]. LWT – Food Science and Technology, 2020, 127(3): 109428.
- [25] BELUHAN S, RANOGAJEC A. Chemical composition and non-volatile components of croatian wild edible mushrooms [J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 1076–1082.
- [26] ZHANG N L, WANG W L, LI B, et al. Non-volatile taste active compounds and umami evaluation in two aquacultured pufferfish (*Takifugu obscurus* and *Takifugu rubripes*) [J]. Food Bioscience, 2019, 32(7): 10046.
- [27] 朱海峰, 班玉凤, 赵惠. 内切酶与端肽酶协同水解大豆蛋白的研究[J]. 食品科技, 2004, 4(4): 29–32.
ZHU H F, BAN Y F, ZHAO H. Study on hydrolysis of soybean protein with an exopeptidase and an ensoptetase[J]. Food Science and Technology, 2004, 4(4): 29–32.
- [28] POLANCO-LUGO E, DÁVILA-ORTIZ G, BETANCUR-ANCONA D A, et al. Effects of sequential enzymatic hydrolysis on structural, bioactive and functional properties of *Phaseolus lunatus* protein isolate [J]. Food Science & Technology, 2014, 34(3): 441–448.
- [29] 宿小杰, 王珊珊, 崔青曼, 等. 不同蛋白酶对红鳍笛鲷鱼排酶解液风味影响[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(21): 29–35.
SU X J, WANG S S, CUI Q M, et al. Effect of different proteases on the flavor of enzymatic hydrolysate of crimson snapper frame[J]. Food Research and Development, 2021, 42(21): 29–35.
- [30] SALTHAMMER T, FUHRMANN F. Release of acetic acid and furfural from cork products[J]. Indoor

- Air, 2010, 10(2): 133-134.
- [31] 高伦江, 曾顺德, 李晶, 等. 热风微波联合干制对香菇品质及风味的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(21): 80-83.
- GAO L J, ZENG S D, LI J, et al. Effect of hot air-microwave drying on the quality and flavor of mushroom[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(21): 80-83.
- [32] HIRAIDE M, KATO A, NAKASHIMA T. The smell and odorous components of dried shiitake mushroom, *Lentinula edodes* V: Changes in lenthionine and lentic acid contents during the drying process[J]. Journal of Wood Science, 2010, 56(6): 477-482.
- [33] 吕佳宁, 李影, 韩立杰, 等. 不同干燥方法对生食香菇品质的影响[J]. 食品科学技术学报, 2014, 32(2): 46-50.
- LÜ J N, LI Y, HAN L J, et al. Effects of different drying methods on quality of uncooked *Lentinus edodes*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 32(2): 46-50.

Effects of Enzymatic Hydrolysis Methods on Flavor Substances of *Lentinus edodes*

Wu Shanshan¹, Xu Xinghua¹, Lu Xingru¹, Ai Honghu¹, Wu Rui¹, Cao Jinling^{1,3*}, Cheng Yanfen^{1,3}, Yun Shaojun¹, Cheng Feier¹, Feng Cuiping^{1,2*}

¹College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi

²Shanxi Edible Fungi Engineering Technology Research Center, Taigu 030801, Shanxi

³Shanxi Key Laboratory of Edible Fungi for Loess Plateau, Taigu 030801, Shanxi)

Abstract In order to explore the effects of different enzymatic hydrolysis methods on flavor substances of *Lentinus edodes*, two single enzyme (cellulase, flavor protease) and one complex enzyme (cellulase+flavor protease) were selected for enzymatic hydrolysis of *Lentinus edodes* and the differences in the flavor substances of *Lentinus edodes* after different enzymatic treatments were compared. The results showed that: Compared with the control group, the total amount of soluble sugar in cellulase group, flavor protease group and compound enzyme group increased by 144.21%, 114.24% and 438.28%, respectively, and the total amount of organic acid increased by 9.06%, 8.31% and 13.77%, respectively ($P < 0.05$). The compound enzyme treatment group was significantly higher than the single enzyme treatment group. The content of taste-inducing nucleotides in the compound enzyme group was significantly higher than that in the control group, cellulase group and flavor protease group (6.55%, 4.90% and 5.75%, respectively, $P < 0.05$). Compared with the control group, the free amino acid content of flavor protease and compound enzyme treatment groups increased by 56.19% and 58.95%, respectively ($P < 0.05$). A total of 62 volatile flavor compounds were detected by gas chromatography-mass spectrometry, among which alcohols and sulfur compounds were the most abundant. The relative contents of 1-octen-3-ol (mushroom alcohol) and 1,2,3,5,6-pentathioheptane (lentinan) in the complex protease treatment group were higher, which reached 68.27% and 8.06%, respectively. The results indicated that the complex enzymatic hydrolysis of cellulase and flavor protease could promote the release of flavor substances including soluble sugar, organic acids, flavor nucleotides, free amino acids, 1-octen-3-ol and 1,2,3,5,6-pentathioheterocycloheptane (lentinan) in *Lentinus edodes*.

Keywords *Lentinus edodes*; cellulase; flavor protease; combined enzymatic hydrolysis; flavor substances