

文章编号:1671-1513(2012)03-0035-04

5'-磷酸二酯酶强化香菇风味基料中鲜味成分

安晶晶, 王成涛, 张小溪, 李靖

(北京工商大学食品添加剂与配料北京高校工程研究中心/食品风味化学北京市重点实验室, 北京 100048)

摘要:研究了5'-磷酸二酯酶强化香菇鲜味成分的工艺条件及其作用. 在香菇打浆料中添加5'-磷酸二酯酶及酵母粉,研究各因素对5'-核苷酸产量的影响. 结果表明,酵母粉用量、5'-磷酸二酯酶用量、酶解体系pH值、酶解温度及时间等因素对鲜味核苷酸生成有重要影响,正交试验优化的酶解工艺条件为:酵母粉用量5%,5'-磷酸二酯酶用量5%,pH值4.0,酶解温度60℃,酶解时间60min. 在此条件下制备的香菇风味基料中鲜味核苷酸(5'-IMP、5'-GMP)产量达到30.01 mg/g,较未经5'-磷酸二酯酶处理基料的鲜味核苷酸产量提高了3倍.

关键词:5'-磷酸二酯酶;香菇;酵母粉;5'-核苷酸;香菇风味基料

中图分类号:TS202.3

文献标志码:A

香菇(*Lentinus edodes*)属于担子菌纲伞菌目香菇属,在我国众多省市广泛栽培. 香菇风味成分有非挥发性和挥发性的两类^[1],核苷酸是菇类重要含氮非挥发性鲜味组分,主要包括5'-磷酸肌苷酸(5'-IMP)和5'-磷酸鸟苷酸(5'-GMP)^[2-4],与氨基酸类鲜味物质协同,使鲜味倍增^[5],产生单种鲜味剂难以达到的效果,是一类食品“超级”增鲜剂^[6]. 5'-核苷酸还具有突出食物主味,抑制异味的功能^[7],增效甜味、肉味,消减咸、酸、苦、腥和焦味^[8-9].

5'-磷酸二酯酶(5'-phosphodiesterase)可定向催化RNA或寡核酸分子中3'-OH的磷酸二酯键水解形成5'-磷酸核苷酸(5'-IMP、5'-GMP)^[10-13]. 目前,5'-核苷酸类增鲜剂主要是通过酶解酵母抽提物生产^[14]. 本研究拟利用5'-磷酸二酯酶水解香菇及外源酵母RNA,强化其非挥发性鲜味成分,研制天然香菇增鲜剂,为蘑菇调味品和风味基料的开发提供理论和技术支持.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜香菇,购于北京永辉超市;5'-磷酸二酯酶

(≥7 000 U/g),广西庞博生物有限公司;酵母粉,美国Clontech公司;鲜味核苷酸(I+G,即5'-IMP+5'-GMP)标准品,韩国希杰株式会社.

1.2 仪器与设备

UV-2450型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;多功能料理机,荣事达集团;GT16-3型高速台式离心机,北京时代北利离心机有限公司;恒温水浴锅,山东鄞城华鲁电热仪器有限公司.

1.3 酶解工艺及鲜味核苷酸含量测定

称取50g市售新鲜香菇,于多功能料理机中粉碎匀浆5min,将香菇匀浆与一定量的酵母粉、5'-磷酸二酯酶加入1 000 mL一定pH值的缓冲液中,在一定条件下进行酶解. 将酶解提取液放入沸水浴中,于95℃处理10min灭活酶,4 000 r/min离心10min,取上清液用紫外分光光度法测定I+G含量^[15].

1.4 正交试验优化鲜味核苷酸的酶解工艺条件

酶解生成鲜味核苷酸工艺条件优化的正交试验设计见表1.

收稿日期:2012-03-03

基金项目:北京市属高等学校人才强教计划项目(PHR201008237);北京工商大学研究生科研学术创新基金项目(19000101026);学科与研究生教育-食品学科特色学科群建设资助项目(2011111).

作者简介:安晶晶,女,硕士研究生,研究方向为食品生物技术;

王成涛,男,教授,博士,主要从事食品生物技术方面的研究. 通讯作者.

表1 正交试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal experiment				
因素水平	A 酵母粉 用量/%	B 酶用 量/%	C pH	D 酶解 温度/℃
1	3	3	4.0	60
2	4	4	4.5	65
3	5	5	5.0	70

2 结果与分析

2.1 各因素对酶解生成鲜味核苷酸的影响

2.1.1 酵母粉用量对鲜味核苷酸生成的影响

新鲜香菇中含有一定量 RNA 和寡核苷酸分子,为进一步增强其核苷酸来源,在新鲜香菇粉碎匀浆时,分别加入质量分数为 0, 0.5%, 1%, 3%, 5%, 7% 酵母粉,酶用量 3%, pH 值为 4.0, 60 °C 酶解 60 min. 酵母粉用量对鲜味核苷酸产量的影响见图 1. 由图 1 可见,随着酵母粉用量的增加,鲜味核苷酸含量逐步增加,说明新鲜香菇中含有的 RNA 和寡核苷酸含量有限,添加一定量外源性酵母粉,有利于鲜味核苷酸的生成;当酵母粉用量到达 3% 时, I + G 水解产物增长趋于平缓,酶与底物之间作用趋于平衡,因此选择 3% 酵母粉用量进行后续实验.

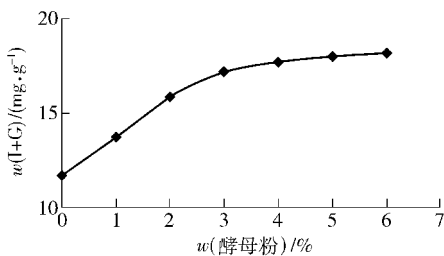


图1 酵母粉用量对鲜味核苷酸产量的影响

Fig. 1 Effect of amount of yeast on yield of 5'-nucleotide

2.1.2 酶用量对鲜味核苷酸生成的影响

新鲜香菇粉碎匀浆,加入质量分数为 3% 的酵母粉,并分别加入质量分数为 0.5%, 1%, 3%, 5%, 7% 的 5'-磷酸二酯酶,于 pH 值 4.0, 60 °C 酶解 60 min. 酶用量对 I + G 产量的影响见图 2. 在 0.5% ~ 5% 的酶用量时,随着酶用量增加, I + G 产量不断上升;当酶用量超过 3% 时,鲜味核苷酸的增加量趋于缓慢,因此 3% 酶用量较为适宜.

2.1.3 酶解体系 pH 值对鲜味核苷酸产量的影响

新鲜香菇匀浆(含 3% 酵母粉和 3% 5'-磷酸二

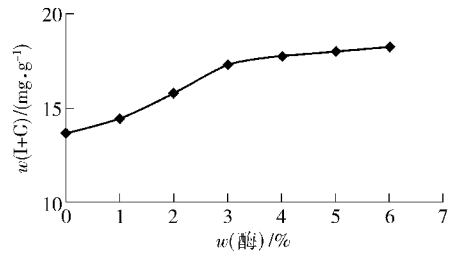


图2 5'-磷酸二酯酶用量对鲜味核苷酸产量的影响

Fig. 2 Effect of amount of 5'-phosphodiesterase on yield of 5'-nucleotide

酯酶)加入 pH 值为 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 的缓冲液中,于 60 °C 酶解 60 min. 体系 pH 值对鲜味核苷酸产量的影响见图 3. pH 值为 3.0 ~ 4.0 时,随 pH 值增加,鲜味核苷酸产量不断增加; pH 值为 4.0 ~ 5.0, 鲜味核苷酸产量变化幅度不大; pH 值为 5.0 以上,鲜味核苷酸产量开始下降. 说明 5'-磷酸二酯酶水解 RNA 的适宜 pH 值为 4.0 ~ 5.0.

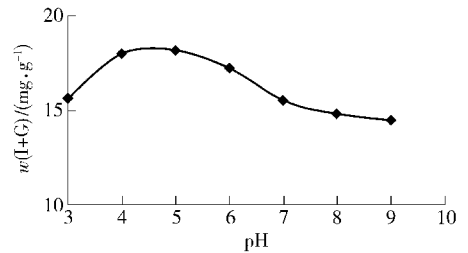


图3 pH 值对鲜味核苷酸产量的影响

Fig. 3 Effect of pH on yield of 5'-nucleotide

2.1.4 酶解温度对鲜味核苷酸产量的影响

在酶用量 3%, 酵母粉用量为 3%, pH 值为 4.0 的条件下,分别于 20, 40, 60, 70, 80, 90 °C 的温度酶解 60 min. 酶解温度对鲜味核苷酸产量的影响见图 4. 在 20 ~ 60 °C 时,随着酶解温度上升,鲜味核苷酸产量逐渐提高;继续提高温度,鲜味核苷酸产量出现下降趋势;70 °C 以后鲜味核苷酸产量下降趋势明显. 表明 5'-磷酸二酯酶较适宜的水解温度在 60 ~ 70 °C, 实验选择 60 °C 作为酶解的适宜温度.

2.1.5 酶解时间对鲜味核苷酸产量的影响

在酶用量为 3%, 酵母粉用量为 3%, pH 值为 4.0, 酶解温度 60 °C 的条件下进行酶解,每隔 15 min 进行取样检测. 酶解时间对鲜味核苷酸产量的影响见图 5. 随着酶解时间的延长,鲜味核苷酸产量渐增,但生成曲线较为平缓,表明酶解速度不慢,底物经约 60 min 即可被 5'-磷酸二酯酶充分酶解,酶解时间对酶解效果影响较小. 因此酶解时间确定为 60 min.

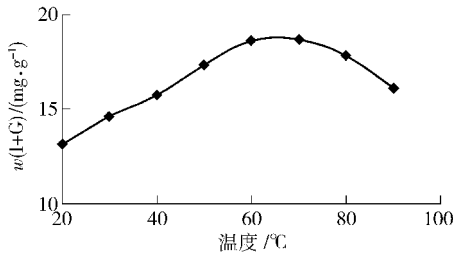


图4 酶解温度对鲜味核苷酸产量的影响

Fig. 4 Effect of enzymolysis temperature on yield of 5'-nucleotide

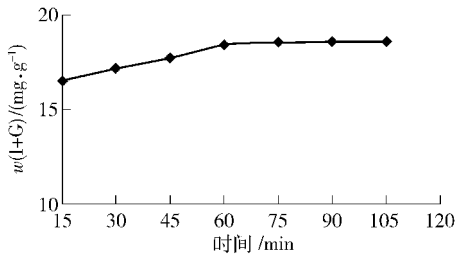


图5 酶解时间对鲜味核苷酸产量的影响

Fig. 5 Effect of enzymolysis time on yield of 5'-nucleotide

2.2 正交试验结果分析

根据各单因素条件的实验结果,选择酶用量、酵母粉用量、pH值、温度4个对鲜味核苷酸生成影响较大的因素进行四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交试验设计,优化酶解工艺条件. 正交试验结果及极差分析见表2,正交试验方差分析结果见表3.

表2 正交试验优化鲜味核苷酸的酶解工艺条件

Tab.2 Enzymolysis condition optimization through orthogonal experiment design

试验号	A	B	C	D	$w(I+G)/(mg \cdot g^{-1})$
1	1	1	1	1	22.83
2	1	2	2	2	23.54
3	1	3	3	3	25.89
4	2	1	2	3	23.48
5	2	2	3	1	26.19
6	2	3	1	2	26.97
7	3	1	3	2	26.11
8	3	2	1	3	28.60
9	3	3	2	1	29.19
K_1	24.09	24.14	26.13	26.07	
K_2	25.55	26.11	25.41	25.54	
K_3	27.96	27.35	26.06	25.99	
R	3.88	3.21	0.73	0.53	

表3 正交试验方差分析结果

Tab.3 Variance analysis of orthogonal experiment

方差来源	偏差平方和	自由度	F比	显著性
A	23.00	2	47.04	*
B	15.75	2	32.21	*
C	0.96	2	1.97	
D	0.49	2	1.00	
误差	0.49	2		

注: $F_{0.10}(2,2) = 9, F_{0.05}(2,2) = 19.$

由表2极差分析可以看出,4个因素对鲜味核苷酸产量影响的主次顺序依次为: $A > B > C > D$, 优化方案为: $A_3B_3C_1D_1$, 因此酶解生成鲜味核苷酸优化后的条件为: 酵母粉用量为5%, 酶用量为5%, pH值4.0, 酶解温度60°C. 由表3方差分析可以看出: 酵母粉用量、酶用量、体系pH值、酶解温度对鲜味核苷酸生成量均有影响, 其中酵母粉用量和酶用量影响显著, pH值和酶解温度的影响为其次.

按照优化的提取工艺条件,即在酵母粉用量为5%, 酶用量为5%, pH值4.0, 酶解温度60°C, 酶解时间60min时,进行实验,鲜味核苷酸产量为30.01 mg/g, 略好于正交试验优化结果(29.19 mg·g⁻¹).

2.3 5'-磷酸二酯酶强化香菇鲜味核苷酸的效果比较

在优化的工艺条件下,5'-磷酸二酯酶强化香菇鲜味核苷酸的效果比较见表4,只添加5'-磷酸二酯酶时,鲜味核苷酸的产量提高了34.39%;只添加酵母粉时,鲜味核苷酸的产量提高了70.19%;将两者同时作用于香菇鲜味成分的强化时,其产量提高了3倍,强化效果显著.

表4 5'-磷酸二酯酶强化香菇鲜味核苷酸的效果比较

Tab.4 Effect of 5'-phosphodiesterase on enhancing *Lentinus edodes* taste

指标/项目	$w(I+G)/(mg \cdot g^{-1})$	提高率/%
香菇打浆液	7.64	
香菇打浆液+5% 5'-磷酸二酯酶	10.26	34.39
香菇打浆液+5% 酵母粉	12.99	70.19
香菇打浆液+5% 5'-磷酸二酯酶+5% 酵母粉	30.01	293.06

3 结论

研究了5'-磷酸二酯酶对香菇风味基料中鲜味核苷酸酶解增量的影响. 添加适量酵母粉、5'-磷酸

二酯酶解有利于鲜味核苷酸生成。酵母粉用量、酶用量、酶解体系 pH 值、温度及时间等因素对鲜味核苷酸生成均有重要影响。正交试验优化香菇风味基料制备工艺条件为:酵母粉用量 5%,酶用量 5%, pH 值 4.0, 60 °C 酶解 60 min, 在此条件下,香菇风味基料中鲜味核苷酸产量达到 30.01 mg/g,比未经 5'-磷酸二酯酶处理基料的鲜味核苷酸产量提高了 3 倍。

参考文献:

- [1] Dijkstra F Y, Wiken T O. Studies on mushroom flavours [J]. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1976(160):255-262.
- [2] Mau J L, Lin H C, Ma J T, et al. Non-volatile taste components of several speciality mushrooms [J]. *Food Chemistry*, 2001, 73(4): 461-466.
- [3] Yang J H, Lin H C, Man J L. Non-volatile taste components of several commercial mushrooms [J]. *Food Chemistry*, 2001, 73(4): 466-471.
- [4] 崔桂友. 呈味核苷酸及其在食品调味中的应用 [J]. *中国调味品*, 2010(10): 25-29.
- [5] 窦岫, 任文雅, 杨春霞, 等. 酶解大豆粉蛋白条件优化研究 [J]. *北京工商大学学报: 自然科学版*, 2011, 29(2): 28-36.
- [6] 王小红, 钱骅, 张卫明, 等. 食用菌呈味物质研究进

- 展 [J]. *中国野生植物资源*, 2009, 28(1): 5-8.
- [7] 杜琨, 张亚宁, 方多. 呈味核苷酸及其在食品中的应用 [J]. *中国酿造*, 2005(10): 50-52.
- [8] 邵帅, 田延军, 赵祥颖, 等. 5'-磷酸二酯酶的应用与研究进展 [J]. *中国酿造*, 2010(5): 26-30.
- [9] 刘汉灵, 黄月桂, 陆燕宁. 核酸酶提高酵母抽提物呈味核苷酸含量的应用研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2008, 21: 194-197.
- [10] Fukazawa H, Nishimura T, Suzuki H. A nucleotide phosphodiesterase with preference for 2', 5'-phosphodiester bonds from Ehrlich ascites carcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1989, 991(2): 272-275.
- [11] 王军. 鲜味料的作用机理及汤精在烹调中的应用 [J]. *中国调味品*, 2006(11): 38-41.
- [12] Revillion J P P, Brandelli A, Ayub M A Z. Production of yeast extract from whey using *Kluyveromyces marxianus* [J]. *Braz Arch Boil Technol*, 2003, 46(1): 121-127.
- [13] 阎微, 沈燕霆, 李英雨, 等. 呈味核苷酸的新应用介绍 [J]. *中国调味品*, 2012, 37(3): 6-8.
- [14] 周秀琴. 呈味核苷酸促进饲料工业新发展 [J]. *发酵科技通讯*, 2010, 39(1): 53-56.
- [15] 管有根, 周侃, 顾秀英. 鸡精中呈味核苷酸的测定 [J]. *中国调味品*, 2005(2): 52-53.

Preparation of Mushrooms Flavor Ingredients by 5'-phosphodiesterase

AN Jing-jing, WANG Cheng-tao, ZHANG Xiao-xi, LI Jing

(Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients/Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Effects of 5'-phosphodiesterase and yeast on the formation of *Lentinus edodes* taste compounds were studied in this paper. 5'-phosphodiesterases and yeast powder were added in crushed homogenate liquid of mushroom *Lentinus edodes*, and 5'-nucleotide yield was detected. Results showed that the taste compounds contents of fresh *Lentinus edodes* were strengthened by 5'-phosphodiesterase and yeast. The strengthening condition was 5% yeast, 5% 5'-phosphodiesterase, pH 4.0, reaction temperature 60 °C, reaction time 60 min. 5'-nucleotide yield was 30.01 mg/g under the optimization condition, which was triple as the control without 5'-phosphodiesterase.

Key words: 5'-phosphodiesterase; *Lentinus edodes*; yeast; 5'-nucleotide; mushrooms flavour enhancer