

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2018.02.007

文章编号:2095-6002(2018)02-0052-06

引用格式:李顺峰,王安建,张雪彦,等.香菇柄中5'-核苷酸的酶法提取及组成分析[J].食品科学技术学报,2018,36(2):52-57.



LI Shunfeng, WANG Anjian, ZHANG Xueyan, et al. Enzymatic extraction and composition analysis of 5'-nucleotides from shiitake mushroom stipe[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018,36(2):52-57.

香菇柄中5'-核苷酸的酶法提取及组成分析

李顺峰¹, 王安建¹, 张雪彦², 田广瑞¹, 刘丽娜¹, 魏书信¹, 高帅平¹

(1. 河南省农业科学院 农副产品加工研究中心, 河南 郑州 450002;

2. 河南农业大学 食品科学技术学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 为了提高香菇柄中5'-核苷酸的提取率和提高香菇柄的附加值, 研究以香菇柄为原料, 通过单因素实验研究了纤维素酶加酶量、液固比、酶解温度、酶解时间、pH值对5'-核苷酸得率的影响, 并采用正交试验对纤维素酶酶解提取5'-核苷酸工艺进行优化, 最后利用高效液相色谱法(HPLC)对提取得到的5'-核苷酸组成进行分析。结果表明, 在单因素实验结果基础上, 通过正交试验优化, 纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸的优化, 工艺参数为: 液固比(mL:g)20:1, 加酶量0.8%, 酶解温度40℃, pH值5.4, 酶解时间4h, 此时5'-核苷酸得率为4.08 mg·g⁻¹, 与HPLC检测结果(4.57 mg·g⁻¹)相近。纤维素酶酶解提取香菇柄5'-核苷酸由5'-鸟苷酸、5'-尿苷酸、5'-胞苷酸、5'-腺苷酸、5'-肌苷酸、5'-黄苷酸组成, 其中呈鲜味核苷酸占5'-核苷酸的62.63%。

关键词: 香菇柄; 纤维素酶; 提取; 5'-核苷酸; 高效液相色谱; 组成分析**中图分类号:** TS201.2; TS209**文献标志码:** A

香菇是一种营养丰富、风味独特的药食同源食用菌^[1], 其含有的多糖、多酚、不饱和脂肪酸和膳食纤维等功能活性成分, 在提高人体免疫力、抗肿瘤、降血脂、抗氧化等方面都具有良好的保健功效^[2-6], 深受消费者喜爱。而且, 文献^[7]指出, 与其他可食蘑菇相比, 香菇中的5'-核糖核苷酸含量较高, 尤其是5'-鸟苷酸(5'-GMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)和5'-黄苷酸(5'-XMP)和5'-腺苷酸(5'-AMP)对香菇的鲜味有增效作用。鲜味是人体味觉的第五感, 具有开胃、可口和令人愉悦的感觉^[8]。近年来的研究表明, 鲜味可以调控人体的食欲和对食物的满足感, 可减少对高能量和高糖高脂食物的摄取量, 从而降低肥胖, 也可帮助病人或老年人改善食欲^[9]。

香菇柄是香菇深加工过程中的副产物, 约占香菇干质量的15%~30%。研究表明, 香菇柄不仅在

营养成分上与香菇菇盖基本接近, 而且膳食纤维含量远高出香菇菇盖^[10]。然而, 由于菇柄中含有较多的纤维素类物质, 致其口感粗糙, 咀嚼度差, 大多数被废弃处理, 全国每年废弃的香菇柄有数万吨, 造成了极大的资源浪费^[11]。也正是由于菇柄中纤维类物质的包裹, 使得菇柄中的风味成分很难释放, 其鲜香味远不如香菇菇盖浓郁醇厚^[12]。

与香菇开发利用的研究报道相比, 对香菇柄加工利用的报道现在较少。目前, 仅有关于香菇柄面包^[13]、香菇柄蜜饯^[14]、香菇柄松^[15]、香菇柄酒精饮料^[16]等菇柄加工产品的报道, 而关于香菇柄中呈鲜物质提取和利用的报道较少^[12, 17]。相较于香菇菇盖, 香菇柄中纤维含量较高, 本文采用纤维素酶酶解香菇柄提取5'-核苷酸, 并分析其组成比例和含量, 以为香菇柄风味物质的利用和香菇柄调味料的开

收稿日期: 2017-11-02

基金项目: 河南省财政预算项目(豫财预[2017]76-18)。

作者简介: 李顺峰, 男, 助理研究员, 博士, 主要从事农产品贮藏与加工方面的研究。

发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

香菇柄,购自郑州信基调味品城;纤维素酶(食品级,10 000 U·g⁻¹),南宁庞博生物工程有限公司;磷酸二氢钾、高碘酸钠、乙二醇、抗坏血酸、四水合钼酸铵等均为国产分析纯;5'-鸟苷酸(5'-GMP)、5'-尿苷酸(5'-UMP)、5'-胞苷酸(5'-CMP)、5'-腺苷酸(5'-AMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP),购自 Sigma-Aldrich 公司;5'-黄苷酸(5'-XMP),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;实验用水为蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸单因素实验

香菇柄40℃烘干后,粉碎过60目筛,称取香菇柄粉2.0g,分别考察纤维素酶不同加酶量(0.1%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)、液固比(mL:g)(10:1、20:1、30:1、40:1、50:1)、酶解温度(30、40、50、60、70℃)、酶解时间(0.5、1、2、3、4、5h)、酶解pH值(3.0、3.8、4.6、5.4、6.2、7.0)对香菇柄中5'-核苷酸提取率的影响。采用过碘酸氧化法^[18]测定5'-核苷酸,每组实验重复3次,取平均值。

1.2.2 纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸正交试验设计

在单因素实验的基础上,选取加酶量、酶解温度、酶解pH值、酶解时间4个因素,采用L₉(3⁴)正交设计对纤维素酶酶解提取5'-核苷酸工艺进行优化。正交试验设计与水平见表1。

表1 正交因素水平

Tab. 1 Factor levels of orthogonal test

水平	因素			
	A	B	C	D
	加酶量/%	酶解温度/℃	酶解pH值	酶解时间/h
1	0.4	30	3.8	3
2	0.6	40	4.6	4
3	0.8	50	5.4	5

1.2.3 纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸的组成分析

5'-核苷酸的组成测定参考 Taylor 等^[19]和 Mau 等^[20]方法并稍作修改。

1.2.3.1 色谱条件

HPLC 为美国戴安 Ultimate 3000,配有 PDA-3000 检测器;色谱柱为安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(5 μm,4.6×250 mm);流动相为0.2 mol·L⁻¹磷酸二氢钾:水=30:70;检测波长为254 nm;进样量10 μL;柱温30℃;流速1.0 mL·min⁻¹。

1.2.3.2 标品及混合标品的配制

准确称取5'-GMP、5'-UMP、5'-CMP、5'-AMP、5'-IMP、5'-XMP各0.100g,用超纯水溶解后配成1 mg·mL⁻¹各核苷酸标准液。取核苷酸标准液各1 mL,定容至10 mL,得6混标溶液,各单核苷酸质量浓度为100 μg·mL⁻¹,并依次配成70、50、30、10 μg·mL⁻¹核苷酸混合标准液,分别吸取10 μL测定,依据峰面积绘制各5'-核苷酸标准曲线。

1.2.3.3 香菇柄5'-核苷酸组成测定

纤维素酶酶解提取得到的香菇柄5'-核苷酸过0.2 μm滤膜,取10 μL上样测定,并依据保留时间确定各5'-核苷酸,然后按峰面积计算各5'-核苷酸含量。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 加酶量对5'-核苷酸得率的影响

在液固比为20:1,酶解温度为50℃,酶解时间为2h,酶解pH值为5.4的条件下,采用不同加酶量(0.1%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)进行酶解提取,考察加酶量对香菇柄中5'-核苷酸提取率的影响。加酶量对5'-核苷酸得率的影响见图1。

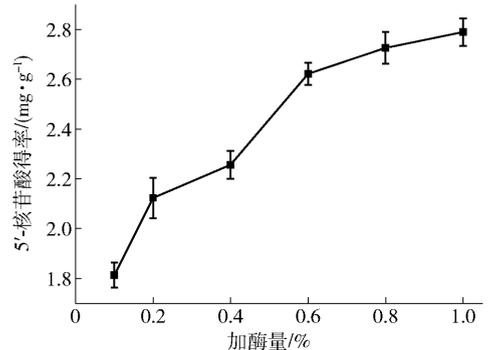


图1 加酶量对5'-核苷酸得率的影响

Fig. 1 Effect of cellulase amount on 5'-nucleotides content

从图1可以看出,在加酶量为0.1%~0.6%时,随着加酶量的增大,5'-核苷酸得率呈逐渐增大

的趋势,并在加酶量为0.6%时,5'-核苷酸得率达到较高水平($2.62 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),此后继续增大加酶量,5'-核苷酸得率虽有所增加,但与加酶量为0.6%时的得率相比较无显著差异($p > 0.05$)。这可能是由于在较低酶浓度条件下,底物能够完全与酶结合破坏细胞壁,促使内容物释放,但在较高酶浓度情况下,底物不能对酶达到饱和而使一部分酶分子无法发挥作用^[12, 21]。因此,从经济方面考虑,选择加酶量为0.6%较为适宜。

2.1.2 液固比对5'-核苷酸得率的影响

在加酶量为0.6%,酶解温度为50℃,酶解时间为2h,酶解pH值为5.4条件下,考察不同液固比10:1、20:1、30:1、40:1、50:1对香菇柄中5'-核苷酸提取得率的影响(见图2)。由图2可知,当液固比由10:1增加到20:1时,5'-核苷酸得率由 $2.44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 显著升高至 $2.76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,此后继续增大液固比,5'-核苷酸得率呈缓慢升高趋势,与液固比为20:1时相比较,5'-核苷酸得率均未达到显著水平($p > 0.05$),并且当液固比增大至50:1时,5'-核苷酸得率仅比液固比为20:1时增加了 $0.16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,考虑后续工作和节约资源等综合因素,选择液固比20:1较为合适。

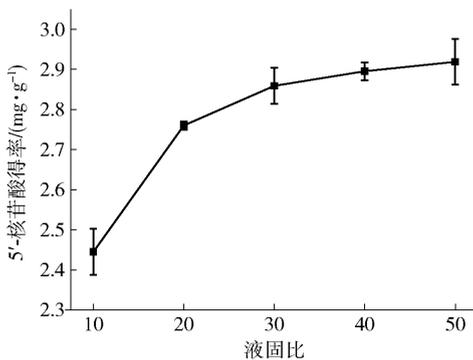


图2 液固比对5'-核苷酸得率的影响

Fig. 2 Effect of liquid-solid ratios on yield of 5'-nucleotides

2.1.3 酶解温度对5'-核苷酸得率的影响

在加酶量为0.6%,液固比(mL:g)为20:1,酶解时间为2h,酶解pH值为5.4条件下,考察不同酶解温度(30、40、50、60、70℃)对香菇柄中5'-核苷酸提取得率的影响。随着酶解温度的升高,5'-核苷酸得率呈先升高后下降的趋势(见图3)。在酶解温度为40℃时,5'-核苷酸得率最高,为 $3.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,这一结果可能与酶的性质有关,每种酶都有一个最适作用温度,在较低温度下,随着温度上升酶活不断增强,酶解破壁作用加强,但温度超过最适温度后,随

着温度的上升酶部分或全部变性而失去酶活力^[12, 17, 21]。故选择40℃作为适宜的酶解温度进行后续实验。

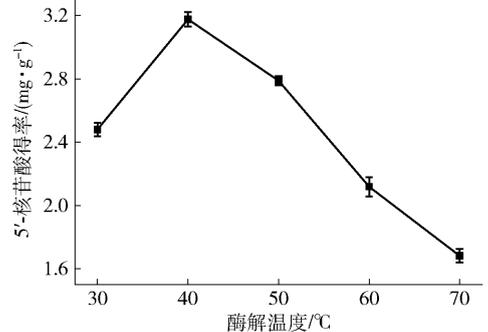


图3 酶解温度对5'-核苷酸得率的影响

Fig. 3 Effect of enzymatic hydrolysis temperatures on yield of 5'-nucleotides

2.1.4 酶解时间对5'-核苷酸得率的影响

在加酶量为0.6%,液固比20:1,酶解温度为40℃,酶解pH值为5.4条件下,考察不同酶解时间(0.5、1、2、3、4、5h)对香菇柄中5'-核苷酸提取得率的影响(见图4)。从图4可以看出,随酶解时间的延长,5'-核苷酸得率呈逐渐升高趋势,当酶解时间为4h时,5'-核苷酸得率达到较高水平($3.66 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),为酶解时间在0.5h时得率的1.77倍,此后继续延长酶解时间至5h时,其5'-核苷酸得率仅比4h时高了1.45%。这是由于随着酶解时间的延长,纤维素酶能充分地底物反应,破坏细胞壁,从而使5'-核苷酸不断溶出;当细胞壁被破坏到一定程度时,继续延长酶解时间,5'-核苷酸得率升高趋缓^[12, 17, 21]。故选取4h作为较佳酶解时间。

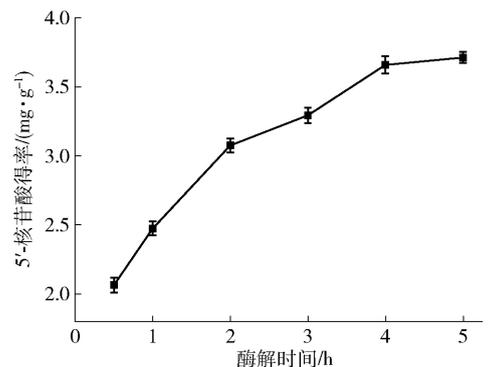


图4 酶解时间对5'-核苷酸得率的影响

Fig. 4 Effect of enzymatic hydrolysis time on yield of 5'-nucleotides

2.1.5 酶解pH值对5'-核苷酸得率的影响

在加酶量为0.6%,液固比20:1,酶解温度为

40 ℃, 酶解时间为4 h条件下, 考察不同酶解 pH 值(3.0、3.8、4.6、5.4、6.2、7.0)对香菇柄中5'-核苷酸提取得率的影响(见图5)。由图5可知, 在实验范围内, 随着pH值升高, 5'-核苷酸得率逐渐升高, 在pH值4.6时, 5'-核苷酸得率达到最大(3.89 mg·g⁻¹), 随着pH值继续增大, 5'-核苷酸得率呈逐渐下降的趋势。这可能是由于在适宜的pH值作用范围内, 酶活性较高, 能充分发挥酶的专一水解作用^[21], 故选择4.6作为较适宜酶解pH值。

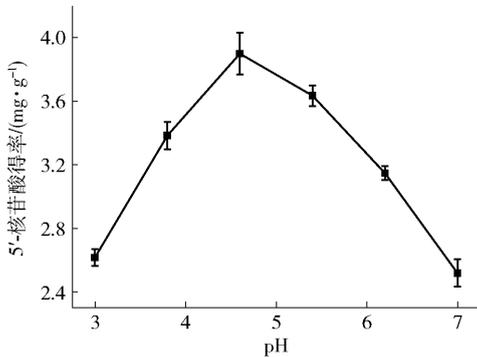


图5 酶解 pH 值对5'-核苷酸得率的影响

Fig. 5 Effect of enzymatic hydrolysis pH values on yield of 5'-nucleotides

2.2 正交优化试验

以5'-核苷酸得率为指标, 对香菇柄5'-核苷酸的纤维素酶酶解条件进行优化, 正交试验结果见表2。

表2 正交试验设计及结果

Tab. 2 Design and results of orthogonal test

序号	A 加酶量	B 酶解温度	C 酶解 pH 值	D 酶解时间	5'-核苷酸得率/ (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	2.12
2	1	2	2	2	3.31
3	1	3	3	3	2.54
4	2	1	2	3	2.00
5	2	2	3	1	3.26
6	2	3	1	2	2.68
7	3	1	3	1	2.98
8	3	2	1	3	2.89
9	3	3	2	1	2.31
<i>k</i> ₁	2.66	2.36	2.56	2.56	
<i>k</i> ₂	2.64	3.15	2.54	2.99	
<i>k</i> ₃	2.73	2.51	2.93	2.48	
<i>R</i>	0.08	0.79	0.39	0.51	

从表2中的极差*R*可以看出, 各因素对5'-核苷酸得率影响大小依次为B>D>C>A, 即影响5'-核

苷酸得率的最主要因素是酶解温度, 其他依次为酶解时间、酶解pH值、加酶量。由表2中的*k*值可以看出, 在液固比20:1条件下, 纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸的优化工艺组合为A₃B₂C₃D₂, 即加酶量0.8%, 酶解温度40 ℃, pH值为5.4, 酶解时间4 h。经验证, 在此优化条件下纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸得率为(4.08 ± 0.11) mg·g⁻¹, 高于单因素实验结果和正交表内组合结果。但这一结果, 显著低于吴关威等^[17]采用分光光度法测定纤维素酶提取的香菇柄中呈味核苷酸(I+G)的含量(32.8 mg·g⁻¹), 这可能与采用的测定方法不同有关^[18], 本文采用的过碘酸氧化法可以专一测定5'-核苷酸。

2.3 5'-核苷酸组成分析

研究采用HPLC测定纤维素酶酶解提取香菇柄5'-核苷酸含量(4.57 mg·g⁻¹), 如图6。高于分光光度法所测结果, 说明5'-核苷酸含量高低受所采用测定方法的影响。因HPLC法可直接测定各5'-单核苷酸含量, 是一种比较适宜的5'-核苷酸测定方法。与前人研究相比, 本研究结果与Chen等^[22]所测定香菇柄5'-核苷酸含量(4.23 mg·g⁻¹)相近, 高于赵静等^[23]香菇菌汤中5'-核苷酸含量(1.50 mg·g⁻¹)。本研究所得5'-核苷酸由5'-GMP、5'-UMP、5'-CMP、5'-AMP、5'-IMP和5'-XMP组成, 且所提取5'-核苷酸主要由5'-CMP、5'-AMP和5'-XMP组成, 分别占5'-核苷酸的36.67%、43.69%和16.01%。而Chen等^[22]仅检测到香菇柄中的4种5'-核苷酸, 未检测到5'-IMP和5'-XMP。本研究所测定纤维素酶酶解香菇柄所得的5'-GMP和5'-AMP含量为2.00 mg·g⁻¹, 高于Andō^[24]报道的香菇柄中5'-GMP和

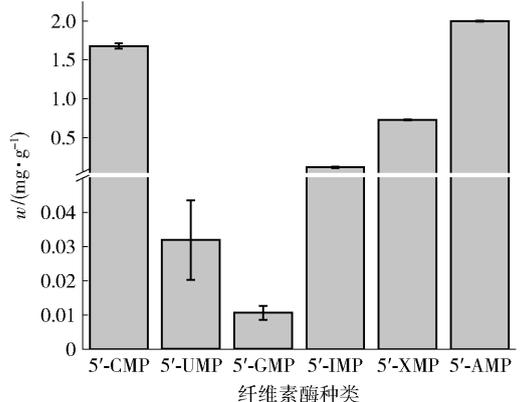


图6 纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸各组分含量

Fig. 6 Contents of 5'-nucleotides components from shiitake mushroom stipe extracted by cellulase

5'-AMP的含量($0.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。呈鲜味核苷酸由5'-GMP、5'-IMP、5'-XMP和5'-AMP组成^[20],本研究所测香菇柄中含有所有的呈鲜味核苷酸,所提取的香菇柄中呈鲜味核苷酸质量比为 $2.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,占5'-核苷酸的62.63%,高于Chen等^[22]所测定香菇柄中呈鲜味核苷酸质量比 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,其占5'-核苷酸23.64%的结果,这可能与所测定到的5'-核苷酸组成有关。

3 结 论

通过单因素实验和正交试验纤维素酶酶解反应条件的优化,得出纤维素酶酶解提取香菇柄中5'-核苷酸的优选工艺条件为液固比20:1,加酶量0.8%,酶解温度40℃,pH值5.4,酶解时间4h,此时5'-核苷酸得率为 $4.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

经HPLC检测,纤维素酶酶解提取香菇柄5'-核苷酸由5'-GMP、5'-UMP、5'-CMP、5'-AMP、5'-IMP和5'-XMP组成,5'-核苷酸含量高于采用过碘酸氧化法所测定结果,其中呈鲜味核苷酸占5'-核苷酸的62.63%。

参考文献:

[1] 弋淮. 香菇栽培技术研究[J]. 农业科技与信息, 2017(6): 60-61.

[2] WANG X M, ZHANG J, WU L H, et al. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China[J]. Food Chemistry, 2014, 151(s): 279-285.

[3] ZHANG Z, LÜ G, PAN H, et al. Effects of different drying methods and extraction condition on antioxidant properties of shiitake (*Lentinus edodes*)[J]. Food Science and Technology Research, 2009, 15(5): 547-552.

[4] CHEN H, JU Y, LI J, et al. Antioxidant activities of polysaccharides from *Lentinus edodes* and their significance for disease prevention[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(1): 214-218.

[5] ZHAO Y M, WANG J, WU Z G, et al. Extraction, purification and anti-proliferative activities of polysaccharides from *Lentinus edodes*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 93: 136-144.

[6] CHIEN R C, YEN M T, MAU J L. Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 138: 259-264.

[7] DERMIKI M, PHANPHENSOPHON N, MOTTRAM D S, et al. Contributions of non-volatile and volatile compounds to the umami taste and overall flavour of shiitake mushroom extracts and their application as flavour enhancers in cooked minced meat[J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 77-83.

[8] PHAT C, MOON B, 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.

[9] POOJARY M M, ORLIEN V, PASSAMONTI P, et al. Improved extraction methods for simultaneous recovery of umami compounds from six different mushrooms[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 63: 171-183.

[10] 戴龙. 香菇柄纤维低聚化及其产品的研制[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.

[11] 刘丽娜, 王安建, 李顺峰, 等. 香菇柄热风干燥特性及微粉性质研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 126-131.

LIU L N, WANG A J, LI S F, et al. Study on hot air drying characteristics of mushroom stem and its properties of micro-powder[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(5): 126-131.

[12] 高虹, 程薇, 史德芳, 等. 香菇柄复合酶解工艺研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 23: 5823-5827.

GAO H, CHENG W, SHI D F, et al. Hydrolysis effects of cellulase and neutral protease on *Lentinus edodes* stipe[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2014, 23: 5823-5827.

[13] LIN L Y, TSENG Y H, LI R C, et al. Quality of shiitake stipe bread[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2008, 32(6): 1002-1015.

[14] 翟洪民. 香菇柄蜜饯制作工艺[J]. 保鲜与加工, 2006(1): 20.

[15] 王安建, 刘丽娜, 魏书信, 等. 香菇柄松加工工艺的研究[J]. 农产品加工(学刊), 2013(1): 48-50.

WANG A J, LIU L N, WEI S X, et al. Processing technology of the mushroom stem floss[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2013(1): 48-50.

[16] LIN P H, HUANG S Y, MAU J L, et al. A novel alcoholic beverage developed from shiitake stipe extract and cane sugar with various *Saccharomyces* strains[J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(6): 971-976.

[17] 吴关威, 李敏, 刘吟, 等. 纤维素酶法提取香菇柄中呈味核苷酸工艺研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(12): 41-43, 59.

- WU G W, LI M, LIU Y, et al. Studies on extraction of flavor nucleotide from the foot body of *Lentinus edodes* with cellulose enzyme[J]. *China Condiment*, 2010, 35(12): 41–43, 59.
- [18] 陈钧辉, 陶力, 李俊, 等. 生物化学实验: 第3版[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 131–134.
- [19] TAYLOR M W, HERSHEY H V, LEVINE R A, et al. Improved method of resolving nucleotides by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography*, 1981, 219(1): 133–139.
- [20] MAU J L, LIN H C, CHEN C C. Non-volatile components of several medicinal mushrooms [J]. *Food Research International*, 2001, 34(6): 521–526.
- [21] PAN S, WU S. Cellulase-assisted extraction and antioxidant activity of the polysaccharides from garlic [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111: 606–609.
- [22] CHEN W, LI W, YANG Y, et al. Analysis and evaluation of tasty components in the pileus and stipe of *Lentinula edodes* at different growth stages[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(3): 795–801.
- [23] 赵静, 丁奇, 孙颖, 等. 香菇菌汤及酶解液中滋味成分及呈味特性的对比分析[J]. *食品科学*, 2016, 37(24): 99–104.
- ZHAO J, DING Q, SUN Y, et al. Comparison of taste compounds and taste characteristics of shiitake mushroom soup and enzymatic hydrolysate [J]. *Food Science*, 2016, 37(24): 99–104.
- [24] ANDŌ A. On the components of pileus and stipe of dried shiitake (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing): chemical components and hot water soluble polysaccharides [J]. *Journal of Home Economics of Japan*, 1976, 27(2): 86–91.

Enzymatic Extraction and Composition Analysis of 5'-Nucleotides from Shiitake Mushroom Stipe

LI Shunfeng¹, WANG Anjian¹, ZHANG Xueyan², TIAN Guangrui¹, LIU Lina¹,
WEI Shuxin¹, GAO Shuaiping¹

(1. *Institute Center of Agro-products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;*

2. *Institute of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China*)

Abstract: To improve the yield of 5'-nucleotides and increase the economic value of shiitake mushroom stipe, 5'-nucleotides were extracted from shiitake mushroom stipe by cellulase. The effects of cellulase amount, liquid-solid ratio, enzymatic hydrolysis temperature, enzymatic hydrolysis time and pH on the yield of 5'-nucleotides were investigated by single factor experiments, and the orthogonal test was used to optimize the parameters. The 5'-nucleotides composition was also analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Results showed that on the basis of single factor experiments, the parameters of cellulase extraction on 5'-nucleotides optimized by orthogonal test were as follows: liquid-solid ratio 20:1 (mL:g), cellulase amount 0.8%, enzymatic hydrolysis temperature 40 °C, enzymatic hydrolysis time 4 h, and pH 5.4. Under these optimum conditions, the yield of 5'-nucleotides was 4.08 mg·g⁻¹. This result was close to the content (4.57 mg·g⁻¹) measured by HPLC. The 5'-nucleotides extracted from shiitake mushroom stipe using cellulase were composed by 5'-guanosine monophosphate, 5'-uridine monophosphate, 5'-cytosine monophosphate, 5'-adenosine monophosphate, 5'-inosine monophosphate, 5'-xanthosine monophosphate, and umami taste nucleotides accounted for 62.63% of 5'-nucleotides.

Keywords: shiitake mushroom stipe; cellulase; extraction; 5'-nucleotides; HPLC; components analysis

(责任编辑:檀彩莲)