

环境和生长阶段对羊肚菌氨基酸的呈味影响

刘兴勇^{1,2}, 林涛^{1,3}, 尹本林^{1,2}, 杜丽娟^{1,2}, 刘宏程^{1,3}, 汪禄祥^{1,2*}

(1. 云南省农业科学院 质量标准与检测技术研究所, 云南 昆明 650223; 2. 农业部农产品质量监督检验测试中心, 云南 昆明 650223; 3. 农业部农产品质量安全风险评估实验室 云南 昆明 650223)

摘要: 采用氨基酸自动分析仪进行羊肚菌游离氨基酸的测定, 通过味道强度值 (Taste Activity Value, TAV) 分析人工培育羊肚菌与野生羊肚菌游离氨基酸的呈味差异及不同生长阶段呈味特性。结果表明: 羊肚菌中含量最高的氨基酸为谷氨酸, 不同产地羊肚菌游离氨基酸差异不显著。人工培育羊肚菌与野生羊肚菌相比, 缺少天冬氨酸、多出苦味氨基酸赖氨酸的呈味作用, 鲜味氨基酸味道强度值小于野生羊肚菌。谷氨酸、丙氨酸、组氨酸分别是鲜味、甜味和苦味氨基酸中 TAV 最高的氨基酸。羊肚菌游离氨基酸随生长阶段含量增加, 生长初期、中期和后期分别为 7.31、12.16、18.88 mg/g, 对滋味有直接贡献的氨基酸种类分别为 4、5、6 种, 从生长中期开始, 缬氨酸、赖氨酸出现呈味作用, 苦味氨基酸呈味增强。呈味氨基酸 TAV 均随生长发育而增高。

关键词: 羊肚菌; 生长阶段; 游离氨基酸; 味道强度值; 香料与香精

中图分类号: TQ 207.3 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2018) 12-2058-07

Effects of Environment and Different Growth Stages on Free Amino Acid Taste Contribution of Morels

LIU Xing-yong^{1,2}, LIN Tao^{1,3}, YIN Ben-lin^{1,2}, DU Li-juan^{1,2},
LIU Hong-cheng^{1,3}, WANG Lu-xiang^{1,2*}

(1. Institute of Agriculture Quality Standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650223 Yunnan, China; 2. Supervision & Testing Center for Farm Products Quality, Ministry of Agriculture, Kunming 650223 Yunnan, China; 3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products, Kunming 650223, Yunnan, China)

Abstract: The free amino acids in morels were detected by automatic analyzer and the taste activity value (TAV) was calculated to analyze the free amino acid taste composition differences and taste characteristics in artificial cultivation and wild morels at different growth stages. The results indicated that the highest content of amino acids in the morels was glutamate, and there was no significant difference in free amino acids of morels from different habitats. Compared with the wild morels, artificial cultivation morels lacked taste composition (aspartic acid) and increased bitter amino acid (lysine). Moreover, the TAV of umami amino acids was less than that of wild morels. Glutamic acid, alanine, and histidine had the highest TAV in umami, sweet and bitter amino acids, respectively. The content of free amino acids increased with the growth stage and were 7.31, 12.16 and 18.88 mg/g in the early stage, metaphase stage and late stage of growth, respectively. There were 4, 5 and 6 kinds of amino acids in each stage which had taste contribution, respectively. Bitter amino acids (valine and lysine) showed enhancing taste contribution from the metaphase state of growth. In addition, the TAV of free amino acids increased with growth stages.

Key words: morel; growth stage; free amino acids; taste activity values; perfumes and essences

Foundation item: Risk Hazard Screening and Evaluation with Key Control Points for Edible Fungus Product Quality Safety of China (GJFP2017006)

收稿日期: 2018-02-26; 定用日期: 2018-06-27; DOI: 10.13550/j.jxhg.20180128

基金项目: 食用菌产品质量安全风险隐患摸底排查与关键控制点评估 (GJFP2017006)

作者简介: 刘兴勇 (1985—), 男, 助理研究员, 硕士。联系人: 汪禄祥 (1966—), 研究员, 硕士生导师, 电话: 0871-65140430, E-mail: wangluxiang@sina.com。

羊肚菌属于子囊菌亚门 (Ascomycotina)、盘菌纲 (Discomycetes)、盘菌目 (Pezizales)、羊肚菌科 (Morchellaceae)、羊肚菌属 (Morchella), 是一种珍贵的食药兼用食用菌, 因味道鲜美、口感细腻, 常被用来作为烹饪调料。羊肚菌因含有杂多糖、微量元素、黄酮类等功效成分而具有抗氧化、抗癌、免疫调节等保健效果, 其营养丰富, 受到青睐^[1]。目前, 对于羊肚菌的研究也主要围绕上述保健功能^[2-5]、营养价值^[6-7]和人工培养技术开展。羊肚菌的菌丝体含有丰富的氨基酸, 总氨基酸和人体必需氨基酸含量比较高, 必需氨基酸占氨基酸总量的 49% 左右, 基本接近 FAO/WHO 推荐的模式, 且决定鲜味的谷氨酸、天冬氨酸含量尤为突出, 是优质的蛋白源^[7-8]。

近年来, 培育技术的不断突破基本实现了羊肚菌的人工室外培养, 2015~2016 年预计产量为 500 t^[9]。随着羊肚菌产量的突破, 其滋味品质成为关注重点。氨基酸是羊肚菌独特鲜味的来源之一, 且食用加工中氨基酸呈味作用主要以游离态形式。但生长环境、生长阶段对羊肚菌滋味成分氨基酸的变化及风味贡献了解较少。目前, 对食用菌滋味成分大多采用味精当量 (Equivalent umami concentration, EUC) 来综合协同定量评价游离鲜味氨基酸与核苷酸的鲜味作用。Li^[10]等分别对茶树菇、侧耳、姬松茸、杏鲍菇和毛头鬼伞进行滋味评价, 姬松茸和毛头鬼伞的鲜味最强, 味精当量分别达到 88.37 和 86.86 g MSG/100 g。Chen^[11]等依据大小对不同生长阶段香菇菌盖和菌柄进行风味评价。

但 EUC 评价无法综合其他风味氨基酸, 而滋味活性值 (TAV) 则考虑了所有呈味氨基酸, 更能全面分析氨基酸对羊肚菌的滋味贡献。同时, 为了考察不同环境和生长阶段羊肚菌游离氨基酸的组成及对滋味的影响, 采用加热超声萃取模拟羊肚菌加工食用中的菌液, 分析游离氨基酸的种类及含量, 结合 TAV 分析滋味的变化, 旨在为羊肚菌人工培育及质量控制提供一定的理论依据。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

实验所用材料为粗柄羊肚菌, 野生羊肚菌 3 份, 分别从云南香格里拉、大理向当地村民购买, 均采集于当地山林, 昆明市场购买 1 份; 人工羊肚菌 15 份, 分别从云南香格里拉、大理、曲靖、怒江、昆明五地人工培育场按子实体形态各购置 3 份。羊肚菌子实体形态如图 1 所示。

图 1 中阶段 1 为生长初期, 菌盖呈现淡黄色,

与菌柄紧相连, 尖端分枝交织成网格状, 阶段 2 为生长中期, 菌盖变为深棕色或褐色, 阶段 3 为生长后期, 菌柄直径达到 2~3 cm, 基部膨大, 呈现不规则凹槽。所有羊肚菌均由食用菌类专业人员鉴定为粗柄羊肚菌。新鲜羊肚菌清洗干净后于 70 °C 干燥, 粉碎备用。



1—生长初期; 2—生长中期; 3—生长后期

图 1 不同生长阶段粗柄羊肚菌

Fig. 1 Pictures of morels at different growth stages

17 种混合氨基酸标准溶液 (天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸), 质量分数 $\geq 99\%$, Sigma 公司; 水合茚三酮、乙酸钾、柠檬酸、柠檬酸三钠, 分析纯, 国药集团试剂公司; 甲醇, 色谱纯, 德国 Merck 公司。

1.2 仪器

S-433 (D) 氨基酸自动分析仪, 德国 Sykam 公司; binderFD115 电热鼓风干燥箱, 德国 binder 公司; AE 100 电子分析天平, 瑞士 Mettler Toledo 仪器有限公司; HC-2518 高速离心机, 安徽科大中佳公司; KQ-500E 超声波清洗仪, 昆山市超声仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液配制及定量

氨基酸混合标准溶液中 L-半胱氨酸浓度为 $1.25 \times 10^{-3} \mu\text{mol/L}$, 其余氨基酸的浓度均为 $2.5 \times 10^{-3} \mu\text{mol/L}$, 将 1 mL 氨基酸混合标准溶液用 0.02 mol/L 盐酸稀释定容至 25 mL, 得到氨基酸标准工作液, 浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 半胱氨酸浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 。氨基酸定量采用外标法进行。为减少标准溶液稀释过程实验误差, 氨基酸自动分析仪分别对标准溶液进样 1、10、20、50、80 μL , 氨基酸浓度分别相当于 0.10、1.00、2.00、5.00、8.00 $\mu\text{mol/L}$, 共 5 个浓度梯度。将不同浓度梯度氨基酸标准溶液在相同条件下进样, 用得到的色谱图峰面积与对应氨基酸标液浓度作图, 绘制 17

种氨基酸的标准曲线。

1.3.2 样品前处理

羊肚菌粉末在 70 °C 烘干至恒重，密封保存。分析天平准确称取 1 g 样品（精确至 0.0001 g），置于 100 mL 容量瓶中，加蒸馏水 50 mL，置超声仪中于 240 W、70 °C 萃取 20 min，冷却并定容，混匀。样品溶液用 0.22 μm 滤膜过滤备用。

1.3.3 仪器检测条件

采用氨基酸自动分析仪离子交换色谱-茚三酮柱后衍生法测定样品中游离氨基酸。Na 型阳离子交换树脂，4.6 μm × 200 mm；测定波长在 570 nm 和 440 nm；缓冲液流速 4.5 mL/min，茚三酮衍生液流速 0.25 mL/min，柱温 31~76 °C；进样量 50 μL。每个样品检测 3 组平行。

1.3.4 鲜味评价方法

(1) 游离氨基酸组成及含量分析

分别统计总游离氨基酸含量（TFAA）、必需氨基酸含量（EAA）和非必需氨基酸含量（NEAA）及鲜味、甜味、苦味氨基酸含量。

(2) 呈味氨基酸含量及 TAV 分析

采用味道强度值（Taste Activity Value, TAV）评价氨基酸呈味贡献，TAV 表示样品中呈味物质测定值与呈味物质的味道阈值之比。当 TAV 大于 1 时，认为该物质对呈味有重要贡献，且数值越大，影响越显著，当比值小于 1 时，该物质对呈味没有贡献。通过计算菌液氨基酸味道强度值，找出对羊肚菌滋味有显著贡献的氨基酸。

TAV^[12]为某一呈味氨基酸的含量与其阈值的比。公式为：

$$TAV = w_1/w_2$$

式中：w₁为呈味氨基酸在样品中的含量，mg/g；w₂为该氨基酸滋味阈值浓度，mg/g。

2 结果与讨论

2.1 氨基酸回归方程

以游离氨基酸峰面积为横坐标，以氨基酸的浓度（mmol/L）为纵坐标，绘制氨基酸的回归方程如表 1 所示。

表 1 氨基酸回归方程及系数

Table 1 Amino acids regression equations and coefficients

氨基酸	线性方程	R ²	氨基酸	线性方程	R ²
Asp	y=293.41x+500.57	0.9991	Ile	y=291.63x+379.22	0.9995
Thr	y=245.64x+98.431	0.9999	Leu	y=448.78x+492.59	0.9994
Ser	y=343.36x+181.16	0.9995	Tyr	y=326.86x-595.78	0.9997
Glu	y=522.18x-311.25	0.9998	Phe	y=464.12x+379.38	0.9995
Gly	y=219.06x-67.142	1.0000	His	y=308.33x+1438.6	0.9992
Ala	y=309.59x-84.889	0.9995	Lys	y=341.93x+1698.7	0.9993
Cys	y=57.696x-885.23	0.9991	Arg	y=377.63x+328.24	0.9994
Val	y=400.94x+1633.4	0.9992	Pro	y=43.037x-12.132	0.9997
Met	y=339.81x+472.91	0.9994			

由表 1 可知，各氨基酸线性关系良好，R²均大于 0.9990。另外，除脯氨酸在 440 nm 出峰，其他 16 种氨基酸均在 570 nm 出峰。

2.2 不同产地羊肚菌游离氨基酸含量

外源营养、光照、温度等环境因素对羊肚菌滋

味成分具有影响^[9,13]。为比较不同产地羊肚菌中游离氨基酸组成及含量，对 5 个样品采集点的人工羊肚菌氨基酸进行分析，结果见表 2。

由表 2 可见，不同产地间羊肚菌游离氨基酸间含量差异不显著（P>0.05），但氨基酸含量范围较大，

表 2 不同产地羊肚菌游离氨基酸比较（mg/g）

Table 2 Free amino acids components and comparison of morels from different habitats (mg/g)

	香格里拉	大理	曲靖	怒江	昆明
天门冬氨酸（Asp）	0.41±0.27	0.39±0.19	0.24±0.11	0.35±0.21	0.38±0.19
谷氨酸（Glu）	4.06±1.55	1.85±1.42	1.63±1.15	2.07±2.03	3.57±3.16
苏氨酸（Thr）*	1.44±0.82	1.08±0.75	1.17±0.62	1.72±1.17	2.12±1.62
丝氨酸（Ser）	0.77±0.14	0.47±0.24	0.80±0.52	0.76±0.65	1.27±1.20
甘氨酸（Gly）	0.51±0.16	0.21±0.05	0.28±0.13	0.30±0.18	0.43±0.36
丙氨酸（Ala）	2.82±0.74	1.56±0.65	1.76±0.58	1.76±0.96	2.28±0.89
脯氨酸（Pro）	0.52±0.23	0.19±0.15	0.35±0.20	0.38±0.32	0.43±0.35
缬氨酸（Val）*	0.74±0.26	0.37±0.06	0.53±0.10	0.48±0.30	0.61±0.38

续表 2

	香格里拉	大理	曲靖	怒江	昆明
甲硫氨酸 (Met) *	0.04±0.02	0.02±0.01	0.05±0.03	0.03±0.02	0.10±0.02
异亮氨酸 (Ile) *	0.56±0.21	0.19±0.05	0.31±0.04	0.35±0.32	0.46±0.42
亮氨酸 (Leu) *	0.47±0.21	0.18±0.07	0.29±0.13	0.26±0.21	0.32±0.30
苯丙氨酸 (Phe) *	0.22±0.09	0.12±0.08	0.13±0.04	0.12±0.10	0.15±0.13
组氨酸 (His)	1.51±0.67	0.58±0.16	0.64±0.29	0.72±0.88	0.88±1.01
赖氨酸 (Lys) *	0.74±0.34	0.41±0.16	0.45±0.32	0.38±0.27	0.57±0.50
精氨酸 (Arg)	3.19±1.53	2.13±1.85	1.18±0.88	1.39±1.96	1.68±2.39
半胱氨酸 (Cys)	0.08±0.05	0.08±0.03	0.05±0.03	0.08±0.04	0.08±0.05
酪氨酸 (Tyr)	0.39±0.12	0.15±0.13	0.23±0.13	0.20±0.21	0.22±0.23
游离氨基酸总量 (TFAA)	18.48±7.16	9.97±5.08	10.09±4.38	11.18±9.22	14.20±12.98
必需氨基酸 (EAA)	4.21±1.92	2.37±1.03	2.93±0.98	3.26±2.20	4.15±3.21
非必需氨基酸 (NEAA)	14.26±5.24	7.60±4.12	7.16±3.52	7.92±7.02	10.04±9.77
鲜味氨基酸总量	4.47±1.82	2.23±1.60	1.87±1.10	2.42±2.18	2.99±3.01
甜味氨基酸总量	6.07±1.94	3.50±1.64	4.37±1.83	4.84±3.09	6.32±4.75
苦味氨基酸总量	7.47±3.29	4.01±2.27	3.57±1.52	3.65±3.91	4.59±5.01

注: *为必需氨基酸。

TFAA 为 9.97~18.48 mg/g。来自香格里拉和昆明的羊肚菌各种氨基酸较其他地方相对较高, 产自曲靖的相对较低。鲜味、甜味和苦味氨基酸含量范围分别为 1.87~4.47、3.50~6.32 和 3.57~7.47 mg/g, 谷氨酸、丙氨酸和精氨酸分别为鲜味、甜味和苦味氨基酸中含量最高的氨基酸。相关研究分析指出, 不同种类间羊肚菌氨基酸含量差异不显著^[8], 但栽培配

方对品质影响较大^[14]。本实验中氨基酸含量间的较大变异可能与不同人工栽培配方及环境有关。

2.3 人工与野生羊肚菌游离氨基酸含量及滋味评价

人工培育与野生羊肚菌因外源营养、光照、温度等环境因素不同, 对羊肚菌氨基酸成分同样具有影响。为考察野生和人工羊肚菌氨基酸差异, 本文对二者的游离氨基酸进行分析比较, 结果见表 3。

表 3 人工与野生羊肚菌游离氨基酸含量与味道强度值
Table 3 Contents and taste active values of free amino acids in 2 kinds of morels

呈味	氨基酸	味觉阈值/ (mg/g)	人工		野生	
			含量/(mg/g)	TAV	含量/(mg/g)	TAV
鲜味	天门冬氨酸 (Asp)	1.0	0.35±0.19 ^a	0.35	1.77±0.14 ^b	1.77
	谷氨酸 (Glu)	0.3	2.44±1.82	8.13	4.25±0.63	14.17
甜味	苏氨酸 (Thr) *	2.6	1.51±0.98	0.58	1.03±0.13	0.40
	丝氨酸 (Ser)	1.5	0.82±0.63	0.55	0.72±0.09	0.48
	甘氨酸 (Gly)	1.3	0.33±0.19	0.25	0.41±0.03	0.32
	丙氨酸 (Ala)	0.6	2.04±0.89	3.40	1.73±0.18	2.88
苦味	脯氨酸 (Pro)	3.0	0.33±0.23	0.11	0.48±0.10	0.16
	缬氨酸 (Val) *	0.4	0.55±0.25	1.38	0.51±0.07	1.28
	甲硫氨酸 (Met) *	0.3	0.04±0.02	0.13	0.06±0.03	0.20
	异亮氨酸 (Ile) *	0.9	0.34±0.23	0.38	0.55±0.06	0.61
	亮氨酸 (Leu) *	1.9	0.30±0.20	0.16	0.49±0.10	0.26
	苯丙氨酸 (Phe) *	0.9	0.15±0.09 ^a	0.17	0.34±0.07 ^b	0.38
	组氨酸 (His)	0.2	0.86±0.68	4.30	0.84±0.10	4.20
	赖氨酸 (Lys) *	0.5	0.51±0.31	1.02	0.39±0.13	0.78
	精氨酸 (Arg)	0.5	1.91±1.68	3.82	1.98±0.42	3.96
	半胱氨酸 (Cys)		0.07±0.03		0.03±0.01	
酪氨酸 (Tyr)		0.24±0.17		0.44±0.05		
游离氨基酸总量 (TFAA)			12.78±7.82		16.02±1.40	
必需氨基酸 (EAA)			3.39±1.88		3.37±0.41	
非必需氨基酸 (NEAA)			9.40±6.02		12.64±1.00	
EAA/TFAA/%			26.53		21.04	
EAA/NEAA/%			36.06		26.66	
鲜味氨基酸总量			2.80±1.97 ^a		6.02±0.63 ^b	
甜味氨基酸总量			5.02±2.68		4.37±0.48	
苦味氨基酸总量			4.66±3.26		5.15±0.70	

注: *为必需氨基酸; a, b 表示同行数据在 0.05 水平差异显著。

由表 3 可见,两种羊肚菌均检测到 17 种游离氨基酸,包括 7 种必需氨基酸。羊肚菌必需氨基酸中含量较高的为苏氨酸,非必需氨基酸含量最高的是谷氨酸,结果与羊肚菌菌汤中氨基酸一致^[15]。不同环境羊肚菌游离氨基酸含量差异较大的是天门冬氨酸和苯丙氨酸。野生羊肚菌中鲜味氨基酸含量显著高于人工羊肚菌,其中天门冬氨酸含量显著 ($P<0.01$) 高于人工羊肚菌,是人工培育羊肚菌的 5.06 倍;甜味、苦味氨基酸均低于人工型,且差异不显著,苦味氨基酸中苯丙氨酸高于人工型。野生羊肚菌游离氨基酸总量、非必需氨基酸含量及其比例均比人工培育羊肚菌高,差异不显著。相关学者研究指出,土壤成分、基质配方等对羊肚菌品质影响较大^[14, 16],但是否是引起人工培育与野生羊肚菌氨基酸差异的主要因素有待进一步研究。

氨基酸按呈特性可分成鲜、甜和苦 3 类,食用菌的鲜美滋味是由不同呈味游离氨基酸之间的平衡及相互影响决定的,对食用菌风味具有重要作用。按 TAV>1,从表 3 中可知,羊肚菌中,谷氨酸 TAV 最高,是鲜味主要来源。野生羊肚菌鲜味氨基酸含

量高于人工培育羊肚菌,为 6.02 mg/g,对鲜味有直接贡献的氨基酸为天门冬氨酸和谷氨酸,而人工羊肚菌仅谷氨酸有直接作用,且 TAV 均小于野生羊肚菌。二者甜味氨基酸有直接贡献的为丙氨酸,人工培育与野生羊肚菌含量分别为 2.04、1.73 mg/g。对滋味有直接贡献的苦味氨基酸,野生和人工羊肚菌分别有 4、3 种,含量差异不显著,赖氨酸 TAV 最高。总体来说,人工羊肚菌和野生羊肚菌对滋味有贡献的氨基酸均为 6 种,但人工羊肚菌较野生羊肚菌少了鲜味氨基酸天门冬氨酸呈味作用,多出苦味氨基酸赖氨酸的呈味。通过氨基酸呈味比较,显然野生羊肚菌的味道较好,与林彬^[17]的研究结果一致。

2.4 羊肚菌不同生长阶段游离氨基酸含量及滋味评价

风味化合物变化规律是食品风味化学研究的方向^[18],考察羊肚菌培育过程风味氨基酸的变化对实际应用具有重要意义。为了解羊肚菌子实体在发育成熟过程中氨基酸变化,按组织形态分为 3 个阶段:生长初期、中期和后期,对不同阶段游离氨基酸分析结果见表 4 和图 2。

表 4 羊肚菌发育阶段游离氨基酸含量与味道强度值
Table 4 Contents of free amino acids and taste active values in the morels at different stages of maturity

呈味	氨基酸	味觉阈值/ (mg/g)	阶段 1		阶段 2		阶段 3	
			含量/(mg/g)	TAV	含量/(mg/g)	TAV	含量/(mg/g)	TAV
鲜味	天门冬氨酸 (Asp)	1.0	0.13±0.04 ^a	0.13	0.40±0.07 ^b	0.40	0.52±0.14 ^b	0.52
	谷氨酸 (Glu)	0.3	1.35±0.95 ^a	4.50	2.11±1.32 ^{ab}	7.03	3.87±2.19 ^b	12.90
甜味	苏氨酸 (Thr) *	2.6	0.71±0.42 ^a	0.27	1.67±0.04 ^{ab}	0.64	2.14±1.36 ^b	0.82
	丝氨酸 (Ser)	1.5	0.59±0.50 ^a	0.39	0.64±0.06 ^a	0.43	1.22±0.92 ^b	0.81
	甘氨酸 (Gly)	1.3	0.24±0.12	0.18	0.29±0.13	0.22	0.45±0.25	0.35
	丙氨酸 (Ala)	0.6	1.45±0.82 ^a	2.42	2.03±0.35 ^{ab}	3.38	2.64±1.06 ^b	4.40
苦味	脯氨酸 (Pro)	3.0	0.24±0.14	0.08	0.27±0.25	0.09	0.49±0.25	0.16
	缬氨酸 (Val) *	0.4	0.33±0.14 ^a	0.83	0.55±0.16 ^{ab}	1.38	0.76±0.23 ^b	1.90
	甲硫氨酸 (Met) *	0.3	0.02±0.01 ^a	0.07	0.04±0.02 ^b	0.13	0.05±0.01 ^b	0.17
	异亮氨酸 (Ile) *	0.9	0.22±0.11 ^a	0.24	0.26±0.19 ^a	0.29	0.53±0.25 ^b	0.59
	亮氨酸 (Leu) *	1.9	0.18±0.07 ^a	0.09	0.28±0.17 ^{ab}	0.15	0.46±0.23 ^b	0.24
	苯丙氨酸 (Phe) *	0.9	0.09±0.04 ^a	0.10	0.13±0.07 ^a	0.14	0.23±0.09 ^b	0.26
	组氨酸 (His)	0.2	0.47±0.27	2.35	0.78±0.59	3.90	1.34±0.83	6.70
	赖氨酸 (Lys) *	0.5	0.40±0.08	0.80	0.45±0.30	0.90	0.67±0.44	1.34
	精氨酸 (Arg)	0.5	0.71±0.42 ^a	1.42	1.97±1.69 ^{ab}	3.94	3.06±1.78 ^b	6.12
	半胱氨酸 (Cys)		0.04±0.03 ^a		0.08±0.02 ^b		0.09±0.02 ^b	
酪氨酸 (Tyr)		0.15±0.10		0.20±0.17		0.35±0.17		
游离氨基酸总量 (TFAA)			7.31±4.13 ^a		12.16±4.51 ^{ab}		18.88±9.60 ^b	
必需氨基酸 (EAA)			1.94±0.72 ^a		3.37±0.76 ^{ab}		4.84±2.44 ^b	
非必需氨基酸 (NEAA)			5.37±3.47 ^a		8.79±3.80 ^{ab}		14.04±7.24 ^b	
EAA/TFAA/%			26.54		27.71		25.64	
EAA/NEAA/%			36.13		38.34		34.47	
鲜味氨基酸总量			1.48±0.93 ^a		2.52±1.35 ^{ab}		4.40±2.33 ^b	
甜味氨基酸总量			3.22±1.83 ^a		4.90±0.59 ^{ab}		6.94±3.57 ^b	
苦味氨基酸总量			2.41±1.36 ^a		4.46±2.79 ^{ab}		7.10±3.71 ^b	

注: *为必需氨基酸; a, b 表示同行数据在 0.05 水平差异显著。

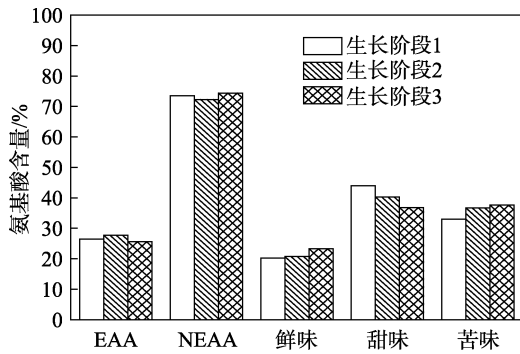


图 2 羊肚菌不同生长阶段氨基酸比例变化

Fig. 2 Changes of amino acid proportion of morels at different growth stages

由表 4 和图 2 可见, 羊肚菌不同生长发育阶段均检出 17 种氨基酸, 随生长阶段氨基酸含量增加, 阶段 1 和 3 含量差异显著。总游离氨基酸和非必需氨基酸含量增加较快, 范围分别在 7.31~18.88、5.37~14.04 mg/g。鲜味氨基酸为 1.48~4.40 mg/g, 占总氨基酸比重增高, 分别为 20.2%、20.7%、23.3%, 谷氨酸是所有氨基酸和鲜味氨基酸中含量最高者, 占鲜味氨基酸总量 90% 左右; 甜味氨基酸为 3.22~6.94 mg/g, 占总氨基酸比重逐渐降低, 分别为 44.0%、40.3%、36.8%, 甜味氨基酸最高者为丙氨酸; 苦味氨基酸为 2.41~7.10 mg/g, 占氨基酸总量百分比分别为 33.0%、36.7%、37.6%, 比值逐渐增高, 含量最高为精氨酸。

羊肚菌生长阶段 1~3 中, 对滋味有直接贡献的氨基酸种类分别为 4、5、6 种, 阶段 2 和 3 分别增加了缬氨酸、赖氨酸, 每种氨基酸的 TAV 都随生长阶段而增高。谷氨酸、丙氨酸、组氨酸分别是鲜味、甜味和苦味氨基酸中 TAV 最高的氨基酸, 结果与相关文献报道一致^[19]。

羊肚菌的滋味不仅与游离呈味氨基酸有关, 同时与呈味核苷酸密切相关。氨基酸类鲜味成分在阈值以下并不表现出鲜味, 当存在少量的 5'-核苷酸, 可以提高到其阈值以上从而发挥作用^[20]。本文所用 TAV 是比较客观的评价方法, 但还需考虑氨基酸与核苷酸之间的协同作用, 即 EUC 值。虽然本实验并未分析羊肚菌中呈味核苷酸, 但鲜味氨基酸 (monosodium glutamate-like, MSG) 含量与 EUC 值具有线性相关性。食用菌 EUC 值大小可分为 >10000 mg/g、1000~10000 mg/g、100~1000 mg/g 及 <100 mg/g 4 个水平, 其对应的鲜味氨基酸值含量分别为 >10、1~10、0.1~1 和 <0.1 g MSG/g^[21], 目前文献报道的食用菌含量范围在 1~9 g/kg^[22]。本文中羊肚菌鲜味氨基酸在 2.50~6.39 mg/g 之间, 其 EUC 值对应为 100~1000 mg/g, 为第三水平, 其鲜味低于 Chen 等报道的香菇 35.93~352.7 g MSG/100g^[11], 而

高于杏鲍菇、金针菇、牛肝菌等多种食用菌^[20,23]。干燥方式对食用菌的鲜味也具有营养, 热风干燥能显著增加鲜味成分, 而冷冻干燥、冷冻结合微波真空干燥等对 EUC 值无显著影响^[24-25]。

外源性营养的供给对人工培育羊肚菌是一项关键技术, 但其对鲜味等成分的影响机理尚不清楚^[9]。将来需进一步研究培养基质微观环境对羊肚菌呈味物质的影响及加工中呈味特性变化, 羊肚菌中风味化合物形成途径等, 为提高羊肚菌生产储存过程中质量控制提供科学依据。

3 结论

(1) 不同产地间羊肚菌游离氨基酸差异不显著, 人工培育与野生羊肚菌游离氨基酸总含量、必需氨基酸差异不显著。野生羊肚菌鲜味氨基酸显著高于人工培育羊肚菌, 其中天门冬氨酸差异显著 ($P < 0.01$), 鲜味氨基酸的差异机理有待进一步研究。

(2) 人工培育和野生羊肚菌对滋味有贡献的氨基酸均为 6 种, 但人工羊肚菌比野生羊肚菌少了鲜味氨基酸天门冬氨酸呈味作用, 且多出苦味氨基酸赖氨酸的呈味。呈鲜味的谷氨酸 TAV 较高, 其次是呈苦味的组氨酸, 精氨酸, 甜味氨基酸中丙氨酸 TAV 最高。

(3) 羊肚菌随发育时间阶段游离氨基酸总量、必需氨基酸、呈味氨基酸含量逐渐增加, 初期和后期差异显著 ($P < 0.05$), 谷氨酸、丙氨酸、精氨酸分别是鲜味、甜味、苦味氨基酸中含量最高氨基酸; 三个不同阶段中, 对滋味有直接贡献的氨基酸种类分别为 4 种、5 种、6 种, 阶段 2 和 3 分别比前一阶段增加了缬氨酸、赖氨酸, 呈味氨基酸的 TAV 都随生长发育而增高。谷氨酸、丙氨酸、组氨酸分别是鲜味、甜味和苦味氨基酸中 TAV 最高的氨基酸。将来考察不同生长阶段呈味氨基酸的累积调控对羊肚菌滋味具有重要意义。

参考文献:

- [1] Liu C, Sun Y H, Mao Q, *et al.* Characteristics and antitumor activity of *Morchellaesculenta* polysaccharide extracted by pulsed electric field[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2016,17(6), 986-1002.
- [2] Cui H L, Chen Y, Wang S S, *et al.* Isolation, partial characterisation and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Morchellaesculenta* [J]. *Journal of the science and agriculture food of*, 2011,91(12): 2180-2185.
- [3] Fu L H, Wang Y P, Wang J J, *et al.* Evaluation of the antioxidant activity of extracellular polysaccharides from *Morchellaesculenta*[J]. *Food Function*, 2013, 4(6): 871-879.
- [4] Li S H, Gao A, Dong S, *et al.* Purification, antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from soybean residue fermented with *Morchellaesculenta*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 96(3): 26-34.
- [5] Shameem N, Kamili A N, Ahmad M, *et al.* Antimicrobial activity of

- crude fractions and morel compounds from wild edible mushrooms of North western Himalaya[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 105(4): 356-360.
- [6] Sarikurku C, Tepe B, Solak M H, *et al.* Metal concentrations of wild Edible Mushrooms from Turkey[J]. *Ecology of Food and Nutrition*, 2012, 51(4): 346-363.
- [7] Gu Kefei (顾可飞), Zhou Changyan (周昌艳), Shao Yi (邵毅), *et al.* The Composition Analysis of the Wild Boletus and Morel in Yunnan Province Nutrient[J]. *Food Research And Development (食品研究与开发)*, 2017, 38(17): 129-133.
- [8] Liu Bei (刘蓓), Wu Surui (吴素蕊), Zhu Ping (朱萍), *et al.* Nutrient analysis of morel in northwest Yunnan Province[J]. *Food Research And Development (食品研究与开发)*, 2012, 32(1): 363-365.
- [9] Liu Q Z, Ma H S, Zhang Y, *et al.* Artificial cultivation of true morels: current state, issues and perspectives[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2018, 38(2): 259-271.
- [10] Li W, Gu Z, Yang Y, *et al.* Non-volatile taste components of several cultivated mushrooms[J]. *Food Chemistry*, 2014, 143(1): 427-431.
- [11] Chen W C, 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 Chemistry Food*, 2015, 63(3): 795-801.
- [12] Ding Qi (丁奇), Zhao Jing (赵静), Sun Ying (孙颖), *et al.* Comparative Analysis of Free Amino Acid Composition and Taste Contribution in Four Kinds of Chicken Soup[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2015, 32(11): 1260-1265.
- [13] Vieira V, Fernandes Â, Barros L, *et al.* Wild *Morchellaconica Pers.* from different origins: a comparative study of nutritional and bioactive properties[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(1): 90-98.
- [14] He Shuling (何淑玲), Zhao Kentian (赵垦田), Ma Lingfa (马令法), *et al.* Effects of different cultivars on the growth and quality of morels[J]. *Edible fungi (食用菌)*, 2017, 39(4): 27-30.
- [15] Duan L L, Jia H F, Ji D R, *et al.* Optimization of the boiling process of Morchella soup and its flavor composition analysis[J]. *Science and technology of food industry*, 2018, 39(3): 205-208, 214.
- [16] Song Jinzhi (宋金枝), Yu Jianrui (于剑瑞), Liu Wei (刘伟), *et al.* Analysis of structure and growth of *Morehellaesculenta (L.) Pers.* in Changbai Mountain area[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences(江苏农业科学)*, 2016, 44(9): 231-232, 250.
- [17] Lin Bin (林彬). Studies on protein ingredient and amino acid content of *Morchellacrassipes (Vent.) Pers.* *Journal of Jilin Agricultural University (吉林农业大学学报)*, 1998, 20(s1): 112.
- [18] Sun Baoguo (孙宝国), Cao Yanping (曹雁平), Li Jian (李健), *et al.* Frontier Dynamic of Food Science Research[J]. *Journal of Food Science and Technology (食品科学技术学报)*, 2014, 32(2): 1-11.
- [19] Tietel Z, Masaphy S. True Morels (*Morchella*) Nutritional and phytochemical composition, health benefits and favor: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 28(3): 1-14.
- [20] Zhang Zhong (张忠), Gu Zhen (谷镇), Yang Yan (杨焱), *et al.* Evaluation of the Umami Taste of Three Species of Dried Wild Edible Fungi[J]. *Journal of food science (食品科学)*, 2013, 34(21): 51-54.
- [21] 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*, 2015, 192(1): 1068-1077.
- [22] KalaçP. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growingand cultivated mushrooms[J]. *Journal of the Science and Agriculture Food of*, 2013, 93(2): 209-218.
- [23] Zhang Lu (张璐), Gong Zhiqing (弓志青), Wang Wenliang (王文亮), *et al.* Analysis of flavor components and evaluation on umami of seven kinds of edible fungi[J]. *Food Science and Technology (食品科技)*, 2017, 42(3): 274-278.
- [24] Li X, Feng T, Zhou F, *et al.* Effects of drying methods on the tasty compounds of *Pleurotuseryngii*[J]. *Food Chemistry*, 2015, 166(1): 358-364.
- [25] Pei F, Shi Y, Gao X, *et al.* Changes in non-volatile taste components of button mushroom (*Agaricusbisporus*) during different stages of freeze drying and freeze drying combined with microwave vacuum drying[J]. *Food Chemistry*, 2014, 165(12): 547-554.
- (上接第 2044 页)
- [5] Harwood L M, Aldous D J, Drew M G, *et al.* 1,3-Dipolar cycloadditions to unsymmetrical ketone-derived chiral stabilized azomethine ylides: strategies for the synthesis of highly substituted amino acids[J]. *Synthesis*, 2005(19): 3271-3278.
- [6] Li Q, Zhang H, Li C, *et al.* Stereoselective synthesis of (-)-chloramphenicol, (+)-thiamphenicol and (+)-sphinganine via chiral tricyclic iminolactone[J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2013, 31(1): 149-153.
- [7] Yuttapong Singjunla J B, Jacques R. Direct synthesis of β -hydroxy- α -amino acids via diastereoselective decarboxylative aldol reaction[J]. *Organic Letters*, 2013, 15(22): 5770-5773.
- [8] Wang Peng (王鹏), Gao Han (高晗), Liu Qian (刘茜), *et al.* Enzymatic properties of recombinant tyrosine decarboxylase [J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2014, 31(7): 844-847.
- [9] Hernandez K, Zelen I, Petrillo G, *et al.* Engineered L-serine hydroxymethyltransferase from *Streptococcus thermophilus* for the synthesis of α,α -dialkyl- α -amino acids[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(10): 3013-3017.
- [10] Fesko K, Giger L, Hilvert D. Synthesis of beta-hydroxy- α -amino acids with a reengineered alanine racemase[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, 18(22): 5987-5990.
- [11] Clapés P, Garrabou X. Current trends in asymmetric synthesis with aldolases[J]. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 2011, 353(13): 2263-2283.
- [12] Baer K, Dücker N, Rosenbaum T, *et al.* A study towards efficient L-threonine aldolase-catalyzed enantio and diastereoselective aldol reactions of glycine with substituted benzaldehydes: biocatalyst production and process development[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2011, 22(9): 925-928.
- [13] Fesko K. Threonine aldolases: perspectives in engineering and screening the enzymes with enhanced substrate and stereo specificities[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(6): 2579-2590.
- [14] Čech J, Hessel V, Přibyl M. Aldolase catalyzed L-phenylserine synthesis in a slug-flow microfluidic system—Performance and diastereoselectivity studies[J]. *Chemical Engineering Science*, 2017, 169: 97-105.
- [15] Fesko K, Strohmeier G A, Breinbauer R. Expanding the threonine aldolase toolbox for the asymmetric synthesis of tertiary α -amino acids[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(22): 9651-9661.
- [16] Baik S H, Yoshioka H. Enhanced synthesis of L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine by high-density whole-cell biocatalyst of recombinant L-threonine aldolase from *Streptomyces avellimitilis*[J]. *Biotechnology Letters*, 2009, 31(3): 443-448.
- [17] Roberto Contestabile A P, Stefano P, Martino L S, *et al.* L-Threonine aldolase, serine hydroxymethyltransferase and fungal alanine racemase[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 268(24): 6508-6525.
- [18] Remesh S G, Ghatge M S, Ahmed M H, *et al.* Molecular basis of *E. coli* L-threonine aldolase catalytic inactivation at low pH[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015, 1854(4): 278-283.
- [19] Gwon H J, Baik S H. Diastereoselective synthesis of: L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine by low-specific L-threonine aldolase mutants[J]. *Biotechnology Letters*, 2010, 32(1): 143-149.
- [20] Chen Ruifeng (陈瑞锋), Chen Lu (陈璐), Chen Tingdeng (陈廷登). Study on isolation and purification of L-Phenylalanin and L-Tyrosine by active carbon [J]. *Journal of Zhejiang University of Technology (浙江工业大学学报)*, 2006, 34(4): 373-376.
- [21] Sambrook J, Rusell D W. *Molecular cloning: a laboratory manual*[M]. Beijing: Science Press, 2002: 2-105.
- [22] Quan Hongna (全红娜), Jin Songzi (金松子), Lei Yongsheng (雷勇胜), *et al.* Research progress on selection and optimization of mobile phase in RP-HPLC[J]. *Drug&Clinic (现代医药与临床)*, 2014, 29(10): 1190-1194.
- [23] Gao Yanli (高艳利), Yang Siwen (杨思文), Fan Kaiqi (樊凯奇), *et al.* Development of SDS-PAGE in protein[J]. *Liao Ning Chemical Industry (辽宁化工)*, 2007, 36(7): 460-463.
- [24] Wu Siping (吴四平), Lu Yang (陆阳), Zhang Hongjuan (张宏娟), *et al.* Enzymatic properties of recombinant aspartate- β -decarboxylase[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2015, 32(6): 637-641.