

基于靶向代谢产物分析解析大球盖菇发酵特征性风味物质及其呈味特性

李文^{1,2*}, 冯杰¹, 马海乐², 陈万超¹, 吴迪¹, 张忠¹, 杨焱^{1*}

(1. 上海市农业科学院食用菌研究所, 上海 201403; 2. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013)

摘要: **目的** 对大球盖菇(*Stropharia rugoso-annulata*)液态发酵产菌菇源风味代谢产物可行性及其特征性风味代谢物进行探究。**方法** 采用高效液相色谱技术, 结合仿生学电子舌和电子鼻分析技术, 对大球盖菇发酵菌丝体和胞外液中非挥发性和挥发性代谢产物进行靶向分析, 明确大球盖菇发酵产风味代谢物的能力及其代谢产物分布情况; 利用偏最小二乘回归分析法, 解析代谢产物呈味特性对发酵菌丝体风味形成的贡献度。**结果** 大球盖菇发酵产生的特征性风味物质主要包括葡萄糖、精氨酸、亮氨酸、类黄酮、乙酸、柠檬酸和肽; 发酵菌丝体水提液主要呈现甜味、苦味、酸味、浓厚味和满口感; 挥发性醇类化合物是影响发酵液呈香特性的主要挥发性代谢产物。**结论** 发酵菌丝体在合成肽上具有优势, 在菌物肉开发及应用方面具有较好的前景, 本研究可为大球盖菇特征性风味代谢物液态发酵富集工艺和菌丝体食品中间体原料开发应用提供参考。

关键词: 大球盖菇; 发酵; 风味代谢产物; 呈味特性; 靶向代谢

Analysis of the characteristic flavor components and flavor characteristics of the fermentation of *Stropharia rugoso-annulata* based on targeted metabolite assay

LI Wen^{1,2*}, FENG Jie¹, MA Hai-Le², CHEN Wan-Chao¹, WU Di¹, ZHANG Zhong¹, YANG Yan^{1*}

(1. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 2. School of Food & Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the feasibility of liquid fermentation of *Stropharia rugoso-annulata* to produce mushroom-derived flavor metabolites and the characteristic flavor metabolites. **Methods** The non-volatile and volatile metabolites in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* were analyzed by high performance liquid chromatography combined with electronic tongue and electronic nose to determine the ability and distribution of flavor metabolites produced by fermentation of *Stropharia rugoso-annulata*;

基金项目: 上海市科技兴农项目(2020-02-08-00-12-F01484)

Fund: Supported by the Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program (2020-02-08-00-12-F01484)

*通信作者: 李文, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为食用菌风味形成机理解析及风味强化高效制备技术开发等。E-mail: liwen@saas.sh.cn

杨焱, 博士, 研究员, 主要研究方向为食用菌优良菌种选育、功能性成分分离鉴定及高效制备技术开发、活性物质和风味物质产生关键因素及作用机制解析等。E-mail: yangyan@saas.sh.cn

*Corresponding author: LI Wen, Master, Associate Professor, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, 1000 Jinqi Road, Fengxian District, Shanghai 201403, China. E-mail: liwen3848@126.com

YANG Yan, Ph.D, Professor, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, 1000 Jinqi Road, Fengxian District, Shanghai 201403, China. E-mail: yangyan@saas.sh.cn

the contribution of flavor characteristics of metabolites to flavor formation of fermented mycelium was revealed by partial least squares regression method. **Results** The characteristic flavor components produced by the fermentation of *Stropharia rugoso-annulata* mainly included glucose, arginine, leucine, flavonoids, acetic acid, citric acid and peptides. The fermented mycelium aqueous extracts mainly presented sweetness, bitterness, sourness, kokumi and richness taste. Volatile alcohol compounds were the main volatile metabolites that affect the aroma characteristics of fermentation broth. **Conclusion** Fermented mycelium has a high advantage in the synthesis of peptides, and has a good prospect in the development and application of mycological meat. The results can provide a reference for the enrichment process of characteristic flavor components in the liquid fermentation of *Stropharia rugoso-annulata* and the development of mycelium as an intermediate food ingredient.

KEY WORDS: *Stropharia rugoso-annulata*; fermentation; flavor metabolites; flavor characteristics; targeting metabolism

0 引言

大球盖菇(*Stropharia rugoso-annulata*),又名赤松茸,是富含蛋白及氨基酸等营养物质的食用真菌。据文献报道,大球盖菇干品中蛋白含量为20%~31%^[1-2]、总糖含量为38.3%、多糖含量为6.3%^[3]、水解氨基酸含量为31.01%~48.72%^[4-5]、游离氨基酸含量为3.72%~5.10%、核苷酸含量为0.82%~2.28%^[6]。大球盖菇中风味物质含量丰富,形成了其特有的滋味和香气。大球盖菇因其营养功能和愉悦风味感官特性,在营养健康产品和天然风味基料研究和开发上受到广泛关注。大球盖菇子实体栽培,从菌种制种到成熟出菇,一般需要120~180 d生长周期^[7]。采用液态发酵技术可缩短制种及培养时间,快速获得大球盖菇菌丝体。前期研究中,研究人员已就大球盖菇发酵工艺优化做了系统研究^[8-10],液态发酵获得的菌丝体在菌丝产量、活性物质产量和生物转化率上均具有较好的研究结果。

菌菇是获得天然风味成分的优质原料。菌菇子实体主要或特征性风味代谢产物主要包括可溶性糖/糖醇、氨基酸、有机酸、核苷酸等非挥发性代谢物和挥发性醛、酮、酸、酯类代谢物^[6,11-13]。基于成熟液态发酵技术开发或富集菌菇源天然风味成分也值得深入探究。因此,在前期研究基础上,本研究对经组织分离获得的生长性状较好的大球盖菇菌株进行液态发酵,通过对发酵菌丝体和胞外液中风味代谢物的分析和比较,明确大球盖菇发酵产生的特征性风味代谢物及其呈香呈味特性对风味形成的贡献度,探寻大球盖菇液态发酵产菌菇源风味代谢产物的可行性和应用前景,以期为大球盖菇液态发酵富集风味性特征成分和开发菌丝体食品中间体原料提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大球盖菇组织分离子实体随机采收于上海崇明和宝山山下基地。子实体经组织分离、土豆葡萄糖肉汤(potato dextrose broth, PDB)培养基平板培养后,挑选生长性状好

的2株菌株进行3次平板传代纯化后,对选用菌种进行序列分析及菌种信息登记[美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)菌种释放号为SRR14469700和SRR14470864]。

单糖、氨基酸、核苷酸、有机酸、多酚标准品(纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司);正构烷烃混合标样(C₇-C₃₀,纯度 $\geq 98\%$,上海安谱科学仪器有限公司);甲醇、乙腈(色谱级,瑞典Oceanpak公司);肽含量测定试剂盒、蛋白酶活性测定试剂盒、类黄酮含量试剂盒、生物碱含量试剂盒(苏州梦犀生物医药科技有限公司);马铃薯葡萄糖(potato dextrose broth, PDB)培养基(美国BD公司);其他试剂(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

RIGOL L3000 高效液相色谱仪、Compass C₁₈(2)反相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(普源精电科技股份有限公司);Amethyst C₁₈-H 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(苏州赛分科技股份有限公司);Kromasil C₁₈-BP 反相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(苏州科盛实验设备有限公司);固相微萃取(solid phase micro extraction, SPME)装置、75 μm CAR/PDMS(carbon/polydimethylsiloxane)萃取头(美国Supelco公司);7890B-5977B 气相色谱-质谱联用仪、DB-5MS 毛细色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)(美国Agilent公司);TS-5000Z Insent 电子舌味觉分析系统、德国AIRSENSE-PEN3 电子鼻系统(北京盈盛恒泰科技有限责任公司);SBA-40E 生物传感分析仪(济南延和生物科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 大球盖菇液态发酵过程监测及样品制备

以10%接种量,在30 L发酵罐(装液量:25 L优化培养基;培养温度26 °C;搅拌转速100 r/min;通气量25 L/min;pH 自然)中进行液态发酵。以菌丝体性状、生物量、胞外液pH和培养基中葡萄糖消耗情况为监测指标,确定大球盖菇液体发酵终止时间。发酵样品4000 r/min离心10 min,分别收集菌丝体和胞外液。菌丝体经蒸馏水充分冲洗后,于-70 °C冷冻干燥48 h,记录菌丝体干重,计算菌丝体生

物量, 冻干菌丝体于干燥器内保存, 作为进一步风味代谢产物分析原料样品; 胞外液收集于样品瓶中, 密封保存, 作为进一步风味代谢产物分析原料样品(收集的胞外液样品于 24 h 内完成风味代谢产物分析)。

发酵过程中葡萄糖消耗监测方法: 取胞外液 25 μL , 采用 SBA-40E 生物传感分析仪自带方法, 监测培养基中葡萄糖消耗情况。

1.3.2 大球盖菇液态发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物提取方法

样品处理方法: 称取约 1.0 g 冻干菌丝体, 加入 10 mL 纯水, 研磨成浆后转移至 EP 管中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 超声提取 1 h(超声功率密度 200 W/L、超声工作频率 20 kHz)后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置浸提 24 h。浸提样品 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.22 μm 纤维素膜, 过滤后上清液做进一步反应及分析。胞外液经 0.22 μm 纤维素膜过滤后, 取上清液做进一步反应及分析。

1.3.3 大球盖菇液态发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物分析方法

采用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 对发酵菌丝体及胞外液中的可溶性糖、氨基酸、核苷酸、有机酸和多酚类风味代谢产物进行分析。

(1) 可溶性糖衍生及分析方法

参照田鑫等^[4]的方法进行样品衍生。衍生样品 0.22 μm 纤维素膜过滤后进行 HPLC 检测。标准品衍生同样品。

HPLC 条件: RIGOL L3000 高效液相色谱仪; Compass C₁₈(2)反相色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1.0 mL/min; 进样体积 10 μL ; 紫外检测器波长 250 nm; 流动相为 0.1 mol/L 磷酸盐溶液(pH 6.5):乙腈=80:20 (V:V)。

(2) 氨基酸衍生及分析方法

参照文献[15]方法进行样品衍生。衍生样品 0.22 μm 纤维素膜过滤后进行 HPLC 检测。氨基酸标准品衍生同样品。

HPLC 条件: RIGOL L3000 高效液相色谱仪; Amethyst C₁₈-H 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1.0 mL/min, 进样体积 10 μL , 紫外检测器波长 254 nm。流动相 A, 乙腈-0.1 mol/L 醋酸钠溶液(1:13, V:V); 流动相 B, 80%乙腈水溶液。流动相梯度洗脱程序: 0~2 min 100% A, 2~15 min 90% A, 15~25 min 70% A, 25~33 min 55% A, 33~38 min 100% B, 38~45 min 100% A。

(3) 核苷酸分析方法

HPLC 条件: RIGOL L3000 高效液相色谱仪; Compass C₁₈(2)反相色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1.0 mL/min; 进样体积 10 μL ; 紫外检测器波长 245 nm; 流动相为 0.05 mol/L KH₂PO₄:甲醇(95:5, V:V)。

(4) 有机酸分析方法

HPLC 条件: RIGOL L3000 高效液相色谱仪; Kromasil C₁₈-BP 反相色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速 0.8 mL/min; 进样体积 10 μL ; 紫外检测器波长 214 nm; 流动相为磷酸二氢钾甲醇溶液(1.56 g 磷酸二氢钾溶于 800 mL 水中, 加入 8 mL 甲醇, 磷酸调节溶液 pH 为 2.8)。

(5) 多酚类物质分析方法

HPLC 条件: RIGOL L3000 高效液相色谱仪; Compass C₁₈(2)反相色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速 0.8 mL/min; 进样体积 10 μL ; 紫外检测器波长 280 nm; 流动相为甲醇: 0.1%磷酸水溶液(15:85, V:V)。

(6) 风味代谢产物试剂盒提取及分析方法

发酵菌丝体及胞外液中的蛋白酶活性、类黄酮、肽、生物碱含量均采用试剂盒法进行提取和分析, 提取和分析样品方法参照试剂盒说明书。蛋白酶活性单位定义: 1 g 菌丝体样本或 1 mL 胞外液样本, 在一定温度和 pH 条件下, 1 min 水解酪蛋白产生 1 nmol 酪氨酸为 1 个酶活单位, 以 U/g (U/mL)表示。

(7) 胞外液中挥发性代谢产物提取及风味差异分析方法

参照文献[12]的方法, 采用固相微萃取结合气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对胞外液中挥发性代谢产物进行提取和分析^[12]。

胞外液电子鼻风味差异分析: 将发酵液样品转移至电子鼻检测专用样品瓶中。电子鼻系统参数设置, 进气速率 300 mL/min; 采样频率 1 Hz; 采样时间 240 s; 采样时间间隔 1 s; 清洗时间 180 s, 每个样品重复检测 3 次。

菌丝体电子舌风味差异分析: 准确称取冻干样品 2.0 g, 加入 200 mL 纯水, 沸水浸提 2 h, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液待测。采用电子舌系统自带检测方法。移取 25 mL 上清液样品加入电子舌检测专用样品杯中, 每个样品重复检测 3 次。

(8) 大球盖菇发酵菌丝体蛋白含量分析方法

参考 NY/T 2017—2011《植物中氮、磷、钾的测定》, 采用微量凯氏定氮法测定菌丝体中蛋白含量。

1.4 数据处理

试验所得数据以 3 次测定结果的平均值 \pm 标准偏差表示。采用 SPSS 20.0 软件进行风味成分含量与电子舌风味评价价值最小二乘回归分析。

2 结果和分析

2.1 大球盖菇发酵过程监测结果

大球盖菇在发酵的 2~3 d 内可形成均匀菌球(直径约 2~3 mm); 发酵 7 d 内, 菌丝长势良好, 生物量呈增加趋势; 发酵至 8~10 d 后, 菌丝体开始出现自溶现象。发酵至第 10 d, 发酵液中葡萄糖降低至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下, pH 降至 2.5 以下。结合菌丝体性状、生物量、葡萄糖消耗及 pH 变化情况, 确定大球盖菇液态发酵最佳发酵天数为 7 d。因此, 对发酵第 7 d 收集到的大球盖菇菌丝体和胞外液样品进行靶向风味代谢产物分析。

2.2 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中代谢产物分析结果

2.2.1 可溶性糖分析结果

菌丝体中可溶性糖以葡萄糖为主, 葡萄糖约占可溶

性糖总量的 95%。同时,菌丝体中也合成了葡萄糖醛酸、半乳糖、鼠李糖和核糖等可溶性糖;两种菌丝体合成的葡萄糖醛酸含量相当;半乳糖、鼠李糖和核糖合成上略有差异。胞外液中仍以葡萄糖为主,因初始发酵液体培养基中仅有葡萄糖作为碳源存在,菌丝体生长消耗葡萄糖能力、菌丝体内合成葡萄糖能力及合成葡萄糖分泌到胞外能力的差异性,导致在发酵结束时,两株菌株胞外液葡萄糖含量差异倍数达到 3 倍。胞外液中也合成了少量的葡萄糖醛酸、岩藻糖等可溶性糖(表 1)。有文献报道岩藻糖可在系列酶的参与下,将培养基中的葡萄糖转化为岩藻糖^[16]。因本研究未在发酵菌丝体中检出岩藻糖,由此推测菌丝体分泌的胞外酶参与了培养基中葡萄糖转化,合成了少量岩藻糖。

2.2.2 氨基酸分析结果

两种菌丝体中氨基酸总量达到 24841.80 和 22654.84 μg/g 干重。菌丝体和胞外液中,均是苦味氨基酸和甜味氨基酸含量占比较高。苦味氨基酸约占菌丝体中氨基酸总量的 48.30%和 48.62%,甜味氨基酸约占菌丝体中氨基酸总量的 29.13%和 28.80%;胞外液中苦味氨基酸占比为 49.80%和 44.85%,甜味氨基酸占比为 32.25%和 37.31%(表 2)。与已报道文献结果相比,大球盖菇子实体中甜味氨基酸占比最高,其次是苦味氨基酸^[6]。由此说明,大球盖菇中氨基酸主要以苦味和甜味氨基酸为主,在不同生长状态,主要氨基酸占比发生改变。氨基酸在发酵菌丝体形成过程中合成、积累、代谢及转化途径,仍需进一步解析。

表 1 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物可溶性糖含量(n=3)
Table 1 Content of soluble sugars of flavor metabolites in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* (n=3)

| 检测指标 | 含量/(μg/g 干重) | | 含量/(μg/mL) | | 标准曲线 |
|-------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|--|
| | SRR14469700-菌丝体 | SRR14470864-菌丝体 | SRR14469700-胞外液 | SRR14470864-胞外液 | |
| 葡萄糖醛酸 | 1732.99±67.93 | 1729.51±51.05 | 11.95±0.21 | 11.06±0.08 | Y=1.6705X-12.472, r ² =0.9996 |
| 核糖 | 541.25±34.18 | 649.73±6.65 | 5.57±0.22 | 4.48±0.11 | Y=2.8464X+5.0911, r ² =0.9996 |
| 鼠李糖 | 956.98±84.76 | 609.23±38.21 | 6.33±0.67 | 6.66±0.01 | Y=2.3363X-6.5369, r ² =0.9996 |
| 葡萄糖 | 79159.13±294.04 | 82533.54±3095.47 | 1019.54±4.96 | 338.87±1.05 | Y=6.5592X-209.21, r ² =0.9991 |
| 半乳糖 | 760.66±3.40 | 929.87±3.59 | 5.38±0.16 | 5.48±0.15 | Y=2.0623X-7.8098, r ² =0.9998 |
| 阿拉伯糖 | NF | NF | 0.68±0.15 | 0.32±0.10 | Y=2.2741X+7.4281, r ² =0.9999 |
| 岩藻糖 | NF | NF | 14.85±0.83 | 13.90±0.14 | Y=1.6689X-19.46, r ² =0.9998 |

注: NF 为未检出,下同。

表 2 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物氨基酸含量(n=3)
Table 2 Content of amino acids of flavor metabolites in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* (n=3)

| 检测指标 | 含量/(μg/g 干重) | | 含量/(μg/mL) | |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | SRR14469700-菌丝体 | SRR14470864-菌丝体 | SRR14469700-胞外液 | SRR14470864-胞外液 |
| 天冬氨酸 ¹ | 621.85±14.05 | 549.05±30.66 | 0.79±0.07 | 1.06±0.02 |
| 谷氨酸 ¹ | 961.57±6.77 | 972.45±2.11 | 1.30±0.08 | 1.13±0.06 |
| 天冬酰胺 ¹ | 450.05±3.24 | 367.81±13.00 | 0.17±0.01 | 0.09±0.01 |
| 谷氨酰胺 ¹ | 1008.68±5.30 | 752.73±29.61 | 0.59±0.01 | 0.23±0.01 |
| 苏氨酸 ² | 1010.10±9.65 | 879.14±17.25 | 0.22±0.01 | 0.13±0.01 |
| 丝氨酸 ² | 2192.48±27.55 | 1827.41±73.56 | 5.79±0.16 | 6.27±0.30 |
| 甘氨酸 ² | 594.98±4.73 | 553.29±15.63 | 0.43±0.02 | 0.27±0.01 |
| 丙氨酸 ² | 3140.68±16.24 | 2986.90±100.08 | 1.71±0.03 | 1.02±0.01 |
| 脯氨酸 ² | 298.62±4.95 | 278.78±15.69 | 0.10±0.01 | 0.09±0.01 |
| 组氨酸 ³ | 1086.85±5.51 | 1026.11±28.35 | 0.96±0.02 | 0.59±0.02 |
| 精氨酸 ³ | 5052.72±43.77 | 5225.51±184.33 | 4.31±0.02 | 1.93±0.02 |
| 缬氨酸 ³ | 945.92±9.07 | 701.41±21.34 | 0.37±0.01 | 0.25±0.01 |
| 蛋氨酸 ³ | 136.16±3.66 | 141.32±5.27 | 0.02±0.01 | 0.19±0.03 |
| 异亮氨酸 ³ | 1078.43±20.18 | 862.40±21.43 | 5.81±0.05 | 5.88±0.05 |
| 亮氨酸 ³ | 2395.88±25.02 | 1947.37±66.18 | 0.85±0.04 | 0.34±0.03 |
| 苯丙氨酸 ³ | 1286.80±19.74 | 1099.11±35.09 | 0.42±0.01 | 0.17±0.01 |
| 色氨酸 ³ | 16.67±0.91 | 12.62±0.88 | NF | NF |
| 酪氨酸 | 662.41±4.45 | 597.92±21.27 | 0.34±0.11 | 0.14±0.01 |
| 半胱氨酸 | 132.15±6.54 | 119.82±0.39 | 0.68±0.05 | 0.78±0.04 |
| 赖氨酸 | 1768.80±14.79 | 1753.69±39.45 | 0.72±0.01 | 0.29±0.01 |

注: ¹表示鲜味氨基酸; ²表示甜味氨基酸; ³表示苦味氨基酸。

2.2.3 核苷酸分析结果

两株大球盖菇菌株发酵菌丝体在合成核苷酸含量上相差不大,菌丝体中主要核苷酸为5'-UMP、5'-CMP和5'-GMP;胞外液中主要核苷酸为5'-UMP,也合成了微量的5'-AMP(表3)。相关研究发现,菌丝体中主要以糖代谢、氨基酸代谢和核苷酸代谢为主,过程涉及到营养成分合成和细胞生长^[17-18]。发酵过程中菌丝生长涉及的能量代谢,是核苷酸合成的主要原因,因此,同一细胞中,各种核苷酸含量虽有差异,但核苷酸总量变化不大。

2.2.4 有机酸分析结果

菌丝体中主要有有机酸为乙酸,其次是琥珀酸和柠檬酸。菌丝体合成柠檬酸含量差异较大,两株菌株发酵菌丝体中含量相差达到4倍。胞外液中主要有有机酸为琥珀酸、柠檬酸、苹果酸及乙酸。两株菌株发酵胞外液中柠檬酸和苹果酸含量差异倍数较高(分别为2.33倍和2.57倍)。而苹果酸并未在菌丝体样品中检出(表4)。虽然菌种之间合成有机酸存在差异,但大部分有机酸仍可在发酵菌丝体或胞外液中检出。有机酸可参与发酵过程中机体三羧酸循环,合成代谢中间产物,也可对外源重金属进行螯合,在提升机体耐受性方面发挥重要作用^[19-20]。

2.2.5 多酚分析结果

两株菌株发酵菌丝体中多酚类化合物含量为62.94和140.72 μg/g干重。没食子酸、绿原酸和咖啡酸在两种

菌丝体中含量相当。菌丝体中多酚合成含量差异主要是由于对羟基苯甲酸和对香豆酸含量差异引起的。鉴定得到的对羟基苯甲酸含量远高于其他检出的多酚类物质,约占检出多酚类物质的40%,且该代谢产物仅在其中一株大球盖菇菌株发酵菌丝体中被检出。两株菌株发酵菌丝中的对香豆酸含量差异倍数达到3.27倍。阿魏酸也是两株大球盖菇发酵菌丝体中的差异代谢物,但仅在其中一株大球盖菇菌株发酵菌丝体及其胞外液中合成了少量阿魏酸。综上所述,大球盖菇菌丝体在多酚类物质合成和代谢方面有较大差异。胞外液中检出微量没食子酸、对香豆酸和阿魏酸,存在差异的多酚类物质主要是对香豆酸和阿魏酸(表5)。多酚具有多种生理活性,是生物体生长过程中产生的重要次生代谢产物,在茶和中药中普遍存在^[21]。多酚会产生涩味不良口感,可依据其检出量及呈味特性,进行结构改性、包埋来抑制或减缓感官对其涩味的感知。也有研究报道,菌丝体合成多酚、萜类和黄酮,可能是受到发酵过程中光照的影响,且光照对菌丝体的影响较发酵液更为明显^[22]。因此,发酵过程对光源进行控制,降低非生物因素引起的菌丝体多酚合成差异性,针对亲缘关系较远的同物种菌株发酵菌丝体进行比对(如野生菌种和人工栽培菌种),通过差异代谢物变化和通路分析,可以预测或明确多酚合成代谢途径。

表3 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物核苷酸含量(n=3)

Table 3 Content of 5'-nucleotides of flavor metabolites in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* (n=3)

| 检测指标 | 含量/(μg/g 干重) | | 含量/(μg/mL) | | 标准曲线 |
|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|
| | SRR14469700-菌丝体 | SRR14470864-菌丝体 | SRR14469700-胞外液 | SRR14470864-胞外液 | |
| 5'-CMP | 21.71±1.69 | 18.54±2.72 | 0.11±0.01 | 0.11±0.01 | $Y=9.565X-2.4564; r^2=0.9999$ |
| 5'-UMP | 26.39±1.99 | 22.69±0.38 | 13.22±1.63 | 15.69±0.85 | $Y=13.596X-1.2445; r^2=0.9999$ |
| 5'-GMP | 13.07±0.40 | 15.57±0.95 | 0.21±0.01 | 0.21±0.01 | $Y=16.836X-1.4286; r^2=0.9999$ |
| 5'-IMP | 5.77±0.66 | 3.19±0.04 | 1.03±0.10 | 1.20±0.05 | $Y=10.477X+0.2082; r^2=0.9997$ |
| 5'-AMP | NF | NF | 0.25±0.01 | 0.28±0.02 | $Y=20.414X-3.3855; r^2=0.9999$ |

表4 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物有机酸含量(n=3)

Table 4 Content of organic acids of flavor metabolites in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* (n=3)

| 检测指标 | 含量/(μg/g 干重) | | 含量/(μg/mL) | | 标准曲线 |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| | SRR14469700-菌丝体 | SRR14470864-菌丝体 | SRR14469700-胞外液 | SRR14470864-胞外液 | |
| 草酸 | NF | NF | NF | 1.19±0.05 | $Y=0.937X-0.137; r^2=0.9999$ |
| 酒石酸 | NF | NF | NF | 4.90±0.23 | $Y=0.589X-0.474; r^2=0.9999$ |
| 苹果酸 | NF | NF | 12.70±0.40 | 32.69±0.75 | $Y=0.655X-0.295; r^2=0.9999$ |
| 乙酸 | 4221.78±6.64 | 3257.84±7.02 | 14.43±0.52 | 495.13±6.37 | $Y=0.937X-0.137; r^2=0.9999$ |
| 柠檬酸 | 543.93±13.69 | 2141.08±49.94 | 14.64±1.67 | 34.13±1.87 | $Y=0.589X-0.474; r^2=0.9999$ |
| 琥珀酸 | 770.57±62.35 | 673.07±14.76 | 27.19±0.70 | 36.85±1.19 | $Y=0.655X-0.295; r^2=0.9999$ |

表5 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中风味代谢产物多酚含量(n=3)
Table 5 Content of polyphenols of flavor metabolites in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* (n=3)

| 检测指标 | 含量/($\mu\text{g/g}$ 干重) | | 含量/($\mu\text{g/mL}$) | | 标准曲线 |
|--------|--------------------------|------------------|-------------------------|-----------------|------------------------------------|
| | SRR14469700-菌丝体 | SRR14470864-菌丝体 | SRR14469700-胞外液 | SRR14470864-胞外液 | |
| 没食子酸 | 8.08 \pm 0.38 | 10.60 \pm 0.49 | 0.16 \pm 0.01 | 0.15 \pm 0.01 | $Y=14.2344X-0.4848$; $r^2=0.9999$ |
| 对羟基苯甲酸 | NF | 56.63 \pm 3.25 | NF | NF | $Y=6.9743X-0.3209$; $r^2=0.9999$ |
| 绿原酸 | 19.47 \pm 0.16 | 21.88 \pm 0.59 | NF | NF | $Y=8.6644X-1.0881$; $r^2=0.9997$ |
| 咖啡酸 | 12.91 \pm 0.38 | 15.16 \pm 0.50 | NF | NF | $Y=13.2214X-0.7297$; $r^2=0.9999$ |
| 对香豆酸 | 11.13 \pm 0.40 | 36.45 \pm 3.34 | 0.11 \pm 0.01 | NF | $Y=27.0769X-2.4642$; $r^2=0.9999$ |
| 阿魏酸 | 11.35 \pm 0.16 | NF | 0.10 \pm 0.01 | NF | $Y=14.8417X-0.8819$; $r^2=0.9999$ |

2.2.6 生物碱和类黄酮分析结果

两株菌株发酵菌丝体和发酵液中均鉴定得到了生物碱和类黄酮代谢产物。两株菌株在两类物质合成上具有一定的差异性,两类物质在菌丝体内分布和富集程度略有不同(表6)。相较而言,类黄酮类代谢物含量更为丰富。生物碱和类黄酮均呈现苦味特性,在其他发酵菌丝体及胞外液中亦有检出^[23-24]。基于两类物质的高富集量,两类物质在对菌丝体呈味贡献程度、药理活性等方面,都值得进一步研究和解析。

2.2.7 蛋白和肽含量分析结果

两株菌株发酵菌丝体中蛋白含量约为43和57 mg/g干重。菌丝体中肽含量约为30和35 mg/g干重,分别占菌丝体中蛋白含量的70.23%和60.80%。两株菌株发酵液中肽含量,相较于其他代谢产物,也处于较高水平(表6)。总体而言,两株菌株之间产肽量相差不大,肽含量远高于其他代谢物含量,肽是大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中的主

要代谢产物。肽具有较高的营养价值和生物活性,相关研究发现,发酵食用菌菌丝体和发酵液中富含肽成分^[25-26],分离鉴定得到的肽组分也有较好的药理活性^[27]。肽在食用菌子实体风味上主要发挥呈鲜味和浓厚味等呈味特性^[28-31],因此,发酵可以作为合成肽的重要参考途径,大球盖菇发酵菌丝体中肽所具有的呈味特性和药理活性值得进一步挖掘。

2.2.8 蛋白酶活性分析结果

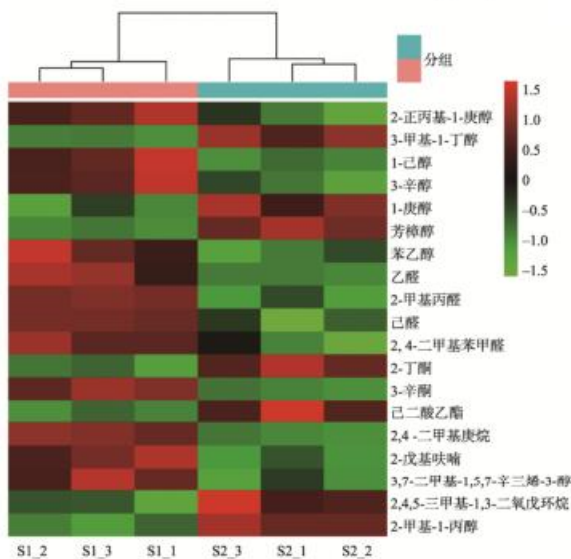
基于菌丝体中蛋白和肽含量较高,进一步对菌丝体中可能参与肽合成的蛋白酶活性进行分析。研究发现,两株菌株间酸性蛋白酶和碱性蛋白酶活性相差不大,但两株菌株中中性蛋白酶活性差异较为明显,且中性蛋白酶与其他两种蛋白酶在两株菌株发酵菌丝体中酶活水平分布呈相反情况(表6)。中性蛋白酶活性与两株菌株发酵菌丝体中肽含量呈正相关,推测中性蛋白酶在肽合成上发挥了主要作用。

表6 大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中生物碱等风味代谢产物含量及蛋白酶活性分析结果(n=3)
Table 6 Alkaloid and other flavor metabolites content and activities of proteases in the fermentation mycelium and extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata* (n=3)

| 检测指标 | 含量/($\mu\text{g/g}$ 干重) | | 含量/($\mu\text{g/mL}$) | |
|-------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|
| | SRR14469700-菌丝体 | SRR14470864-菌丝体 | SRR14469700-胞外液 | SRR14470864-胞外液 |
| 其他指标 | | | | |
| 生物碱 | 160.31 \pm 8.55 | 202.09 \pm 4.92 | 4.88 \pm 0.11 | 1.57 \pm 0.15 |
| 类黄酮 | 4127.99 \pm 41.30 | 3492.53 \pm 38.01 | 22.28 \pm 0.11 | 18.25 \pm 0.06 |
| 蛋白 | 42745.48 \pm 123.40 | 57089.68 \pm 495.13 | NF | NF |
| 肽 | 30024.74 \pm 681.28 | 34707.72 \pm 392.96 | 1146.20 \pm 13.05 | 1017.36 \pm 11.36 |
| 含水量/% | 90.27 \pm 2.71% | 90.68 \pm 2.45% | NF | NF |
| 蛋白酶活性/(U/g) | | | | |
| 碱性蛋白酶 | 33.23 \pm 1.00 | 23.76 \pm 1.49 | NF | NF |
| 中性蛋白酶 | 67.24 \pm 5.11 | 120.85 \pm 2.42 | NF | NF |
| 酸性蛋白酶 | 17.16 \pm 1.13 | 11.08 \pm 0.89 | NF | NF |

2.2.9 胞外液中挥发性风味代谢物分析结果

由GC-MS分析结果可知,在胞外液中共鉴定得到66种挥发性风味代谢物,主要风味代谢物为醇类化合物,其次为烷烃类化合物。两株菌株胞外液中共有挥发性风味代谢物为48种,占总挥发性成分的86%~87%。对含量占比前50%的共有成分进行热图分析,结果如图1所示。共有挥发性风味代谢物虽在两株大球盖菇菌株发酵液中分布占比不同,但3-甲基-1-丁醇(30.39~39.10 $\mu\text{g/L}$)、2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环烷(10.66~10.92 $\mu\text{g/L}$)、1-己醇(6.01~6.37 $\mu\text{g/L}$)和2-甲基-1-丙醇(5.28~5.49 $\mu\text{g/L}$)是两种发酵液中主要共有挥发性代谢产物。两株菌株发酵液电子鼻整体风味评价相差不大,电子鼻风味差异分析结果与GC-MS分析结果具有一致性(图2)。



注: S1_1、S1_2 和 S1_3 为 SRR14469700 菌株发酵液平行样本; S2_1、S2_2 和 S2_3 为 SRR14470864 菌株发酵液平行样本。

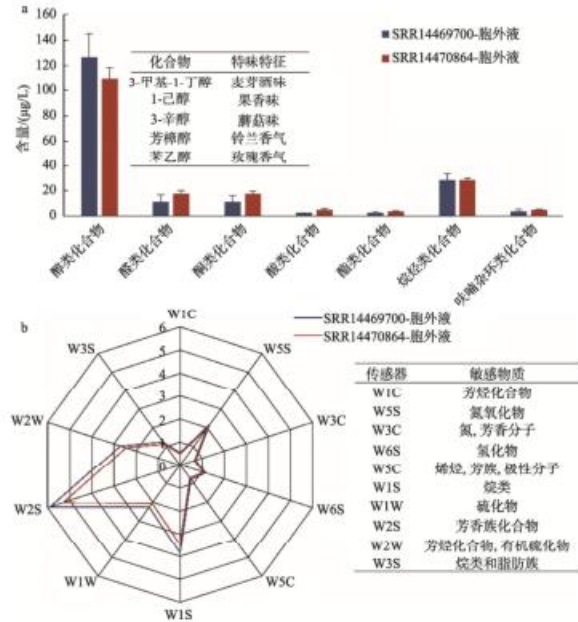
图1 大球盖菇发酵胞外液中共有风味代谢物热图分析

Fig.1 Heatmap of common flavor metabolites in the fermentation extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata*

2.2.10 菌丝体中非挥发性代谢物呈味特性分析

由电子舌非挥发性代谢物风味差异分析结果可知,两株菌株发酵菌丝体水提液呈味特性上差异不大,主要呈现甜味、苦味、酸味、浓厚味、满口感(图3)。菌丝体经过2 h沸水浸提后,可溶性糖、氨基酸和有机酸等小分子呈味代谢产物充分释放到水溶液中,电子舌传感器对溶液中呈味小分子的响应比较明显。依据鉴定得到的风味代谢物呈味特性,分别与相应的电子舌评价价值进行偏最小二乘回归分析,来确定大球盖菇发酵菌丝体中的特征性呈味代谢物。由分析结果可知,葡萄糖、精氨酸、亮氨酸、类黄酮、乙酸、柠檬酸和肽(预测变量重要性, variable importance in the projection, VIP>1),是大球盖菇菌丝体中的特征性呈味代谢物。蛋白 VIP>1,但蛋白多数是作为肽或氨基酸合成前体存在,蛋白能否发挥呈味特性还有待进一步解析;苯丙氨酸 VIP<1,但基于呈味物质丰度与电子舌呈味值进行贡

献程度分析(筛选规则为对电子舌呈味贡献居于前10%)(图4),苯丙氨酸苦味贡献度也较高,由此可知,苯丙氨酸在大球盖菇菌丝体特征性呈味特性上也发挥了重要作用。



注: a 为大球盖菇发酵液中挥发性风味代谢产物; b 为大球盖菇发酵液电子鼻风味评价。

图2 大球盖菇发酵胞外液风味代谢物分析图

Fig.2 Analysis charts of flavor metabolites in the fermentation extracellular fluid of *Stropharia rugoso-annulata*

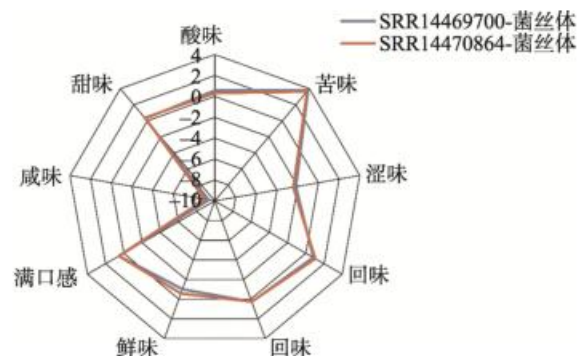


图3 大球盖菇发酵菌丝体风味代谢物电子舌分析图

Fig.3 Electron tongue analysis chart of flavor metabolites in the fermentation mycelium of *Stropharia rugoso-annulata*

3 讨论与结论

本研究通过对大球盖菇发酵菌丝体及胞外液中代谢产物靶向分析,明确了大球盖菇发酵产生的特征性风味代谢产物为葡萄糖、精氨酸、亮氨酸、类黄酮、乙酸、柠檬酸和肽。菌丝体在合成肽上具有优势。电子舌评价结果显示经过沸水浸提的菌丝体样品呈现了苦味和酸味特性,这是否会成为影响菌丝体作为食品中间体原料的感官特性,

还有待进一步解析。通常在草腐菌子实体(如草菇、双孢蘑菇)中, 会存在苦味呈味特性, 因此日常对草腐菌的食用加工, 通常是在烹炒煎炸前进行子实体沸水烫漂, 以降低或去除其不良风味。

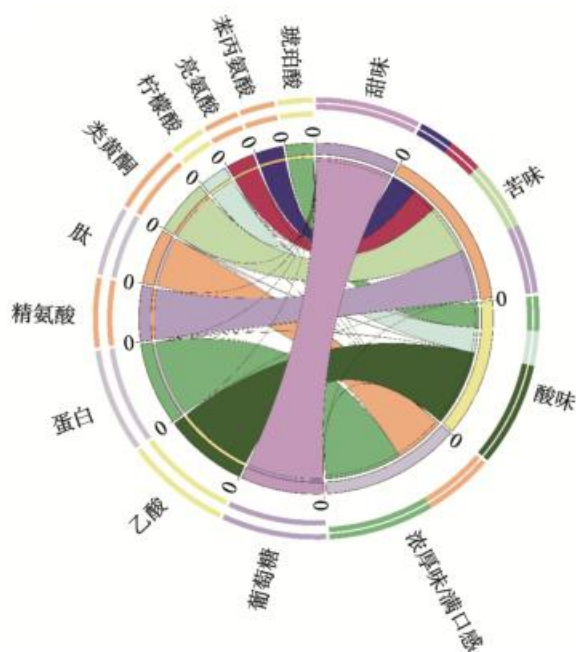


图 4 大球盖菇菌丝体风味代谢物呈味贡献分析图

Fig.4 Analysis charts of the contribution of flavor metabolites in the fermentation mycelium of *Stropharia rugoso-annulata*

目前, 已有国外食品公司(Meati, Atlast)将菌丝体应用于肉类替代品中, 因此, 菌丝体在菌肉肉开发应用方面仍具有较大的研究意义及前景。虽然发酵液中风味代谢物含量较低, 但其感官综合评价(感官员嗅闻)呈现 outcomes 果汁清香、糖果香, 类似于青苹果、柑橘混合味道、或硬糖糖果混合的愉悦风味, 其在风味领域的研究应用有待进一步开发。研究确定的大球盖菇发酵过程中的特征性代谢物, 可作为后续对食用菌发酵过程中标志性生物代谢物研究优先考虑的研究对象, 对标志性生物代谢物合成路径的解析也将有利于明确其呈味特性和药理活性, 进而在食品和药品新资源应用上实现特征性成分的有效利用。

参考文献

[1] 柳丽萍, 钱文春, 占鹏飞, 等. 桑园露地大球盖菇栽培技术试验初报 [J]. 蚕桑通报, 2016, 47(4): 37-39.
LIU LP, QIAN WC, ZHAN PF, et al. Preliminary report on *Stropharia rugoso-annulata* cultivation in mulberry field [J]. Bull Sericul. 2016, 47(4): 37-39.

[2] 崔晓瑞, 王丽, 石菲菲, 等. 超声波辅助碱法提取大球盖菇蛋白质工艺的优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(20): 7536-7543.
CUI XR, WANG L, SHI FF, et al. Optimization of extraction process of *Stropharia rugoso-annulata* protein by ultrasonic-assisted alkali [J]. J

Food Saf Qual, 2020, 11(20): 7536-7543.

[3] 王晓炜. 大球盖菇营养成分分析、多糖提取分离及抗氧化作用研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2007.
WANG XW. Nutrition components analyse, extraction and antioxidant properties of polysaccharide of *Stropharia rugoso-annulata* [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2007.

[4] 刘苗苗, 张兴龙, 徐丽丽, 等. 林下仿野生栽培大球盖菇的氨基酸含量分析与食品安全性评估[J]. 中国食用菌, 2021, 40(8): 67-70.
LIU MM, ZHANG XL, XU LL, et al. Analysis of amino acids content and food safety assessment of *Stropharia rugoso-annulata* cultivated in the imitated wild environment under forest [J]. Edible Fungi China, 2021, 40(8): 67-70.

[5] 崔晓瑞, 徐毓谦, 王丽, 等. 大球盖菇两种提取蛋白氨基酸营养评价 [J]. 农产品加工, 2021, (1): 46-49.
CUI XR, XU YQ, WANG L, et al. The amino acids nutrition evaluation of protein of extracted from *Stropharia rugoso-annulata* by both methods [J]. Farm Prod Process, 2021, (1): 46-49.

[6] 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 Sci Technol, 2020, 127(3): 109428.

[7] 黄美仙, 岑燕霞, 孙朋, 等. 大球盖菇研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2021, (12): 124-129.
HUANG MX, CEN YX, SUN P, et al. Research progress of *Stropharia rugoso-annulata* [J]. Heilongjiang Agric Sci, 2021, (12): 124-129.

[8] 曾健勇, 赵博, 毕文玉, 等. Na_2SeO_3 和 ZnSO_4 对大球盖菇富集液体培养的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2018, 40(2): 171-177.
ZENG JY, ZHAO B, BI WY, et al. Effects of Na_2SeO_3 and ZnSO_4 on liquid fermentation of *Stropharia rugoso-annulata* mycelia [J]. J Jilin Agric Univ, 2018, 40(2): 171-177.

[9] 曾健勇, 张国财, 赵博, 等. 磁化水培养对大球盖菇菌丝生长特性的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 110-114.
ZENG JY, ZHANG GC, ZHAO B, et al. Effect of magnetized water liquid cultivation on growth characteristics of *Stropharia rugoso-annulata* mycelium [J]. Sci Technol Food Ind, 2017, 38(20): 110-114.

[10] 许峰. 大球盖菇富硒液体培养条件优化及抗氧化能力初步研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
XU F. Optimizing liquid cultural conditions of *Stropharia rugoso-annulata* accumulated selenium and studies on its antioxidative activities [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2006.

[11] CHEN WC, 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]. J Agric Food Chem, 2015, 63: 795-801.

[12] 李文, 陈万超, 杨森, 等. 香菇生长过程中挥发性风味成分组成及其风味评价[J]. 核农学报, 2018, 32(2): 325-334.
LI W, CHEN WC, YANG Y, et al. Volatile flavor components and flavor quality evaluation of *Lentinula edodes* harvest at different growth stages [J]. J Nucl Agric Sci, 2018, 32(2): 325-334.

[13] SUN LB, ZHANG ZY, XIN G, et al. Advances in umami taste and aroma of edible mushrooms [J]. Trends Food Sci Technol, 2020, 96: 176-187.

[14] 田鑫, 盛文静, 赵园园, 等. 刺参多糖中糖醛酸、氨基糖和中性单糖的同步测定方法研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 85-89, 94.
TIAN X, SHENG WJ, ZHAO YY, et al. Simultaneous determination of uronic acids, amino sugars and neutral sugars in polysaccharide from sea

- cucumber [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(15): 85–89, 94.
- [15] 伍清芳, 王敏, 陈鸿平, 等. 异硫氰酸苯酯柱前衍生高效液相色谱法测定薏苡仁中 17 种氨基酸的含量[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(13): 274–279.
WU QF, WANG M, CHEN HP, *et al.* Determination of 17 amino acids in *Coix lacryma-jobi* seed by HPLC with pre-column derivatization of PITC [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(13): 274–279.
- [16] 马巍, 邹祥. 发酵法生产 L-岩藻糖的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(16): 308–312.
MA W, ZOU X. Research progress on the production of L-fucose by fermentation [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(16): 308–312.
- [17] 任洁, 李天元, 李艳茹, 等. 基于转录组测序的两种猪苓菌丝体多糖代谢途径比较分析[J]. *延边大学学报*, 2020, 42(4): 8–16.
REN J, LI TY, LI YR, *et al.* Study on fructose and mannose metabolism pathway of two kind mycelia of *Polyporus umbellatus* based on transcriptome sequencing [J]. *Agric Sci J Yanbian*, 2020, 42(4): 8–16.
- [18] 聂文强, 吴天祥, 钟敏, 等. 真菌灰树花菌丝体转录组测序及分析[J]. *食品科学*, 2017, 38(20): 6–11.
NIE WQ, WU TX, ZHONG M, *et al.* Transcriptome sequencing and analysis of *Grifola frondosa* mycelia [J]. *Food Sci*, 2017, 38(20): 6–11.
- [19] 冯欢, 豆青, 王海华, 等. 2 种外生菌根真菌的铅耐受性及相关机制[J]. *西北林学院学报*, 2017, 32(2): 188–196.
FENG H, DOU Q, WANG HH, *et al.* Lead tolerance of two ectomycorrhizal fungi and related mechanisms [J]. *J Northwest Forest Univ*, 2017, 32(2): 188–196.
- [20] 何海燕, 张丹, 徐露, 等. 辐射胁迫下双孢蘑菇发酵液中低分子量有机酸分泌量与镉含量变化[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(1): 181–189.
HE HY, ZHANG D, XU L, *et al.* Change in secretion of low molecular weight organic acids and cadmium content in the fermentation broth of *Agaricus bisporus* [J]. *Chin J Appl Environ*, 2020, 26(1): 181–189.
- [21] 韩雪, 郑玉, 谢兴亮, 等. 中药多酚涩味的内涵认识与掩蔽方法研究进展[J/OL]. *中国中药杂志*, 2021, 1–11. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20211118.303
HAN X, ZHENG Y, XIE XL, *et al.* An overview of the connotation and mitigation of polyphenolic astringency in traditional Chinese medicine [J/OL]. *China J Chin Mate Med*, 2021, 1–11. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20211118.303
- [22] 齐梦娇. 基于转录组学技术分析光照对杨树桑黄菌丝体生理代谢特性的影响[D]. 牡丹江: 牡丹江师范学院, 2021.
QI MJ. The effect of light quality on the physiological metabolism of *Sanghuangporus vaninii* based on transcriptomics analysis [D]. Mudanjiang: Mudanjiang Normal University, 2021.
- [23] 汤晶晶, 缪婧, 崔月花. 不同培养模式下桑黄挥发性风味物质的检测和分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(14): 221–228.
TANG JJ, MIAO J, CUI YH. Analysis of volatile flavor compounds in *Phellinus linteus* at various cultivation modes [J]. *Food Ferment Ind*, 2019, 45(14): 221–228.
- [24] 刘利平, 孙宇, 帅纪晨, 等. 不同碳氮源对榆黄菌丝体生物量及其代谢产物的影响[J]. *中国食用菌*, 2021, 40(4): 78–86.
LIU LP, SUN Y, SHUAI JC, *et al.* Effect of different carbon and nitrogen sources on mycelium biomass and metabolites of *Pleurotus citrinopileatus* Sing [J]. *Edible Fungi China*, 2021, 40(4): 78–86.
- [25] 焦迎春, 郑晓冬. 姬松茸菌丝活性肽的分离及其组成的初步研究[J]. *食用菌学报*, 2004, (2): 12–15.
JIAO YC, ZHENG XD. A preliminary study on the separation of the active peptide from *Agaricus blazei* mycelia and the analysis of its composition [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2004, (2): 12–15.
- [26] 活泼, 章克昌. 香菇菌丝发酵液中小肽类物质的初步研究[J]. *浙江农业科学*, 2003, (3): 18–20.
HUO P, ZHANG KC. A preliminary study of peptides in fermentation broth of mushroom mycelium [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2003, (3): 18–20.
- [27] 伍强. 灵芝菌丝 ACE 抑制肽的鉴定、抑制机理及其降血压分子机制研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2020.
WU Q. Identification, inhibition mechanism and anti-hypertension molecular mechanism of the angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from *Ganoderma lingzhi* Mycelia [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2020.
- [28] XU XD, XU R, SONG Z, *et al.* Identification of umami-tasting peptides from *Vohvariella vohvacea* using ultra performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry and sensory-guided separation techniques [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1596: 96–103.
- [29] FENG T, WU Y, ZHANG ZW, *et al.* Purification, identification, and sensory evaluation of Kokumi peptides from *Agaricus bisporus* mushroom [J]. *Foods*, 2019, 8: 43.
- [30] KONG Y, ZHANG LL, ZHAO J, *et al.* Isolation and identification of the umami peptides from shiitake mushroom by consecutive chromatography and LC-Q-TOF-MS [J]. *Food Res Int*, 2019, 121: 463–470.
- [31] 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 Institute of Technology, 2020.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



李文, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为食用菌风味形成机理解析及风味强化高效制备技术开发等。

E-mail: liwen@saas.sh.cn



杨焱, 博士, 研究员, 主要研究方向为食用菌优良菌种选育、功能性成分分离鉴定及高效制备技术开发、活性物质和风味物质产生关键因素及作用机理解析等。

E-mail: yangyan@saas.sh.cn