

8 种食用菌蛋白及其酶解产物抗氧化活性研究

Study on antioxidant activities of proteins and enzymatic hydrolysates of eight edible fungi

王耀冉^{1,2} 赵 妍¹ 陈明杰¹

WANG Yao-ran^{1,2} ZHAO Yan¹ CHEN Ming-jie¹

魏晨颖^{1,2} 查 磊¹ 李治平¹

WEI Chen-ying^{1,2} ZHA Lei¹ LI Zhi-ping¹

(1. 上海市农业科学院食用菌研究所上海市农业遗传育种重点开放实验室, 上海 201403;

2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

(1. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding, Shanghai 201403, China; 2. College of Food Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

摘要:目的:综合评价 8 种食用菌(香菇、平菇、杏鲍菇、红菇、大球盖菇、草菇、白玉菇、蟹味菇)蛋白及其酶解产物的抗氧化活性。方法:采用碱性蛋白酶对 8 种食用菌蛋白进行酶解,以 DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性、 Fe^{2+} 螯合率和还原力为指标,对 8 种食用菌蛋白及其碱性蛋白酶酶解产物的抗氧化活性进行评价。结果:SDS-PAGE 电泳图谱显示,碱性蛋白酶可以有效地将蛋白质水解为小分子的肽和氨基酸;草菇蛋白酶解产物的抗氧化活性最高,DPPH 自由基清除能力为 $(5\,140.45 \pm 5.35) \mu\text{g Trolox/g}$, ABTS 自由基清除能力为 $(6.97 \pm 0.27) \text{mmol Trolox/L}$, Fe^{2+} 螯合率为 $(79.86 \pm 0.45)\%$, 还原力为 0.350 ± 0.001 , 且含有 8 种必需氨基酸 $(230.43 \pm 5.35) \text{mg/g}$ 和较高抗氧化活性的疏水性氨基酸 $(209.95 \pm 4.95) \text{mg/g}$ 、负电荷氨基酸 $(115.89 \pm 2.32) \text{mg/g}$ 和芳香族氨基酸 $(57.86 \pm 1.74) \text{mg/g}$ 。结论:草菇碱性蛋白酶解产物有较好的抗氧化活性且富含必需氨基酸、疏水性氨基酸、负电荷氨基酸及芳香族氨基酸。

关键词:食用菌;蛋白;酶解产物;抗氧化活性;氨基酸

Abstract: Objective: This study focused on the antioxidant activities of eight edible fungi proteins and their hydrolysates. Methods: Eight edible fungi proteins were hydrolyzed using alkaline protease.

ase. DPPH free radical scavenging activity, ABTS free radical scavenging activity, Fe^{2+} chelation rate and reducing power were used to evaluate antioxidant activity. Results: SDS-PAGE electrophoretic profile results indicated that alkaline protease was efficient in hydrolyzing proteins into low molecular weight peptides and amino acid; the antioxidant activity of the alkaline proteolysis product of *Volvariella volvacea* was the highest with DPPH free radical scavenging ability $(5\,140.45 \pm 5.35) \mu\text{g Trolox/g}$, ABTS free radical scavenging ability $(6.97 \pm 0.27) \text{mmol Trolox/L}$, and Fe^{2+} chelation rate $(79.86 \pm 0.45)\%$ and the reducing power (0.350 ± 0.001) . Moreover, the amino acid composition was also determined, containing eight essential amino acids $(230.43 \pm 5.35) \text{mg/g}$ and hydrophobic $(209.95 \pm 4.95) \text{mg/g}$, negatively charged $(115.89 \pm 2.32) \text{mg/g}$ and aromatic amino acids $(57.86 \pm 1.74) \text{mg/g}$ with high antioxidant activity. Conclusion: The alkaline proteolysis product of *Volvariella volvacea* has good antioxidant activity and was rich in essential, hydrophobic, negatively charged and aromatic amino acids.

Keywords: edible fungi; protein; hydrolysate; antioxidant activity; amino acids

自由基在人类正常生理反应中不断产生,且具有多种功能,如信号传导、抗感染^[1-2]等。然而,过量的自由基会引发氧化应激从而改变 DNA、蛋白质和脂质的结构并影响信号转导,因此,自由基在癌症、动脉粥样硬化、糖尿病和高血压等人类疾病的病因中起着至关重要的作用^[3]。抗氧化剂则可通过干预氧化应激介导的途径来减少生物分子的氧化损伤^[4]。

基金项目:上海市科技兴农重点攻关项目(编号:2020-02-08-00-12-F01479)

作者简介:王耀冉,女,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:赵妍(1981—),女,上海市农业科学院食用菌研究所研究员,博士。E-mail: jiandan289@126.com

收稿日期:2022-02-01 **改回日期:**2022-06-03

抗氧化肽属天然蛋白质,是通过体内的胃肠道消化、体外酶解或微生物发酵后释放出来的生物活性肽,在机体抗氧化中起着重要作用。如从金枪鱼骨架蛋白水解获得的抗氧化肽 APTBP 可显著抑制亚油酸乳液体系中脂质的过氧化^[5];由鸭蛋卵清蛋白制备的酶解产物同时具有抗氧化和免疫调节的活性^[6];油豆角蛋白酶解产物具有防治炎症和与氧化相关疾病的作用^[7]。

根据美国农业部提供的数据^[8]显示,食用菌中蛋白质含量丰富,高于大多数蔬菜。大量研究^[9-11]也证实食用菌富含多种抗氧化剂,包括多糖、酚类、蛋白质、多肽、麦角甾醇等。因此,食用菌为抗氧化肽的发现提供了理想的物质基础。据 Zhou 等^[12]、Erjavec 等^[13]综述,食用菌含有丰富的生物活性蛋白质尤其是酶已被广泛研究,然而关于食用菌源生物活性肽的研究报道很少。研究拟利用碱性蛋白酶对 8 种食用菌蛋白进行酶解,并综合评价食用菌蛋白及其酶解产物的抗氧化活性,分析酶解产物的氨基酸组成,为食用菌源抗氧化肽的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

香菇、平菇、杏鲍菇、红菇:上海市佳客多超市;

大球盖菇、草菇、白玉菇、蟹味菇:上海市农业科学院食用菌研究所;

碱性蛋白酶:200 U/mg,上海麦克林生化科技有限公司;

DPPH 自由基清除能力试剂盒:苏州格锐思生物科技有限公司;

ABTS 自由基清除率检测试剂盒、Bradford 蛋白浓度测定试剂盒:上海碧云天生物技术有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

恒温水浴锅:HWS-24 型,上海一恒科技有限公司;

多功能酶标仪:TECAN Infinite 200 Pro 型,瑞士 TECAN 公司;

离心机:R-134 a 型,德国 Eppendorf 公司;

超纯水机:Milli-Q Reference A+型,德国 MerckMil-lipore 公司;

氨基酸自动分析仪:Hitachi L-8900 型,日立有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品准备 将新鲜的食用菌子实体清洗干,切片后于 40℃烘箱中烘干至恒重,磨成粉过 60 目筛。粉末用密封袋包装后于-80℃保存。

1.2.2 蛋白质的提取 将食用菌粉与超纯水按照 $m_{\text{食用菌粉}}:V_{\text{超纯水}}=1:10$ 的比例混匀,静置 4 h。将浆液在 4℃、8 000 r/min 离心 20 min,取上清液,加入 80%硫

酸铵,4℃、8 000 r/min 离心 20 min 获得沉淀物。将沉淀物用双蒸水溶解,转移至透析袋(10 kDa)中,在 4℃下用蒸馏水透析 48 h 脱盐,将透析液冻干并储存于-80℃超低温冰箱内。

1.2.3 蛋白酶解产物的制备 将食用菌蛋白质溶解于双蒸水中,调节温度与 pH 至碱性蛋白酶最佳作用条件(45℃、pH 7.5),平衡 30 min。按照底物质量的 4%添加碱性蛋白酶,酶解 4 h 后在 90℃下加热 15 min 以终止反应,8 000 r/min 离心 15 min,取上清液冻干得到蛋白酶解产物。

1.2.4 蛋白浓度的测定 按 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒要求测定。取 5 μL 不同浓度的牛血清蛋白(BSA)加到 96 孔板中;取 5 μL 样品到 96 孔板中;各孔加入 250 μL G250 染色液;用酶标仪测定 595 nm 处吸光度值;绘制标准曲线并根据标准曲线计算样品蛋白质的浓度。

1.2.5 SDS-PAGE 凝胶电泳 将 16 μL 样品与 4 μL 上样缓冲液混合,沸水浴中加热 4 min,冷却至室温。取 10 μL 混合液上样至凝胶(质量分数 10%)上进行电泳,结束后用考马斯亮蓝染色 1 h,然后用脱色液脱色至蛋白条带清晰可见,并在凝胶成像仪上拍照分析。

1.2.6 氨基酸组成分析 称取食用菌蛋白酶解液冻干粉 20 mg,加入 0.5 mL 0.1 mol/L 的盐酸,10%三氯乙酸,在研磨仪 60 Hz 下研磨 3 min,超声提取 15 min,4℃、12 000 r/min 离心 30 min,取上清液,放入氨基酸自动分析仪进行检测。

1.2.7 抗氧化活性测定

(1) ABTS 自由基清除活性(ARSA):配制 ABTS 自由基工作液,在 96 孔板中,每孔加入 20 μL 过氧化物酶工作液,10 μL 样品或不同浓度 Trolox 标准溶液,170 μL ABTS 工作液。室温下孵育 6 min,测定 414 nm 处吸光度值,根据标准曲线计算 ARSA 值。

(2) DPPH 自由基清除活性(DRSA):在离心管中分别加入 150 μL 样品溶液,150 μL 乙醇 DPPH 溶液,混匀后在室温下避光静置 30 min,12 000 r/min 离心 5 min,测定 517 nm 处吸光度。利用标准品绘制标准曲线,根据样品测得的吸光度来计算 DRSA 值。

(3) Fe^{2+} 螯合率:参照马梦娇^[14]的方法。在 1 mL 样品溶液中加入 3.7 mL 双蒸水、0.1 mL 2 mmol/L 的 FeCl_2 溶液和 0.2 mL 5 mmol/L 菲咯嗪,25℃下反应 10 min,测定 562 nm 处吸光度 A_1 。蒸馏水代替样品测得吸光度为 A_0 ,蒸馏水代替菲咯嗪测得吸光度为 A_2 。按式(1)计算 Fe^{2+} 螯合率。

$$C = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C —— Fe^{2+} 螯合率, %;

A_1 ——样品溶液的吸光度值;

A_2 ——蒸馏水代替菲咯啉测得的吸光度值;

A_0 ——蒸馏水代替样品测得的吸光度值。

(4) 还原力的测定:参照 Dong 等^[15]的方法并略作修改。往 500 μL 样品中添加 500 μL 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.6)和 500 μL 10 g/L 铁氰化钾,将混合物于 50 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 20 min,加入 500 μL 100 g/L 三氯乙酸,8 000 r/min 离心 10 min 得上清液。将 500 μL 上清液、500 μL 双蒸水和 100 μL 1 g/L 氯化铁溶液混合,在室温下反应 10 min,测定 700 nm 处溶液的吸光度。吸光度越大说明样品的还原能力越强。

1.3 数据分析

所有试验均重复 3 次。使用 SPSS 软件进行数据分析, $P < 0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 SDS-PAGE 电泳图谱分析

由图 1 可知,未水解的蛋白质由 10~175 kDa 及以上的分子量条带组成。将食用菌的蛋白质条带与其酶解产物的条带进行对比,发现碱性蛋白酶有效地将 8 种食用菌蛋白水解为更小分子量的肽段甚至是氨基酸。

2.2 酶解产物氨基酸组成分析

据报道^[16],His 具有很强的抗氧化活性,这与其供氢能力、脂质过氧化自由基捕捉和咪唑基团的金属离子螯合能力有关。由表 1 可知,平菇蛋白酶解产物中 His 含量最高,为(10.85 $\pm$ 0.19) mg/g,表明其可能具有较好的抗氧化活性。研究^[17-18]表明,疏水性氨基酸增强了多肽在脂质中的溶解性,从而增强了多肽与自由基的相互作用或通过疏水缔合进入靶器官的作用;带负电荷的氨基酸可以赋予多肽较高的抗氧化活性,这些电子可以用来

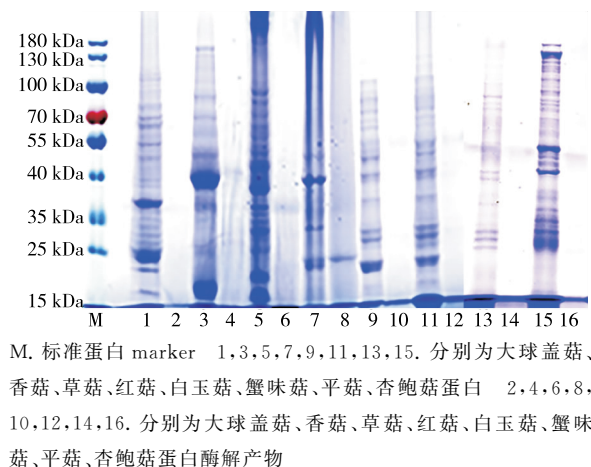


图 1 8 种食用菌蛋白及其酶解产物的

SDS-PAGE 电泳图

Figure 1 SDS-PAGE electrophoretic patterns of eight edible fungi proteins and their resultant hydrolysates

猝灭自由基;芳香族氨基酸通过供氢来稳定缺电子的自由基,这一特性可改善多肽的自由基清除活性。草菇蛋白酶解产物的疏水性氨基酸、负电荷氨基酸以及芳香族氨基酸含量在 8 种食用菌中均最高,分别为(209.95 $\pm$ 4.95),(115.89 $\pm$ 2.32),(57.86 $\pm$ 1.74) mg/g。草菇蛋白酶解产物还含有丰富的必需氨基酸,而且作为很多食物的第一限制性氨基酸的 Lys 含量也最高。因此,草菇蛋白酶解产物有着良好的营养价值和抗氧化潜力。

2.3 食用菌蛋白及其酶解产物的抗氧化活性

2.3.1 ABTS 自由基清除能力 由图 2 可知,8 种食用菌的蛋白酶解产物比未酶解蛋白质 ABTS 自由基清除能力高,其中草菇蛋白水解产物的 ABTS 自由基清除能力最高,为(6.97 $\pm$ 0.27) mmol Trolox/L。这表明蛋白质经酶解后,ABTS 自由基的抑制率显著增加。

2.3.2 DPPH 自由基清除能力 由图 3 可知,8 种食用菌蛋白酶解产物对 DPPH 自由基的清除能力均显著高于其各自的蛋白质,其中红菇蛋白酶解产物的 DPPH 自由基清除能力最高,为(5 668.22 $\pm$ 6.16) μg Trolox/g。草菇和平菇蛋白酶解产物也具有较高的 DPPH 自由基清除能力,分别为(5 140.45 $\pm$ 5.35) μg Trolox/g 和(4 934.66 $\pm$ 50.70) μg Trolox/g。蛋白质经酶解后可能会产生更多的生物活性底物,这些底物提供电子并与自由基反应,将其转化为更为稳定的物质,从而终止了自由基链反应^[19],与 GHRIBI 等^[20]的研究结果一致。

2.3.3 Fe^{2+} 螯合率 过渡金属离子(例如 Fe^{2+} 和 Cu^{2+})是生成自由基的强力剂,这些自由基可以催化活性氧的生成,例如羟自由基和超氧阴离子自由基等^[21]。金属离子的存在会很快消耗抗氧化剂,导致脂质过氧化和 DNA 损伤^[22]。 Fe^{2+} 可与菲咯啉形成复合物,在螯合剂存在的情况下,复合物的形成被破坏,导致复合物的红色减少^[23]。由图 4 可知,食用菌蛋白酶解产物的 Fe^{2+} 螯合能力高于食用菌蛋白质,其中草菇蛋白酶解产物的 Fe^{2+} 螯合能力最高(79.86 $\pm$ 0.45)%。阳性对照 EDTA 的 Fe^{2+} 螯合率为(99.93 $\pm$ 0.01)%。多肽具有较强的 Fe^{2+} 螯合能力可能是由于肽键的断裂暴露出了更多的酸性和碱性氨基酸,这样侧链的羧基和氨基可以结合 Fe^{2+} ^[24]。

2.3.4 还原力 根据抗氧化剂的还原能力不同,测试溶液由黄色变成不同深浅的绿色和蓝色^[25]。如图 5 所示,阳性对照 GSH 还原力最高为 2.720 $\pm$ 0.018,食用菌蛋白及其酶解产物的还原力显著低于 GSH,其中草菇蛋白酶解产物的还原能力最高为 0.350 $\pm$ 0.001。这些食用菌蛋白酶解产物还原能力的不同,可能与不同的氨基酸侧链基团有关,随着蛋白质酶解的进行,具有电子密集区域的氨基酸侧链基团会更多地暴露出来。此外,多肽和游离氨基酸作为额外的电子和质子源可以维持还原电位^[26]。具有还原能力的化合物可以作为初级和次级抗氧化剂,因为它们属于电子供体,很容易减少脂质过氧化过程中

表 1 8 种食用菌蛋白酶解产物的氨基酸组成[†]

	Table 1 Amino acid composition of eight edible fungi protein resultant hydrolysates								mg/g
氨基酸	大球盖菇	香菇	草菇	红菇	白玉菇	蟹味菇	平菇	杏鲍菇	
天冬氨酸(Asp)	19.38±0.06	0.98±0.00	26.34±0.56	1.44±0.00	4.79±0.38	8.93±0.16	26.98±0.24	19.24±0.06	
天冬酰胺(Asn)	18.50±0.11	1.04±0.00	25.20±0.51	5.59±0.00	5.63±0.42	11.30±0.22	18.20±0.18	14.00±0.16	
苏氨酸(Thr)	24.92±0.19	2.59±0.04	32.15±0.72	11.68±0.02	8.35±0.64	17.39±0.36	30.07±0.62	22.25±0.26	
丝氨酸(Ser)	22.87±0.15	0.89±0.03	36.68±0.84	8.20±0.02	6.93±0.53	14.43±0.29	27.37±0.52	19.49±0.19	
谷氨酸(Glu)	27.23±0.14	1.49±0.04	40.88±0.94	3.88±0.01	7.14±0.56	15.86±0.33	53.85±0.74	42.38±0.65	
谷氨酰胺(Gln)	15.14±0.10	1.01±0.06	23.46±0.30	6.09±0.03	3.81±1.38	10.12±0.13	3.77±0.02	1.12±0.02	
脯氨酸(Pro)	15.82±0.14	1.34±0.00	22.31±0.60	1.66±0.04	1.98±0.18	4.79±0.14	16.35±0.12	10.16±0.64	
甘氨酸(Gly)	14.95±0.09	0.90±0.04	20.44±0.49	3.46±0.01	4.43±0.33	9.32±0.19	18.09±0.16	12.05±0.16	
丙氨酸(Ala)	26.94±0.18	3.01±0.05	32.41±0.71	11.36±0.03	8.32±0.63	18.26±0.38	32.98±0.23	23.53±0.32	
缬氨酸(Val)	30.73±0.26	3.29±0.04	38.54±0.86	15.50±0.00	9.31±0.70	19.79±0.44	36.93±0.34	28.68±0.34	
半胱氨酸(Cys)	0.84±0.04	0.53±0.04	0.66±0.01	0.29±0.01	0.75±0.05	1.56±0.04	2.05±0.06	1.71±0.02	
蛋氨酸(Met)	5.72±0.07	0.23±0.03	4.23±0.07	1.79±0.00	1.02±0.07	2.33±0.05	6.65±0.05	3.73±0.08	
异亮氨酸(Ile)	26.77±0.23	2.70±0.08	34.26±0.64	11.13±0.00	8.89±0.70	18.74±0.41	29.67±0.24	24.84±0.62	
亮氨酸(Leu)	40.34±0.37	3.91±0.07	36.70±0.67	15.88±0.00	12.59±1.03	26.32±0.61	33.77±0.65	26.41±0.25	
酪氨酸(Tyr)	20.13±0.34	2.27±0.13	16.37±0.35	1.19±0.00	6.36±0.47	14.10±0.29	23.19±0.14	16.33±0.12	
苯丙氨酸(Phe)	25.48±0.70	3.86±0.11	30.42±0.72	7.68±0.02	6.93±0.53	15.66±0.33	22.18±0.09	18.17±0.19	
色氨酸(Trp)	10.57±0.08	1.56±0.02	11.07±0.68	4.29±0.27	0.26±0.02	0.68±0.01	0.72±0.00	0.58±0.00	
赖氨酸(Lys)	22.41±0.18	3.89±0.09	43.05±0.99	8.95±0.01	12.25±0.94	23.97±0.51	30.01±0.38	29.66±0.32	
组氨酸(His)	10.30±0.08	1.03±0.07	9.35±0.16	3.33±0.01	3.75±0.27	8.00±0.18	10.85±0.19	9.01±0.07	
精氨酸(Arg)	0.10±0.00	4.56±0.04	15.42±0.40	10.01±0.05	11.26±0.95	21.19±0.48	15.87±0.14	8.21±0.04	
EAA	186.95±2.06	22.03±0.44	230.43±5.35	76.90±0.31	59.61±4.62	124.88±2.71	189.99±2.37	154.33±2.06	
HAA	182.38±2.02	19.90±0.36	209.95±4.95	69.29±0.35	49.31±3.85	106.57±2.36	179.24±1.72	136.11±2.44	
PCAA	32.81±0.25	9.48±0.19	67.83±1.56	22.30±0.06	27.27±2.16	53.17±1.63	56.74±0.71	46.87±0.43	
NCAA	80.31±0.42	4.52±0.02	115.89±2.32	17.00±0.03	21.36±2.74	46.27±1.84	102.82±1.18	76.74±0.89	
AAA	56.18±1.11	7.69±0.22	57.86±1.74	13.15±0.29	13.55±1.01	30.45±0.61	46.09±0.23	35.08±0.31	
TAA	379.20±3.49	41.08±0.81	499.97±11.23	133.41±0.38	124.75±10.76	262.81±5.53	439.56±5.11	331.54±4.45	

[†] EAA:必需氨基酸(Thr、Val、Met、Ile、Leu、Trp、Lys、Phe);HAA:疏水性氨基酸(Ala、Val、Ile、Leu、Tyr、Phe、Try、Pro、Met、Cys);PCAA:正电荷氨基酸(Arg、His、Lys);NCAA:负电荷氨基酸[Asx(Asp+Asn)、Glx(Glu+Gln)];AAA:芳香族氨基酸(Tyr、Phe、Trp);TAA:总氨基酸。

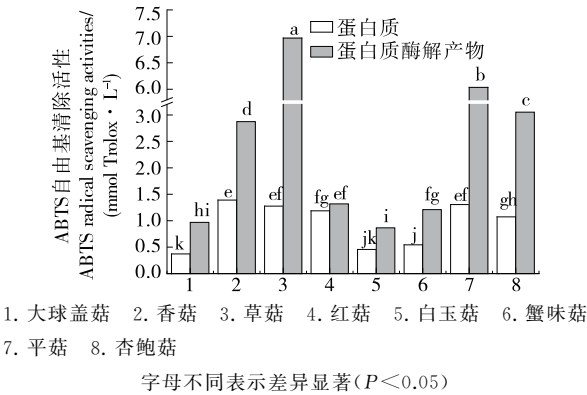


图 2 8 种食用菌蛋白及其酶解产物的
ABTS 自由基清除能力

Figure 2 ABTS radical scavenging activities of eight edible fungi proteins and their resultant hydrolysates

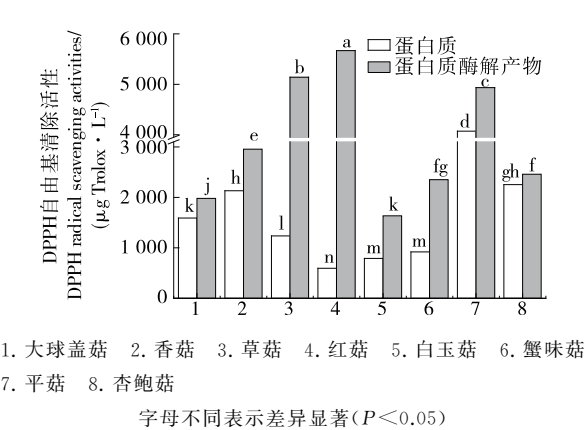
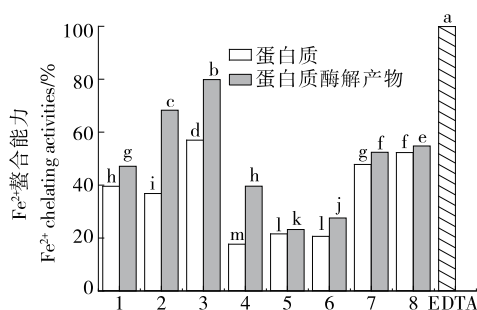


图 3 8 种食用菌蛋白及其酶解产物的 DPPH 清除能力
Figure 3 DPPH radical scavenging activities of eight edible fungi proteins and their resultant hydrolysates

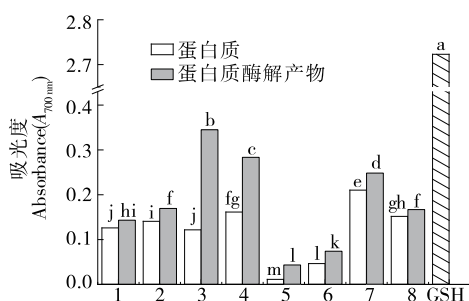


1. 大球盖菇 2. 香菇 3. 草菇 4. 红菇 5. 白玉菇 6. 蟹味菇
7. 平菇 8. 杏鲍菇

字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 8 种食用菌蛋白及其酶解产物的 Fe^{2+} 螯合能力

Figure 4 Metal chelating activities of eight edible fungi proteins and their resultant hydrolysates



1. 大球盖菇 2. 香菇 3. 草菇 4. 红菇 5. 白玉菇 6. 蟹味菇
7. 平菇 8. 杏鲍菇

字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 8 种食用菌蛋白及其酶解产物的还原力

Figure 5 Reducing power assay of eight edible fungi proteins and their resultant hydrolysates

的中间产物自由基,这些抗氧化还原剂的存在将 Fe^{3+} /铁氰化物复合物转化或还原为亚铁形式(Fe^{2+})。而 Fe^{2+} 的浓度由基于 700 nm 处形成的普鲁士蓝检测出来^[27]。

3 结论

以蒸馏水作为提取溶剂,采用硫酸铵沉淀法提取蛋白质,用碱性蛋白酶对 8 种食用菌(香菇、平菇、杏鲍菇、红菇、大球盖菇、草菇、白玉菇、蟹味菇)蛋白进行酶解,发现草菇蛋白酶解产物的抗氧化活性最强,DPPH 自由基清除能力为(5140.45 ± 5.35) μg Trolox/g,ABTS 自由基清除能力为(6.97 ± 0.27) mmol Trolox/L, Fe^{2+} 螯合率为(79.86 ± 0.45)%,还原力为 0.350 ± 0.001 。

对食用菌蛋白酶解产物进行研究有助于开发低价值蛋白质在功能性食品或化妆品领域的潜在应用。食用菌富含优质蛋白质,以此为源制备生物活性肽,可以进一步提升食用菌蛋白的高值化应用。在后续的研究中,还需要对蛋白酶解产物进行纯化和鉴定,并开展细胞和体内的试验以探究其可能的作用机制。

参考文献

- [1] HANCOCK J T, DESIKAN R, NEILL S, et al. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways [J]. Biochemical Society Transactions, 2001, 29(2): 345-350.
- [2] VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007, 39 (1): 44-84.
- [3] BIRBEN E, SAHINER U M, SACKESSEN C, et al. Oxidativestress and antioxidant defense [J]. World Allergy Organization Journal, 2012, 5(1): 9-19.
- [4] HALLIWELL B, AESCHBACH R, LLIGER J, et al. The characterization of antioxidants[J]. Food and Chemical Toxicology, 1995, 33 (7): 601-617.
- [5] JE J Y, QIAN Z J, BYUN H G, et al. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis [J]. Process Biochemistry, 2007, 42 (5): 840-846.
- [6] 王倩. 鸭蛋卵清蛋白抗氧化肽和免疫调节活性肽的制备[D]. 广州: 华南理工大学, 2020: 1-88.
WANG Q. Preparation of antioxidant and immunomodulatory peptides in ovalbumin of duck egg[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020: 1-88.
- [7] TOLEDO M E, MEJIA E G D, DIA V P, et al. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hydrolysates inhibit inflammation in LPS-induced macrophages through suppression of NF- κ B pathways[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1175-1185.
- [8] US Department of Agriculture. Food and Nutrient Database for Dietary Studies [EB/OL]. (2019-04-01) [2022-03-05]. <https://fdc.nal.usda.gov/>.
- [9] REIS F S, MARTINS A, VASCONCELOS M H, et al. Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 66: 48-62.
- [10] SANCHEZ, CARMEN. Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2017, 2(1): 13-22.
- [11] ISLAM T, GANESAN K, XU B. New insight into mycochemical profiles and antioxidant potential of edible and medicinal mushrooms: A review [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2019, 21(3): 237-251.
- [12] ZHOU R, LIU Z, ZHANG Y, et al. Research progress of bioactive proteins from the edible and medicinal mushrooms [J]. Current Protein & Peptide Science, 2019, 20(3): 196-219.
- [13] ERJAVEC J, KOS J, RAVNIKAR M, et al. Proteins of higher fungi-from forest to application[J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(5): 259-273.
- [14] 马梦娇. 中华鳖肉抗氧化肽的制备及其抗衰老功能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 1-68.
MA M J. Preparation of antioxidant peptides from Chinese soft-shelled turtle and its anti-aging activity[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 1-68.

(下转第 152 页)

- jian Agriculture and Forestry University, 2012: 10.
- [11] 胡会刚, 赵巧丽. 菠萝皮渣多酚的提取分离及其抗氧化活性评价[J]. 食品科技, 2020, 45(1): 286-293.
- HU H G, ZHAO Q L. Extraction, separation and antioxidant activities of polyphenols from pineapple pomace[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(1): 286-293.
- [12] 何福林, 黄丽佳, 游周敏, 等. 蓬蒿籽多酚提取工艺的响应面优化及其对食用油脂抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(9): 67-71, 76.
- HE F L, HUANG L J, YOU Z M, et al. Optimization of extraction process of polyphenols from *Chrysanthemum coronarium* seeds with response surface methodology and its antioxidant activity on edible oils[J]. China Oils and Fats, 2020, 45(9): 67-71, 76.
- [13] 王若兰, 郭亚鹏. 响应面法优化超声波辅助提取藜麦多酚的工艺条件[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(9): 1-7.
- WANG R L, GUO Y P. Optimization of technology for ultrasonic assisted extraction of quinoa polyphenol using response surface methodology[J]. Cereals & Oils, 2020, 33(9): 1-7.
- [14] 任世达, 方晓敏, 罗雁非, 等. 超声波辅助提取玉米花丝多酚工艺优化及其抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(17): 201-208.
- REN S D, FANG X M, LUO Y F, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of corn silk polyphenols and its antibacterial activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(17): 201-208.
- [15] 商云帅, 孙宇, 闫琦涛, 等. 响应面优化薏米多酚提取工艺[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(5): 83-86, 95.
- SHANG Y S, SUN Y, YAN Q T, et al. Response surface optimization of extraction technology of polyphenols from adlay[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(5): 83-86, 95.
- [16] 陈峰, 尹鹏, 郭桂义, 等. 响应面法优化提取绿茶茶多酚工艺研究[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(4): 659-664.
- CHEN F, YIN P, GUO G Y, et al. Optimization of extraction process of tea polyphenols from green tea by response surface methodology[J]. Journal of Tea Communication, 2020, 47(4): 659-664.
- [17] 孙少忆, 马露, 刘军, 等. 葡萄酒渣多酚类物质超声波辅助提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 河南农业大学学报, 2021, 55(2): 328-337.
- SUN S Y, MA L, LIU J, et al. Optimization of ultrasonic assisted extraction of polyphenols from grape wine residue and its antioxidant activity[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2021, 55(2): 328-337.
- [18] 蔡奕文, 赵谋明, 彭志英. 天然抗氧化剂发展近况[J]. 中国油脂, 1999, 24(4): 45-47.
- CAI Y W, ZHAO M M, PENG Z Y. Recent development of natural antioxidants[J]. China Oils and Fats, 1999, 24(4): 45-47.
- [19] 张情, 王贻若, 宋立华. 水溶性和油溶性植物甾醇酯体外抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2014, 39(12): 84-90.
- ZHANG Q, WANG Y R, SONG L H. Study on antioxidant activity of water-soluble and fat-soluble phytosterol ester in vitro[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(12): 84-90.

(上接第 138 页)

- [15] DONG Y R, QI G H, YANG Z P, et al. Preparation, separation and antioxidant properties of hydrolysates derived from *Grifola frondosa* protein[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 33(6): 500-506.
- [16] SAMARANAYAKA A G P, CHAN E C Y L. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications[J]. Journal of Functional Foods, 2011, 3(4): 229-254.
- [17] HE R, GIRGIH A T, MALOMO S A, et al. Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysates and the membrane ultra-filtration fractions[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(1): 219-227.
- [18] SARMADI B H, ISMAIL A. Antioxidative peptides from food proteins: A review[J]. Peptides, 2010, 31(10): 1 949-1 956.
- [19] AGRAWAL H, JOSHI R, GUPTA M. Isolation, purification and characterization of antioxidative peptide of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) protein hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2016, 204: 365-372.
- [20] GHRIBI A M, SILA A, PRZYBYLSKI R, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 516-525.
- [21] SAIGA A, TANABE S, NISHIMURA T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(12): 3 661-3 667.
- [22] NAJAFIAN L, BABJI A S. Production of bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydrolysate[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 9: 280-289.
- [23] JOSHI R, SOOD S, DOGRA P, et al. In vitro cytotoxicity, antimicrobial, and metal-chelating activity of triterpene saponins from tea seed grown in Kangra valley, India[J]. Medicinal Chemistry Research, 2013, 22(8): 4 030-4 038.
- [24] ZHANG W G, XIAO S, SAMARAWEEERA H, et al. Improving functional value of meat products[J]. Meat Science, 2010, 86(1): 15-31.
- [25] MOHAMED T K, ISSOUFOU A, ZHOU H. Antioxidant activity of fractionated foxtail millet protein hydrolysate[J]. International Food Research Journal, 2012, 19(1): 207-213.
- [26] BORAWSKA J, DAREWICZ M, VEGARUD G E, et al. Antioxidant properties of carp (*Cyprinus carpio* L.) protein ex vivo and in vitro hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 770-779.
- [27] FERREIRA I C F R, BAPTISTA P, VILAS-BOAS M, et al. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity[J]. Food Chemistry, 2007, 100(4): 1 511-1 516.