

大球盖菇肽基料超声制备及其食药特性分析

李文^{1,2}, 陈万超¹, 马海乐^{2*}, 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, 江苏镇江 212013)

摘要: 采用不同超声模式(聚能超声模式和平板超声模式、单频和多频组合模式等), 探讨超声处理制备大球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*)肽基料的可行性及其呈味特性、抗氧化活性和血管紧张素转化酶(angiotensin-I converting enzyme, ACE)抑制活性等食药特性。结果表明: 超声处理制备的大球盖菇肽基料中的肽含量均较高(110.36~230.15 mg·g⁻¹干重), 其中, 功率密度 300 W·L⁻¹、单频 20 kHz 聚能超声处理模式或功率密度 120 W·L⁻¹、20/28/40 kHz 或 20/40/28 kHz 顺序三频组合平板超声处理模式制备的大球盖菇肽基料中肽含量较高; 超声处理频率组合对大球盖菇肽基料风味有较大影响, 超声处理制备的大球盖菇肽基料呈咸鲜味特性; 功率密度 120 W·L⁻¹、20/28 kHz 顺序双频组合平板超声模式处理制备的肽基料, 具有更好的抗氧化活性; 功率密度 300 W·L⁻¹、20/28 kHz 同步双频组合聚能超声模式处理制备的肽基料 ACE 抑制效果最优; 在相同超声功率密度及频率组合处理条件下, 聚能超声模式处理制备的肽基料比平板超声模式处理制备的肽基料, 其肽段两端疏水氨基酸占比更高。

关键词: 大球盖菇; 超声; 呈味特性; 抗氧化活性; 血管紧张素转化酶

Ultrasonic Preparation of *Stropharia rugosoannulata* Peptides and Analysis of Their Taste Characteristics and Pharmacological Activities

LI Wen^{1,2}, CHEN Wanchao¹, MA Haile^{2*}, WU Di¹, ZHANG Zhong¹, YANG Yan^{1*}

(¹Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China;

²School of Food and Biological Engineering, Institute of Food Physical Processing, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China)

Abstract: The feasibility of preparing peptides from *Stropharia rugosoannulata* by ultrasound was studied. Peptide samples were prepared under different ultrasonic operation modes, including probe and flat plate ultrasound at both single frequency and multifrequency. Then selected samples were further studied for their taste characteristics, antioxidant activity and inhibitory activity on angiotensin-I converting enzyme (ACE). The results showed that the *S. rugosoannulata* peptide samples prepared by ultrasonic treatments contained a high level of peptides, ranging from 110.36 mg·g⁻¹ dry weight to 230.15 mg·g⁻¹ dry weight. Among different ultrasonic operation modes, the single frequency probe ultrasonic mode at 300 W·L⁻¹ power density and 20 kHz, the sequential triple-frequency flat plate ultrasonic mode at 120 W·L⁻¹ power density and 20/28/40 kHz, and the sequential triple-frequency flat plate ultrasonic mode at 120 W·L⁻¹ power density and 20/40/28 kHz resulted in a higher peptide content than other operation modes. Combination of multifrequency had a significant

收稿日期: 2022-02-15 原稿; 2022-03-01 修改稿

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

作者简介: 李文(1982-), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向为食用菌风味。

* 本文通信作者 E-mail: mhl@ujs.edu.cn; yangyan@saas.sh.cn

effect on the flavor of the peptide samples. The peptide samples had umami and salty taste. The peptide sample prepared with the sequential dual-frequency flat plate ultrasonic mode at $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ power density and 20/28 kHz had better antioxidant activity than those prepared with other ultrasonic operation modes. The peptide sample prepared with the synchronous dual-frequency probe ultrasonic mode at $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ power density and 20/28 kHz showed the best ACE inhibitory activity. Under the same ultrasonic power density and frequency combination, probe ultrasound treated peptide samples had a greater proportion of hydrophobic amino acids at both ends than flat plate ultrasound treated peptide samples.

Key words: *Stropharia rugosoannulata*; ultrasound; taste characteristics; antioxidant activity; angiotensin-I converting enzyme

大球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*)又名赤松茸,是草腐食用菌,富含优质蛋白质,其子实体干品中粗蛋白含量为20%~31%^[1-2],是开发食用菌蛋白质、肽及其衍生物的优质原料。肽因具有重要的营养作用和生物活性作用,可开发成“天然、营养、安全”的新型食品配料及保健品。肽按照来源可分为内源性肽和外源性肽,按照功能可分为生理活性肽和食品感官肽(风味肽)。兼具生理活性和食品感官的风味活性肽,不仅能提供肽及氨基酸类营养成分,还能带来愉悦的味觉感受,在保障人体健康中发挥了非常重要的作用。如甜味二肽阿斯巴甜及其衍生物,甜度高、热量低,不会使血糖升高,适合肥胖症、糖尿病和心血管患者食用^[3];从酱油和腐乳中分离得到的咸味肽^[4-5],其咸味强度与食盐(NaCl)相当,对高血压、心血管疾病等需要低钠饮食的特殊人群有重要的利用价值。当前,在菌菇源生理活性肽研究中,国内外研究学者也开展了大量研究,包括具有抗氧化^[6-7]、抗炎^[6]、抗肿瘤^[8]、降血压^[9-10]及免疫调节^[11-12]等生理功能的生物活性肽的制备及其药理活性研究^[6-12];在菌菇源风味肽研究中,以鲜味肽^[13-16]、厚味肽^[17]的研究居多,主要是与菌菇具有味道鲜美的感官特性有关。

超声技术作为一项绿色无污染技术,作用于食品加工过程,可以避免传统加工温度过高导致食品营养成分破坏、化学溶剂过多使用引起的食品安全性和环境污染等问题。超声技术通过强化食品加工过程的传质效果,可显著提高加工效率和食品品质^[18-21]。通过前期研究,笔者发现大球盖菇中游离肽含量达到 $112.84 \sim 125.56 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重,显著高于游离氨基酸($43.13 \sim 82.80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重)和核苷酸($3.18 \sim 4.94 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重)小分子呈味物质的含量。因此,笔者探究了超声技术对大球盖菇肽基料处理制备的作用效果,为开发兼具愉悦风味特性及药理活性的大球盖菇加工产品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

大球盖菇(*S. rugosoannulata*)残次菇和菇柄由上海菇林源菌业专业合作社提供,品种为‘球盖菇5号’,沪农品认食用菌(2004)第062号。

1.2 主要试剂和仪器

肽含量测定试剂盒、总抗氧化能力(ABTS法)试剂盒、总抗氧化能力(DPPH法)试剂盒(苏州梦犀生物医药科技有限公司);DOJINDO同仁化学ACE Kit-WST试剂盒(上海宥露生物科技有限公司);AKTA Flux 6切向流膜过滤系统[格来赛生命科技(上海)有限公司];中空纤维膜(<3000 Da)[通用电气(中国)医疗集团];FLEXEM智能烘干系统(江苏科恒环境科技有限公司);Epoch 2酶标仪(美国BioTek公司);TS-5000Z Insent电子舌味觉分析系统(北京盈盛恒泰科技有限责任公司);Thermo EASY-nLC液相色谱仪、Thermo Scientific QE-orbitrap质谱仪、75 μm i.d. $\times$ 150 mm Acclaim PepMap RSLC C18 nano Viper色谱柱(美国Thermo公司)。

1.3 原料预处理

采用智能烘干系统进行大球盖菇残次菇和菇柄热风干燥,干燥温度 55°C ,通风量 $3500 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$,干燥6 h,得大球盖菇干品。大球盖菇干品经粉碎机粉碎过80目筛网,收集备用。配制浓度为 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

(菇粉质量/纯水体积)的大球盖菇料液进行超声处理制备大球盖菇肽基料。

1.4 超声处理制备肽基料

平板超声设备和聚能超声设备由江苏大学食品物理加工研究院研究开发。分别采用平板超声设备和聚能超声设备的单频超声模式处理大球盖菇料液,筛选单频超声处理制备大球盖菇肽基料较优的超声处理时间和超声功率密度。超声工作模式、超声工作频率、超声功率密度和超声处理时间见表1。超声处理的料液8000 g离心10 min,收集上清液。上清液于-70 ℃冷冻干燥48 h得大球盖菇上清液肽基料。上清液肽基料样品编号见表1。

表1 超声处理制备的大球盖菇肽基料

Table 1 Peptide samples of *S. rugosoannulata* prepared by single-frequency ultrasound

超声工作模式 Ultrasonic operation mode	超声工作频率 Ultrasonic working frequency/kHz	超声功率密度 Ultrasonic power density/(W · L ⁻¹)	超声处理时间 Ultrasonic working time/min	上清液肽基料 Supernatant sample
单频平板超声 Single-frequency flat plate ultrasound	20	300	10	FP-20-300-t10
			15	FP-20-300-t15
			20	FP-20-300-t20
			25	FP-20-300-t25
			30	FP-20-300-t30
			35	FP-20-300-t35
单频聚能超声 Single-frequency probe ultrasound	20	300	10	PB-20-300-t10
			15	PB -20-300-t15
			20	PB -20-300-t20
			25	PB -20-300-t25
			30	PB -20-300-t30
			35	PB -20-300-t35
单频平板超声 Single-frequency flat plate ultrasound	20	120	20	FP-20-120-t20
		150		FP-20-150-t20
		200		FP-20-200-t20
		250		FP-20-250-t20
		300		FP-20-300-t20
		400		FP-20-400-t20
单频聚能超声 Single-frequency probe ultrasound	20	120	20	PB-20-120-t20
		150		PB-20-150-t20
		200		PB-20-200-t20
		250		PB-20-250-t20
		300		PB-20-300-t20
		400		PB-20-400-t20

根据筛选的单频超声处理时间和超声功率密度,分别采用“优选超声功率密度+单/多频组合超声工作频率”的工作模式,进行平板超声和聚能超声处理大球盖菇料液研究。大球盖菇料液浓度50 g · L⁻¹,超声工作模式、超声工作频率、超声功率密度和超声处理时间见表2。超声处理的料液8000 g离心10 min,收集上清液。采用AKTA Flux 6切向流膜过滤系统对上清液进行分级制备,收集相对分子质量小于3000的超滤液。上清液和超滤液分别于-70 ℃冷冻干燥48 h得大球盖菇上清液肽基料和超滤液肽基料。上清液肽基料和超滤液肽基料编号见表2。

表 2 超声处理制备的大球盖菇肽基料

Table 2 Peptide samples of *S. rugosoannulata* prepared by multifrequency ultrasound

超声工作模式	超声工作频率	超声功率密度	超声处理时间	上清液肽基料	超滤液肽基料
Ultrasonic operation mode	Ultrasonic working frequency/kHz	Ultrasonic power density/(W · L ⁻¹)	Ultrasonic working time/min	Supernatant sample	Ultrafiltrate sample
单频平板超声					
Single-frequency flat plate ultrasound	20	120	20	FP-20-120-t20	FP-20-120-t20-UF
单频聚能超声					
Single-frequency probe ultrasound	20	120	20	PB-20-120-t20	PB-20-120-t20-UF
顺序双频平板超声					
Sequential dual-frequency flat plate ultrasound	20/28	120	20	FP-20/28-120-t20	FP-20/28-120-t20-UF
顺序双频平板超声					
Sequential dual-frequency flat plate ultrasound	20/40	120	20	FP-20/40-120-t20	FP-20/40-120-t20-UF
顺序双频平板超声					
Sequential dual-frequency flat plate ultrasound	28/40	120	20	FP-28/40-120-t20	FP-28/40-120-t20-UF
顺序三频平板超声					
Sequential triple-frequency flat plate ultrasound	20/28/40	120	20	FP-20/28/40-120-t20	FP-20/28/40-120-t20-UF
顺序三频平板超声					
Sequential triple-frequency flat plate ultrasound	20/40/28	120	20	FP-20/40/28-120-t20	FP-20/40/28-120-t20-UF
同步双频平板超声					
Synchronous dual-frequency flat plate ultrasound	20/28	300	20	FP-S20/28-300-t20	FP-S20/28-300-t20-UF
同步双频聚能超声					
Synchronous dual-frequency probe ultrasound	20/28	300	20	PB-S20/28-300-t20	PB-S20/28-300-t20-UF

1.5 肽基料中肽含量测定和食药特性分析

按照肽含量测定试剂盒说明书测定超声处理制备大球盖菇肽基料的肽含量。

采用电子舌味觉分析系统分析表 2 超声处理制备的大球盖菇肽基料的呈味特性。准确称取 0.1 g 肽基料, 加入 100 mL 纯水溶解, 移取 25 mL 溶液加入电子舌专用样品杯中, 每个样品重复 4 次, 取后 3 次测试结果。用 30 mmol · L⁻¹ KCl 溶液与 0.3 mmol · L⁻¹ 酒石酸溶液作参比溶液。传感器置于参比

溶液中归零 30 s 开始进行味觉测定, 测试时间为 30 s。测试完毕后用参比溶液清洗 3 s, 再次进行回味测定, 测试时间 30 s。采用 SPSS 20.0 软件对电子舌采集数据进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)。

按照总抗氧化能力试剂盒说明书测定表 2 大球盖菇超滤液肽基料对 DPPH 和 ABTS 自由基清除抗氧化活性, 以维生素 C (VC) 作为对照量化抗氧化能力。按照 ACE Kit-WST 试剂盒说明书测定表 2 大球盖菇超滤液肽基料对血管紧张素转化酶 (angiotensin-I converting enzyme, ACE) 的抑制率, 并计算 IC_{50} 值。

1.6 肽基料中肽序列分析

采用液相色谱串联质谱分析技术 (liquid chromatography tandem-mass spectrometry, LC-MS/MS) 对 ACE 抑制效果较好的功率密度 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、同步双频 20/28 kHz 组合的聚能超声模式和同功率密度、频率组合的平板超声模式处理制备的大球盖菇超滤液肽基料 (PB-S 20/28-300-t20 和 FP-S 20/28-300-t20) 中的肽分布及肽序列进行分析, 对肽段两端疏水氨基酸分布进行统计。肽基料经 Millipore ZipTip C18 微量层析柱脱盐处理后, 采用 $20\text{ }\mu\text{L}$ 溶解液 (0.1% 甲酸、5% 乙腈) 溶解肽段, 振荡涡旋, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、8000 g 离心 20 min, 取 $8\text{ }\mu\text{L}$ 上清液进行质谱肽序列鉴定。液相色谱流动相 A, 0.1% 甲酸; 流动相 B, 0.1% 甲酸, 80% 乙腈; LC-MS/MS 设置参数: 喷雾电压: 2.0 kV; 毛细管温度: $320\text{ }^{\circ}\text{C}$; 分辨率设置: 一级 120000, 二级 30000; 离子扫描范围: 350~1550 m/z ; MS1 自动增益控制 (automatic gain control, AGC): $4\text{e}5$ 。采用 PEAKS 软件进行肽序列数据库检索。

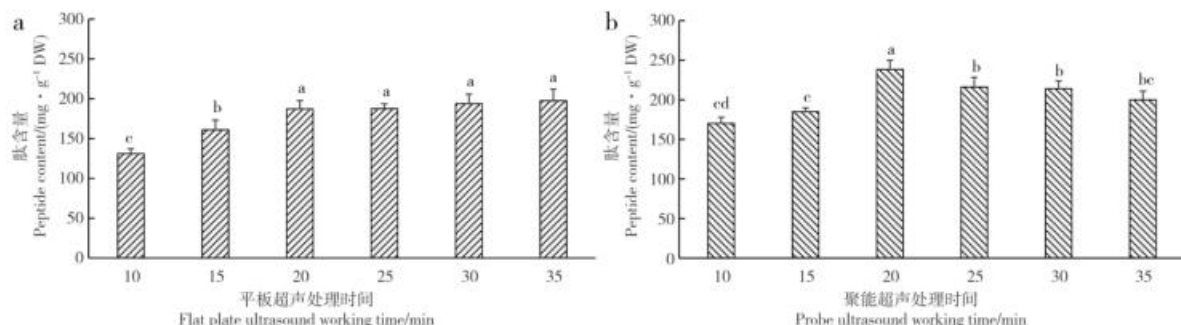
1.7 统计学处理

数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, 采用 Duncan 检验进行显著性统计分析, 不同小写英文字母表示组间具有差异显著性 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 肽基料中肽含量

由图 1 可知, 基于功率密度 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、单频 20 kHz 的平板超声模式和聚能超声模式处理制备的大球盖菇肽基料中肽含量均高于未超声处理子实体中肽含量 ($112.84\sim 125.56\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 干重)。相同超声处理时间下, 采用聚能超声模式处理制备的肽基料中肽含量, 均高于平板超声模式处理制备肽基料中的肽含量。平板超声模式处理制备的大球盖菇肽基料中, 随着超声处理时间 (10~20 min) 的增加, 肽基料中肽含量增加显著 ($P < 0.05$), 20~35 min 超声处理制备的大球盖菇肽基料肽含量组间没有显著性差异 ($P > 0.05$) (图 1a)。聚能超声模式处理制备的大球盖菇肽基料中, 肽含量在超声处理 20 min 肽基料 (PB-20-300-t20) 中最高, 后续随着超声处理时间的增加, 肽基料中肽含量呈下降趋势, 且均与 PB-20-300-t20 存在显著差异 ($P < 0.05$) (图 1b)。因此, 后续采用 20 min 超声处理时间进行超声处理制备大球盖菇肽基料的功率密度筛选研究。



a: 平板超声模式不同超声处理时间制备的大球盖菇肽基料中肽含量; b: 聚能超声模式不同超声处理时间制备的大球盖菇肽基料中肽含量; DW: 干重; 不同小写英文字母表示组间差异具有显著性 ($P < 0.05$)

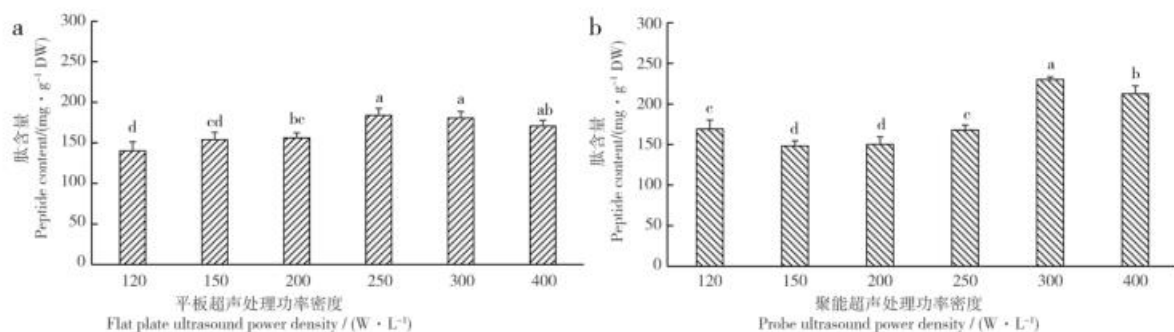
a: flat plate ultrasound; b: probe ultrasound; DW: dry weight; different lowercase letters indicate a significant difference at $P < 0.05$

图 1 不同超声时间处理制备的大球盖菇肽基料中肽含量

Fig.1 Effect of ultrasonic time on peptide content in *S. rugosoannulata*

由图2可知,在超声处理时间20 min,超声工作频率20 kHz,不同超声功率密度处理条件下,平板超声模式处理制备的大球盖菇肽基料中,功率密度 $250\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 的平板超声模式处理制备的肽基料(FP-20-250-t20、FP-20-300-t20)中肽含量,与其他低功率密度的平板超声模式处理制备肽基料中的肽含量相比有显著提升($P<0.05$);进一步提升平板超声功率密度处理制备的肽基料(FP-20-400-t20)中,肽含量略有下降,但组间差异不显著($P>0.05$)(图2a)。在不同聚能超声功率密度处理制备的肽基料中,大球盖菇PB-20-300-t20肽基料中肽含量,仍处于最高水平($P<0.05$);其次为功率密度 $400\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 聚能超声处理制备的肽基料(PB-20-400-t20);功率密度 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 聚能超声处理制备的大球盖菇肽基料(PB-20-120-t20)与功率密度 $250\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 聚能超声处理制备的肽基料(PB-20-250-t20)中肽含量相当($P>0.05$)(图2b)。因此,从肽含量和能耗方面考虑,采用单频20 kHz超声模式处理制备大球盖菇肽基料时,超声处理模式优选功率密度 $250\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 的平板超声处理模式、 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 聚能超声处理模式。

由图3可知,大球盖菇肽基料FP-20/28/40-120-t20中肽含量较高($P<0.05$),其次为FP-20/28-120-t20和FP-20/40/28-120-t20,两种肽基料中肽含量相当($P>0.05$)。双频组合平板超声处理制备的肽基料中,肽含量随超声处理工作频率的增加呈降低趋势,尤其是在超声28/40 kHz频率组合处理模式下,该处理条件下制备得到的FP-28/40-120-t20肽基料中肽含量,略低于未经超声处理料液中游

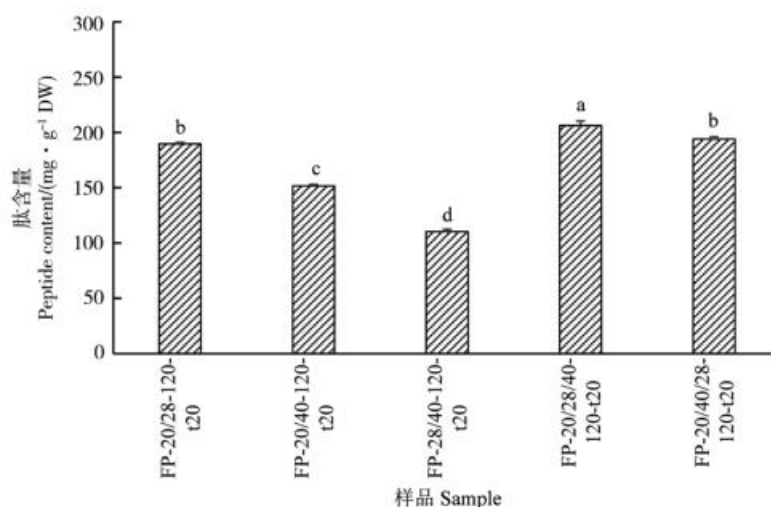


a: 平板超声模式不同超声处理功率密度制备的大球盖菇肽基料中肽含量; b: 聚能超声模式不同超声处理功率密度制备的大球盖菇肽基料中肽含量; DW: 干重; 不同小写英文字母表示组间差异具有显著性($P<0.05$)

a: flat plate ultrasound; b: probe ultrasound; DW: dry weight; different lowercase letters indicate a significant difference at $P<0.05$

图2 不同超声功率密度处理制备的大球盖菇肽基料中肽含量

Fig.2 Effect of ultrasonic power density on peptide content in *S. rugosoannulata*



DW: 干重; 不同小写英文字母表示组间差异具有显著性($P<0.05$)

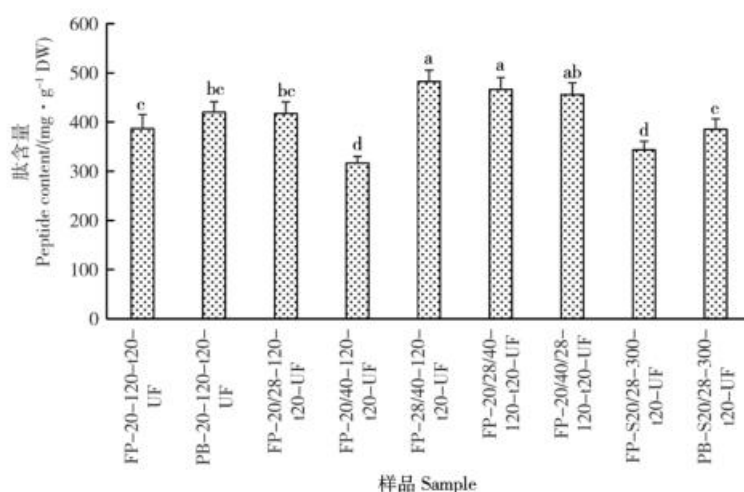
DW: dry weight; different lowercase letters indicate a significant difference at $P<0.05$

图3 顺序多频组合平板超声模式处理制备大球盖菇肽基料中肽含量

Fig.3 Effect of sequential multifrequency flat plate ultrasound on peptide content in *S. rugosoannulata*

游离肽含量 ($P>0.05$), 由此可知持续高频组合超声处理, 会导致游离肽进一步降解为氨基酸, 进而引起基料中肽含量降低。因此, 从肽含量方面考虑, 采用功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 及多频组合的平板超声模式处理制备大球盖菇肽基料时, 优选 $20/28/40 \text{ kHz}$ 、 $20/40/28 \text{ kHz}$ 和 $20/28 \text{ kHz}$ 频率组合的平板超声处理模式; 从能耗方面考虑, 优选 $20/28 \text{ kHz}$ 频率组合。结合前期优选的功率密度, 进一步考察平板超声处理模式和聚能超声处理模式“功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1} + 20/28 \text{ kHz}$ 频率组合”对处理制备大球盖菇肽基料的影响。结果表明, 在功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $20/28 \text{ kHz}$ 同步双频组合超声处理条件下, 平板超声模式处理制备的大球盖菇 FP-S $20/28-300-t20$ 肽基料中肽含量达到 $146.78 \sim 162.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重, 聚能超声模式处理制备的大球盖菇 PB-S $20/28-300-t20$ 肽基料中肽含量达到 $163.78 \sim 182.82 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重。结合单频条件下的两种超声模式处理制备肽基料 (FP-20-120-t20, PB-20-120-t20) 结果分析可以发现, 在相同功率密度及频率组合超声处理条件下, 聚能超声模式制备肽基料中肽含量高于平板超声模式制备肽基料中肽含量。

综合上述结果, 采用超声处理制备的大球盖菇肽基料中肽含量, 除了 FP-28/40-120-t20 肽基料组, 均较未经超声处理样品肽含量有一定程度的提高, 超声处理促使大球盖菇原料中肽组分释放。在相同功率密度 ($120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$) 超声处理制备条件下, 聚能超声处理模式优于平板超声处理模式; 同一超声 (设备) 工作模式下, 单频聚能超声处理模式优于多频组合聚能超声处理模式, 多频组合平板超声处理模式优于单频平板超声处理模式。从肽含量方面考虑, 优选功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$, 单频 20 kHz 的聚能超声处理模式、功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$, $20/28/40$ 、 $20/40/28$ 、 $20/28 \text{ kHz}$ 顺序多频组合的平板超声处理模式进行大球盖菇肽基料制备。筛选的超声处理条件 (表 2) 制备的大球盖菇超滤液肽基料中, 肽含量提升到 $31.64\% \sim 48.22\%$ (图 4)。



注同图 3

Legends as in Fig.3

图 4 超声处理制备超滤液肽基料中肽含量
Fig.4 Peptide contents of different ultrafiltrate samples

2.2 肽基料呈味特性

在表 2 功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 、多频组合超声处理制备的大球盖菇肽基料 (FP-S $20/28-300-t20$, FP-S $20/28-300-t20-UF$, PB-S $20/28-300-t20$ 和 PB-S $20/28-300-t20-UF$) 中, 仅 $20/28 \text{ kHz}$ 同步多频组合的聚能超声处理制备的上清液肽基料 PB-S $20/28-300-t20$ 呈现出少许浓厚味 (电子舌评价数值 0.81), 而电子舌对苦味的响应值较高 (肽基料苦味评价数值 $9.58 \sim 12.31$), 说明功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 、多频组合超声处理制备的大球盖菇肽基料, 不易产生愉悦呈味特性。肽基料电子舌评价呈现苦味特性, 与超声作用促使肽段两端产生大量疏水性氨基酸有关^[22]。

由表 3、4 可知, 在功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 超声处理制备的大球盖菇肽基料中, 单频超声处理制备

的大球盖菇肽基料具有咸味呈味特性(FP-20-120-t20, PB-20-120-t20, FP-20-120-t20-UF, PB-20-120-t20-UF)。相同超声处理制备条件下得到的超滤液肽基料, 咸味评价价值均高于上清液肽基料咸味评价价值, 推测相对分子质量小于 3000 的肽组分主要发挥了呈咸特性。20/28 kHz 顺序双频组合的平板超声模式处理制备的大球盖菇超滤液肽基料 FP-20/28-120-t20-UF 咸味评价价值最高。功率密度 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、多频组合的平板超声模式处理制备的大球盖菇上清液肽基料(FP-20/28-120-t20, FP-20/40-120-t20, FP-28/40-120-t20, FP-20/28/40-120-t20, FP-20/40/28-120-t20)均呈现愉悦的鲜味、满口感和浓厚味呈味特性, 而上述条件下的大球盖菇超滤液肽基料未呈现上述呈味特性, 由此推测 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、多频组合的平板超声模式处理制备上清液肽基料中, 肽组分主要发挥了呈鲜感官特性。

表 3 功率密度 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 超声处理制备的大球盖菇上清液肽基料呈味特性
Table 3 Taste characteristics of supernatant samples prepared at $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ ultrasonic power density

样品 Sample	苦味 Bitterness	浓厚味 Aftertaste	鲜味 Umami	满口感 Richness	咸味 Saltiness
FP-20-120-t20	$12.87 \pm 0.09\text{ a}$	$-0.34 \pm 0.04\text{ e}$	$-1.64 \pm 0.41\text{ c}$	$-0.75 \pm 0.01\text{ e}$	$2.05 \pm 0.49\text{ a}$
PB-20-120-t20	$12.67 \pm 0.14\text{ a}$	$-0.28 \pm 0.04\text{ e}$	$-1.32 \pm 0.43\text{ c}$	$-0.79 \pm 0.01\text{ e}$	$2.31 \pm 0.41\text{ a}$
FP-20/28-120-t20	$5.87 \pm 0.57\text{ b}$	$0.50 \pm 0.04\text{ bc}$	$8.60 \pm 0.51\text{ ab}$	$6.29 \pm 0.19\text{ bc}$	$-13.41 \pm 0.23\text{ c}$
FP-20/40-120-t20	$6.03 \pm 0.86\text{ b}$	$0.64 \pm 0.05\text{ a}$	$9.19 \pm 0.47\text{ a}$	$5.90 \pm 0.12\text{ d}$	$-12.58 \pm 0.28\text{ b}$
FP-28/40-120-t20	$6.06 \pm 0.62\text{ b}$	$0.56 \pm 0.03\text{ b}$	$8.76 \pm 0.49\text{ ab}$	$6.09 \pm 0.12\text{ cd}$	$-13.13 \pm 0.34\text{ bc}$
FP-20/28/40-120-t20	$5.77 \pm 0.53\text{ b}$	$0.48 \pm 0.02\text{ cd}$	$8.08 \pm 0.06\text{ b}$	$6.42 \pm 0.15\text{ b}$	$-14.27 \pm 0.18\text{ d}$
FP-20/40/28-120-t20	$5.35 \pm 0.55\text{ b}$	$0.42 \pm 0.02\text{ d}$	$8.79 \pm 0.56\text{ ab}$	$6.72 \pm 0.11\text{ a}$	$-13.72 \pm 0.40\text{ cd}$

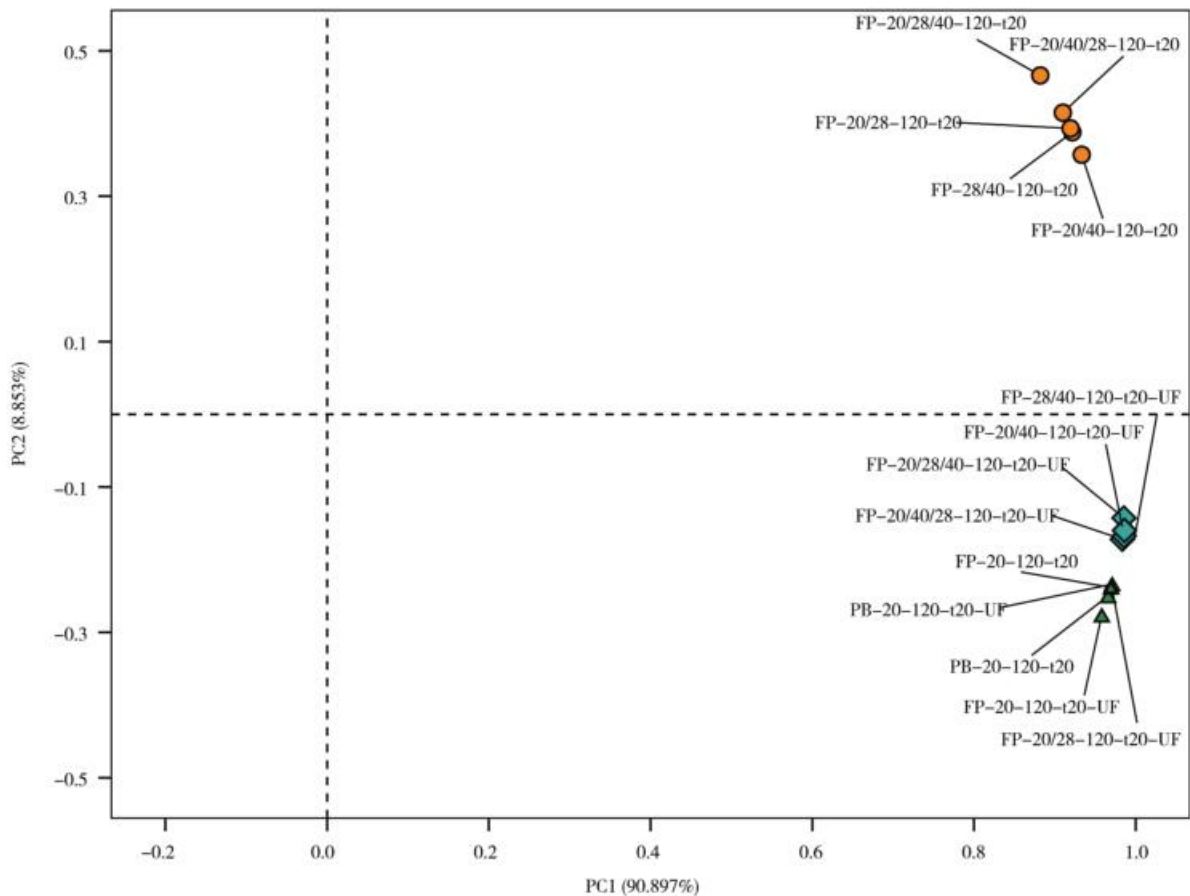
电子舌评价数值为平均值 $\pm$ 标准差($n=3$); 同一列中不同小写英文字母表示组间差异具有显著性($P<0.05$)
Values are means $\pm$ SD ($n=3$); different lowercase letters assigned to values in the same column indicate a significant difference at $P<0.05$

表 4 功率密度 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 超声处理制备的大球盖菇超滤液肽基料呈味特性
Table 4 Taste characteristics of ultrafiltrate samples prepared at $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ ultrasonic power density

样品 Sample	苦味 Bitterness	浓厚味 Aftertaste	鲜味 Umami	满口感 Richness	咸味 Saltiness
FP-20-120-t20-UF	$12.25 \pm 0.06\text{ bcd}$	$-0.24 \pm 0.01\text{ a}$	$-0.55 \pm 0.02\text{ c}$	$-0.79 \pm 0.01\text{ b}$	$3.45 \pm 0.51\text{ a}$
PB-20-120-t20-UF	$11.81 \pm 0.21\text{ de}$	$-0.32 \pm 0.03\text{ bc}$	$-0.16 \pm 0.04\text{ a}$	$-0.80 \pm 0.01\text{ b}$	$3.42 \pm 0.51\text{ a}$
FP-20/28-120-t20-UF	$11.47 \pm 0.20\text{ e}$	$-0.28 \pm 0.01\text{ ab}$	$-0.43 \pm 0.03\text{ b}$	$-0.81 \pm 0.03\text{ b}$	$3.60 \pm 0.69\text{ a}$
FP-20/40-120-t20-UF	$12.37 \pm 0.41\text{ bc}$	$-0.36 \pm 0.04\text{ cd}$	$-0.87 \pm 0.06\text{ e}$	$-0.16 \pm 0.04\text{ a}$	$0.61 \pm 0.05\text{ d}$
FP-28/40-120-t20-UF	$12.66 \pm 0.52\text{ b}$	$-0.46 \pm 0.03\text{ e}$	$-1.84 \pm 0.04\text{ g}$	$-0.15 \pm 0.02\text{ a}$	$0.53 \pm 0.03\text{ d}$
FP-20/28/40-120-t20-UF	$11.92 \pm 0.19\text{ cde}$	$-0.37 \pm 0.04\text{ cd}$	$-1.13 \pm 0.04\text{ f}$	$-0.19 \pm 0.05\text{ a}$	$1.66 \pm 0.25\text{ c}$
FP-20/40/28-120-t20-UF	$13.33 \pm 0.09\text{ a}$	$-0.41 \pm 0.02\text{ d}$	$-0.68 \pm 0.02\text{ d}$	$-0.19 \pm 0.06\text{ a}$	$2.45 \pm 0.11\text{ b}$

注同表 3
Footnotes as in Table 3

由图 5 可知, 基于 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 功率密度超声处理制备肽基料呈味特性做 PCA, 将超声处理制备的大球盖菇肽基料(表 2)进行了有效区分(功率密度 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 超声处理制备的大球盖菇肽基料因未产生愉悦呈味特性, 不做 PCA)。分布在第一象限的肽基料是具有鲜味、满口感和浓厚味呈味特性的上清液肽基料, 而分布在第四象限的是具有咸味呈味特性的超滤液肽基料。综上所述, $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 功率密度、多频组合超声处理制备的大球盖菇上清液肽基料呈现鲜味呈味特性, 适合开发增鲜基料; $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 功率密度、单频/多频超声处理制备的超滤液肽基料呈咸味呈味特性, 适合开发减盐增咸基料。

图 5 功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 超声处理制备大球盖菇肽基料呈味特性主成分分析图Fig.5 PCA analysis of taste characteristics of peptide samples prepared at $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ ultrasonic power density

2.3 肽基料抗氧化活性和ACE抑制效果

由表5可知,功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 超声处理制备的大球盖菇超滤液肽基料,FP-20/28-120-t20-UF肽基料DPPH自由基清除率优于其他超声处理制备超滤液肽基料($P < 0.05$);顺序双频组合平板超声处理制备超滤液肽基料(FP-20/28-120-t20-UF,FP-20/40-120-t20-UF,FP-28/40-120-t20-UF)DPPH自由基清除率,均高于20 kHz单频平板超声处理制备超滤液肽基料(FP-20-120-t20-UF);顺序三频组合超声处理制备超滤液肽基料(FP-20/28/40-120-t20-UF,FP-20/40/28-120-t20-UF)DPPH自由基清除效果不及同功率密度单/双频组合超声处理制备超滤液肽基料($P < 0.05$)。在相同超声功率密度及频率组合处理条件下,均是聚能超声处理制备的超滤液肽基料DPPH自由基清除率,优于平板超声处理制备超滤液肽基料($P < 0.05$),如PB-20-120-t20-UF和FP-20-120-t20-UF,PB-S20/28-300-t20-UF和FP-S20/28-300-t20-UF。

功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 超声处理制备的大球盖菇超滤液肽基料,FP-20/28-120-t20-UF肽基料的ABTS自由基清除效果最优($P < 0.05$),其次是FP-28/40-120-t20-UF肽基料和FP-20/28/40-120-t20-UF肽基料,两者的ABTS自由基清除效果相当($P > 0.05$);多频组合平板超声处理制备超滤肽基料(FP-20/28-120-t20-UF,FP-20/40-120-t20-UF,FP-28/40-120-t20-UF,FP-20/28/40-120-t20-UF,FP-20/40/28-120-t20-UF)的ABTS自由基清除率,均高于单频平板超声处理制备肽基料(FP-20-120-t20-UF)。同样,在相同超声功率密度及频率组合处理条件下,聚能超声处理制备的超滤肽基料ABTS自由基清除率,优于平板超声处理制备超滤液肽基料($P < 0.05$),该结果与DPPH自由基清除效果具有一致性。

表 5 超声处理制备超滤液肽基料的抗氧化活性
Table 5 Antioxidant activity of ultrafiltrate samples prepared by ultrasound

样品 Sample	DPPH 自由基清除率 DPPH scavenging rate/%	总抗氧化(DPPH)能力 Total antioxidant (DPPH) capacity/ (mg VC · g ⁻¹)	ABTS 自由基清除率 ABTS scavenging rate / %	总抗氧化(ABTS)能力 Total antioxidant (ABTS) capacity/(mg VC · g ⁻¹)
FP-20-120-t20-UF	52.92 ± 2.59 de	6.62	57.95 ± 1.11 e	37.83
PB-20-120-t20-UF	60.89 ± 2.39 c	7.60	71.65 ± 2.48 c	46.92
FP-20/28-120-t20-UF	77.99 ± 4.36 a	8.99	82.33 ± 1.04 a	54.01
FP-20/40-120-t20-UF	71.50 ± 2.88 b	8.25	59.35 ± 2.35 e	38.76
FP-28/40-120-t20-UF	57.25 ± 3.07 cd	6.63	78.94 ± 1.01 b	51.76
FP-20/28/40-120-t20-UF	44.53 ± 2.32 f	5.18	76.73 ± 1.25 b	50.29
FP-20/40/28-120-t20-UF	50.38 ± 2.19 e	5.85	64.06 ± 2.08 d	41.89
FP-S20/28-300-t20-UF	58.27 ± 2.62 cd	6.75	59.31 ± 1.91 e	44.04
PB-S20/28-300-t20-UF	73.41 ± 3.67 ab	8.47	69.18 ± 1.88 c	51.47

总抗氧化(DPPH)能力计算采用的 VC 标准曲线: $y = 3.4545x - 0.0081$, $R^2 = 0.9997$; 总抗氧化(ABTS)能力计算采用的 VC 标准曲线: $y = 4.0912x + 0.0066$, $R^2 = 0.9991$; DPPH 和 ABTS 自由基清除率数值为平均值 $\pm$ 标准差 ($n=3$); 同一列中不同小写英文字母表示组间差异具有显著性 ($P<0.05$)
The standard curve used to calculate total antioxidant capacity using DPPH and vitamin C was $y = 3.4545x - 0.0081$ ($R^2 = 0.9997$); the standard curve used to calculate total antioxidant capacity using ABTS and vitamin C was $y = 4.0912x + 0.0066$ ($R^2 = 0.9991$); DPPH and ABTS scavenging rates are means in percentage $\pm$ SD ($n=3$); different lowercase letters assigned to scavenging rates in the same column indicate a significant difference at $P<0.05$

由表 6 可知, 同功率密度和频率组合下聚能超声模式处理制备的大球盖菇超滤液肽基料 ACE 抑制效果优于平板超声模式处理制备肽基料的 ACE 抑制效果(PB-20-120-t20-UF 和 FP-20-120-t20-UF 之间比较, PB-S20/28-300-t20-UF 和 FP-S20/28-300-t20-UF 之间比较); 在功率密度 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、多频组合平板超声模式处理制备的肽基料中, FP-20/28/40-120-t20-UF 肽基料的 ACE 抑制效果最优, FP-20/28-120-t20-UF、FP-28/40-120-t20-UF 和 FP-20/40/28-120-t20-UF 肽基料的 ACE 抑制效果相当; 功率密度 $300\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、20/28 kHz 同步双频组合的聚能超声模式处理制备的超滤液肽基料(PB-S20/28-300-t20-UF) IC_{50} 值最低, 说明此高功率密度结合同步多频超声处理条件, 有利于提升超滤液肽基料的 ACE 抑制效果; 超声处理制备的超滤液肽基料, 在溶液浓度 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, ACE 抑制率可达到 85% 以上。

表 6 超声制备超滤液肽基料的 ACE 抑制活性
Table 6 ACE inhibitory activity of ultrafiltrate samples prepared by ultrasound

样品 Sample	$\text{IC}_{50}/$ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	ACE 抑制曲线拟合公式 ACE inhibition rate fitting formula
FP-20-120-t20-UF	0.099	$y = 24.677\ln(x) + 79.931$, $R^2 = 0.9284$
PB-20-120-t20-UF	0.085	$y = 20.925\ln(x) + 78.634$, $R^2 = 0.9678$
FP-20/28-120-t20-UF	0.071	$y = 17.759\ln(x) + 77.544$, $R^2 = 0.9894$
FP-20/40-120-t20-UF	0.119	$y = 19.307\ln(x) + 69.836$, $R^2 = 0.9805$
FP-28/40-120-t20-UF	0.068	$y = 19.456\ln(x) + 80.818$, $R^2 = 0.9921$
FP-20/28/40-120-t20-UF	0.041	$y = 15.554\ln(x) + 82.538$, $R^2 = 0.9045$
FP-20/40/28-120-t20-UF	0.068	$y = 20.367\ln(x) + 82.498$, $R^2 = 0.9929$
FP-S20/28-300-t20-UF	0.069	$y = 22.152\ln(x) + 84.893$, $R^2 = 0.9233$
PB-S20/28-300-t20-UF	0.037	$y = 16.294\ln(x) + 85.680$, $R^2 = 0.9681$

综上所述, 超声处理制备的大球盖菇超滤液肽基料, 在相同功率密度及频率组合超声处理制备条件下, 均是聚能超声模式优于平板超声模式, 这与聚能超声在作用区域内瞬时空化易产生更多数量的活性肽有关。功率密度 $120\text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ 、20/28 kHz 顺序双频组合的平板超声处理模式下制备的超滤肽基料

DPPH 和 ABTS 自由基清除抗氧化活性均最高 ($P < 0.05$), 超声频率组合对超声处理制备的肽基料抗氧化活性的影响及其作用机制值得进一步探究。

功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 、20/28 kHz 同步双频组合聚能超声处理模式和功率密度 $120 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 、20/28/40 kHz 顺序三频组合的平板超声处理模式处理制备的超滤肽基料, 在自由基清除率(前者对 DPPH, 后者对 ABTS)及 ACE 抑制活性上均表现出较优的效果, 超声功率密度与超声频率组合之间产生的协同增效作用机制, 对肽相对分子质量分布、结构及肽分子活性的影响, 有待进一步解析。

2.4 肽基料中肽序列分析

在大球盖菇 FP-S20/28-300-t20-UF 肽基料中, 共鉴定得到 126 种肽(可信度评分 $-10 \lg P > 20$) (图 6)。对 $-10 \lg P > 20$ 的肽段两端氨基酸性质进行统计, 肽段两端疏水氨基酸分析结果表明, N 端疏水氨基酸数量为 49 个, 占比 38.89%; C 端疏水氨基酸数量为 59 个, 占比 46.83%; 两端均为疏水氨基酸的肽有 27 个, 占比 21.43%。De Novo 肽(蛋白序列从头比对预测的新肽)置信度大于 95% 的肽段有 16 种。对 De Novo 肽段两端氨基酸性质进行统计, 肽段两端疏水氨基酸分析结果表明, N 端和 C 端疏水氨基酸数量均为 7 个, 占比 43.75%; 两端均为疏水氨基酸的肽段有 1 个(十二肽), 占比 6.25%。

在大球盖菇 PB-S20/28-300-t20-UF 肽基料中, 共鉴定得到 231 种肽(可信度评分 $-10 \lg P > 20$) (图 6)。对 $-10 \lg P > 20$ 的肽段两端氨基酸性质进行统计, 肽段两端疏水氨基酸分析结果表明, N 端疏水氨基酸数量为 106 个, 占比 45.89%; C 端疏水氨基酸数量为 103 个, 占比 44.59%; 两端均为疏水氨基酸的肽段有 55 个, 占比 23.81%。De Novo 肽置信度大于 95% 的肽有 22 种。对 De Novo 肽段两端氨基酸性质进行统计, 肽段两端疏水氨基酸分析结果表明, N 端疏水氨基酸数量为 13 个, 占比 59.09%; C 端疏水氨基酸数量为 11 个, 占比 50.00%; 两端均为疏水氨基酸的肽段有 6 个(五肽 2 个、六肽 2 个、八肽和十肽各 1 个), 占比 27.27%。

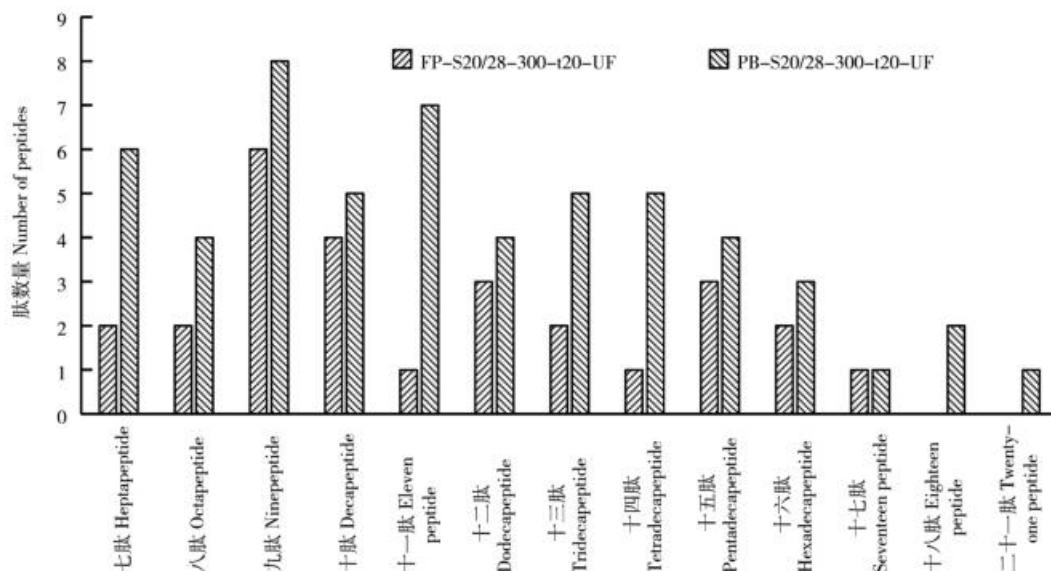


图 6 超声处理制备超滤液肽基料中肽段分布

Fig.6 Distribution of peptides in ultrafiltrate samples prepared by ultrasound

因此, 功率密度 $300 \text{ W} \cdot \text{L}^{-1}$ 、20/28 kHz 同步双频组合的平板超声处理制备的大球盖菇 FP-S20/28-300-t20-UF 肽基料中, 肽段两端疏水氨基酸占比达到 85.72%; 同功率密度和频率组合的聚能超声处理制备的大球盖菇 PB-S20/28-300-t20-UF 肽基料中, 肽段两端疏水氨基酸占比达到 90.48%。大量研究表明, 肽链端存在疏水氨基酸, 其 ACE 抑制效果较优^[22], 因此, 从肽段两端疏水氨基酸分布结果可以解释同功率密度和频率组合的聚能超声处理制备的超滤肽基料比平板超声处理制备的超滤肽基料 ACE 抑制效果较优的原因。

进一步对 FP-S20/28-300-t20-UF 和 PB-S20/28-300-t20-UF 肽基料中共有肽段序列进行分析,

肽段 C、N 端氨基酸分析结果表明,在两种肽基料鉴定得到的共有肽段中,鲜味氨基酸天冬氨酸(D,极性带负电荷酸性氨基酸)和谷氨酸(E,极性带负电荷酸性氨基酸)在 N 端出现的频率较高,其次为丙氨酸(A,非极性疏水氨基酸)和丝氨酸(S,极性亲水氨基酸);C 端出现的频率较高的氨基酸为苯丙氨酸(F,非极性疏水氨基酸)、天冬氨酸(D)、亮氨酸(L,非极性疏水氨基酸)、脯氨酸(P,非极性疏水性氨基酸)和丙氨酸(A)。

对共有肽段氨基酸序列进行比对分析还可以发现,超声作用在 N 端的肽键位点多存在于 L-D、A-I、I-D 和 D-A 等氨基酸之间;在 C 端的肽键作用位点包括 S-D、P-L、R-L 和 D-K 等氨基酸之间(图 7)。由于超声处理可促使大球盖菇结合肽变为游离肽,或大分子游离肽降解为小分子游离肽,上述肽键位点可能是超声作用特征性位点。同时,通过肽段序列比对,可明确小分子肽段产生的前体大分子肽段物质及超声作用产生的特征性肽序列(质谱峰面积较高肽段)。后续,可进一步对超声作用产生的特征性肽序列进行挖掘,同时基于蛋白组学及生物信息学,将特征性肽序列与物种蛋白序列进行比对,为更好地理解及解析超声作用产生特定肽序列机制奠定基础。

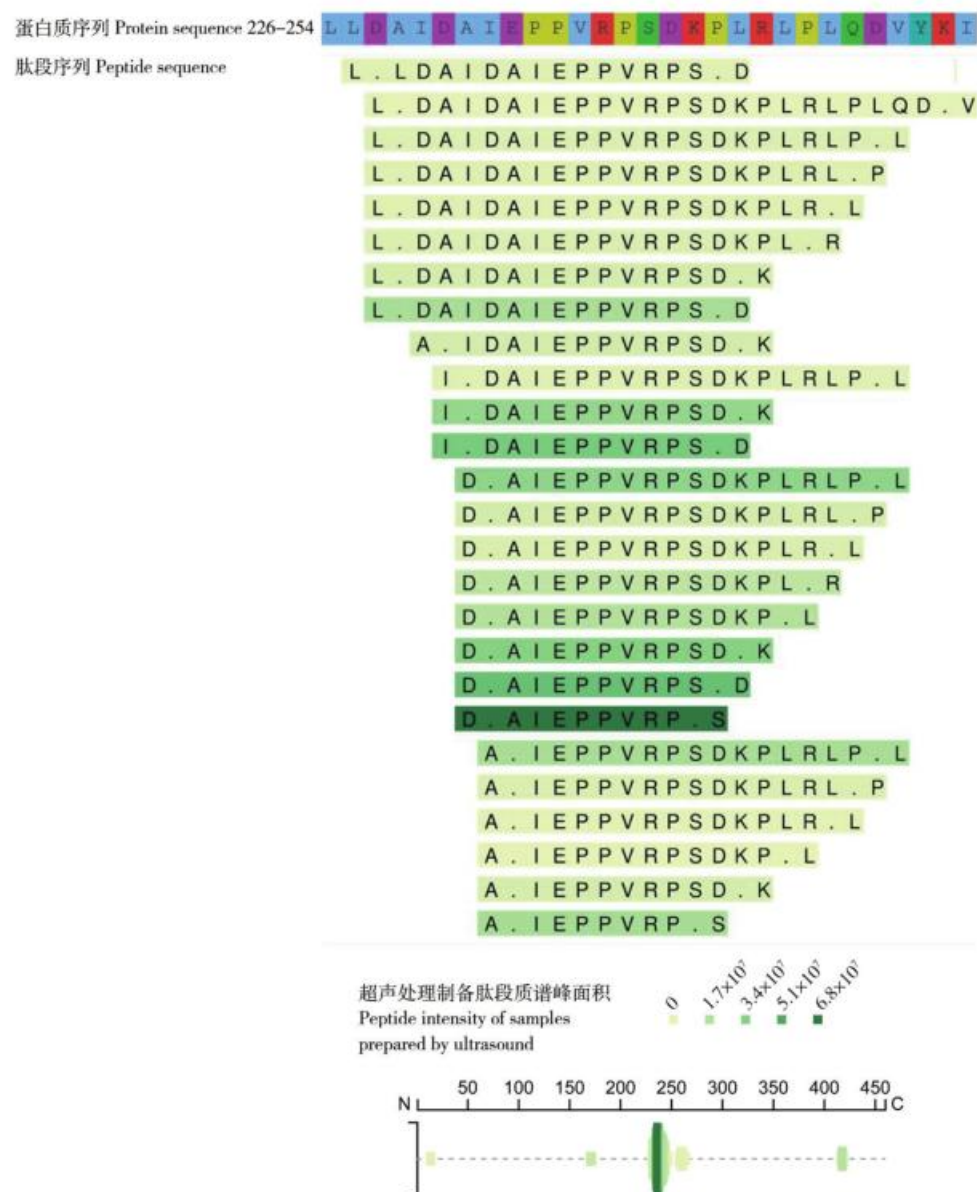


图 7 超声处理制备大球盖菇超滤液肽基料肽序列分析

Fig.7 Sequence analysis of peptides in ultrafiltrate samples prepared by ultrasound

3 讨论

与未经超声处理的子实体中肽含量相比,超声处理促进了更多肽段产生,大球盖菇基料中的肽含量较高。超声处理制备的大球盖菇肽基料具有咸鲜味呈味特性,在减盐增鲜风味基料开发上有潜在的应用价值。超声处理显著影响了肽段活性,超声功率密度、超声频率组合之间产生协同增效作用,如“低功率密度+顺序多频组合”、“高功率密度+同步多频组合”。超声作用易促使肽段端产生疏水氨基酸,且存在超声倾向性作用的肽键位点。

超声技术在辅助解冻水产品、保持产品风味方面发挥了重要作用,多频超声处理可以加速样品解冻过程,保留较多的风味成分和改善样品品质^[23-24]。超声技术通过诱导蛋白质结构展开,暴露蛋白裂解位点从而加速蛋白质水解,在深度开发蛋白质资源及辅助制备生物活性肽方面提供了新的途径^[20]。超声技术可用于低盐食品加工,在食品腌渍过程中增加盐的扩散和渗透传质,减少食盐添加量,增强食品醇厚感,为提升食品风味和减盐策略提供方法和新的研究思路^[25]。本研究通过探讨超声技术处理制备大球盖菇肽基料的呈味特性及生物活性,分别获得了呈味特性愉悦和生物活性较好的大球盖菇肽基料超声处理制备工艺参数,这对于挖掘兼具药理活性和愉悦感官特性的大球盖菇风味活性肽,具有参考价值。未来可基于此研究基础,开展更多的超声功率密度、超声频率组合研究,探究超声技术处理制备肽基料的更多可行性方案。同时,在超声处理制备肽基料的过程中,超声是如何影响蛋白质结构、靶向性作用于蛋白质序列产生生物活性肽和食品感官肽、肽的风味和活性如何兼备等科学问题,仍需进一步探究及解析。

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.
- [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.
- [3] 方聪,刘怡雪,黎四芳. 新型超高甜度二肽甜味剂爱德万甜的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(2): 128-136.
- [4] ZHUANG MZ, LIN LZ, ZHAO MM, *et al.* Sequence, taste and umami-enhancing effect of the peptides separated from soy sauce[J]. Food Chemistry, 2016, 206: 174-181.
- [5] CHEN YP, WANG MN, BLANK I, *et al.* Saltiness-enhancing peptides isolated from the Chinese commercial fermented soybean curds with potential applications in salt reduction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(35): 10272-10280.
- [6] 于弋涵,杜伟宁,胡秋辉,等. 酶法水解猴头菇多肽的生物活性[J]. 食品科学, 2021, 42(21): 119-127.
- [7] 钱磊,张志军,周永斌,等. 酶法水解滑菇蛋白制备抗氧化肽的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 72-76.
- [8] 孙亚男,李文香,胡欣蕾. 杏鲍菇菌丝体多肽的免疫活性及抗肿瘤作用[J]. 现代食品科技, 2017, 33(5): 20-26.
- [9] JANG JH, JEONG SC, KIM JH, *et al.* Characterisation of a new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *Pleurotus cornucopiae*[J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 412-418.
- [10] GENG X, TIAN G, ZHANG W, *et al.* A *Tricholoma matsutake* peptide with angiotensin converting enzyme inhibitory and antioxidative activities and antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 24130.
- [11] 刘虎. 5种食用菌生物活性肽对高强度运动耐力训练中生化指标的影响[J]. 中国食用菌, 2020, 39(4): 43-45.
- [12] 党仪安,王文亮,弓志青,等. 食用菌生物活性肽制备及功能活性研究进展[J]. 食品工业, 2019, 40(8): 228-231.
- [13] XU XD, XU R, SONG Z, *et al.* Identification of umami-tasting peptides from *Volvariella volvacea* using ultra performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry and sensory-guided separation techniques[J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1596: 96-103.
- [14] 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 Research International, 2019, 121: 463-470.
- [15] 李晓明, 黄占旺, 徐明生, 等. 白玉菇中鲜味肽的分离鉴定及呈味特性分析[J]. 食品科学, 2021, 42(24): 252-260.
- [16] 梁佳明, 王肖肖, 张蓝云, 等. 兰茂牛肝菌菌柄和菌盖中鲜味成分的分析及菌盖中鲜味肽的鉴定[J]. 食品科学, 2021, 42(22): 232-239.
- [17] FENG T, WU Y, ZHANG ZW, *et al.* Purification, identification, and sensory evaluation of kokumi peptides from *Agaricus bisporus* mushroom[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2019, 8(2): 43.
- [18] HEIDARI H, GHANBARI-RAD S, HABIBI E. Optimization deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted liquid-liquid microextraction by using the desirability function approach for extraction and preconcentration of organophosphorus pesticides from fruit juice samples[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2020, 87: 103389.
- [19] BRUNO ROMANINI E, MISTURINI RODRIGUES L, FINGER A, *et al.* Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from BRS Violet grape pomace followed by alginate-Ca²⁺ encapsulation[J]. Food Chemistry, 2021, 338: 128101.
- [20] ULUG SK, JAHANDIDEH F, WU JP. Novel technologies for the production of bioactive peptides[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 108: 27-39.
- [21] SHOKRI S, SHEKARFOROUSH SS, HOSSEINZADEH S. Stimulatory effects of low intensity ultrasound on the growth kinetics and metabolic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*[J]. Process Biochemistry, 2020, 89: 1-8.
- [22] 贾俊强. 超声对酶法制备小麦胚芽ACE抑制肽的影响及其作用机理[D]. 镇江: 江苏大学, 2009.
- [23] BIAN CH, CHENG H, YU HJ, *et al.* Effect of multi-frequency ultrasound assisted thawing on the quality of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 82: 105907.
- [24] WANG YY, YAN JK, RASHID MT, *et al.* Dual-frequency sequential ultrasound thawing for improving the quality of quick-frozen small yellow croaker and its possible mechanisms[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 68: 102614.
- [25] 陕怡萌, 蒲丹丹, 张玉玉, 等. 食品减盐方法研究进展[J/OL]. 食品科学: 1-15 [2022-01-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210709.1800.022.html>.

[中文编辑] 马丹丹

[英文编辑] 费理文