

# 鸡枞菌粗蛋白超声辅助提取工艺优化 及其抗氧化活性

刘 静, 李湘利\*, 魏海香, 赵 敏, 薛丽萍, 王雪萍

(济宁学院生命科学与工程系, 济宁市特色农产品高值化加工工程技术研究中心, 山东曲阜 273155)

**摘要:**以鸡枞菌为原料, 以蛋白提取率为指标, 采用单因素实验和正交实验, 优化了超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白的工艺条件, 并探讨了鸡枞菌粗蛋白对 ABTS<sup>+</sup>·、DPPH·、O<sub>2</sub>·自由基的清除能力。结果表明: 鸡枞菌粗蛋白提取的最佳条件为超声功率 400 W、超声温度 70 ℃、超声时间 1.5 h、pH11、料液比 1:25 g/mL, 此条件下蛋白质含量为 86.525% ± 1.315%, 蛋白提取率为 67.322% ± 1.028%。鸡枞菌粗蛋白对 ABTS<sup>+</sup>·、DPPH·和 O<sub>2</sub>·三种自由基均有清除作用, 其 IC<sub>50</sub> 分别为 46.322、61.176 和 151.250 mg/L, 但自由基的清除能力明显低于同浓度 V<sub>c</sub> 的清除能力。因此, 超声波辅助适用于鸡枞菌粗蛋白的提取, 所得粗蛋白具有抗氧化活性, 该研究可为鸡枞菌高值化加工与利用提供理论依据。

**关键词:**鸡枞菌, 粗蛋白, 超声波辅助提取, 抗氧化性

## Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction Process of Crude Protein from *Termitomyces albuminosus* and Its Antioxidant Activity

LIU Jing, LI Xiang-li\*, WEI Hai-xiang, ZHAO Min, XUE Li-ping, WANG Xue-ping

(Department of Life Science and Engineering, Jining University, Jining Engineering and Technology Research Center for Special Agricultural Products High Value Processing, Qufu 273155, China)

**Abstract:** Using *Termitomyces albuminosus* as experimental materials, the optimum conditions of ultrasonic-assisted extraction from *Termitomyces albuminosus* with the extraction rate of protein as index were studied through the method of single factor and orthogonal experiments. The crude protein's antioxidant activities of ABTS<sup>+</sup>·, DPPH· and O<sub>2</sub>· radical scavenging assays were also investigated in this paper. The results showed that the optimum extraction conditions were ultrasonic power 400 W, ultrasonic temperature 70 ℃, ultrasonic time 1.5 h, pH11 and solid-to-solvent ratio 1:25 g/mL, respectively. The extraction rate of crude protein could reach up to 67.322% ± 1.028% and the content of protein was 86.525% ± 1.315% under these conditions. *Termitomyces albuminosus* crude protein had a certain antioxidant activity. The scavenging ability of ABTS<sup>+</sup>·, DPPH· and O<sub>2</sub>· free radical IC<sub>50</sub> (half maximal inhibitory concentration) value were separately 46.322, 61.176 and 151.250 mg/L. The free radical scavenging capacity of *Termitomyces albuminosus* protein was lower than that of V<sub>c</sub>'s ability to remove them. Therefore, the ultrasonic-assisted technology was suitable for crude protein extraction from *Termitomyces albuminosus* and the protein had antioxidant activity. The study provided a theoretical basis for high value processing of *Termitomyces albuminosus*.

**Key words:** *Termitomyces albuminosus*; crude protein; ultrasonic-assisted extraction; antioxidant activities

中图分类号: TS201.2 文献标识码: B 文章编号: 1002-0306(2019)10-0221-06

doi: 10.13386/j. issn1002-0306. 2019. 10. 036

引文格式: 刘静, 李湘利, 魏海香, 等. 鸡枞菌粗蛋白超声辅助提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(10): 221-226.

鸡枞菌(*Termitomyces albuminosus*)又称伞把菇、鸡脚麟菇, 为担子菌纲口蘑科白蚁菌属<sup>[1]</sup>, 菌柄具有纤维结构、色泽似鸡肉, 食之有鸡肉香味, 故名鸡枞<sup>[2]</sup>。鸡枞菌主要分布于亚非等热带及南太平洋岛屿的亚热带地区, 我国主产于福建、台湾和云贵川等地, 是一种营养丰富、风味独特的食用菌<sup>[3]</sup>, 其子实体

蛋白质含量极高, 超过诸多食用菌蛋白质含量, 且人体必需氨基酸占总量的 15.15%<sup>[4]</sup>。鸡枞菌还有较高的医疗保健效果, 可疗痔止血、健脾和胃, 抵制癌细胞, 降低血糖, 抗衰老、增强机体免疫力等<sup>[5]</sup>。

食用菌多糖、蛋白含量较高, 是现代生活中的健康食品<sup>[6]</sup>。以植物性蛋白为原料制备活性肽是近年

收稿日期: 2018-09-03

作者简介: 刘静(1980-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 园艺产品资源开发与利用, E-mail: liujingpretty@163.com。

\* 通讯作者: 李湘利(1979-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 生鲜食品贮运与深加工技术, E-mail: lixiangli221@yeah.net。

基金项目: 国家星火计划项目(2015GA740023)。

来国内外研究的热点,如何提高蛋白提取率是活性肽制备的技术关键<sup>[7]</sup>。常见蛋白质提取方法主要有酶法<sup>[8]</sup>、微波法<sup>[9]</sup>、碱法<sup>[10]</sup>、热水浸提法<sup>[11]</sup>、超声波法<sup>[12]</sup>等。与传统方法相比,超声波提取通过超声波与介质间的相互作用,形成热效应和空穴效应,且不受分子量和极性的限制,具有成本低、提取率高、能耗少、提取纯度好等优点<sup>[13]</sup>。目前,关于鸡枞菌的研究主要集中于栽培驯化<sup>[14]</sup>、多糖<sup>[15]</sup>与多酚<sup>[16]</sup>提取、贮运保鲜<sup>[17]</sup>、营养成分测定<sup>[18]</sup>、酶解液制备<sup>[19]</sup>及调味料加工<sup>[20]</sup>等方面,而关于鸡枞菌蛋白提取的研究报道较少。为此,本实验以鸡枞菌为原料,采用超声波辅助提取的方法,研究了鸡枞菌粗蛋白的提取工艺条件,同时测定了鸡枞菌粗蛋白对ABTS<sup>+</sup>、DPPH<sup>·</sup>、O<sub>2</sub><sup>·</sup>等常见自由基的清除能力,以期为鸡枞菌高值化加工提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

鸡枞菌 购于金乡县联盛菌业科技有限公司,采后削根于37℃烘干至恒重后粉碎,过40目筛备用;考马斯亮蓝G250 国药集团化学试剂有限公司;牛血清白蛋白(BR) 上海伯奥生物科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) Sigma分装;2,2'-联氨基-双(3-乙基苯丙噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS) Amresco分装;焦性没食子酸、过硫酸钾 天津市大茂化学试剂厂;Tris(三氨基甲烷) 天津市博迪化工有限公司。

XH-300B型电脑微波超声波组合合成/萃取仪 北京祥鹄科技发展有限公司;723PC分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司;FA2004N电子天平 上海精密科技仪器有限公司;FCD2000恒温鼓风干燥箱 上海琅玕实验设备有限公司;TDL-60B低速台式离心机 长沙英泰公司;PHS-3C pH计 上海仪电科学仪器股份有限公司;LCJ-10冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂;FW135中草药粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 蛋白提取率的测定 采用考马斯亮蓝G250法测定蛋白质含量。分别吸取0.1 mg/mL牛血清白蛋白标准溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL于试管中,补加蒸馏水至1.0 mL后,加入考马斯亮蓝G250试剂5.0 mL后摇匀静置3 min,于595 nm测定吸光度,以吸光度为纵坐标,牛血清白蛋白含量(mg/mL)为横坐标绘制标准曲线,所得回归方程为y=0.0018x+0.0246,R<sup>2</sup>=0.9916,线性范围0~300 μg/mL,计算鸡枞菌蛋白的提取总量(m<sub>1</sub>)。采用凯氏定氮法GB5009.5-2010测定鸡枞菌粗蛋白含量(m<sub>0</sub>),计算鸡枞菌蛋白提取率<sup>[21]</sup>。

$$\text{蛋白提取率}(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

1.2.2 鸡枞菌粗蛋白提取工艺流程 鸡枞菌粉→超声波辅助碱法提取→离心(3000 r/min,15 min)→取上清液→测定蛋白提取率→酸沉(1 mol/L的HCl溶液调至pH 4.0)→离心(4000 r/min,15 min)→取沉淀→水洗(至pH 7.0)→减压干

燥(-80℃,1.4 MPa,24 h)→粗蛋白粉。

### 1.2.3 单因素实验设计

1.2.3.1 超声功率对鸡枞菌蛋白提取率的影响 在超声时间1.0 h,超声温度60℃,料液比1:30 g/mL,用pH8的NaOH溶液提取,考察超声功率(300、400、500、600、700 W)对鸡枞菌蛋白提取率的影响。

1.2.3.2 超声温度对鸡枞菌蛋白提取率的影响 在超声时间1.0 h,超声功率500 W,料液比1:30 g/mL,用pH8的NaOH溶液提取,考察超声温度(40、50、60、70、80℃)对鸡枞菌蛋白提取率的影响。

1.2.3.3 pH对鸡枞菌蛋白提取率的影响 在超声时间1.0 h,超声温度70℃,超声功率500 W,料液比1:30 g/mL,用0.1 mol/L的NaOH调整提取液pH,考察pH(8、9、10、11、12)对鸡枞菌蛋白提取率的影响。

1.2.3.4 料液比对鸡枞菌蛋白提取率的影响 在超声时间1.0 h,超声温度70℃,超声功率500 W,用pH11的NaOH溶液提取,考察料液比(1:20、1:25、1:30、1:35、1:40 g/mL)对鸡枞菌蛋白提取率的影响。

1.2.3.5 超声时间对鸡枞菌蛋白提取率的影响 在超声温度70℃,超声功率500 W,用pH11的NaOH溶液提取,料液比1:25 g/mL,考察超声时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h)对鸡枞菌蛋白提取率的影响。

1.2.4 正交实验 根据单因素实验结果,以蛋白提取率为指标,选取超声功率(A)、超声温度(B)、pH(C)、超声时间(D)四个因素设计L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验,实验因素与水平见表1。

表1 正交实验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A 超声功率 (W)	B 超声温度 (℃)	C pH	D 超声时间 (h)
1	400	50	9	0.5
2	500	60	10	1.0
3	600	70	11	1.5

1.2.5 超声波辅助与常规提取鸡枞菌粗蛋白的比较 参照文献[21]的方法,在料液比1:25 g/mL、pH11、温度70℃下提取1.5 h,提取鸡枞菌粗蛋白,与正交实验最优实验结果对比,比较超声波辅助提取与常规方法的提取效果。

### 1.2.6 自由基清除能力的测定

1.2.6.1 ABTS<sup>+</sup>·自由基清除能力的测定 用2.45 mmol/L过硫酸钾配制备7 mmol/L ABTS<sup>+</sup>·储备液,避光静置12 h。用10 mmol/L磷酸缓冲液(pH7.4)稀释ABTS<sup>+</sup>·储备液,使其在734 nm吸光值为0.7±0.02;将鸡枞菌蛋白稀释成20、40、60、80、100、120 mg/L,吸取3 mL蛋白稀释液于试管中,加入12 mL ABTS<sup>+</sup>·测试液,摇匀后室温避光反应5 min,以95%乙醇为参比,于734 nm测吸光度(A<sub>1</sub>);同时测定以95%乙醇代替鸡枞菌蛋白提取液的吸光度(A<sub>0</sub>),以相同浓度梯度V<sub>c</sub>作对照,计算ABTS<sup>+</sup>·清除率<sup>[22]</sup>。

$$\text{ABTS}^+ \text{清除率} (\%) = \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

1.2.6.2 DPPH·自由基清除能力的测定 将鸡枞菌蛋白稀释成10、20、30、40、50、60 mg/L,吸取鸡枞菌蛋白稀释液6 mL于试管中,加入6 mL 0.01 mmol/L DPPH·溶液,摇匀室温避光反应30 min,以无水乙醇为参比,于517 nm 测定吸光度( $A_1$ );同时测定以6 mL无水乙醇代替鸡枞菌蛋白提取液的吸光度( $A_2$ ),以6 mL无水乙醇代替DPPH的吸光度( $A_3$ );以相同浓度梯度 $V_c$ 作对照,计算DPPH·清除率<sup>[23]</sup>。

$$\text{DPPH 清除率} (\%) = \left( 1 - \frac{A_1 - A_3}{A_2} \right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.6.3  $\text{O}_2^-$ ·自由基清除能力的测定 将鸡枞菌蛋白稀释成20、40、60、80、100、120 mg/L,在各试管中加入3 mmol/L 邻苯三酚溶液0.3 mL,再分别加入2 mL鸡枞菌蛋白稀释液和6.7 mL Ttis-HCl缓冲液(pH8.3),以蒸馏水为参比,于325 nm 波长下每30 s 测定吸光度,连续测定6 min,以时间为横坐标,吸光度为纵坐标进行线性回归所得直线斜率为反应速率 $\Delta A_1$ 、 $\Delta A_0$ <sup>[24]</sup>。

$$\text{O}_2^- \text{清除率} (\%) = \left( \frac{\Delta A_0 - \Delta A_1}{\Delta A_0} \right) \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: $\Delta A_0$  为邻苯三酚的自氧化法速率; $\Delta A$  为加入酶解液后邻苯三酚自氧化法速率(单位均为吸光度每分钟的增加值)。

### 1.3 数据处理

采用IBM SPSS Statistics 22.0 软件对实验结果进行统计分析,应用Microsoft Excel 2003 的FORECAST函数计算清除50%自由基所需鸡枞菌蛋白浓度( $\text{IC}_{50}$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

2.1.1 超声功率对鸡枞菌蛋白提取率的影响 由图1可知,随超声功率升高,蛋白提取率呈先升高后降低的变化趋势;功率500 W时蛋白提取率最大,可达26.970% ± 0.666%,且与其他组差异显著( $p < 0.05$ )。由于超声功率的增加,超声波的机械效应和空穴效应增大,增加了对细胞壁的破碎作用,蛋白提取率增加;但功率过高也会导致泡沫产生,增加衍射衰减,不利于空穴现象的产生<sup>[25]</sup>。因此,超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白的功率在500 W左右。

2.1.2 超声温度对鸡枞菌蛋白提取率的影响 由图2可知,随超声温度的升高,蛋白提取率呈先升高后降低的变化趋势;超声70 ℃时蛋白提取率最大,可达37.049% ± 0.631%,且与其他组差异显著( $p < 0.05$ )。因为温度升高可提高蛋白质溶解度,超声空化效应增强;当温度过高时,蛋白质会出现变性现象,空间构象被破坏,蛋白质疏水基团暴露,分子间相互结合而沉淀,溶解度下降<sup>[26]</sup>。所以,超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白的温度在70 ℃左右。

2.1.3 pH对鸡枞菌蛋白提取率的影响 由图3可知,随pH升高,蛋白提取率呈先升高后降低的变化趋势;pH11时蛋白提取率最大,可达52.305% ±

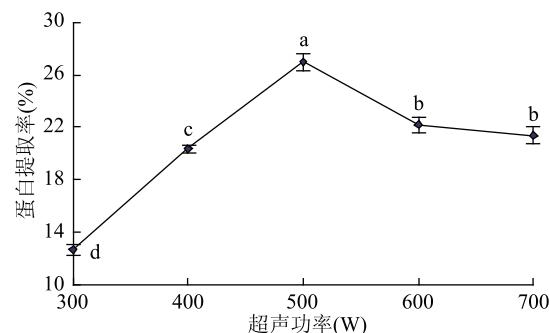


图1 超声功率对鸡枞菌蛋白提取率的影响

Fig.1 Effects of ultrasonic power on extraction rate of protein from *Termitomyces albuminosus*

注:图中不同小写字母表示各组数据差异显著( $p < 0.05$ ),图2~图5同。

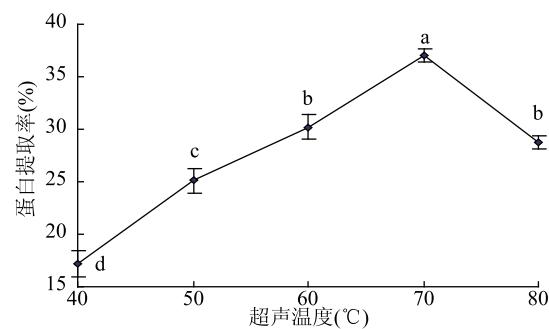


图2 超声温度对鸡枞菌蛋白提取率的影响

Fig.2 Effects of ultrasonic temperature on extraction rate of protein from *Termitomyces albuminosus*

0.589%,且与其他组差异显著( $p < 0.05$ )。因为适当升高pH,蛋白质溶解度增大,但碱性太强时,蛋白质可能会出现变性和水解<sup>[21]</sup>,增加了美拉德反应速度,加之蛋白质可能出现异味,发生颜色变化,外观质量下降<sup>[27]</sup>,故超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白的pH在11左右。

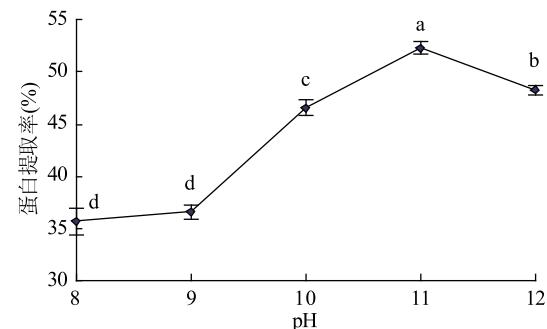


图3 pH对鸡枞菌蛋白提取率的影响

Fig.3 Effects of pH on extraction rate of protein from *Termitomyces albuminosus*

2.1.4 料液比对鸡枞菌蛋白提取率的影响 由图4可知,随料液比增大,蛋白提取率呈先升高后降低的变化趋势;料液比为1:25 g/mL时蛋白提取率最大,可达52.271% ± 0.613%,且与其他组差异显著( $p < 0.05$ )。因为随料液比增大,体系黏度降低,提取率增加;但料液比过大时,物料过于分散,不利于蛋白质后期沉淀<sup>[28]</sup>。为此,超声辅助提取鸡枞菌粗蛋白

白的料液比在 1:25 g/mL 左右。

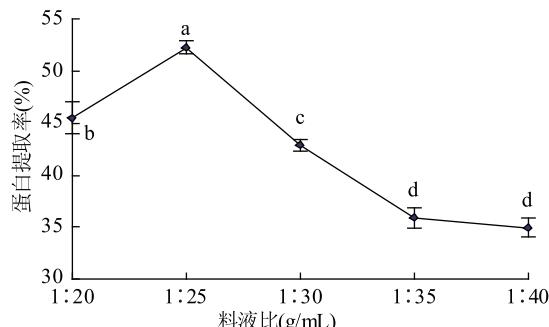


图 4 料液比对鸡枞菌蛋白提取率的影响

Fig.4 Effects of liquid ratio on extraction rate of protein from *Termitomyces albuminosus*

2.1.5 超声时间对鸡枞菌蛋白提取率的影响 由图 5 可知, 随超声时间的增加, 蛋白提取率呈先升高后降低的变化趋势; 超声时间为 1.0 h 时提取率最大, 可达  $52.352\% \pm 0.720\%$ , 且与其他组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 而后逐渐降低。因为适宜的超声时间可使细胞破裂促进蛋白质的提取, 但时间过长会引起蛋白质的变性甚至降解, 故蛋白质提取率呈下降趋势<sup>[29]</sup>。因此, 超声辅助提取鸡枞菌粗蛋白的提取时间在 1.0 h 左右。

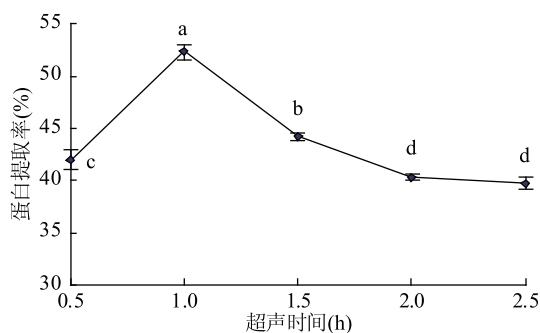


图 5 超声时间对鸡枞菌蛋白提取率的影响

Fig.5 Effects of time on extraction rate of protein from *Termitomyces albuminosus*

## 2.2 正交实验结果

为优化超声波辅助提取效果, 在单因素实验基础上, 固定料液比 1:25 g/mL, 以超声功率 (A)、超声温度 (B)、pH (C)、超声时间 (D) 4 个因素进行 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交实验优化鸡枞菌粗蛋白提取参数, 实验结果见

表 2, 方差分析见表 3。

表 2 超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白正交实验设计及结果

Table 2 Orthogonal array design and results of protein extraction of *Termitomyces albuminosus* with ultrasonic assisted

实验号	A	B	C	D	蛋白提取率 (%)
1	1	1	1	1	$52.705 \pm 0.628$
2	1	2	2	2	$49.966 \pm 0.581$
3	1	3	3	3	$66.952 \pm 0.742$
4	2	1	2	3	$49.452 \pm 0.559$
5	2	2	3	1	$49.966 \pm 0.633$
6	2	3	1	2	$65.205 \pm 0.765$
7	3	1	3	2	$48.870 \pm 0.609$
8	3	2	1	3	$47.774 \pm 0.574$
9	3	3	2	1	$49.007 \pm 0.683$
$k_1$	56.541	50.342	55.228	50.559	
$k_2$	54.874	49.235	49.475	54.680	
$k_3$	48.550	60.388	55.263	54.726	
R	7.991	11.153	5.788	4.167	

由表 2 可知, 各实验因素对鸡枞菌蛋白提取率的影响程度为 B > A > C > D, 即超声温度 > 超声功率 > pH > 超声时间。超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白的最优化条件为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>, 即超声功率为 400 W, 超声温度为 70 °C, pH 为 11, 超声时间为 1.5 h。

由表 3 可知, 超声功率、超声温度、pH、超声时间均对粗蛋白提取有极显著影响 ( $p < 0.01$ )。在正交实验所得最适提取条件超声功率 400 W, 超声温度 70 °C, pH 11, 超声时间 1.5 h 的条件下, 进行超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白的验证实验, 所得鸡枞菌蛋白含量为  $86.525\% \pm 1.315\%$ , 蛋白提取率为  $67.322\% \pm 1.028\%$ 。无超声处理的常规法, 在相同条件下提取鸡枞菌蛋白含量为  $74.067\% \pm 1.238\%$ , 蛋白提取率为  $42.238\% \pm 0.876\%$ ; 400 W 超声波辅助鸡枞菌蛋白提取率比常规法提高了 59.387%, 蛋白质含量提高了 16.820%, 这说明超声波促进了鸡枞菌粗蛋白的溶解和扩散, 使蛋白提取率显著提升 ( $p < 0.05$ )。

## 2.3 鸡枞菌粗蛋白的抗氧化活性分析

2.3.1 对 ABTS<sup>+</sup>·的清除能力分析 由图 6 可知, 鸡枞菌粗蛋白对 ABTS<sup>+</sup>·有一定的清除能力, 随粗蛋白浓度增加, 对 ABTS<sup>+</sup>·的清除能力逐渐增加, 粗蛋白浓度为 120 mg/L 时, ABTS<sup>+</sup>·清除率最大可达

表 3 超声波辅助提取鸡枞菌粗蛋白正交实验优化工艺方差分析

Table 3 Orthogonal test analysis of variance on extraction of protein from *Termitomyces albuminosus* with ultrasonic assisted

变异来源	自由度	离差平方和	均方	F	F 临界值	显著性
区组	2	23.862	11.931	4.329		*
A	2	106.622	53.311	19.344		**
B	2	226.523	113.261	41.096	$F_{0.05}(2, 16) = 3.36$	**
C	2	66.595	33.298	12.082	$F_{0.01}(2, 16) = 6.23$	**
D	2	34.346	17.173	6.231		**
误差	16	44.096	2.756			
总误差	26					

注: \* 表示差异显著 ( $p < 0.05$ ), \*\* 表示差异极显著 ( $p < 0.01$ )。

$92.485\% \pm 0.515\%$  ( $p < 0.05$ )，粗蛋白和  $V_c$  清除 ABTS<sup>+</sup> 的  $IC_{50}$  分别为  $46.322$ 、 $10.431$  mg/L，但粗蛋白的清除效果低于同浓度  $V_c$  的清除效果 ( $p < 0.05$ )。

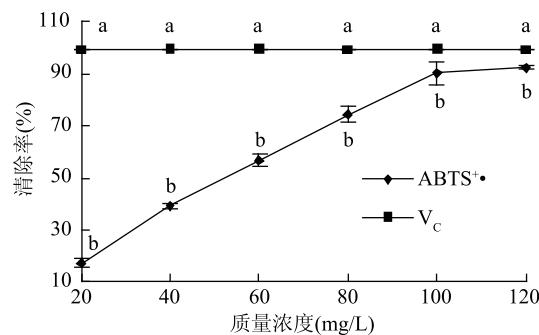


图6 鸡枞菌蛋白对ABTS<sup>+</sup>·的清除能力

Fig.6 ABTS<sup>+</sup>· radical scavenging activity of protein from *Termitomyces albuminosus*

注:图中不同小写字母表示同一质量浓度不同清除率间差异显著( $p < 0.05$ )，图7、图8同。

2.3.2 对 DPPH<sup>·</sup>的清除能力分析 由图7可知,鸡枞菌粗蛋白对 DPPH<sup>·</sup>有一定的清除能力,且随粗蛋白浓度增加,对 DPPH<sup>·</sup>的清除能力逐渐增加,粗蛋白浓度为  $60$  mg/L 时,DPPH<sup>·</sup>最大清除率可达  $47.165\% \pm 3.185\%$ ,粗蛋白和  $V_c$  清除 DPPH<sup>·</sup>的  $IC_{50}$  分别为  $61.176$ 、 $3.890$  mg/L,粗蛋白清除效果显著低于同浓度  $V_c$  的清除效果 ( $p < 0.05$ )。

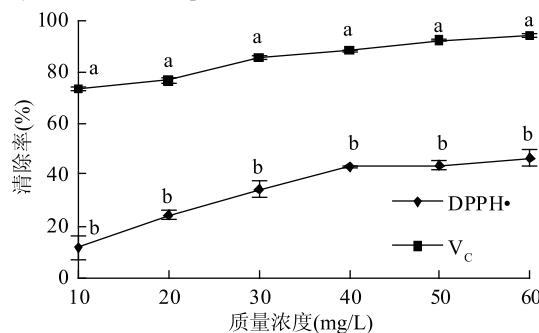


图7 鸡枞菌蛋白对DPPH<sup>·</sup>自由基清除能力

Fig.7 DPPH<sup>·</sup> radical scavenging activity of protein from *Termitomyces albuminosus*

2.3.3 对  $O_2^-$ ·自由基的清除能力分析 由图8可知,鸡枞菌粗蛋白对  $O_2^-$ ·有一定的清除能力,且随粗蛋白浓度的增加,对  $O_2^-$ ·的清除能力逐渐增加,鸡枞菌粗蛋白浓度为  $120$  mg/L 时,对  $O_2^-$ ·清除率最高可达  $46.245\% \pm 2.535\%$ ,粗蛋白和  $V_c$  的清除  $O_2^-$ ·的  $IC_{50}$  分别为  $151.250$ 、 $45.606$  mg/L,粗蛋白清除效果显著地低于同浓度  $V_c$  的清除效果 ( $p < 0.05$ )。

### 3 结论

本实验采用超声辅助提取的方法,通过单因素和正交实验优化了鸡枞菌粗蛋白的提取工艺参数,最佳提取条件为料液比  $1:25$  (g/mL)、超声功率  $400$  W、超声温度  $70$  °C、pH11、超声时间  $1.5$  h,此时蛋白质含量为  $86.525\% \pm 1.315\%$ ,蛋白提取率最高可达  $67.322\% \pm 1.028\%$ 。鸡枞菌粗蛋白具有一定的抗氧化能力,在所选浓度范围内,对 ABTS<sup>+</sup>·、DPPH<sup>·</sup> 和

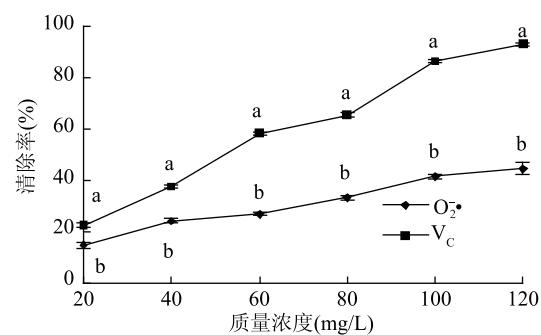


图8 鸡枞菌蛋白的对  $O_2^-$ ·自由基的清除能力

Fig.8  $O_2^-$ · radical scavenging activity of protein from *Termitomyces albuminosus*

$O_2^-$ ·三种自由基的清除率最高可达  $92.485\% \pm 0.515\%$ 、 $47.165\% \pm 3.185\%$  和  $46.245\% \pm 2.535\%$ ,其  $IC_{50}$  分别为  $46.322$ 、 $61.176$  和  $151.250$  mg/L,  $V_c$  清除三种自由基的  $IC_{50}$  分别为  $10.431$ 、 $3.890$  和  $45.606$  mg/L;但粗蛋白对自由基的清除能力明显低于同浓度  $V_c$  的清除能力。因此,超声波辅助可应用于鸡枞菌蛋白的提取,所得粗蛋白具有一定的抗氧化活性,可为天然抗氧化剂的开发和鸡枞菌高值化加工利用提供理论基础。

### 参考文献

- [1] Baruah N, Baruwati N. A wild edible mushroom *Termitomyces albuminosus* Berk and its importance among tribal people of Sivasagar district of Assam [J]. International Journal of Plant Sciences, 2016, 11(1):144–147.
- [2] Mau J L, Chang C N, Huang S J, et al. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia [J]. Food Chemistry, 2004, 87(1):111–118.
- [3] Ya X, Li M J. Studies on the biological characteristics of *Termitomyces albuminosus* Hypha [J]. Advanced Materials Research, 2013, 709(2):810–813.
- [4] Zhao H, Li J, Zhang J, et al. Hepatoprotective and *in vitro* antioxidant effects of native depolymerised exopolysaccharides derived from *Termitomyces albuminosus* [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):3910.
- [5] 李湘利,刘静,杨永涛,等.1-MCP对鸡枞菌采后生理及贮藏品质的影响[J].食品科学,2016,37(14):237–241.
- [6] Sadler M. Nutritional properties of edible fungi [J]. Nutrition Bulletin, 2003, 28(3):305–308.
- [7] Maestri E, Marmiroli M, Marmiroli N. Bioactive peptides in plant-derived foodstuffs [J]. Journal of Proteomics, 2016, 147:140–155.
- [8] Vergara B M, Lerma M J, Herrero J M, et al. Use of an enzyme-assisted method to improve protein extraction from olive leaves [J]. Food Chemistry, 2015, 169:28–33.
- [9] Phongthai S, Lim S T, Rawdkuen S. Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties [J]. Journal of Cereal Science, 2016, 70:146–154.
- [10] Sun L H, Lv S W, He L Y. Comparison of different physical

technique-assisted alkali methods for the extraction of rice bran protein and its characterizations [J]. International Journal of Food Engineering, 2017, 13(10): 52-60.

[11] 王维坚, 潘艳. 绿豆蛋白热水浸提工艺优化 [J]. 食品与机械, 2013, 29(5): 154-157.

[12] Kim H K, Su J H, Kim Y H, et al. Protein extraction from porcine myocardium using ultrasonication [J]. Journal of Food Science, 2017, 82(5): 1059-1065.

[13] Phongthai S, Lim S T, Rawdkuen S. Ultrasonic - assisted extraction of rice bran protein using response surface methodology [J]. Journal of Food Biochemistry, 2017, 41(2): 1-11.

[14] Qu Y, Sun K, Gao L, et al. Termitomycesphins G and H, additional cerebrosides from the edible Chinese mushroom *Termitomyces albuminosus* [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2012, 76(4): 791-793.

[15] 陈耀华, 陈健. 响应面法优化鸡枞菌多糖的提取工艺 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(5): 541-544.

[16] 马雅鸽, 马亚宁, 张晓娟. 鸡枞菌总多酚提取工艺的优化 [J]. 食品工业, 2015, 36(6): 209-211.

[17] 强继业, 朱海平, 周振春, 等.  $\gamma$  辐照对鸡枞菌保鲜的研究 [J]. 核农学报, 2005, 19(2): 123-124.

[18] 栗铭鸿, 李官浩, 朴守焕, 等. 鸡枞菌不同溶剂提取物成分分析及抗氧化作用研究 [J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 144-148.

[19] 罗晓妙, 史碧波, 易莹敏. 鸡枞菌酶解工艺研究 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29(2): 89-92.

[20] 周书来, 刘学文. 鸡枞菌复合调味料制备工艺研究 [J]. 中

(上接第 220 页)

87-97.

[11] 解万翠, 尹超, 宋琳, 等. 添加复合菌株快速发酵虾头制酱工艺优化 [J]. 农业工程学报, 2018, 34(9): 306-312.

[12] Maijala R, Nurmi E, Fischer A. Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages [J]. Meat Science, 1995, 39(1): 9-22.

[13] 孟凌玉, 吉宏武, 高加龙, 等. 虾头自溶产物微生物混合发酵的工艺条件 [J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(8): 84-87.

[14] Udomsil N, Chen S, Rodtong S, et al. Improvement of fish sauce quality by combined inoculation of *Tetragenococcus halophilus* MS33 and *Virgibacillus* sp. SK37 [J]. Food Control, 2017.

[15] 连鑫. 传统虾酱中风味微生物的分离及快速发酵技术的研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2014.

[16] 章雪琴, 吉宏武, 张迪, 等. 南极磷虾微生物复合发酵制备呈味基料的工艺优化 [J]. 食品与发酵工业, 2018(3): 107-113.

[17] 曹文红, 章超桦, 洪鹏志, 等. 响应面法优化南美白对虾虾头自溶工艺的研究 [J]. 中国食品学报, 2009, 9(1): 158-164.

[18] Nilsang S, Lertsiri S, Suphantharika M, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases [J]. Journal of Food Engineering, 2005, 70 (4):

国调味品, 2011, 36(4): 56-58.

[21] 李湘利, 刘静, 梁宝东, 等. 微波辅助碱溶酸沉法提取芡实蛋白的工艺优化及其抗氧化性 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(24): 206-211.

[22] Miller N J, Rice-Evans C, Davies M J, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates [J]. Clinical Science, 1993, 84(4): 407-412.

[23] Floegel A, Kim D O, Chung S J, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(7): 1043-1048.

[24] 杨志刚, 张燕萍, 杨海定. 超声波辅助提取常熟黑米类黄酮及其抗氧化活性分析 [J]. 食品科学, 2013, 34(18): 118-122.

[25] 李菜, 倪元颖, 彭郁, 等. 超声辅助提取辣椒籽蛋白工艺优化 [J]. 农业工程学报, 2016, 32(24): 309-314.

[26] 张会翠, 于丽娜, 宫清轩, 等. 花生分离蛋白超声波辅助提取工艺优化 [J]. 花生学报, 2017, 40(1): 6-12.

[27] Chittapalo T, Noomhorm A. Ultrasonic assisted alkali extraction of protein from defatted rice bran and properties of the protein concentrates [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2009, 44(9): 1843-1849.

[28] 赵蓓, 王承明, 张沙沙. 菜籽粕中清蛋白的超声辅助提取及氨基酸组成研究 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30(10): 32-36.

[29] 王晶, 马文君, 陈勇, 等. 超声辅助提取黑豆蛋白及其功能性质的研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 86-90.

571-578.

[19] 陈海燕, 郑惠娜, 曹文红, 等. 响应面法优化波纹巴非蛤肌肉蛋白酶解工艺条件 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(15): 218-224.

[20] 田申, 李贻杰, 曹文红, 等. 利用虾头内源酶模拟胃肠道消化制备短肽的研究 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 92-96.

[21] 伍彬, 章超桦, 吉宏武, 等. 南美白对虾虾头自溶产物主要呈味成分分析 [J]. 食品科学, 2010, 31(10): 184-187.

[22] 王曜, 陈舜胜. 野生与养殖克氏原螯虾游离氨基酸的组成及比较研究 [J]. 食品科学, 2014, 35(11): 269-273.

[23] 付光中. 虾呈味基料的制备工艺及其风味研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2010.

[24] 沈月新. 水产食品学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 100-102.

[25] Bremner H A, Olley J, Statham J A, et al. Nucleotide catabolism: Influence on the storage life of tropical species of fish from the north west shelf of Australia [J]. Journal of Food Science, 2010, 53(1): 6-11.

[26] 王丹妮, 邱伟强, 陈舜胜, 等. 冷藏条件下缢蛏、文蛤 ATP 关联产物的变化及降解途径的探究 [J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(9): 230-233.