

# 食药真菌生物活性肽制备的研究进展

钱磊, 张志军

(天津市农业科学院 天津市林业果树研究所, 天津 300384)

**摘要:**目前,从食药真菌中分离到多种生理活性物质,如蛋白质、多肽、多糖及萜类等,具有免疫调节、抗肿瘤、降血脂及抗氧化等生物学功能。生物活性肽指对生物机体的生命活动有益或具有生理作用的肽类化合物。食药真菌蛋白质资源丰富,生物活性肽的开发利用前景广阔。现综述了食药真菌生物活性肽的制备研究进展,以期为其进一步研究和开发利用提供参考。

**关键词:**食药真菌;生物活性肽;进展

**中图分类号:**Q 949.32 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)18-0193-03

食药真菌是一类能够形成肉质或胶质的子实体或菌核的大型真菌,通称蘑菇。食药真菌营养丰富,具有高蛋白、低糖、低脂肪、富含氨基酸和维生素等特点,被联合国粮农组织誉为“21世纪的健康食品”。目前,从食药真菌中提取到多种生理活性物质,如蛋白质、多肽、多糖、萜类及黄酮类等,具有免疫调节、抗肿瘤、降血脂及保肝护肝等多种生物学功能。

生物活性肽(Bioactive peptides)是一类对生物机体的生命活动有益或具有生理作用的肽类化合物,其分子量一般小于6 kDa。它们由氨基酸以不同组成和排列方式构成,其分子结构复杂多样,小至由2个氨基酸组成,大至由数十个氨基酸通过肽键连接而成,通过磷酸化、糖基化或酰基化而被修饰<sup>[1-3]</sup>。

**第一作者简介:**钱磊(1982-),男,博士,助理研究员,现主要从事食药真菌生物化学与分子生物学等研究工作。E-mail:qianl1982@sina.cn.

**基金项目:**天津市农业科学院院长基金资助项目(16009);天津市林业果树研究所所长基金资助项目(SZJJ2016005)。

**收稿日期:**2016-04-15

国内外对食药真菌的营养成分与功能的研究主要集中在多糖、虫草素、萜类等方面,随着开展多层次复杂营养成分的研究,食药真菌中活性肽的研究逐渐升温,对深度开发、利用蛋白质资源具有重要意义。现对近年来食药真菌生物活性肽的制备研究进行了综述,以期为其进一步研究和开发利用提供理论参考。

## 1 生物活性肽的制备方法

目前,生物活性肽的制备方法主要有以下4种:分离提取法、蛋白质降解法、人工合成法及微生物发酵法<sup>[1-3]</sup>。

### 1.1 分离提取法

分离提取法即利用合适的分离纯化技术,直接从自然界生物体中提取活性肽。天然活性肽具有高效、低毒、无污染等特点,但是其在生物体内含量很低,加工成本却很高,大多数不适宜大规模工业化生产。

### 1.2 蛋白质降解法

蛋白质降解法分为化学水解法和酶解法。化学水解法一般采用酸或碱水解,使蛋白质的肽链断裂,形成

## Application Prospect of Non-thermal Sterilization in NFC Juice

KANG Mengli, CUI Yan, SHANG Haitao, LING Jiangang

(Institute of Agricultural Products Processing, Ningbo City Academy of Agricultural Sciences/Ningbo Agricultural Products Processing Research Center/Ningbo Key Laboratory for Preservation Engineering of Agricultural Products, Ningbo, Zhejiang 315040)

**Abstract:** NFC juice is 100% fresh fruit juice that directly pressed new pure fresh fruit. The article from the characteristics and types of fruit juice, the hot working way, nonthermal technologies on fruit juice quality and flavor research present situation, problems and development trend of athermal sterilization was discussed in the application of NFC juice, which was a reference for NFC juice production and processing.

**Keywords:** non-thermal; NFC juice; sterilization; quality and flavor; application prospect

长短不同的肽链。该法工艺简单、成本低,但是水解程度难以控制,氨基酸受损严重,应用较少。

酶解法的工艺流程为原料选择、预处理、酶解、分离、精制、成品。该法成本低、产品安全性高、无副作用,能够在温和的反应条件下定位水解,且水解易于控制,是目前活性肽生产领域的常用方法。但是在酶解过程中,由于疏水性氨基酸残基的暴露,易产生苦味,影响其应用效果,必须采取相应措施解决。

### 1.3 人工合成法

人工合成法分为化学合成法和基因重组法。化学合成法分为液相法和固相法,前者是小分子肽合成的传统方法,但不适用于反应中间体溶解度较低的情况,后者克服了上述缺点,是活性肽研究领域的重要研究方法之一。但是化学合成法的设备和试剂价格很高,且副产品多、易产生有害物质,严重制约了其在规模化生产上的应用,目前该法主要用于合成高活性、中等长度的医药用肽。基因重组法是在核酸序列已知的前提下,利用重组 DNA 技术,构建活性肽的表达载体,采用工程菌发酵法制备生物活性肽。由于该法生产小分子肽困难,且制备的种类受限,目前仅限于大分子活性肽和蛋白质的生产。

### 1.4 微生物发酵法

微生物发酵法以霉菌、细菌或酵母菌为菌株,利用微生物菌体发酵产生的蛋白酶系,直接作用于植物体的大分子蛋白将其转化成小分子蛋白和肽类物质。其优点在于微生物蛋白酶来源广、产量高、生产周期短、成本低,通过微生物作用可以降低或消除苦味,因此,该法可以简化生产工艺,降低成本,具有很好的发展前景。

## 2 食药真菌生物活性肽

目前,从食药真菌中分离到多种生物活性肽,以灵芝、云芝、姬松茸等活性肽的研究最为广泛。

### 2.1 灵芝(*Ganoderma lucidum*)

湖南医药工业研究所 201 组<sup>[4]</sup>以氨水为洗脱液,采用 732[H]型阳离子树脂分离灵芝发酵液的醇、水提取物获得 4 个肽,具有提高人体耐缺氧能力的活性。董颖等<sup>[5]</sup>采用 732[H]型阳离子树脂、DA-201 大孔吸附树脂、Sephadex G-15 柱、DEAE-Cellulose 柱分离手段,从灵芝子实体的热水提取物中分离获得 5 种肽。何慧等<sup>[6]</sup>以发酵灵芝粉为原料,采用水浸提法制备灵芝肽,通过 Cu-Sephadex G-25 柱层析法将小肽和游离氨基酸分离。毛细管电泳分析表明,发酵灵芝粉含有 13 种小肽,酸性氨基酸含量较高,占 29.83%,必需氨基酸含量占 36.67%。孙颀<sup>[7]</sup>以样品对羟基自由基的抑制率为检测指标,通过超滤、配位色谱、凝胶渗透色谱、RP-HPLC 和毛细管电泳等技术,对发酵灵芝粉中的抗氧化活性肽进行了分离、分析。贺菊萍<sup>[8]</sup>同样以对羟基自由基的抑制率为抗氧化活性指标,采用配位色谱法、离子交换柱层析和 RP-HPLC,对灵芝肽进行了分离纯化,并研究了混

合灵芝肽对四氯化碳、乙醇诱导肝损伤小鼠的辅助保护作用。

### 2.2 云芝(*Coriolus versicolor*)

宋万杰等<sup>[9]</sup>采用超高压提取技术从云芝菌丝体中提取活性肽,在最佳工艺条件下,活性肽得率 3.23%,羟基自由基抑制率 62.25%。另外,宋万杰等<sup>[10]</sup>采用酶法从云芝菌丝体中制备活性肽,并通过超滤技术对其进行分级分离,其中分子量在 3 kDa 以内的肽得率最高,其清除羟基自由基的能力也最强。李渊等<sup>[11]</sup>以云芝液体发酵菌丝为原料,采用微波提取法和热水浸提法制备活性肽,比较了 2 种方法的提取效果。纪乐军等<sup>[12]</sup>对云芝活性肽的水提醇沉工艺和微滤超滤工艺进行了对比,研究表明微滤超滤工艺路线简化,设备操作方便,产品质量稳定。

### 2.3 姬松茸(*Agaricus blazei* Murill)

焦迎春等<sup>[13]</sup>采用葡聚糖凝胶色谱法从姬松茸菌丝体中提取活性肽,其分子量为 1 500~30 000 Da,必需氨基酸含量占 30.59%,F 值达 22.5。洒威等<sup>[14]</sup>采用水提醇沉法从姬松茸子实体中提取活性肽,以活性肽提取率为检测指标,通过单因素试验和正交实验,确定了最佳提取工艺,并通过毛细管电泳技术对其分子量进行了分析。段国艳等<sup>[15]</sup>采用水提醇沉法从姬松茸子实体中提取肽类物质,然后采用葡聚糖凝胶色谱法对其进行分离,活性肽鲜味氨基酸含量占 52.1%,F 值达 20.7。张艳荣等<sup>[16]</sup>采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取和微波提取技术对姬松茸进行脱脂脱糖处理后,以粗蛋白为原料,采用碱性蛋白酶和风味蛋白酶制备活性肽。冯翠萍等<sup>[17]</sup>采用植物蛋白水解酶法制备姬松茸活性肽,分子量为 850~3 000 Da,具有清除 DPPH·、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和抑制脂质过氧化的能力,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 1515、枯草芽孢杆菌、志贺氏菌、黑曲霉、青霉等有抑制作用。

### 2.4 其它食药真菌

孙红娜<sup>[18]</sup>采用溶剂提取法,从茶树菇(*Agrocybe aegirit*)中提取降血压活性肽,以蛋白质提取率和提取液对 ACE 活性抑制率为指标,比较了水和 50%乙醇作为溶剂的提取效果;刘莹<sup>[19]</sup>采用水提醇沉法从褐磨菇(*Agaricus brunneecens*)子实体中提取活性肽,以活性肽的提取率为检测指标,通过单因素试验和正交实验,确定了活性肽的最佳提取工艺;焦迎春等<sup>[20]</sup>采用水提醇沉法从黄绿蜜环菌(*Armillaria luteo-virens*)菌丝体中提取活性肽,并通过凝胶过滤层析和毛细管电泳技术,对活性肽的分子量进行了分析;吴恩奇<sup>[21]</sup>采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取技术,对蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum* Imai)脱脂及蛋白质增溶的工艺条件进行了研究,然后采用两段酶解法(碱性蛋白酶和风味蛋白酶)制备蒙古口蘑多肽液;李桂峰等<sup>[22]</sup>采用木瓜蛋白酶水解双孢菇(*Agaricus bisporus*)蛋白制备抗氧化肽,以羟基自由基和超氧阴离子自由基清除率为评价指标,确定了酶解最佳

工艺条件,活性肽的分子量主要分布在 600~2 600 Da,  $\cdot\text{OH}$ 和  $\text{O}_2^-$  清除率分别为 89.61%和 60.63%;常桂英等<sup>[23]</sup>采用胰凝乳蛋白酶水解榆耳(*Gloeostereum incarnatum*)子实体制备活性肽,其相对分子质量为 2.0~10.6 kDa,  $F$  值为 22.67。

### 3 前景与展望

生物活性肽的研究领域发展较快,已受到各国科学家和政府的高度重视。国外在活性肽的开发与应用上日益活跃,目前应用生物活性多肽作为药物、疫苗、诊断试剂、酶抑制剂等具有广泛的理论和应用价值。与发达国家相比,我国在生物活性肽的研制上起步较晚,目前多数研究仍处于试验阶段,在体外和动物模型中证明存在较好生理效应,但在临床应用上受到限制<sup>[24-25]</sup>。

我国食药真菌物种资源丰富,作为食药真菌生产大国,其总产值在农业经济中仅次于粮、油、果、菜,居第 5 位。但是,我国食药真菌产业的整体发展水平较低,深加工能力不足,尤其是蛋白质资源的利用率较低,大量富含蛋白质的下脚料及废弃物被当作肥料或直接排放,不仅浪费资源,而且污染环境<sup>[24-25]</sup>。因此,对蛋白质进行深加工获得生物活性肽,能够带来广阔的社会效益和经济效益。而随着生物技术的进一步发展完善,必将为生物活性肽的开发和利用带来良好的前景。

#### 参考文献

- [1] 王竹清,李八方.生物活性肽及其研究进展[J].中国海洋药物,2010,29(2):60-68.
- [2] 张少斌,张力,梁玉金,等.生物活性肽制备方法的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2011(11):39-41.
- [3] 张粟,王宇.生物活性肽的功能与制备研究进展[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2013,33(3):20-21.
- [4] 湖南医药工业研究所 201 组.灵芝有效成分的研究(第一报)[J].中草药通讯,1979(5):1-5.
- [5] 董颖,崔国辉.灵芝多肽的分离检识和抗氧化自由基活性研究[J].北京医科大学学报,1993,25(2):145-146.
- [6] 何慧,孙颖,谢笔钧.灵芝生物活性肽的分离及组成研究[J].食品科

学,2001,22(5):56-57.

- [7] 孙颖.灵芝中肽类化合物及生物活性研究[D].武汉:华中农业大学,2001.
- [8] 贺菊萍.灵芝肽的分离纯化及其保肝作用研究[D].武汉:华中农业大学,2005.
- [9] 宋万杰,张红印,马永昆.超高压提取云芝菌丝体中活性肽工艺的初步研究[J].食品工业,2008(5):14-16.
- [10] 宋万杰,张红印,马永昆,等.酶法制备云芝菌丝体肽的研究[J].食品工业科技,2008,29(7):117-120.
- [11] 李渊,耿燕,许泓瑜,等.微波提取法与热水浸提法提取云芝胞内糖肽效果的比较[J].食用菌学报,2013,20(2):55-59.
- [12] 纪乐军,陈士翠,张丽,等.微滤-超滤提取云芝胞内糖肽工艺的研究[J].食品与发酵科技,2014,50(2):27-30.
- [13] 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,2004,11(2):12-15.
- [14] 酒威,焦迎春,郑晓冬.姬松茸子实体中活性多肽提取工艺初探[J].青海农林科技,2005(2):1-3.
- [15] 段国艳,齐梦,桂方晋,等.姬松茸子实体中活性肽的分离及其组成分析[J].中药材,2008,31(6):185-187.
- [16] 张艳荣,王大为,张雅媛,等.姬松茸低聚肽的制备及性质[J].高等学校化学学报,2009,30(2):293-296.
- [17] 冯翠萍,作显舟,王将,等.姬松茸多肽质量指纹图谱分析及功能研究[J].中国食品学报,2011,11(2):216-220.
- [18] 孙红娜.茶树菇降压活性肽的提取分离研究[D].南宁:广西大学,2008.
- [19] 刘莹.褐磨菇子实体活性多肽提取工艺[J].食品工业科技,2009,30(6):197-199.
- [20] 焦迎春,杨春江,周劲松,等.黄绿蜜环菌菌丝多肽分离的初步研究[J].农产品加工:学刊,2008(6):8-11.
- [21] 吴恩奇.蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum*)多肽制取技术的研究[D].长春:吉林农业大学,2007.
- [22] 李桂峰,王向东,赵国建,等.酶解双孢菇蛋白制备抗氧化肽的研究[J].中国食品学报,2011,11(5):37-43.
- [23] 常桂英,楚海娇,高桂凤,等.榆耳高  $F$  值低聚肽的制备及氨基酸组成分析[J].中国酿造,2013,32(12):35-37.
- [24] 王兴涌,范华,李栋.生物活性肽功能和作用研究进展[J].预防医学情报杂志,2009,25(9):730-733.
- [25] 巢警受,张岚,杜娟,等.生物活性肽的研究进展[J].吉林医药学院学报,2010,31(6):359-362.

## Research Advance on the Preparation of Bioactive Peptides From Edible and Medicinal Fungi

QIAN Lei, ZHANG Zhijun

(Tianjin Research Institute of Forestry and Pomology, Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300384)

**Abstract:** At present, multiply physiological active substances have been separated from edible and medicinal fungi, such as proteins, peptides, polysaccharides and flavonoids, which possess many kinds of biological functions, such as immunomodulatory, antitumor, hypolipidemic and antioxidation, etc.. Bioactive peptides refer to the peptides beneficial to vital movement or physiological effects. Bioactive peptides from edible and medicinal fungi have fundamental resources and extensive exploitation perspective. The research advance on the preparation of bioactive peptides from edible and medicinal fungi was summarized in this paper, and some references for their further research and application were put forward.

**Keywords:** edible and medicinal fungi; bioactive peptide; advance