

绿豆抗氧化肽的酶法制备及其抗氧化活性

夏吉安, 黄凯, 李森, 宋洪东, 管骁*

(上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘要: 为提高绿豆淀粉生产过程中产生的废弃物绿豆蛋白的资源利用率, 研究了酶法制备绿豆抗氧化肽的最佳条件, 并探究其抗氧化活性。通过选用不同蛋白酶及其复合酶, 对绿豆蛋白进行水解, 综合考虑反应时间、加酶量等因素, 对酶解反应进行优化。通过体外抗氧化实验对水解制得的多肽溶液进行抗氧化能力检测, 最终确立了最佳的反应条件, 具体如下: 选用中性蛋白酶进行酶解, 底物质量分数 3%, 酶解时间 3 h, 加酶量质量分数 2%, pH 7, 温度 50 °C。按照该条件所制得的绿豆多肽溶液, 质量浓度为 5 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率可达 $(91.58 \pm 2.44)\%$, 同时还具有较强的还原能力。经凝胶层析柱分离纯化后得到 5 个分离组分, 其中小分子肽段组分 5 的抗氧化能力最强, 高于其他大分子肽段以及未分离多肽。

关键词: 绿豆蛋白; 酶解; 抗氧化肽; 分离纯化

中图分类号: TQ 936.1 文章编号: 1673-1689(2020)10-0040-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.10.006

Enzymatic Preparation of Mung Bean Antioxidant Peptides and Antioxidant Activity Investigation

XIA Ji'an, HUANG Kai, LI Sen, SONG Hongdong, GUAN Xiao*

(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: In order to improve the resource utilization of mung bean protein, the waste produced in the mung bean starch production, the optimal conditions for preparing mung bean antioxidant peptides by enzymatic method were studied, and their antioxidant activity was also investigated. The enzymatic hydrolysis of mung bean protein was optimized by different proteases or their complex enzymes, with other factors examined including the reaction time and the enzyme amount. The antioxidant capacity of the hydrolyzed polypeptide was tested by in vitro antioxidant experiment. The optimal reaction conditions were finally established as follows: 2% of neutral protease and 3% of substrate were used for 3 h hydrolysis at pH 7 and 50 °C. The resulted mung bean peptide solution had a DPPH free radical scavenging rate of $(91.58 \pm 2.44)\%$ with a mass concentration of 5 mg/mL, showing strong reducing ability. Five separated fractions were obtained by purification using gel

收稿日期: 2019-12-24

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0401202); 国家粮食行业青年拔尖人才计划项目(LQ2018204); 上海市教委、上海市教育发展基金会曙光计划项目(19SG45)。

* 通信作者: 管 骁(1979—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品功能与营养研究。E-mail: gnxo@163.com

chromatography column. The small molecule peptide component 5 had the strongest antioxidant capacity, which was higher than other large molecule peptides and unseparated peptides.

Keywords: mung bean protein, enzymatic hydrolysis, antioxidant peptides, separation and purification

抗氧化性的多肽属于天然抗氧化物,安全性高,可作为添加剂或者食品原料广泛应用于食品和药品的生产中,具有较广阔的发展前景^[1-5]。

绿豆是一种在世界各地广泛种植的豆科类植物,在我国有着悠久的种植历史^[6]。绿豆富含碳水化合物、蛋白质、矿物质和多种维生素,其蛋白质质量分数高达 19.5%~33.1%,是蛋白质的良好来源^[4]。绿豆蛋白主要包含球蛋白、清蛋白、醇溶蛋白以及谷蛋白,其中球蛋白和清蛋白含量最多。绿豆蛋白质是由 17 种氨基酸构成,其中包括 7 种必需氨基酸^[7]。绿豆肽是通过酶水解绿豆蛋白获得的寡肽混合物,绿豆肽比绿豆蛋白具有更高的溶解度和吸水性,更低的黏度和更高的流动性。此外,绿豆肽还包含多种生物活性成分^[8-9]。我国绿豆资源丰富,但是精深加工程度低,主要集中在绿豆淀粉的加工生产方面,绿豆蛋白则是绿豆淀粉加工过程中的废弃物,其利用程度较低。使用酶解技术对绿豆蛋白进行深度开发,制备具有抗氧化活性的绿豆多肽是提高绿豆资源利用率的有效途径^[10]。

作者以绿豆蛋白为原料,选取中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶以及中性蛋白酶与碱性蛋白酶复合,在不同酶解时间和加酶量的条件下对绿豆蛋白进行酶解,得到绿豆抗氧化肽,并对其抗氧化活性进行测定。最后,以凝胶过滤层析法分离纯化最优酶解条件下得到的酶解液,根据测定得到的体外抗氧化指标,挑选出抗氧化性能最优的组分,为绿豆抗氧化肽在天然抗氧化剂和保健食品领域的应用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

绿豆蛋白粉:购于陕西双瑞生物科技有限公司;碱性蛋白酶(200 000 U/g):购于西亚化学技术有限公司;DPPH、中性蛋白酶(100 000 U/g):购于上海维塔化学试剂有限公司;胰蛋白酶(50 000 U/g)、胃蛋白酶(1 200 U/g):购于上海沪试化工有限公司;

BCA 蛋白浓度试剂盒:购于碧云天生物技术有限公司;氢氧化钠、铁氰化钾、无水三氯化铁、三氯乙酸、硫酸亚铁铵、盐酸、无水乙醇等试剂均为分析纯试剂。

Synergy HTX 多功能微孔板检测仪:美国伯腾仪器有限公司产品;HimacCR22N 高速冷冻离心机:天美(中国)科学仪器有限公司产品;低温恒温槽:上海衡平仪器仪表厂产品;FE20 pH 计、ME204E 电子天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品;酶反应器:上海垒固仪器有限公司产品;IKAR05 多点磁力搅拌器:艾卡仪器设备有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 绿豆蛋白酶解液的制备方法 配制底物质量分数为 3%的绿豆蛋白溶液。用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液与盐酸溶液调节绿豆蛋白溶液的 pH 至蛋白酶的最适 pH。称取蛋白酶(加酶量为质量分数 6%)加入绿豆蛋白溶液中,酶反应器的温度设定为该蛋白酶的最适温度。使用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液与盐酸溶液调节 pH 值,使得整个酶解过程中酶解液的 pH 始终在蛋白酶的最适 pH 区域。持续酶解 3 h 后,沸水浴 10 min 灭酶。将酶解液冷却至室温,置于低温离心机中 8 000 r/min 离心 10 min,取上清液即得到绿豆蛋白酶解液。

1.2.2 不同蛋白酶对绿豆蛋白酶解效果的影响 选用中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶分别在各种蛋白酶的最适温度、pH 条件下对绿豆蛋白进行酶解,酶解时间为 3 h,通过测定酶解产物抗氧化活性来选取合适的蛋白酶。

1.2.3 组合酶对绿豆蛋白酶解效果的影响 分别配制 5 份底物质量分数为 3%的绿豆蛋白溶液,样品从 1—5 编号。1 号样品为中性蛋白酶单酶水解 4 h;2 号样品为中性蛋白酶水解 3 h 后碱性蛋白酶水解 1 h;3 号样品为中性蛋白酶水解 2 h 后碱性蛋白酶水解 2 h;4 号样品为中性蛋白酶水解 1 h 后碱性蛋白酶水解 3 h;5 号样品为碱性蛋白酶单酶水解 4 h。添加中性蛋白酶时调节 pH 至 7,灭酶后再添加

碱性蛋白酶时调节 pH 为 8, 在 1—4 号样品中加入中性蛋白酶(加酶量为质量分数 6%), 在 5 号样品中加入碱性蛋白酶(加酶量为质量分数 6%), 于 50 °C 下酶解。1 天后, 将 4 号样品取出沸水浴灭酶, 再加入碱性蛋白酶继续酶解, 后续操作类似。整个酶解过程为 4 h, 使用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液与盐酸溶液调节 pH 值, 使得整个酶解过程中酶解液的 pH 始终为蛋白酶的最适 pH。酶解结束后, 将所有样品灭酶, 离心, 取上清液测其体外抗氧化指标^[11]。

1.2.4 不同酶解时间对绿豆蛋白酶解效果的影响 质量分数 3% 的绿豆蛋白溶液在加酶量为质量分数 6%、温度 50 °C、pH 7 的条件下, 分别水解 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 h 后, 取出 30 mL 酶解液, 沸水浴灭酶 10 min, 再将样品冷却至室温, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测其体外抗氧化指标^[12]。

1.2.5 不同酶用量对绿豆蛋白酶解效果的影响 质量分数 3% 的绿豆蛋白溶液在水解温度 50 °C、pH 为 7.0、酶用量分别质量分数为 2%、4%、6%、8%、10% 的条件下, 水解 3 h, 沸水浴灭酶 10 min, 再将样品冷却至室温, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测其体外抗氧化指标^[13]。

1.2.6 绿豆蛋白酶解液的分离纯化 采用凝胶过滤层析法对绿豆蛋白酶解液(酶解条件: 中性蛋白酶质量分数 2%、底物质量分数为 3%、温度 50 °C、pH 7.0、水解 3 h)进行分离纯化。选用 Sephadex G-25 填料, 将处理好的填料装入层析柱中。凝胶柱通过预处理、装柱、平衡后, 缓慢加入经 0.45 μm 超滤膜过滤后的样品, 样品质量浓度为 100 mg/mL, 进样量为 3 mL。洗脱液为去离子水, 洗脱流量控制在 0.7 mL/min, 每 10 分钟收集一管, 紫外检测波长 220 nm, 收集各峰处的洗脱液后浓缩, 测定蛋白质浓度以及体外抗氧化指标^[14]。

1.2.7 DPPH 自由基清除能力的测定 用无水乙醇配置 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液, 避光保存。将 1 mL 测试样品溶液加入到 1 mL DPPH 溶液中, 混匀, 室温下避光静置 30 min 后在 517 nm 处测定其吸光度, 同时测定 1 mL DPPH 溶液与 1 mL 乙醇混合后的吸光度, 以及 1 mL 测试样品溶液与 1 mL 无水乙醇混合后的吸光度, 计算清除率^[15]。

1.2.8 还原能力的测定 取 0.4 mL 样品和 1 mL PBS(pH 6.6, 0.2 mol/L)以及 1 mL 质量分数为 1% 铁氰化钾溶液混合, 50 °C 水浴 20 min, 冷却后加

1 mL 质量分数为 10% 三氯乙酸溶液混匀, 静置 15 min。取 1 mL 上清液, 加入 0.2 mL 质量分数为 0.1% 三氯化铁溶液和 1 mL 去离子水。10 min 后, 把样品吸入 96 孔板中, 在 700 nm 处测吸光度, 吸光度值越高, 则还原能力越强^[16]。

1.2.9 羟基(OH)自由基清除能力的测定 采用 Fenton 反应法, 取 1 mL 样品溶液分别加入 1 mL 2 mmol/L 硫酸亚铁溶液、1 mL 6 mmol/L 水杨酸溶液以及 1 mL 6 mmol/L 过氧化氢溶液, 混匀, 于 510 nm 处测定吸光度, 用去离子水代替样品溶液测定吸光度, 用去离子水代替过氧化氢溶液测定吸光度, 计算清除率^[17]。

1.3 数据处理

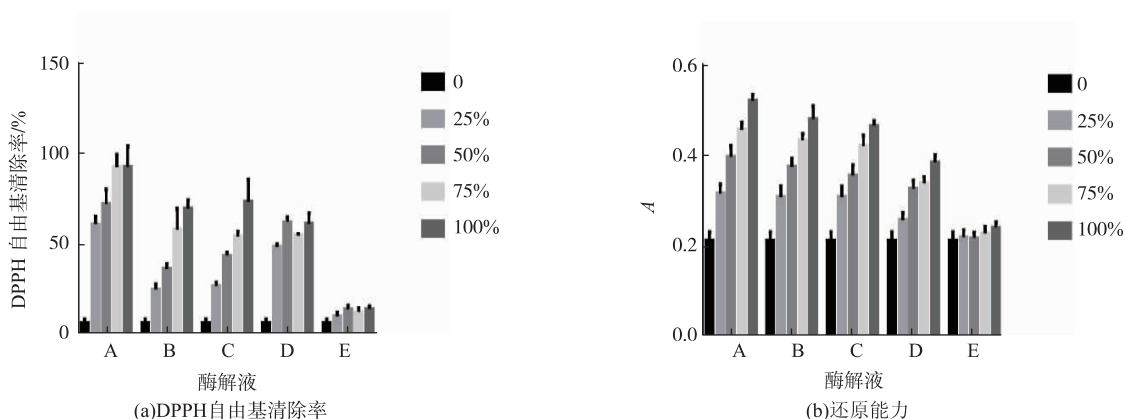
每组实验重复 3 次, 实验结果分析取平均值±标准差。采用 GraphPad Prism 17.0 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 蛋白酶的选择

选用中性蛋白酶(反应温度 50 °C, pH 7)、碱性蛋白酶(反应温度 50 °C, pH 8)、胰蛋白酶(反应温度 50 °C, pH 8)、胃蛋白酶(反应温度 37 °C, pH 2)4 种蛋白酶酶解绿豆蛋白, 酶解时间为 3 h, 酶用量为质量分数 6%, 测定酶解产物的体外抗氧化活性图 1(a)为各蛋白酶酶解产物的 DPPH 自由基清除率, 由图可以看出各蛋白酶酶解产物的 DPPH 自由基清除率均高于未经过酶解的绿豆蛋白溶液, 其中中性蛋白酶酶解产物的清除率明显高于其他 3 种蛋白酶的酶解产物, 并且可以看出 DPPH 自由基清除率与酶解产物的浓度呈正相关性。随着酶解产物浓度的增大, DPPH 自由基清除率逐步增大, 抗氧化能力越强。图 1(b)为各酶解产物的还原能力, 与 DPPH 自由基清除率相同, 各蛋白酶酶解产物的还原能力均高于未经过酶解的绿豆蛋白液, 其中中性蛋白酶酶解产物的还原能力略高于其他 3 种蛋白酶的酶解产物。同样可以看出, 还原能力与酶解产物的浓度也呈正相关。随着酶解产物浓度的增大, 吸光度值越高, 抗氧化能力越强。

选用中性蛋白酶与碱性蛋白酶组合酶解绿豆蛋白, 测定酶解产物的抗氧化能力。图 2(a)为酶解产物的 DPPH 自由基清除率, 由结果可知, 中性蛋白酶酶解产物的 DPPH 自由基清除率明显高于组合酶以及碱性蛋白酶酶解的产物, 且随着中性蛋白



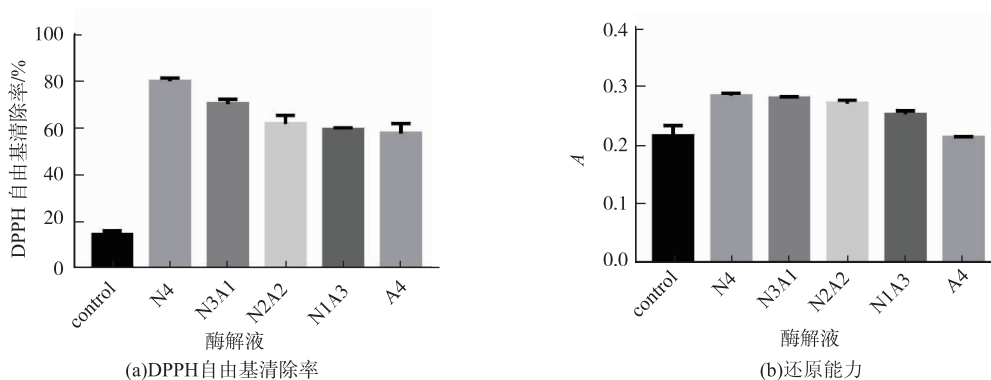
A 中性蛋白酶酶解产物;B 碱性蛋白酶酶解产物;C 胰蛋白酶酶解产物;D 胃蛋白酶酶解产物;E 未加蛋白酶酶解的绿豆蛋白溶液。

图 1 不同蛋白酶酶解绿豆蛋白产物的抗氧化能力

Fig. 1 Antioxidant ability of different proteases to enzymolysis mung bean protein products

酶酶解时间减少以及碱性蛋白酶的酶解时间增加,清除率呈下降趋势。图 2(b)为酶解产物的还原能力,中性蛋白酶酶解产物的还原能力与组合酶相当,略高于碱性蛋白酶酶解的产物。

综合各蛋白酶以及组合酶酶解绿豆蛋白产物的抗氧化能力来看,中性蛋白酶酶解产物的抗氧化效果最好,可作为制备绿豆抗氧化肽的最优蛋白酶。此结果也与李琴等人的实验结果相符^[13]。



Control: 未加蛋白酶酶解的绿豆蛋白溶液;N4 中性蛋白酶酶解 4 h;N3A1 中性蛋白酶酶解 3 h 碱性蛋白酶酶解 1 h;N2A2 中性蛋白酶酶解 2 h 碱性蛋白酶酶解 2 h;N1A3 中性蛋白酶酶解 1 h 碱性蛋白酶酶解 3 h;A4 碱性蛋白酶酶解 4 h。

图 2 组合酶酶解绿豆蛋白产物的抗氧化能力

Fig. 2 Antioxidant ability of combined enzymes to enzymolysis mung bean protein products

2.2 酶解时间的选择

底物质量分数 3% 的绿豆蛋白在加酶量质量分数 6% (中性蛋白酶)、温度 50 ℃、pH 7 的条件下,分别酶解 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 h 后,灭酶取上清液后测其抗氧化指标。从图 3(a)中可以看出,随着酶解时间的增加,酶解产物的 DPPH 清除率呈现出先增长后减缓的趋势,并在 3 h 处达到清除率的顶峰。从图 3(b)中可以发现,酶解产物的还原能力相差不大,3 h 处的还原能力略高于其他时间。分析原因可

能是,酶解时间不足 3 h 时,水解不够充分,当酶解时间超过 3 h 时,水解过度,绿豆蛋白被水解成了抗氧化活性较差的寡肽或者游离氨基酸,因而水解产物的抗氧化活性降低。所以选择酶解时间为 3 h。

2.3 加酶量的选择

底物质量分数 3% 的绿豆蛋白在水解温度 50 ℃、pH 7、中性蛋白酶加酶量 (质量分数) 分别为 2%、4%、6%、8%、10% 的条件下,水解 3 h,然后灭酶,离心取上清液,测体外抗氧化指标。图 4(a)为

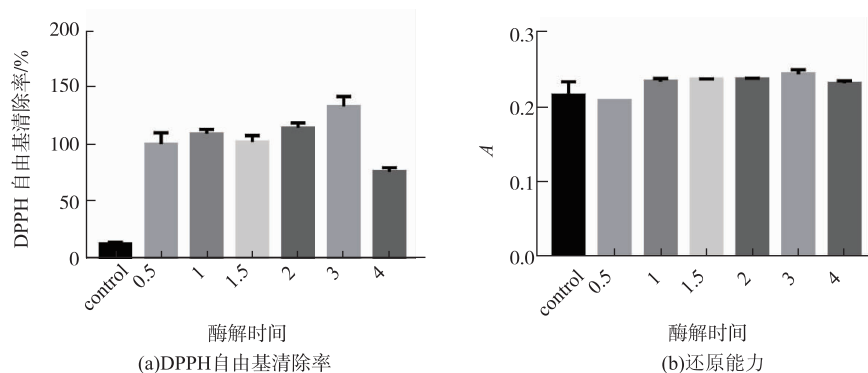


图3 不同酶解时间绿豆蛋白酶解产物的抗氧化能力

Fig. 3 Antioxidant ability of mung bean proteolysis products with different enzymatic time

DPPH 自由基清除率,随着酶用量的增大,清除率先减小后缓慢增加,加酶量为质量分数 2%时 DPPH 自由基清除率为最大值。图 4(c)为羟基自由基清除率,与 DPPH 自由基清除率变化相同,也是随着酶用量的增大,清除率先减小后缓慢增大,加酶量为质量分数 2%时,羟基自由基清除率为最大值。分析原因可能是,底物质量分数不变时,随着加酶量的增加,绿豆蛋白被充分水解成了抗氧化活性相对较

差的肽段。图 4(b)为还原能力与酶解时间关系,由图可知,各组之间的还原能力差距不大,随着酶用量的增大,还原能力略微增大,而且还原能力的体系所呈现出的组间差别并没有清除率那么大。综合 DPPH 自由基清除率、羟基自由基清除率以及生产成本的角度来看,选择质量分数 2%的加酶量为最适加酶量条件。

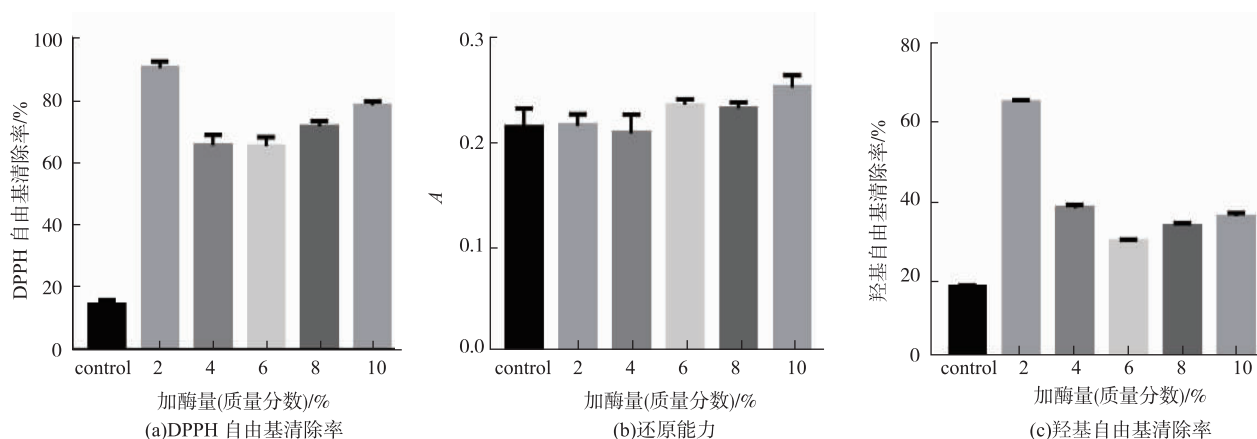


图4 不同加酶量绿豆蛋白酶解产物的抗氧化能力

Fig. 4 Antioxidant ability of mung bean proteolysis products with different enzyme contents

2.4 优化酶解条件下绿豆蛋白酶解产物的抗氧化能力

根据前期对绿豆蛋白酶解条件优化实验的结果,得出最优酶解条件:用中性蛋白酶酶解绿豆蛋白,在 pH 7、温度 50 ℃、底物质量分数 3%、加酶量为质量分数 2%的条件下,酶解 3 h,后灭酶,离心取上清液,最后冻干得到绿豆肽,测定其抗氧化能力。图 5(a)中可看出,DPPH 自由基清除率与酶解得到绿豆肽的质量浓度呈正相关性,随着绿豆肽质量浓

度的增大,其 DPPH 自由基清除率逐渐增大,这与酶种类选择的实验中酶解产物的浓度与 DPPH 自由基清除率呈正相关的结论一致。质量浓度为 1、5、10 mg/mL 的绿豆肽 DPPH 自由基清除率分别是 $(29.37 \pm 0.9)\%$ 、 $(91.58 \pm 2.44)\%$ 、 $(96.16 \pm 2.2)\%$,其中 5 mg/mL 绿豆肽的 DPPH 自由基清除率与图 5(c)中 500 $\mu\text{g/mL}$ 谷胱甘肽的 DPPH 自由基清除率相当,说明该绿豆肽具有较好的抗氧化能力。图 5(b)中可以看出,还原能力与酶解得到绿豆肽的质量浓

度呈正相关,随着绿豆肽质量浓度的增大,其 DPPH 自由基清除率逐渐增大,这同样与酶种类选择的实验中酶解产物的质量浓度与还原能力呈正相关的结论一致。质量浓度为 1、5、10 mg/mL 绿豆肽的吸光度值分别为 0.11 ± 0.01 、 0.18 ± 0.01 、 0.31 ± 0.03 ,吸光

度值逐渐增大,还原能力也逐渐增强,其中 5 mg/mL 绿豆肽的还原能力与图 5(d)中 100 $\mu\text{g/mL}$ 谷胱甘肽的还原能力相当,表明了优化酶解条件下绿豆蛋白酶解产物具有较好的抗氧化能力。

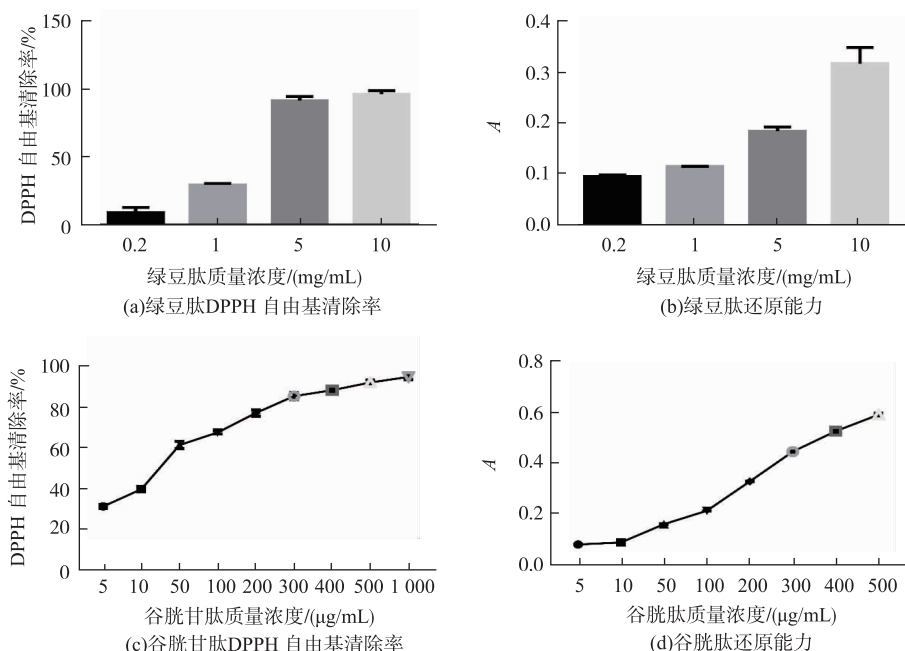


图 5 优化酶解条件下绿豆蛋白酶解产物以及谷胱甘肽的抗氧化能力

Fig. 5 Antioxidant capacity and mung bean proteolysis products under optimal enzymatic conditions

2.5 优化酶解条件下绿豆肽的分离纯化及其抗氧化活性

将优化酶解条件后得到的绿豆肽用凝胶过滤层析法分离纯化,收集峰值处组分,测其体外抗氧化指标。从图 6 中可以看出,洗脱过程中按照洗脱时间的先后顺序共出现 5 个明显的峰,分别收集得到组分 1—5,测其体外抗氧化指标与未分离多肽的抗氧化指标进行比较。图 7(a)为未分离多肽与分离的 5 个组分的 DPPH 自由基清除率,由图可知,未分离多肽的自由基清除率高于组分 2 和组分 3,但是低于组分 1、组分 4 和组分 5。组分 5 的清除率最高,为组分 4 清除率的 2.6 倍;其次是组分 1,为组分 4 的 2 倍。图 7(b)为未分离多肽与分离的 5 个组分的还原能力,与 DPPH 自由基清除率的结果相似,组分 5 的还原能力最高,是组分 4 的 4.7 倍。按照图 6 中出峰时间来判断,组分 5 出峰时间最晚,为相对分子质量较小的肽段,该分析结果也符合其他参考文献的结论,即相对分子质量较小肽段的抗

氧化能力超过相对分子质量较大肽段和未分离多肽^[2,18-19]。因此,小分子肽段组分 5 可作为绿豆蛋白酶解得到的抗氧化性能最好的蛋白肽段。而组分 5 的进一步分离纯化以及鉴定工作则需要在后续的实验中继续探究。

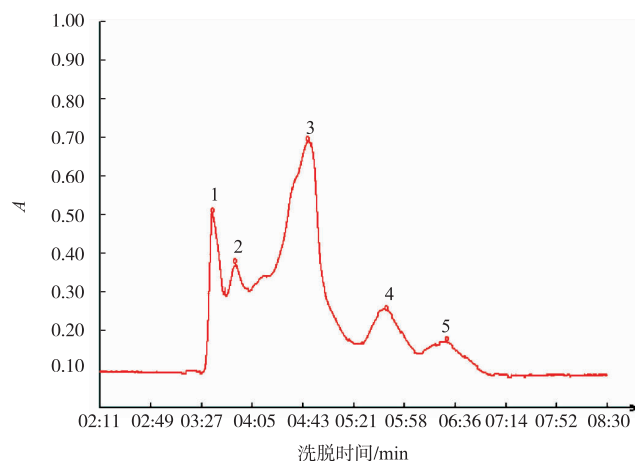


图 6 绿豆肽层析图谱

Fig. 6 Mung bean peptide chromatogram

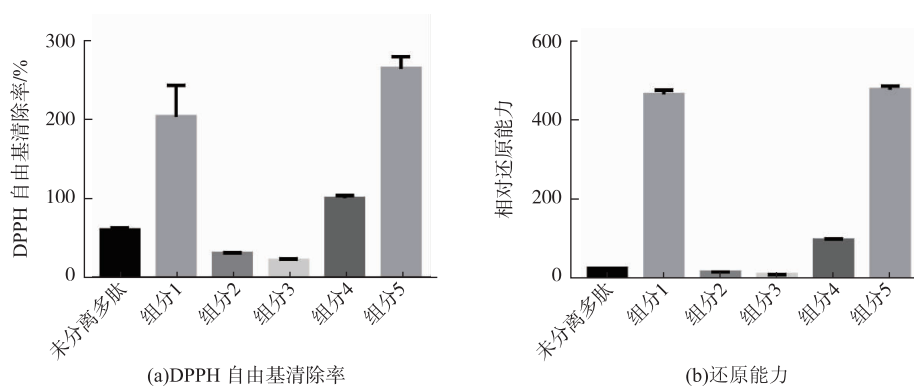


图7 绿豆肽分离组分抗氧化能力

Fig. 7 Antioxidant ability of mung bean peptide separation components

3 结 语

以绿豆蛋白为原料,分别选用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶以及组合酶分别在其最适温度、pH条件下对绿豆蛋白酶解,再用酶解时间和加酶量作为单因素条件,以DPPH自由基清除率、还原能力以及羟基自由基清除率作为判断酶解效果的指标。得到了绿豆蛋白最佳酶解条件为:中性蛋白酶酶解,底物质量分数3%,酶解时间3h,

加酶量为质量分数2%,pH 7.0,温度50℃,该条件下制备的绿豆蛋白酶解产物的抗氧化性能最好。质量浓度为5 mg/mL时,DPPH自由基清除率已高达(91.58±2.44)%,与500 μg/mL谷胱甘肽的DPPH自由基清除率相当,且具有较强的还原能力。另通过凝胶过滤层析分离绿豆肽,测其抗氧化能力,相对分子质量较小的肽段组分5为抗氧化效果最好的肽段。

参考文献:

- [1] LAGUERRE M, LECOMTE J, VILLENEUVE P, Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges[J]. *Prog Lipid Res*, 2007 46(5): 244-282.
- [2] WANG L, DING L, YU Z, ZHANG T, MA S, LIU J, Intracellular ROS scavenging and antioxidant enzyme regulating capacities of corn gluten meal-derived antioxidant peptides in HepG2 cells[J]. *Food Res Int*, 2016 90: 33-41.
- [3] BAENAS N, GARCIA-VIGUERA C, MORENO D.A, Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods[J]. *Molecules*, 2014, 19(9): 13541-13563.
- [4] EBERT A W, CHANG C H, YAN M R, et al. Nutritional composition of mungbean and soybean sprouts compared to their adult growth stage[J]. *Food Chem*, 2017, 237: 15-22.
- [5] YAO Y, YANG X, TIAN J, et al. Antioxidant and antidiabetic activities of black mung bean (*Vigna radiata* L.)[J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(34): 8104-8109.
- [6] DU M, XIE J, GONG B, et al. Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 21: 131-140.
- [7] HONG C L, CHIN K B, Evaluation of mungbean protein isolates at various levels as a substrate for microbial transglutaminase and water binding agent in pork myofibrillar protein gels[J]. *Int J Food Sci Tech*, 2013, 48(5): 1086-1092.
- [8] WONGEKALAK L, SAKULSOM P, JIRASRIPONGPUN K, et al. Potential use of antioxidative mungbean protein hydrolysate as an anticancer asiatic acid carrier[J]. *Food Res Int*, 2011, 44(3): 812-817.
- [9] GREWAL R B. Mung bean: technological and nutritional potential[J]. *Crit Rev Food Sci*, 2015, 55(5): 670-688.
- [10] SHI Z, YAO Y, ZHU Y, et al. Nutritional composition and antioxidant activity of twenty mung bean cultivars in China [J]. *The Crop Journal*, 2016 4(5): 398-406.
- [11] 马诗文, 高云, 韩思杨, 等. 复合酶协同水解法制备绿豆抗氧化多肽[J]. *食品工业科技*, 2019(15): 161-165.
- [12] 侯文娟, 张美莉, 付媛, 等. 酶法水解荞麦球蛋白制备抗氧化活性肽的研究[J]. *食品科学*, 2009(23): 274-280.

- [13] 李琴, 张海生, 许珊, 等. 绿豆抗氧化活性肽的制备及其抗氧化活性研究[J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(5):1063-1069.
- [14] ZHANG Q, TONG X, LI Y, et al. Purification and characterization of antioxidant peptides from alcalase-hydrolyzed soybean (glycine max L.) hydrolysate and their cytoprotective effects in human intestinal caco-2 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(20):5772-5781.
- [15] JIN J E, AHN C B, JE J Y. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed ark shell (*Scapharca subcrenata*)[J]. *Process Biochemistry*, 2018, 72:170-176.
- [16] SARBON N M, BADII F, HOWELL N K. Purification and characterization of antioxidative peptides derived from chicken skin gelatin hydrolysate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 85:311-320.
- [17] SHAHIDI F, ZHONG Y. Measurement of antioxidant activity[J]. *J Funct Foods*, 2015, 18:757-781.
- [18] H S B, AMIN I. Antioxidative peptides from food proteins; a review[J]. *Peptides*, 2010, 31(10):1949-1956.
- [19] TENORE G C, RITIENI A, CAMPIGLIA P, et al. Antioxidant peptides from 'Mozzarella di Bufala Campana DOP' after simulated gastrointestinal digestion: *In vitro* intestinal protection, bioavailability, and anti-haemolytic capacity[J]. *J Funct Foods*, 2015, 15:365-375.

科技信息

牛奶假单胞菌耐药性获解析

近日,中国农业科学院北京畜牧兽医研究所奶产品质量与风险评估科技创新团队在生乳中假单胞杆菌耐药性研究方面取得新进展,发现生乳假单胞杆菌存在多样的抗性决定簇以及获得性耐药基因,为生乳质量安全风险评估提供了支撑。相关研究成果发表在《微生物学前沿》上。

据文章作者孟璐博士介绍,假单胞杆菌是生乳中重要的腐败细菌,能产生热稳定的细胞外肽酶和脂肪酶,造成生乳的腐败。假单胞杆菌具有独特的抗性机制,并具备在环境中长期存活的能力,容易产生耐药性风险,从而对人体健康具有潜在的危害,因此有必要对生乳中假单胞杆菌进行耐药性评估。

研究人员通过对来自 87 个生乳样品的 143 株假单胞杆菌菌株进行表型分析,选出 11 种 86 株假单胞杆菌进行基因组学分析。结果表明,生乳假单胞杆菌对亚胺培南的耐药性最高(95.3%),其次是甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑(69.8%)、氨曲南(60.5%)、氯霉素(45.3%)和美罗培南(27.9%)。假单胞杆菌多重抗生素抗性指数值介于 0.1 到 0.8 之间。全基因组测序揭示了超过 100 个内在抗性决定簇和从其他细菌中获得的抗性基因。此外,还发现了假单胞杆菌耐药结节性细胞分裂和 ATP 结合盒抗生素外排泵。该研究创新性利用全基因组学方法评估了假单胞杆菌耐药性,为生乳中微生物耐药性评估提供了重要方法。

原文链接:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01005>

[信息来源]赵圣国. 牛奶假单胞菌耐药性获解析 [EB/OL]. (2020-08-27). <http://www.caas.cn/xwzx/kyjz/307160.html>