

亚麻籽巯基肽的制备及富集

李 瑞,孟新和,乌日恒,包小兰

(内蒙古农业大学 食品科学与工程学院,呼和浩特 010018)

摘要:天然巯基化合物因生理活性高、毒副作用低等优势越来越受到关注。为获得天然巯基肽,以低温压榨亚麻籽饼为原料提取亚麻籽蛋白,进一步酶解制备富含巯基的亚麻籽蛋白酶解物,并采用共价色谱法富集亚麻籽巯基肽。首先对蛋白酶进行了筛选,然后以酶解温度、pH、酶解时间、酶添加量、料液比为考察因素,以巯基含量为评价指标,在单因素实验的基础上通过正交实验对酶解工艺进行优化。采用 Thiopropyl Crystarose 6 Fast Flow 凝胶对亚麻籽蛋白酶解物中巯基肽进行选择吸附并洗脱收集,并对亚麻籽巯基肽的氨基酸组成进行了分析。结果表明:最佳酶解工艺条件为采用木瓜蛋白酶、料液比 1:60、pH 7.0、酶解温度 55 °C、酶添加量 3%、酶解时间 4 h,在此条件下亚麻籽蛋白酶解物的巯基含量为 16.69 $\mu\text{mol/g}$;通过富集得到巯基含量为 71.13 $\mu\text{mol/g}$ 的亚麻籽巯基肽;相较于亚麻籽蛋白,亚麻籽巯基肽中含巯基氨基酸比例升高。综上,以低温压榨亚麻籽饼为原料,通过蛋白提取、酶解和共价色谱法富集可得到亚麻籽巯基肽。

关键词:亚麻籽巯基肽;制备;富集;共价色谱

中图分类号:TS201.1; TS229 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)12-0064-06

Preparation and enrichment of flaxseed sulfhydryl peptide

LI Rui, MENG Xinhe, WU Riheng, BAO Xiaolan

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: Natural sulfhydryl compounds have attracted more and more attention because of their advantages of high physiological activity and low toxicity and side effects. In order to obtain natural sulfhydryl peptides, flaxseed protein was extracted from low-temperature pressed flaxseed cake, and further enzymatically hydrolyzed to prepare flaxseed protein hydrolysates rich in sulfhydryl. Flaxseed sulfhydryl peptide was enriched by covalent chromatography. Firstly, the protease was screened, and then the enzymatic hydrolysis process was optimized by single factor experiment and orthogonal experiment with enzymatic hydrolysis temperature, pH, enzymatic hydrolysis time, enzyme dosage and solid-liquid ratio as investigation factors and sulfhydryl content as evaluation index. Thiopropyl Crystarose 6 Fast Flow gel was used for selective adsorption and desorption of sulfhydryl peptides from flaxseed protein hydrolysates, and the amino acid composition of flaxseed sulfhydryl peptide was analyzed. The results showed that the optimal enzymatic hydrolysis conditions were obtained as follows: using papain, enzymatic hydrolysis temperature 55 °C, pH 7.0, enzymatic hydrolysis time 4 h, enzyme dosage 3% and solid-liquid ratio 1:60. Under these conditions, the sulfhydryl content in flaxseed protein hydrolysates was 16.69 $\mu\text{mol/g}$, and it was 71.13 $\mu\text{mol/g}$ after enrichment. Compared with flaxseed protein, the

proportion of sulfhydryl amino acids in flaxseed sulfhydryl peptides increased. In summary, with low-temperature pressed flaxseed cake as raw material, flaxseed sulfhydryl peptide can be obtained by protein extraction, enzymatic hydrolysis and covalent chromatography enrichment.

Key words: flaxseed sulfhydryl peptide; preparation; enrichment; covalent chromatography

收稿日期:2021-09-29;修回日期:2022-08-22

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金(31860423);内蒙古自治区科技计划项目(2020GG0064);内蒙古自治区研究生教育创新计划资助项目(SZ2020084)

作者简介:李 瑞(1997),男,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail)464636393@qq.com。

通信作者:包小兰,教授,博士(E-mail)xl06@163.com。

亚麻籽是我国重要的油料^[1]。目前,亚麻籽主要用来榨取油脂,榨油后的副产物即为亚麻籽饼。亚麻籽饼中蛋白质含量高达35%以上,其氨基酸的组成和比例基本符合WHO/FAO规定人体所需氨基酸的模式,是一种优质的植物蛋白来源^[2],但目前亚麻籽饼大多被加工成饲料,造成优质植物蛋白资源浪费^[3-4]。亚麻籽蛋白具有保护心脏健康、提高人体免疫功能、抑制血管紧张素转化酶活性、抑菌等功能^[5-7]。亚麻籽蛋白酶解肽具有抗氧化^[8]、降血压^[9]、降血脂^[10-11]等多种生理活性。目前国内外高度重视植物蛋白的加工利用,因此对亚麻籽蛋白进行深度加工利用显得尤为重要。

随着我国工业化进程的加速,铅污染问题越来越严重。铅通过消化道、呼吸道及皮肤等进入人体,通过血液循环分布于肝、肾、脑、皮肤和骨骼肌等软组织中,引起神经系统、造血系统、内分泌系统、心血管系统、免疫系统不同程度的损伤,引发一系列相关的病症^[12]。因此,预防和治疗铅中毒已经成为亟待研究解决的课题。目前,铅中毒的主要防治方法有化学制剂排铅及中药排铅,但均存在一定的副作用^[12]。因此,从天然产物中寻找防治铅中毒且无副作用的重金属解毒剂具有重要意义。前期研究发现给重金属铅中毒人群提供足够量的优质蛋白质和氨基酸,可以降低体内铅的浓度,减轻铅中毒症状^[13]。丁秀臻^[14]研究表明大豆球蛋白酶解物中巯基肽在体外与重金属有很强的结合能力。于立博^[15]发现从新疆鹰嘴豆中提取的鹰嘴豆-金属硫蛋白能够拮抗铅毒性。以上研究表明,含有巯基的蛋白质及其多肽能与重金属离子螯合并排出体外,所以制备出含有巯基的活性肽来螯合重金属并排出体外是一种可行的解毒思路。

亚麻籽蛋白含有带巯基的半胱氨酸,目前以亚麻籽蛋白为原料制备巯基肽的研究较少。因此,本文以低温压榨亚麻籽饼为原料提取亚麻籽蛋白,并对其进行酶解,制备富含巯基的亚麻籽蛋白酶解物,对酶解工艺条件进行优化,而后通过共价色谱法富集巯基肽,以期对亚麻籽蛋白深加工利用提供新途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

低温压榨亚麻籽饼,内蒙古丰吉妙农业产品科技开发有限公司。Thiopropyl Crystarose 6 Fast Flow

凝胶,武汉晶诚生物科技股份有限公司;甘氨酸,北京索莱宝科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris),北京酷来搏科技有限公司;二硫苏糖醇(DTT)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸),上海麦克林生化科技有限公司;碱性蛋白酶(10 000 U/g)、木瓜蛋白酶(12 000 U/g)、胃蛋白酶(10 000 U/g),诺维信(中国)生物技术有限公司。

1.1.2 仪器与设备

UV-2300紫外分光光度计,北京中西远大科技有限公司;FDU-2200真空浓缩冷冻干燥机,东京理化器械株式会社;PHSJ-4A酸度计,上海雷磁仪器电科学仪器股份有限公司;L-8900氨基酸分析仪,日本日立公司。

1.2 实验方法

1.2.1 亚麻籽蛋白的制备

根据刘晓静^[16]的方法稍作修改。将低温压榨亚麻籽饼粉碎,按料液比1:3与正己烷混合于烧杯中,常温下充分搅拌2 h,弃去上清液,将沉淀再加正己烷重复脱脂3次,然后将沉淀晾干得到脱脂亚麻籽饼粉。称取20 g脱脂亚麻籽饼粉于烧杯中,以料液比1:35加入蒸馏水混合,调pH至8.5,放入50℃恒温水浴锅中浸提2 h,以4 500 r/min离心15 min,取上清液,用0.1 mol/L HCl将上清液pH调至4.4,静置1 h,之后以4 500 r/min离心15 min,取沉淀,用0.1 mol/L NaOH将其pH调至7.0,冷冻干燥后即得亚麻籽蛋白。

1.2.2 亚麻籽蛋白的酶解

称取一定量亚麻籽蛋白,加入蒸馏水配制成亚麻籽蛋白溶液,调节pH后加入蛋白酶,搅拌均匀,置于一定温度水浴锅中恒温酶解一定时间。酶解结束后90℃灭酶15 min,在4 000 r/min下离心15 min后所得上清液即为亚麻籽蛋白酶解液,冷冻干燥得到亚麻籽蛋白酶解物。

1.2.3 亚麻籽巯基肽的富集

以Thiopropyl Crystarose 6 Fast Flow凝胶为填充装柱(ϕ 1.5 cm \times 4 cm),总体积为28.3 mL,用含有1 mmol/L EDTA的0.05 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH 7.5)平衡柱子。将40 mg亚麻籽蛋白酶解物溶于40 mL蒸馏水配制成亚麻籽蛋白酶解物溶液,将其以20 mL/h的流速过柱后,用缓冲液洗涤凝胶柱至吸光度小于0.1时,使用100 mL含20 mmol/L DTT的缓冲液洗脱,收集洗脱液,用截留分子质量为500 Da透析袋对洗脱液透析48 h(期间换水6~8次),以去除过量的DTT及盐分,冷冻干燥得到亚麻籽巯基肽。

1.2.4 巯基含量的测定

根据 Ellman's 法并稍作修改^[17-18]。以 Tris - 甘氨酸缓冲液配制质量浓度为 30 mg/mL 的样品溶液,然后加入质量浓度为 4 mg/mL 的 Ellman's 试剂,室温反应 30 min 后以 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液在 412 nm 处测定吸光度,以不加样品的试剂为空白,按下式计算巯基含量(Y_{SH})。

$$Y_{SH} = \frac{73.53 \times (A_{412} - A_{空白}) \times D}{C} \quad (1)$$

式中: A_{412} 为样品上清液的吸光度; $A_{空白}$ 为空白的吸光度; D 为稀释倍数; C 为样品质量浓度,mg/mL。

1.2.5 氨基酸组成分析

取 13.8 mg 样品置于蛋白水解瓶中,加入 7 mL 6 mol/L 的 HCl 溶液,于氮气保护下 110 °C 水解 22 h,冷却后转移至 10 mL 容量瓶,加水定容。取 0.1 mL 溶液于 55 °C 用氮气吹干,吹干后样品加约 0.3 mL 蒸馏水,再于 55 °C 用氮气吹干。加入 0.6 mL 0.02 mol/L 的 HCl 充分溶解。将溶液振荡混匀后用 0.22 μ m 滤膜过滤,精密量取供样本溶液 20 μ L 注入氨基酸自动分析仪,对氨基酸组成进行测定。

1.2.6 统计分析

实验均重复 3 次,结果以“平均值 \pm 标准差”表示,用 SPSS 16.0 统计软件的方差分析(ANOVA)进行两组间的数据分析,用 Origin 2018 作图。

2 结果与分析

2.1 蛋白酶的筛选

选用木瓜蛋白酶、胃蛋白酶和碱性蛋白酶在酶解温度 55 °C、pH 7.0、料液比 1:50 和酶添加量 1% 的条件下,对亚麻籽蛋白分别酶解 2 ~ 10 h,测定亚麻籽蛋白酶解物中的巯基含量,结果如图 1 所示。

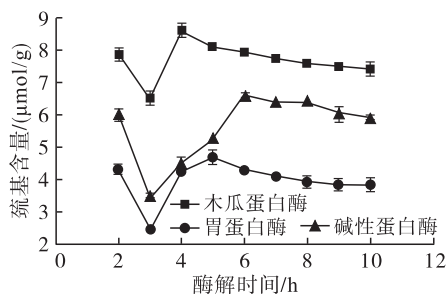


图1 不同蛋白酶酶解后亚麻籽蛋白酶解物中的巯基含量

由图 1 可知,亚麻籽蛋白在不同蛋白酶的酶解作用下,其巯基含量均呈现先降低后增加再趋于平

缓的趋势。胃蛋白酶酶解 5 h 时巯基含量达到最大值,为 4.68 μ mol/g;木瓜蛋白酶酶解 4 h 时巯基含量达到最大值,为 8.63 μ mol/g;碱性蛋白酶酶解 6 h 时巯基含量达到最大值,为 6.69 μ mol/g。亚麻籽蛋白经木瓜蛋白酶酶解所得酶解物巯基含量最高,故将其用于下一步的研究。

2.2 单因素实验

2.2.1 酶解温度对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

在 pH 7.0、酶解时间 4 h、料液比 1:50 和酶添加量 1% 的条件下,改变酶解温度分别为 40、45、50、55、60、65 °C,探讨酶解温度对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响,结果如图 2 所示。

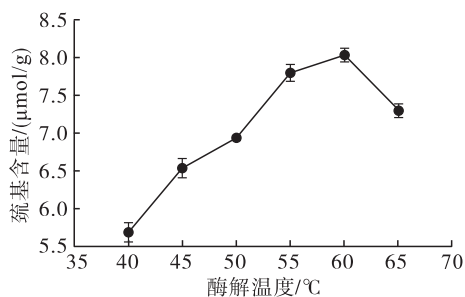


图2 酶解温度对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

由图 2 可知,酶解温度从 40 °C 升高至 60 °C 的过程中,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈不断上升的趋势,在酶解温度为 60 °C 时达到最高,为 8.03 μ mol/g,但随着酶解温度继续升高,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量开始下降。这是因为温度超过 60 °C 时,木瓜蛋白酶的活力受到影响,不能达到最佳的酶解效果。因此,选择适宜的酶解温度为 60 °C。

2.2.2 pH 对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

在酶解温度 55 °C、酶解时间 4 h、料液比 1:50 和酶添加量 1% 的条件下,改变 pH 分别为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5,探讨 pH 对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响,结果如图 3 所示。

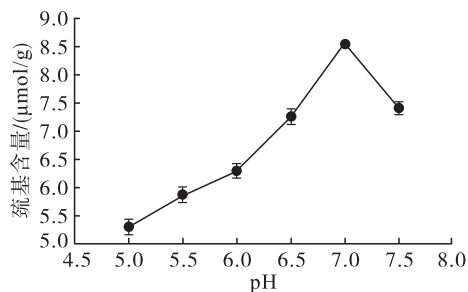


图3 pH 对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

由图 3 可知,pH 从 5.0 升高至 7.0 的过程中,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈不断上升的趋势,

在 pH 为 7.0 时达到最高,为 8.59 $\mu\text{mol/g}$,但随着 pH 继续增大,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量开始下降。因此,选择适宜的酶解 pH 为 7.0。

2.2.3 酶解时间对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

在酶解温度 55 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7.0、料液比 1:50 和酶添加量 1% 的条件下,改变酶解时间分别为 2、3、4、5、6、7 h,探讨酶解时间对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响,结果如图 4 所示。

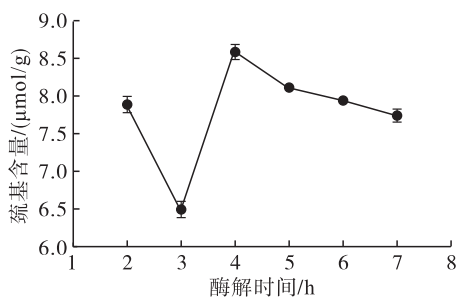


图 4 酶解时间对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

由图 4 可知,当酶解时间从 2 h 延长至 3 h 时,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈现下降趋势,在 3 h 时达到最低,之后随着酶解时间的延长,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈现上升趋势并在 4 h 时达到最高,为 8.63 $\mu\text{mol/g}$,继续延长酶解时间,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈现缓慢下降趋势。这可能是由于酶解初期酶解不充分,部分含巯基肽段会随大分子蛋白沉淀,导致了巯基的流失;之后随酶解时间的延长,亚麻籽蛋白被进一步酶解,大分子蛋白逐渐被酶解为小分子肽段,其中含有巯基的肽段也随之增加,所以亚麻籽蛋白酶解物中的巯基含量会逐渐升高;但酶解时间过长,巯基可能发生氧化,从而造成其含量降低。因此,适宜的酶解时间为 4 h。

2.2.4 酶添加量对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

在酶解温度 55 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7.0、料液比 1:50 和酶解时间 4 h 的条件下,改变酶添加量分别为 1%、2%、3%、4%、5%、6%,探讨酶添加量对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响,结果如图 5 所示。

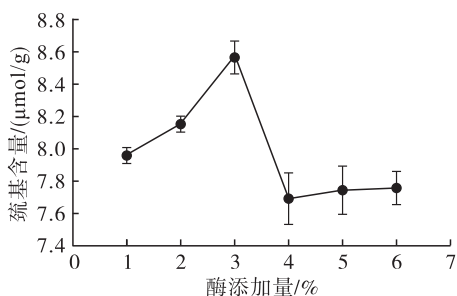


图 5 酶添加量对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

由图 5 可知,酶添加量从 1% 增加至 3% 时,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈不断上升的趋势,在酶添加量为 3% 时达到最高,为 8.69 $\mu\text{mol/g}$,但随着酶添加量继续增加,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量开始下降,并在酶添加量为 4% ~ 6% 时趋于平缓。因此,选择适宜的木瓜蛋白酶添加量为 3%。

2.2.5 料液比对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

在酶解温度 55 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7.0、酶解时间 4 h 和酶添加量 1% 的条件下,改变料液比分别为 1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80,探讨料液比对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响,结果如图 6 所示。

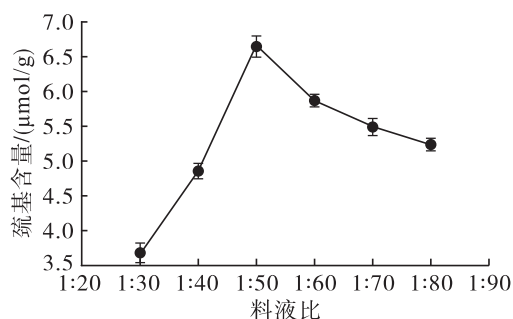


图 6 料液比对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量的影响

由图 6 可知,料液比从 1:30 增加至 1:50 时,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量呈不断上升的趋势,在料液比为 1:50 时达到最高,为 6.65 $\mu\text{mol/g}$,随着料液比继续提高,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量开始下降。因此,选择适宜的料液比为 1:50。

2.3 正交实验

基于单因素实验结果,以巯基含量为考察指标,选择酶解温度(A)、酶解时间(B)、pH(C)、酶添加量(D)、料液比(E)为考察因素,各取 4 个水平,设计 $L_{16}(4^5)$ 正交实验,对亚麻籽蛋白的酶解工艺条件进行优化。正交实验因素水平见表 1,正交实验设计与结果见表 2。

表 1 正交实验因素水平

水平	酶解温度/ $^{\circ}\text{C}$	酶解时间/h	pH	酶添加量/%	料液比
1	50	2	5.0	1	1:40
2	55	3	6.0	2	1:50
3	60	4	7.0	3	1:60
4	65	5	8.0	4	1:70

表2 正交实验设计与结果

实验号	A	B	C	D	E	巯基含量/ ($\mu\text{mol/g}$)
1	1	1	1	1	1	5.91
2	1	2	2	2	2	7.99
3	1	3	3	3	3	12.92
4	1	4	4	4	4	9.43
5	2	1	2	3	4	9.54
6	2	2	1	4	3	7.92
7	2	3	4	1	2	10.55
8	2	4	3	2	1	9.58
9	3	1	3	4	2	9.62
10	3	2	4	3	1	8.61
11	3	3	1	2	4	8.79
12	3	4	2	1	3	8.98
13	4	1	4	2	3	8.13
14	4	2	3	1	4	9.01
15	4	3	2	4	1	8.96
16	4	4	1	3	2	5.36
k_1	9.06	8.30	7.00	8.61	8.27	
k_2	9.40	8.38	8.87	8.62	8.38	
k_3	9.00	10.31	10.28	9.11	9.49	
k_4	7.87	8.34	9.18	8.98	9.19	
R	1.53	2.01	3.29	0.49	1.22	

由表2可知,对亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量影响主次关系是C>B>A>E>D,即pH>酶解时间>酶解温度>料液比>酶添加量,最优水平组合为A₂B₃C₃D₃E₃,即酶解温度55℃,酶解时间4h,pH7.0,酶添加量3%,料液比1:60。在最优酶解条件下进行实验,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量为16.69 $\mu\text{mol/g}$,高于表2中最高巯基含量(12.92 $\mu\text{mol/g}$)。

2.4 亚麻籽巯基肽的巯基含量及氨基酸组成

按1.2.3方法对最优酶解条件下制备的亚麻籽蛋白酶解物中的巯基肽进行富集,测定其巯基含量,并与亚麻籽蛋白及其酶解物的巯基含量进行比较,结果见表3。

表3 亚麻籽蛋白、亚麻籽蛋白酶解物

及亚麻籽巯基肽的巯基含量 $\mu\text{mol/g}$		
亚麻籽蛋白	亚麻籽蛋白酶解物	亚麻籽巯基肽
8.63 \pm 0.45	16.69 \pm 0.37	71.13 \pm 1.87

由表3可知,亚麻籽蛋白酶解物中巯基含量由8.63 $\mu\text{mol/g}$ 提升至16.69 $\mu\text{mol/g}$,提升至原来的近2倍。经共价色谱法富集后亚麻籽巯基肽中巯基含量从16.69 $\mu\text{mol/g}$ 提高到71.13 $\mu\text{mol/g}$,提升至原来的4.26倍。

进一步对亚麻籽蛋白及亚麻籽巯基肽的氨基酸组成进行分析,结果见表4。

表4 亚麻籽蛋白及亚麻籽巯基肽的氨基酸组成及含量

氨基酸	亚麻籽蛋白	亚麻籽巯基肽
中性氨基酸(极性)		
苏氨酸(Thr)	4.39	2.24
丝氨酸(Ser)	6.62	3.52
甘氨酸(Gly)	10.03	9.82
酪氨酸(Tyr)	0.62	0.18
半胱氨酸(Cys)	1.12	3.31
总量	22.78	19.07
酸性氨基酸(极性)		
天冬氨酸(Asp)	11.24	8.05
谷氨酸(Glu)	10.03	9.82
总量	21.27	17.87
碱性氨基酸(极性)		
赖氨酸(Lys)	2.92	1.73
精氨酸(Arg)	8.67	7.59
组氨酸(His)	1.98	0.91
总量	13.57	10.23
疏水性氨基酸(非极性)		
丙氨酸(Ala)	7.31	6.96
缬氨酸(Val)	6.48	7.57
甲硫氨酸(Met)	0.33	1.66
异亮氨酸(Ile)	4.82	4.74
亮氨酸(Leu)	6.41	6.35
苯丙氨酸(Phe)	4.32	4.50
脯氨酸(Pro)	3.88	3.81
总量	33.55	35.59

注:甘氨酸归类存在争议,本文将其归于极性氨基酸

由表4可知,亚麻籽巯基肽的氨基酸含量与亚麻籽蛋白相比发生了改变,亚麻籽巯基肽的半胱氨酸、甲硫氨酸含量与亚麻籽蛋白相比分别增加了1.96、4.03倍,表明亚麻籽巯基肽中有更多的含巯基氨基酸。

3 结论

本实验以低温压榨亚麻籽饼为原料提取亚麻籽蛋白,通过酶解亚麻籽蛋白制备亚麻籽蛋白酶解物,以巯基含量为指标,对蛋白酶进行了筛选,通过单因素实验和正交实验对其酶解工艺进行了优化,采用共价色谱法对酶解产物中巯基肽进行富集,制备得到亚麻籽巯基肽。结果表明:采用木瓜蛋白酶在料液比1:60、pH7.0、酶解温度55℃、酶添加量3%的条件下酶解4h,得到的亚麻籽蛋白酶解物的巯基含量最高,为16.69 $\mu\text{mol/g}$;采用共价色谱法富集得到的亚麻籽巯基肽中巯基含量达到71.13 $\mu\text{mol/g}$ 。氨基酸组成分析表明,相比亚麻籽蛋白,富集后亚麻籽巯基肽的含巯基氨基酸半胱氨酸、甲硫氨酸含量上升。综上,以低温压榨亚麻籽饼为原料,通过蛋白提

取、酶解和共价色谱法富集可得到亚麻籽巯基肽。

参考文献:

- [1] 周政. 我国亚麻籽油产业发展现状及存在问题[J]. 中国油脂, 2020, 45(9): 134 - 136.
- [2] 深圳市诚致生物开发有限公司, 佛山科学技术学院. 一种提高亚麻籽粕中蛋白质水解度的方法: CN201910939357.9[P]. 2019 - 12 - 13.
- [3] 李赫, 张文敏, 应知伟, 等. 亚麻籽蛋白及其活性肽的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(6): 330 - 335, 341.
- [4] 李燕青, 金军. 亚麻籽中氨基酸组成及含量的研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(7): 169 - 173.
- [5] DOYEN A, UDENIGWE C C, MITCHELL P L, et al. Anti - diabetic and antihypertensive activities of two flaxseed protein hydrolysate fractions revealed following their simultaneous separation by electrodialysis with ultrafiltration membranes [J]. Food Chem, 2014, 145: 66 - 76.
- [6] TEHRANI M H H, BATAL R, KAMALINEJAD M, et al. Extraction and purification of flaxseed proteins and studying their antibacterial activities[J]. J Plant Sci, 2014, 2(1): 10 - 12.
- [7] XU Y, HALL C, WOLF - HALL C. Antifungal activity stability of flaxseed protein extract using response surface methodology[J]. J Food Sci, 2010, 73(1): 9 - 14.
- [8] 王惠敏, 李茜, 蔡甜甜, 等. 亚麻籽粕抗氧化肽制备工艺的响应面法优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(3): 220 - 225.
- [9] UDENIGWE C C, ADEBIYI A P, DOVEN A, et al. Low molecular weight flaxseed protein - derived arginine - containing peptides reduced blood pressure of spontaneously hypertensive rats faster than amino acid form of arginine and native flaxseed protein [J]. Food Chem, 2012, 132(1): 468 - 475.
- [10] 郑睿. 降胆固醇亚麻籽蛋白酶解肽的制备及结构表征[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [11] 包小兰, 刘晓静, 郑睿, 等. 亚麻籽降胆固醇活性肽的酶解工艺优化及分级制备[J]. 中国油脂, 2020, 45(6): 30 - 35.
- [12] 王倩. 蜂胶黄酮对小鼠铅中毒的保护作用及其机制研究[D]. 西安: 西北大学, 2020.
- [13] 刘秀红. 大豆抗氧化肽的制备及其协同促排铅效果的研究[D]. 黑龙江 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2010.
- [14] 丁秀臻. 大豆球蛋白酶解物中巯基肽的分布、制备及其与重金属离子作用的研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2016.
- [15] 于立博. 新疆鹰嘴豆中金属硫蛋白对铅毒性作用的干预研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2013.
- [16] 刘晓静. 亚麻籽肽降胆固醇作用的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- [17] ELLMAN G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. Arch Biochem Biophys, 1959, 82(1): 70 - 77.
- [18] THANNHAUSER T W, KONISHI Y, SCHERAGA H A. Sensitive quantitative analysis of disulfide bonds in polypeptides and proteins[J]. Anal Biochem, 1984, 138(1): 181 - 188.
- (上接第 50 页)
- [8] LAGUERRE M, BAYRASY C, PANYA A, et al. What makes good antioxidants in lipid - based systems? The next theories beyond the polar paradox [J]. Crit Rev Food Sci, 2015, 55(2): 183 - 201.
- [9] 孙逸雯, 魏训娇, 吴昕月, 等. 复合天然抗氧化剂及新型包装对亚麻籽油氧化稳定性的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(11): 86 - 89.
- [10] 党玲, 祁乐乐, 冯耀, 等. 抗氧化剂对室温储存亚麻籽油过氧化值变化的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(5): 25 - 29.
- [11] 刘李春, 蒋玉洁, 申明月, 等. 天然抗氧化剂对红烧肉烹饪过程中热加工危害物形成的控制[J]. 食品科学, 2021, 42(15): 50 - 57.
- [12] 郑平玉, 王卫飞, 王永华, 等. 高纯度甘油二酯的酶法合成及性质研究[J]. 中国油脂, 2013, 38(3): 43 - 46.
- [13] BUDILARTO E S, KAMAL - ELDIN A. Stabilization of cod liver oil with a quaternary combination of α - tocopherol and synergists: method of assessment [J]. Eur J Lipid Sci Tech, 2015, 117(10): 1598 - 1606.
- [14] 孙晓伟, 梁金. 化学发光法研究迷迭香抗脂质过氧化性能[J]. 河南科学, 2014, 32(7): 1204 - 1207.
- [15] 李甜甜, 黄丽君, 周蕊, 等. 维生素 E 在油脂中抗氧化与促氧化研究进展[J]. 农村经济与科技, 2017, 28(21): 155 - 157.
- [16] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41 - 45.
- [17] 姚梦莹, 匡婷, 云永欢, 等. 鼠尾草酸对椰子油热加工过程中主要理化性质、脂肪酸组成与自由基的影响研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(8): 39 - 44.
- [18] 于文秀, 刘玉兰, 曲宗乔, 等. 不同抗氧化剂对调和油煎炸性能影响研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(8): 89 - 93, 103.