

双孢蘑菇抗氧化肽的没食子酸化修饰及其体外抗氧化活性

Study on gallic acid-modified antioxidant peptide from *Agaricus Bisporus* and its antioxidant activities in vitro

张强^{1,2} 吴彩娥² 祝嫦巍¹ 訾士波¹ 王呈¹

ZHANG Qiang^{1,2} WU Cai-e² ZHU Chang-wei¹ ZI Shi-bo¹ WANG Cheng¹

(1. 安徽科技学院生命科学学院, 安徽 蚌埠 233100; 2. 南京林业大学轻工科学与工程学院, 江苏 南京 210037)

(1. Life Science College, Anhui Science and Technology University, Bengbu, Anhui 233100, China;

2. College of Light Industry Science and Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China)

摘要:采用没食子酸(GA)对双孢蘑菇抗氧化肽(ABAP)进行修饰,通过正交试验优化 GA—ABAP 的制备工艺,利用紫外—可见光谱及红外光谱证实了修饰反应的发生,同时通过体外试验模型比较 ABAP 修饰前后抗氧化活性变化。结果表明,GA—ABAP 的最佳制备工艺为:GA 与 ABAP 的体积比 5:1, pH 11.0, 微波(起始 700 W, 沸腾后改为 140 W)加热时间 8 min;该条件下制备的 GA—ABAP 的抗氧化活性较 ABAP 显著提高,还原力和对 DPPH 自由基的清除能力分别是修饰前的 11.16 和 9.83 倍,对 Fe²⁺ 的螯合能力和对超氧阴离子自由基的清除能力分别比修饰前增加了 78.00% 和 109.80%,说明 GA 修饰可有效提高 ABAP 的抗氧化活性。

关键词:双孢蘑菇;抗氧化肽;没食子酸;化学修饰;抗氧化

Abstract: With reducing power as the index of investigation, the preparation technology of gallic acid-modified antioxidant peptide from *Agaricus Bisporus* (GA—ABAP) was optimized by of orthogonal test and in vitro antioxidant activities of GA—ABAP. The results showed that the optimum preparation conditions of GA—ABAP were as followed: volume proportion of GA to ABAP of 5:1, pH value of 11.0, heating time of microwave of 8 min. The comparison showed that the in vitro antioxidant activities of GA—ABAP prepared in this condition were remarkably improved, the reducing power and DPPH radical scavenging activity of GA—ABAP were 11.16 and 9.83 times higher than those of ABAP, respectively; the metal chelating ability

and superoxide anion radical scavenging ability of GA—ABAP were increased by 78.00% and 109.80%, respectively, and suggesting that GA modification may be effective in improving antioxidant activity of antioxidant peptides.

Keywords: *Agaricus Bisporus*; antioxidant peptide; gallic acid; chemical modification; antioxidation

近年来,有关抗氧化肽的研究引起了人们的高度关注,相关的研究主要集中在制备工艺的优化、分离纯化与结构表征以及抗氧化功能研究等方面^[1]。酶法制备的抗氧化肽,由于受原料蛋白一级结构的限制,其抗氧化活性远不如人工合成的抗氧化剂。因此,有必要对其进行适当的修饰以提高其生物学效用。美拉德反应^[2]、类蛋白反应^[3]、自由基降解^[4]及高压脉冲电场处理^[5]等方法已用于抗氧化肽的结构修饰,均取得了较理想的效果,但将没食子酸(GA)用于抗氧化肽结构修饰的相关研究国内外尚未见报道。没食子酸,又名五倍子酸、棓酸,化学名 3,4,5-三羟基苯甲酸,广泛存在于自然界,是一类分子中具有羧基和羟基的天然多酚类物质^[6],药理学研究^[7]表明,GA 具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗基因突变、抗肿瘤等多种功效,而且对正常细胞没有毒副作用。GA 作为一种抗氧化剂在食品、药品和化妆品中已有广泛应用^[8]。另一方面,在一定的条件下,GA 分子结构中的羧基可以和蛋白质或肽分子中的羟基或氨基基团发生亲核反应,其产物有望改善原食品蛋白质或肽的功能特性,甚至可以赋予原蛋白质或肽没有的新功能^[9]。本研究针对酶法制备的抗氧化肽生物学效用较低的问题,拟将双孢蘑菇抗氧化肽(ABAP)与 GA 结合,对 GA—ABAP 的制备工艺进行探究,旨在为活性肽类天然抗氧化剂的深入研究和开发提供一定的理论和试验依据。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:31100070);安徽科技学院自然科学研究重点项目(编号:ZRC2013363);安徽科技学院生物学校级重点学科项目(编号:AKZDXK2015B02)

作者简介:张强(1979—),男,安徽科技学院副教授,博士。
E-mail: zq7964@163.com

通讯作者:吴彩娥

收稿日期:2015-04-29

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

双孢蘑菇抗氧化肽:本实验室自制;
1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH):美国 Sigma 公司;
菲洛嗪(Ferrozine):美国 Fluka 公司;
铁氰化钾、氯化亚铁、三氯乙酸等:分析纯,市售。

1.1.2 试验仪器

微波炉:MZ-2070EGZ 型,青岛海尔微波制品有限公司;
紫外可见分光光度计:TU-1810 型,北京普析通仪器有限公司;
低温冷冻离心机:Eppendorf 5804R 型,德国 Eppendorf 公司;
红外光谱仪:NICOLET 380 型,美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 试验方法

1.2.1 GA—ABAP 制备的单因素试验

(1) 加热时间对 GA—ABAP 制备的影响:按体积比 5 : 1 量取 5 mg/mL 的 GA 和 5 mg/mL 的 ABAP,混于具塞试管中,用 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调整溶液的 pH 至 11.0,反应体系的总体积为 10 mL,将试管置于微波炉中加热(先 700 W,沸腾后改为 140 W)一定时间(3,4,5,6,7,8 min)后,立即于冰浴中冷却,再用截留分子量 300 Da 的透析袋透析 48 h,收集透析液,冻干,检测产物的还原力。

(2) 体积比对 GA—ABAP 制备的影响:按不同的体积比(1 : 3,1 : 2,1 : 1,2 : 1,3 : 1,4 : 1,5 : 1)量取 5 mg/mL 的 GA 和 5 mg/mL 的 ABAP,混于具塞试管中,用 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调整溶液的 pH 至 11.0,反应体系的总体积为 10 mL,将试管置于微波炉中加热(先 700 W,沸腾后改为 140 W)6 min,然后立即于冰浴中冷却,再用截留分子量 300 Da 的透析袋透析 48 h,收集透析液,冻干,检测产物的还原力。

(3) pH 对 GA—ABAP 制备的影响:按体积比 4 : 1 量取 5 mg/mL 的 GA 和 5 mg/mL 的 ABAP,混于具塞试管中,用 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调整溶液的 pH(9.0,10.0,11.0,12.0,13.0),反应体系的总体积为 10 mL,将试管置于微波炉中加热(先 700 W,沸腾后改为 140 W)6 min,然后立即于冰浴中冷却,再用截留分子量 300 Da 的透析袋透析 48 h,收集透析液,冻干,检测产物的还原力。

1.2.2 GA—ABAP 制备的正交试验 综合单因素试验结果,根据 $L_9(3^3)$ 正交表进行正交试验,以还原力为考察指标,对 GA—ABAP 的制备工艺进行优化。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 ABAP 结构变化的表征

(1) 紫外—可见光谱分析:取适量的 ABAP、GA 和 GA—ABAP 分别溶解于蒸馏水中,在 190~700 nm 波长下进行扫描,记录吸收峰的波长和强度,并绘制扫描图谱。

(2) 红外光谱分析:将完全干燥的 ABAP 和 GA—

ABAP 分别与干燥的溴化钾粉末混合,在玛瑙研钵中研细均匀,置于模具中压片,用傅立叶变换红外光谱仪于 400~4 000 cm^{-1} 进行扫描,检测红外吸收特征。

1.3.2 ABAP 及 GA—ABAP 抗氧化活性测定

(1) 还原力的测定:采用普鲁士蓝法^[10,11]。吸光度值越大,还原力越强;

(2) 对 Fe^{2+} 螯合能力的测定:采用菲洛嗪比色法^[12],按式(1)计算 Fe^{2+} 螯合率;

(3) 清除超氧阴离子自由基能力的测定:采用硝基氯化四氮唑蓝(NBT)光还原法^[13],按式(1)计算超氧阴离子自由基清除率;

(4) 清除 DPPH 自由基能力测定:采用直接比色法^[14],按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$R = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R——螯合率(清除率),%;

A_0 ——对照管的吸光度;

A——样品管的吸光度。

1.4 数据分析

每个试验重复测定 3 次,以平均值±标准差表示;数据采用 DPS 7.05 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 GA—ABAP 制备的单因素试验结果与分析

2.1.1 加热时间对 GA—ABAP 制备的影响 由图 1 可知,随着微波加热时间的延长,修饰产物的还原力逐渐增加,当反应 7 min 后,再延长反应时间,修饰产物的还原力变化不大,表明反应基本达到平衡,因此,选择 6~8 min 作为考察范围。

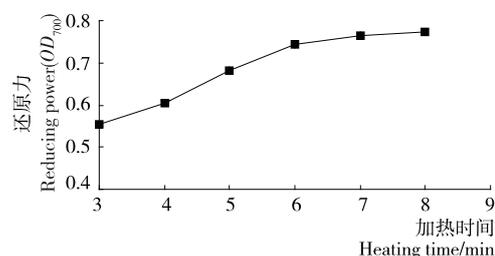


图 1 加热时间对 GA—ABAP 制备的影响

Figure 1 Effect of heating time on GA—ABAP preparation

2.1.2 体积比对 GA—ABAP 制备的影响 体积比会影响 GA 与 ABAP 之间的有效碰撞从而影响修饰反应。由图 2 可知,随着 GA 在反应体系中所占比例的增加,修饰产物的还原力总体呈上升趋势,当 GA 与 ABAP 的体积比为 4 : 1 时,产物的还原力达到最大,再增大 GA 所占比例,产物还原力略有下降,可能是由于 ABAP 逐渐为 GA 所饱和的原因,因此选择体积比 3 : 1~5 : 1 作为考察范围。

2.1.3 pH 对 GA—ABAP 制备的影响 pH 会影响 ABAP 和 GA 上各种极性基团的解离,从而会影响修饰反应。由图 3 可知,修饰产物的还原力随 pH 的增加呈现先升后降的趋

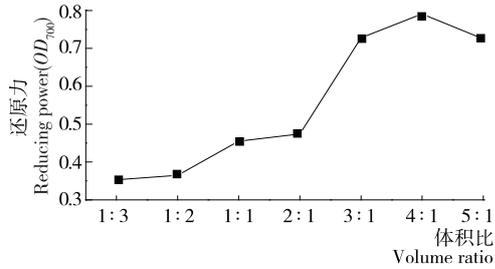


图 2 体积比对 GA—ABAP 制备的影响

Figure 2 Effect of volume proportion of GA to ABAP on GA—ABAP preparation

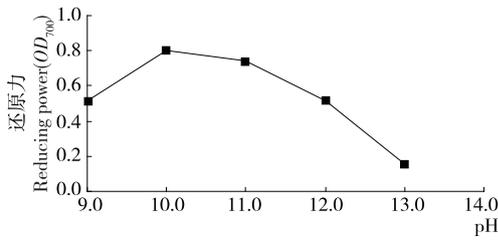


图 3 pH 对 GA—ABAP 制备的影响

Figure 3 Effect of pH on GA—ABAP preparation

势, pH 10.0 时修饰产物的还原力最大,可能是由于 pH 过高或过低时, ABAP 和 GA 分子上各基团的解离状态不利于反应的发生,因此选择 pH 9.0~11.0 作为考察范围。

2.2 GA—ABAP 制备的正交试验

根据单因素试验结果,以体积比、pH、加热时间为因素,进行 $L_9(3^3)$ 正交试验,正交试验设计见表 1,正交试验极差分析及方差分析结果分别见表 2、3。

表 1 正交试验的因素水平表

水平	A 体积比	B pH	C 时间/min
1	5 : 1	9.0	6
2	4 : 1	10.0	7
3	3 : 1	11.0	8

由表 2 可知,影响 GA—ABAP 制备的各因素的排列顺序为 A>B>C,即体积比>pH>加热时间。由表 2 的 K 值可以看出,随着体积比、pH 或反应时间的增加,产物的还原力均呈增大的趋势,但是,如果继续增大体积比将会延长透析时间,并会造成 GA 的浪费;再增大 pH 使得反应条件不够温和;此外,反应时间对修饰反应的影响并不显著(见表 3),结合极差分析的结果,并考虑到生产实际,最终确定 GA—ABAP 制备的最佳工艺条件为 $A_1 B_3 C_3$,即 GA 与 ABAP 的体积比 5 : 1, pH 11.0, 微波加热时间 8 min。此外,本研究中,因素 C 的 R 值略低于空列组,可能是由于试验设计中影响修饰反应的因素考虑不够全面,也或是因素 C 的水平步长设定太小,课题组后期将在此基础上作进一步研究。

表 2 正交试验的极差分析表

Table 2 Analysis of range table of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D(空列)	还原力 (OD_{700})
1	1	1	1	1	0.613
2	1	2	2	2	0.814
3	1	3	3	3	0.979
4	2	1	2	3	0.625
5	2	2	3	1	0.648
6	2	3	1	2	0.670
7	3	1	3	2	0.433
8	3	2	1	3	0.536
9	3	3	2	1	0.575
K_1	0.802	0.557	0.606	0.612	
K_2	0.648	0.666	0.671	0.639	
K_3	0.515	0.741	0.687	0.713	
R	0.287	0.184	0.081	0.101	

表 3 正交试验的方差分析[†]

Table 3 Variance analysis of the orthogonal experiment

因素	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
体积比	0.373	2	0.186	22.254 4	0.000 1**
pH	0.155	2	0.077	9.243 3	0.001 4**
时间	0.033	2	0.017	1.976 9	0.164 7
误差 e	0.049 7	2	0.024 8		

† ** 表示影响极显著 ($P < 0.01$)。

2.3 ABAP 结构变化的表征

2.3.1 紫外—可见光谱分析 GA、ABAP 及按优化条件制备所得 GA—ABAP 的紫外—可见光谱见图 4。ABAP 在 220 nm 有一个非常明显吸收峰,GA 在 216, 260 nm 处各有一个较强吸收峰,GA—ABAP 的最大吸收峰位于 209 nm,相对于原 ABAP 的 220 nm 发生了明显的蓝移,表明 ABAP 与 GA 之间的确发生了修饰反应,生成了一个新的产物。

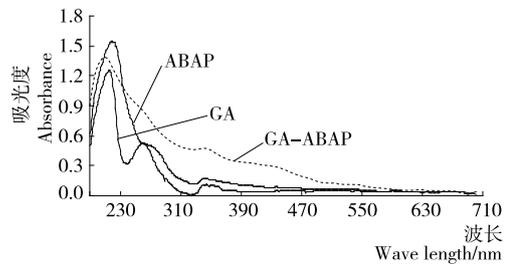


图 4 GA、ABAP 及 GA—ABAP 的紫外—可见光谱

Figure 4 UV-Visible spectra of GA, ABAP and GA—ABAP

2.3.2 红外光谱分析 由图 5 可知,ABAP 的 $-NH_2$ 吸收峰在 3436.70 cm^{-1} , GA—ABAP 的 $-NH_2$ 吸收峰在 3425.13 cm^{-1} ; ABAP 的 $-COOH$ 吸收峰在 1402.07 cm^{-1} , GA—ABAP 的 $-COOH$ 吸收峰在 1411.71 cm^{-1} ; ABAP 的 $C=O$ 吸收峰在 1643.14 cm^{-1} , GA—ABAP 的 $C=O$ 吸收峰在 1648.92 cm^{-1} ,

相对于 ABAP,GA—ABAP 的这 4 个吸收峰发生了明显的位移。特别是 GA—ABAP 在 1 533.21 cm⁻¹ 左右出现了一个新吸收峰,归属酰胺 N—H 的弯曲振动^[15,16],在 871.71 cm⁻¹ 处出现另外一个新吸收峰,归属苯环 C—H 面外的弯曲振动^[17],这表明

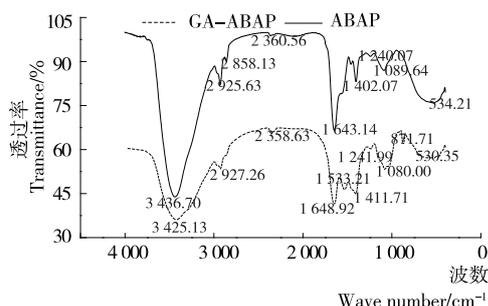
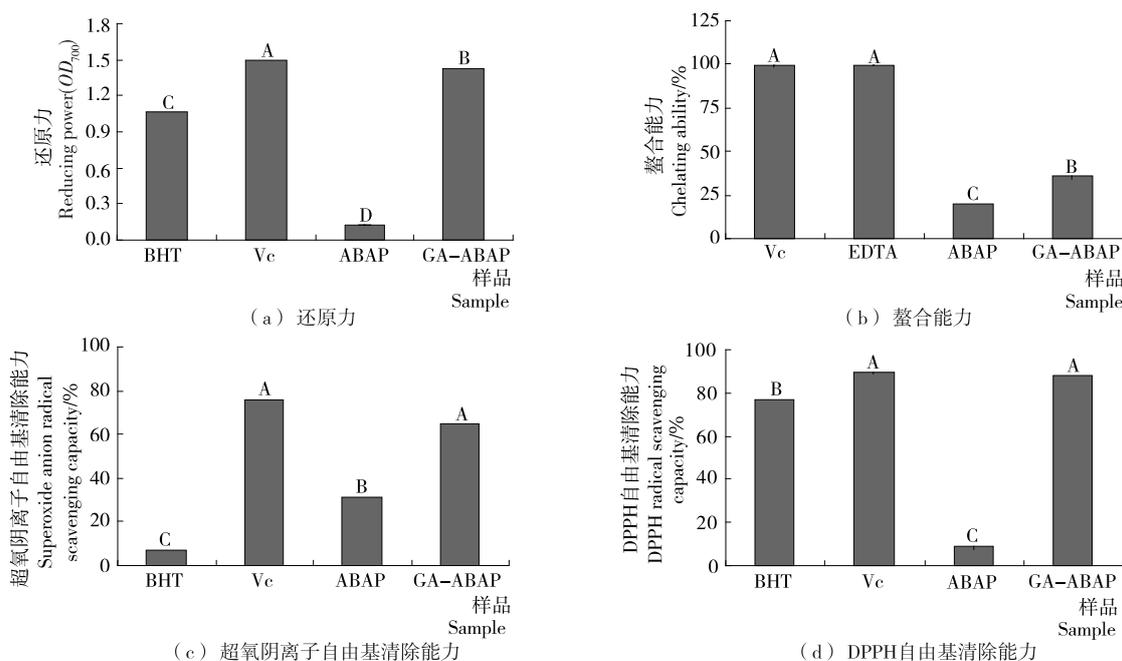


图 5 ABAP 及 GA—ABAP 的红外图谱

Figure 5 Infrared spectrum of ABAP and GA—ABAP



不同大写字母表示样品间差异达极显著水平, P<0.01

图 6 ABAP 及 GA—ABAP 的体外抗氧化活性

Figure 6 In vitro antioxidant activities of ABAP and GA—ABAP

3 结论

ABAP 的最佳修饰工艺为:GA 与 ABAP 的体积比 5 : 1,pH 11.0,微波加热时间 8 min;修饰后的 ABAP 抗氧化活性显著提高,还原力和对 DPPH 自由基的清除能力分别为修饰前的 11.16 和 9.83 倍,对 Fe²⁺ 的螯合能力和对超氧阴离子自由基的清除能力分别比修饰前提高了 78.00% 和 109.80%。

本研究采用的修饰方法具有时间短、成本低、修饰效果好等特点,可为其他抗氧化肽类天然抗氧化剂的研究开发提供参考,但研究过程中并未考虑样品浓度及微波功率对修饰反应的影响,且仅研究了修饰物的体外抗氧化活性。因此,下一步将在本研究基础上增加考察因素,结合响应面法进一步优化修饰工艺,同时开展修饰物的体内生物学效用研究。

GA 与 ABAP 不是机械混合,而是发生了化学反应。

2.4 ABAP 及其 GA—ABAP 的体外抗氧化活性

ABAP 及 GA—ABAP(浓度均为 0.3 mg/mL)的体外抗氧化活性见图 6。由图 6(a)可知,GA—ABAP 的还原力显著高于 ABAP(P<0.01),大约是 ABAP 的 11.16 倍,且优于同浓度的 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT),但不及同浓度的抗坏血酸(Vc);由图 6(b)可知,GA—ABAP 对于 Fe²⁺ 的螯合能力优于 ABAP(P<0.01),比 ABAP 提高了 78.00%,但仍低于同浓度的 Vc 和乙二胺四乙酸(EDTA);由图 6(c)可知,GA—ABAP 对超氧阴离子自由基的清除能力较 ABAP 提高了 109.80%(P<0.01),几乎与 Vc 相当,并优于同浓度的 BHT(P<0.01);由图 6(d)可知,GA—ABAP 对 DPPH 自由基的清除能力与 Vc 相当,并显著高于 BHT 及 ABAP(P<0.01),大约是 ABAP 的 9.83 倍。

参考文献

- 1 Sarmadi B H, Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review[J]. Peptides, 2010, 31(10): 1 949~1 956.
- 2 Su Guo-wan, Zheng Lin, Cui Chun, et al. Characterization of antioxidant activity and volatile compounds of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of peanut hydrolysate[J]. Food Research International, 2011, 44(10): 3 250~3 258.
- 3 Wu Dan, Li Tie-jing, Zhao Xin-huai. Enzymatic modification of casein hydrolysates by plastein reaction and improvement in antioxidant activity[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(1): 139~145.
- 4 高博,徐微,赵新淮. 两种蛋白水解物的 Fenton 反应修饰与抗氧化活性变化[J]. 食品工业科技, 2010, 31(11): 104~107.

(下转第 238 页)

通过 Design-Expert 8 软件进行统计分析,苦荞壳总黄酮的最佳提取工艺条件为乙醇浓度 69.00%,料液比 1:50.71 ($m:V$),提取时间 30.03 min,提取温度 58.86 °C,总黄酮得率的预测值为 3.568%。考虑实际操作,将试验条件修改为乙醇浓度 69%,料液比 1:51 ($m:V$),提取时间 30 min,提取温度 59 °C。

2.3 苦荞壳总黄酮最佳提取条件验证实验

在乙醇浓度 69%,料液比 1:51 ($m:V$),提取时间 30 min,提取温度 59 °C 的条件下进行超声波辅助乙醇浸提苦荞壳总黄酮试验,平行验证 3 次,测得总黄酮的平均得率为 3.542%,与预测值 3.568% 接近,偏差较小。结果表明该回归模型能较好地预测苦荞壳总黄酮得率,得到的最佳工艺条件比较可靠。

3 结论

本试验以单因素试验为基础,采用响应曲面法优化超声辅助提取苦荞壳中总黄酮的工艺条件,得到超声辅助提取苦荞壳中总黄酮的最佳工艺条件为:乙醇浓度 69%,料液比 1:51 ($m:V$),提取时间 30 min,提取温度 59 °C,在该工艺条件下总黄酮的实际得率为 3.542%。通过与王廷璞等^[14]报道的采用浸提法提取苦荞壳中总黄酮的工艺相比,该工艺条件缩短了提取时间,显著提高了总黄酮得率。本研究得到的最佳工艺条件可为工业提取荞麦黄酮提供参考,为充分开发利用苦荞壳中黄酮提供依据。

参考文献

- 黄凯丰,彭慧蓉,郭肖,等. 2 个苦荞品种成熟期内源激素的含量差异及其与产量和品质的关系[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(1): 28~32.
- 施卫省,罗小林,曹新佳,等. 苦荞麦黄酮含量萃取工艺的研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(15): 260~263.
- 贾洪峰,唐宇,孙俊秀,等. 苦荞茶和荞麦面条中芦丁及槲皮素含量分析[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 57~60.
- 杨芙莲,陈旭清. 表面活性剂—超声波协同提取荞麦壳黄酮工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2013, 26(6): 46~49.
- 勾向博,白静,姜妍,等. 荞麦糠皮提取物对 II 型糖尿病大鼠血糖和血脂的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 303~306.
- 秦培友. 我国主要荞麦品种资源品质评价及加工处理对荞麦成分和活性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院作物科学研究所, 2012.
- 赖红芳,黄秀香,陆俊宇. 超声波辅助提取山豆根中的黄酮和多糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 196~198.
- 闫斐艳. 苦荞总黄酮的提取及体外抗肿瘤活性研究[D]. 太原: 山西大学, 2010.
- 慕婷婷,韩玲. 亚临界—超声波协同萃取苦荞麸中的黄酮[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(1): 230~232.
- 宋小利,高立国,刘华. 超声波法提取甜荞麦壳中黄酮类化合物的工艺研究[J]. 应用化工, 2013(5): 857~859.
- 赵强,索有瑞,李天才,等. 响应面法优化苦荞皮中总黄酮超声波提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2014(1): 1~11.
- 杨芳,刘美艳,陈锦玉,等. 超声提取云南甜荞籽粒总黄酮工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(6): 129~132.
- 孙美,黄艳菲,赵小燕,等. 响应曲面法优化荞麦总黄酮的提取工艺[J]. 现代食品科技, 2012, 28(12): 1 714~1 718.
- 王廷璞,赵强,袁建军. 响应面法优化苦荞壳中总黄酮的提取工艺[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(6): 1 629~1 640.
- Wang Jia, Wang Ke, Wang Ying, et al. Improvement of antioxidant activity of peptides with molecular weights ranging from 1 to 10 kDa by PEF technology[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(3): 244~249.
- Liao Ching-lung, Lai Kuang-chi, Huang An-cheng, et al. Gallic acid inhibits migration and invasion in human osteosarcoma U-2 OS cells through suppressing the matrix metalloproteinase -2/-9, protein kinase B (PKB) and PKC signaling pathways[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(5): 1 734~1 740.
- Subramanian V, Venkatesan B, Tumala A, et al. Topical application of Gallic acid suppresses the 7, 12-DMBA/Croton oil induced two-step skin carcinogenesis by modulating anti-oxidants and MMP-2/MMP-9 in Swiss albino mice[J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 66(1): 44~55.
- Mansouri M T, Farbood Y, Sameri M J, et al. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2): 1 028~1 033.
- 吴昊,朱俊向,王成荣,等. 壳聚糖没食子酸衍生物制备及其对鲜切苹果的保鲜作用[J]. 现代食品科技, 2014, 30(5): 251~257.
- Jiang Zhan-mei, Wang Li-zhe, Wu Wei, et al. Biological activities and physicochemical properties of Maillard reaction products in sugar-bovine casein peptide model systems[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3 837~3 845.
- 金寒冰,方丽,赖蓓蕾,等. 苦苣多酚超声辅助提取及抗氧化研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 211~215.
- Gülçin I, Bursal E, Şehitoglu M H, et al. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(8): 2 227~2 238.
- Awah F M, Uzoegwu P N, Oyugi J O, et al. Free radical scavenging activity and immunomodulatory effect of Stachytarpheta angustifolia leaf extract[J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1 409~1 416.
- Wang Qiu-kuan, Li Wei, He Yun-hai, et al. Novel antioxidative peptides from the protein hydrolysate of oysters (Crassostrea talienwhanensis) [J]. Food Chemistry, 2014, 145(1): 991~996.
- 魏钰蕴. 生物复合微球的制备及固定化脂肪酶的研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2010.
- 靳国敏. 聚氨酯/明胶共聚物的制备及其成膜性能研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2012.
- 刘方. 银杏酸的结构修饰及其抗肿瘤活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2009.

(上接第 196 页)