

## 血红蛋白抗氧化肽的研究进展

刘莹,周伟,王伟成,刘晓丹,朱霜  
(辽宁工程技术大学理学院,辽宁阜新123000)

**摘要:**近年来抗氧化肽的制备受到了广泛的关注,以血液为原料,可经过离心、破胞再离心得到血红蛋白含量较高的溶液。经过发酵或酶解可得到抗氧化肽的初级样品,进一步即可选用适合的指标评价样品的抗氧化能力。介绍了研制抗氧化肽原料的选择、抗氧化肽的常用制备方法,即酶解法和发酵法。同时就抗氧化肽的应用以及抗氧化能力的测定指标展开了综述。

**关键词:**自由基;血红蛋白;抗氧化肽;应用

**中图分类号:**TQ464.7

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)06-0153-03

自由基对人体的损害主要是破坏细胞膜、使血清抗蛋白酶失去活性、损伤基因导致细胞变异的出现和蓄积。所以自由基能促使褐色素的形成,使线粒体DNA发生突变、诱导细胞凋亡及使蛋白质合成减少。

通过发掘外源性抗氧化剂,可阻断自由基对人体的入侵。抗氧化剂可用来清除体内多余的自由基,减轻机体的损伤。抗氧化剂主要通过水解各种蛋白得到,由多种小分子的多肽组成,也能通过化学工艺制得,但是由化学工艺制得的抗氧化剂由于有其毒副作用,故其应用受到了限制。所以近年来,低价、低毒、高效的天然食品抗氧化剂

的开发利用引起了很多人的关注。该文综述了国内外以血红蛋白为原材料制备抗氧化肽的研究进展,并对原材料的选取,制备方法及抗氧化活性的比较做了相应的阐述。

### 1 原材料的选取

抗氧化肽的研制多以血液为原材料。因为生产抗氧化肽并不需要专一的原料;血液主要成分是血红蛋白;畜禽血液资源丰富,血液成本低,是低成本而又能运用生物技术大量生产的绝佳原料。

#### 1.1 生产抗氧化肽并不需要专一的原料

在适宜的条件下酶解或发酵动、植物蛋白都可得到具有抗氧化能力的肽段。

植物蛋白主要是以大豆蛋白研究较多,如李志忠<sup>[1]</sup>酶解大豆蛋白,得到了强抗氧化能力的肽;严群芳<sup>[2]</sup>等人以大豆为原材料用木瓜蛋白酶酶解

收稿日期:2011-04-02

第一作者简介:刘莹(1970-),男,辽宁省阜新市人,硕士,副教授,从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:liuyingfx02@126.com。

## Research Status and Development Prospects of *Photinia fraseri*

WANG Zhen-zhen<sup>1</sup>, WANG Wei-na<sup>2</sup>, XU Guo-chao<sup>3</sup>, LI Liu-zhen<sup>4</sup>

(1. HuaYu College of Henan Agricultural University, Shangqiu, Henan 476000; 2. Forestry Technology Workstations of Xuchang County, Xuchang, Henan 461000; 3. Forestry Technology Workstations of Pingdingshan City, Pingdingshan, Henan 467000; 4. Xuchang Forestry Science Institute, Xuchang, Henan 461000)

**Abstract:** The domestic research status of introduction, complete technology of tissue culture and industrial seedling, cutting propagation seedling technique, plastic arts, application in landscape of *Photinia fraseri*, and the abroad research progress of *Photinia fraseri* were summarized. The development prospects of *Photinia fraseri* were analyzed to provide reference for introduction and production research of *Photinia fraseri*.

**Key words:** *Photinia fraseri*; research status; development prospects

得到有很好抗氧化能力的产物;荣建华<sup>[3]</sup>等人用中性蛋白酶水解大豆,得到具有强还原性的产物;其它以植物蛋白为原材料的研究如李艳红<sup>[4]</sup>等人以鹰嘴豆为原料,得到了还原能力和超氧阴离子捕获率都非常强的产物;张强<sup>[5]</sup>等人以玉米为原材料,得到的抗氧化肽对超氧阴离子和羟基自由基有很强的清除能力;龚吉军<sup>[6]</sup>等人用碱性蛋白酶水解茶籽,得到了强还原能力的抗氧化肽。

动物蛋白以鱼类蛋白进行的研究较多,如韩国的 Se-Kwon K<sup>[7]</sup>等人以废弃鱼皮为原料,经三步酶解制得了抗氧化肽;郭瑶、李琳等人分别利用罗非鱼、鳙鱼为原材料都制得了抗氧化活性较高的肽段;韩国的 JE Jae-young 等<sup>[1]</sup>利用本国丰富的鱼类资源,从鱼类蛋白中酶解得到了抗氧化肽;其它以动物蛋白为原材料的研究,如包怡红等<sup>[8]</sup>以乳清为原材料用发酵法制取了抗氧化肽。崔海英<sup>[1]</sup>得到的牡蛎酶解产物具有很好的抗氧化性。Makoto Hattori 等<sup>[7]</sup>用胃蛋白酶酶解不溶性的弹性蛋白,得到了能抑制油酸氧化的抗氧化肽。金螺等<sup>[9]</sup>用碱性蛋白酶酶解蛋清得到了抗氧化肽。

总之,生产抗氧化肽不需要专一的原材料,关键在于酶的选择与适宜的试验条件。

### 1.2 动物血液中的血红蛋白

离心血液可以得到血浆和血细胞:蛋白质约占总量 8%,血浆约占 65%,剩余的细胞成份主要是红细胞的浓缩物,含有约 36% 的血红蛋白质<sup>[10-11]</sup>,所以血液是很好的原材料。

### 1.3 血液资源丰富

选取畜禽血液为原材料有一定的优越性。据国际粮农组织(FAO)统计,2004 年中国畜禽屠宰数:牛 1.07 亿头,山羊、绵羊 3.41 亿只,猪 4.73 亿头,禽 914 万只<sup>[10]</sup>,随着经济的发展,畜禽屠宰量也在成比例增长。若按经验收集全部血液,每头猪可收集血 2.2 kg,牛 11 kg,羊 1.2 kg,禽 0.1 kg,计算共计收集血液达  $1.9 \times 10^9$  kg,含蛋白质约  $3.6 \times 10^8$  kg<sup>[10,12]</sup>。但由于血液腥味重、难以保存,且易被污染,严重制约了畜禽血液的利用,以至于大量宝贵资源被浪费,还造成了环境污染。若以畜禽血液为原材料,既能用于大量生产抗氧化肽,又能降低成本并节约资源,增加了血液副产品,所以选取畜禽血液为原材料有一定的优越性。我国可利用血液资源的优势来制备抗氧化肽,从而带来经济效益。

## 2 血红蛋白抗氧化肽的制备

以血液为原材料制备抗氧化肽的方法有酶解

法和发酵法。

### 2.1 酶解法

酶解法是制取抗氧化肽的经典方法,反应条件温和易于控制,专一性较强并且副产物少。以血红蛋白制备抗氧化肽通常都采用蛋白酶水解的方式,选用的酶主要有胰蛋白酶、胃蛋白酶和中性蛋白酶等动物蛋白酶,或是枯草芽胞杆菌和地衣芽胞杆菌等微生物产生的蛋白酶。主要例子如 Piot J M 等<sup>[13]</sup>人以牛血红蛋白为原材料,从胃蛋白酶水解物中提取出了 2 种具有生物活性的多肽。Kazue Mito 等<sup>[13]</sup>人以猪血珠蛋白为原材料,经过酶解得到了具有抑制 ACE 活性的多肽。Froidevaux R 等<sup>[13]</sup>人以牛血血红蛋白为原材料,用胃蛋白酶水解物中分离出了抗菌肽,这是首次从牛血血红蛋白中的体外酶解产物中获取的一个抗菌肽。尽管分离的肽不是具有抗氧化性的多肽,但是用类似的酶解方法,在适宜的条件下同样能分离出有抗氧化活性的多肽。

近年来也有酶解血红蛋白得到抗氧化肽的相关报道,如 Chi-Yue Chang 等<sup>[13]</sup>以猪血血红蛋白为底物,采用碱性蛋白酶与风味蛋白酶先后混合酶解,结果表明,用 2% 碱性蛋白酶酶解 4h 后再通过 1% 风味蛋白酶 6 h 酶解,使产物的亚铁离子螯合力达到最高 63.54% ( $5.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),若只通过 2% 的碱性蛋白酶 4 h 酶解,产物存在最高的 DPPH 自由基清除力 51.57% ( $5.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。牟雪姣等<sup>[14]</sup>用胃蛋白酶水解鸡血红蛋白在  $[E]/[S]3.0\%$ 、时间 3 h、温度  $41^\circ\text{C}$ 、pH 1.5 条件下得到强抗氧化性的抗氧化肽。孙骞<sup>[15]</sup>等人酶解猪血,得到了具有还原能力的抗氧化肽。

### 2.2 发酵法

采用发酵法制备生物活性肽既让微生物在发酵过程中产生的蛋白酶降解蛋白质。发酵法由于将微生物产酶和酶水解两步合而为一,从而省去了酶的分离和提纯步骤,减少了生产工序,降低了成本;而且发酵法制得的肽不但没有苦味,还具有发酵的天然芳香味<sup>[16]</sup>。相比于酶解法,微生物发酵方式有很多种,据菌种的不同可将发酵分为单菌株发酵法和多菌种发酵法;若根据发酵次数的不同可分为一次性发酵法和二次发酵法;根据发酵形式的不同可分为固定化菌株连续发酵法、固态发酵法和液态发酵法。

发酵法关键在于菌种的选育,所以做好良好的菌种选育,在用发酵法降解血红蛋白上就能得到新的突破。早在 1983 年,中国科学院微生物研究所就与其他科研院所联合,从曲霉菌属中成功

培育出了优质的菌种 AS3.4437 *Aspergillus oryzae* Fujite 米曲霉,并应用于了畜禽血液的发酵试验<sup>[17]</sup>。近年来以血红蛋白为底物蛋白用发酵法制取抗氧化肽的例子也有,如 Chang-Kee Hyun<sup>[10]</sup>等人将牛血浆中的蛋白质用乳链球菌降解;Dara O,Donnell,Cynthia Gandolfi Boer 和 Johansen 等分别报道了溜曲霉以及泡盛曲霉能产生蛋白酶,具有蛋白质降解能力<sup>[10]</sup>。

酶解法和发酵法各有其优点,但是它们得到抗氧化肽的原理是相同的,都是酶解蛋白质,得到小分子的抗氧化肽。但是可在酶的选取以及菌种的选育上有所突破(一种酶只能识别一种酶切位点,所以我们可以利用多种酶混合水解,这样就能得到更多种类的小分子多肽,并可能得到更强还原能力的抗氧化肽。还可以结合酶解法和发酵法,将原材料先发酵后再将产物用酶水解等)。

### 3 抗氧化能力测定指标

抗氧化剂的作用机理包括螯合金属离子、清除自由基、淬灭单线态氧、清除氧、抑制氧化酶活性等。体外评价抗氧化能力的指标虽然很多,但主要基于两类:一个是通过测定样品抑制脂类氧化的能力来评定被测物的抗氧化能力;另一个是用样品对人工合成的自由基的清除能力来反应被测物的抗氧化活性。主要指标有抗油脂过氧化能力、清除 DPPH 能力、还原能力和抑制 LOX 酶<sup>[18]</sup>。

#### 3.1 抗脂质过氧化能力测定

脂类是构成生物膜的主要成分,脂类中的不饱和脂肪酸可以过氧化,而脂类在过氧化过程中会产生自由基,这些自由基会损伤细胞。抑制脂质过氧化的方法主要有硫氰酸铁比色法和硫代巴比妥酸反应物法。

#### 3.2 清除 DPPH 能力的测定

DPPH 是种早期合成的有机自由基,常被用作评估抗氧化物供氢能力的指标,它在有机溶剂中很稳定,显紫色,有特征吸收峰。遇到自由基清除剂时,使 DPPH 的孤对电子被配对而退色,从而在最大吸收波长处的吸光度变小,所以可通过测定吸光度的变化来评价样品清除 DPPH 的能力。

#### 3.3 还原能力的测定

还原力的测定是评价抗氧化剂活性的常用方法,还原力强的样品是良好的电子供应体,它供应的电子能使  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ ,同时也可以与自由基反应。

#### 3.4 抑制 LOX 酶实验

脂肪氧化酶 LOX 是一种非血红素铁蛋白,分子量为 90~100KD。这种酶蛋白由多个多肽链组成,含有三价铁离子的金属辅基则有活性,而含二价铁离子的金属辅基则缺乏活性。在生物体内的主要作用是专一催化含有顺戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸的加氧反应,生成具有共轭双键的多元不饱和脂肪酸的氢过氧化物。

所以测定抗氧化能力的指标虽然很多,但是它们的相对可比性却很小,所以需要有一个统一的测定指标。

### 4 抗氧化肽的应用

抗氧化肽能有效清除体内过剩的自由基,且能防止脂质过氧化物的发生,从而达到保护机体正常运行。以血红蛋白为底物制备的抗氧化肽分子量大、活性强、容易吸收。所以可用于医药、化妆品、保健品和食品与饲料添加剂等方面,并有广阔的应用前景。

### 5 结论与讨论

随着人们对抗氧化剂作用的认识不断加深,对抗氧化剂的需求也将会越来越大。以血液为原料制取抗氧化肽,由于其本身的优越性,并且血红蛋白完全符合作为底物蛋白的条件,所以将成为应用的新趋势。在制备方法上,目前,国内还没有一个既高效、成本又低的工艺流程,所以大量生产具有抗氧化作用的肽,将是一个值得深入的研究领域。另外,尽管测定抗氧化能力的方法很多,但是相对的可比性却很小,所以需要统一抗氧化能力的指标。

#### 参考文献:

- [1] 裴小平,唐道邦,肖更生,等. 抗氧化肽制备的应用现状及趋势[J]. 食品工业科技,2009,30(2):319-321.
- [2] 严群芳,张莉莉,王恬. 大豆蛋白酶解物抗油脂氧化性研究[J]. 粮油加工与食品机械,2006(3):45-46.
- [3] 荣建华,李小定,谢笔钧. 大豆肽体外抗氧化效果的研究[J]. 食品科学,2002,23(11):118-120.
- [4] 李艳红,刘坚,张涛,等. 酶解鹰嘴豆蛋白制备抗氧化肽工艺优化研究[J]. 农业工程学报,2008,24(1):268-273.
- [5] 张强,阚国仕,陈红漫,等. 酶解玉米蛋白粉制备抗氧化肽[J]. 食品工业科技,2005,26(6):109-111.
- [6] 龚吉军,李忠海. 茶籽多肽的制备及体外抗氧化活性研究[J]. 农业与技术,2006,26(6):74-77.
- [7] 丁晓雯,李洪军,章道明. 抗氧化肽研究进展[J]. 食品研究与开发,2003,24(3):36-37.
- [8] 包怡红,李锐达. 发酵法制备乳清抗氧化活性肽的研究[J]. 中国食品学报,2010,10(3):21-25.
- [9] 金螺,王晶,李新华. Alcalase 碱性蛋白酶酶解蛋清制备抗氧化活性肽[J]. 食品研究与开发,2009,30(6):59-62.

# 固原市原州区退耕还林建设现状及问题与对策

尹 瑞<sup>1</sup>,金小平<sup>2</sup>

(1. 固原市原州区鴉儿沟林场,宁夏 固原 756000;2. 固原市原州区林业局,宁夏 固原 756000)

**摘要:**结合国家退耕还林有关政策和本地区实际情况,在充分调研和多年实践的基础上,分析了固原市原州区退耕还林建设共完成退耕还林任务 8.5 万  $\text{hm}^2$ ,其中退耕地还林 3.8 万  $\text{hm}^2$ ,荒山荒地造林 4.7 万  $\text{hm}^2$  等建设现状;取得了生态环境明显改善,生态效益显著提高的主要成效;以及由于林地病虫害兔及羊只危害普遍,加之持续干旱、抚育管理滞后等多种因素,造成林木成活率不高、生长量低、林木保存率低等的主要问题,适时提出了加大封山禁牧力度,依法行政,加强补植补造和抚育管理等有效保护林木资源,巩固退耕还林建设成果的思路及对策。

**关键词:**退耕还林;现状及成效;问题与对策

**中图分类号:**F323.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)06-0156-04

退耕还林是党中央、国务院为加强生态环境

建设、促进经济社会可持续发展做出的重大战略决策;也是生态环境建设的关键措施之一<sup>[1]</sup>。退耕还林工程实施以来,原州区林地面积形成大规模、林草植被快速增加、森林覆盖率不断上升,生态环境得到明显改善,经济和社会效益成效显著。但随之而来的诸多问题却不容忽视,对巩固退耕还林建设成果极为不利,亟待研究解决。

收稿日期:2011-01-13

**第一作者简介:**尹瑞(1973-),女,宁夏固原市原州区人,林业助理工程师,从事林业建设工作。

**通讯作者:**金小平(1968-),男,宁夏回族自治区固原市人,学士,高级林业工程师,从事经济林等林业生态建设工作。E-mail:jxp680909@163.com。

- [10] 张滨. 高效降解畜禽血红蛋白菌株选育与降解特性研究[D]. 湖南农学院,2005.
- [11] 黄群,马美湖,杨抚林,等. 畜禽血液血红蛋白的开发利用[J]. 肉类工业. 2003(10):19-22.
- [12] 程池. 可食用动物血液资源的开发利用[J]. 食品与发酵工业. 1998,24(3):66-70.
- [13] 孙骞,胡鑫,罗永康. 血红蛋白生物活性肽的研究进展[J]. 肉类研究. 2008,109(3):13-15.
- [14] 牟雪姣,张强,邢静. 鸡血红蛋白抗氧化肽的制备工艺研究[J]. 农产品加工. 2009(3):54-56.

- [15] 孙骞,胡鑫,罗永康,等. 猪血红蛋白抗氧化肽的酶法制备及其体外抗氧化活力观察[J]. 中国农业大学学报. 2008,13(4):77-81.
- [16] 于长青,赵学明,姚琨,等. 高产蛋白酶芽孢杆菌的选育及其在大豆活性肽制备中的应用[J]. 中国农业大学学报. 2005,10(1):34-37.
- [17] 许勤虎. 动物血液开发研究[J]. 山西食品工业. 2001(2):26-27.
- [18] 张昊,任发政. 天然抗氧化肽的研究进展[J]. 食品科学. 2008,29(4):445-446.

## Research Advance of Antioxidant Peptides Derived from Hemoglobin

LIU Ying, ZHOU Wei, WANG Wei-cheng, LIU Xiao-dan, ZHU Shuang

(Science College of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000)

**Abstract:** In recent years, the production of antioxidant peptides has been given more and more attentions, for the materials with blood and after centrifuging, breaking cell and centrifuging again, available solution of hemoglobin content is higher. By fermenting or zymolysing the solution we get, we can obtain primary samples of antioxidant peptides and choose the right index to evaluate the antioxidation ability of samples. The selection of raw materials for preparing antioxidant peptides, and the preparation methods of antioxidant peptides; the enzyme solution and fermentation were introduced. In addition, the application of antioxidant peptides and the determination of antioxidant capacity index were summarized.

**Key words:** free radicals; hemoglobin; antioxidant peptides; application