

富硒平菇水溶性蛋白提取 及抗氧化活性

马玲^{1,2}, 赵亚娜¹, 张乐¹, 于娟¹, 纪海玉¹, 滕安国¹, 刘安军^{1,*}

(1.天津科技大学食品工程与生物技术学院,天津 300457;

2.山西农业大学食品科学与工程学院,山西太谷 030801)

摘要:在提取温度、提取时间、料液比单因素实验研究基础上结合三因素三水平的正交实验对富硒平菇水溶性蛋白的提取工艺进行优化实验,并对不同浓度下水溶性蛋白的抗氧化性进行了测定。结果表明:水溶性蛋白提取的最优条件为:提取温度为 30 ℃,料液比为 1:30,提取时间 4 h,在此条件下提取得到的水溶性蛋白浓度为 (8.5 ± 0.29) mg/mL。水溶性蛋白具有清除超氧阴离子自由基、羟自由基、ABTS 阳离子自由基的能力,浓度为 1.0 mg/mL 时对自由基的清除率可达到 50% 以上。

关键词:富硒平菇,水溶性蛋白,提取工艺,抗氧化

Extraction of water soluble protein from selenium contained *Pleurotus ostreatus* and antioxidant activity *in vitro*

MA Ling^{1,2}, ZHAO Ya-na¹, ZHANG Le¹, YU Juan¹, JI Hai-yu¹, TENG An-guo¹, LIU An-jun^{1,*}

(1.College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2.College of Food Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: In this experiment, the main research material was dried selenium-enriched *Pleurotus ostreatus*, in order to get optimization of extraction technology for water soluble protein and determine its antioxidant activity *in vitro*, single factors and orthogonal experiments were designed. The results showed that the best conditions for extraction were described as follows: extraction temperature 30 ℃, extraction time 4 h and the ration of raw material to water 1:30, under this conditions, the content of water soluble protein reached (8.5 ± 0.29) mg/mL. The water soluble protein had the capacity of scavenging superoxide anion free radical, hydroxyl radical and ABTS radical, and the scavenging rate could get higher than 50% at the concentration of 1.0 mg/mL.

Key words: Se enriched *Pleurotus ostreatus*; selenoprotein; extraction conditions; antioxidant

中图分类号:TS255.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2017)24-0148-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.24.029

硒是人体生命活动的一种必需微量元素,主要参与酶的合成和细胞膜的保护,适量的硒对于抗氧化、抗癌等具有积极的作用^[1-3]。硒蛋白是富硒食物中主要的含硒成分之一,具有抗氧化、抗癌等生物活性。对富硒食用菌中硒蛋白的提取、纯化及抗氧化活性已有报道^[4-7],田敏爵对富硒猴头硒蛋白不同溶剂提取效果比较后发现,水提取液中蛋白质含量最低^[8],张卓研究得出尽管水溶性含硒蛋白在不同溶剂提取液中占的比例较低,但其同浓度下抗氧化活性最高^[9]。水作为溶剂提取含硒蛋白能够保持较好的蛋白活性,具有操作简单、避免使用较多化学试剂等优点。目前对富硒平菇中硒蛋白的提取及抗氧化活

性鲜见报道,因而本研究采用单因素实验和正交实验优化富硒平菇中水溶性蛋白提取的工艺参数,同时对水溶性蛋白的体外抗氧化活性进行评价,为评价富硒平菇的抗氧化功能特性、开发功能性富硒平菇提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

富硒平菇 硒含量为 622.47 mg/g 的干样,山西紫团生态农业有限公司;标准牛血清蛋白溶液、考马斯亮蓝 G-250、95% 乙醇、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁、浓盐酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、双氧水、硫酸亚铁、三羟基氨基甲烷(Tris)、水杨酸、2,2-联氮

收稿日期:2017-03-20

作者简介:马玲(1980-),男,博士研究生,研究方向:动物性资源开发与功能食品,E-mail:ml0359@163.com。

* 通讯作者:刘安军(1963-),男,博士,教授,研究方向:天然产物提取与功能食品,E-mail:laj@tust.edu.cn。

基金项目:省部级农业部项目:低盐低硝腌腊肉制品生产关键技术装备研究与示范(201303082-3);横向项目(2013120024000733);天津市科技支撑项目(14ZCZDNC00015)。

基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)、过硫酸钾等 均为分析纯。

MP200B 电子天平 上海精密科学仪器有限公司;320-S pH 计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;SHY-2A 水浴恒温振荡器 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂;SHZ-Ⅲ旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂;723 可见分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司;TDL 离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 水溶性蛋白提取 称取一定量的富硒平菇干样,FW135 高速粉碎机粉碎后过 80 目筛,按照一定料液比加入适量的蒸馏水,一定提取温度下在磁力搅拌器中搅拌提取一定时间,抽滤至干,收集滤液,将残渣重新提取 2 次,合并滤液。根据溶液体积准确称量一定量的硫酸铵,边搅拌边向烧杯中缓慢加入硫酸铵至其饱和度为 95%,分离沉淀部分并上 3500 Da 透析袋透析^[5],最后冷冻干燥得水溶性蛋白样品(SeP)。

1.2.2 单因素实验 在对不同提取温度(0、20、30、40、50 ℃)进行单因素实验时,固定料液比 1:30,提取时间 4 h;在进行不同料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)单因素实验时,将提取温度和提取时间固定在 40 ℃、4 h;对不同提取时间(2、3、4、5、6 h)进行单因素实验时,固定料液比为 1:30、提取温度为 40 ℃。

1.2.3 正交实验 结合单因素实验得出富硒平菇中水溶性蛋白的最佳提取工艺条件范围,为最大程度接近最佳工艺参数,以水溶性蛋白浓度为实验指标,采用 3 因素 3 水平正交实验进一步缩小范围,水平设置见表 1。

表 1 正交实验方案
Table 1 Design of orthogonal experiment

水平	因素		
	A 提取温度 (℃)	B 料液比	C 提取时间 (h)
1	30	1:25	3.5
2	40	1:30	4.0
3	50	1:35	4.5

1.2.4 蛋白浓度的测定 分别取 0.2 mg/mL 的牛血清标准蛋白溶液 1、2、3、4、5、6 mL 于 6 个试管中,再加入蒸馏水至 10 mL,混匀后移取混合液 1 mL 与 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 染液在室温下反应 10 min,在 595 nm 波长下测其吸光值,绘制标准曲线(每个梯度都做 3 次平行实验)。

分别准确移取硫酸铵沉淀并透析后获得的上清液 1 mL 于试管中,按照上述方法测定 595 nm 波长处的 OD 值,根据标准曲线计算样品溶液中的蛋白质浓度。参考铁梅^[10]的方法测定总硒含量。

水溶性蛋白浓度通过样品测定吸光度值结合标准曲线计算获得。

硒含量(μg/g) = $\frac{\text{样品中硒的质量}(\mu\text{g})}{\text{样品中蛋白质量}(\text{g})}$

1.2.5 水溶性蛋白抗氧化活性的测定

1.2.5.1 还原力 分别取 1 mL 不同浓度梯度的水溶

性蛋白样品液于 5 支试管中,加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH=6.6),再加入 2.5 mL 1% 铁氰化钾溶液,混合均匀后在 50 ℃ 条件下恒温水浴。静置 20 min 后加入 10% 三氯乙酸 2.5 mL,处理样液以 5000 r/min 离心 15 min,以 1:1:0.2 取上清液、蒸馏水、0.1% 三氯化铁溶液^[11]混匀,在 700 nm 处测吸光值,以蒸馏水为空白。

1.2.5.2 超氧阴离子自由基(O₂⁻·)清除率 取 0.05 mol/L、pH=8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 4.5 mL 于试管中,置 25 ℃ 水浴中预热 20 min,加入 2 mL 0.45 mmol/L 邻苯三酚和 1 mL 样液混匀,用蒸馏水调零,在 325 nm 处测定吸光度,记为 A;空白组用 1 mL 蒸馏水代替样液,在 325 nm 处测吸光度,记为 B^[12]。不同浓度梯度水溶性蛋白溶液对超氧阴离子自由基清除率计算公式如下。

清除率(%) = $\left(\frac{A-B}{B}\right) \times 100$

1.2.5.3 羟自由基清除率 在试管中加入 2 mL 样液,然后依次加入 6 mmol/L 的硫酸亚铁溶液和过氧化氢溶液各 2 mL,静置 10 min 后再加入 6 mmol/L 的水杨酸 2 mL 混匀,37 ℃ 水浴 30 min 后测定其在 510 nm 处的吸光值,记为 A;空白组用 2 mL 蒸馏水代替样液,测得的吸光值记为 B;对照组用 2 mL 蒸馏水代替水杨酸,测得的吸光值记为 C^[13-14]。不同浓度梯度的水溶性蛋白溶液对羟自由基清除率按如下公式计算。

清除率(%) = $\left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$

1.2.5.4 ABTS 自由基清除率 用 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液配制 7 mmol/L ABTS 溶液,室温下避光放置 12~16 h,然后用磷酸盐缓冲溶液稀释使其 734 nm 下吸光度值为 0.70 ± 0.02,0.3 mL 样品溶液与 3.7 mL 稀释后的 ABTS 溶液混合后在 20 ℃ 下避光放置 20 min,然后测定其在 734 nm 的吸光度值^[15]。其中样品和 ABTS 溶液混合后的吸光度值为 A,而蒸馏水代替样品后的吸光度值记为 B,清除率计算公式如下。

清除率(%) = $\left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$

1.3 数据处理

采用软件 SAS 9.0(SAS Institute Inc, USA) 进行数据分析, Sigma plot 10.0 作图。

2 结果与分析

2.1 蛋白标准曲线

由图 1 可知,标准曲线在蛋白浓度 0~0.12 mg/mL 范围内具有良好的线性。

2.2 提取时间对水溶性蛋白浓度的影响

由图 2 可知,在其他条件不变的情况下,富硒平菇水溶性蛋白浓度随着提取时间的延长呈现先增加后趋于平缓的趋势,在提取时间低于 4 h 时水溶性蛋白浓度较低,主要是因为平菇中的蛋白还没有充分溶解出来,提取时间超过 4 h 后,随着提取时间的延长水溶性蛋白浸出量达到饱和状态,浓度不再增加。因此选择 4 h 为最佳提取时间。

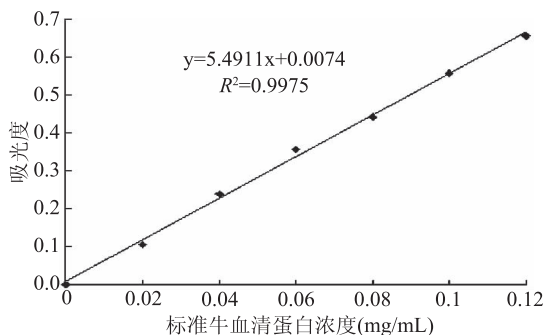


图1 牛血清蛋白标准曲线

Fig.1 Standard curve of bovine serum albumin

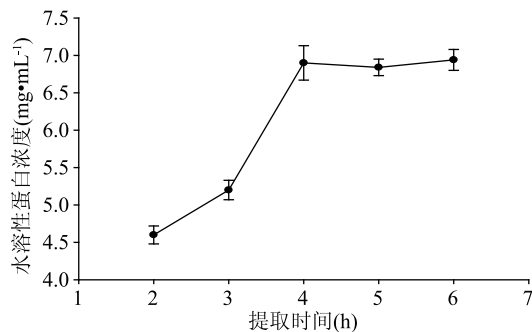


图2 提取时间对水溶性蛋白浓度的影响

Fig.2 Effect of extracted time

on the content of water soluble protein

2.3 提取温度对水溶性蛋白浓度的影响

由图3可知,在其它条件不变的情况下,富硒平菇水溶性蛋白浓度随着提取温度的增加呈上升趋势,在30~50℃时变化平缓,同时考虑到高温条件下硒蛋白会变性,因而确定40℃为最佳的提取温度。

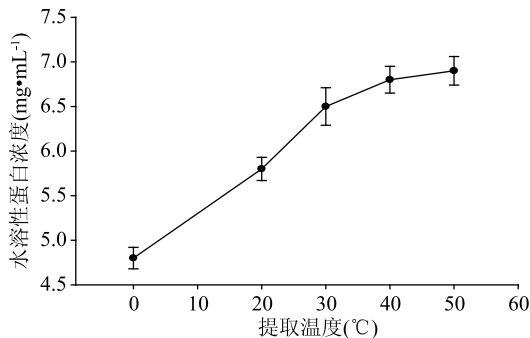


图3 提取温度对水溶性蛋白浓度的影响

Fig.3 Effect of extracted temperature

on the content of water soluble protein

2.4 料液比对水溶性蛋白浓度的影响

由图4可知,富硒平菇中水溶性蛋白浓度随着料液比的增加呈现上升趋势,当料液比为1:30时达到最高,之后呈波动性下降,考虑到后续的沉淀、透析、浓缩工艺,选择1:30作为合适的料液比。

2.5 正交实验

结合单因素实验结果,以各因素选取的最佳水平作为正交实验的中心点,为更接近因素水平最佳组合,在正交实验设计中将料液比和提取时间两因素的水平范围进一步缩小,以水溶性蛋白浓度为指

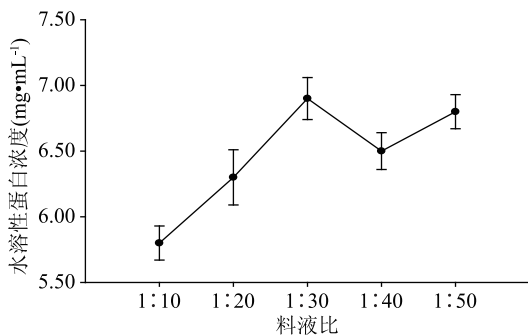


图4 料液比对水溶性蛋白浓度的影响

Fig.4 Effect of lipid-to-solid ratio

on the content of water soluble protein

标,以料液比、提取时间及提取温度为考察因素,进行正交设计,结果见表2。

表2 正交实验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

实验号	A 提取温度	B 料液比	C 提取时间	D 空列	水溶性蛋白浓度 (mg/mL)
1	1	1	1	1	8.1 ± 0.32
2	1	2	2	2	8.5 ± 0.29
3	1	3	3	3	6.6 ± 0.36
4	2	1	2	3	6.4 ± 0.18
5	2	2	3	1	6.1 ± 0.31
6	2	3	1	2	5.6 ± 0.24
7	3	1	3	2	3.5 ± 0.43
8	3	2	1	3	4.0 ± 0.23
9	3	3	2	1	3.4 ± 0.49
k ₁	7.73	6.00	5.90	5.87	
k ₂	6.03	6.20	6.10	5.87	
k ₃	3.63	5.20	5.40	5.67	
R	4.10	1.00	0.70	0.20	

根据极差R的大小,确定影响因素的主次顺序,可以看出A因素(提取温度)为最重要因素,其次是B因素(料液比),C因素(提取时间)影响最小。通过理论分析得到,富硒平菇水溶性蛋白提取的最佳工艺条件为A₁B₂C₂,9组实验中指标最高组合为A₁B₂C₂,二者一致,因而确定最佳工艺条件为A₁B₂C₂,即提取温度为30℃,料液比为1:30,提取时间4h。在此条件下进行验证实验,最终提取得到的水溶性蛋白浓度为(8.5 ± 0.29) mg/mL,硒含量为325.7 μg/g。

在富硒平菇中,硒通过与蛋白质、核酸、多糖等结合形成多种含硒化合物。提取硒蛋白的方法有水提、醇提、碱提等多种方法,考虑到提取方法的简便性、实验操作的安全性以及硒蛋白抗氧化研究对提取物纯度的要求,本文选择水提法。尽管水提法得到的硒蛋白含量相对较少,但是水提法引入的杂质几乎为零^[4,16]。孙灯艳等^[4]对富硒灵芝中的水溶性硒蛋白进行提取,得到的最佳提取条件为pH=9,温度为60℃,料液比(w/v)为1:35,提取时间为9h,提取次数为3次,在此条件下,蛋白提取的得率为51.56%,蛋白质含

量为83.7%, 硒含量为533 $\mu\text{g/g}$ 。本实验结果中的水溶性蛋白为全部蛋白质的一部分, 因而其含量较低, 相关研究者也证实水溶性蛋白含量较其它溶剂提取的蛋白含量较低, 含硒量较低的原因可能与原料本身富硒的量不同以及提取方法的不同有关。

2.6 水溶性蛋白的抗氧化活性

2.6.1 还原力 在还原力的测定过程中, 抗氧化物质提供电子, 自由基获取电子失去活性变为稳定的分子。在700 nm下, 抗氧化物质的吸光度值越大还原力越强。如图5所示, 在0.2~1.0 mg/mL浓度范围内, 随着水溶性蛋白浓度的增加, 还原力逐渐增大, 当水溶性蛋白浓度为1.0 mg/mL时, 还原力值达到1.38, 但在相同浓度下 V_c 还原力为1.67。水溶性蛋白中的抗氧化活性除与其中的蛋白有关, 还与其含有的硒元素有关, 因而水溶性蛋白在较低浓度下抗氧化活性相对较高。

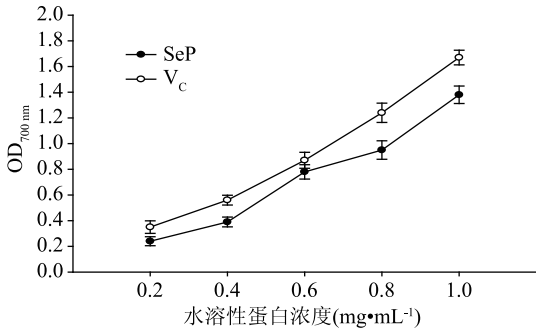


图5 水溶性蛋白的还原力

Fig.5 Reduce power of water soluble protein with different contents

2.6.2 超氧阴离子自由基清除率 邻苯三酚在碱性条件下发生自动氧化, 伴随着 $O_2^{\cdot-}$ 的释放生成有色的中间产物, 水溶性蛋白作为抑制剂阻止中间产物的积累, 通过比色可得出清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力。如图6所示, 在所选的浓度范围内, 随着水溶性蛋白浓度的增加, 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除率也呈上升的趋势, 当浓度为1.0 mg/mL时清除率达到最大值51.9%, 但低于同浓度下 V_c 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除率。

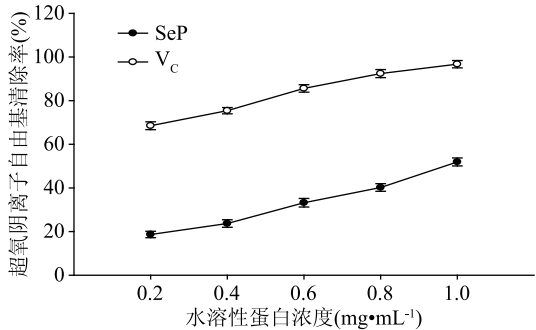


图6 水溶性蛋白对超氧阴离子自由基的清除率

Fig.6 Scavenging rate for superoxide anion free radical of water soluble protein with different contents

2.6.3 羟自由基清除率 羟自由基是机体内经常会存在的一类有害自由基, 羟自由基会透过细胞膜与蛋白、脂质、多糖以及核酸发生反应进而对机体造成

伤害, 因而羟自由基的清除对保护机体的健康有重要的意义。在对羟自由基清除过程中, 水溶性蛋白通过提供氢原子或自由电子与羟自由基形成稳定的络合物, 从而降低羟自由基的含量。由图7可知, 水溶性蛋白在0.2~1.0 mg/mL浓度范围内对羟自由基的清除率随着浓度的增加而增强, 其中在0.2~0.6 mg/mL范围内变化平缓, 在0.6~1.0 mg/mL范围内变化较明显, 但都明显低于同浓度下 V_c 的清除率。当浓度为1.0 mg/mL时, 水溶性蛋白和 V_c 对羟自由基的清除率分别为56.4%和90.2%。杨奇^[12]报道富硒金针菇、虫草硒蛋白对羟自由基的清除率随硒蛋白浓度的增加而增加, 且清除率显著高于同浓度下空白蛋白和无机亚硒酸钠, 说明硒与食用菌蛋白在清除自由基方面有协同作用。

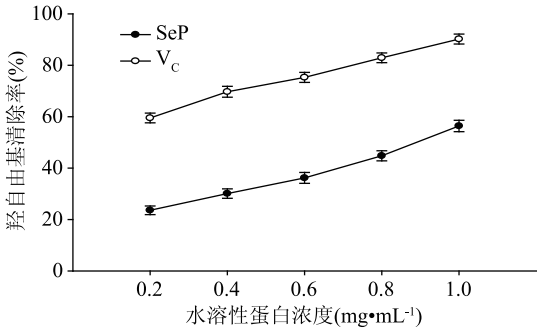


图7 水溶性蛋白对羟自由基的清除率

Fig.7 Scavenging rate for hydroxyl free radical of water soluble protein with different contents

2.6.4 ABTS 自由基清除率 由图8可知, 在所选蛋白浓度范围内, 水溶性蛋白对ABTS自由基的清除力随浓度增加而增加, 由0.2 mg/mL时的31.7%增加到1 mg/mL的56.2%, 但同浓度下清除率都远远低于 V_c , 其变化规律与对羟自由基和超氧阴离子自由基的清除率相似。

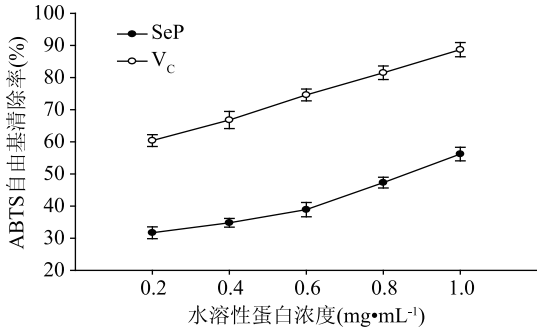


图8 水溶性蛋白对ABTS自由基的清除率

Fig.8 Scavenging rate for ABTS free radical of water soluble protein with different contents

3 结论

通过单因素实验结合正交实验确定了富硒平菇中水溶性蛋白提取的最佳工艺条件为料液比1:30, 提取时间4 h, 提取温度30 $^{\circ}\text{C}$, 在此条件下提取得到的水溶性蛋白浓度为 (8.5 ± 0.29) mg/mL。水溶性蛋白对自由基的清除能力随着浓度的增加而增大, (下转第158页)

- sp.HC₄[J].Chinese Journal of Oceanology and Limnology,2010,28(6):1139-1145.
- [12] Liu G L, Li Y, Chi Z, et al. Purification and characterization of κ -carrageenase from the marine bacterium *Pseudoalteromonas porphyrae* for hydrolysis of κ -carrageenan [J]. Process Biochemistry, 2011, 46(1): 265-271.
- [13] Jiang L, Hu Q, Seswita - Zilda D. Purification and characterization of a thermostable λ -carrageenase from a hot spring bacterium, *Bacillus* sp. [J]. Biotechnology Letters, 2014, 36(8): 1669-1674.
- [14] Xiaoyan, Shangyong, YANG, et al. Cloning and Characterization of a New κ -Carrageenase Gene from Marine Bacterium *Pseudoalteromonas* sp. QY203 [J]. Journal of Ocean University of China, 2015, 14(6): 1082-1086.
- [15] 刘苹, 张珠, 张聪芝, 等. 响应面法优化黄杆菌 YK-5 产卡拉胶酶的发酵条件[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2012, 25(3): 194-198.
- [16] 苏平安, 王莹, 李尚勇, 等. κ -卡拉胶酶 CgkX 高效重组表达菌株的构建和发酵优化[J]. 中国海洋药物, 2015(4): 1-6.
- [17] 薛枫, 欧仕益, 傅亮, 等. 冷冻干燥法制备阿魏酸酯酶和阿拉伯木聚糖酶固体混合酶制剂[J]. 食品工业科技, 2006(5): 152-154.
- [18] 周艳明, 刘丹, 胡睿. 冷冻干燥法制备植物酯酶[J]. 食品工业科技, 2007(12): 140-142.
- [19] 肖安凤, 王芳, 倪辉, 等. 单宁酶固体酶制剂的喷雾干燥制备工艺优化[J]. 中国食品学报, 2013(7): 144-151.
- [20] 肖安凤, 丁涛, 倪辉, 等. 喷雾干燥法制备柚苷酶固体酶制剂的工艺优化[J]. 中国食品学报, 2013(3): 92-100.

(上接第 151 页)

1.0 mg/mL 的水溶性蛋白对超氧阴离子自由基、羟自由基、ABTS 阳离子自由基的清除率分别为 56.2%、51.9%、56.4%，反映还原力的 OD₇₀₀ 值达到 1.38。

参考文献

- [1] 全宗喜, 康世良. 硒及硒蛋白生物学作用的研究进展[J]. 动物医学进展, 2002, 23(6): 17-19.
- [2] 赵镭. 灵芝生物富硒及富硒灵芝硒蛋白的分离纯化和抗氧化性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [3] 关玉梅. 硒与缺硒对机体的影响[J]. 微量元素与健康研究, 2002, 19(4): 82-83.
- [4] 孙灯艳, 王晓岚, 张连富. 富硒灵芝中可溶性硒蛋白的提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3): 219-221.
- [5] 王莲芳, 窦春霞, 张连富. 富硒食用菌中硒蛋白提取工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(1): 122-126.
- [6] 杜明, 赵镭, 陈芳. 富硒灵芝中高抗氧化活力、高硒含量的水溶性硒蛋白的纯化[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(2): 108-112.
- [7] 杜明, 胡小松, 赵广华. 富硒灵芝中不同粗蛋白的抗氧化活性及其协同作用研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(9): 11-113.
- [8] 田敏爵, 李好. 富硒猴头菌中含硒蛋白提取工艺研究[J]. 现代农业科技, 2010(19): 320-322.

- [21] 胡宜亮, 李锋, 周伏忠, 等. 纳豆激酶高产菌株产酶特点及其干燥工艺的研究[J]. 河南科学, 2013(3): 285-288.
- [22] 朱照静, 邱宗荫. 喷雾干燥对溶菌酶一级结构的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(6): 279-280.
- [23] 许彩云, 朱艳冰, 倪辉, 等. 一株产卡拉胶酶细菌的分离鉴定及其酶学性质[J]. 微生物学报, 2015(2): 140-148.
- [24] 朱海霞, 石瑛, 张庆娜, 等. 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定马铃薯还原糖含量的研究[J]. 中国马铃薯, 2005, 19(5): 266-269.
- [25] Truong V, Bhandari B R, Howes T. Optimization of cocurrent spray drying process for sugar-rich foods. Part II—Optimization of spray drying process based on glass transition concept[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 71(1): 66-72.
- [26] Abadias M, Benabarre A, Teixidó N, et al. Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 65(65): 173-182.
- [27] 苏东晓, 张名位, 侯方丽, 等. 速溶龙眼粉加工的酶解提取与喷雾干燥工艺优化[J]. 农业工程学报, 2009, 25(8): 268-274.
- [28] 于华宁, 阿地里江, 龙薇运, 等. 实验型喷雾干燥机低温干燥牛初乳粉的干燥性能[J]. 农业工程学报, 2010, 26(10): 361-366.
- [29] 王春维, 胡奇伟. 喷雾干燥血浆蛋白粉生产工艺研究进展[J]. 中国粮油学报, 2006(3): 396-399.
- [30] 刘贺, 王雪, 李君, 等. 扁杏仁水解蛋白的喷雾干燥及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2012(16): 18-23.

- [9] 张卓, 赵萍, 郭健. 富硒花生中含硒蛋白的提取及其抗氧化性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(4): 323-326.
- [10] 铁梅, 李宝瑞, 邢志强, 等. 富硒大豆中蛋白提取工艺优化及 HPLC-MS 联用测定硒代蛋氨酸[J]. 食品科学, 2015, 36(8): 6-11.
- [11] Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine [J]. Japanese Journal of Nutrition, 1986, 44(6): 307-315.
- [12] 杨奇, 郭阳, 徐锐. 富硒食用菌硒蛋白清除氧自由基作用研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(13): 1-4.
- [13] Halliwell B. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts [J]. Chemistry and Physics of Lipids, 1987, 44(2-4): 327-340.
- [14] Li Q, Yu N, Wang Y, et al. Extraction optimization of *Bruguiera gymnorhiza* polysaccharides with radical scavenging activities [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 96(1): 148-155.
- [15] Shi J J, Zhang J G, Sun Y H, et al. Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91, 23-30.
- [16] 陈季旺, 姚惠源, 张晓勇, 等. 米糠可溶性蛋白的提取工艺和特性研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(2): 46-50.