

抗菌肽抗氧化作用机制及其应用前景

肖明珠^{1,2}, 金小宝^{1,2}, 朱家勇^{1,2,*}

(1. 广东药学院基础学院, 广东 广州 510006; 2. 广东省药用生物活性物质研究重点实验室, 广东 广州 510006)

摘 要: 抗菌肽作为一种具有抗微生物作用的生物活性肽而成为研究热点已经 20 余年, 研究发现部分抗菌肽不仅具有抗微生物的特性, 更有抗氧化、抗衰老作用, 目前认为其抗氧化作用机制包括: 清除自由基, 抑制脂质过氧化以及螯合金属离子等。本文综述近 10 年抗菌肽抗氧化作用机制研究进展, 及其在食品、化妆品、保健品方面的应用, 并展望其应用前景。

关键词: 抗菌肽; 抗氧化; 机制; 食品添加剂; 保健品

Antioxidant Mechanism and Application Prospective of Antibacterial Peptides

XIAO Ming-zhu^{1,2}, JIN Xiao-bao^{1,2}, ZHU Jia-yong^{1,2,*}

(1. School of Basic Courses, Guangdong Pharmacy University, Guangzhou 510006, China;

2. Guangdong Key Laboratory of Pharmaceutical Bioactive Substances, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Antibacterial peptides have become a research hotspot of great interest in more than two decades. Besides their anti-microbial property, their anti-oxidant and anti-aging effects have been confirmed through current extensive research. In this paper, anti-oxidation mechanisms related to scavenging of free radicals, inhibition of lipid peroxidation and chelating of metal ions are reviewed. In addition, their applications in food, cosmetics and health products are also discussed.

Key words: antibacterial peptide; antioxidant activity; mechanism; food additive; health-care product

中图分类号: TQ465

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)11-0312-04

抗菌肽(antibacterial peptides, ABPs), 又称抗微生物肽(antimicrobial peptides, AMPs), 原指昆虫体内经诱导而产生的一类分子质量在 4kD 左右的具有抗菌活性的碱性多肽物质。是由瑞典科学家 Boman 等^[1]于 1972 年在惜古比天蚕(*Hyalophora cecropia*)首次发现的, 并将其命名为天蚕素(cecropins); Steiner 等^[2]于 1981 年注射蜡状芽孢杆菌(*Bacillus*)诱导天蚕蛹产生抗菌肽天蚕素, 并测定其一级结构。此后科学家相继从多种生物体中分离出具有广谱抗菌、抗微生物活性的多肽, 因此抗菌肽的概念得到扩展, 它是指存在于生物体内的具有多种生物活性的多肽。随着研究工作的深入, 科学家发现 AMPs 除具有抗病毒、抗细菌和抗真菌等功能外, 某些 AMPs 还有较强的抗氧化功能及清除自由基的作用^[3]。

食品中营养成分的氧化反应会产生过氧化物。过氧化物影响食品的营养价值, 严重还可导致疾病发生, 寻

找安全的抗氧化剂以抑制过氧化物产生一直是生化营养学的研究热点^[4]。目前广泛使用的抗氧化剂如 BHA、BHT 等, 多为化学合成物, 虽抗氧化效果良好, 但对人体肝、脾、肺有蓄积性致癌作用^[5]。因此人们逐渐把目光转向天然抗氧化剂。抗菌肽具有抗氧化作用, 同时还有广谱的抗菌作用, 并且热稳定性强、水溶性好、无毒无副作用^[6], 可被人体内的酶系降解、消化, 降低杀菌温度, 减少热处理时间, 最大条件保持食品的营养价值。很多动物源性/植物源性抗菌肽都具有以上的功能^[7], 因此有望开发应用于食品工业中。

另一方面, 随着年龄的增长或在某些病理状态下, 机体氧化反应的副产物——自由基产生过多或清除的不及时都将使之在体内堆积。研究证明, 自由基的堆积是加速机体衰老的主要原因之一^[8]。如何适当的清除自由基, 使其在体内维持在一个较低的水平, 从而延缓机体衰老, 是当前一个重要的研究课题。

收稿日期: 2009-11-03

基金项目: 广东省产业技术研究与开发资金项目(2008B080703065); 广东省教育部产学研合作项目(2008B090500191)

作者简介: 肖明珠((1982—), 女, 助教, 硕士, 研究方向为生物活性物质。E-mail: kate2002002@126.com

* 通信作者: 朱家勇(1954—), 男, 教授, 研究方向为生物活性物质。E-mail: zhujiy@gdpu.edu.cn

本文总结近 10 年 AMPs 抗氧化作用的研究进展, 探讨 AMPs 的分类、抗氧化作用机理, 综述其在食品、化妆品、保健品领域的应用现状, 并展望其应用前景。

1 抗氧化型抗菌肽的分类

迄今, 相关文献报道具有抗氧化作用的抗菌肽已经有 10 余种。由于这类 AMPs 的来源、肽链组成和结构均不尽相同, 所以依据这 3 方面的特征对其进行分类。根据来源的不同, 抗氧化型 AMPs 可以分为细菌源性 AMPs、植物源性 AMPs、昆虫源性 AMPs、两栖类源性 AMPs、水生动物源性 AMPs 和哺乳动物源性 AMPs 等, 其中以哺乳动物源性的乳铁蛋白及其酶解产物抗菌肽乳铁素(lactoferricin, Lfcin)研究最为成熟^[7]。根据肽链组成的不同, 将抗氧化型 AMPs 分成三类: 1) 不含半胱氨酸残基的 AMPs, 如蛙皮抗菌肽 Magainins 族^[9]; 2) 富含半胱氨酸残基的 AMPs, 如乳清蛋白^[10]; 3) 富含脯氨酸残基的 AMPs, 如蜜蜂肽(apidaecin)^[11]。根据二级结构特征, AMPs 可分成含有 α -螺旋结构的 AMPs, 如天蚕素(cecropin)^[12], 蜂毒肽(melittin)^[13]; 含有 2~3 个二硫键的 β -折叠的 AMPs, 如蛙皮抗菌肽 Brevinin-1 ARA 族^[14]。

2 抗菌肽的抗氧化机理初探

AMPs 的抗氧化机理尚未完全明确, 但其与已知抗氧化活性肽(antioxidant peptide)的作用机理相似^[3,7]。天然抗氧化肽类主要为肌肽和谷胱甘肽, 其抗氧化机制主要包括清除自由基, 抑制脂质过氧化以及螯合金属离子等。AMPs 存在类似于抗氧化肽的结构域(domain), 使之具有清除自由基或螯合金属离子等活性, 并由此决定 AMPs 的抗氧化活性。

2.1 清除自由基

机体氧化反应产生的自由基(free radical)是含有一不成对电子的原子团, 如超氧阴离子、羟自由基等。自由基具有强氧化性, 随着年龄增长或在病理状态下, 自由基产生过多而不能被及时清除, 在细胞内堆积, 与机体内的生物大分子, 如蛋白质、核酸、脂质等相互作用, 生成过多的氧化物和过氧化物, 最终影响机体新陈代谢, 并对其产生不可逆的损伤^[15]。衰老及很多慢性疾病如癌症、心血管疾病、肺气肿、肝硬化、关节炎等都和自由基的损伤有关^[16]。尽管机体存在抗氧化防御系统, 但其并不能完全有效地抵御或修复氧化作用带来的损伤^[17]。

含巯基化合物通过巯基与体内的自由基结合, 转化成容易代谢的酸类物质或二硫化物, 从而加速自由基的排泄。含巯基组分的 AMPs, 如乳清蛋白, 能够有效地捕获清除自由基, 保护细胞和组织免受伤害^[10]。乳

清蛋白富含的半胱氨酸是 GSH 合成的限速性氨基酸, 也是细胞主要的巯基化合物, 同时是保护细胞免受自由基和氧化应激损伤的关键分子。

抗菌肽 Melittin 能够进入细胞质或细胞核中, 作为第二信使启动某一信号转导通路, 调控基因表达。蛋白激酶 II(CK2)是广泛存在于真核细胞中的一种多功能 ST 蛋白激酶, 在 DNA 复制与转录过程中起重要作用。Melittin 能够与 CK2 结合, 增强 CK2 活性, 特异性磷酸化一些介导或调控因子, 影响细胞功能, 以减少细胞自由基的产生^[13]。

研究还发现, 厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)水解物抗菌肽具有优于 VC 及 α -生育酚的抑制饱和脂肪酸氧化能力^[18]。究其原因, 其 C-末端的亮氨酸通过巯基影响肽链的抗自由基活性; 其芳香环氨基酸, 如脯氨酸(Pro), 则能提供质子, 使具高度氧化性的自由基还原从而终止自由基连锁反应^[19]。

2.2 抑制脂质过氧化

生物富含不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acid, UFA), 在生物膜中尤为突出。不饱和脂肪酸化学性质很不稳定, 极易发生脂质过氧化作用。脂质过氧化作用(lipid peroxidation, LPO)是指不饱和脂肪酸与机体产生的过多的自由基作用, 产生具有细胞毒性的氢过氧化物, 氢过氧化物继续分解形成短碳链的丙二醛(MDA)、酮基、羧基等小分子物质, 最终引起酸败作用^[20]。反应的终产物 MDA 就是一种双功能基化合物, 可作交联剂, 可使含氨基的蛋白质、核酸、脑磷脂发生交联并丧失活性, 从而破坏机体正常细胞, 加速机体衰老, 并可能诱发癌症。

疏水性氨基酸、芳香环氨基酸的存在与抗氧化密切相关^[21], 而且多肽含该类氨基酸个数越多抗氧化活性越强。肽链 N-末端的疏水性氨基酸, 如亮氨酸(Leu)、缬氨酸(Val), 能促进肽链与脂肪酸相互作用, 从而保护脂质体系、膜质的完整性, 起到抵抗自由基攻击的作用^[22]。如蛙皮抗菌肽 Magainins 族, 其疏水性氨基酸作用有效保护其皮肤脂质体系, 在抵抗自由基攻击的同时也抵抗紫外线的氧化作用^[23]。

另一方面, 富含脯氨酸(Pro)、酪氨酸(Tyr)和组氨酸(His)的 AMPs 可以将氢供给脂肪中的自由基, 使其还原从而终止自由基连锁反应; 同时产生的自由基中间体稳定性较高, 减缓脂质过氧化连锁反应的速度, 有效减少有害脂质过氧化产物的产生^[24]。例如富含脯氨酸的抗菌肽 Apidaecin 就能抑制脂质过氧化过程所产生的硫代巴比妥酸和丙二醛的生成。Apidaecin 通过激活单核细胞的途径, 能够抑制自由基的产生, 从而保护嗜中性粒细胞免遭脂质过氧化作用, 阻止了自由基对细胞膜的氧化损伤, 从而降低人体内自由基对动脉血管壁弹性蛋

白的破坏^[11]。

研究表明,天蚕素含一定数量的游离羧基和游离氨基,具有缓冲生理pH值的能力,这也可以减缓机体pH值变化对脂质过氧化的促进作用^[12]。

2.3 整合金属离子

金属离子能催化自由基与细胞组分发生氧化反应,加速自由基的产生。某些AMPs如Lfcin等^[25],富含酸性氨基酸,能整合金属离子,形成非活性复合物,降低了金属离子的催化活力,抑制氧化作用,减少自由基生成。这类AMPs整合转运金属离子,还可以防止它们与过氧化物碰撞,避免破坏性Fenton反应导致的有机化合物无机态改变的发生,阻止过氧化物对细胞的毒性损伤^[26]。

AMPs的抗氧化活性主要由其特定的结构域决定。结构域的空间结构及其稳定性主要受肽键或肽链构象的影响。而肽键或肽链的构象则和多肽的氨基酸组成密切相关。例如来源于人和牛的抗菌肽Lfcin通过其铁离子结合域整合金属离子而产生抗氧化作用,该结构域含2个酪氨酸、1个天冬氨酸、1个组氨酸,铁离子与之相连,并结合 CO_3^{2-} 和精氨酸。Lfcin的二级结构呈“二枚银杏叶型”,在分子N端和C端形成2个环,这样的裂隙结构使之可以牢固地结合铁离子^[27]。此外,X射线分析发现,Lfcin结合铁离子后其裂隙结构闭合,分子结构更加紧密。这种构象变化导致铁饱和Lfcin比脱铁Lfcin(Apo-Lfcin)更不易变性和水解^[25]。

3 应用现状

抗氧化型AMPs在具有较强抗氧化能力的同时,还具有抗菌活性,并且有热稳定性强,水溶性较好,无毒副作用等优点,且来源较为丰富,因此,其在食品添加剂、化妆品、功能性保健品等方面已有广泛的应用。

3.1 食品添加剂

目前的食品抗氧化剂多为化学合成品,本身或多或少都具有毒副效应,不能满足公众对健康理念的追求。各国政府均强制对其规定了ADI值(每日允许摄入量),控制其添加量,以控制其对人体的毒副效应^[28]。抗氧化型AMPs可以高效的抗菌和抗氧化,保护食品营养成分免受破坏;AMPs具有良好的热稳定性,在100℃加热10min仍能保持一定活性;同时,其对较大的离子强度、较低或较高的pH值等环境有较强的抗性^[29]。这些特性使AMPs在食品防腐,尤其是在热加工食品以及防止巴氏消毒后的再污染等方面有着广阔的应用前景。胡志和等^[30]将Lfcin添加到巴氏消毒奶,可有效的延长巴氏奶的贮存期。Limjaroen等^[31]将Lfcin和其他抗菌物质如Nisin等混合,制造成抗菌膜,可有效地控制食源性病原微生物,增强食品的安全性,降低污染。于1920

年发现的乳链球菌肽更已经在50多个国家注册为食品保藏剂。

同时AMPs的生物源性使其安全性较化学合成品有明显的优势。Yamauchi等^[32]用小鼠进行安全性实验,在以每天2000mg/kg的剂量饲喂雌鼠和雄鼠13周,经测试乳铁蛋白无任何副作用;另外经细菌的回复突变实验,也证明乳铁蛋白无任何致突变性。谢玮等^[33]用小鼠进行酪蛋白源抗菌肽毒理学研究证明:酪蛋白源抗菌肽属实际无毒物质(ames),对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验说明该物质不具遗传毒性作用,作为添加剂加入食品中是安全可靠的。

3.2 化妆品

AMPs比化学制剂更易溶于油脂,可以和多种抗氧化剂复配使用,稳定性好、复配性能强、生理活性独特。AMPs保护敏感、纤弱皮肤免受紫外线、电脑辐射等伤害,提高皮肤对恶劣环境刺激的抵抗力。因此,AMPs可应用于化妆品中,作为修复型化妆品的主要成分,开发应用潜力巨大。目前最为成熟的应用是以天蚕素作为主要成分的新型护肤品,该护肤品不但在抵抗细胞氧化、延缓衰老方面效果显著,而且还能避免传统化妆品副作用,如刺激性皮炎等的发生^[34]。

3.3 功能性保健品

大量研究证明,自由基与心血管病、癌症、白内障等许多疾病密切相关^[35],抗氧化型AMPs具有较强的清除自由基活性,而且其生物源性和安全性等优点突出,因此在功能性保健品方面的应用日渐为人们所关注。夏文水等^[36]研究昆虫蛋白水解提取法和深加工技术,并成功研制出了新一代健康食品昆虫活性蛋白,已获准生产销售。张廷军^[37]研制一种具有护肝养胃功能的昆虫抗菌肽保健品,并申请了专利。抗菌肽Lfcin作为食品营养强化剂已广泛应用于保健食品、婴儿奶粉及动物饲料添加剂,并作为抗氧化剂、免疫调节剂等逐步得到更广泛的应用^[38-39]。

4 展望

抗氧化型AMPs能有效地清除体内自由基,抑制脂质过氧化反应,并能整合金属离子抑制促氧化剂。该类AMPs可以抑制生物大分子过氧化,保护食物的营养成分;也可以清除体内过多的自由基,保护机体免受损伤,起到延缓衰老、帮助机体抵御疾病等作用。尽管抗氧化型AMPs在食品添加剂、化妆品和保健食品等方面有广阔的开发前景,但国内对其研究与开发仍有待深入。抗氧化型AMPs与疾病的临床研究以,亟待开展明确其对疾病预防和治疗的作用机制;抗氧化型AMPs的抗氧化活性的测定标准还需统一完善,抗氧化型AMPs的提取技术还需进一步发展,以实现其工业化生

产。随着对抗氧化型 AMPs 了解的深入、开发的完善,不久的将来,抗氧化型 AMPs 在食品工业及化妆品、保健品等领域成熟的产品将会不断问世,并会带来良好的经济和社会回报。

参考文献:

- [1] BOMAN H G, NISSON I, RASMUSON B. Inducible antibacterial defense system in *Drasophila*[J]. Nature, 1972, 237(5): 232-235.
- [2] STEINER H, HULTMARK D, ENGSTROM A, et al. Sequence and specificity of two antibacterial proteins insect immunity[J]. Nature, 1981, 292(5820): 246-251.
- [3] YANG Hailong, WANG Xu, LIU Xiuhong, et al. Antioxidant peptidomics reveals novel skin antioxidant system[J]. Mol Cell Proteomics, 2009, 8(3): 571-583.
- [4] RONALD R, WU Xianli, GU Liwei, et al. Plasma antioxidant capacity changes following a meal as a measure of the ability of a food to alter *in vivo* antioxidant status[J]. J Am Coll Nutr, 2007, 26(2): 170-181.
- [5] ARORA A, SETH K, KALRA N, et al. Modulation of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in K562 leukemic cells by indole-3-carbinol[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2005, 202(3): 237-243.
- [6] DOURADO F S, LEITE J R, SILVA L P, et al. Antimicrobial peptide from the skin secretion of the frog *Leptodactylus syphax*[J]. Toxicon, 2007, 50(4): 572-580.
- [7] 冯兴军, 王建华, 单安山. 抗菌肽 Lactoferricin 生物学功能及其应用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(1): 120-123.
- [8] ZHANG Xiuli, JIANG Bo, LI Zhibo, et al. Catalpol ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage in the brain of senescent mice induced by D-galactose[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2007, 88(1): 64-72.
- [9] IMURA Y, CHODA N, MATSUZAKI K, et al. Magainin 2 in action: distinct modes of membrane permeabilization in living bacterial and mammalian cells[J]. Biophys J, 2008, 95(12): 5757-5765.
- [10] 邱隽, 王小雪, 李琳. 乳清蛋白活性肽的延缓衰老作用研究[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(3): 312-313.
- [11] LI Weifen, MA Guoxia, ZHOU Xuxia. Apidaecin-type peptides: biodiversity, structure-function relationships and mode of action[J]. Peptides, 2006, 27(9): 2350-2359.
- [12] HAO G, SHI Y H, HAN J H, et al. Design and analysis of structure-activity relationship of novel antimicrobial peptides derived from the conserved sequence of cecropin[J]. J Pept Sci, 2008, 14(3): 290-298.
- [13] WANG Chen, CHEN Taoyong, ZHANG Ning, et al. Melittin, a major component of bee venom, sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by activating CaMKII-TAK1-JNK/p38 and inhibiting IkappaBalpha kinase-NFkappaB[J]. J Biol Chem, 2009, 284(6): 3804-3813.
- [14] MOHAMED F A, LIPS K R, KNOOP F C, et al. Antimicrobial peptides and protease inhibitors in the skin secretions of the crawfish frog, *Rana areolata*[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1601(1): 55-63.
- [15] LIN M Y, YEN C L. Antioxidative ability of lactic acid bacteria[J]. Agric Food Chem, 1999, 47(4): 1460-1466.
- [16] KULLISAAR T, SONGISEPP E, MIKELSAAR M, et al. Antioxidative probiotic fermented goats milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects[J]. Br J Nutr, 2003, 90(2): 449-456.
- [17] TERAHARA M, NISHISE S, KANEKO T. Preventive effect of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *blgaricus* on the oxidation of LDL[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2002, 64(9): 1868-1873.
- [18] JUNG W K, QIAN Z J, LEE S H. Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide isolated from *in vitro* gastrointestinal digests of *Mytilus coruscus*[J]. Med Food, 2007, 10(1): 197-202.
- [19] LEDESMA P, MARISCAL A, CARNERO M. Antimicrobial efficacy in vivo of a new formulation of 2-butanone peroxide in *n*-propanol: comparison with commercial products in a cross-over trial[J]. Hosp Infect, 2009, 71(3): 223-227.
- [20] 刘明, 倪辉, 吴永沛. 大豆抗氧化活性肽研究进展[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 897-901.
- [21] CHEISON S C, WANG Z, XU S Y. Preparation of whey protein hydrolysates using a single and two-stage enzymatic membrane reactor and their immunological and antioxidant properties: characterization by multivariate data analysis[J]. Agricultural Food Chemistry, 2007, 55(10): 3896-3904.
- [22] MENDIS E, RAJAPAKSE N J, KIM S K. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate[J]. Agric Food Chem, 2005, 53(3): 581-587.
- [23] PORCELLI F, BUCK KOEHNTOP B A, THENNARASU S, et al. Structures of the dimeric and monomeric variants of magainin antimicrobial peptides (MSI-78 and MSI-594) in micelles and bilayers, determined by NMR spectroscopy[J]. Biochemistry, 2006, 45(18): 5793-5799.
- [24] 徐力, 李相鲁, 吴晓霞, 等. 一种新的玉米抗氧化肽的制备与结构表征[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(3): 466-469.
- [25] WAKABAYASHI H, MATSUMOTO H, HASHIMOTO K, et al. Inhibition of iron/ascorbate-induced lipid peroxidation by an N-terminal peptide of bovine lactoferrin and its acylated derivatives[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63(5): 955-957.
- [26] 韩建娜, 裘娟萍. 肌肽的抗氧化性及其在医药上的应用[J]. 科学通报, 2005, 21(1): 199-205.
- [27] BAKER E N, BAKER H M. A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin[J]. Biochimie, 2009, 91(1): 3-10.
- [28] 中华人民共和国卫生部. GB 2760—1996 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [29] ANDERSEN J H, JENSSEN H, GUTTEBERG T J. Lactoferrin and lactoferricin inhibit Herpes simplex 1 and 2 infection and exhibit synergy when combined with acyclovir[J]. Antiviral Res, 2003, 58(3): 209-215.
- [30] 胡志和, 冯永强, 庞广昌, 等. 添加乳铁蛋白对延长巴氏奶贮存时间的影响研究[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 41-45.
- [31] LIMJAROEN P, LOCKHART H, HARTE B, et al. Development of a food packaging coating material with antimicrobial properties[J]. Journal of Plastic Film and Sheeting, 2003(2): 95-109.
- [32] YAMAUCHI K, TOIDA T, NISHIMURA S, et al. 13-week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats[J]. Food Chem Toxicol, 2000, 38(6): 503-512.
- [33] 谢玮, 官学诗. 酪蛋白磷酸肽的毒性研究[J]. 预防医学论坛, 2003, 9(5): 573-574.
- [34] 黄自然, 郑青, 黄亚东. 新型护肤化妆品: 中国: 99117076.8[P]. 2000-04-05.
- [35] DIEHN M, CHOR W, LOBO N A, et al. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells[J]. Nature, 2009, 458(7239): 780-783.
- [36] 夏文水, 陈洁, 项建琳. 一种用酶水解法从蝇蛆中提取蛋白质和甲壳素及用甲壳素制备壳聚糖的方法: 中国, 02138647.1[P]. 2003-05-07.
- [37] 张廷军. 一种具有护肝养胃功能的昆虫保健品及其制备方法: 中国, 01142086.3[P]. 2003-04-02.
- [38] 胡志和, 庞广昌, 陈庆森. 牛乳铁蛋白及乳铁素的生产与应用现状[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 247-251.
- [39] 罗献梅, 陈代文, 张克英. 乳铁蛋白及其活性肽的营养生理作用及应用前景[J]. 饲料工业, 2005, 26(2): 5-9.