

罗非鱼多肽 - 锌配合物的制备及其生物活性

许庆陵¹, 曾庆祝^{1*}, 闫磊², 林金莺¹, 顾采琴¹, 战宇¹, 樊亚鸣¹, 黄儒强³

(1.广州大学化学化工学院食品工程系, 广东 广州 510006; 2.广州陆仕水产有限公司, 广东 广州 510820;

3.华南师范大学生命科学学院生物工程系, 广东 广州 510631)

摘要: 目的: 探索罗非鱼多肽 - 锌配合物的制备工艺条件, 并通过动物实验测试其生物活性。方法: 比较影响蛋白多肽与锌发生配合反应的因素, 筛选适宜工艺条件, 采用光谱法对配合物结构进行初步鉴定, 并以小鼠为动物实验对象, 选择超氧化物歧化酶活力、氧化型谷胱甘肽还原酶活力、巨噬细胞吞噬百分率、超氧阴离子自由基清除率为指标, 确定配合物的体内生物活性。结果: 蛋白多肽 - 锌配合物制备的适宜工艺条件为 pH5.0、温度 80℃、蛋白质的水解度 15%、多肽与 Zn 的质量比为 4:1, 制备配合物的得率约为 54%、Zn 的配合率为 55%, 配合物中锌含量为 $6.5 \times 10^4 \text{mg/kg}$; 配合物的光谱特征峰证实多肽与 Zn^{2+} 生成了一种新型配合物; 配合物能显著增强小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力、显著提高小鼠肝组织匀浆中 SOD 和肾组织中氧化型谷胱甘肽还原酶的活力, 并对体外超氧阴离子自由基有很好的清除效果。结论: 多肽与 Zn^{2+} 在一定条件下通过配合作用生成多肽 - 锌配合物, 该配合物具有提高小鼠巨噬细胞吞噬能力、提高超氧化物歧化酶和氧化型谷胱甘肽还原酶活力、清除氧自由基等生物活性。

关键词: 罗非鱼; 多肽 - 锌配合物; 制备; 生物活性

Preparation and Biological Activities of Zn (II) - Tilapia Peptide Complexes

XU Qing-ling¹, ZENG Qing-zhu^{1*}, YAN Lei², LIN Jin-ying¹, GU Cai-qin¹, ZHAN Yu¹,
FAN Ya-ming¹, HUANG Ru-qiang³

(1. Department of Food Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China; 2. Guangzhou Lushi Fisheries Co. Ltd., Guangzhou 510820, China; 3. Department of Bioengineering, School of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: The preparation procedure of Zn (II) - tilapia peptide complexes was investigated by single factor design method. Along with this, the complexes were structurally characterized and their biological activities were tested by measuring their effects on kidney GSH-Px and hepatic SOD activities and the percentage of macrophages engaged in phagocytosis in mice and *in vitro* superoxide anion free radical scavenging activity. Results showed that the optimal reaction conditions for the preparation of Zn (II) - tilapia peptide complexes were as follows: pH 5.0 and 80 °C for a reaction between Zn (II) and tilapia peptides contained in the tilapia meat hydrolysate with 15% degree of hydrolysis. Under such conditions, the yield of Zn (II) - tilapia peptide complexes with a Zn content of $6.5 \times 10^4 \text{mg/kg}$ reached up to 54% and Zn exhibited a chelation rate of 55%. Spectral characteristics demonstrated the formation of new complexes from Zn (II) and tilapia peptides. The complexes remarkably increased the percentage of macrophages engaged in phagocytosis and hepatic SOD and kidney GSH-Px in mice and exhibited an excellent superoxide anion free radical scavenging activity.

Key words: tilapia; Zn (II) - tilapia peptide complexes; preparation; biological activity

中图分类号: S985.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)10-0075-06

2007 年, 我国罗非鱼(tilapia)年产量为 121 万吨, 占世界总产量的一半以上。罗非鱼主要用于加工冷冻鱼片

出口欧美市场。由于罗非鱼体形较扁, 制造鱼片的利用率只有整条鱼的 46% 左右, 而下脚料则高达 54% 以上^[1]。

收稿日期: 2009-09-09

基金项目: 广州市属高校科技计划项目(广州市教育局 08C082); 广州大学引进人才科研启动项目(2007)

作者简介: 许庆陵(1965—), 女, 高级实验师, 学士, 主要从事生物活性物质制备及其应用研究。

E-mail: qinglingxu65@yahoo.com.cn

* 通信作者: 曾庆祝(1965—), 男, 教授, 博士, 主要从事生物活性物质制备及其应用研究。E-mail: zqz@gzhu.edu.cn

这些下脚料主要包括鱼片修整时切下的边角鱼肉、带肉鱼骨、鱼头、鱼皮、鱼鳞及内脏等,至今仍未得到有效合理利用,不仅浪费了蛋白质资源,还造成严重的环境污染。

Zn 作为人和动物必需的微量元素之一,被称为生命元素。Zn 与蛋白多肽结合形成多肽-锌配合物(有机锌)以后,在提高动物生长繁殖、增强抗病免疫力、调节生理代谢等方面都有重要生理作用^[2-4]。有关蛋白多肽-锌配合物的制备及其生物功能活性的研究报道不多,张亚丽^[5]研究了大豆多肽络合锌的制备工艺条件,并通过体外实验测试了所制备的多肽络合锌对油脂的抗氧化性;高素蕴等^[6]报道了大豆分离蛋白水解物络合锌的制备工艺条件及影响络合反应的因素;许庆陵等^[7]介绍了合成锌-大豆多肽配合物的影响因素。Torreggiani 等^[2]研究了肌肽与 Zn(II)、Cu(II)、Co(II)形成金属配合物的结构特征,并报道了肌肽螯合锌对胃溃疡的疗效、肌肽螯合铁对体液和组织中铁离子浓度的调节作用、以及抑制铁离子催化诱导的氧化反应等生物活性;Hirokazu 等^[3]研究表明,一种抗艾滋病多肽 T22 与 Zn(II)形成配合物以后,其抗艾滋病活性得到了很大程度提高,并对 Zn-T22 配合物的结构进行了初步鉴定。Vogler 等^[8]介绍了含有二个半胱氨酸残基的二肽和三肽分别与 Zn 形成配合物的技术方法,并对所形成配合物的结构及理化特性进行了测试。纵观国内外文献资料,有关以鱼蛋白为原料制备多肽以及多肽-锌配合物,并探索其生物活性、表征其分子结构等相关研究报道不多。本文在前期研究基础上,进一步探讨罗非鱼水解蛋白多肽与锌(Zn)作用生成罗非鱼多肽-锌配合物(简称多肽-锌配合物)的制备工艺及其生物活性,以期对罗非鱼的高值化利用及多肽-微量元素配合物的研究有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

昆明小鼠[40只,雄性,平均体质量(20±2)g]、基础饲料(未加锌) 广州中医药大学试验动物中心。

Alcalase 2.4L FG、Neutrase、Flavourzyme 天津诺维信生物技术有限公司;木瓜蛋白酶 广州华琪生物科技有限公司;枯草杆菌中性蛋白酶 广西南宁庞博生物工程有限公司;GSH-Px 试剂盒、SOD 试剂盒 南京建成生物工程研究所;蓝色葡聚糖 2000、Giemsa(吉姆萨)染料 北京鼎国生物技术有限责任公司;牛血清白蛋白、细胞色素 C、氧化型谷胱甘肽 上海源聚生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

DBS-100 电脑全自动部分收集器 上海沪西分析仪器有限公司;PHS-25 数显 pH 计 上海精密科学仪器

有限公司;UV2300 紫外-可见分光光度计 上海天美科学仪器有限公司;ALLEGRA-64R 冷冻离心机 上海科峻仪器有限公司;TENSOR 27 型红外光谱仪 德国 Bruker 光谱仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程

鱼蛋白多肽的制备^[9-10]:按鱼肉:水=1:3(m/m)配制水解底物→55℃预热并维持恒温→调节 pH 值→加入 Alcalase 蛋白酶→酶解(条件为 pH9.5、55℃、时间 3h)→酶灭活→离心→过滤→真空浓缩→冷冻干燥→多肽样品。

多肽-锌配合物的制备:用多肽样品配制一定浓度的多肽溶液→调节 pH 值→加入一定量锌(Zn²⁺)溶液→合成反应→沉降分离→沉淀物干燥→多肽-锌配合物成品(每次均设置 3 个平行组)。

1.3.2 测定方法

配合率:采用 EDTA-Na₂ 滴定法测定锌的配合率^[8],计算公式为:锌的配合率/%= $m_1/m_0 \times 100$,式中, m_0 为加入反应体系中的锌量/g, m_1 为配合物中的锌质量/g;蛋白含量:采用凯氏定氮法^[11];肽含量:采用双缩尿法^[12];配合物结构特征:红外光谱仪法^[13]。

1.3.3 实验设计及指标测定

40 只小鼠随机分为 4 组,每组 10 只,放在一个鼠笼中饲养,鼠笼规格 22cm×18cm×16cm。小鼠分组为:①对照组,每天灌胃生理盐水 0.4mL;②低剂量组,每天灌胃质量浓度为 0.25mg/mL 的鱼蛋白多肽-锌配合物(鱼蛋白多肽-锌配合物中锌含量为 6.5×10⁴mg/kg)溶液 0.4mL;③中剂量组,每天灌胃质量浓度为 0.5mg/mL 的鱼蛋白多肽-锌配合物溶液 0.4mL;④高剂量组,每天灌胃质量浓度为 1.0mg/mL 的鱼蛋白多肽-锌配合物溶液 0.4mL。小鼠自由进食基础饲料及饮水。饲养 30d,饲养结束后,每组采集 7 只小鼠平行进行相关指标的检测。

SOD 和 GSH-Px 活力测定:按照说明书方法分别测定肝组织 SOD 和肾组织 GSH-Px 活力。

巨噬细胞吞噬百分率测定:往小鼠腹腔内注射灭菌肉汤培养基 1mL(巨噬细胞诱导剂)→24h 后再注射 1% 鸡红细胞悬液 1mL→间隔 30min,颈椎脱臼处死小鼠→将其仰卧固定于鼠板上,正中剪开腹壁皮肤,经腹腔注入生理盐水 2mL,轻揉腹部 1min→然后吸出腹腔洗液 1mL,于 2 片载玻片上涂匀→移置 37℃ 孵箱温育 30min→孵毕,于生理盐水中漂洗,以除去未贴片细胞→晾干→以 1:1 丙酮甲醇溶液固定 5min→1:10(V/V) Giemsa-磷酸缓冲液染色 30min→再用蒸馏水漂洗→晾干→显微镜下观察巨噬细胞吞噬鸡红细胞的情况。通过显微镜计数巨

噬细胞, 每张片计数 100 个, 按下式计算吞噬百分率。

$$\text{吞噬百分率} / \% = \frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{\text{巨噬细胞数}} \times 100$$

配合物对超氧自由基的清除率测定: 邻苯三酚比色法^[14]。

1.3.4 统计分析

采用 SPSS 17.0 软件包中的 ANOVA 过程进行方差分析, 多重比较选用 LSD 法和 Tamhanes T2 法。

2 结果与分析

2.1 影响多肽与 Zn^{2+} 配合反应的因素

2.1.1 反应温度对配合反应的影响

设定 pH7, 多肽与 Zn 的质量比为 4:1, 反应时间 30min, 温度分别为 30、40、50、60、70、80、90、100℃等条件下, 多肽与锌反应生成多肽-锌配合物的得率及配合率见图 1。

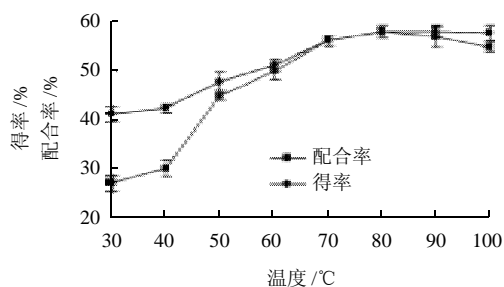


图 1 反应温度对配合反应的影响

Fig.1 Effect of reaction temperature on Zn (II)-tilapia peptide complexes yield and the percentage of Zn engaged in chelation

从图 1 可看出, 在 80℃ 以下, 随着反应温度的逐渐上升, 多肽-锌配合物的得率及 Zn^{2+} 的配合率都不断增加, 到 80℃ 以后, 得率增加缓慢, 而配合率则稍有降低。说明温度对配合反应有影响, 温度升高有利于多肽与 Zn^{2+} 的接触与结合, 但温度过高, 可能使分子运动加快反而不利于多肽与 Zn^{2+} 的结合作用。因此, 选定 80℃ 作为反应的适宜温度。

2.1.2 反应时间对配合反应的影响

在 pH7, 多肽与锌的质量比为 4:1, 温度为 80℃, 反应时间分别为 10、20、30、40、50、60、70、80min 等条件下, 多肽与锌发生配合反应生成多肽-锌配合物的得率及配合率见图 2。可以看出, 在 30min 之前, 反应速度很快, 随着时间的增加, 得率及配合率都得到快速提高, 当时间达到 30min 以后, 得率及配合率增幅很低, 基本不再增加。因此, 说明多肽与锌的配合

反应速度较快, 在 30min 内能够基本完成。因此, 反应时间选择 30min 即可。

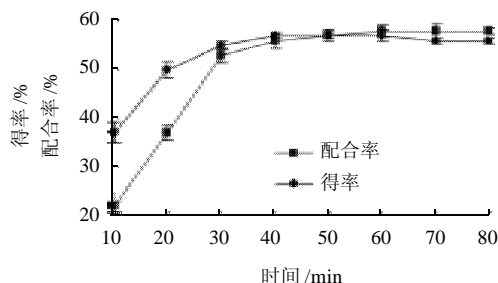


图 2 反应时间对配合反应的影响

Fig.2 Effect of reaction time on Zn (II)-tilapia peptide complexes yield and the percentage of Zn engaged in chelation

2.1.3 pH 值对配合反应的影响

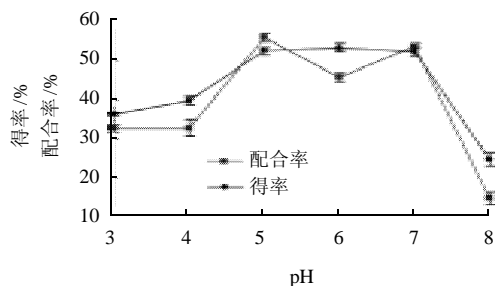


图 3 pH 值对锌配合率的影响

Fig.3 Effect of pH on Zn (II)-tilapia peptide complexes yield and the percentage of Zn engaged in chelation

由图 3 可以看出, pH 值对得率及配合率都有较大影响。其中, pH5 时得率及配合率已达最高。当 pH 值超过 7, 由于产生 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 沉淀, 同时溶液中的部分蛋白多肽也会被沉淀, 导致溶液中蛋白多肽和游离 Zn^{2+} 的含量均有所减少, 锌的配合率降低。当 pH 值小于 5 时, 得率及配合率也不高, 可能是 H^+ 浓度增加不利于 Zn^{2+} 与多肽分子之间的结合。因此, 选定 pH5 作为制备的适宜酸度。

2.1.4 蛋白水解度(DH)对配合反应的影响

图 4 显示, 蛋白质的水解度对配合物的得率有影响, 随 DH 的升高, 得率缓慢降低。相比之下, 水解度对 Zn 配合率的影响较大, 水解度越大, Zn 配合率越高。由于蛋白质的水解度与多肽分子质量分布有密切关系, 一般来讲, 水解度越大, 多肽的平均分子质量就越小, 多肽与 Zn^{2+} 的结合作用更加容易, 因而 Zn 配合率会逐渐增加。而得率降低可能是由于小肽太多, 其总含量超过了与 Zn^{2+} 配合的适宜比例, 那么配合物的得

率就相对降低。当水解度达到 15% 以后, 锌配合率增加幅度不大。因此, 综合考虑, 选择水解度 15% 为宜。

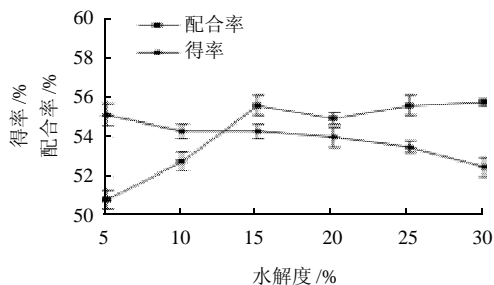


图4 水解度对锌配合率的影响

Fig.4 Effect of protein hydrolyzing degree on Zn (II)-tilapia peptide complexes yield and the percentage of Zn engaged in chelation

2.1.5 多肽与锌的质量比对配合反应的影响

在适宜温度及时间、水解度为 15% 的条件下, 多肽与锌的质量比对多肽 - 锌配合物的得率及配合率的影响见图 5。可以看出, 多肽与锌质量比对得率及配合率的影响都较大。当多肽与锌质量比低时, 多肽分子中的配位基团与 Zn^{2+} 之间接触机会减少, 得率及配合率不高。多肽与锌质量比增加, 得率及配合率也相应有所提高, 当多肽与锌的质量比为 4:1 时, 得率及锌配合率最高, 分别为 55% 和 54%。随着多肽与锌质量比的进一步增加, Zn^{2+} 与多肽分子中的配位基团结合受阻, 发生配合作用的概率不再增加, 因而配合物的得率及配合率就不增加。

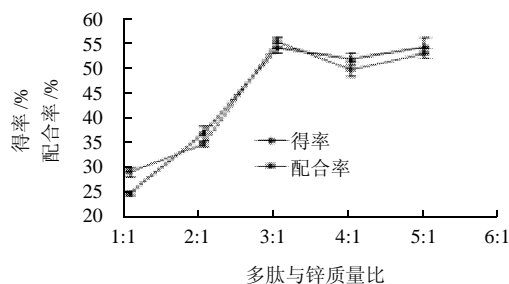


图5 多肽与锌质量比对锌配合率的影响

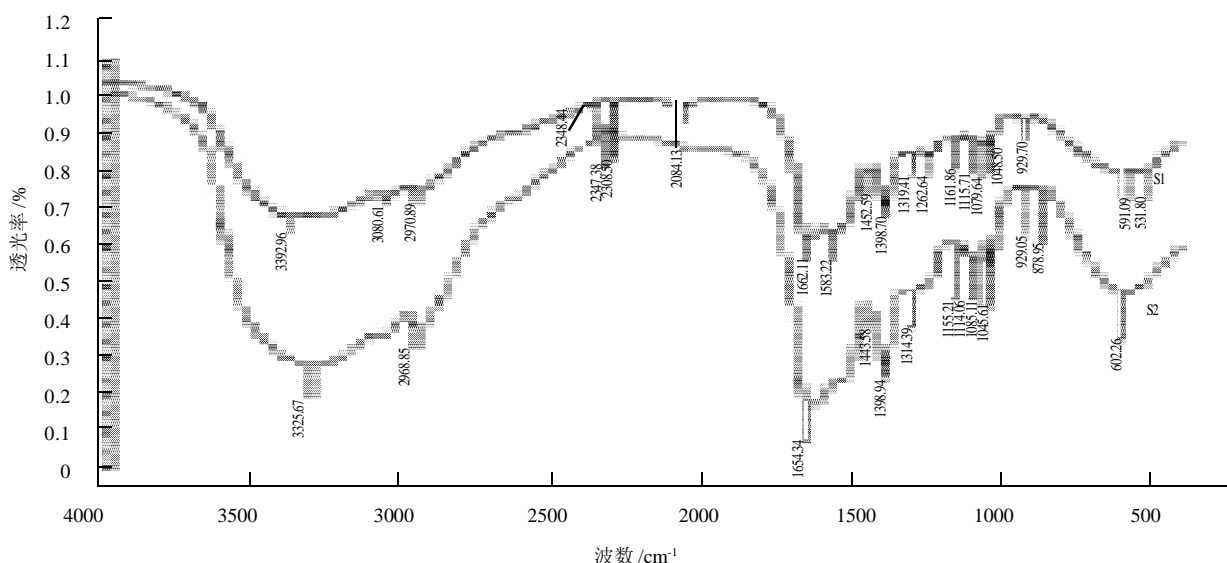
Fig.5 Effect of degree of hydrolysis of tilapia meat hydrolysate on Zn (II)-tilapia peptide complexes yield and the percentage of Zn engaged in chelation

2.2 多肽 - 锌配合物的光谱特征

2.2.1 多肽 - 锌配合物的红外光谱特征

分别测定了多肽(PEP)和多肽 - 锌配合物(Zn-PEP)的光谱特性, 见图 6。

从图 6 可知, 多肽及多肽 - 锌配合物(锌-PEP)的 FTIR 光谱在强度和吸收频率方面均存在较大差异。PEP 在 3392.96cm^{-1} 处的吸收峰在 Zn-PEP 中移至 3325.67cm^{-1} , 红移了 67.92cm^{-1} ; PEP 合成 Zn-PEP 后, 在 3080.61cm^{-1} 处的吸收峰消失; 这些谱带分别对应着 PEP 的 NH 对称伸缩振动和反对称伸缩振动。说明多肽分子的氨基和羧基都参与了 Zn^{2+} 的配位, 而且 PEP 中与 Zn 结合的氧同 NH 之间还可能存在着氢键。PEP 在 2970.89cm^{-1} 处的吸收峰在 Zn-PEP 中移至 2968.85cm^{-1} , 红移了 2.04cm^{-1} , 红移前后是 PEP 中 CH_2 、 CH 基团的伸缩振动, 这说明 Zn^{2+} 与 PEP 的作用而导致 PEP 结构构型的部分改变。PEP 合成 Zn-PEP 后, 在 2084.13cm^{-1} 处的吸收峰消失; PEP 在 1662.11cm^{-1} 处的



S1. 多肽的光谱线; S2. 多肽 - 锌配合物。

图6 多肽及多肽 - 锌配合物的红外光谱图

Fig.6 FTIR spectra of tilapia peptides and their complexes with Zn (II)

吸收峰在 Zn-PEP 中移至 1654.34cm^{-1} , 红移了 7.77cm^{-1} , 这是 COO^- 或 CO 伸缩振动, 说明 PEP 中羧基的氧参与了 Zn^{2+} 的配位作用。PEP 在 1583.22cm^{-1} 处的吸收峰消失, 进一步说明羧基上的氧直接与 Zn^{2+} 有直接的配位作用。PEP 在 1452.59 、 1398.70 、 1319.41 、 1161.86 、 1115.31 、 1079.64 、 1049.05cm^{-1} 等处的吸收峰发生的红移, 都表明 PEP 与 Zn^{2+} 有配位作用, 并生成了新的配合物。PEP 在 1262.64cm^{-1} 处的吸收峰消失, 表明残基上的氨基和羧基氧均可能与 Zn^{2+} 直接成键, 并由氢键缔合作用。Zn-PEP 在 878.56cm^{-1} 处附近的吸收峰加强和在 602.26cm^{-1} 处吸收峰的红移, 有可能是 Zn^{2+} 与 N、O 所形成的配合键的伸缩振动引起。

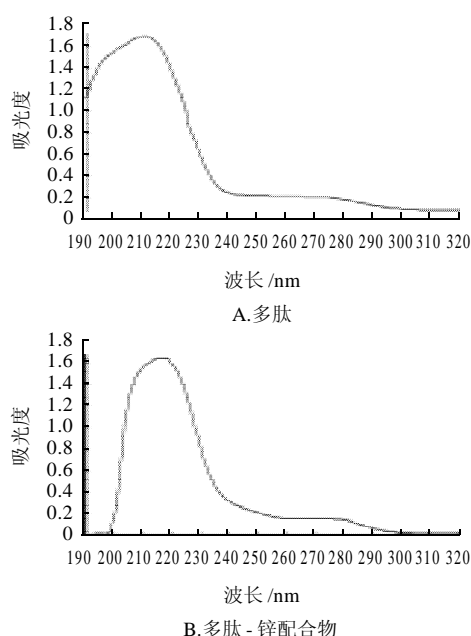


图7 多肽及多肽-锌配合物的紫外光谱图

Fig.7 Ultraviolet absorption spectra of tilapia peptides and their complexes with Zn

2.2.2 多肽-锌配合物的紫外光谱特征

多肽和多肽-锌配合物的紫外吸收光谱见图7。多肽的最大吸收峰在 210nm 处(图7A), 这是由于肽键上羰基($\text{C}=\text{O}$) $n \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁引起的; 配合物的最大紫外吸收峰在 216nm 处(图7B), 与多肽的最大吸收峰 210nm 处相比, 位移了 6nm , 这是由于 Zn^{2+} 与多肽中的 N、O 形成配合键后, 影响了肽键上羰基($\text{C}=\text{O}$) $n \rightarrow \pi^*$ 的电子跃迁。另外, 配合物在 272nm 处有一个较弱的新吸收峰出现, 这是配体($\text{N}-\text{C}-\text{O}$)中 $\pi \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁所致。综合红外及紫外光谱解析结果可知, Zn^{2+} 与多肽分子的 N、O 之间形成了配合键, 引起多肽分子骨架的部分变化, 配合作用发生在氨基残基和肽键的 N、O 原子上。

2.3 多肽-锌配合物的生物活性

2.3.1 多肽-锌配合物对肾 GSH-Px 活力的影响

通过动物实验, 多肽-锌配合物对小鼠肾 GSH-Px、肝 SOD 和腹腔巨噬细胞活力的影响见表1。给小鼠灌喂低剂量的配合物, GSH-Px 活力便得到显著提高, 对照组的 GSH-Px 活性均显著低于各剂量组。GSH-Px 是机体重要的抗氧化酶, 具有清除 H_2O_2 与氢过氧化物等作用。GSH-Px 活力的提高, 有助于提高机体的抗氧化能力。配合物对 GSH-Px 活性的影响可能与锌水平有关。张文敏等^[15]研究了人血清中 Zn 水平与 GSH-Px 活性的关系,

结果认为正常人体血清 Zn 水平与 GSH-Px 活性呈明显的正相关。

2.3.2 多肽-锌配合物对肝 SOD 的影响

从表1可以看出, 3个剂量组的 SOD 活力与对照组有显著性差异, 中低剂量组与高低剂量组之间也有显著差异, 说明配合物能显著提高 SOD 活力。曹国华等^[16]研究认为, 不同补锌剂量对 SOD 有较大的影响, 适度的补锌量能真正利于小鼠的机体健康。因此, 配合物提高 SOD 活力可能与其含有的锌元素有关。

2.3.3 多肽-锌配合物对小鼠腹腔巨噬细胞的影响

巨噬细胞对颗粒性物质具有吞噬功能。如果将待测巨噬细胞与吞噬颗粒(如鸡红细胞、白色念珠菌、酵母细胞等)混合温育一定时间, 颗粒物质可被巨噬细胞吞噬。因此, 可根据吞噬百分率和吞噬指数反映巨噬细胞的吞噬活力。从表1可以看出, 低剂量组与对照组无差异, 中、高剂量组与对照组有明显差异, 中低、高低剂量组之间也有明显差异。因此, 可以认为, 多肽-锌配合物对提高机体巨噬细胞的吞噬活力有显著作用。机体巨噬细胞的吞噬活力的提高可能与配合物中多肽及锌两种组分都有关系。

表1 多肽-锌配合物对小鼠肾 GSH-Px、肝 SOD 和腹腔巨噬细胞活力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table 1 Effects of Zn-peptides complexes on kidney GSH-Px and hepatic SOD activities and the percentage of macrophages engaged in phagocytosis in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

组别	GSH-Px 活力/(U/mg)	SOD 活力/(U/mg)	吞噬百分率/%
对照组(A)	55.63 ± 7.52^a	105.43 ± 5.63^a	35.71 ± 2.31^a
低剂量组(B)	99.15 ± 7.13^b	139.59 ± 8.03^b	38.86 ± 1.96^a
中剂量组(C)	117.39 ± 10.00^c	190.16 ± 23.48^c	42.71 ± 3.65^b
高剂量组(D)	110.95 ± 14.65^{bc}	218.46 ± 25.66^c	42.57 ± 3.33^b

注: 同列数据肩注字母不同者表示差异显著($P<0.05$)。

2.3.4 多肽-锌配合物对体外超氧阴离子自由基的清除作用

由图8可以看出, 多肽-锌配合物对体外超氧阴离子自由基有一定清除作用, 并且这种作用随着配合物质量浓度的增加而增强。当多肽-锌配合物质量浓度达到

一定值时, 它对体外超氧阴离子自由基的清除率不再增加。多肽-锌配合物对体外超氧阴离子自由基的清除作用机理尚不清楚, 可能是多肽-锌配合物本身具有抗氧化作用, 例如, 张亚丽^[5]的研究表明大豆多肽络合锌对油脂有抗氧化性; 也可能是配合物中的多肽组分在发挥作用, 因为已发现有多种多肽都具有抗氧化活性^[17]。

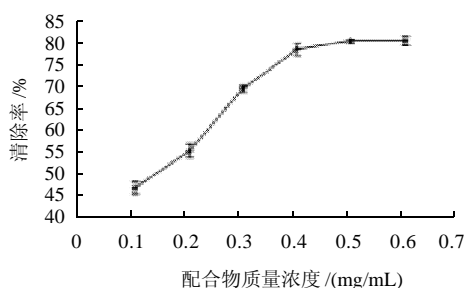


图8 多肽-锌配合物对超氧阴离子自由基的清除效果

Fig.8 Concentration dependence of scavenging rate of Zn(II)-tilapia peptide complexes against superoxide anion free radicals

3 结论

在适宜条件下, 鱼肉水解蛋白多肽能够与 Zn^{2+} 发生配合作用生成多肽-锌配合物。配合物的光谱特征表明, Zn^{2+} 与多肽分子中的氨基残基和肽键的 N、O 原子发生配合作用形成配合键。所制备的多肽-锌配合物体现出一定地增强小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力、提高肝组织 SOD 和肾组织 GSH-Px 的活力、清除超氧阴离子自由基等生物活性。

参考文献:

[1] 吴燕燕, 李来好, 岑剑伟. 酶法由罗非鱼加工废弃物制取调味料的

研究[J]. 南方水产, 2006, 2(1): 49-53.

- [2] TORREGGIANI A, FINI G, BOTTURA G. Effect of transition metal binding on the tautomeric equilibrium of the carnosine imidazolic ring [J]. Journal of Molecular Structure, 2001, 30(565/566): 341-346.
- [3] HIROKAZU T, AKIRA O, TSUTOMU M. An anti-HIV peptide, T22, forms a highly active complex with Zn(II)[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1996, 229(2): 648-652.
- [4] BUGLYO P, NAGY E M, FARKAS E. New insights into the metal ion-peptide hydroxamate interactions: Metal complexes of primary hydroxamic acid derivatives of common dipeptides in aqueous solution[J]. Journal of Polyhedron, 2006, 12(14): 1-9.
- [5] 张亚丽. 脱脂豆粕多肽络合盐的应用特性研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2005, 21(1): 93-95.
- [6] 高素蕴, 潘思轶, 郭康权. 大豆分离蛋白水解物螯合锌(II)的合成与制备[J]. 食品科学, 2003, 24(10): 117-120.
- [7] 许庆陵, 闫磊. Zn(II)-大豆多肽配合物的合成[J]. 食品科技, 2008 (8): 31-34.
- [8] VOGLER R, GELINSKY M, GUO L F, et al. Solution behaviour and zinc complexation of di- and tripeptides with two cysteine units[J]. Inorganica Chimica Acta, 2002, 339: 1-8.
- [9] 曾庆祝, 许庆陵. 酶解-膜分离组合制备 ACE 抑制肽[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 229-233.
- [10] 曾庆祝, 许庆陵, 黄儒强. 血管紧张素转换酶抑制肽的分离[J]. 水产学报, 2007, 31(6): 818-824.
- [11] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994: 98-235.
- [12] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化试验方法和技术[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [13] 中本一雄. 无机及配位化合物的红外和拉曼光谱[M]. 黄德如, 汪仁庆, 译. 北京: 化学工业出版社, 1981.
- [14] 王春波, 贺孟泉, 秦守哲. 海洋肽的体外抗氧化作用[J]. 中国海洋药物, 1998, 67(3): 15-17.
- [15] 张文敏, 张萌, 姜桔红. 肿瘤-睾丸抗原 LAGE-1 基因的原核表达纯化和抗血清制备[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13(15): 1154-1157.
- [16] 曹国华, 陈吉棣, 刘小鹏. 运动、锌铜营养与自由基代谢. VI. 不同量锌补充对缺锌运动小鼠体内自由基生成与清除的影响[J]. 中华运动医学杂志, 1992, 82(1): 423-425.
- [17] 郑惠娜, 章超桦, 曹文红. 海洋蛋白酶解制备生物活性肽的研究进展[J]. 水产科学, 2008, 27(7): 370-373.