

黑豆肽的分离纯化及其辅助降血脂作用

刘恩岐¹, 巫永华¹, 张建萍¹, 陈振家², 李玉娥²

(1. 徐州工程学院 江苏省食品生物加工工程技术研究中心, 江苏 徐州 221008;

2. 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 采用 DA201-C 大孔树脂吸附和乙醇分级洗脱的方式, 对黑豆蛋白酶解液进行分离纯化, 通过体外模拟实验测定分析不同体积分数乙醇洗脱的黑豆肽分级组分对胆固醇胶束溶解度的抑制率, 选择对胆固醇胶束溶解度抑制率最强的黑豆肽组分进行辅助降血脂动物实验。结果表明: 黑豆肽分级组分的平均疏水性值随着洗脱乙醇体积分数的增大而递增, 其中乙醇体积分数为 75% 时洗脱得到的组分对胆固醇胶束溶解度的抑制率最高, 该组分添加量为 5g/L 时, 其抑制率为 62.1%; 对小鼠灌胃剂量为 1000mg/(kg·d) 时, 黑豆肽对高血脂小鼠血清中总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)+极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)浓度降低极为显著($P < 0.01$)。提示黑豆肽具有一定的辅助降血脂功效。

关键词: 黑豆肽; 大孔吸附树脂; 分离纯化; 胆固醇胶束溶解度; 降血脂

Separation and Purification of Black Soybean Peptide and Its Hypolipidemic Effect in Mice

LIU En-qi¹, WU Yong-hua¹, ZHANG Jian-ping¹, CHEN Zhen-jia², LI Yu-e²

(1. Jiangsu Engineering Research Center for Food Biology Processing, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221008, China;

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

Abstract: Macroporous adsorption resin DA201-C was used for the isolation of hypolipidemic peptides from black soybean protein hydrolysate. The inhibitory rates of cholesterol micelle solubility (CMSIR) by all fractions were determined, and the hypolipidemic effect of the fraction with the highest CMSIR was evaluated in mice. The results showed that black soybean peptides were eluted from DA201-C resin according to its hydrophobicity through gradient ethanol elution. The peptide fraction eluted by 75% ethanol displayed the highest CMSIR of 62.1% when the concentration of peptide fraction was 5 g/L. After administration of the peptide at the dose of 1000 mg/(kg·d) for 30 days in mice, the levels of serum TC, TG and LDL-C and VLDL-C were obviously decreased ($P < 0.01$) when compared with the mice fed hypercholesterolemia diet.

Key words: black soybean peptides; macroporous resin; separation and purification; cholesterol micelle solubility; hypolipidemic activity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)19-0248-05

黑豆是种皮为黑色的大豆, 约占全国大豆种植面积的 8%~10%^[1]。黑豆中蛋白酶抑制剂含量较高, 不易消化, 且苦涩味较重、适口性差, 除少量药用或加工成豆豉等食品外, 一直没有得到大量开发利用^[2]。国内外研究发现, 通过对蛋白质酶解可得到具有各种生物功能的活性肽^[3], 其中研究报道最多的是大豆蛋白肽。黑豆属高蛋白低脂肪类型大豆, 通过选择合适的蛋白酶水解黑豆蛋白制备活性肽类产品具有良好的开发前景。

高血脂及脂质代谢障碍是造成动脉粥样硬化的主要危险因素, 由此而引起的心脑血管疾病严重危害人类健康。高血脂症与膳食结构密切相关, 如何通过改善饮食结构, 适当服用调节血脂的功能食品, 以便有效地降低这类疾病的发病危险性, 已成为国内外食品、营养、医药界的重要研究内容。有研究表明, 大豆蛋白及其酶解物能显著降低血清胆固醇和甘油三酯, 且经小鼠动物实验发现大豆蛋白酶解物具有比大豆蛋白更强的

收稿日期: 2011-06-26

基金项目: 山西省回国留学人员科研资助项目(2007059)

作者简介: 刘恩岐(1964—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: leq@xzit.edu.cn

降低血清胆固醇的作用,通过进一步的分离纯化,可以得到具有辅助降血脂作用的生理活性肽。本实验采用碱提酸沉法提取黑豆分离蛋白,利用 Alcalase 碱性蛋白酶、Neutrase 中性蛋白酶和 Flavourzyme 风味蛋白酶对黑豆蛋白进行分步接力水解,以不同体积分数乙醇对大孔树脂吸附的黑豆蛋白酶解液进行洗脱分级,采用体外降低胆固醇胶束溶解度实验筛选具有降胆固醇作用的黑豆肽组分^[4],并通过动物实验研究黑豆肽的辅助降血脂作用,为功能性黑豆肽的开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与动物

早熟大粒黑豆 山西农业大学大豆育种研究室。

Alcalase 蛋白酶、Neutrase 蛋白酶、Flavourzyme 蛋白酶 丹麦诺维信(中国)生物技术有限公司;牛磺胆酸钠 美国 Amresco 公司;DA201-C 大孔吸附树脂 江苏青水处理工程集团有限公司;胆固醇 国药集团化学试剂有限公司;血清高密度脂蛋白胆固醇、总胆固醇、甘油三酯测定试剂盒 南京建成生物工程研究所。

小鼠,健康雄性昆明种,体质量(20±2)g;高脂饲料:79%基础饲料、1%胆固醇、10%蛋黄粉、10%猪油,由徐州医学院实验动物中心提供。

1.2 仪器与设备

TU-1810 紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司;LGJ-18A 型冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂有限公司;KQ2200 超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;5417R 台式高速冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司;128ce 酶标仪 澳大利亚 Clinibio 公司。

1.3 方法

1.3.1 黑豆分离蛋白的制备

将脱脂黑豆粉加 10 倍蒸馏水磁力搅拌 15min,用 1mol/L 氢氧化钠调 pH8.0,4000r/min 离心 15min,取上清液用 1mol/L 盐酸调 pH 值为 4.5,4000r/min 离心 15min,取沉淀水洗离心两次,弃去上清液,将沉淀冷冻干燥即得黑豆分离蛋白。

1.3.2 黑豆蛋白肽的制备

在 pH 值渐变条件下,依次加入 Alcalase 碱性蛋白酶、Neutrase 中性蛋白酶和 Flavourzyme 风味蛋白酶,对黑豆蛋白进行分步接力水解,以提高酶解液的水解度和多肽含量^[5-6]。

将质量浓度 5g/100mL 的黑豆蛋白液于 90℃加热 10min 使蛋白质变性,冷却至 60℃用 2mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 8.5,加入 Alcalase 蛋白酶水解 30min, pH 值降到 7.0 左右,再加入 Neutrase 蛋白酶水解 60min, pH 值降到 6.0 左右,最后加入 Flavourzyme 蛋白酶水解

30min, 90℃加热 5min 灭酶冷却后,采用甲醛滴定法^[7]测得黑豆蛋白水解液的水解度为 20.7%,于 4000r/min 离心 10min 取上清液,再浓缩、冷冻干燥得到黑豆肽粉,GB/T 22492—2008《大豆肽粉》测得黑豆肽粉的肽含量为 80.3%(干基)。

1.3.3 大孔吸附树脂对黑豆肽的静态吸附与解吸^[8]

将大孔吸附树脂用无水乙醇浸泡 24h,用无水乙醇洗至波长 220nm 处无吸收峰时,再用去离子水洗净。将预处理好的湿树脂和黑豆蛋白水解液按一定体积比加入锥形瓶中,置于 150r/min 摇床中振荡,每隔 30min 测定经树脂吸附后水解液中肽的质量浓度,按公式(1)计算吸附率,确定吸附平衡时间,并探讨黑豆蛋白水解液 pH 值、水解液与大孔吸附树脂的体积比对吸附率的影响。

$$\text{吸附率}/\% = \frac{c_0 - c_1}{c_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: c_0 为原液中肽的浓度; c_1 为吸附后水解液中肽的浓度。

对充分吸附黑豆肽的大孔树脂进行乙醇洗脱,每隔 30min 测定解吸液中的肽浓度;按公式(2)计算解吸率,确定解吸平衡时间。

$$\text{解吸率}/\% = \frac{c_2 \times V_2}{(c_0 - c_1) \times V_1} \times 100 \quad (2)$$

式中: c_0 为原液的肽浓度; c_1 为吸附后水解液的肽浓度; c_2 为解吸液的肽浓度; V_1 为水解液的肽体积; V_2 为解吸液体积。

1.3.4 大孔树脂吸附黑豆肽的乙醇分级洗脱^[9]

黑豆蛋白水解液经大孔吸附树脂充分吸附后,抽滤,弃去未吸附的溶液,用体积分数为 25%、50%、75% 和 100% 的乙醇依次洗脱,分别收集洗脱液,再浓缩、冷冻干燥后得到黑豆肽分级组分,按公式(3)计算肽得率。

$$\text{肽得率}/\% = \frac{c_2 \times V_2}{c_1 \times V_1} \times 100 \quad (3)$$

式中: c_1 为水解液的肽浓度; c_2 为解吸液的肽浓度; V_1 为水解液体积; V_2 为解吸液体积。

1.3.5 黑豆肽乙醇洗脱分级组分的氨基酸组成分析与疏水性值的计算

按照 GB/T 5009.124—2003《食品中氨基酸的测定》,测定黑豆肽乙醇洗脱分级组分的氨基酸组成。根据每种氨基酸的疏水值和黑豆肽的氨基酸组成,按公式(4)计算黑豆肽分级组分的平均疏水性值^[10]。

$$\Delta Q = \frac{C_{AAi}/M_i}{\sum C_{AAi}/M_i} \times \Delta f_i \quad (4)$$

$$Q = \sum \Delta Q \quad (5)$$

式中: C_{AAi} 为 100g 肽中每种氨基酸的含量/g; M_i 为各种氨基酸的摩尔质量/(g/mol); $\sum C_{AAi}/M_i$ 为 100g 肽中氨基酸的总物质的量/mol; Δf_i 为氨基酸侧链疏水值/(kJ/mol); Q 为黑豆肽的平均疏水性值/(kJ/mol)。

1.3.6 黑豆肽分级组分对胆固醇胶束溶解度抑制率的测定^[11]

按 10mmol/L 牛磺胆酸钠、2mmol/L 胆固醇、5mmol/L 油酸、132mmol/L NaCl、15mmol/L 磷酸钠缓冲液(pH 7.4)、5g/L 黑豆肽粉末, 经超声波乳化 20min 制备模拟胆汁胶束溶液, 置于 37℃ 培养 24h, 于 16000r/min 离心 90min, 取上清液采用磷钼铁法^[12]测定其胆固醇浓度(mmol/L)。上清液中的胆固醇浓度即为胆固醇胶束溶解度, 以不加黑豆肽的模拟胆汁胶束溶液为空白, 按公式(6)计算黑豆肽对胆固醇胶束溶解度的抑制率。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{S_0 - S_1}{S_0} \times 100 \quad (6)$$

式中: S_0 为空白溶液的胆固醇溶解度; S_1 为样品溶液的胆固醇溶解度。

1.3.7 黑豆肽辅助降血脂作用的动物实验

委托徐州医学院动物实验中心进行黑豆肽辅助降血脂实验。实验小鼠喂食基础饲料 5d 以适应实验环境, 然后分为基础饲料、高脂饲料组、黑豆肽组(分为低、中、高 3 个剂量), 基础饲料继续喂食普通饲料, 其他组喂食高脂饲料 20d, 建立高脂动物模型。建模后样品组低、中、高剂量组分别灌胃黑豆肽 250、500、1000mg/(kg·d), 高脂饲料组继续喂食高脂饲料。灌胃 30d, 小鼠末次灌胃黑豆肽后禁食 12h, 摘眼球取血, 收集血样置于 2mL 离心管, 室温放置 2h 使其自然凝固后析出血清, 再经 3000r/min 离心 15min, 用移液器吸出上层血清制备血清置于 0.5mL 离心管中, 放入冰箱冷冻贮藏, 按南京建成生物工程研究所的试剂盒方法测定总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量, 采用 SPSS13.0 软件进行单因子方差分析, 用邓肯氏多重比较来分析各组间差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 大孔吸附树脂对黑豆肽的静态吸附与解吸实验结果

大孔树脂在静态吸附过程中对黑豆肽的吸附率随吸附时间的变化见图 1, 前 120min 吸附速度很快, 之后变缓, 180min 时趋于平衡。

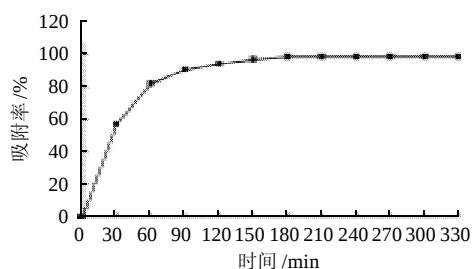


图 1 DA201-C 大孔吸附树脂对黑豆肽的静态吸附曲线

Fig. 1 Static adsorption curve of DA201-C resin

多肽与大孔吸附树脂间是通过范德华力或氢键相互作用结合的, 酶解液中肽的伸展方式会受到 pH 值的影响, 黑豆蛋白水解液的 pH 值对大孔吸附树脂吸附率的影响见表 1, 在酸性条件下大孔树脂对黑豆肽的吸附效果较好, 且 pH4.0 时吸附率达到最大值, 为 61.95%。

黑豆蛋白水解液的 pH4.0 时, 水解液与大孔树脂的体积比对黑豆肽吸附率的影响见表 2, 水解液与大孔树脂的体积比为 1:1 时, 吸附率最高, 为 98.80%。

表 2 水解液与大孔树脂体积比对大孔吸附树脂吸附率的影响

Table 2 Effect of hydrolysate/resin ratio on peptide adsorption rate of DA201-C

水解液与大孔树脂的体积比	1:1	2:1	3:1	4:1
吸附率/%	98.80 ± 0.06	90.15 ± 0.12	75.45 ± 0.11	62.50 ± 0.21

黑豆蛋白水解液(pH4.0)与大孔树脂的体积比为 1:1, 置于 150r/min 摇床中振荡吸附 180min, 对充分吸附黑豆肽的大孔树脂进行乙醇洗脱, 大孔吸附树脂对黑豆肽的静态解吸曲线见图 2, 结果表明, 大孔树脂在乙醇洗脱 180min 时达到解吸平衡。

表 1 水解液 pH 值对大孔吸附树脂吸附率的影响

Table 1 Effect of pH on peptide adsorption rate of DA201-C

水解液 pH	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
吸附率/%	56.75 ± 0.21	60.65 ± 0.32	61.95 ± 0.48	54.35 ± 0.36	33.45 ± 0.22	20.50 ± 0.19	17.90 ± 0.23

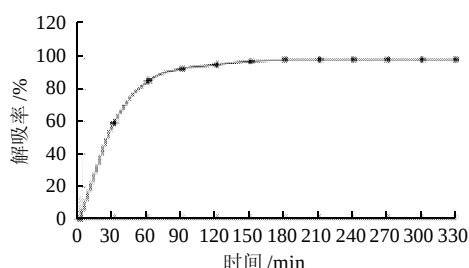


图2 DA201-C大孔吸附树脂对黑豆肽的静态解吸曲线
Fig.2 Static desorption curve of DA201-C resin

2.2 大孔树脂吸附黑豆肽的乙醇分级洗脱及其降胆固醇活性实验结果

对充分吸附黑豆肽的大孔树脂,依次用体积分数为25%、50%、75%和100%乙醇分别洗脱180min,收集各洗脱组分,各组分的肽得率及其对胆固醇胶束溶解度的抑制率见表3。体积分数为25%及50%乙醇洗脱的黑豆肽组分占73%以上,对胆固醇胶束溶解度的抑制率较低;体积分数为75%及100%乙醇洗脱的黑豆肽组分约占26%,对胆固醇胶束溶解度的抑制率较高,且75%乙醇洗脱组分的抑制率最高,为62.06%,说明采用不同体积分数的乙醇洗脱达到了从黑豆混合肽中分离具有高活性降胆固醇肽组分的效果。

有报道认为肽链N-末端为疏水值较高的亮氨酸残基,可能具有较强的降胆固醇活性^[13]。黑豆肽的乙醇洗脱分级及其降胆固醇活性可能与其氨基酸组成及其疏水性有关,不同体积分数乙醇洗脱得到的黑豆肽分级组分的氨基酸组成与平均疏水值见表4。随着乙醇体积分数的增大,黑豆肽分级洗脱组分中疏水值大于10的亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、异亮氨酸等氨基酸含量明显增大,其中,25%、50%、75%、100%乙醇洗脱组分的平均疏水值分别为4.32、4.60、5.00、5.68kJ/mol。

在模拟胆汁胶束溶液中,形成胶束的关键物质——牛磺胆酸钠是具有亲水和疏水结构的表面活性剂,对胆固醇胶束溶解度抑制率最高的75%体积分数乙醇洗脱组分的平均疏水值为5.0kJ/mol,属于具有较高疏水性的多肽,可能会与牛磺胆酸钠发生相互作用而阻碍了胶束的形成,降低了胆固醇在胶束中的溶解度;而无水乙醇洗脱组分由于疏水性过高,不能有效地与牛磺胆酸钠作用阻碍胶束的形成^[14],因而对胆固醇胶束溶解度的抑制率有所降低。

表3 不同体积分数乙醇洗脱组分的得率和降胆固醇活性

Table 3 Yields and hypocholesterolemic effects of the fractions eluted by ethanol with different concentrations

洗脱乙醇体积分数/%	25	50	75	100
各组分的肽得率/%	38.76 ± 0.33	34.71 ± 0.41	21.94 ± 0.18	4.69 ± 0.07
胆固醇胶束溶解度的抑制率/%	40.20 ± 0.94	48.04 ± 0.27	62.06 ± 0.21	53.08 ± 0.49

表4 黑豆肽乙醇洗脱分级组分的氨基酸组成与疏水性值
Table 4 Amino acid composition and hydrophobicity of each fraction eluted by ethanol with different concentrations

氨基酸种类	乙醇洗脱分级组分氨基酸含量/(g/100g)				摩尔质量/(g/mol)	疏水值/(kJ/mol)
	25%乙醇洗脱组分	50%乙醇洗脱组分	75%乙醇洗脱组分	100%乙醇洗脱组分		
甘氨酸	3.38	3.01	3.41	3.16	75.1	0.00
丝氨酸	3.87	3.11	4.5	3.14	105.1	0.17
苏氨酸	2.65	2.48	2.87	2.75	119.1	1.85
组氨酸	2.07	1.75	1.71	1.18	155.2	2.1
天冬氨酸	9.16	8.35	8.87	7.24	133.1	2.25
谷氨酸	21.29	16.98	15.82	11.38	147.1	2.30
精氨酸	5.82	4.93	4.66	3.04	174.2	3.10
丙氨酸	3.53	2.7	3.15	3.06	89.1	3.10
半胱氨酸	1.01	0.96	1.01	0.94	121.2	4.20
蛋氨酸	0.92	0.17	0.77	0.41	149.2	5.45
赖氨酸	5.37	4.14	3.67	2.37	146.2	6.25
缬氨酸	117.2	7.05	4.07	3.48	4.34	4.87
亮氨酸	5.83	4.62	6.17	8.21	131.2	10.10
脯氨酸	2.59	3.65	4.74	4.09	115.1	10.85
苯丙氨酸	3.28	3.68	5.61	7.06	165.2	11.10
酪氨酸	1.41	1.68	2.6	3.11	181.2	12.00
异亮氨酸	3.12	3.16	4.06	4.86	131.2	12.40

注:未包括色氨酸含量,氨基酸的疏水值数据来源于文献[13]。

2.3 大孔树脂吸附分离黑豆肽辅助降血脂作用的动物实验结果

2.3.1 高血脂动物模型的建立

用高脂饲料喂养小鼠来诱发高血脂动物模型,20d后测定高脂饲料组和基础饲料组小鼠血清TC、TG、HDL-C、LDL-C + VLDL-C的含量,结果见表5。

表5 喂食高脂饲料20d后小鼠的血脂水平($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)
Table 5 Serum lipid level of mice administered with hypercholesterolemia diet for 20 days ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C+VLDL-C
基础饲料组	2.05 ± 0.34	1.36 ± 0.13	0.70 ± 0.11	1.35 ± 0.26
高脂饲料组	4.65 ± 0.74**	1.38 ± 0.18	1.48 ± 0.17**	3.17 ± 0.62**

注:*.与基础饲料组相比,有显著性差异($P < 0.05$);**.与基础饲料组相比,有极显著性差异($P < 0.01$)。

由表5可知,高脂饲料组与基础饲料组小鼠相比,血清TC、HDL-C和LDL-C+VLDL-C含量极显著

上升($P < 0.01$), 但 TG 水平变化不明显。HDL-C 作为一种内源性的载脂蛋白, 能抑制胆固醇的合成, 它的升高是对外源性胆固醇高摄入的一种负反馈作用, 而血清总胆固醇 TC 是外源性胆固醇和内源性胆固醇相互作用的综合结果, 血清 TC 显著升高, 表明成功建立了以高胆固醇为特征的高血脂小鼠模型。

2.3.2 大孔吸附树脂吸附分离黑豆肽对小鼠血脂水平的影响

将体外模拟实验中降胆固醇活性最强的体积分数 75% 乙醇洗脱分离的黑豆肽组分用于辅助降血脂动物实验, 结果见表 6。

表 6 黑豆肽对小鼠血清血脂水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

Table 6 Effect of black soybean active peptide on serum lipid level in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C+VLDL-C
基础饲料组	2.69 $\pm$ 0.30	1.44 $\pm$ 0.32	1.28 $\pm$ 0.18	1.41 $\pm$ 0.21
高脂饲料组	4.59 $\pm$ 0.80	2.17 $\pm$ 0.27	1.60 $\pm$ 0.13	2.99 $\pm$ 0.82
黑豆肽组				
低剂量	4.32 $\pm$ 0.28	1.62 $\pm$ 0.10**	1.54 $\pm$ 0.11	2.64 $\pm$ 0.35
中剂量	4.06 $\pm$ 0.15	1.56 $\pm$ 0.15**	1.49 $\pm$ 0.07	2.56 $\pm$ 0.17
高剂量	2.38 $\pm$ 0.42**	1.48 $\pm$ 0.17**	1.36 $\pm$ 0.24*	1.00 $\pm$ 0.43**

注: *.与高脂饲料组相比, 有显著性差异($P < 0.05$); **.与高脂饲料组相比, 有显著性差异($P < 0.01$)。

由表 6 可知, 与高脂饲料组相比, 黑豆肽高剂量组小鼠血清 TC 降低极为明显, 有极显著性差异($P < 0.01$), 血清 HDL-C 明显降低, 具有显著性差异($P < 0.05$)。黑豆肽各剂量组对高血脂小鼠血清 TG 的影响均具有极显著性差异($P < 0.01$)。LDL-C + VLDL-C 浓度升高是心血管疾病的一个危险因素, 黑豆肽高剂量组血清 LDL-C + VLDL-C 浓度下降极为明显, 与高脂饲料组具有极显著差异($P < 0.01$), 提示黑豆活性肽对高血脂有一定的预防作用。黑豆肽高、中、低剂量组小鼠血清 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C+VLDL-C 浓度呈逐步下降趋势, 说明在本实验剂量范围内, 黑豆肽的辅助降血脂作用具有量效关系。

3 结 论

以不同体积分数乙醇对充分吸附黑豆肽的大孔树脂

进行洗脱, 可以根据氨基酸组成的疏水性值的不同对酶解液中的肽段进行有效分离, 这与 Kwon 等^[14]和 Iwaki 等^[15]的研究结果一致, 体积分数为 75% 乙醇洗脱的黑豆肽对体外模拟胆固醇胶束溶解度的抑制率最高, 说明采用大孔树脂吸附结合乙醇梯度洗脱是从蛋白水解液中分离降胆固醇活性肽的一种有效方法。将体外降胆固醇活性最强的 75% 体积分数乙醇洗脱分离的黑豆肽组分进行辅助降血脂动物实验, 与高脂饲料模型组相比, 灌胃剂量为 1000mg/(kg · d)组小鼠的血清 TC、TG 和 LDL-C + VLDL-C 浓度降低极为显著($P < 0.01$)。提示黑豆肽能抑制动物体内对膳食中胆固醇的吸收, 具有一定的辅助降血脂功效。

参考文献:

- [1] 常汝镇. 中国黑豆资源及其营养和药用价值[J]. 中国食物与营养, 1998(5): 38-39.
- [2] 陆恒. 黑豆蛋白质的营养价值优势及利用对策[J]. 中国商办工业, 2003(2): 40-42.
- [3] 黎观红, 晏向华. 食物蛋白源生物活性肽: 基础与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- [4] 刘健敏, 钟芳, 麻建国. 大豆蛋白酶解产物降胆固醇活性的初步研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2005, 26(3): 41-44.
- [5] 刘恩岐, 贺菊萍, 陈振家, 等. 黑豆蛋白酶水解物体外抗氧化活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(11): 38-41.
- [6] 王玲琴, 王志耕, 方玉明, 等. 双酶法制备大豆降胆固醇活性肽的研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(1): 109-112.
- [7] 赵新淮, 冯志彪. 蛋白质水解物水解度的测定[J]. 食品科学, 1994, 15(11): 65-67.
- [8] 钟芳, 张晓梅, 麻建国. 大豆肽的大孔吸附树脂以及凝胶过滤色谱分离[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 25-28.
- [9] 张晓梅, 钟芳, 麻建国. 大豆降胆固醇活性肽的初步分离纯化[J]. 食品与机械, 2006, 22(2): 33-36.
- [10] 任建东. 酶解鹿茸血疏水性肽的分离及活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [11] NAGAOKA S, FUTAMURA Y, MIWA K, et al. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk beta-lactoglobulin[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 281(1): 11-18.
- [12] 陈均辉. 生物化学实验[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2003.
- [13] KWON D Y, OH S W, LEE J S, et al. Amino acid substitution of hypocholesterolemic peptide originated from glycinin hydrolysate[J]. Food Sci Biotechnol, 2002, 11: 55-61.
- [14] 张晓梅. 降血压与降血脂肽的分离纯化[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [15] IWAMI K M, SAKAKIBARA K, IBUKI F. Involvement of post-digestion hydrophobic peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins[J]. Agric Biol Chem, 1986, 50: 1217-1222.