



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20160113

葡萄籽原花青素诱导脱铁红小豆铁蛋白聚合的特性研究

周中凯^{1,2}, 刘玉茜¹, 杨 瑞^{1,2}

- (1. 食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 300457;
2. 天津科技大学新农村发展研究院, 天津 300457)

摘要: 铁蛋白与原花青素广泛存在于植物组织中, 研究二者的相互作用对于认识食品多组分复杂体系具有重要的意义. 本文以分离纯化的脱铁红小豆铁蛋白(apo adzuki bean seed ferritin, aASF)和葡萄籽中提取的原花青素(grape seed proanthocyanidins, GSP)作为研究对象, 采用荧光光谱法、动态光散射以及透射电子显微镜等方法, 研究GSP诱导的aASF聚合作用, 并对其作用机理进行了初步探讨. 结果表明: GSP能与aASF结合并显著淬灭aASF的内源荧光; GSP能够诱导aASF发生聚合, 并且随着GSP加入量的增多, 其铁蛋白荧光淬灭和聚合程度也显著增强; 透射电镜结果显示形成的GSP-aASF复合物呈现多聚物形态. 另外, 抗氧化分析结果表明, 相较于GSP, GSP-aASF复合物的抗氧化能力显著降低, 但保留了70%以上的抗氧化能力. 该研究成果对进一步研究GSP与aASF相互作用形成复合物的理化特性及在食品中的应用提供了参考.

关键词: 铁蛋白; 原花青素; 聚合; 抗氧化

中图分类号: Q518.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2017)04-0009-06

Properties of Apo Adzuki Bean Seed Ferritin Association Induced by Proanthocyanidins

ZHOU Zhongkai^{1,2}, LIU Yuqian¹, YANG Rui^{1,2}

- (1. Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. The New Rural Development Research Institute, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Ferritin and proanthocyanidins are widely distributed in plant tissues, and the interaction between ferritin and proanthocyanidin is of great significance for understanding the food multicomponent system. Purified apo adzuki bean seed ferritin (aASF) and grape seed proanthocyanidins (GSP) were taken as the research materials. The association of aASF induced by GSP was investigated using fluorescence spectrum, dynamic light scattering and transmission electron microscopy, etc. The mechanism of interaction between GSP and aASF was also studied. Results suggested that the presence of GSP can lead to the quenching of aASF fluorescence and the association of aASF molecules. Furthermore, with the increase of GSP concentration, the fluorescence quenching and aggregation degree were enhanced. Transmission electron microscopy showed that the aASF became aggregated when GSP was added. In addition, antioxidant analysis showed that, compared with GSP, the antioxidizing capacity of GSP-aASF compounds significantly decreased. These findings are beneficial for the further usage of GSP-aASF complex in food industry.

Key words: ferritin; proanthocyanidins; association; antioxidant

原花青素是一类广泛存在于自然界中的聚多酚类混合物, 由黄烷-3-醇或黄烷-3, 4-二醇聚合而成, 属于生物黄酮类化合物, 可从许多植物如葡萄、可

可、苹果、山楂、花旗松、野生刺葵等提取得到, 主要存在于核、皮或种籽中. 多数来源的原花青素含量都较低, 相比之下, 葡萄(籽和皮)中原花青素的含量

收稿日期: 2016-04-01; 修回日期: 2016-06-17

基金项目: 天津市自然科学基金青年项目(16JCQNJC14500); 国家自然科学基金资助项目(31501489, 31471701)

作者简介: 周中凯(1964—), 男, 河北衡水人, 教授; 通信作者: 杨 瑞, 讲师, yangrui@tust.edu.cn

较高,近年来得到了比较深入的关注和研究^[1-2]。葡萄籽原花青素具有多方面的生理活性:有很强的抗氧化和消除自由基作用,在体内其抗氧化、清除自由基的能力是维生素 E 的 50 倍、维生素 C 的 20 倍,是目前发现最强效的氧自由基消除剂和脂质过氧化抑制剂之一^[1];葡萄籽原花青素还具有抗炎、心血管保护、降血脂、抗肿瘤等功能,因此被广泛应用于食品、药品、保健品、化妆品等领域^[3-5]。

铁蛋白是广泛存在于细菌、动物和植物体内的一种贮铁关键蛋白质^[6]。基于铁蛋白具有铁储存及调节体内铁平衡的功能,它能够将机体内的铁保持在可溶、无毒且生物可利用的形式,在食品、药品、保健品方面具有广泛的应用前景^[7]。

荧光光谱法分析可以利用蛋白质内源荧光对其进行定量分析或结构研究^[8]。铁蛋白独特的四重轴通道 Trp 氨基酸分布特点为探索食源小分子与铁蛋白的相互作用提供了很好的基础,铁蛋白构象的改变、铁蛋白与底物的结合都会引起内源性荧光生色基团局部环境的改变,从而引起荧光性质的变化^[9]。食品是多组分混合体系,葡萄籽原花青素作为一种多酚类活性物质,其是否可以与大豆铁蛋白进行结合,其结合方式如何,原花青素与铁蛋白相互作用对铁蛋白的结构、形态、聚合性质以及对原花青素活性的影响都是值得研究的课题。

本研究采用荧光光谱法、动态光散射以及透射电子显微镜等方法,分析葡萄籽原花青素与植物铁蛋白的相互作用,阐明二者相互作用对多酚和蛋白的结构和性质影响,为今后在食品中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 原料、试剂与设备

红小豆购于当地超市(天津);葡萄籽原花青素,天津市尖峰天然产物研究开发有限公司;聚乙烯吡咯烷酮(分析纯)、 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 HCl 、 EDTA 、 NaN_3 、柠檬酸三钠,天津市风船化学试剂科技有限公司; NaCl 、 MgCl_2 、 NaOH ,天津市科密欧化学试剂有限公司;过硫酸铵,天津市北方天医化学试剂厂;丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、 SDS 、 Tris 、考马斯亮蓝 R-250、蛋白质电泳 Marker,北京索莱宝科技有限公司; β -巯基乙醇,美国 Amresco 公司;溴酚蓝、TEMED,上海北诺生物科技有限公司;硫酸铵(分析纯),天津市光复科技发展有限公司;Sephacryl S-300 树脂、一次性无菌针头滤器(0.22 μm),江西丰临医疗器械有限

公司;DPPH,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;甲醇(分析纯),天津康巢生物医药有限公司;其他试剂为国产分析纯。

TGL-16 A 型高速冷冻离心机,长沙平凡仪器仪表有限公司;YC-2 型层析实验冷柜,北京博医康实验仪器有限公司;K36616D 型微量移液器,德国 Eppendorf 公司;超滤膜、FG2 型酸度计,梅特勒-托利多仪器有限公司;DYY-2C 型电泳槽,北京市六一仪器厂;EMS-19 型磁力搅拌器,天津市欧诺仪器仪表有限公司;RF-5301PC 型荧光光谱仪,日本 Shimadzu 公司;动态光散射仪,英国 Malvern 公司;Hitachi H-7650 型超高分辨率透射电子显微镜,日本日立公司。

1.2 脱铁红小豆铁蛋白的制备与纯化

1.2.1 红小豆铁蛋白的制备

红小豆铁蛋白(adzuki bean seed ferritin, ASF)的制备依据李美良^[10]的方法稍作修改。将 500 g 干红小豆去杂之后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 蒸馏水中浸泡过夜(约 12 h),手工去皮;加入 2 倍体积含有 1% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)的 50 mmol/L KH_2PO_4 - Na_2HPO_4 (pH 7.0)溶液;匀浆机匀浆 3 次,每次 2 min;200 目滤网滤去渣。4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 g 离心 10 min,弃沉淀,取上清液。向上清液中加入终浓度为 300 mmol/L MgCl_2 晶体后搅拌 60 min,再加入终浓度为 450 mmol/L 柠檬酸三钠晶体,静置过夜。4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 g 离心 35 min,收集褐色沉淀。将沉淀溶于 1.5 倍体积蒸馏水中,4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 g 离心 10 min,弃上清液,重复 2 次进一步除杂。再用 5 倍体积的 50 mmol/L Tris-HCl (pH 9.0)缓冲液溶解沉淀,4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 g 离心 10 min,弃沉淀,收集合并上清液。红小豆铁蛋白盐析后的溶液用 50 mmol/L Tris-HCl (pH 9.0)缓冲液进行透析,中间每隔 6 h 换 1 次缓冲液,然后过夜透析。将透析得到的溶液用 0.22 μm 的水系膜过滤,滤过液进行弱阴离子交换柱层析。

1.2.2 ASF 的脱铁

ASF 经脱铁后制成脱铁红小豆铁蛋白(apo adzuki bean seed ferritin, aASF),脱铁工艺参照 Bauminger 等^[11]和 Treffry 等^[12]的方法并改进。在无氧条件下,将 ASF 放入透析袋,置于 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)缓冲液中,然后使用含 1% 连二亚硫酸钠的脱气溶液,透析铁蛋白溶液,使 ASF 中的 Fe^{3+} 逐步还原为 Fe^{2+} 并透析除去,随后加入 2 mmol/L 2,2'-联吡啶螯合去掉 ASF 外壳上吸附的铁离子,最后用 pH 8.0 的 50 mmol/L MOPS 缓冲液透析除去 2,2'-联

吡啶,获得 aASF.

1.2.3 aASF 的纯化

将粗蛋白进行凝胶过滤柱层析进一步纯化,上样前均需过 0.22 μm 滤膜. 用含 0.15 mol/L NaCl 的 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.5) 缓冲液平衡 Sephacryl S-300 聚丙烯酰胺葡聚凝胶柱. 待凝胶柱平衡后,将样品上柱后再洗脱,流量为 0.5 mL/min,分管收集样品,每管 5 mL. 用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 检测蛋白纯度. 蛋白质纯化过程中均在 4 $^{\circ}\text{C}$ 以下低温操作.

1.2.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳

参照 Laemmli^[13]方法,进行 SDS-PAGE 检验分离纯化后的 aASF 的纯度. 凝胶为 4%~20% 梯度胶,胶板大小为 80 mm \times 73 mm \times 0.75 mm. 每孔点样 10 μL , Marker 6 μL . 电泳在 17 mA 恒流下进行,电泳完成后用考马斯亮蓝 R-250 进行染色.

1.3 葡萄籽原花青素与 aASF 相互作用

配制 2.0 mg/mL 葡萄籽原花青素 (GSP) 溶液,加入 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液以维持溶液的离子强度,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光待用. 在编号分别为 0—6 的 10 mL 离心管中,依次加入 pH 7.0 的 Tris-HCl 缓冲液 2.0 mL、0.5 $\mu\text{mol/L}$ aASF 溶液 5 mL 以及原花青素溶液,使 GSP 与 aASF 质量比分别为 0 : 50、1 : 50、1 : 25、1 : 15、1 : 10、1 : 5、1 : 2、1 : 1,室温搅拌 20 min,使其充分混合,在一定温度下恒温 1 h,随后将上述溶液装入透析液为 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.0) 的透析袋 (相对分子质量 1.0×10^4) 中,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 层析柜中避光换液 4 次 (每隔 6 h 换 1 次透析液),逐渐去除游离的未结合在铁蛋白表面的 GSP 分子. 透析后,将溶液取出,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存.

1.4 荧光光谱分析

在 8 支 5 mL 的比色管中,分别加入 3.0 mL GSP 与 aASF 质量比分别为 0 : 50、1 : 50、1 : 25、1 : 15、1 : 10、1 : 5、1 : 2、1 : 1 的上述混合液,用荧光光谱仪扫描混合液的荧光光谱,测定样品的荧光光谱. 荧光条件: 激发波长 280 nm,激发狭缝 2.5 nm,发射狭缝 5 nm,扫描发射光谱波长范围 290 ~ 500 nm.

为测定添加一定比例 GSP 后溶液中复合物颗粒大小的变化,设定激发波长和激发狭缝均为 680 nm,发射狭缝 5 nm,检测 120 s 内静态光散射强度变化趋势,光散射强度越大,表示颗粒物尺寸越大^[14].

1.5 动态光散射实验

为观察 aASF 和不同量的 GSP 作用效果,参照

荧光光谱分析步骤,对 GSP 与 aASF 质量比分别为 0 : 50、1 : 10、1 : 6、1 : 2 的混合液,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下于恒温样品室 280 μL 石英比色皿中进行动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 实验. 在 DLS 实验前,待测样品需在室温下静置 10 min 使组分反应完全,使用 DLS 测量悬浮颗粒产生的散射光强度随时间变化而获取其散射颗粒的水合半径 (R_H),随后利用 Omni SIZE 3.0 软件拟合 aASF 和不同 GSP 添加比例形成的 GSP-aASF 复合物的分子尺寸.

1.6 透射电子显微镜

透射电镜制样按照 Douglas 等^[15]所述方法. 将碳膜包被的铜网放置在干净的封口膜上,用吸管将制备好的样品滴加在铜网上,静置 10 min. 随后用滤纸吸掉铜网上的样品,待样品干燥后,在铜网上滴加 2% 的醋酸铀染液 5 μL ,并静置染色 5 min. 用滤纸吸掉多余的染液,待样品晾干后进行透射电子显微镜观测.

1.7 DPPH·清除抗氧化性实验

二苯基苦味肼基自由基 DPPH·是一种稳定的自由基,其甲醇溶液呈紫色,在 DPPH·甲醇溶液中加入葡萄籽原花青素后,原花青素与 DPPH·结合或发生替代,使 DPPH·数量减少,溶液颜色变浅. 因此,可通过检测葡萄籽原花青素对 DPPH·的清除效果分析其抗氧化能力^[16].

以甲醇为溶剂,配制 0.01、0.02、0.03 mg/mL 的 GSP-aASF 复合物溶液 (GSP 与 ASF 质量比为 1 : 6),以相同质量浓度的 GSP 溶液作为对照,分别取 0.1 mL 样液,加入 3.9 mL 25 mg/L DPPH·标准液 (现用现配),将混合溶液摇匀,测定 515 nm 下吸光度,比较 GSP 和 GSP-aASF 复合物对 DPPH·清除能力的大小.

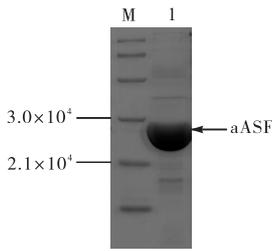
1.8 数据处理

采用 SPSS 11.5 软件进行数据统计. 样品抗氧化能力分析均作 3 次平行实验,测定结果以“平均值 \pm 标准差”表示,实验数据采用 ANOVA 进行邓肯氏 (Duncken) 差异分析,*表示有显著差异 ($P < 0.05$).

2 结果与讨论

2.1 aASF 的制备与表征

将纯化后的 aASF 通过 SDS-PAGE 进行纯度鉴定,结果如图 1 所示. 纯化后的 aASF 在 2.8×10^4 处呈现单一条带,纯化后的 aASF 符合实验要求.



M. 蛋白 marker; 1. aASF

图1 脱铁红小豆铁蛋白 aASF 的 SDS-PAGE 电泳图

Fig. 1 SDS-PAGE analyses of aASF

2.2 荧光淬灭分析

采用荧光光谱法研究 GSP 和 aASF 的相互作用. 图 2 为 GSP 与 aASF 的质量比分别为 0 : 50、1 : 50、1 : 25、1 : 15、1 : 10、1 : 5、1 : 2、1 : 1 的混合液中, aASF 与不同添加量的 GSP 相互作用的荧光淬灭光谱图. 未加入 GSP 时, 在 330 nm 处 aASF 的荧光最强; 在加入 GSP 后, 虽然 aASF 的荧光发射峰的峰位不变, 但其内源荧光强度在 330 nm 处显著下降, 产生了明显的淬灭现象. 而且, 随着 GSP 的比例增大, 其荧光强度进一步降低.

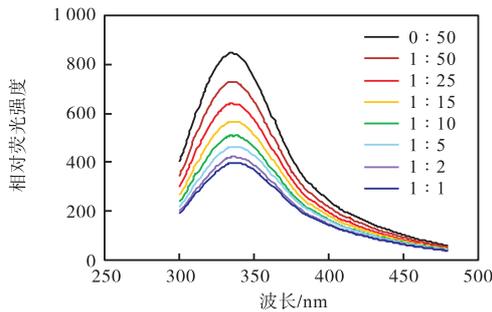


图2 不同 GSP 加入量时 aASF 的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence quenching spectra of aASF at different concentrations of GSP

aASF 中的色氨酸和酪氨酸均有荧光产生, 其中色氨酸的发射波长在 330 nm 左右, 酪氨酸的发射波长 304 nm^[17]. 在激发波长为 280 nm 时, 氨基酸产生的荧光几乎全都是色氨酸的贡献. 色氨酸残基在 GSP 分子与 aASF 作用时对微环境的改变敏感而使得荧光的强度有变化. 这些结果说明了 GSP 与 aASF 发生了很强的相互作用, 主要作用于 aASF 的色氨酸残基区域. 在 aASF 铁蛋白结构中, 色氨酸只存在于铁蛋白的四重轴通道位置, 因此 GSP 可能与铁蛋白的四重轴通道(图 3)^[18]产生作用, 改变了色氨酸位置的疏水性环境, 从而导致了荧光的淬灭.

2.3 荧光静态光散射分析

有研究^[19]表明, 唾液蛋白与 GSP 的相互作用产生的聚合物是由于两种物质的氢键和疏水基相互作

用力. 利用荧光光谱的散射分析模式, 可以获得溶液中颗粒物的相对强度变化, 对多组分相互作用导致的蛋白溶液尺寸变化具有很好的指示作用.

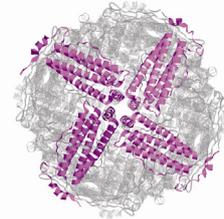


图3 铁蛋白四重轴通道空间结构图

Fig. 3 Graphic representation of the ferritin structure of a four-fold axis

当把 GSP 加入到 aASF 中(GSP 与 aASF 的质量比 1 : 8) 去时, 其光散射强度迅速上升, 在 130 min 内光散射强度达到了它的最大值(图 4), 这说明 aASF 与 GSP 的相互作用使 aASF 的聚合度发生了改变. 随着时间的推移, 其光散射强度一直维持在上升状态而未发生下降趋势, 表明由 GSP 诱导的 aASF 发生的聚合在实验条件下是不可逆的, 其形成的蛋白质聚合物是稳定的^[20].

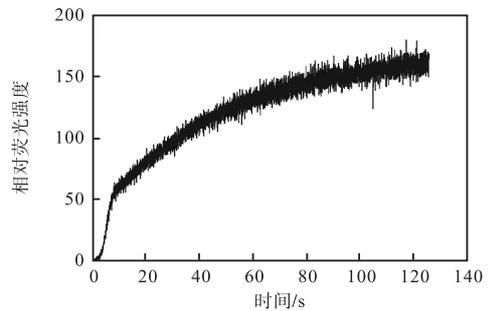


图4 GSP 与 aASF 的质量比 1 : 8 时光散射变化动力学谱图

Fig. 4 Scatter light intensity of aASF aggregation induced by GSP at a ratio of 1 : 8

2.4 动态光散射分析

利用动态光散射技术可以测量蛋白质的粒径, 其粒径的大小变化可以直接反映蛋白分子的相互作用和尺寸变化^[21]. aASF 添加不同比例 GSP 后的尺寸分布如图 5 所示.

在未加入 GSP 时, aASF 体系中蛋白水合半径 (R_H) 为 7.6 nm, 与文献报道结果一致^[20]. 当 GSP 与 aASF 质量比为 1 : 10 时, 复合物的尺寸显著增加, 并且出现了少量 $R_H = 19.2$ nm 的聚集体. 当 GSP 与 aASF 质量比为 1 : 6 时, 复合物的 R_H 则主要分布于 7.5 nm 和 26.3 nm 附近, 其中单体的复合物较少, 大

部分形成了较大的 26.3 nm 的复合物颗粒. 随着 GSP 浓度的上升, 当 GSP 与 aASF 质量比为 1 : 2 时, 其复合物也越来越大, 单体形式的复合物消失, 形成了尺寸更大的 $R_H = 60.2$ nm 的聚集体. 该结果表明 GSP 与 aASF 的结合能够诱导 aASF 分子之间的聚合, 并且 GSP 的添加浓度越大, 复合物聚合的程度越大. 因此 GSP 对铁蛋白具有较强的诱导聚合作用.

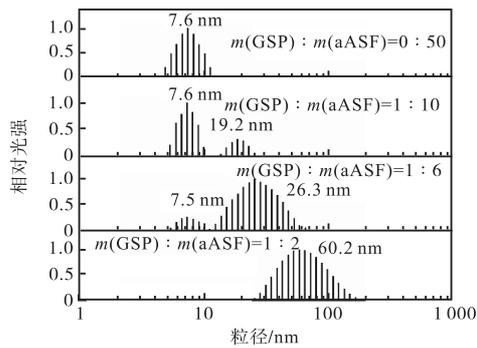
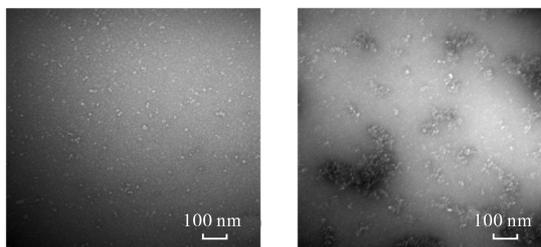


图 5 aASF 添加不同比例 GSP 后的尺寸分布图

Fig. 5 Distribution of different particle sizes of aASF in the presence and absence of GSP

2.5 透射电镜分析

aASF 在加入 GSP 后对其形态变化如图 6 所示. 当未加入 GSP 时, aASF 在溶液中没有明显的聚集态, 呈现均匀的分布状态; 当加入 GSP 时, aASF 呈现出较多的聚合态, 聚合物尺寸明显大于 aASF 单体尺寸 (12 nm). 该结果与动态光散射结果一致. 这种 GSP 导致的 aASF 聚合可能是由于铁蛋白外表面的氨基酸残基与 GSP 通过疏水作用或者范德华力作用, 诱导铁蛋白表面的结构或疏水性质改变引起的. 随着 GSP 的添加, 大量的弱键作用改变了铁蛋白表面的水合性质, 引发了更大的铁蛋白聚合体的形成.



(a) 未加入 GSP (b) GSP 与 aASF 质量比 1 : 8

图 6 透射电镜图

Fig. 6 Electron microscope

2.6 GSP 抗氧化作用分析

清除自由基和抗氧化是原花青素各种生理功能的基础, 主要是由于其独特的分子结构以及分子中的酚羟基的存在, 其抗氧化机制为酚羟基与自由基反应

生成较稳定的自由基, 从而终止了自由基的链式反应^[22]. 因此, 利用 DPPH·法测定 GSP-aASF 复合物和 GSP 同时对应于不同溶液浓度条件下清除自由基的能力来反映 aASF 的复合对 GSP 抗氧化性能的影响.

GSP 和 GSP-aASF 复合物在不同浓度条件时清除自由基的能力如图 7 所示.

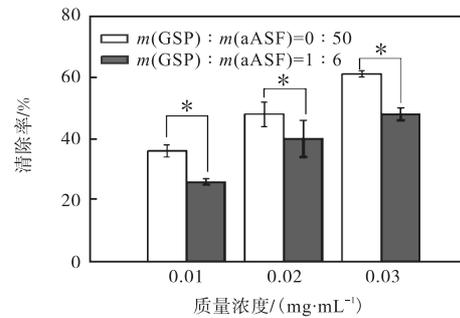


图 7 GSP 和 GSP-aASF 复合物在不同浓度条件时清除 DPPH·的能力

Fig. 7 GSP and GSP-aASF complexes with different concentration to clear free DPPH radicals

由图 7 可知, 样品对 DPPH·的清除能力基本与 GSP 的含量相关, 随着溶液中 GSP 浓度的增大, 其清除自由基能力也上升. 当质量浓度为 0.01、0.02、0.03 mg/mL 时, 游离 GSP 的清除 DPPH·能力显著性高于 GSP-aASF 复合物 ($P < 0.05$), 说明 aASF 对 GSP 的包埋作用在一定程度上会削弱 GSP 清除自由基的能力. 研究^[23]表明酚羟基基团可以增强或减弱抗氧化剂对自由基的反应活性, 氢键是增强还是减弱抗氧化剂清除自由基的能力取决于从反应物到中间过渡态时氢键带来的稳定性是增强还是减弱. 该实验结果证实了复合物的形成显著降低了 GSP 的活性, 可能原因是 GSP 是通过氢键与铁蛋白相互作用, 而且在过渡态时氢键带来的稳定性是减弱的, 所以导致铁蛋白-原花青素复合物的抗氧化性都低于原花青素化合物. 但是, aASF-GSP 复合物保留了 GSP 70% 以上的抗氧化能力, 因此, 在可能的食品领域应用中, 可以制备成 aASF-GSP 复合物添加剂, 具有一定的开发前景.

3 结论

以 aASF 和葡萄籽原花青素为原料, 探究两者之间的相互作用. 根据荧光光谱图, GSP 能引起 aASF 的内源荧光淬灭, 且随着 GSP 加入量的增多而增强. 根据透射电镜和光动力散射色谱图, GSP 能够诱

导 aASF 分子之间发生聚合,形成的 GSP-aASF 复合物呈现多聚物形态,并且随着 GSP 加入量的增多,铁蛋白的聚合程度也增强. 荧光静态光散射分析表明,由 GSP 诱导 aASF 发生的聚合是不可逆的,而且所形成的聚合蛋白是稳定的. 抗氧化分析结果表明,复合物的抗氧化能力与 GSP 相比显著降低. 该研究成果在一定程度上提高了对 aASF 的结构和 GSP 的稳定性的认识,对进一步研究 GSP-aASF 复合物的理化性质及其应用具有重要的借鉴意义.

参考文献:

- [1] 吴英俊,梁忆非,董嘉楠. 葡萄籽原花青素的研究进展[J]. 热带医学杂志,2010,10(8):1025-1028.
- [2] 杨健,袁春龙,任亚梅,等. 葡萄籽原花青素的提取及其抗紫外线活性测定[J]. 食品科学,2014,35(18):69-73.
- [3] 谭毓治,万晓霞,赖娟娟,等. 葡萄籽原花青素对学习记忆的影响[J]. 中国药理学通报,2004,20(7):804-807.
- [4] Pallarès V, Cedó L, Castell-Auví A, et al. Effects of grape seed procyanidin extract over low-grade chronic inflammation of obese Zucker fa/fa rats[J]. Food Research International, 2013, 53(1):319-324.
- [5] Zhai W, Jia C, Zhao H, et al. Procyanidins inhibit tumor angiogenesis by crosslinking extracellular matrix[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2011, 23(2):99-106.
- [6] 吕晨艳. 大豆铁蛋白吸收铁的途径及体外细胞吸收研究[D]. 北京:中国农业大学,2015.
- [7] Yang R, Zhou Z K, Sun G Y, et al. Ferritin, a novel vehicle for iron supplementation and food nutritional factors encapsulation[J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 44(2):189-200.
- [8] 刘秀红. 黄酮类药物小分子与血清蛋白间相互作用的光谱法研究[D]. 桂林:广西师范大学,2007.
- [9] Yun S, Zhang T, Li M, et al. Proanthocyanidins inhibit iron absorption from soybean(Glycine max)seed ferritin in rats with iron deficiency anemia[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2011, 66(3):212-217.
- [10] 李美良. 单亚基植物铁蛋白的制备、性质及铁蛋白钙复合物吸收特性研究[D]. 北京:中国农业大学,2013.
- [11] Bauminger E R, Harrison P M, Hechel D, et al. Mössbauer spectroscopic investigation of structure-function relations in ferritins[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1991, 1118(1):48-58.
- [12] Treffry A, Hirzmann J, Yewdall S J, et al. Mechanism of catalysis of Fe(II) oxidation by ferritin H chains[J]. Febs Letters, 1992, 302(2):108-112.
- [13] Laemmlí U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227(5259):680-685.
- [14] Li C, Fu X, Qi X, et al. Protein association and dissociation regulated by ferric ion[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(25):16743-16751.
- [15] Douglas T, Stark V T. Nanophase cobalt oxyhydroxide mineral synthesized within the protein cage of ferritin[J]. Inorganic Chemistry, 2000, 39(8):1828-1830.
- [16] 李春阳,许时婴,王璋. DPPH 法测定葡萄籽原花青素清除自由基的能力[J]. 食品与生物技术学报,2006,25(2):102-106.
- [17] 周瑞,董学艳,景浩. 不同溶液中牛血清白蛋白与花青素相互作用特征及抗氧化性[J]. 食品科学,2013,34(15):11-16.
- [18] 周中凯,杨瑞,孙国玉,等. 新型天然纳米载体:豆科植物铁蛋白[J]. 天津科技大学学报,2015,30(3):1-8.
- [19] De Freitas V, Mateus N. Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2):940-945.
- [20] Deng J, Li M, Zhang T, et al. Binding of proanthocyanidins to soybean(Glycine max)seed ferritin inhibiting protein degradation by protease in vitro[J]. Food Research International, 2011, 44(1):33-38.
- [21] 张钰羚. 细胞内蛋白质的动态光散射研究[D]. 重庆:重庆大学,2012.
- [22] 孙芸,徐宝才,谷文英. 葡萄籽原花青素抗氧化作用的研究[J]. 中国粮油学报,2007,22(6):129-134.
- [23] 薛瑾. 茶多酚-蛋白纳米复合物的研究[D]. 无锡:江南大学,2014.

责任编辑:郎婧