

王立勇,黄佳滢,朱锐灵,等. 僵蚕醇溶蛋白质的优化提取及其指纹图谱研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(22):196-201.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.037

僵蚕醇溶蛋白质的优化提取及其指纹图谱研究

王立勇¹,黄佳滢¹,朱锐灵¹,徐悦¹,汤建²,闻崇炜¹

(1. 江苏大学药学院,江苏镇江 212013; 2. 亳州学院中药学院,安徽亳州 236800)

摘要:为优化僵蚕醇溶蛋白质的提取工艺,并建立相应的 SDS-PAGE(十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)、HPLC(高效液相色谱)、FTIR(傅里叶变换红外光谱)指纹图谱。在单因素试验的基础上,利用响应面法,以提取率为响应值建立数学模型,获得最佳工艺,用 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 建立僵蚕醇溶蛋白质指纹图谱。通过单因素试验考察乙醇浓度、料液比、温度、提取时间对僵蚕醇溶蛋白质提取率的影响,进而用 Box-Behnken 法设计 4 因素 3 水平试验,进行响应面回归分析。结果表明,僵蚕醇溶蛋白质的最佳提取工艺条件为料液比 1g:24.22mL,乙醇浓度 38.73%,温度 35℃,提取时间 3.94 h,此时的提取率为 0.540 2%。用 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 法建立僵蚕醇溶蛋白质指纹图谱,SDS-PAGE 分析结果表明,僵蚕醇溶蛋白质分子量集中在 16.7~36.2 ku;HPLC 分析结果表明,主要僵蚕醇溶蛋白质的保留时间为 2.048 min 与 3.354 min,其含量分别占总蛋白量的 31.23% 与 32.93%;FTIR 分析结果表明,僵蚕醇溶蛋白质在 2 927.71、1 631.71、1 457.24、1 310.71 cm⁻¹ 处有主要吸收峰。研究并建立了僵蚕醇溶蛋白质的优化提取条件,并获得了蛋白质的 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 指纹图谱。

关键词:僵蚕;醇溶蛋白质;响应面法;FTIR 指纹图谱;SDS-PAGE;HPLC

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)22-0196-06

早在秦汉年间,《神农本草经》就记载僵蚕为祛风定惊、化痰散结的中品药材^[1]。现代药理学研究发现,僵蚕具有抗癌、降血糖、抗菌、镇静催眠、抗凝血、神经营养及保护等多种作用^[2-7]。目前研究认为,僵蚕富含的草酸铵是其抗惊厥、抗凝血的主要

药理成分,槲皮素是其祛痰、止咳的药理成分。程锁明等利用反复硅胶柱色谱、十八烷基硅键合硅胶填料柱、液相色谱等方法进一步从僵蚕中分离得到(3 α ,6 β)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮等 12 个化合物^[8]。殷志琦等应用硅胶柱层析和重结晶方法首次从僵蚕中分离得到 6 个化合物^[9]。郭晓恒等从僵蚕的三氯甲烷部位分离鉴定出 6,9-氧桥-麦角甾-7,22-双烯-3-醇、 β -谷甾醇等多种化学成分^[10]。但是,目前对僵蚕中含量最丰富的蛋白质还缺乏深入研究。

蛋白质具有重要的生物学功能,是生命活动的执行者。在稀盐、缓冲系统的水溶液作用下,蛋白质的溶解度大、稳定性好,因此它们是蛋白质提取的常用溶剂。乙醇溶液可用于提取植物中的醇溶

收稿日期:2020-03-11

基金项目:江苏省镇江市重点研发计划(社会发展)(编号:SH2018023);大学生实践创新训练计划(编号:201910299052Z);亳州学院内科研项目(编号:BYZ2018B02);江苏大学第十七批大学生科研项目(编号:17A446)。

作者简介:王立勇(1994—),男,福建福州人,硕士研究生,研究方向为分子生药学。E-mail:1395996384@qq.com。

通信作者:闻崇炜,博士,副教授,研究方向为分子生药学。E-mail:wenchw@ujs.edu.cn。

[27]刘辉,卜登攀,吕中旺,等. 凋萎和不同添加剂对紫花苜蓿青贮品质的影响[J]. 草业学报,2015,24(5):126-133.

[28]覃方铨,赵桂琴,焦婷,等. 含水量及添加剂对燕麦捆裹青贮品质的影响[J]. 草业学报,2014,23(6):119-125.

[29]郭海明,朱雯,张勇,等. 青贮添加剂对芦笋茎叶青贮品质的影响[J]. 草业学报,2016,25(5):134-140.

[30]李秀花,靳玲品,李文菊. 杏渣和米糠混合青贮发酵品质的测定[J]. 黑龙江畜牧兽医,2018(2):144-146.

[31]刘将军,胡源胜. 优质青贮饲料制作技术[J]. 现代农业科技,

2008(1):180-181.

[32]陈国富,张文昌,江伟伟,等. 绿汁发酵液、纤维素酶和木聚糖酶对灵芝菌糟发酵饲料品质的影响[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(12):146-152.

[33]王坚,王亚琴,闻爱友,等. 糖蜜添加对西兰花茎叶稻秸苜蓿混合青贮发酵品质的影响[J]. 草业学报,2014,23(3):248-254.

[34]李友元,陈长华,陶萍. 高效液相色谱法测定螺旋霉素发酵液中的有机酸[J]. 色谱,2002,20(1):46-48.

性蛋白质^[11-13],但能否用于提取僵蚕中的醇溶性蛋白质至今尚未见报道。响应面法可基于数学建模确定试验因素间的相互作用并进行工艺优化^[14],目前已在蛋白质提取工艺的优化中得到广泛应用^[15-18]。本研究旨在利用响应面法优化僵蚕醇溶蛋白质的提取工艺,并对其进行 SDS-PAGE(十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)、HPLC(高效液相色谱)、FTIR(傅里叶变换红外光谱)指纹图谱分析,旨在为其后续功能研究及开发应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

主要试验材料为僵蚕,购自亳州中药材市场,经江苏大学药学院欧阳臻教授鉴定为蚕蛾科昆虫家蚕 4~5 龄的幼虫感染白僵菌后的致死干燥体。

主要试剂有蛋白质分子量标准品,购自赛默飞世尔科技有限公司;考马斯亮蓝 R-250,购自北京中生瑞泰科技有限公司;溴酚蓝,购自 Amresco 公司;无水乙醇、牛血清白蛋白、甲醇、乙腈、溴化钾等试剂,均购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

主要设备有电子分析天平,购自 Sartorius 公司;酶标仪,购自美国 Molecular Devices 公司;数显恒温水浴锅,购自江苏省金坛市医疗仪器厂;微量台式离心机,购自美国 Thermo Scientific 公司;冷冻干燥机,购自德国 Marin christ 公司;Avatar-370 型傅立叶变换红外光谱仪,购自美国尼高力仪器公司;安捷伦 LC 1200 液相色谱仪,购自美国普惠公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蛋白质的提取 将僵蚕粉碎并过 70 目筛备用。取适量僵蚕粉末,按预设的料液比加入预设浓度的乙醇溶液,在恒温水浴箱中用预设温度水浴振荡提取醇溶蛋白质。水浴结束后,将样品于 12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液备用。

1.3.2 蛋白质提取率的测定 以考马斯亮蓝法进行蛋白质定量,牛血清白蛋白为标准蛋白质,测定 595 nm 处样品吸光度,建立标准曲线^[19]。随后分别取 200 μ L“1.3.1”节所得样品加入管 A、管 B 中, A 管加适量三氯乙酸,离心去除沉淀蛋白质;B 管不作任何处理,根据 A 管及 B 管吸光度计算蛋白质吸光度,再根据标准曲线计算样品中的蛋白质含量,之后按下述公式计算蛋白质提取率:

$$\text{蛋白质提取率} = (m_B - m_A) / m \times 100\%$$

式中: m_A 为 A 管的蛋白质含量; m_B 为 B 管的蛋白质含量; m 为提取用僵蚕粉末量。

1.3.3 单因素试验 (1)乙醇浓度对蛋白质提取率影响的试验。乙醇浓度分别设为 20%、30%、40%、50%、60%、70%,温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,料液比为 1 g : 25 mL,提取时间为 4 h。(2)料液比对蛋白质提取率影响的试验。料液比分别取 1 g : 10 mL、1 g : 15 mL、1 g : 20 mL、1 g : 25 mL、1 g : 30 mL,提取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,乙醇浓度为 40%,提取时间为 4 h。(3)提取温度对蛋白质提取率影响的试验。提取温度分别取 30、35、40、45、50、55 $^{\circ}\text{C}$,乙醇溶液浓度为 40%,提取时间为 4 h,料液比为 1 g : 25 mL。(4)提取时间对蛋白质提取率影响的试验。提取时间分别取 1、2、3、4、5、6、7 h,提取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,乙醇浓度为 40%,料液比为 1 g : 25 mL。

1.3.4 响应面试验 在单因素试验的基础上,采用 Design-Expert 8.0.6 中的 Box-Behnken 中心组合试验设计响应面试验,以料液比、乙醇浓度、温度、时间为自变量,以提取率为响应值,采用响应面分析法对僵蚕醇溶蛋白质的提取工艺条件参数进行优化,其各因素的编码水平见表 1。

表 1 僵蚕醇溶蛋白质试验因素水平及编码水平

编码水平	因素			
	A:料液比 (g : mL)	B:乙醇浓度 (%)	C:温度 ($^{\circ}\text{C}$)	D:时间 (h)
-1	1 : 20	30	35	3
0	1 : 25	40	40	4
1	1 : 30	50	45	5

1.3.5 SDS-PAGE 检测 取适量蛋白质样品与上样缓冲液混合,沸水浴处理 10 min,得电泳样品。按照常规方法进行 SDS-PAGE 分析,分离胶浓度为 10%,浓缩胶浓度为 5%,于 80 V 恒压电泳 2 h,当溴酚蓝指示剂距胶板底部边缘 1~2 cm 时结束电泳,取下凝胶后进行染色、脱色^[20]。

1.3.6 凝胶分析 用凝胶成像系统采集 SDS-PAGE 凝胶图像,用 Quantity One 软件定量各条带的迁移率及灰度值,按如下公式计算各蛋白质的比例:

$$\text{蛋白质比例} = \text{待测蛋白质灰度值} / \text{蛋白质总灰度值} \times 100\%$$

1.3.7 HPLC 检测 采用安捷伦 LC 1200 液相色谱仪进行检测,色谱柱为 Eclipse Plus C₁₈ (100 mm \times 4.6 mm ID),流动相为 10% 乙腈溶液,流速为 0.5 mL/min,进样量为 20 μ L,检测波长为 270 nm。

取适量冻干后的僵蚕蛋白质粉末溶解于适量流动相,再按照上述检测条件进行 HPLC 检测。

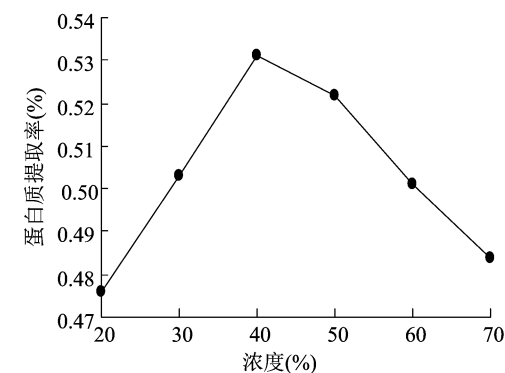
1.3.8 FTIR 检测 取适量冻干后的僵蚕蛋白质粉末,加入适量溴化钾(KBr)粉末研磨混匀,压片后置于傅立叶红外光谱仪下,于 $4\,000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围内进行扫描。

2 结果与分析

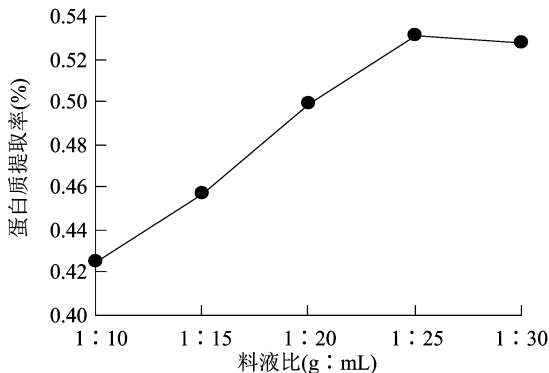
2.1 单因素试验结果分析

由图 1-A 可知,当乙醇浓度达到 40% 前,提取率随着乙醇浓度的增加呈上升趋势;当乙醇浓度为 40% 时,提取率达到峰值为 0.531%;之后继续提高乙醇浓度,提取率逐渐降低。这可能是因为乙醇浓度过高时,提取液的极性变小,使得蛋白质在提取液中的溶解度降低。因此,本研究选择乙醇提取浓度为 40%。由图 1-B 可知,当料液比小于 1 g : 25 mL 时,随着料液比的增加,提取率呈明显上升的趋势;当料液比为 1 g : 25 mL 时,具有最大提取率,为

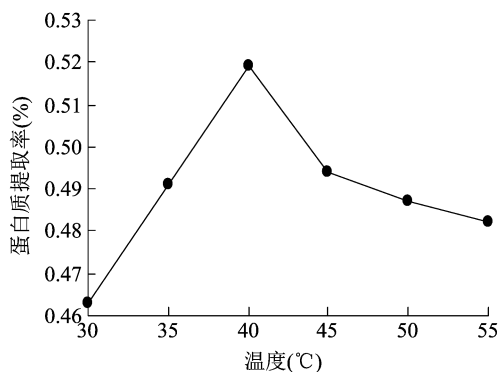
0.532%;继续增加料液比,提取率没有显著变化。理论上说,料液比越大,提取液的黏度就越低,蛋白质就越容易溶出。当料液比达到 1 g : 25 mL 后,蛋白质的溶出趋于平衡,料液比的增加不再使提取率升高,过多的提取液反而会造成资源浪费和后续处理的困难。综合考虑,选择料液比为 1 g : 25 mL。由图 1-C 可知,当温度低于 40 ℃ 时,随着温度的上升,提取率逐渐升高,在温度为 40 ℃ 时达到峰值,为 0.519%;当温度继续提高时,提取率反而降低,这可能是因为随着温度的升高,蛋白质会发生变性,进而形成凝胶,从而增加了提取液的黏度,导致分离困难,并且过高的温度也会造成能耗的增加。综合考虑,选择提取温度为 40 ℃。由图 1-D 可知,当提取时间小于 4 h 时,提取率随着提取时间的增加而升高;当提取时间为 4 h 时,提取率达到最大值,为 0.532%,此时蛋白质的溶出率达到了动态平衡;当提取时间超过 4 h 时,若继续增加提取时间,提取率反而下降,因此选择提取时间为 4 h。



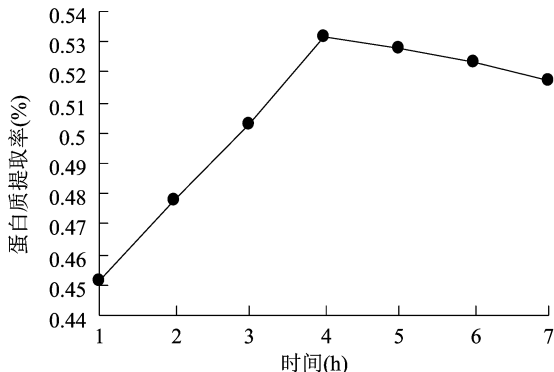
A. 乙醇浓度对提取率的影响



B. 料液比对提取率的影响



C. 温度对提取率的影响



D. 时间对提取率的影响

图1 不同因素对僵蚕醇溶蛋白质提取率的影响

2.2 响应面结果分析

响应面法是一种结合数学方法与统计方法对所感兴趣的响应值受多个变量影响的问题进行建模和分析的数理统计方法,可以实现响应值的优

化。本研究在单因素试验的基础上,以蛋白质提取率为效应值,以料液比、乙醇浓度、温度和提取时间为自变量进行响应面设计试验,结果见表 2、表 3。

从表 3 可看出,该模型 P 值显著、失拟项不显

表 2 僵蚕醇溶蛋白质提取工艺 Box - Behnken 试验分析

编号	编码值				提取率 (%)
	A:料液比	B:乙醇 浓度	C:温度	D:提取 时间	
1	0	0	-1	1	0.459
2	0	0	1	1	0.452
3	-1	0	1	0	0.498
4	0	-1	0	1	0.454
5	0	-1	1	0	0.520
6	-1	1	0	0	0.508
7	0	0	0	0	0.534
8	0	1	0	1	0.467
9	1	-1	0	0	0.520
10	0	0	-1	-1	0.477
11	1	0	0	1	0.456
12	0	0	0	0	0.535
13	0	1	0	-1	0.461
14	1	0	1	0	0.528
15	0	1	-1	0	0.538
16	-1	-1	0	0	0.502
17	1	0	0	-1	0.459
18	0	0	0	0	0.535
19	0	0	1	-1	0.457
20	0	-1	0	-1	0.468
21	0	0	0	0	0.537
22	0	-1	-1	0	0.536
23	-1	0	-1	0	0.533
24	0	1	1	0	0.535
25	0	0	0	0	0.532
26	1	0	-1	0	0.516
27	1	1	0	0	0.525
28	-1	0	0	1	0.433
29	-1	0	0	-1	0.448

著,表明模型拟合得较好。另外,料液比、温度、提取时间对乙醇溶液提取僵蚕蛋白质的影响极显著,其中交互项 AC 、 BD 对僵蚕醇溶蛋白质提取率具有显著或极显著影响,结果如图 2 所示。

用 Design - Expert 8.0.6 软件对表 3 中的数据进行分析,拟合得回归方程:

$$Y = 0.530 + 0.680A + 0.280B - 0.580C - 0.410D - 0.025AB + 1.200AC + 0.300AD + 0.330BC + 0.500BD + 0.330CD - 1.600A^2 - 0.260B^2 - 0.076C^2 - 0.070D^2。$$

从该回归方程可以看出,4 个因素对僵蚕醇溶性蛋白质提取率影响的排序为料液比 > 温度 > 提

表 3 回归方程方差分析

变异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.036 0	14	25.800 0	185.40	<0.000 1
A	5.600 0	1	5.470 0	40.27	<0.000 1
B	0.960 0	1	0.960 0	6.92	0.019 7
C	3.970 0	1	3.850 0	28.52	0.000 1
D	2.000 0	1	2.000 0	14.38	0.002 0
AB	0.002 5	1	0.002 5	0.018	0.895 3
AC	5.520 0	1	5.760 0	39.69	<0.000 1
AD	0.360 0	1	0.360 0	2.59	0.130 0
BC	0.420 0	1	0.420 0	3.04	0.103 3
BD	1.000 0	1	1.000 0	7.19	0.017 9
CD	0.420 0	1	0.420 0	3.04	0.103 3
A ²	16.900 0	1	17.100 0	121.35	<0.000 1
B ²	0.450 0	1	0.440 0	3.23	0.093 8
C ²	0.037 0	1	0.046 0	0.27	0.612 7
D ²	0.032 0	1	0.032 0	2.317.75	<0.000 1
残差	2.000 0	14	0.140 0		
失拟项	1.820 0	10	0.180 0	5.50	0.057 4
误差项	1.320 0	4	0.033 0		
合计	0.036 0	28			

取时间 > 乙醇浓度。通过软件计算分析,得出最佳僵蚕醇溶蛋白质提取工艺为料液比 1 g : 24.22 mL,乙醇浓度 38.73%,温度 35℃,提取时间 3.94 h,在此条件下获得最佳僵蚕醇溶性蛋白质的提取率为 0.540 2%。

2.3 验证试验

取 3 份僵蚕粉末,按照最佳提取工艺条件进行试验,重复 3 次,得到僵蚕醇溶蛋白质平均提取率为 0.541 7%。该结果与理论最大值一致,说明本试验的数学模型稳定可靠。

2.4 SDS - PAGE 指纹图谱分析

按照“1.3.5”节与“1.3.6”节方法进行僵蚕醇溶蛋白质的 SDS - PAGE 指纹图谱分析。由图 3 可以看出,用 40% 乙醇溶液提取的蛋白质样品为多种中小分子量(16.7 ~ 36.2 ku)蛋白质形成的混合物,其中分子量较小(16.7 ~ 23.1 ku)的蛋白质占蛋白质总量的 74%,其迁移率为 0.808 ~ 0.945;分子量较大(32.5 ~ 36.2 ku)的蛋白质占蛋白质总量的 24.8%,其迁移率为 0.603 ~ 0.651。

2.5 HPLC 指纹图谱分析

按照“1.3.7”节所述方法进行僵蚕醇溶蛋白质的 HPLC 指纹图谱分析。如图 4 所示,共形成保留时间介于 1.630 ~ 6.115 min 的 6 个色谱峰,其中主

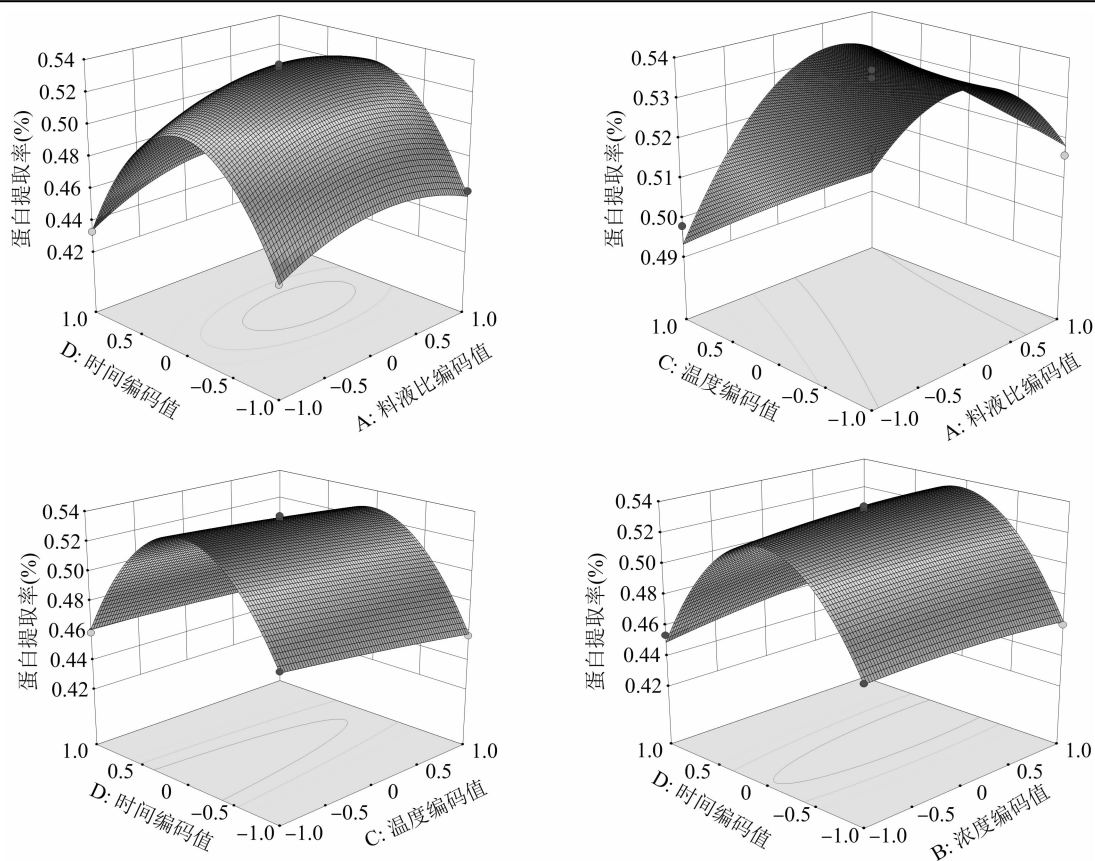


图2 各因素交互作用对僵蚕醇溶蛋白质提取率的影响

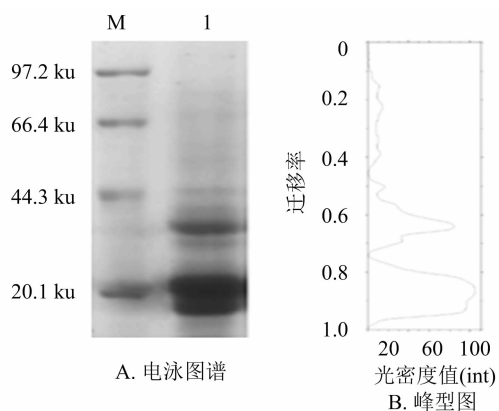
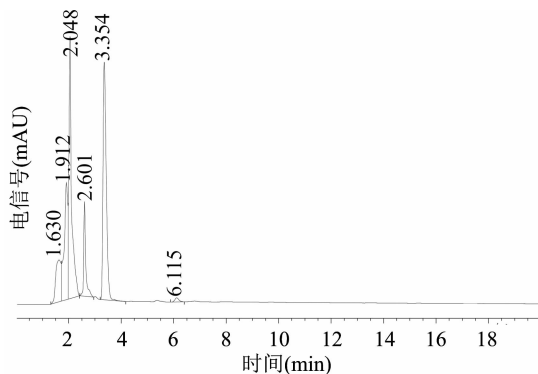
图3 僵蚕醇溶蛋白质 SDS-PAGE 指纹图谱
M—蛋白质分子量标准品; 1—僵蚕醇溶蛋白质

图4 僵蚕醇溶蛋白质的 HPLC 指纹图谱

要醇溶蛋白质的保留时间分别为 2.048、3.354 min, 其含量分别占总蛋白含量的 31.23%、32.93%。

2.6 FTIR 指纹图谱分析

按照“1.3.8”节所述进行僵蚕醇溶蛋白质的 FTIR 指纹图谱分析。由图 5 可见,用 40% 乙醇提取的僵蚕蛋白质在 $4\,000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围内共有 6 个吸收峰,其中 $2\,927.71\text{ cm}^{-1}$ 处为甲基、亚甲基的 C—H 伸缩振动峰, $1\,631.71\text{ cm}^{-1}$ 处为蛋白质酰胺 I 带的 C=O 的伸缩振动峰, $1\,457.24$ 、 $1\,310.71\text{ cm}^{-1}$

处为 C—H 的弯曲振动吸收峰。冀宪领等曾报道,僵蚕 75% 乙醇提取物的 FTIR 指纹图谱的主要特征吸收峰为 $1\,723$ 、 $1\,300$ 、 $1\,210\text{ cm}^{-1}$ 等^[21],将其研究结果与本研究结果相结合,可为基于 FTIR 技术鉴定僵蚕提供较好的试验依据。

3 结论与讨论

植物中含有较多的醇溶蛋白质,研究表明,这些蛋白质具有良好的生物相容性、利用度及可降解性,可用作多种支架材料、黏附材料及载体材料,在食品及医药方面有广阔的应用前景^[22-25]。但是,动物

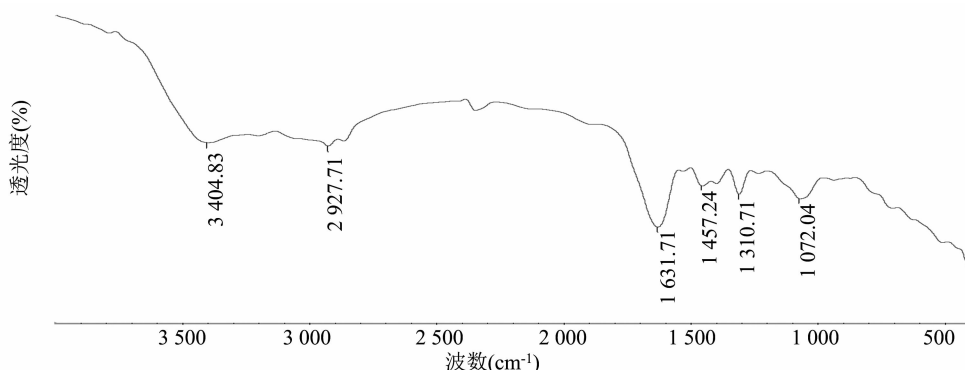


图5 僵蚕醇溶蛋白质的FTIR指纹图谱

来源的醇溶蛋白质至今仍鲜有报道。本研究采用响应面法优化了僵蚕醇溶蛋白质的提取工艺,结果表明,最佳提取条件为料液比 1 g : 24.22 mL,乙醇浓度 38.73%,温度 35 ℃,提取时间 3.94 h,蛋白质的最优提取率为 0.5402%,建立了僵蚕醇溶蛋白质的 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 指纹图谱,为后续僵蚕醇溶蛋白质的研究及开发利用创造了条件。

参考文献:

- [1] 马继兴. 神农本草经辑注[M]. 北京:人民卫生出版社, 1995:54.
- [2] 程杏安,蒋旭红,刘展眉,等. 僵蚕七种化学成分抗肿瘤活性的初步研究[J]. 仲恺农业工程学院学报,2015,28(4):35-39.
- [3] 郭光业,王志成,晏青. 运用正交试验筛选中药降血糖基本配方实验研究[J]. 中华实用中西医杂志,2000,13(19):1384-1386.
- [4] 项林平,柴卫利,王珏,等. 僵蚕抑菌活性成分的提取及其对大肠杆菌的抑制作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010,38(3):150-154.
- [5] 胡鹏飞,王敬平,范荣培,等. 僵蚕提取物对小鼠自主活动的影响[J]. 时珍国医国药,2005,16(11):1113-1114.
- [6] 雷田香,彭延古,郝晓元,等. 僵蚕抗凝作用的研究进展[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27(3):76-77.
- [7] Koo B S, An H G, Moon S K, et al. Bombyx corpus extract (BCE) protects hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2003,25(2):191-201.
- [8] 程锁明,翟银成,薛芳,等. 僵蚕化学成分的研究[J]. 中草药, 2015,46(24):3630-3636.
- [9] 殷志琦,叶文才,赵守训. 僵蚕的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(1):56-58.
- [10] 郭晓恒,吴用彦,宋登敏,等. 僵蚕氯仿部位的分离纯化及其抗惊厥活性[J]. 中国医药工业杂志,2014,45(5):431-433.
- [11] 李鑫,柴宝峰,梁爱华,等. 油松种子醇溶蛋白提取剂比较[J]. 应用与环境生物学报,2006,12(1):125-127.
- [12] 程谦伟,郭兴凤,熊拯. 玉米的综合开发——醇溶蛋白的提取[J]. 粮食科技与经济,2006(6):43-45.
- [13] 苟琳,李文博,倪苏,等. 马铃薯醇溶蛋白电泳分析方法的建立[J]. 安徽农业科学,2011,39(1):71-72.
- [14] 李莉,张赛,何强,等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索,2015,34(8):41-45.
- [15] 伊莉,吴锁柱,孟琼宇,等. 响应面优化胡麻粕蛋白提取工艺及其功能性性质研究[J]. 食品研究与开发,2019,40(18):52-57.
- [16] 程海涛,申献双. 响应面优化喷射流空化-机械研磨协同强化大豆粕蛋白溶解的研究[J]. 中国油脂,2019,44(9):54-58,70.
- [17] 陈建旭,黄生权,敖宏,等. 赤灵芝中水溶性蛋白响应面法优化提取[J]. 现代食品科技,2009,25(6):661-664,668.
- [18] 张红霞,赖佳慧,王倩,等. 响应面法优化苦荞蛋白质提取工艺[J]. 粮食科技与经济,2019,44(8):93-96.
- [19] 徐杰伟,温少磊,蔡早育. 考马斯亮蓝法测定微量蛋白的条件探讨[J]. 实验与检验医学,2003,21(5):353-354.
- [20] 闻崇伟,毛春友,胡萍萍,等. Tricine 蛋白质电泳定量检测溶菌酶方法的研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(5):290-292.
- [21] 冀宪领,盖英萍,牟志美,等. 白僵蚕的红外指纹图谱鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析,2007,27(1):66-69.
- [22] Dong J, Sun Q, Wang J Y. Basic study of corn protein, zein, as a biomaterial in tissue engineering, surface morphology and biocompatibility[J]. Biomaterials,2004,25(19):4691-4697.
- [23] 谢俊俊,吴鸿飞,鲁传华,等. 应用生物可降解材料玉米醇溶蛋白制备胃肠道生物黏附控释片[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(12):2146-2148.
- [24] 李敏,王瑶,王双双,等. 玉米醇溶蛋白支架生物相容性及在牙周缺损修复中的应用[J]. 中国组织工程研究,2016,20(25):3726-3731.
- [25] 李晓晖,黄文娟,周伟,等. 反溶剂法制备姜黄素-高粱醇溶蛋白复合颗粒及其特性分析[J]. 食品科学,2018,39(6):7-12.