

中药蛋白资源提取分离及产业化路径展望

倪雅迪, 徐玲欣, 朱钰雅, 肖平*, 段金廛*

南京中医药大学药学院, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室, 江苏 南京 210023

摘要: 蛋白在中药中的作用不容小觑, 具有多重资源利用价值, 包括药用价值、保健价值、饲用价值等, 故中药蛋白开发潜力巨大。蛋白的提取分离是其产业化过程中的关键环节, 亟需技术突破和集成创新。因此, 需要剖析当前中药蛋白不同提取分离技术的优劣势, 整合各技术的优势为中药蛋白资源产业化服务。鉴于中药材具有来源天然、储量可观、生物活性好等特点, 中药蛋白实际应用的前景乐观。如何合理开发利用中药蛋白资源并推动其产业化进程是当下面临的重大考验。通过对中药蛋白的资源分布情况、利用现状、提取分离纯化方法进行概述。此外, 还总结了中药蛋白资源产业化所面临的主要问题并提出策略和展望, 为中药蛋白资源科学开发和产业健康发展提供思路。

关键词: 中药蛋白; 资源分布; 蛋白提取; 分离纯化; 产业化路径

中图分类号: R284.1; R28 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)08-2828-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.08.032

Prospects for extraction, separation, and industrialization of traditional Chinese medicine protein resources

NI Yadi, XU Lingxin, ZHU Yuya, XIAO Ping, DUAN Jinao

Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, National Administration of Traditional Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: The content of protein in traditional Chinese medicine (TCM) should not be underestimated, and it has multiple resource utilization values, including medicinal value, health value, feeding value, etc. Therefore, the potential for further development of TCM protein is enormous. The extraction and separation of proteins is a key link in their industrialization process, and there is an urgent need for technological breakthroughs and integrated innovation. Therefore, it is necessary to analyze the advantages and disadvantages of different extraction and separation technologies for TCM protein and integrate the advantages of each technology to serve the industrialization of TCM protein resources. Considering the advantages of natural resources, considerable reserves and good biological activity, the prospects for the practical application of TCM proteins are optimistic. A major test at present is how to reasonably develop and utilize the protein resources and promote their industrialization process. In response to the above opportunities and challenges, this article provides an overview of the resource distribution, utilization status, and extraction, separation, and purification methods of TCM proteins. In addition, the main problems faced by the industrialization of TCM protein resources are summarized, and the strategies and prospects are put forward to provide ideas for the scientific development of TCM protein resources and the healthy development of the industry.

Key words: traditional Chinese medicine protein; resource distribution; protein extraction; separation and purification; industrialization

收稿日期: 2023-10-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703642); 中央本级重大增减支项目 (2060302); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目 (ZYXCXTD-D-202005); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目 (ZDXM-2022-06); 宁夏回族自治区重点研发计划重点项目 (2020BFH02013)

作者简介: 倪雅迪, 女, 研究方向为中药学。E-mail: niyadi@njucm.edu.cn

***通信作者:** 肖平, 男, 博士, 副教授, 从事中药资源化学与中药药效物质基础研究。E-mail: xiaoping@njucm.edu.cn

段金廛, 男, 教授, 博士生导师, 从事中药资源化学及资源循环利用研究。E-mail: dja@njucm.edu.cn

一直以来,对于中药有效成分的研究主要着重于小分子次生代谢物的分离及应用。近年来由于生物医药相关技术不断发展,对于大分子初生代谢物蛋白质的研究也日益受到重视。蛋白质是中药的重要物质组成,具有多种生物学功能^[1]。随着人们对中药蛋白的研究不断深入,该行业的市场前景也变得越来越广阔。为巩固中药蛋白的实际应用,蛋白质的提取、分离、纯化和产业化关键技术日益受到重视^[2-3]。传统的中药蛋白提取分离方法存在技术粗放、效率低下等问题,导致蛋白提取率较低,不利于中药蛋白资源产业化发展,亟须进一步的技术变革。近年来,国内外将目光转向中药蛋白提取技术的优化升级,结合现代生物技术手段提高中药蛋白的纯度和产量,并对其结构和功能进行深入研究,为其应用提供科学依据,对拓展中药蛋白的应用新领域具有重要意义^[4-5]。

鉴于中药蛋白具有来源广、营养价值高、生物活性好等特点^[6],其在药用^[7-8]、保健^[9]、饲用^[10-11]等行业具有巨大的发展空间。但是,中药蛋白资源的产业化路径尚不清晰,从加工处理、提取纯化、结构解析、功能研究、制剂开发,到最后以产品功能为主导推广到市场的每一个环节都存在着问题和挑战。因此,亟需厘清中药蛋白资源产业化各环节存在的主要问题和不足,同时有针对性地提出切实可行的产业化路径及策略,为中药蛋白资源科学合理的开发与利用指明方向。深入研究不同提取分离纯化技术可能对中药蛋白功能特性造成的影响,对于提高中药蛋白利用率具有重要的理论指导意义。

本文系统梳理了中药蛋白资源在各类中药材中的分布情况和资源利用价值,为中药蛋白资源开发与利用提供思路。针对蛋白资源产业化过程中提取分离的关键环节,对国内外中药蛋白提取分离技术优缺点进行比较分析,为中药蛋白产业化过程中提取分离技术的选择提供参考依据。同时本文深入剖析了中药蛋白资源现阶段研究的不足之处,提出对策建议并进行展望,以期对中药蛋白资源科学合理的开发与产业化应用提供思路和科学依据。

1 中药蛋白资源分布与利用价值

1.1 中药蛋白资源分布

中药蛋白主要分为植物药蛋白、动物药蛋白和菌类蛋白 3 种,动物药的蛋白含量较高,植物药中果实种子类中药材蛋白含量相对较高,菌类中药也含有丰富的蛋白质^[12]。如蛹虫草的蛋白质含量约为

26%^[13],灵芝的蛋白含量在 7.52%~32.05%^[14]。蛋白在植物药的根、茎、叶、花、果实、种子等部位中均有分布,其中种子类药材的蛋白含量较高,含量多在 20%以上,如北五味子、酸枣仁、紫苏籽粕等。动物药的蛋白含量普遍较高,有些可以达到 50%以上,如红蛤蚧总蛋白含量可达 70.88%,蕲蛇蛇毒蛋白的最高含量可超过 90%。研究表明,与动物蛋白相比,植物蛋白除大豆蛋白外都是缺乏一种或多种必需氨基酸的不完全蛋白质^[15],而动物蛋白可以提供所有必需氨基酸,是一种具有较高生物学价值的蛋白质来源^[16]。结合目前涉及动植物蛋白含量的相关文献,对一些重点药材中的蛋白含量进行归纳总结,部分动植物药材中蛋白含量信息可见表 1。

1.2 中药蛋白资源利用价值

1.2.1 药用价值 中药蛋白不仅具有较好的生物活性,还具有较低的毒性和不良反应,对其药用价值进行研究和评估,揭示其药理机制,有助于在提高中药疗效的同时减少不良反应^[55-56]。中药蛋白具有抗肿瘤、免疫调节、抗炎、抗高血压、调节血糖、抑菌、保护神经系统和心血管系统等多种药用价值。

中药蛋白具有抗肿瘤活性,可以对肿瘤发展产生抑制作用,并对肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移等过程产生调控效应^[57]。天花粉蛋白可能通过促进趋化因子的分泌和加速颗粒酶 B 进入肝癌细胞来提高 T 细胞免疫功能发挥抗肿瘤活性^[58]。鹿茸蛋白可改善 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的体质量和免疫器官指数,诱导线粒体介导的 S 期细胞周期阻滞,从而有效抑制实体肿瘤生长^[59]。

中药蛋白具有调节免疫系统功能的潜力,研究中药蛋白对免疫细胞的激活、调节、互作的影响以及和免疫性疾病相关的应用一直被广泛关注。蛹虫草免疫活性蛋白 2b 可显著提高巨噬细胞的增殖能力和吞噬能力,使其活化并且极化为 M1 型巨噬细胞,更好地参与正向免疫应答,增强免疫调节能力^[60]。紫苏籽蛋白可以调节免疫力低下小鼠的免疫系统,中等剂量会提高 T/B 淋巴细胞的增殖、NK 细胞杀伤力以及巨噬细胞的吞噬能力^[20]。

在高血压治疗方面,相比人工合成的血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)抑制蛋白,以天然蛋白质为原料制备的 ACE 抑制药物不良反应小、作用条件更温和^[61]。栝楼籽蛋白酶解物可以抑制氧化损伤后的人脐动脉平滑肌细胞分泌缩血管因子内皮素,具有体外降血压活性^[62]。人

表 1 部分动植物中药材中的蛋白含量

Table 1 Protein content in some animal and plant TCM materials

植物药	蛋白/%	文献	动物药	蛋白/%	文献
黄芪种子	45.94	17	蕲蛇蛇毒	91.8	36
北五味子	39	18	珍珠母	79.1	37
酸枣仁	36.13	19	红蛤蚧	70.88	38
紫苏籽粕	28~33	20	土鳖虫	67.19	39
桃仁	25~30	21	海蛇蛇毒	65.6	40
火麻仁	20~25	22	蜈蚣	62.69	41
芝麻	18~25	23	鸡内金	60	42
决明子	18.5~23	24	地龙	56.5~71.0	43
杜仲籽粕	19.49	25	海马	55.6	44
当归	18.5	26	哈蟆油	51.30	45
白果	8.7~13.4	27	鹿茸	50~55	46
桑叶	9.85	28	水蛭	46.811	47
核桃仁	8.11	29	牡蛎	45~52	48
山药	6~8	30	蚂蚁	42~67	49
半夏	2.86	31	壁虎	>25	50
人参	1.07	32	全蝎	20.33	51
天麻	0.875	33	龟甲	15.16	52
葛根	0.64	34	僵蚕	6.72	53
天花粉	0.193~0.280	35	石决明	0.21	54

体胃肠道消化酶独特的酶切位点和消化特性适于酶解核桃蛋白，体外模拟消化后，核桃蛋白的 ACE 抑制率达到 44.85%，比外源性核桃蛋白酶解物具有更稳定、更持久的降压效果^[63]。

中药蛋白具有抗炎活性，可通过干扰炎症因子的生长和复制，减少炎症反应以预防疾病的发生，具有较高的研究价值。鹿茸蛋白提取物可以影响伤口愈合过程中胶原蛋白的含量和纤维的合成，从而促进伤口愈合^[64]。邢欣^[65]发现山药蛋白能够显著降低炎症因子白细胞介素-18（interleukin-18，IL-18）、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α （tumor cell necrosis factor- α ，TNF- α ）含量，下调 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3（NOD-like receptor pyrin domain containing 3，NLRP3）表达，从而抑制高糖诱导的小鼠海绵体内皮细胞炎症反应。

中药蛋白显示出调节血糖的功效，研究中药蛋白对胰岛素分泌、葡萄糖代谢的调控机制，对于糖尿病等代谢性疾病的治疗具有重要意义。体外实验证明，桑叶蛋白的中性蛋白酶解物对 α -葡萄糖苷酶抑制能力最强^[66]。沙棘蛋白对 2 型糖尿病小鼠降血糖效果明显，可以提高小鼠对葡萄糖的敏感性，减少对葡萄糖的吸收，改善小鼠的精神状态^[67]。豆

腐柴叶蛋白可以降低糖尿病小鼠的血糖、血脂，可能与拮抗胰岛素水平升高、修复胰岛组织损伤有关^[68]。

由于中药蛋白可以预防细菌感染和抑制细菌繁殖，在抗菌活性方面具有广谱性和不易产生耐药性的特点，已被开发用作抗生素的替代品^[69]。天麻蛋白能够显著抑制白色念珠菌、大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌的活性^[70]。印双红等^[71]发现德江天麻蛋白主要通过阻断毒力基因 *sea*、*agrA*、*hla* 及总肠毒素的表达，降低肺部载菌量，增加金黄色葡萄球菌细胞外碱性磷酸酶的含量来实现抑菌作用。

中药蛋白能够清除氧自由基，对抗氧化应激，抑制细胞凋亡，减弱神经退行性病变。人参蛋白对 H₂O₂ 所致的神经元损伤具有保护作用，其机制与提高 B 淋巴细胞瘤-2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）mRNA 表达和抑制 Bax mRNA 表达有关^[72]。杨丽萍等^[73]发现天麻蛋白对氧糖剥夺/复糖复氧（oxygen-glucose deprivation and reperfusion，OGD/R）诱导的 HT22 细胞损伤具有保护作用，其机制与活性氧/线粒体凋亡通路、腺苷酸活化蛋白激酶-核因子红细胞系 2 相关因子 2（adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase-nuclear factor erythroid 2-related factor 2，AMPK-Nrf2）通路和缺

氧诱导因子通路相关蛋白有关。

中药蛋白可以调节血管内皮功能,维护血管稳态,减少心肌细胞凋亡,对心血管系统具有保护作用。鹿茸蛋白可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路下游凋亡相关蛋白,减轻缺血缺氧对心肌细胞造成的损伤,维持线粒体膜电位的稳定性,减少细胞凋亡^[74]。蜈蚣酸性蛋白对血管紧张素-II 诱导的心肌细胞凋亡具有明显的抑制作用,其机制与降低半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 活性以及下调 c-fos mRNA 表达有关^[75]。随着对中药蛋白药理作用及其机制的深入研究,期望更多中药蛋白药物能够广泛应用于生产与临床。

1.2.2 保健价值 中药活性蛋白具有免疫调节、抗氧化等多方面的活性,较高的营养价值和潜在的保健功效使其在保健品开发领域备受关注。火麻仁蛋白具有降血压、抗衰老、抗疲劳、通便减肥等活性功能^[22]。现已有火麻仁蛋白类饮料投放于市场,研究表明摄入火麻仁蛋白有助于提高体内超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 的活力,帮助清除自由基,对皮肤抗氧化具有一定功效^[76]。

中药蛋白中富含多种必需氨基酸和生物活性肽,具有较高的生物利用度和营养吸收率,对人体的生长发育、免疫功能和肌肉修复至关重要。桑叶作为一种高蛋白食用资源,祁芳等^[9]采用超声辅助水浴法浸提桑叶蛋白,并以浸提液为原料制作蛋白饮品,得到的饮品呈鲜亮黄绿色,色泽均匀,香气浓郁,回味甘甜,在满足营养补充的同时,契合人们的喜好。综合利用“药食同源”中药蛋白可以增强免疫力、缓解疲劳等功效,有利于推动其保健价值被不断挖掘。

1.2.3 饲用价值 中药蛋白资源的饲用价值开发目前正处于起步阶段。有研究表明中药蛋白具有潜在饲用价值^[77],并显示出对畜禽的生长促进、免疫调节和抗病作用^[78]。在饲料中添加中药蛋白不仅可提高动物机体自身免疫力、对疾病的抵抗力^[79],还可通过调节肠道菌群,促进对饲料的消化吸收^[80]。

近年来,团队聚焦中药非药用部位资源价值发现和替代抗生素饲用产品的开发,发现中药非药用部位的蛋白资源亦可作为饲料添加剂,用于提高畜禽的生长性能和产蛋率。一些中药蛋白具有丰富的氨基酸组成和生物活性,可以作为良好的蛋白质来源,提供动物所需的必需营养^[81]。郭盛等^[82]发现酸

枣仁药渣中含有大量的蛋白类资源性化学成分,可用于制备动物饲料。将发酵桑叶应用到畜禽饲料中发现一定量的发酵桑叶可以促进畜禽的生长发育,调控脂质代谢水平^[83],增强免疫力^[84]。梁凌云等^[85]将蚕沙转化成鱼类和畜牧的植物蛋白饲料,变废为宝,兼顾经济效益、环境效益和社会效益,既达到杀菌作用,又增加了适口性,提高了蛋白质的消化吸收利用率。

2 中药蛋白提取方法

基于蛋白的溶解性、稳定性、亲和性等属性,其在特定条件下能够与提取溶剂发生相互作用,从而实现有效的分离和纯化。中药蛋白的提取方法主要包括水提法、酸碱提取法、盐溶提取法、酶解法等。在提取过程中,常以蛋白质提取率为评价指标,通过工艺优化和条件控制,不仅可以提高蛋白的提取效率,还可以确保蛋白质的纯度和生物活性。

2.1 水溶液提取法

蛋白质结构中包含丰富的极性基团,如羟基、羧基和氨基等,使部分蛋白质具有良好的水溶性,因此水溶液提法是蛋白提取的常用方法之一。胡佳瑶等^[86]采用水提法从 10 g 干海马中提取到 1.056 g 质量浓度为 0.106 g/mL 的总蛋白。采用此种方法得到总蛋白较多,实验步骤简单、快速且不影响后续蛋白酶的活性。唐婷范等^[87]使用水提回流法提取贵港野葛蛋白,通过正交试验等确定了在提取溶剂 pH=8、液料比 20:1、提取温度 30 °C 和提取时间 2.5 h 的最优提取条件下,贵港野葛蛋白质的提取率最高达 83.20%。由此可见,水提法相对简单和经济,可以有效地提取中药中的水溶性蛋白质,但提取过程中常需要考察提取时间、温度、次数及投料比等诸多因素。

2.2 酸碱提取法

酸碱提取法是提取中药蛋白的传统方法,也是目前应用较为广泛的提取方法,利用蛋白质等电点沉降和高温变性的特点,通过对 pH 的调节及温度的控制,使蛋白沉淀,达到提取分离的效果^[88]。此类方法得到的蛋白质提取率较高、操作简便、成本低。王苗等^[89]采用碱提酸沉法提取葛根蛋白,通过 Box-Behnken 响应面试验设计,确定了最佳提取工艺为提取温度 45 °C,提取时间 120 min、液料比 20:1、pH 值 3.5,所得葛根蛋白提取率为 11.73%。张红印^[90]采用响应面法试验设计,优化碱提酸沉法提取酸枣仁蛋白的最佳工艺参数,确定了最佳提取

工艺条件为液料比 20:1、pH 值 10、提取温度 51 ℃、提取时间 49 min，蛋白质提取率为 79.71%。但此种提取方法仍存在些许不足，如酸或碱过量会使蛋白质发生不可逆的变性反应，导致蛋白质颜色变深，改变蛋白质的功能特性，对后续进一步操作分析造成影响，在实际操作时需综合考虑。

2.3 盐溶提取法

盐溶提取法主要利用 NaCl、硫酸铵和其他中性盐溶液对蛋白进行提取，提取原理是溶液中盐离子浓度的增加使蛋白质分子表面电荷增加，增进了蛋白质的水合作用，从而增加蛋白质在溶液中的溶解度^[91]。刘凯等^[92]通过设计单因素实验和正交实验将粉碎的杏仁渣加入磷酸盐溶液中水浴加热、搅拌、离心，测定上清液的吸光度、计算提取率、确定最佳提取工艺为温度 50 ℃，液料比 30:1，提取 1 h，盐浓度为 0.01 mol/L，蛋白质提取率为 72%，此方法简单易行且无食品安全隐患。王波^[93]采用浸提法，通过单因素试验和正交试验优化山药可溶性蛋白的提取工艺，得到最佳条件：磷酸盐缓冲液的 pH 值为 8，提取时间为 30 min，提取温度为 50 ℃。虽然盐溶法提取率较低、提取时间长^[94]，但使用此方法提取的蛋白质不易发生变性，可克服酸碱法的缺陷，保持了蛋白质的天然构象。

2.4 酶解法

酶解法一般使用不同种类的蛋白酶将植物中的蛋白质酶解成分子量较小、溶解性较好的低分子量蛋白和肽类以达到更好的分离效果^[95]。Aondona 等^[96]利用多种蛋白水解酶，在温度为 50 ℃，pH 为 7.0 的条件下获得黑芝麻蛋白最高提取率。张怡^[45]采用复合法酶解哈蟆油，经 SDS-PAGE 验证该法不会降低蛋白含量，当蛋白分子量主要集中在 35 kDa 以下时，有助于提高哈蟆油的生物利用度。于丽娜^[97]采用 Alcalase 碱性蛋白酶酶解梅花鹿茸蛋白，最佳酶解工艺是温度为 55 ℃，pH 为 7.5，以底物浓度为 2% (m/v)，加入 8% (v/m) 反应 2 h。酶解法提取效率高、反应条件温和、提取温度低、不会产生有害物质，但对操作环境较为严格，且成本消耗较大，相比酸碱提取法，需要增加灭酶的步骤，在实际大批量工业生产中仍需要综合考虑成本。

2.5 Osborne 分级提取法

Osborne 分级提取法主要利用蛋白质 4 种组分在溶解性方面的差异进行蛋白质分级提取，清蛋白易溶于水，球蛋白易溶于稀盐溶液，醇溶蛋白易溶

于 50%~90%乙醇，谷蛋白易溶于稀碱溶液^[98]。

Osborne 法有利于稀释并提取多种蛋白，该方法灵敏度较高，广泛应用于各类工业及研究领域。王海东等^[99]用 Osborne 方法分级提取五味子中的蛋白质，4 种组分蛋白中谷蛋白相对含量高达 48.39%，醇溶蛋白含量最低，仅 1.75%。董红影等^[100]采用 Osborne 法分级提取葛根蛋白，分别得到清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白。耿正玮等^[101]采用此方法提取杏鲍菇谷蛋白，测定其亚基相对分子质量分布在小分子范围内，是一种营养吸收价值较高的食用菌。合理优化 Osborne 分级提取法中各级提取的溶剂种类和浓度，有助于提高中药蛋白有效成分的利用率和中药蛋白产业的深加工水平。

2.6 冻融法

冻融法是利用一定低温条件，使细胞发生溶胀，导致胞内物质流出的方法。实验室通常采用反复冻融法提取蛋白质，使细胞内形成冰晶，剩余细胞液盐浓度增高，使细胞破裂，释放目的产物^[102]。目前该技术主要应用于藻类蛋白的提取，如蓝藻^[103]、螺旋藻^[104]、舌状蜈蚣藻^[105]等。董硕等^[106]采用反复冻融法初步处理红胞藻，破碎藻细胞以提高藻红蛋白溶出率，实验证明经过 4 次反复冻融后藻红蛋白溶出率最高。徐远超^[107]证明在藻粉状态下，冻融法能够最大化地提取出藻红蛋白，最高达到 36 mg/L 的水平，远高于其他物理或化学提取技术。但王肖肖^[108]认为采用反复冻融法破碎细胞会导致藻胆体解体，不利于藻胆蛋白的结构解析。由于藻类样品无法在短时间内实现冻融，导致提取时间过长，故该法不适用于大规模生产，只适合小部分产品的处理^[109]，通常和其他提取技术联合运用^[110]。

由于实验目的、中药来源、目标蛋白特性及实验条件等存在差异，需综合考虑不同提取方法的特性，结合实际以确定最佳提取工艺。各提取技术的特点见图 1。

综合上述多种不同提取方法的原理及相关实例可见，直接对目标蛋白进行水溶液提取，原料易得、操作简便，适用于对蛋白纯度要求不高的工艺。相较而言，酸碱提取法的提取率高，但提取过程中也存在酸碱溶液导致蛋白质变性，甚至环境污染等问题。酶解法条件相对温和，不会造成蛋白质的变性，可以维持蛋白质的生理结构和原有功能，但是此法对实际操作环境较为严苛且成本较高。盐析法虽提取率欠佳，但其优势在于能够最大限度地保留原始

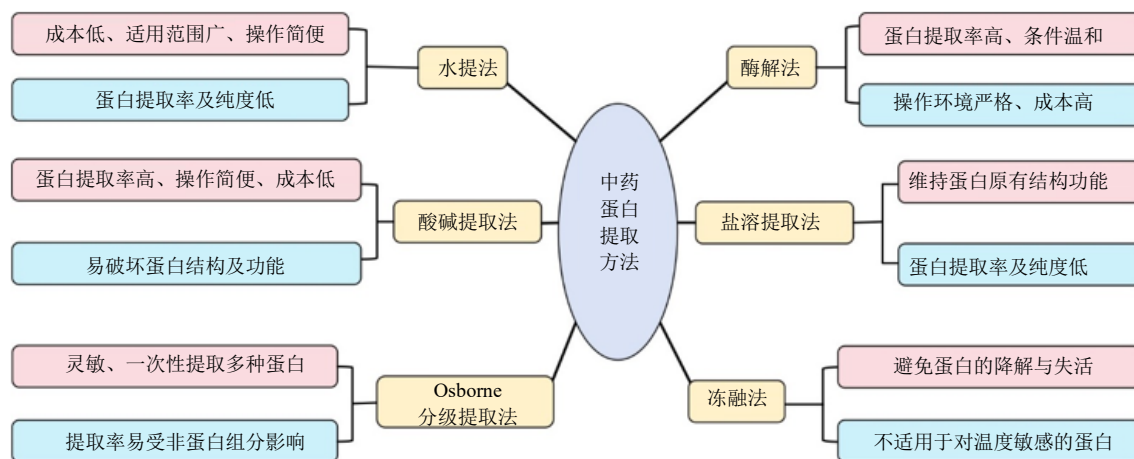


图 1 中药蛋白各类提取方法优缺点

Fig. 1 Advantages and disadvantages of extraction methods for TCM protein

成分,不易变性。Osborne 分级提取法操作简单,可一次性分离,但是对于组分、含量及功能性质不同的中药蛋白,要选取不同的提取工艺;此外,此方法易受到原料中占比较大的非蛋白质物质的干扰,导致蛋白质的最终提取率降低。冻融法只需要简单的离心和冻融处理,不需要有机溶剂或酸碱处理,可以避免蛋白质的降解和失活,但不适用于对温度变化敏感的蛋白质。常见中药蛋白提取方法、条件、蛋白得率见表 2。

通常情况下,提取溶剂的 pH、液料比、温度及作用时间均会影响中药蛋白的提取率;此外,根据

提取方法的不同,还存在影响中药蛋白提取率的其他因素,如超声辅助法中超声作用时间及频率、酶解法中酶的种类与投入量等。在实际生产实践及实验操作过程中,需要综合考虑中药材种类、蛋白含量、纯度要求、资金设备及环境等多方面因素,选取最佳的中药蛋白提取方法,并不断优化工艺以达到中药蛋白的高效提取。目前,传统中药蛋白提取技术已广泛运用于工业生产,例如通过超声辅助酶提法提取枸杞叶蛋白用于制作枸杞叶蛋白粉营养品^[12]。同时,新型技术也由探索开发逐渐步入生产实践,为中药蛋白产业化发展提供技术支撑。

表 2 中药蛋白的提取方法

Table 2 Extraction methods for TCM protein

来源	提取方式	提取条件				蛋白得率/%	文献
		pH	液料比/ (mL·g ⁻¹)	温度/℃	t/min		
葛根	水提回流法	8.0	20 : 1	30	150	83.20	87
酸枣仁	碱提酸沉法	10.0	20 : 1	51	41	79.71	90
柠檬籽	碱提酸沉法	10.5	41 : 1	40	60	12.25	111
紫苏	碱提酸沉法	8.9	25 : 1	53	120	29.77	112
薏米	碱提法	11.0	12 : 1	35	300	43.56	113
	超声辅助碱提法	11.0	10 : 1	45	240	48.71	114
山核桃	酶辅助碱法	10.0	16 : 1	60	90	89.70	115
黄粉虫	盐溶提取法	7.0	8 : 1	20	50	71.02	116
银杏	超声辅助碱提酸沉法	10.0	20 : 1	60	40	11.36	117
桑叶	超声辅助碱提酸沉法	13.0	37 : 1	40	40	49.59	66
牡丹籽	超声波辅助反胶束萃取	未提及	50 : 1	30	60	84.33	118
	超声波辅助碱提法	11.5	35 : 1	47	150	93.12	119
蛹虫草	冻融辅助碱提法	12.0	25 : 1	40	180	35.34	120

3 中药蛋白分离纯化方法

为获得纯度较高的中药蛋白,通常利用蛋白质分子间的结构差异性,如分子量、分子形状、溶解度和电离性质等,对提取得到的粗蛋白进行分离纯化。常见的中药蛋白分离纯化技术主要有萃取技术、膜分离技术、色谱技术等。

3.1 萃取技术

3.1.1 双水相萃取(aqueous two phase extraction, ATPE) 技术 ATPE 取作为一种分离纯化蛋白的新工艺,利用蛋白质在各相中的溶解性质,可将样品中的大部分蛋白质与其他物质分离到上下各相中^[122]。在萃取过程中,蛋白质的萃取率会受到 pH、两相盐浓度及盐的相对分子质量影响^[123]。李亨等^[124]使用 18% PEG 4000、17% (NH₄)₂SO₄ 和 1% NaCl 组成最佳双水相萃取体系,将竹荪多糖与蛋白分离,后又经膜分离透析、离子交换色谱除盐,最终得到纯度为 99% 的竹荪蛋白。Anteck 等^[125]使用由聚乙二醇和磷酸盐组成的双水相体系对蓝藻粗蛋白进行萃取,将其纯化至食品级纯度。双水相萃取法操作简便,原料易得,成本较低^[126],是替代昂贵色谱法用于分离纯化蛋白质的非常有前景的方法,但大规模生产应用还需解决相系统的恢复问题^[127]。

3.1.2 三相萃取法(three-phase partitioning, TPP) TPP 是一种相对新型独特的蛋白分离纯化技术,一般以硫酸铵-叔丁醇的三相萃取体系为基础,能够较好地与其他技术联用,明显提高蛋白质的回收利用率,有助于增强酶的稳定性和催化活性^[128]。Mondal^[129]采用 TPP 优化天花粉蛋白的提取,与传统的溶剂萃取相比,该技术时间更短、效率更高,在 1 h 内蛋白回收率可以达到 98.68%。张喜峰等^[130]采用 TPP 萃取黄参蛋白质,平均蛋白质提取率为 88.71%,显著高于硫酸铵沉淀法的 76.49%。TPP 是一种快速、简单、温和、高效的非色谱蛋白质分离技术,目前已被应用于上游和下游生物分子的纯化过程^[131],其在蛋白质分离纯化领域的广泛使用有待继续开发。

3.2 膜分离技术

膜分离技术是根据底物分子直径大小进行初步分离的技术。根据膜孔径大小可以分为微滤膜、超滤膜、纳滤膜、反渗透膜等,其中超滤是最主要的方法^[132]。超滤技术是一种基于分子大小选择性的分离富集方法,通过对溶液施加压力使得溶质向低渗透压侧移动。超滤膜具有特定孔径大小的筛选功

能,可以通过相对分子质量较小的物质,而将孔径较大的蛋白质保留在膜上,从而实现中药蛋白的分离^[133],现已广泛应用于从粗蛋白水解物中纯化和浓缩低分子质量活性肽^[134]。Fadimu 等^[135]采用超声波对羽扇豆分离蛋白进行预处理,并利用碱性蛋白酶和风味蛋白酶水解羽扇豆分离蛋白制备碱性蛋白酶水解物和风味蛋白酶水解物,利用膜超滤技术将这些水解产物分成 1×10^3 、 5×10^3 、 1×10^4 相对分子质量段,经药理研究后证实了羽扇豆蛋白水解产物中含新型抗高血压肽,有开发降压药物的潜力。

3.3 色谱技术

3.3.1 离子交换色谱法(ion exchange chromatography, IEC) IEC 利用蛋白表面带有负电荷的特性,基于阴离子交换树脂的功能基团与蛋白质静电相互作用的原理,对中药蛋白进一步纯化^[136]。常用于蛋白质分离的离子交换剂有弱酸型的羧甲基纤维素和弱碱型的二乙基氨基乙基纤维素^[137]。沈明娟等^[138]首先将蛋白液 50 mg/mL 过 0.22 μ m 水系膜后,采用离子交换色谱法,控制体积流量为 1 mL/min,用 Tris-HCl 盐缓冲液洗脱至完全出峰,最后以凝胶过滤色谱法分离纯化经硫酸铵沉淀提取得到的核桃致敏蛋白 Jug r 1。Li 等^[139]通过硫酸铵沉淀后,使用 HiTrap Q 离子交换色谱,从牛樟芝中获得具有靶向抗肿瘤活性的蛋白。该方法通常用于蛋白质纯化工艺的中期,能够很好地将目的蛋白质分离,为蛋白质产品的产业化提供了重要保证^[140]。

3.3.2 反相高效液相色谱法(reversed-phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC) RP-HPLC 基于不同多肽组分的疏水性差异,被广泛运用于能溶于极性或非极性溶剂中的有机物的分离,是当今液相色谱最主要的分离模式^[141]。魏玮^[142]通过 RP-HPLC 对地龙蛋白肽进行分离纯化,得到纯度较高且具有抗凝血活性的多肽组分。张颖等^[143]采用 RP-HPLC 对不同花源的蜂蜜蛋白进行特性鉴别。毛晶等^[144]利用 RP-HPLC 筛选松仁谷蛋白中的优质抗氧化成分。反相超高效液相色谱(reversed-phase ultra-performance liquid chromatography, RP-UPLC)是在 RP-HPLC 的基础上发展起来的一种新分离技术,具有分离速度更快、灵敏度更高等优点。为了达到更好的分离纯化效果,液相色谱多与质谱串联使用,可实现多组分的快速分离与鉴定^[133]。

3.3.3 凝胶过滤色谱法(gel filtration chromatography, GFC) GFC 通过凝胶形成的网状结构,利用分子

筛的作用对样品按照相对分子质量大小和形状不同进行分离。根据固定相的不同,可以分为琼脂糖凝胶、聚丙烯酰胺凝胶和葡聚糖凝胶,其中葡聚糖凝胶应用最为普遍^[145]。Ghribi 等^[146]将酶解法提取的鹰嘴豆蛋白产物在 Sephadex G-25 上进行分子量排除色谱分成 4 个主要蛋白成分 (Fra. I、Fra. II、Fra. III 和 Fra. IV), 后又对 Fra. III 进行了反相高效液相色谱分离, 得到 11 个抗氧化组分。在分离过程中, 通过改变溶液条件, 如亲和剂、盐浓度和 pH 值, 可以调控生物大分子与凝胶矩阵之间的相互作用, 以实现更精确的分离效果。

由于分离机制的不同, 还衍生出亲和色谱色法^[147]等新型蛋白分离纯化方法。在亲和色谱中, 非特异结合的成分可以通过洗脱步骤洗去, 而保留目标蛋白。通过改变洗脱条件, 如溶液的离子浓度、pH 值或者使用竞争性配体, 可以使目标分子与亲和基质解离, 从而实现对目标分子的纯化^[148]。亲和色谱技术的优势在于其高选择性和高纯度的分离效果, 能够特异性地捕获和纯化目标蛋白。此外, 亲和色谱还可以应用于复杂混合物的分离与富集, 具有高通量和批量纯化的能力, 通常运用于中药蛋白产业化过程中分离纯化的最后一步。

总体而言, 采用单一分离技术难以得到较好的分离纯化效果, 在实际分离过程中, 要想得到某种活性蛋白单体, 必须联用分离技术。具体方法见表 3。

超滤、色谱等中药蛋白传统的分离纯化技术已较为纯熟, 已广泛应用于食品业、工业等领域^[154]。目前常使用多种方式联用的混合模式色谱技术, 具效率高、蛋白结合量高、选择性好、洗脱条件温和等优势, 可减少对待料的预处理步骤, 从而提高分离效率^[155]。未来仍需改良分离纯化手段, 确保快速获得目标产物的同时进一步降低成本, 以运用于大规模工业化生产。

4 中药蛋白产业化前景及展望

4.1 中药蛋白研究和应用的不足之处

由于中药蛋白成分与中药材中的其他成分相互作用复杂, 从中药材中提取和纯化中药蛋白仍然存在技术难题, 导致产业化过程中中药蛋白资源的利用率不高。传统提取方法效率低下且成本较高, 而分离技术如亲和色谱、凝胶色谱、反向高效液相色谱等又存在价格昂贵、难度较大、无法大规模使用等问题, 有限的提取方法阻碍了中药蛋白产业化的

表 3 中药蛋白分离纯化联用技术

Table 3 Combined technology for separation and purification of TCM protein

中药蛋白来源	分离纯化方式	文献
竹荪	双水相萃取、超滤、DEAE-琼脂糖凝胶 FF 离子交换色谱	124
牡蛎	Sephadex G-25 凝胶过滤色谱	133
山药	DEAE -52 阴离子交换色谱、Sephadex G-100 凝胶过滤色谱	149
枸杞	DEAE-52 阴离子交换色谱、Sephadex G-25 凝胶过滤色谱	150
紫苏	超滤、DEAE-32 离子交换色谱、Sephadex G-25 凝胶过滤色谱	151
决明子	阴离子交换色谱、C ₁₈ 反相高效液相色谱	152
黑木耳	DEAE-52 离子交换色谱、Sephadex G-75 凝胶过滤色谱	153

发展。因此, 亟须进行传统工艺的改良精进和技术的革新, 以期达到快速、高效、精确且节能的效果, 提升中药蛋白资源的利用率。

为推进中药蛋白资源产业化的进一步发展, 还需不断完善中药蛋白的资源价值发现、结构鉴定、作用机制等方面的基础研究。中药蛋白兼具结构的复杂性和成分的多样性, 目前中药蛋白常用的结构解析方法耗时多、成本高且不适用所有蛋白, 致使中药蛋白资源难以进一步地开发利用。虽然中药蛋白在临床上展现出一定的疗效, 但其具体作用机制还不够明确, 对于中药蛋白作用靶点和机制通路的认识有限, 以至于在药品开发和临床应用上有所停滞。

中药蛋白存在许多潜在的开发价值, 尤其在药用、保健以及饲用价值方面, 但仅有少数用于实际生产。近年来, 基于天然资源非药用部位的饲用价值研究已成行业热点, 但主要集中在多糖、生物碱、有机酸等中药成分的功能研究^[81], 对蛋白资源类成分的研究相对较少, 致使中药蛋白无法得到合理运用, 亟须进一步创新与开发。

中药蛋白质产品的生产面临着多方面的挑战, 其中蛋白质的稳定性受到多种因素的影响, 容易受外界因素影响而失活。因此, 需要针对生产过程中的不同环节进行稳定性评估和质量控制。当前中药蛋白尚缺乏比较系统的质量评价体系, 需要开发专属性强、切实可行的质量控制方法。相比于化学药物, 中药蛋白的质量在市场上的认可度不够高, 中

药蛋白的疗效和安全性缺乏足够的临床验证和科学研究支持,影响了其在医学领域的认可度。

4.2 中药蛋白资源产业化策略

中药蛋白行业正处于由传统中药向现代化产业化的转型发展中,为实现产业链可持续加速发展,

需要不断优化现代生物科学技术手段来提高中药蛋白的利用率,解析蛋白结构和阐明作用机制,从而实现中药蛋白的高值化利用。如图 2 所示,中药蛋白产业链主要分为 7 大板块:原料选择、加工处理、提取纯化、功能改良、制品开发、品质控制和市场推广。

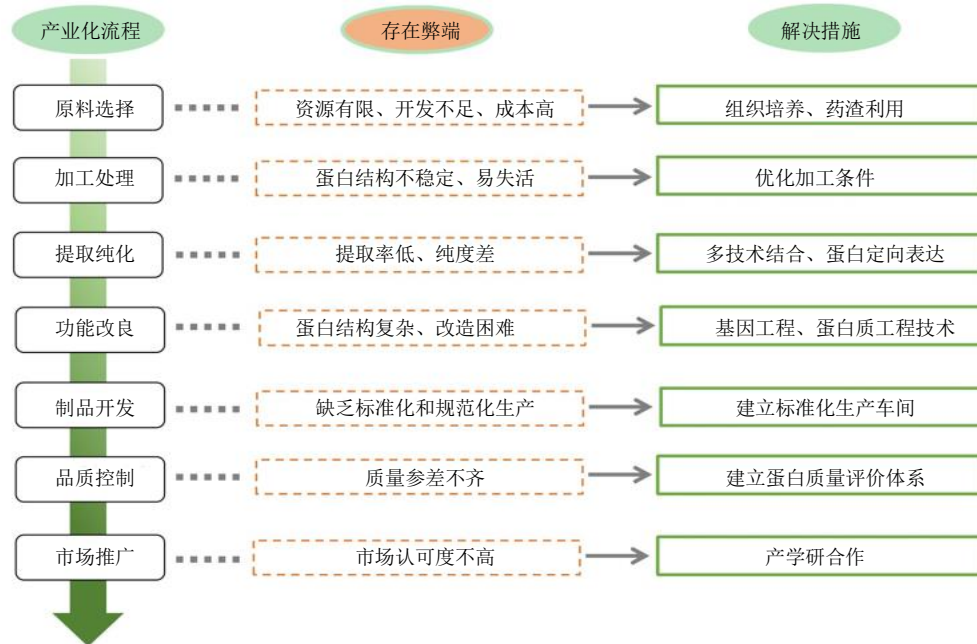


图 2 中药蛋白产业化策略

Fig. 2 Strategy of TCM protein industrialization

中药蛋白原材料的选择环节通常存在资源有限、开发不足和成本高的问题,要想对富含蛋白的中药材品种进行规范栽培,组织培养是打破传统培育方法的主要途径^[156]。组培技术可以短期内制备大量同一类型的细胞或组织用于中药活性蛋白的生产,可有效解决原料不足的问题,同时能保障产品质量的稳定性,且生产效率更高、成本更低。分子农业是利用分子生物学方法在植物中表达外源基因,助力农作物生长或者获取附加生物制品^[157]。植物生物反应器的应用是分子农业的重要组成部分,可用来生产重组蛋白和生物活性物质等,如疫苗、医用蛋白、工农业用酶以及其他次生代谢产物^[158]。植物生物反应器不存在动物细胞培养困难、培养基昂贵等问题,适用于商业化生产,大大降低了植物生产的蛋白制剂成本^[159]。随着成簇的规律间隔的短回文重复序列技术 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)、核糖核酸干扰技术 (RNA interference, RNAi) 等技术的发展,结合植物基因组实现精确性和针对性的基因编辑,对于中药蛋白在工业、农业和医药领域的大规模生产

具有重要意义^[160]。除此之外,一些药渣中也富含蛋白质,可以用于开发蛋白饲料^[161]。

对于加工处理环节中蛋白质受环境因素影响导致结构不稳定的问题,可以通过调整温度、pH 等加工条件,保护中药蛋白结构的稳定性。对于提取纯化环节中存在的提取率低、纯度差等技术瓶颈问题,单一技术对蛋白的分离纯化效果可能不佳,需要结合蛋白的特性联用多种分离纯化技术^[162],还可以利用生物技术手段如重组蛋白表达系统^[163]实现对中药蛋白的定向表达,进一步提高中药活性蛋白的纯度。中药蛋白具有多级结构,在功能改良环节存在困难,可以采用基因工程、蛋白工程等现代技术手段,改变蛋白质的氨基酸序列、进行翻译后修饰以改变蛋白质的物理化学性质来调节蛋白质稳定性^[164]。在中药蛋白的制品开发环节中,亟须建立标准化生产车间,以解决缺乏标准化和规范化生产的问题。对于品质控制环节中质量参差不齐的问题,建立一套灵敏度高、专属性强的中药蛋白质量评价体系尤为重要^[165]。合理应用现代生物技术如细胞工程、发酵工程和酶工程等,有助于大幅提高中药蛋白的产

量及品质^[166]。为加强蛋白质药物生产标准与质量控制水平,企业应不断探索新技术,建立和完善相应的生产许可和质量管理标准。对于市场认可度和竞争力不高的问题,要加强产学研合作,不断挖掘中药蛋白的潜在价值,同时迎合国际市场对多样化和符合国际标准的蛋白质药物的需求,不断推动中药蛋白产业化向前发展。

鉴于中药蛋白的优质特性以及中医药市场蓝海广阔,其产业化前景是十分乐观的。例如高桑蛋白的饲料可以缓解我国高蛋白饲料的短缺状况^[167],刺槐和紫芋制备叶蛋白浓缩物可以作为膳食补充剂缓解粮食危机^[168],苜蓿叶蛋白添加到面条或面包中可以改善口感^[169],海地瓜胶原蛋白肽可以制备保湿效果很好的润肤霜^[170],这将有助于促进中药蛋白资源产业的多元化和高质量发展^[171]。

4.3 展望

随着人们对生命健康的关注度不断提高,中药作为一种传统的医药资源,具有独特的优势和潜力,中药蛋白产业化前景非常广阔,有望为中药的现代化发展带来新的机遇和突破。产业化前景主要体现在以下几个方面。

4.3.1 市场需求增长 据统计显示,全球植物蛋白市场在 2022 年的市场容量达到 866.53 亿元,预测全球植物蛋白市场规模在 2028 年将会以大约 6.17% 的年均复合增长率达到 1 244.01 亿元。同时,随着人们观念从单一对疾病的治疗转移到注重身体的功能性保健,各种慢性病、老年病等疑难杂病增多,以及认识到西药的不良反应^[172],市场对天然、绿色、健康产品的需求逐渐增加。中药蛋白作为一种天然药物资源,尤其是在免疫调节、抗肿瘤等领域受到了广泛的关注。

4.3.2 技术进步 起初,利用酸、碱、盐等溶液对蛋白质进行初步分离处理;之后,电泳和色谱的出现推动了蛋白纯化技术的发展;随着膜分离技术的进步,蛋白质分离富集和纯化速度再次提高;近年来,生物技术和计算机技术的快速发展,使得中药蛋白的提取纯化和制备技术不断改进。另外,在分离纯化复杂样品时,可以综合利用目标产物的理化特性,联用多种分离技术以获得高纯度目标产物^[173]。除此以外,蛋白结构功能鉴定、作用机制发现等技术的进步均助力中药蛋白的深入研究,提升了中药蛋白的应用可能性。

4.3.3 国家政策支持 2021 年,国家陆续规范重组

胶原蛋白的分类、命名等行业标准。2022 年,《“十四五”生物经济发展规划》提出推动重组蛋白等生物药的发展。一直以来,国家政策大力支持蛋白产业发展,为中药蛋白行业提供了良好的环境和机遇。为响应国家号召,拓宽蛋白资源、助力产业发展是一条大有前景的道路。

4.3.4 国际市场拓展 纵观全球市场,欧美蛋白产业起步早,而中国蛋白产业市场份额占比不高,有很大的提升空间。经过多年发展,中医药获得越来越多国家和人民的认可,在国际传统医学领域的话语权和影响力也得到显著提升^[174],中药蛋白产业有望在国际市场上实现更广阔的发展。

总的来说,中药蛋白相关产品处于生命健康产业的上游,后疫情时代如何更好地合理运用中药蛋白是人们所期待的^[175],但下面面临的问题与挑战依然巨大,如蛋白提取和纯化技术的创新瓶颈、质量控制及安全性评价难以统一、市场推广及竞争存在压力等。为此,必须提升科研创新、加强标准规范、鼓励产学研合作共赢,以期实现中药蛋白的产业化和市场化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Feng Y L, Yin Z F, Zhang D, *et al.* Chinese medicine protein and peptide in gene and cell therapy [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(3): 251-264.
- [2] Villacis-Chiriboga J, Prandi B, Ruales J, *et al.* Valorization of soursop (*Annona muricata*) seeds as alternative oil and protein source using novel de-oiling and protein extraction techniques [J]. *LWT*, 2023, 182: 114777.
- [3] Pan W, Du J, An L P, *et al.* Sika Deer velvet antler protein extract modulates bone metabolism and the structure of gut microbiota in ovariectomized mice [J]. *Food Sci Nutr*, 2023, 11(6): 3309-3319.
- [4] Zhang S P, Zheng H Y, Zhang R, *et al.* Extraction optimization and antioxidant activity evaluation of se-enriched walnut proteins [J]. *Food Processing Preservation*, 2022, 46(7): e16719.
- [5] 王梓杭, 范秀芝, 姚芬, 等. 香菇蛋白的提取工艺优化、功能特性及氨基酸评价 [J]. *现代食品科技*, 2023, 39(6): 186-194.
- [6] 叶小彤. 基于生物信息学的中药蛋白质成分作用机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [7] Sun S Q, Zhang K, Wang Y L, *et al.* Pharmacodynamic structure of Deer antler base protein and its mammary gland hyperplasia inhibition mechanism by mediating Raf-1/MEK/ERK signaling pathway activation [J]. *Food*

- Funct*, 2023, 14(7): 3319-3331.
- [8] Zhao Y C, Yu S T, Wang Y, *et al*. Pueraria protein extract inhibits melanogenesis and promotes melanoma cell apoptosis through the regulation of MITF and mitochondrial-related pathways [J]. *Mol Med Rep*, 2023, 27(3): 64.
- [9] 祁芳, 杜昕, 张丽, 等. 桑叶蛋白饮料的研制 [J]. 食品工业, 2021, 42(10): 68-73.
- [10] 赵金标, 孙志强, 刘岭. 棉籽蛋白营养价值及其在仔猪饲料中的应用前景 [J]. 动物营养学报, 2023, 35(10): 6121-6128.
- [11] 符汉梅, 谢雨潇, 程文杰, 等. 核桃饼(粕)在畜禽饲料应用中的研究进展 [J]. 饲料工业, 2023, 44(22): 17-21.
- [12] 杨光, 苏芳芳, 李新月, 等. 从中药营养物质活性探讨中医药发展 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(12): 2295-2301.
- [13] 涂俊铭, 王碧, 夏险. 蛹虫草生物活性成分及药理作用研究进展 [J]. 食用菌, 2020, 42(6): 4-7.
- [14] 黄佳, 王浩锦, 伍强, 等. 灵芝活性蛋白和多肽研究进展及展望 [J]. 菌物研究, 2022, 20(2): 79-86.
- [15] Jäger R, Zaragoza J, Purpura M, *et al*. Probiotic administration increases amino acid absorption from plant protein: A placebo-controlled, randomized, double-blind, multicenter, crossover study [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2020, 12(4): 1330-1339.
- [16] Houston D K, Tooze J A, Garcia K, *et al*. Protein intake and mobility limitation in community-dwelling older adults: The health ABC study [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2017, 65(8): 1705-1711.
- [17] 张晓薇, 弓强, 彭晓夏. 不同产地黄芪种子蛋白质和氨基酸的含量测定及营养分析 [J]. 农产品加工, 2023(12): 43-46.
- [18] 王海东, 张红印, 曹璐, 等. 五味子四种组分蛋白结构、理化性质和功能特性比较 [J]. 食品与发酵工业, 2022, doi: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033949.
- [19] 李续娥, 李维凤, 裴渭静. 酸枣仁与缬苁仁的蛋白质分析 [J]. 中草药, 2002, 33(1): 26-28.
- [20] 朱艳, 姜盛, 李明亮, 等. 紫苏籽蛋白对免疫力低下小鼠免疫调节功能的研究 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(21): 322-326.
- [21] 刘云. 桃仁油脂及蛋白的综合利用研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [22] 温浩辉, 崔春, 刘鹏展. 火麻仁蛋白的组成、功能特性及提取方法研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2022, 35(4): 28-31.
- [23] 刘盼, 张艳欣, 黎冬华, 等. 基于近红外模型的芝麻核心种质油脂和蛋白质含量变异分析 [J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(6): 722-729.
- [24] Güven İ. Effect of species on nutritive value of mulberry leaves [J]. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2012, 18(5): 865-869.
- [25] 黄诚, 尹红. 基于超声波辅助法的杜仲籽蛋白提取工艺优化 [J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2014, 35(1): 78-82.
- [26] 孙元琳. 当归多糖的制备、结构分析和抗辐射效应研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [27] 李莹莹, 吴彩娥, 杨剑婷, 等. 白果蛋白质提取及 SDS-PAGE 分析 [J]. 食品科学, 2010, 31(22): 36-40.
- [28] 赵荣生, 孙锡南, 王鑫, 等. 桑叶蛋白提取工艺优化及其酶解蛋白体外抗氧化活性 [J]. 食品研究与开发, 2022, 43(22): 138-144.
- [29] 王鲁黔. 山核桃仁中脂肪酸分析和多肽的制备及活性研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2019.
- [30] Liu Y M, Lin K W. Antioxidative ability, dioscorin stability, and the quality of yam chips from various yam species as affected by processing method [J]. *J Food Sci*, 2009, 74(2): C118-C125.
- [31] 田晖, 冯瑞娟, 章伟标, 等. 脱病毒半夏中半夏蛋白的含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2064-2065.
- [32] 张浩. 人参活性成分蛋白质、氨基酸、有机酸及核苷类成分研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [33] 王若晨. 天麻多肽提取物抗外阴阴道假丝酵母菌病及其抑菌机制的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2021.
- [34] 冯帅, 李峰, 王心. 50 种中药总蛋白含量与寒热药性的相关性研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(8): 1412-1414.
- [35] 张波, 刘红燕, 李佳, 等. 基于植株性别差异的天花粉多糖、蛋白质含量比较 [J]. 中国药师, 2014, 17(4): 617-619.
- [36] 石森林, 王黎霞. Folin-酚试剂法测定蕲蛇蛇毒的蛋白含量 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(9): 650.
- [37] Šimat V, Elabed N, Kulawik P, *et al*. Recent advances in marine-based nutraceuticals and their health benefits [J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(12): 627.
- [38] 余晓东, 张青青, 唐业忠. 黑点蛤蚧与红点蛤蚧微量元素及氨基酸含量的比较 [J]. 中国生化药物杂志, 2000, 20(2): 84-85.
- [39] 上官海燕, 吕佩惠, 盛振华, 等. 土鳖虫质量优化前后主要成分的分析 [J]. 齐鲁药事, 2009, 28(1): 26-27.
- [40] 曾晓艳, 郑沛, 曹玮龙, 等. 五步蛇毒化学成分分析及抗肿瘤活性筛选研究 [J]. 中国药师, 2022, 25(3): 439-444.
- [41] 谢柳倩, 赵灵灵, 袁建娜, 等. 蜈蚣蛋白水解产物 ACE 抑制活性的初步研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(10): 2214-2218.
- [42] 刘其凤, 任慧霞. 鸡内金蛋白质类成分的提取与测定 [J]. 华西药学杂志, 2004, 19(4): 281-282.
- [43] 占今舜, 邢月腾, 张彬. 新型蛋白饲料: 蚯蚓的应用前

- 景 [J]. 粮食与饲料工业, 2012(11): 48-50.
- [44] 陈成波, 袁学会, 陈政, 等. 三斑海马液化蛋白的提取及抗氧化研究 [J]. 中国热带医学, 2011, 11(3): 329-331.
- [45] 张怡. 哈蟆油蛋白质组学分析及多肽的制备工艺与生物活性的初步研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2021.
- [46] 王响. 鹿茸蛋白对 LPS 诱导的肠道炎症小鼠的保护作用 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2021.
- [47] 马琳. 动物药水蛭酒炙炮制工艺研究 [D]. 锦州: 锦州医科大学, 2016.
- [48] 曹苇, 冯娅婷, 谭成玉. 牡蛎蛋白及肽的研究进展 [J]. 精细与专用化学品, 2020, 28(4): 5-8.
- [49] 朱雪妍, 韦建华, 韦汉燕, 等. 动物药中蛋白和多肽的研究与开发 [J]. 广西中医学院学报, 2005, 8(1): 68-71.
- [50] 包华音. 中药壁虎质量控制关键技术与质量评价体系研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- [51] 付佳乐, 庞来祥, 郭涛. 药对钩藤、全蝎的提取工艺研究 [J]. 现代中医药, 2010, 30(3): 83-85.
- [52] 李晶峰, 郅慧, 杨小倩, 等. 响应面法优化龟甲蛋白提取工艺及其对 MC3T3-E1 细胞增殖活性 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(2): 302-309.
- [53] 刘玉杰, 胡美变, 何丽英, 等. 基于抗小鼠惊厥和成分分析探讨僵蚕粉末入药的合理性 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(18): 1851-1856.
- [54] 毛银雪. 不同产地与基源石决明质量评价与煅制过程变化研究 [D]. 连云港: 江苏海洋大学, 2022.
- [55] 程红, 鲜洁晨, 洪燕龙, 等. 蛋白类药用辅料的应用进展 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(3): 205-212.
- [56] 郑洁. 胶类中药蛋白质的分析及鉴定研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- [57] Tan Y, Xiang J Y, Huang Z X, *et al.* Trichosanthin inhibits cell growth and metastasis by promoting pyroptosis in non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Dis*, 2022, 14(4): 1193-1202.
- [58] Wang K F, Wang X N, Zhang M H, *et al.* Trichosanthin promotes anti-tumor immunity through mediating chemokines and granzyme B secretion in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1416.
- [59] Cao T Q, An H X, Ma R J, *et al.* Structural characteristics of a low molecular weight velvet antler protein and the anti-tumor activity on S180 tumor-bearing mice [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 131: 106304.
- [60] 徐大众, 马高兴, 马宁, 等. 蛹虫草免疫调节蛋白分离纯化、结构表征与免疫调节活性研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(12): 100-108.
- [61] Hu X J, Dai Z Y, Jin R Y. Purification and identification of a novel angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from the enzymatic hydrolysate of *Lepidotrigla microptera* [J]. *Foods*, 2022, 11(13): 1889.
- [62] 张瑾莉, 徐敏, 杨希, 等. 栝楼籽蛋白酶解物的体外抗氧化及降血压活性 [J]. 长春工业大学学报, 2022, 43(2): 181-186.
- [63] 刘丹丹. 核桃蛋白的抗氧化与降血压活性评价及酶解必要性研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
- [64] Li L S, Ma Y M, He G Y, *et al.* Pilose antler extract restores type I and III collagen to accelerate wound healing [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2023, 161: 114510.
- [65] 邢欣. 山药蛋白对高糖诱导内皮功能障碍的改善作用及其机制研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.
- [66] 曹天丽, 郝巨辉, 李卫东. 蛋白桑叶中蛋白质提取工艺优化及 6 种蛋白酶酶解物体外降血糖活性分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 232-241.
- [67] 刘洪霞, 舒丹阳, 刘鹏展, 等. 沙棘蛋白的特性及其对 db/db 糖尿病小鼠的降血糖作用 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(7): 309-313.
- [68] 易睿, 张楠, 王皓东, 等. 豆腐柴叶蛋白对实验性 2 型糖尿病小鼠的降血糖作用 [J]. 吉林医学, 2023, 44(3): 581-584.
- [69] 张溪, 弓磊. 抗菌肽抗菌机制及研究热点 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(10): 1634-1640.
- [70] 王雪, 逯家辉, 王雪, 等. 天麻蛋白提取工艺优化及抑菌活性研究 [J]. 中国食品学报, 2018, 18(4): 176-182.
- [71] 印双红, 张俊波, 张孟琴, 等. 德江天麻蛋白对金黄色葡萄球菌的抑制作用研究 [J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2021, 57(6): 88-93.
- [72] 李红艳, 代永霞, 张江华, 等. 人参蛋白对过氧化氢致神经元损伤的保护作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(21): 1906-1910.
- [73] 杨丽萍, 童英, 陈普, 等. 天麻蛋白对 OGD/R 诱导的 HT22 细胞损伤的保护作用及机制研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(4): 1367-1374.
- [74] 肖响, 吴佳芸, 李琳, 等. 鹿茸蛋白对缺血缺氧诱导心肌细胞凋亡的保护作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(4): 460-464.
- [75] 赵志国, 关胜江, 张伟, 等. 蜈蚣酸性蛋白对 AngII 诱导心肌细胞凋亡的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(6): 394-397.
- [76] 苏芳芳, 杨光, 张娇, 等. 基于火麻仁资源综合价值的蛋白提取工艺研究 [J]. 中国粮油学报, 2022, 37(8): 13-19.
- [77] 张月荣, 刘晓丽, 詹海杰, 等. 中药非药用部位在动物生产中的应用 [J]. 饲料研究, 2023, 46(3): 148-153.
- [78] Hou T L, Liu H R, Li C T. Traditional Chinese herb formulas in diet enhance the non-specific immune responses of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and resistance against *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 131: 631-636.
- [79] Byerley L O, Chang H M, Lorenzen B, *et al.* Impact of dietary walnuts, a nutraceutical option, on circulating

- markers of metabolic dysregulation in a rodent cachectic tumor model [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2022, 155: 113728.
- [80] Cui Y Q, Han C, Li S Y, *et al.* High-throughput sequencing-based analysis of the intestinal microbiota of broiler chickens fed with compound small peptides of Chinese medicine [J]. *Poult Sci*, 2021, 100(3): 100897.
- [81] 郭盛, 段金彪, 赵明, 等. 基于药材生产与深加工过程非药用部位及副产物开发替代抗生素饲用产品的可行性分析与研究实践 [J]. *中草药*, 2020, 51(11): 2857-2862.
- [82] 郭盛, 严辉, 钱大玮, 等. 枣属药用植物资源产业化过程副产物及废弃物的资源价值发现与循环利用策略构建 [J]. *南京中医药大学学报*, 2019, 35(5): 579-584.
- [83] Liu Y Y, Li Y H, Xiao Y, *et al.* Mulberry leaf powder regulates antioxidative capacity and lipid metabolism in finishing pigs [J]. *Anim Nutr*, 2021, 7(2): 421-429.
- [84] Chang C H, Chang Y T, Tseng T H, *et al.* Mulberry leaf extract inhibit hepatocellular carcinoma cell proliferation via depressing IL-6 and TNF- α derived from adipocyte [J]. *J Food Drug Anal*, 2018, 26(3): 1024-1032.
- [85] 梁凌云, 韦欢, 吴汉, 等. 蚕沙发酵饲料的生产技术和应用 [J]. *畜牧兽医科技信息*, 2020(7): 36-37.
- [86] 胡佳瑶, 张梅妍, 王振灵, 等. 海马总蛋白提取及其酶解条件优化 [J]. *生物技术进展*, 2017, 7(4): 310-314.
- [87] 唐婷范, 杨杰, 黄芳丽, 等. 不同产地葛根蛋白质提取工艺及其功能性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(9): 32-37.
- [88] Li X F, van der Gucht J, Erni P, *et al.* Core-shell microcapsules from unpurified legume flours [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(31): 37598-37608.
- [89] 王苗, 张红印, 范琳, 等. 葛根蛋白提取工艺及其体外抗氧化性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(1): 73-79.
- [90] 张红印. 酸枣仁蛋白的提取及其生物活性研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2021.
- [91] 陈容, 胡素素, 郑淳坚, 等. 牡丹籽蛋白提取工艺及其多肽应用研究进展 [J]. *现代食品*, 2021(19): 23-27.
- [92] 刘凯, 梁俊玉, 肖引, 等. 磷酸盐法提取杏仁蛋白的工艺研究 [J]. *武警医学*, 2013, 24(9): 783-785.
- [93] 王波. 磷酸盐缓冲液提取山药可溶性蛋白质的工艺优化 [J]. *农技服务*, 2014, 31(11): 69-70.
- [94] 马洪鑫, 刘粟心, 杨许花, 等. 藜麦蛋白质提取工艺优化 [J]. *农业科技与信息*, 2021(6): 52-56.
- [95] Li G, Xu J W, Wang H W, *et al.* Physicochemical antioxidative and emulsifying properties of soybean protein hydrolysates obtained with dissimilar hybrid nanoflowers [J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3409.
- [96] Aondona M M, Ikya J K, Ukeyima M T, *et al.* *In vitro* antioxidant and antihypertensive properties of sesame seed enzymatic protein hydrolysate and ultrafiltration peptide fractions [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(1): e13587.
- [97] 于丽娜. 梅花鹿鹿茸蛋白多肽的提取工艺及其性质研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2019.
- [98] 方齐国, 沈汪洋, 赵梅荣, 等. 荞麦蛋白质的综合研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(8): 185-192.
- [99] 王海东, 韩荣欣, 张红印, 等. Osborne 法分级提取五味子蛋白及抗氧化活性比较 [J]. *食品工业科技*, 2021, 42(23): 59-65.
- [100] 董红影, 王英博, 庞会娜, 等. 葛根蛋白组分提取、抗氧化活性及功能特性研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(5): 164-171.
- [101] 耿正玮, 樊林娟, 张咏梅, 等. 杏鲍菇谷蛋白理化性质及功能特性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(14): 55-62.
- [102] Suhar R A, Marquardt L M, Song S, *et al.* Elastin-like proteins to support peripheral nerve regeneration in guidance conduits [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(9): 4209-4220.
- [103] Chittapun S, Jonjaroen V, Khumrangsee K, *et al.* C-phycocyanin extraction from two freshwater cyanobacteria by freeze thaw and pulsed electric field techniques to improve extraction efficiency and purity [J]. *Algal Res*, 2020, 46: 101789.
- [104] 姜国庆, 闫秋丽, 李东, 等. 螺旋藻中藻蓝蛋白提取、纯化及稳态化研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(6): 2332-2338.
- [105] 蔡苗苗, 陈胜军, 杨贤庆, 等. 舌状蜈蚣藻蛋白质的提取及其抗氧化活性研究 [J]. *南方水产科学*, 2020, 16(2): 99-106.
- [106] 董硕, 蒲洋, 聂岩, 等. 红胞藻藻红蛋白的分离纯化及稳定性研究 [J]. *食品科技*, 2023, 48(4): 230-236.
- [107] 徐远超. 紫球藻培养及合成藻红蛋白工艺研究 [D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2019.
- [108] 王肖肖. 藻类光合作用捕光色素蛋白复合物—藻胆体的结构、性质及功能研究 [D]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2018.
- [109] 孟丹阳, 杜艳, 陈复生. 微藻中蛋白质的提取方法研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(21): 346-357.
- [110] 刘晶. 龙须菜抗氧化肽的制备、分离纯化及结构鉴定 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2021.
- [111] 丛之慧, 李迪, 周法婷, 等. 柠檬籽蛋白提取工艺优化及其不同酶解肽抗氧化活性分析 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(16): 220-229.
- [112] 张品, 朱文秀, 余顺波, 等. 响应面优化紫苏饼粕蛋白提取工艺 [J]. *食品工业*, 2022, 43(1): 38-42.
- [113] 曹向宇, 刘剑利, 芦秀丽, 等. 薏米蛋白提取方法比较研究 [J]. *食品科学*, 2011, 32(8): 88-92.

- [114] 韩丽丽, 杨志伟. 响应面优化超声波提取薏米蛋白工艺 [J]. 粮食与油脂, 2017, 30(12): 73-77.
- [115] 郭宜, 汪卿卿, 吴峰华, 等. 山核桃饼粕蛋白的酶辅助碱法提取工艺优化 [J]. 粮食与油脂, 2023, 36(5): 129-134.
- [116] 杨田. 黄粉虫油脂脱除及蛋白粉制备工艺研究 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2014.
- [117] 李诗颖, 陈琳, 糜心怡, 等. 提取方法对银杏蛋白功能特性及抗氧化活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 37-43.
- [118] 曾丽霞, 王宇, 陈君红, 等. 反胶束体系萃取牡丹籽蛋白的两种工艺比较研究 [J]. 中国油脂, 2016, 41(8): 23-27.
- [119] 王青, 孙金月, 刘超, 等. 响应曲面法优化提取牡丹籽粕蛋白的工艺及应用研究 [J]. 食品工业, 2017, 38(1): 117-121.
- [120] 蒋益, 郑惠华, 刘广建, 等. 冻融辅助碱提法提取蛹虫草蛋白的条件优化 [J]. 食用菌, 2021, 43(4): 70-73.
- [121] 李明. 枸杞叶蛋白提取及应用研究 [D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2020.
- [122] Menegotto A L L, Fernandes I A, Steffens J, et al. Protein purification of *Arthrospira platensis* using aqueous two-phase system composed of polyethylene glycol and potassium phosphate/sodium citrate [J]. *J Appl Phycol*, 2022, 34(1): 311-320.
- [123] 李猛政, 李荣华, 夏岩石, 等. 烟草叶蛋白提取技术研究进展 [J]. 中国烟草科学, 2021, 42(4): 85-91.
- [124] 李享, 王心茹, 张明浩, 等. 高纯度竹荪蛋白的分离纯化及结构鉴定 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2023, 42(2): 187-195.
- [125] Antecka A, Klepacz-Smółka A, Szeląg R, et al. Comparison of three methods for thermostable C-phycoerythrin separation and purification [J]. *Chem Eng Process Process Intensif*, 2022, 171: 108563.
- [126] Matsumoto M, Shinji F, Tahara Y. Extraction of proteins with aqueous two-phase systems formed by protic ionic liquids and inorganic salts [J]. *Solvent Extr Res Dev Jpn*, 2021, 28(2): 141-148.
- [127] Ross K C, Zhang C M. Separation of recombinant β -glucuronidase from transgenic tobacco by aqueous two-phase extraction [J]. *Biochem Eng J*, 2010, 49(3): 343-350.
- [128] Chew K W, Ling T C, Show P L. Recent developments and applications of three-phase partitioning for the recovery of proteins [J]. *Sep Purif Rev*, 2019, 48(1): 52-64.
- [129] Mondal A. A novel extraction of trichosanthin from *Trichosanthes kirilowii* roots using three-phase partitioning and its *in vitro* anticancer activity [J]. *Pharm Biol*, 2014, 52(6): 677-680.
- [130] 张喜峰, 程雯慧, 张春梅. 三相萃取黄参蛋白质及其抗氧化性分析 [J]. 中国酿造, 2019, 38(8): 157-162.
- [131] 王雪莹. 三相萃取法在藻蓝蛋白分离纯化中的应用 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021.
- [132] 张灿. 银杏活性多肽的制备及功能性多肽产品研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2017.
- [133] 郝更新, 曹文红, 郝记明, 等. 超滤法浓缩富集牡蛎蛋白抗氧化活性肽 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(11): 77-80.
- [134] Pan X, Zhao Y Q, Hu F Y, et al. Preparation and identification of antioxidant peptides from protein hydrolysate of skate (*Raja porosa*) cartilage [J]. *J Funct Foods*, 2016, 25: 220-230.
- [135] Fadimu G J, Gan C Y, Olalere O A, et al. Novel antihypertensive peptides from lupin protein hydrolysate: An in-silico identification and molecular docking studies [J]. *Food Chem*, 2023, 407: 135082.
- [136] Ge Y H, Chen Y Y, Zhou G S, et al. A novel antithrombotic protease from marine worm *Sipunculus nudus* [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 3023.
- [137] Gomez F A. Microfluidics in protein chromatography [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 681: 137-150.
- [138] 沈明娟, 李云嵌, 杨曦, 等. 核桃主要致敏蛋白 Jug r 1 的分离纯化、鉴定与分析 [J]. 食品科学, 2023, 44(20): 127-135.
- [139] Li Y Y, Ge J X, Li Y B, et al. Isolation, purification, and antitumor activity of a novel active protein from *Antrodia cinnamomea* liquid fermentation mycelia [J]. *Fermentation*, 2023, 9(2): 185.
- [140] 朱少瑜. 柱层析技术在重组蛋白纯化中的应用 [J]. 当代化工研究, 2022(15): 114-116.
- [141] Sagi-Kiss V, Li Y F, Carey M R, et al. Ion-pairing chromatography and amine derivatization provide complementary approaches for the targeted LC-MS analysis of the polar metabolome [J]. *J Proteome Res*, 2022, 21(6): 1428-1437.
- [142] 魏玮. 地龙蛋白肽的分离纯化、结构鉴定及抗血栓活性研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2022.
- [143] 张颖, 张光艳, 王宇翔, 等. 不同花源蜂蜜蛋白质组分及提取方法的比较 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(14): 91-96.
- [144] 毛晶, 王鹏, 王祖浩, 等. 松仁谷蛋白抗氧化肽的分离纯化及一级结构鉴定 [J]. 食品科学, 2017, 38(3): 59-63.
- [145] 叶昱辉. 近江牡蛎多肽的分离纯化及其抗氧化、抗光老化活性研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [146] Ghribi A M, Sila A, Przybylski R, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate [J]. *J Funct Foods*, 2015, 12: 516-525.

- [147] 陈昱初, 赵露, 徐希明, 等. 亲和色谱及其数学模型在中药活性成分研究中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1): 40-47.
- [148] Doltade S, Saldanha M, Patil V, *et al.* Statistically-aided development of protein A affinity chromatography for enhancing recovery and controlling quality of a monoclonal antibody [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2023, 1227: 123829.
- [149] 段浩. 山药蛋白质分离纯化及抗氧化活性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [150] 李松林, 林静, 蒋长兴, 等. 枸杞多肽的制备及其抗氧化活性研究 [J]. 轻工学报, 2016, 31(6): 31-37.
- [151] 范三红, 贾槐旺, 李兰, 等. 紫苏籽粕蛋白源抗氧化肽的纯化、结构鉴定及体外抗氧化活性 [J]. 中国粮油学报, 2022, 37(3): 79-87.
- [152] 李续娥, 杨水云, 赵文明. 中药决明子蛋白质的提取分离及部分一级结构的测定 [J]. 西安交通大学学报, 2001, 35(7): 764-767.
- [153] 毕海鑫, 林雨泽, 孟桥, 等. 黑木耳胶原蛋白酶法提取及分离纯化研究 [J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(9): 56-65.
- [154] Marcet I, Ridella F, Díaz M, *et al.* New processes to extract and purify phosvitin by using aqueous salt solutions, precipitation and ultrafiltration techniques [J]. *Separations*, 2023, 10(7): 407.
- [155] 王仕杰, 薛彦晓, 靳海波, 等. 混合模式色谱介质的制备及其在蛋白分离纯化中的应用 [J]. 当代化工研究, 2022(4): 1-6.
- [156] 刘晓鹏, 王锋, 赵黎明, 等. 药用植物组织培养研究进展 [J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2019, 37(1): 13-18.
- [157] Fischer R, Buyel J F. Molecular farming-The slope of enlightenment [J]. *Biotechnol Adv*, 2020, 40: 107519.
- [158] Huebbers J W, Buyel J F. On the verge of the market - Plant factories for the automated and standardized production of biopharmaceuticals [J]. *Biotechnol Adv*, 2021, 46: 107681.
- [159] Dent M, Hurtado J, Paul A M, *et al.* Plant-produced anti-dengue virus monoclonal antibodies exhibit reduced antibody-dependent enhancement of infection activity [J]. *J Gen Virol*, 2016, 97(12): 3280-3290.
- [160] 邹奇, 潘炜松, 邱健, 等. 植物生物反应器优化策略与最新应用 [J]. 中国生物工程杂志, 2023, 43(1): 71-86.
- [161] 李淑楠, 金慧, 倪开岭, 等. 酶解水蛭地龙混合药渣的工艺研究及其产物的抗凝活性评价 [J]. 天津中医药, 2022, 39(3): 392-396.
- [162] 杨文清, 黄秀芳, 陈耀兵, 等. 植物源生物活性肽的研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(1): 270-278.
- [163] 范翠英, 冯利兴, 樊金玲, 等. 重组蛋白表达系统的研究进展 [J]. 生物技术, 2012, 22(2): 76-80.
- [164] Lee J M, Hammaren H M, Savitski M M, *et al.* Control of protein stability by post-translational modifications [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 201.
- [165] 郭晓晗, 程显隆, 李明华, 等. 鹿茸的化学成分及质量控制方法研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(4): 551-565.
- [166] Wei Y, Thypambil A A, Latour R A. Quantification of the influence of protein-protein interactions on adsorbed protein structure and bioactivity [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, 110: 363-371.
- [167] Liu J X, Yao J, Yan B, *et al.* Effects of mulberry leaves to replace rapeseed meal on performance of sheep feeding on ammoniated rice straw diet [J]. *Small Rumin Res*, 2001, 39(2): 131-136.
- [168] Rathore M. Leaf protein concentrate as food supplement from arid zone plants [J]. *J Diet Suppl*, 2010, 7(2): 97-103.
- [169] 谢正军. 苜蓿叶蛋白和酶法制备抗氧化肽的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [170] 朱洪珍. 海地瓜胶原蛋白多肽的提取及其在化妆品中的应用 [D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [171] 李会伟, 郭盛, 王强雄, 等. 中药资源植物提取物饲料添加剂产业发展现状分析及其展望 [J]. 中草药, 2023, 54(12): 3745-3758.
- [172] 柳慧萍. 关于如何提高中药市场竞争力的几点思考 [J]. 吉林中医药, 2002, 22(2): 58.
- [173] 吕微, 蒋剑春, 徐俊明. 蛋白质提取及分离纯化研究进展 [J]. 精细石油化工进展, 2010, 11(11): 52-58.
- [174] 朱晓静. 中医药政策变迁的历史脉络与演进逻辑: 基于《人民日报》关于中医药报道的文本分析 [J]. 南京中医药大学学报: 社会科学版, 2023, 24(3): 160-166.
- [175] Du M, Hou Z, Liu L, *et al.* Progress, applications, challenges and prospects of protein purification technology [J]. *Front Bioeng Biotech*, 2022, 10: 1028691.

[责任编辑 王文倩]