

不同干燥方法 对金针菇多糖抗氧化活性的影响

陈义勇,李家祺,赵圆圆,陈 慧,顾冰飞,李一天,赵 培
(常熟理工学院生物与食品工程学院,江苏常熟 215500)

摘要:以金针菇为原料,利用传统水提法提取金针菇多糖(polysaccharides from *Flammulina velutipes*, FVP),分别对传统热风干燥多糖(FVP-H)、真空干燥多糖(FVP-V)和冷冻干燥多糖(FVP-F)的成分和抗氧化活性进行研究。结果表明,FVP为酸性多糖,不同干燥方法对其单糖种类没有影响,但会改变单糖的构成比例和糖醛酸含量,FVP-H、FVP-V和FVP-F相对分子质量变化不明显,分别为2342309、2375843和2358437 Da。FVP-H、FVP-V和FVP-F具有较强的清除DPPH自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基的能力和还原力,在一定浓度范围内,多糖与抗氧化活性及还原能力之间呈正相关关系,干燥方法对FVP抗氧化活性具有不同的影响,其中FVP-F抗氧化活性最强,其次是FVP-V和FVP-H,冷冻干燥是制备FVP适宜的干燥方法。

关键词:金针菇多糖,干燥方法,抗氧化活性

Effect of different drying methods on antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Flammulina velutipes*

CHEN Yi-yong, LI Jia-qi, ZHAO Yuan-yuan, CHEN Hui, GU Bing-fei, LI Yi-tian, ZHAO Pei

(School of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China)

Abstract: *Flammulina velutipes* was used as raw materials. Polysaccharides from *Flammulina velutipes* (FVP) were extracted using conventional water extraction. FVP-H, FVP-V and FVP-F were obtained with hot-air drying, vacuum drying and freeze drying, respectively. Component and antioxidant activities of FVP-H, FVP-V and FVP-F were investigated. The results showed that FVP were acidic polysaccharides. Different drying methods had no effect on the monosaccharide species. However, it could change the monosaccharide composition and uronic acid content. The relative molecular weight of FVP-H, FVP-V and FVP-F were not obvious, which were 2342309, 2375843 and 2358437 Da, respectively. FVP-H, FVP-V and FVP-F had a stronger scavenging ability of DPPH radical, hydroxyl radical, superoxide anion free radical and reducing power. In a certain concentration range, FVP were positively correlated with the antioxidant activity and reducing capacity. Different drying methods had different effects on the antioxidant activity of FVP. FVP-F had highest antioxidant activities, followed by FVP-V and FVP-H. Freeze-drying was the best drying method for preparation of FVP.

Key words: polysaccharides from *Flammulina velutipes*; drying methods; antioxidant activity

中图分类号:TS255.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2017)18-0040-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.008

金针菇(*Flammulina velutipes*)又名朴菇、冬菇,隶属口蘑科金钱菌属,已发展成为世界第三大食用菌^[1]。现代研究表明,金针菇多糖(Polysaccharides from *Flammulina velutipes*, FVP)具有增强免疫力^[2]、护肝^[3]、抗肿瘤^[4]、改善记忆^[5]等功效。

不同干燥方法由于传热、受热及失水等因素可能会改变多糖的结构进而影响多糖生物活性^[6]。吴振等^[7]研究了不同干燥方式对银耳多糖理化特性及抗氧化活性的影响,Fan等^[8]研究了不同干燥方法对灵芝多糖抗氧化活性的影响,结果表明干燥方式对

多糖的生物活性有显著的影响。干燥方法对金针菇多糖抗氧化活性的影响研究报道较少,本文考察热风干燥、真空干燥和冷冻干燥等三种干燥方法对FVP的化学组成及抗氧化活性的影响,筛选出一种最适合FVP的干燥方法,旨在为FVP工业制备提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金针菇 张家港市常兴菌业有限公司;对氨基苯磺酸、盐酸奈己二胺 国药集团化学试剂有限公

收稿日期:2017-02-07

作者简介:陈义勇(1974-),男,博士,副教授,研究方向:食品科学与天然活性成分,E-mail:chenyyxp@126.com。

基金项目:国家星火计划项目(2014GA690011);张家港市科技支撑计划(农业)项目(ZKN1304)。

司;铁氰化钾 上海强顺化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-苦苯肼(DPPH) 上海楷洋生物技术有限公司;邻苯三酚、双氧水、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、盐酸、无水乙醇、甲醇、丙酮、苯酚、硫酸亚铁、水杨酸、维生素C、三氯乙酸、亚硝酸钠、正丁醇、氯仿、石油醚等试剂 均为分析纯。

Alpha 1-2 LD 冷冻干燥机 德国 CHRIST 公司;722 分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司;HK-20B 密封式粉碎机 广州市旭朗机械设备有限公司;CR22G II 高速冷冻离心机 日本 HITACHI 公司;DHG-9030A 电热恒温鼓风干燥箱 上海三发科学仪器有限公司;SHB-B95 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;RE-52A 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器有限公司;GC-14A 气相色谱仪 日本 Shimadzu 公司;HH-2 智能数显恒温水浴锅 金坛市杰瑞尔电器有限公司;Waters600 高压液相色谱仪 美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 FVP 的提取 用蒸馏水清洗新鲜金针菇,将水沥干后在 60 ℃ 条件下真空干燥 12 h,然后机械粉碎,过 100 目筛,用石油醚将金针菇粉在 70 ℃ 条件下脱脂回流 2 次,每次 3 h,然后用体积分数为 95% 乙醇洗涤 2 次,以除去一些色素、单糖、低聚糖和其他一些小分子物质,抽滤除去溶剂后,60 ℃ 条件下真空干燥 24 h 得到金针菇粉末样品备用。称取 100 g 样品粉末于磨口锥形瓶中,加入 3000 mL 蒸馏水,在恒温水浴 80 ℃ 下提取 6 h,提取液在 4000 r/min 条件下离心 20 min,上清液经过旋转蒸发浓缩(加热温度 50 ℃,旋转速度 50 r/min,真空度 1.5 MPa,浓缩时间 8 h)。浓缩液采用 Sevage 法去蛋白(6 次),将浓缩液采用聚酰胺吸附柱层析法进一步纯化,用蒸馏水洗脱,得到洗脱液,洗脱液透析 24 h,浓缩透析袋中多糖提取物,加入 4 倍体积 95% 乙醇,4 ℃ 过夜后离心(4000 r/min),沉淀即为精制 FVP。

1.2.2 FVP 的干燥 采用热风干燥、真空干燥和冷冻干燥分别得到热风干燥多糖(Hot-air drying FVP, FVP-H)、真空干燥多糖(Vacuuming drying FVP, FVP-V)和冷冻干燥多糖(Freezing drying FVP, FVP-F)。热风干燥干燥条件:温度 70 ℃,风速 2.0 m/s,干燥时间 16 h。真空干燥干燥条件:温度 50 ℃,真空度 0.07 MPa,干燥时间 12 h。冷冻干燥条件:温度-50 ℃,压力 0.06 MPa,干燥时间 48 h,经过三种方式干燥后的 FVP 为棕黄色粉末,水分含量 ≤5%。

1.2.3 FVP 成分分析 中性糖含量测定以葡萄糖为对照品,采用苯酚-硫酸法^[9],蛋白质含量的测定以牛血清白蛋白为标准品,采用福林-酚法^[10],糖醛酸含量测定以半乳糖醛酸为对照品,采用间羟联苯法^[11]。

1.2.3.1 FVP 单糖组成 取多糖样品 10 mg 于具塞管中,加入 2 mol/L 的三氟乙酸(TFA)溶液 2 mL 真空封管后于 121 ℃ 水解 1 h,水解液除尽过量的 TFA 后,真空干燥。采用糖腈乙酸酯衍生化法,加 10 mg

盐酸羟胺、适量肌醇(内标)和 0.5 mL 吡啶,90 ℃ 加热 30 min 后,取出冷却至室温,加入 0.5 mL 醋酸酐,90 ℃ 下继续反应 30 min 进行乙酰化,反应产物直接进行气相色谱分析。

色谱条件:采用 OV1701 弹性石英毛细管柱(Φ0.32 mm×30 m),载气为 N₂,流速 1.5 mL/min, FID 氢焰检测器,气化室温度 260 ℃,检测器温度 250 ℃,采用程序升温:起始温度 150 ℃,停留 1 min,以 10 ℃/min 升温至 190 ℃,停留 1 min,以 3 ℃/min 升温至 240 ℃,停留 20 min。

1.2.3.2 FVP 相对分子质量测定 将相对分子质量为 6100、26290、84000、158000 和 291000 的标准 Dextran 相继进样,采用高效液相色谱(HPLC)记录保留时间 TR,以 TR 为横坐标,lgM 为纵坐标绘制标准曲线,求得回归方程 $\lg M = 13.0 - 0.467 TR$ 。将 FVP-H、FVP-V 和 FVP-F 多糖溶液(2 mg/mL)进样 20 μL,根据所得 TR,通过回归方程计算不同干燥多糖的相对分子质量。色谱柱:Waters UltrahydrogelTM Linear(Φ7.8 mm×300 mm),检测器:Waters2410 示差折光检测器,以 0.1 mol/L 的 NaNO₃ 为流动相,流速 0.9 mL/min,柱温 45 ℃。

1.2.4 抗氧化活性测定

1.2.4.1 清除羟基自由基的测定 根据 Wang 等^[12]方法并稍作改进,研究 FVP 对羟基自由基的清除作用。取不同浓度的多糖样液(0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/mL)各 1.0 mL,分别加入硫酸亚铁(9.0 mmol/L)和 1.0 mL 水杨酸-乙醇(9.0 mmol/L),对照组以 1.0 mL 去离子水代替多糖样液,最后加 1.0 mL 过氧化氢溶液启动反应。将反应溶液在 37 ℃ 恒温水浴 30 min,在 510 nm 波长处测定吸光度,记为 A₁;以去离子水代替多糖样液来重复以上操作,在 510 nm 波长处测得吸光度,记为 A₀;以去离子水代替过氧化氢溶液重复上述操作,在 510 nm 波长处测其吸光度,记为 A₂。三种样品分别测定,V_c 作为阳性对照,代替多糖样品液同样进行测定,样品平行测定 3 次取平均值,按下式计算·OH 的清除率:

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

式中:A₁ 表示加多糖样品的吸光度;A₂ 表示不加多糖样品的空白组的吸光度;A₀ 表示不加过氧化氢的对照组的吸光度。

1.2.4.2 清除 DPPH 自由基的测定 根据 Liu 等^[13]方法研究 FVP 对 DPPH 自由基的清除作用。分别取 2 mL 不同质量浓度的多糖样品液(0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/mL),加入 2 mL 的 0.1 mmol/L 的 DPPH-乙醇溶液(现用现配),混匀后避光室温放置 30 min,在 517 nm 波长处测定吸光度,记为 A₁;以蒸馏水代替多糖样液重复上述操作,在 517 nm 波长处测其吸光度,记为 A₀;以蒸馏水代替 DPPH-乙醇溶液重复以上操作,作为对照管,在 517 nm 波长处测得吸光度,记为 A₂。V_c 作为阳性对照,代替多糖样品液同样进行测定,样品平行测定 3 次并且取平均值,按下式计算 DPPH 自由基的清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

式中: A_1 表示加多糖样品的吸光度; A_0 表示不加多糖样品的空白组的吸光度; A_2 表示不加 DPPH 的对照组的吸光度。

1.2.4.3 清除超氧阴离子自由基的测定 参照 Jiang 等^[14]方法并略有修改,取 4.5 mL 的 Tris-HCl 缓冲液 (50 mmol/L, pH8.2) 在 25 ℃ 恒温水浴 20 min 后,加入 1.0 mL 不同质量浓度的多糖样品溶液 (0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/mL) 和 0.4 mL 邻苯三酚溶液 (25 mmol/L, 25 ℃ 水浴预热) 混匀,在 25 ℃ 水浴 5 min,再加入 1.0 mL 抗坏血酸 (8 mmol/L) 终止反应,迅速在 420 nm 波长处测定吸光度,记为 A_1 ;以蒸馏水代替多糖样液来重复以上操作,在 420 nm 波长处测得吸光度,记为 A_0 。 V_c 作为阳性对照,代替多糖样品液同样进行测定,样品分别平行测定 3 次取平均值,按下式计算 O_2^- 清除率:

$$O_2^- \text{清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中: A_0 表示不加多糖样品空白组的吸光度; A_1 表示加多糖样品的吸光度。

1.2.4.4 还原力的测定 根据 Wu 等^[15]方法研究 FVP 的还原力。在具塞比色管中分别加入 2 mL 磷酸缓冲液 (0.2 mol/L, pH6.6)、0.2 mL 不同质量浓度的 FVP 多糖样品溶液 (0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/mL) 和质量分数为 1% 的铁氰化钾溶液 2.5 mL,混合均匀,50 ℃ 恒温水浴 20 min 后,加入质量分数为 10% 的三氯乙酸 2.5 mL 终止反应。取反应溶液 2.5 mL,加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL $FeCl_3$,混合均匀静置 10 min,4500 r/min 离心 10 min,在 700 nm 波长处测吸光度, V_c 作为阳性对照,样品平行测 3 次取平均值。

1.3 数据统计分析

数据以平均数和标准偏差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示,采用 SAS 软件 AVOVA 程序进行显著性分析,Duncan 程序进行多重比较。

2 结果与讨论

2.1 FVP 化学组分

不同干燥方法得到的 FVP 化学组成见表 1,从表 1 中可以看出,FVP-H、FVP-V 和 FVP-F 均含有中性糖、蛋白质及糖醛酸。一般把含有酸性基团的多糖都称为酸性多糖,从化学结构上分析,酸性多糖链除了含酸性基团 (主要是糖醛酸和硫酸根) 外,可能还含有中性单糖^[16],因此推断这三种多糖是酸性多糖,三种多糖中中性糖和蛋白含量 (即百分含量) 差异不明显。FVP-H 的糖醛酸含量低于 FVP-V 和 FVP-F,差异显著 ($p < 0.05$),这可能是由于 FVP-H 在干燥过程中氧气的存在及高温对糖醛酸的破坏^[17]。

表 2 不同干燥方法的 FVP 单糖组成 (%)

样品	单糖			
	木糖	甘露糖	鼠李糖	半乳糖
FVP-H	37.67 ± 1.69 ^a	12.51 ± 0.21 ^a	43.36 ± 1.12 ^a	6.45 ± 0.29 ^a
FVP-V	38.04 ± 1.57 ^a	11.88 ± 0.46 ^a	43.81 ± 1.38 ^a	6.36 ± 0.46 ^a
FVP-F	34.42 ± 1.09 ^b	9.13 ± 0.35 ^b	48.84 ± 1.28 ^b	7.62 ± 0.39 ^b

表 1 不同干燥方法的 FVP 化学组成 (% ,W/W)

样品	组分		
	中性糖	蛋白质	糖醛酸
FVP-H	85.25 ± 1.79 ^a	2.35 ± 0.16 ^a	4.16 ± 0.31 ^b
FVP-V	84.38 ± 1.16 ^a	2.46 ± 0.25 ^a	4.95 ± 0.47 ^a
FVP-F	86.78 ± 1.53 ^a	2.39 ± 0.15 ^a	4.78 ± 0.26 ^a

注:该表内数据为平均值 ± 标准偏差 (n = 3),同行不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$);表 2 同。

2.2 FVP 单糖组成

标准单糖经乙酰化后的气相色谱图见图 1,给出了不同出峰时间所代表的单糖。不同干燥方法得到的 FVP-H、FVP-V 和 FVP-F 的单糖气相色谱图分别见图 2~图 4,单糖组成 (质量分数) 见表 2,从图 2~图 4 和表 2 可以看出,三种 FVP 主要由木糖、甘露糖、鼠李糖和半乳糖四种单糖组成,其中 FVP-H 和 FVP-V 单糖组成差异不明显,FVP-F 单糖组成与 FVP-H 和 FVP-V 差异显著 ($p < 0.05$),表明干燥方法对多糖的单糖种类没有影响,但会改变单糖的构成比例。

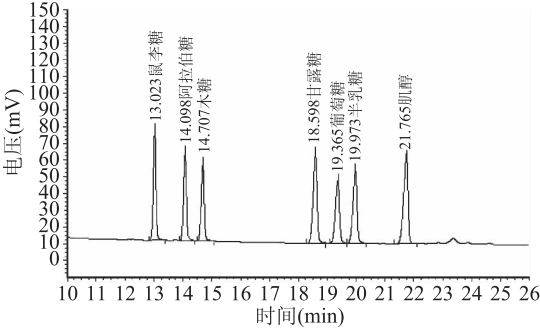


图 1 标准单糖经乙酰化后的气相色谱图

Fig.1 Gas chromatogram of standard monosaccharides with acetylation

2.3 FVP 相对分子质量

采用高效液相色谱方法分析了 FVP-H、FVP-V 和 FVP-F 的相对分子质量,结果分别见图 5~图 7,从图 5~图 7 可以看出,FVP-H、FVP-V 和 FVP-F 相对分子质量分别为 2342309、2375843、2358437 Da,不同干燥方法得到的多糖相对分子质量变化不明显。

2.4 干燥方法对 FVP 抗氧化活性的影响

2.4.1 干燥方法对 FVP 羟基自由基清除的影响 干燥方法对 FVP 清除羟基自由基的影响结果见图 8。在一定的质量浓度范围内,随着 FVP-F、FVP-V 和 FVP-H 质量浓度的增加,对羟基自由基的清除作用增

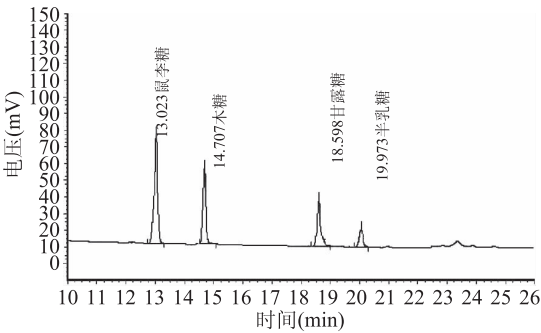


图2 FVP-H 单糖的气相色谱
Fig.2 Gas chromatogram of the monosaccharides of FVP-H

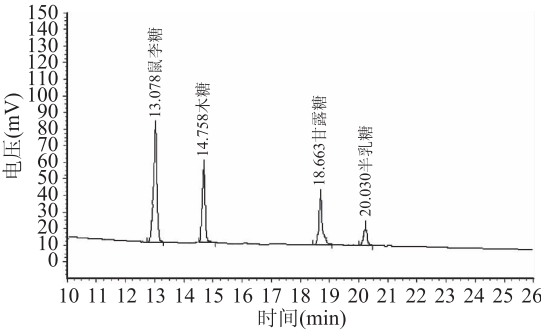


图3 FVP-V 单糖的气相色谱
Fig.3 Gas chromatogram of the monosaccharides of FVP-V

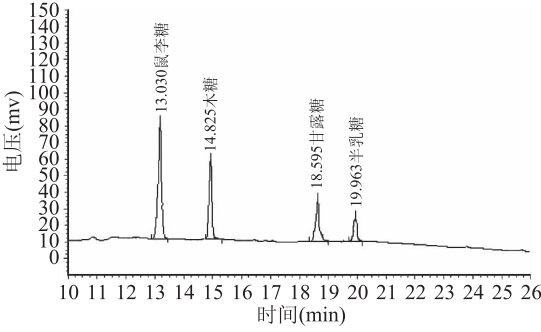


图4 FVP-F 单糖的气相色谱
Fig.4 Gas chromatogram of the monosaccharides of FVP-F

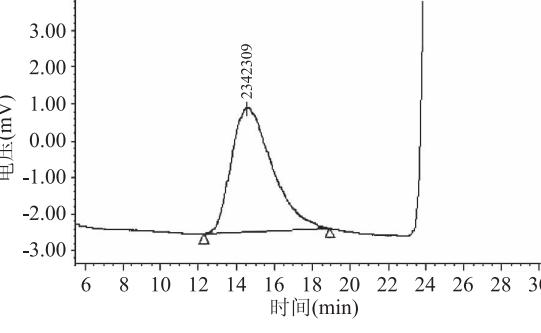


图5 FVP-H 相对分子质量
Fig.5 Relative molecular weight of FVP-H

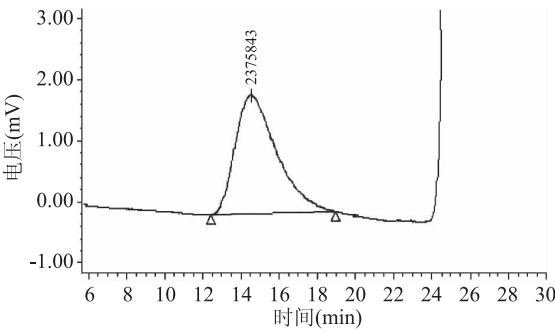


图6 FVP-V 相对分子质量
Fig.6 Relative molecular weight of FVP-V

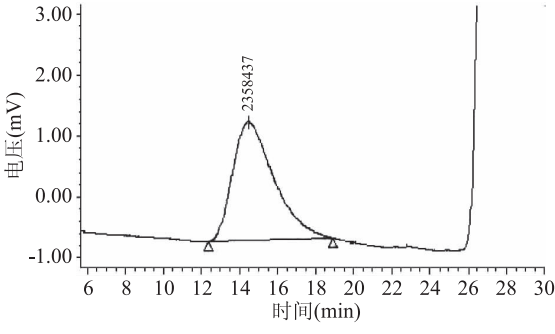


图7 FVP-F 相对分子质量
Fig.7 Relative molecular weight of FVP-F

FVP-H 的清除率分别为 90.3%、73.4% 和 59.8%，但弱于 V_c 。

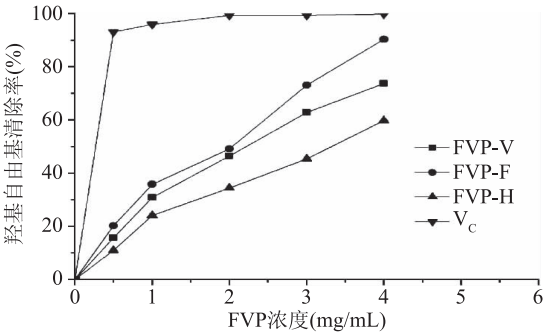


图8 干燥方法对 FVP 清除羟基自由基的影响
Fig.8 Scavenging effect of FVP dried by different methods on hydroxyl free radical

2.4.2 干燥方法对 FVP 清除 DPPH 自由基的影响 干燥方法对 FVP 清除 DPPH 自由基的影响结果如图 9 所示。从图 9 可以看出，三种干燥方法得到的多糖均具有一定的 DPPH 自由基清除作用，在一定的质量浓度范围内，随着 FVP-F、FVP-V 和 FVP-H 质量浓度的增加，其对 DPPH 自由基的清除作用增加，清除作用与浓度呈正相关关系，其中 FVP-F 对 DPPH 自由基的清除作用最强，其次是 FVP-V 和 FVP-H，在质量浓度为 4.0 mg/mL 时，FVP-F、FVP-V 和 FVP-H 对 DPPH 自由基清除率分别为 48.7%、40.8% 和 36.9%，但弱于 V_c 。

2.4.3 干燥方法对 FVP 清除超氧阴离子自由基的影响 干燥方法对 FVP 清除超氧阴离子自由基的影响结果见图 10，三种干燥方法得到的多糖均具有一定的超氧阴离子自由基清除作用，在一定的质量浓度

加，清除作用与浓度呈正相关关系，其中 FVP-F 对羟基自由基的清除作用最强，其次是 FVP-V 和 FVP-H，在质量浓度为 4.0 mg/mL 时，FVP-F、FVP-V 和

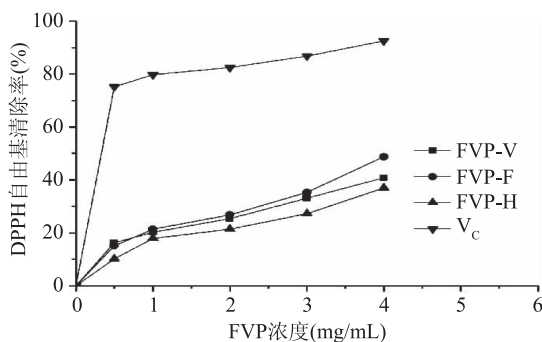


图9 干燥方法对FVP清除DPPH自由基的影响

Fig.9 Scavenging effect of FVP dried

by different methods on the DPPH radical

范围内,随着FVP-F、FVP-V和FVP-H质量浓度的增加,对超氧阴离子自由基的清除作用增加,清除作用与浓度呈正相关关系,其中FVP-F对超氧阴离子自由基的清除作用最强,其次是FVP-V和FVP-H,在质量浓度为4.0 mg/mL时,FVP-F、FVP-V和FVP-H对超氧阴离子自由基清除率分别为77.8%、66.6%和56.2%,但弱于 V_c 。

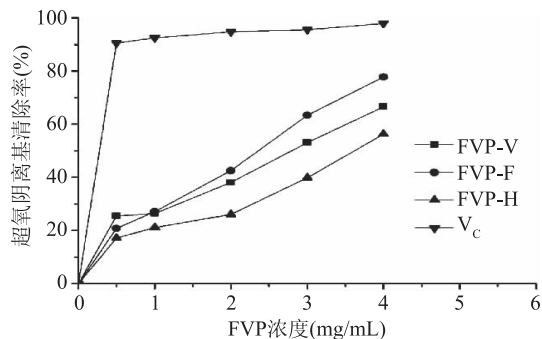


图10 干燥方法对FVP清除超氧阴离子的影响

Fig.10 Scavenging effect of FVP dried

by different methods on hydroxyl free radical

2.4.4 干燥方法对FVP还原力的影响 干燥方法对FVP还原力的影响结果见图11,三种干燥方法得到的多糖均具有一定的还原力,在一定的质量浓度范围内,随着FVP-F、FVP-V和FVP-H质量浓度的增加,还原力增加,还原力与浓度呈正相关关系,其中FVP-F的还原力最强,其次是FVP-V和FVP-H,在质量浓度为4.0 mg/mL时,FVP-F、FVP-V和FVP-H的还原力分别为0.94、0.894和0.789,但弱于 V_c 。

3 结论

以金针菇为原料,利用传统水提法提取金针菇多糖,分别采用热风干燥、真空干燥和冷冻干燥三种干燥方法对金针菇多糖进行干燥,得到传统热风干燥多糖(FVP-H)、真空干燥多糖(FVP-V)和冷冻干燥多糖(FVP-F),对其组分和抗氧化活性进行研究,得到如下结论:不同干燥方法对其单糖种类没有影响,但会改变单糖的构成比例和糖醛酸含量,FVP-H、FVP-V和FVP-F相对分子质量变化不明显,分别为2342309、2375843和2358437Da。FVP-H、FVP-V和FVP-F具有较强的清除DPPH自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基的能力和还原力,在一定浓度范

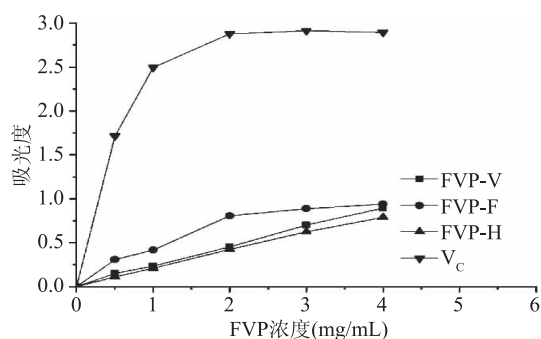


图11 干燥方法对FVP还原力的影响

Fig.11 Effect of FVP dried by different methods

on reducing power scavenging

围内,多糖与抗氧化活性及还原能力之间呈正相关关系,干燥方法对FVP抗氧化活性具有不同的影响,其中FVP-F抗氧化活性最强,其次是FVP-V和FVP-H;冷冻干燥是制备FVP适宜的干燥方法。

参考文献

- [1] 郑义,李超,王乃馨.金针菇多糖的研究进展[J].食品科学,2010,31(17):425-428.
- [2] 常花蕾,雷林生,余传林,等.金针菇多糖对小鼠免疫细胞产生细胞因子及对荷瘤小鼠血清细胞因子含量的影响[J].中药材,2009,32(4):561-563.
- [3] Pang XB, Yao WB, Yang XB. Purification, characterization and biological activity on hepatocytes of a polysaccharide from *Flammulina velutipes* mycelium[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 70(3):291-297.
- [4] 陈芝芸,严茂祥,项柏康.金针菇多糖对Lewis肺癌荷瘤小鼠的抑瘤作用及免疫功能的影响[J].中国中医药科技,2003,10(4):226-227.
- [5] 潘鸿辉,宇雄涛,黄纪国,等.金针菇多糖改善小鼠学习记忆功能[J].中国食用菌,2014,35(5):40-42.
- [6] 徐洲,刘静,冯士令,等.不同干燥方法对淫羊藿多糖化学性质和抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2015,36(19):116-119,123.
- [7] 吴振,李红,罗杨,等.不同干燥方式对银耳多糖理化特性及抗氧化活性的影响[J].食品科学,2014,35(13):93-97.
- [8] Fan LP, Li JW, Deng KQ, et al. Effects of drying methods on the antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(2):1849-1854.
- [9] 张惟杰主编.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,2003:52-54.
- [10] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr A, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193:265-275.
- [11] Blumenkrantz N, Gasboe H. New method for quantitative determination of uronic acid [J]. Analytical Biochemistry, 1973, 54:484-489.
- [12] Wang HY, Jiang XL, Mu HJ, et al. Structure and protective effect of exopolysaccharide from *P. Agglomerans* strain KFS-9 against UV radiation [J]. Microbiological Research, 2007, 162

(下转第49页)

条件下较高,在中碱性条件下降低。以 pH4 的乙酸溶液提取白鱼各部位胶原蛋白,鱼皮、鱼鳔中胶原蛋白的得率分别为 18.80% 和 15.95%,远高于其他部位的胶原蛋白得率。白鱼各部位胶原蛋白的氨基酸组成相似且排列顺序相近,均为 I 型胶原蛋白;各部位胶原蛋白的热变性温度在 34.16~36.40 °C 之间,与市场上其他淡水鱼的胶原蛋白的热变性温度相近。白鱼不同部位提取的胶原蛋白在组成、结构和性质上相似,这也为白鱼加工产业集中处理下脚料副产物提供了便利。

参考文献

- [1] John A M Ramshaw. Biomedical applications of collagens[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2016, 104(4): 665-675.
- [2] 唐云平, 郑强, 胡斌, 等. 重组胶原蛋白制备及其应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2016(18): 384-386.
- [3] Nagai T, Suzuki N. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins[J]. Food Chemistry, 2000, 68(3): 277-281.
- [4] Jia Yuanjun, Wang Haibo, Wang Haiyin, et al. Biochemical properties of skin collagens isolated from black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(6): 1585-1592.
- [5] Zeng Shaokui, Zhang Chaohua, Lin Hong, et al. Isolation and characterisation of acid-solubilised collagen from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 879-883.
- [6] 王金梅, 包建强. 超声波辅助酶法提取草鱼皮胶原蛋白及其纯化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(18): 236-240.
- [7] Ahmad Mehraj, Benjakul Soottawat. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) [J]. Food Chemistry, 2010, 120(3): 817-824.
- [8] Kittiphattanabawon Phanat, Benjakul Soottawat, Visessanguan Wonnop, et al. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) [J]. Food Chemistry, 2005, 89(3): 363-372.
- [9] Duan Rui, Zhang Junjie, Du Xiuqiao, et al. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Food Chemistry, 2009, 112(3): 702-706.
- [10] Nishimoto Maki, Sakamoto Ryoko, Mizuta Shoshi, et al. Identification and characterization of molecular species of collagen in ordinary muscle and skin of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. Food Chemistry, 2005, 90(1-2): 151-156.
- [11] Jongjareonrak Akkasit, Benjakul Soottawat, Visessanguan Wonnop, et al. Isolation and characterisation of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*) [J]. Food Chemistry, 2005, 93(3): 475-484.
- [12] Jamilah B, Harvinder K G. Properties of gelatins from skins of fish-black tilapia and red tilapia [J]. Food Chemistry, 2002, 77(1): 81.
- [13] 傅燕凤, 沈月新, 杨承刚, 等. 淡水鱼鱼皮胶原蛋白的提取[J]. 上海水产大学学报, 2004, 2(13): 146-150.
- [14] Mizuta, Hwang, Yoshimaka, et al. Molecular species of collagen from wing muscle of skate (*Raja kenoei*) [J]. Food Chemistry, 2002, 76(1): 53-58.
- [15] 郭玉华, 刘扬瑞, 李钰金. 鱼类胶原蛋白及胶原活性多肽的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2010(3): 175-179.
- [16] Muyonga J H, Cole C G B, Duodu K G. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*) [J]. Food Chemistry, 2004, 85(1): 81-89.
- [17] M Yata, C Yoshida, S Fujisawa, et al. Identification and characterization of molecular species of collagen in fish skin [J]. Journal of Food Science, 2001, 66(2): 247-251.
- [18] Ogawa M, Moody M W, Portier R J, et al. Biochemical properties of black drum and sheepshead seabream collagen [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(27): 8088-8092.
- [19] Lin Yungkai, Liu Dengcheng. Comparison of physical-chemical properties of type I collagen from different species [J]. Food Chemistry, 2006, 99(2): 244-254.
- [20] Nagai T, Suzuki N, Nagashima T. Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) unesu [J]. Food Chemistry, 2008, 111(2): 296-301.
- [21] 邓明霞, 汪海波, 杨玲, 等. 氨基酸组成及溶剂环境对淡水鱼胶原蛋白热稳定性能的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 31(12): 111-120.
- [22] 杨玲, 赵燕, 鲁亮, 等. 鲟鱼鱼皮胶原蛋白的提取及其理化性能分析[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 41-46.
- [13] Liu LX, Sun Y, Laura T, et al. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng [J]. Food Chemistry, 2009, 112(1): 35-41.
- [14] Jiang B, Zhang HY, Liu CJ, et al. Extraction of watersoluble polysaccharide and the antioxidant activity from Ginkgo biloba leaves [J]. Medicinal Chemistry Research, 2010, 19(3): 262-270.
- [15] Wu HC, Chen HM, Shiao CY. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*) [J]. Food Research International, 2003, 36(9/10): 949-957.
- [16] 熊双丽, 李安林. 酸性多糖的最新研究进展[J]. 食品科技, 2010, 35(5): 80-83.
- [17] Ma LS, Chen HX, Zhu WC, et al. Effect of different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides extracted from mushroom *Inonotus obliquus* [J]. Food Research International, 2013, 50(2): 633-640.

(上接第 44 页)

(2): 124-129.