

胡子鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的理化性质研究

李八方, 郭鸣, 侯虎, 王珊珊

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要:为提高水产加工副产物的高值化利用,本文以资源丰富且相对集中的一种淡水产品加工下脚料-胡子鲶鱼皮为原料,在4℃条件下,利用酸提法从鲶鱼皮中提取酸溶性胶原蛋白(ASC),并对其进行相应的理化性质研究。通过测定羟脯氨酸含量得出了该鱼皮胶原蛋白的提取率(20.32%),氨基酸组成分析得到含量最丰富的氨基酸是甘氨酸(32.59%)表明样品符合I型胶原蛋白的氨基酸特点。SDS-PAGE电泳和紫外分析图谱表明样品为I型胶原蛋白,且样品提取纯度较好。傅里叶变换红外光谱(FT-IR)表明该酸溶性胶原蛋白保留了天然三螺旋结构。热变性温度(T_d , 26℃)和热收缩温度(T_s , 53.01℃)的测定结果均显示,这种鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的热稳定性低于哺乳动物。X-射线衍射图谱显示了胶原蛋白分子的内部结构特点。

关键词: 鱼皮; 胡子鲶; 胶原蛋白; 提取; 性质

文章编号: 1673-9078(2013)11-2580-2585

Physicochemical Properties of Acid-soluble Collagen from Skin of *Clarias fuscus*

LI Ba-fang, GUO Ming, HOU Hu, WANG Shan-shan

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Fish skin of *Clarias fuscus* was a by-product of freshwater aquatic products processing, which is rich in resources. To improve the utilization of aquatic by-products, the fish skin of *Clarias fuscus* was used as raw materials for acid-soluble collagen (ASC) extraction at 4℃. It's the physicochemical of the extracts was then studied. The hydroxyproline experiment showed that the extraction yield of ASC reached 20.32%. The sample met the characteristics of type I collagen with the most abundant amino acid of glycine (32.59%) by analysis of amino acid compositions. SDS-PAGE and ultraviolet-visible (UV-Vis) spectra identified the sample was of a type I collagen protein with high purity. Fourier transform infrared (FT-IR) spectra of ASC suggested that the protein presented in the triple helix structure. The denature temperature (T_d , 26℃) and shrinkage temperature (T_s , 53.01℃) showed that the thermal stability of the collagen was lower than collagen from mammalian. X-ray diffraction diagram showed the internal structure of the collagen molecules from Skin of *Clarias fuscus*.

Key words: fish skin; walking catfish; collagen; extract; characterization

胶原蛋白是脊椎动物体内含量最多的蛋白质,其分子结构呈现三螺旋构型,变性的胶原蛋白通常失去三螺旋结构,俗称为明胶。皮肤、血管壁和各种软组织或器官的间质中同时含有I型和III型胶原蛋白,只是不同的器官中,这两种胶原蛋白含量的比例不同,I型胶原蛋白是生物体最丰富的胶原,占生物体胶原蛋白总量的90%,也是用途最广的胶原蛋白,我们通常所说的胶原蛋白指的是I型胶原蛋白。由于胶原蛋白具有良好地化学组成和生物相容性,因此在食品、医药、化妆品及皮革工业等方面有广泛的应用^[1]。近

收稿日期: 2013-07-12

基金项目: 海洋公益性专项(201205027); 中国博士后面上基金(2012M511549)

作者简介: 李八方(1953-),教授,博导,从事海洋生物活性物质、功能食品与制品方面的教学与科研工作

十几年来,世界有关胶原蛋白的研究主要还是针对于哺乳动物如猪、牛等的研究,从鱼类资源中提取胶原蛋白的研究还不普遍,进行过鱼类研究的主要是日本与欧洲国家,并集中于海产鱼类的胶原蛋白研究相对较多。我国对于水产动物,尤其淡水鱼类胶原蛋白的研究还相对较少,因此,对淡水鱼胶原蛋白的制备及理化性质分析有着重要的研究价值。目前在淡水鱼中,关于鲶形目淡水鱼胶原蛋白的研究国内已见过一些报道,如巴沙鱼皮^[2]、斑点叉尾鲶鱼皮胶原蛋白^[3]的相关研究。

鲶鱼是鲶科中分布最广的鱼类,在俄罗斯东部、朝鲜、日本,整个亚洲东部都有分布,我国各省均有出产,是一种普遍且重要的淡水经济鱼种。本文研究的胡子鲶,又名塘鲶,在分类上属于鲶形目胡子鲶科,是一种市场上常见的鲶鱼。本研究以市售胡子鲶鱼的

鱼皮为原料,利用低温酸法提取胶原蛋白,并对所提取胶原蛋白的理化性质进行分析,为鲶形目淡水鱼加工废弃物资源的充分开发利用提供了理论参考和实验依据。

1 材料与方法

1.1 原料

胡子鲶鱼购买于青岛市嫩江路农贸市场,用刀剥下鱼皮并剔除皮下组织,清水洗净,置于零下 20 °C 冰箱待用。

1.2 试剂与仪器

十二烷基硫酸钠(SDS)、巯基乙醇、丙烯酰胺、N,N'-甲叉双丙稀酰胺(Bis)、溴酚蓝、考马斯亮蓝 G-250、过硫酸铵、TEMED 等为 Sigma 进口分装。其它试剂均为国产分析纯。

冷冻干燥机(LGJ0-5),北京四环科技仪器厂;722s 可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;电泳仪(DYY-6C),北京市六一仪器厂;乌氏粘度计,上海玻璃仪器厂;差示扫描量热仪,DSC-200PC,德国 Bavaria 公司;傅里叶变换红外光谱仪,Nicolet 200SXV 型,美国 Nicolet 公司;紫外分光光度计 UV-2102PC 型,尤尼柯上海仪器有限公司;X 射线衍射仪(Rigaku D/Max2500),日本理学公司。

1.3 实验方法

1.3.1 鲶鱼皮基本成分的测定

水分含量根据 GB/T 5009.3-2010 测定;脂肪含量根据 GB/T 5009.6-2003 测定;蛋白质含量根据 GB/T 5009.5-2010 测定;灰分含量根据 GB/T 5009.4-2010 测定;总糖含量根据 GB/T 9695.31-2008 测定;羟脯氨酸含量根据 GB/T 9695.23-2008 测定。

1.3.2 鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的提取

胶原蛋白制备的所有操作均在 4 °C 下进行。称取 100 g 鱼皮原料,使用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液(1:30, *m/V*)浸泡 24 h,以除去鱼皮中的非胶原成分;将原料水洗至中性后剪成小碎块,加入浓度为 0.5 mol/L 的醋酸溶液(1:30, *m/V*),低温磁力搅拌提取 2 d;将提取液 9000 r/min 离心 30 min,上清液即为酸溶性胶原蛋白粗提液;在上清液中加入 NaCl 至最终浓度为 0.9 mol/L,再次离心,收集沉淀溶于 0.5 mol/L 醋酸溶液中;转入透析袋,用 0.1 mol/L 醋酸溶液透析 1 d,再用蒸馏水透析 3 d,冻干即得鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白(Acid-soluble collagen, ASC)^[4]。

1.3.3 氨基酸分析

胶原蛋白用 6 mol/L 盐酸于 110 °C 水解 24 h,然后将水解产物用 Hitachi 835-50 氨基酸自动分析仪进行测定。

1.3.4 SDS-PAGE 电泳分析

采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)方法(Laemmli, 1970)分析胶原蛋白样品,用 7.5% 的分离胶、5% 的浓缩胶。取冷冻干燥样品溶于 0.5 mol/L 的醋酸溶液中,使样品浓度为 1~2 mg/mL,用 NaOH 调节 pH 为中性,上样量 18 μL。采用直流恒压电源,电压为 100 V,电泳 2~3 h。用染色液染色 20 min 后脱色。

1.3.5 紫外光谱分析

将胶原蛋白样品溶解于 0.5 mol/L 醋酸溶液中,充分溶胀,震荡(4 °C 条件下进行),样液经冷冻离心,取上清液配制成 2 g/L 胶原蛋白溶液。以 0.5 mol/L 醋酸溶液做基线测量,用 UV-2550 紫外分光光度计在 200~400 nm 近紫外光区进行扫描测试^[45],扫描速度为 210 nm/min。

1.3.6 傅立叶变换红外光谱(FT-IR)测定

在玛瑙研钵中,将一定量干燥的 KBr 和胶原蛋白冻干品研磨均匀成粉末状;装样,手动压片;取出样品小心放入样品室,用干燥 KBr 做背景扫描。采用 Nicolet-200SXV 傅立叶红外光谱仪对样品在 4000~500 cm⁻¹ 扫描,分辨率为 2 cm⁻¹。

1.3.7 热变性温度的测定(T_d)(粘度的测定)

本实验采用乌氏粘度计测定法,即最大粘度值的一半值所对应的温度为变性温度。将含 10 mL 0.03% 胶原蛋白的 0.5 mol/L 醋酸缓冲溶液的乌氏粘度计浸入到水浴锅中,从 16 °C 逐渐升高温度至 41 °C,在每个测定温度保持 30 min,使得胶原蛋白溶液温度与水浴温度平衡,测定溶液通过毛细管所用的时间,重复测试三次。假设溶液的密度和溶剂的密度相同。

相对粘度 $\eta_r = t/t_0$, 增比粘度 $\eta_{sp} = (\eta - \eta_0)/\eta_0 = (t - t_0)/t_0$, 其中 t 是样品溶液流出的时间, t_0 是溶剂流出的时间。以 Fractional viscosity = $(\eta_{sp}(T) - \eta_{sp}(41^\circ C)) / (\eta_{sp}(16^\circ C) - \eta_{sp}(41^\circ C))$ 与温度作胶原蛋白热变性曲线, Fractional viscosity = 0.5 时所对应的温度即为热变性温度(T_d)^[5,6]。

1.3.8 热收缩温度的测定(T_s)

使用 DSC-200PC 型差示扫描量热仪进行测定,仪器采用金属铟进行校正(铟的熔融焓为 28.451 J/g,熔点为 156.4 °C)。准确称取 3 mg 左右的样品于 DSC 小坩埚(BO 6.239.2-64.502)中,加盖密封后,以空坩埚作为参比,从 20 °C 加热至 100 °C,速率为 5 K/min,样品室的氮气流量为 20 mL/min。从 DSC 谱图中得到

的峰值即为该胶原蛋白的热稳定温度^[5-6]。

1.3.9 X-射线衍射

使用 Rigaku D/Max2500 型 X 射线衍射仪对样品进行 X-衍射图谱分析。采用 Cu 靶, $\lambda=0.154$ nm。采用 Ka 射线以 $4^\circ/\text{min}$ 速度扫描, 扫描 2θ 角度 $5\sim 40^\circ$ 。

1.4 数据分析与处理方法

表 1 胡子鲶鱼皮基本成分分析 (%)

Table 1 Basic components of *Clarias fuscus* skin

成分	水分	蛋白	粗脂肪	灰分	总糖	羟脯氨酸
以湿基计	63.2±2.79	28.8±1.08	7.26±0.36	0.17±0.06	0.35±0.06	2.36±0.15
以干基计	-	78.26±1.41	19.73±2.24	0.46±0.10	0.95±0.12	6.41±0.10

表 1 中给出了鲶鱼皮基本成分的质量百分含量, 分别以干基和湿基计量。该鱼皮中水分含量占 63.2%, 干物质含量约为 36.8%, 干物质的主要成分为蛋白质, 约占干物质总量的 78.26%, 可以看出该鱼皮是较好的胶原蛋白提取来源。

2.2 胶原蛋白提取率

胶原蛋白中, 羟脯氨酸和羟赖氨酸是其特征氨基酸, 在其它蛋白中很少见到, 通过羟脯氨酸的测定, 可以得到样品鱼皮胶原蛋白的提取率。

羟脯氨酸标准样品的回归方程为 $y=0.128x+0.013$, $R^2=0.998$ 。测得干鱼皮中羟脯氨酸含量为 6.41%(表 1), 说明胡子鲶鱼皮是一种较好的胶原蛋白制备原料, 再通过测定样品提取出的粗胶原蛋白中羟脯氨酸含量^[7], 从而得出该方法提取胶原蛋白的提取率为 20.32%。

2.3 胶原蛋白性质分析

2.3.1 氨基酸组成

由表 2 分析可得出, 样品胶原蛋白中含量最丰富的氨基酸是甘氨酸 (32.59%), 约占氨基酸总量的三分之一, 大约每三个氨基酸残基中就包含一个甘氨酸 (Gly-x-y 重复单元)。含量相对较高的氨基酸还有丙氨酸 (12.44%) 和脯氨酸 (10.87%)。另外, 蛋氨酸 (1.21%)、组氨酸 (0.59%) 和酪氨酸 (0.46%) 是含量较低的三种氨基酸, 由于本实验采用酸水解法对氨基酸进行测定, 色氨酸和胱氨酸在酸水解中被破坏, 因此未被检出。

亚氨酸 (脯氨酸和羟脯氨酸) 是胶原蛋白的特征性氨基酸, 胶原蛋白的热变性温度与亚氨基酸残基的含量密切相关, 其含量越高, 热稳定性和热变性温度则越高。冷水鱼的羟脯氨酸含量最低, 所以一般冷水鱼胶原蛋白热变性温度明显低于暖水鱼, 而又都低于

实验数据用 Microsoft Excel 2003 进行统计分析, 每项测定数据至少采用 3 个平行, 对基本成分测定的平均值进行标准差分析。

2 结果与讨论

2.1 基本成分分析

陆生动物。样品中亚氨酸含量为 18.66%, 低于猪皮、牛皮等哺乳动物^[8], 因为本文研究的胡子鲶属于热带、亚热带性鱼类, 所以其胶原的热稳定性较好。关于这部分内容在下文中有所讨论。

表 2 胡子鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的氨基酸组成

Table 2 Amino acid compositions of ASC from *Clarias fuscus*

skin	
氨基酸	残基/1000 个氨基酸总残基
天门冬氨酸 (ASP)	48.33
苏氨酸 (THR)	24.75
丝氨酸 (SER)	38.36
谷氨酸 (GLU)	76.88
甘氨酸 (GLY)	325.94
丙氨酸 (ALA)	124.40
缬氨酸 (VAL)	29.02
蛋氨酸 (MET)	12.12
异亮氨酸 (ILE)	12.51
亮氨酸 (LEU)	22.84
酪氨酸 (TYR)	4.59
苯丙氨酸 (PHE)	12.38
赖氨酸 (LYS)	24.40
组氨酸 (HIS)	5.90
精氨酸 (ARG)	50.98
脯氨酸 (PRO)	108.74
羟脯氨酸 (HYP)	77.89

2.3.2 SDS-PAGE 电泳图谱分析

如图 1 所示, 鲶鱼皮的酸溶性胶原蛋白至少由两条 α 链 (α_1 和 α_2) 组成, β 链含量较高, 并含有少量的 γ 链, 分子亚基结构与其水产生 I 型胶原蛋白具有共同点。条带 α_1 可能含有 α_3 成分, 因为 α_1 和 α_3 组分在 SDS-PAGE 胶上无法辨别, 亚基 $\alpha_1(\alpha_3)$ 和 α_2 的分子量相差不大, 因此很难分离^[9]。SDS-PAGE 电泳图谱的泳道 I 和 II 二者完全一样, 可见 β -巯基乙醇对胶原

蛋白电泳图谱无影响,说明胶原蛋白结构中不含二硫键,符合胶原蛋白中没有含硫氨基酸的结论^[10]。样品电泳图谱较为清晰,并无杂条带出现,说明蛋白质纯度很好,基本保持了其原有的结构。

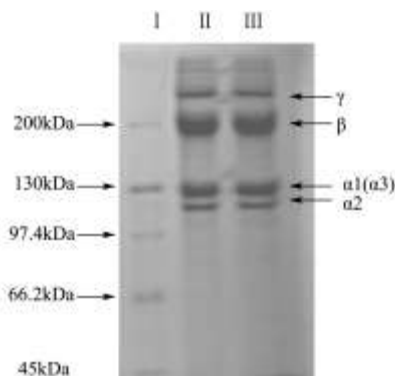


图1 酸性胶原蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.1 SDS-PAGE patterns of ASC

注: I: 蛋白质标准品; II: ASC (未添加 β -巯基乙醇);

III: ASC (添加 β -巯基乙醇)。

2.3.3 紫外光谱分析

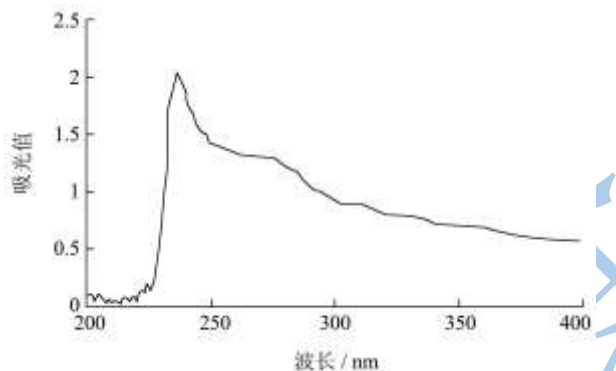


图2 胡子鲶鱼皮酸性胶原蛋白的紫外-可见光谱

Fig.2 UV-Vis spectra of ASC from *Clarias fuscus* skin

溶液中的蛋白质分子能够吸收一定波长范围的紫外光,产生吸收光谱,之所以会产生这种现象,是由于蛋白质分子中含有一些紫外生色基团,蛋白质的这种紫外吸收光谱实际上是各种紫外生色基团加和的结果。如图2所示,此法提取的胶原蛋白最大吸收波长大概在 235 nm 左右,主要由肽键 C=O 的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁贡献。有报道表明芳香族氨基酸的 R 基团含有苯环共轭双键,如色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸分别在 280、275、257 nm 有吸收峰,而此图谱在这个区域吸收很弱,也可以说明此胶原蛋白中芳香族氨基酸含量较少^[5]。由此紫外图谱可初步判断,样品胶原蛋白具有较高的纯度。

2.3.4 傅立叶红外光谱(FT-IR)分析

根据 Doyle 理论,酰胺 A 的吸收通常在 3400~3440 cm^{-1} ,由游离的 N-H 伸缩振动产生,但当 N-H 参与氢键的形成时,其伸缩振动便会向低频率移动,一般在

3300 cm^{-1} 左右,由图3看出,样品胶原蛋白酰胺 A 的最大吸收峰在 3335 cm^{-1} ,表明此分子中存在氢键。酰胺 B 的出峰位置在 2929 cm^{-1} ,是由分子中 CH_2 基团的不对称伸缩振动产生。在 1659 cm^{-1} 出现了酰胺 I 带的特征吸收峰,是由蛋白质多肽骨架的 C=O 伸缩振动产生,为蛋白质二级结构变化的敏感区,常被用于蛋白质的二级结构分析。酰胺 II 带的特征吸收在 1500~1600 cm^{-1} 的范围内,为 α -螺旋、 β -折叠、转角和无规卷曲叠加产生的吸收带,样品的吸收峰如图在 1563 cm^{-1} ,符合胶原蛋白酰胺 II 带的吸收频率。另外,在 1241 cm^{-1} 出现了酰胺 III 的特征吸收,且在 1241 cm^{-1} 和 1455 cm^{-1} 间又出现了吸收带,也表明样品的螺旋结构保持较好^[11]。

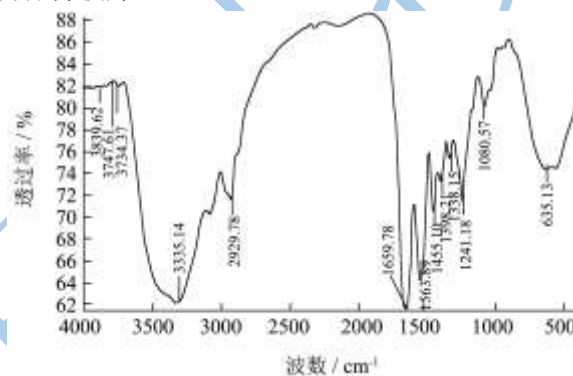


图3 胡子鲶鱼皮酸性胶原蛋白的傅立叶变换红外光谱图

Fig.3 FT-IR spectra of ASC from *Clarias fuscus* skin

2.3.5 热稳定性分析

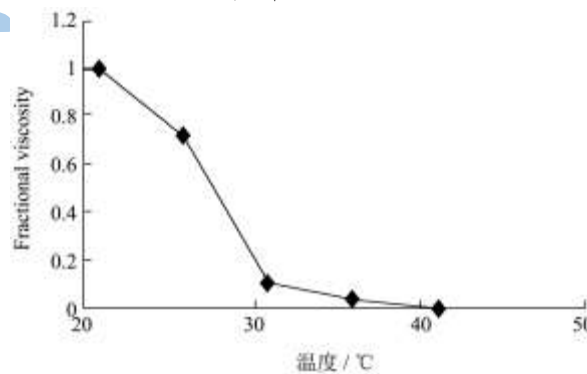


图4 胡子鲶鱼皮酸性胶原蛋白的热变性曲线

Fig.4 Thermal denaturation curve of ASC from *Clarias fuscus* skin

胶原蛋白的热稳定性通常由在溶液中变性温度 T_d 和蛋白纤维的收缩温度 T_s 来表示,通常把 50% 胶原蛋白分子发生变性的温度称为热变性温度 T_d ,即粘度变化一半时的温度。如图4所示,此图显示了鲶鱼皮胶原蛋白的热变性粘度变化,热变性温度 T_d 大概为 26 $^{\circ}\text{C}$ 。

据知胶原蛋白的热变性温度接近最大环境温度或体温。蛋白质的热收缩温度 T_s 指的是蛋白纤维收缩至

1/3 的长度时的温度, 在收缩过程中, 纤维的螺旋结构变为无规卷曲结构, 发生了相的转变。如图 5 所示, 鲶鱼鱼皮 ASC 的热收缩温度为 53.01 °C, 低于哺乳动物(如牛皮)胶原蛋白^[6]。

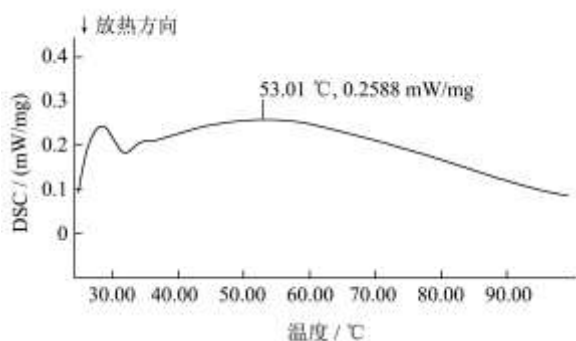


图 5 胡子鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的 DSC 曲线

Fig.5 Thermal transition curve of ASC from *Clarias fuscus* skin, as shown by DSC

据报道^[12], 水产动物胶原蛋白的 T_s 与 T_d 值之差通常不受种属影响, 大致恒定在 (20~25 °C), 鲶鱼鱼皮 ASC 的 T_s 与 T_d 值之差大致符合这一规律。影响胶原蛋白热稳定性最重要的原因之一就是亚氨酸(脯氨酸和羟脯氨酸)的含量, 亚氨酸的含量越高, 螺旋结构越稳定, 这是因为脯氨酸和羟脯氨酸的吡咯环限制了多肽链二级结构的变化。前文的氨基酸分析结果也验证了这一点。

2.3.6 X-射线衍射分析

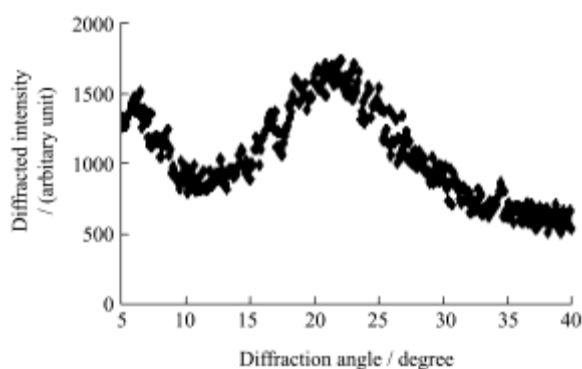


图 6 胡子鲶鱼皮胶原蛋白的 X-射线衍射图

Fig.6 X-ray diffraction diagram of ASC from *Clarias fuscus* skin

样品胶原蛋白的 X-射线衍射图谱如图 6 所示, 该胶原蛋白有三个衍射峰, 第一个衍射峰在 5°~10° (标记为 P1), 该峰显示了胶原纤维分子链之间的距离; 第二个峰在 20°~30° (标记为 P2), 为一个宽且大的峰, 是由胶原蛋白分子内部的结构层次引起的漫散射产生; 第三个峰在 30°~40° 之间, 是一个比较尖且微小的峰 (标记为 P3), 该峰表示胶原蛋白分子相邻氨基酸残基之间的距离。

通常可采用布拉格方程 $2d\sin\theta=\lambda$ 来描述不同物质的 X-射线衍射图谱, 已知 X-射线的波长 ($\lambda=0.154$) 和 θ 角可以计算出各个衍射峰所对应的 d 值。

表 3 胶原蛋白的 X-射线衍射峰对应 d 值

Table 3 d values of X-ray diffraction peaks of ASC

Parameters	Peak P1	Peak P2	Peak P3
Peak position/ 2θ	6.60	22.10	34.50
d values/nm	1.34	0.40	0.26

由表 3 可知, 胡子鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的分子链之间的距离为 1.34 nm, 比闫鸣艳研究的鳕鱼皮胶原蛋白分子链之间的距离数值略大(闫鸣艳, 2009), 说明胡子鲶鱼鱼皮中胶原蛋白被提取出来后, 分子链间的氢键作用和范德华作用力被削弱的较多, 分子链间的空隙增大, 因而 d 值略有增加; P2 峰对应的 d 值比鳕鱼皮胶原蛋白的略小。理想的 α -螺旋中相邻氨基酸残基之间的距离为 0.15 nm, 而胶原蛋白中存在的螺旋结构不同于一般的 α -螺旋, 根据文献描述^[13], 在胶原蛋白的螺旋结构中, 每圈螺旋含有的氨基酸残基数和螺距均与理想 α -螺旋略有不同, 本实验样品的 P3 峰对应的 d 值反映出的螺旋结构上沿螺旋中心轴相邻氨基酸残基之间的距离为 0.26 nm, 与鳕鱼酸溶性胶原蛋白^[14]和比目鱼腹部鱼皮酸溶性胶原蛋白测得的数值相似^[14], 以上这些均说明此低温酸法制备的胶原蛋白较好保持了螺旋结构。

3 结论

3.1 低温 (4 °C) 提取的胡子鲶鱼鱼皮的酸溶性胶原蛋白, 蛋白提取率 20.32%, 氨基酸分析显示亚氨酸(脯氨酸和羟脯氨酸)占 18.66%, 含量相对较高。

3.2 电泳分析图谱和紫外光谱很好的显示了此胶原蛋白的纯度和结构, 傅里叶红外图谱和 X 射线衍射图谱说明此醋酸法提取的鲶鱼鱼皮 ASC 较好地保存了胶原蛋白的三螺旋结构。

3.3 本实验提取的鲶鱼鱼皮胶原蛋白的热变性温度为 26 °C, 热收缩温度为 53.01 °C, 热稳定性总体低于哺乳动物, 相对其它水产动物来说稳定性较好^[15]。本实验验证了鲶鱼鱼皮是较好的淡水鱼胶原蛋白来源, 说明此胶原蛋白在功能食品、医药、化妆品、制药等方面有潜在的商业应用, 该研究可以作为今后关于鲶鱼皮 ASC 结构和物理特性研究的基础。

参考文献

[1] 陈胜军, 曾名勇, 董士远. 水产胶原蛋白及其活性肽的研究进展[J]. 水产科学, 2004, 23(6): 44-46

Chen S J, Zeng M Y, Dong S Y. Progress in the Study of

- Collagen and Active Peptide of Fisheries [J]. Fisheries Science, 2004, 23(6): 44-46
- [2] 谢洋,王婷婷,马良,等.巴沙鱼皮明胶提取工艺研究[J].西南师范大学学报:自然科学版,2010,35(2): 185-189
Xie X, Wang T T, Ma L, et al. The extraction of the gelatin from basa fish skin [J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2010, 35(2): 185-189
- [3] 刘海英.斑点叉尾鮰(Channel catfish)鱼皮胶原蛋白及胶原蛋白多肽的研究[D].无锡:江南大学,2007
Liu H Y. Studies of Channel catfish skin collagen and collagenous peptides [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007
- [4] 闫鸣艳.狭鳕鱼皮胶原蛋白结构和物理特性的研究[D].青岛:中国海洋大学,2009
Yan M Y. Study on the structure and physical properties of collagen from walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) skin [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009
- [5] 杨贤庆,张帅,郝淑贤,等.罗非鱼皮胶原蛋白的提取条件优化及性质[J].食品科学,2009,30(16):106-110
Yang X Q, Zhang S, Hao S X, et al. Optimization of extraction and physico-chemical properties of tilapia skin collagen [J]. Food Science, 2009, 30(16): 106-110
- [6] 庄永亮,赵雪,张朝辉,等.海蜇伞部胶原蛋白的提取及其理化性质[J].食品科学,2009,30(13):89-89
Zhuang Y L, Zhao X, Zhang Z H, et al. Isolation and Physico-chemical Properties of Pepsin-soluble Collagen from Jelly fish Umbrella [J]. Food Science, 2009, 30(13): 89-89
- [7] 陈丽丽,赵利,刘华,等.有机酸提取鮰鱼皮胶原蛋白的工艺研究[J].食品与机械,2010,5:118-121
Chen L L, Zhao L, Liu H, et al. Research on the extraction technology of collagen from *amiurus nebulosus* skin with organic acid [J]. Food and Machinery, 2010, 5: 118-121
- [8] 宋芹,董小萍,郁小兵.部分哺乳动物和鱼类胶原蛋白中氨基酸的组成和含量的比较[J].现代食品科技,2008,24(12): 1239-1242
Song Q, Dong X P, Yu X B. Comparison of components and contents of collagen amino acids in Some mammal and fishes [J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 24(12): 1239-1242
- [9] Zhang Y, Liu W, Li G, et al. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Food Chemistry, 2007, 103(3): 906-912
- [10] Jongjareonrak A, Rawdkuen S, Chaijan M, et al. Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(1): 161-165
- [11] Guzzi Plepis A M D, Goissis G, Das-Gupta D K. Dielectric and pyroelectric characterization of anionic and native collagen [J]. Polymer Engineering & Science, 1996, 36(24): 2932-2938
- [12] 鸿巢章二,桥本周久(郭晓风,邹胜祥,译).水产利用化学[M].北京:中国农业出版社,1992
Hong C Z 2, Qiao B Z J, (Guo X F, Zou S X, trans.). The chemical utilization of fishery [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1992
- [13] Eyre D R. Collagen: molecular diversity in the body's protein scaffold [J]. Science, 1980, 207(4437): 1315-1322
- [14] Giraud-Guille M M, Besseau L, Chopin C, et al. Structural aspects of fish skin collagen which forms ordered arrays via liquid crystalline states [J]. Biomaterials, 2000, 21(9): 899-906
- [15] Ogawa M, Moody M W, Portier R J, et al. Biochemical properties of black drum and sheepshead seabream skin collagen [J]. Journal of Agricultural and food Chemistry, 2003, 51(27): 8088-8092