

# 碱法提取鲰鱼皮胶原蛋白工艺优化的研究

温慧芳, 赵利\*, 陈丽丽, 袁美兰, 白春清

(江西科技师范大学生命科学学院, 国家淡水鱼加工技术研发分中心, 江西南昌 330013)

**摘要:** 本文以鲰鱼皮为原料, 考察了料液比、水解温度和水解时间对碱法提取胶原蛋白提取率的影响, 并利用正交设计研究了各因素间对提取率的交互作用。结果表明, 胶原蛋白的最佳提取工艺为料液比 1:10、添加 1.6% 的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、70 °C 条件下提取 9 h, 胶原蛋白的提取率为 79.67%; 根据紫外光谱扫描以及高效液相色谱的分析结果显示, 利用该法提取的胶原蛋白为典型的 I 型胶原蛋白多肽。

**关键词:** 鲰鱼皮胶原蛋白, 碱法提取, 正交设计, 理化性质

## Study on process optimization of extracting collagen from *Amiurus nebulosus* skin by alkali way

WEN Hui-fang, ZHAO Li\*, CHEN Li-li, YUAN Mei-lan, BAI Chun-qing

(College of Life Science, Jiangxi Science & Technology Normal University, Technology Research and Development of Freshwater Fish Processing Country Center, Nanchang 330013, China)

**Abstract:** Process of extracting collagen from skin of *Amiurus nebulosus* and partial characteristics were investigated in this paper. The influences of material liquid ratio, temperature and time to extraction, associate with orthogonal design to optimize the optimum extracting process of collagen by alkali solvent. The optimum distribution of parameters for extracting were determined as follows: material liquid ratio 1:10, 1.6% (w/w)  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , temperature 70 °C and 9 hours, and the optimized distribution of parameters led to 79.67% of extraction efficiency. Collagen extracted from alkali solvent was identified as collagen type I polypeptide according to UV spectrum scan and high performance liquid chromatography (HPLC) figure.

**Key words:** collagen from *Amiurus nebulosus* skin; extraction by alkali solvent; orthogonal design; physicchemical property

中图分类号: TS254.9

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)19-0233-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.19.040

胶原蛋白(collagen)是由3条多肽链相互缠绕形成螺旋结构,并富含羟脯氨酸(脯氨酸)的一类蛋白质,目前已确认有26种不同遗传类型的胶原分子,分别被命名为I型、II型和III型等<sup>[1]</sup>。胶原蛋白广泛存在于人体、哺乳动物以及鱼类的皮肤和骨骼等器官中,起到支撑器官和保护肌体的作用,是生物体中最主要的结构蛋白之一,对生物机体器官的形成和各项功能的表达具有重要作用。

胶原蛋白广泛应用于食品加工、生物医药材料、皮革、影像制造以及化妆品等行业中<sup>[2-4]</sup>。目前胶原蛋白的提取原料主要源于猪和牛等哺乳动物的皮,但随着疯牛病和口蹄疫的频繁爆发,以及伊斯兰教和清真教的人们对某些哺乳动物的抗拒,从水产品中提取胶原蛋白显得尤为迫切。我国是淡水资源大国,水产总值位居世界第一<sup>[5]</sup>,每年因水产加工而产生大量的副产物如鱼头、鱼皮、鱼鳞和鱼骨等,约占

鱼体的70%,这些副产物中含有大量胶原蛋白,如不将其有效利用,不仅会导致资源的极大浪费,而且随意抛弃还会污染环境,因此研究从鱼类副产物中提取胶原蛋白意义深远。

江西省的冷冻鲰鱼片出口量大,是江西水产行业的主要创汇产品之一。鲰鱼皮中胶原蛋白的含量高达28%,远高于鳙鱼皮和草鱼皮,最高可占鱼皮粗蛋白总量的80%之多<sup>[6]</sup>。目前鲰鱼皮胶原蛋白的提取方法主要有酸法与酶法,酸法提取使得胶原蛋白残留较重的酸味,而酶法引入了新的蛋白,不利于胶原蛋白的提纯,从而限制了鲰鱼皮的高效利用。现阶段对碱法提取胶原蛋白的研究较少,早期Sato<sup>[7]</sup>等以红鲟鱼、鲭、鲤鱼及鳊鱼肉为原料,添加NaOH至浓度为0.1 mol/L来分离提取胶原蛋白,提取液中胶原蛋白的含量分别为0.47%、0.50%、0.60%以及1.99%;Kolodziejaska等<sup>[8]</sup>利用NaOH从鲑鱼皮中提取

收稿日期: 2015-02-09

作者简介: 温慧芳(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品化学, E-mail: susie20102389@sina.cn。

\* 通讯作者: 赵利(1967-),女,博士,教授,研究方向:食品化学, E-mail: lizhao618@hotmail.com。

基金项目: 江西省高等学校科技落地计划项目(KJLD12009);江西省现代农业产业技术体系建设专项资金资助。

胶原蛋白,其得率为3%。 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 微溶于水,在溶液中通过离心过滤容易除去,减少了在胶原蛋白中的残留,本文采用碱法提取鲷鱼皮中的胶原蛋白,探究不同料液比、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 添加量、水解温度及时间对胶原蛋白提取率的影响,旨在为我国水产品副产物的高效利用提供绿色、经济、可持续的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

新鲜鲷鱼皮:江西海浩鄱阳湖水产有限公司;异丙醇、氯化钠、盐酸、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、氯胺T、高氯酸、对二氨基苯甲醛、乙二醇甲醚均为分析纯。

JJ1000型精密电子天平 常熟双杰仪器厂;HZF-A1000型电子天平 美国康州电子科技有限公司;TDL-5A台式低速离心机 上海菲恰尔分析仪器有限公司;HH-4型数显恒温水浴锅 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;05-1恒温磁力加热搅拌器 常州国华电器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 鲷鱼皮的预处理 将鲷鱼皮剪成10 mm × 20 mm的形状,用10%异丙醇在4℃条件下浸泡24 h,清洗干净后用5%的NaCl溶液在4℃条件下浸泡24 h,洗净后-20℃冷冻保藏。

1.2.2 胶原蛋白的提取 将预处理好的鲷鱼皮经洗净沥干水后,添加一定量 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 在不同温度下提取,提取液经5000 r/min离心5 min,过滤除去不溶物,浓缩后冷冻干燥即得到鲷鱼皮胶原蛋白成品。

1.2.3 鱼皮胶原蛋白含量的测定 参考GB9695.23-2008<sup>[9]</sup>。取胶原蛋白溶液0.5 mL到安倍管中,加入5 mL 6 mol/L盐酸,将安倍管密封后置于烘箱中110℃加热24 h,将水解液旋蒸后定容到100 mL,测定水解液中羟脯氨酸含量。

胶原蛋白含量 = 羟脯氨酸含量 × 14.7<sup>[10]</sup>

胶原蛋白提取率(%) = 提取液中胶原蛋白的含量 / 鱼皮中胶原蛋白的含量 × 100

1.2.4 单因素实验 在前期研究中发现,鱼皮与水的比例、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 添加量、提取温度和时间这4个因素对胶原蛋白提取效果影响较大,故分别对其进行单因素实验。

1.2.4.1 料液比对胶原蛋白提取率的影响 取5份解冻后沥干水分的鱼皮10 g,分别以5种不同的料液比1:5、1:10、1:15、1:20和1:25添加0.7%  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,在50℃条件下提取时间7 h。提取完毕后离心、过滤除去不溶物,测定提取液中羟脯氨酸的含量,确定最佳的提取料液比。

1.2.4.2  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 浓度对胶原蛋白提取率的影响 取5份解冻后沥干水分的鱼皮10 g,选取在1.2.4.1步骤中得到的最佳料液比,分别添加0.7%、1%、1.3%、1.5%和1.8%的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,在50℃条件下提取时间7 h。提取完毕后离心、过滤除去不溶物,测定提取液中羟脯氨酸的含量,确定最佳的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 浓度。

1.2.4.3 温度对胶原蛋白提取率的影响 取5份解冻后沥干水分的鱼皮10 g,选取在1.2.4.1和1.2.4.2

步骤中得到的最佳料液比和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 添加量,将鱼皮分别置于15、30、50、70和90℃条件下提取7 h。提取完毕后离心、过滤除去不溶物,测定提取液中羟脯氨酸的含量,确定最佳的提取温度。

1.2.4.4 时间对胶原蛋白提取率的影响 取5份解冻后沥干水分的鱼皮10 g,选取在1.2.4.1、1.2.4.2和1.2.4.3步骤中得到最佳料液比、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 添加量和最佳提取温度,在热水中分别提取鱼皮3、5、7、9和12 h。提取完毕后离心、过滤除去不溶物,测定提取液中羟脯氨酸的含量,确定最佳的提取时间。

1.2.5 实验条件以及正交优化设计 在单因素实验的基础上,选取胶原蛋白提取率为响应面值,进行4因素3水平的响应面实验,每个自变量的水平分别以1、2、3进行编码,实验因素与水平设计见表1,数据采用软件SPSS19.0进行分析。

表1 正交实验方案

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素			
	A 料液比	B $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (%)	C 温度 (°C)	D 时间 (h)
1	1:5	1	30	5
2	1:10	1.3	50	7
3	1:15	1.6	70	9

1.2.6 胶原蛋白的紫外光谱扫描 参考Caputo<sup>[11]</sup>的方法略有改动。将冻干的胶原蛋白成品配制成2 mg/mL溶液,用紫外分光光度计在波长200~400 nm之间进行扫描。

1.2.7 胶原蛋白的相对分子质量分布 采用HPLC检测胶原蛋白的相对分子质量分布。色谱条件:色谱柱:TSKgel 2000 SWXL 300 nm × 7.8 mm;流动相体积比:乙醇+水+氯乙酸=450+550+1;检测波长:220 nm;流量:0.5 mL/min;柱温:30℃。

标准曲线的绘制:吸取样品2 mL于10 mL容量瓶中,用流动相稀释到刻度,用微孔过滤膜过滤后进样,记录洗脱峰的保留时间。分子量 $M_w$ 与其在柱上的洗脱体积 $V_e$ 、分配系数 $K_{av}$ 存在以下关系:

$$V_e = a - b \lg M_w$$

$$K_{av} = K_1 - K_2 \lg M_w$$

$$K_{av} = (V_e - V_0) / (V_t - V_0)$$

其中a、b、 $K_1$ 、 $K_2$ 为常数; $V_0$ 为洗脱体积; $V_t$ 为胶原蛋白的洗脱体积,均表现为保留时间。以 $K_{av}$ 对 $\lg M_w$ 进行线性回归处理,得到线性回归方程。样品按照制备条件上柱求得 $V_e$ ,最终得到 $K_{av}$ 值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同料液比对提取率的影响

由图1可以看出,随着料液比的增大,鱼皮中胶原蛋白提取率呈现不同的变化趋势:当料液比为1:10(w:v)时,溶液中的提取率达到最大;而此后料液比的增大均不能使提取率超过1:10(W:V)时的提取率值。出现这个情况可能是因为水太少时鱼皮不能与溶液充分接触,从而限制了提取率;但料液比过高时,搅拌子形成的剪切力变小,使得胶原蛋白的提取

率受到影响,故最终选取 1:10 (W:V) 为最佳料液比,与酸法和酶法<sup>[12]</sup> 提取胶原蛋白的工艺对比,碱法 1:10 的料液比明显较低,节约了水资源,降低了生产成本。

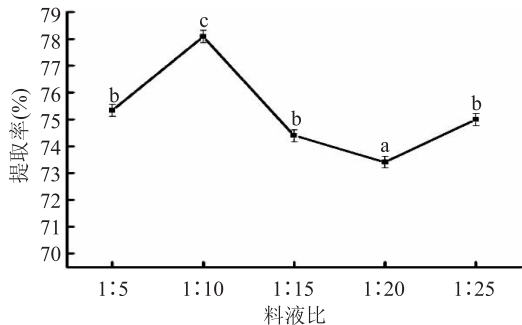


图1 不同料液比对鲷鱼皮胶原蛋白提取率的影响

Fig.1 Effect of material liquid ratio on the extraction of collagen from *Amiurus nebulosus* skin

注:图中小写字母为组间显著性比较。

## 2.2 Ca(OH)<sub>2</sub> 添加量对提取率的影响

从图2看出,在 Ca(OH)<sub>2</sub> 添加量为 1.6% 之前,添加量越大,提取率呈现增长的趋势,说明适量的 Ca(OH)<sub>2</sub> 对提取率有促进作用;在添加 1.3% Ca(OH)<sub>2</sub> 时,提取率达到最大值;之后又呈现降低趋势,说明 Ca(OH)<sub>2</sub> 浓度过高会对羟脯氨酸产生负面的影响,故选取 Ca(OH)<sub>2</sub> 浓度为 1.3% 为最佳添加量。Kolodziejska 等<sup>[13]</sup> 用 NaOH 从鲷鱼皮中提取碱溶性的胶原蛋白,提取过程中与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 相结合提取 48 h,引进了新的物质 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,不仅增加了纯化的困难,而且 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 目前是不允许应用于食品加工中的添加剂;本实验采用的 Ca(OH)<sub>2</sub> 在水中是微溶物,通过离心过滤可除去,降低了在胶原蛋白中的残留。

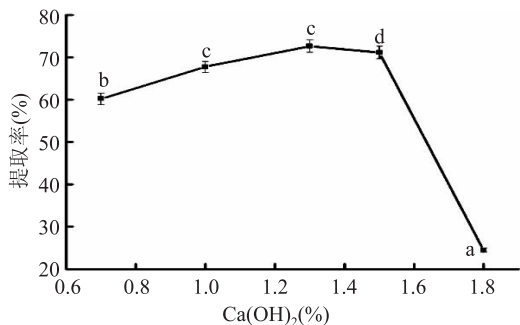


图2 不同 Ca(OH)<sub>2</sub> 浓度对鲷鱼皮胶原蛋白提取率的影响

Fig.2 Effect of Ca(OH)<sub>2</sub> on the extraction of collagen from *Amiurus nebulosus* skin

## 2.3 温度对提取率的影响

实验结果如图3所示,当温度处于 15~50 ℃ 时,温度升高可以提高胶原蛋白的提取率,可见温度对胶原蛋白的提取率影响较大。但是温度超过 50 ℃ 以后,提取率开始下降,说明过高的温度会破坏羟脯氨酸,造成提取率的下降。所以选择 50 ℃ 为最佳提取温度。林家福<sup>[14]</sup> 用热水法提取鱼鳞中的胶原蛋白,采用 90 ℃ 高温以及 pH 为 6 的情况下提取,本实验中的提取温度只需达到 50 ℃,大大降低了提取温

度,降低了生产成本。

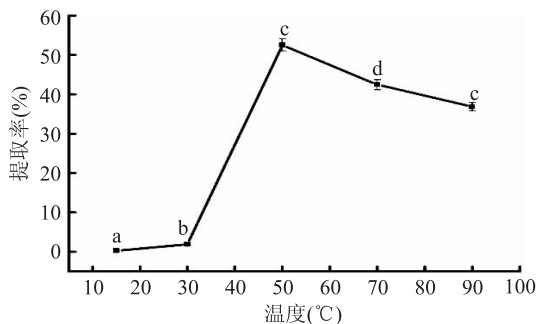


图3 不同温度对鲷鱼皮胶原蛋白提取率的影响

Fig.3 Effect of temperature on the extraction of collagen from *Amiurus nebulosus* skin

## 2.4 时间对提取率的影响

图4为不同提取时间对提取率的影响。当提取时间在 7 h 以前,提取率呈现先降低再升高的趋势,到 7 h 达到顶峰;但随后提取率陡然下跌,说明水解时间过长会对羟脯氨酸产生不利的影响。综合不同时间段中提取率的变化,最终选取 7 h 为最佳提取时间,与 Kolodziejska 等<sup>[13]</sup> 在 NaCl 溶液中提取 48 h 相比,缩短了提取时间。

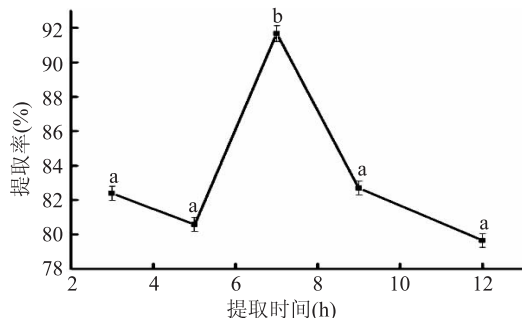


图4 不同提取时间对鲷鱼皮胶原蛋白提取率的影响

Fig.4 Effect of time on the extraction of collagen from *Amiurus nebulosus* skin

## 2.5 碱法提取胶原蛋白的最佳条件

2.5.1 正交实验及结果 综合以上的单因素实验结果,选取了料液比、Ca(OH)<sub>2</sub> 浓度、温度和时间为 4 因素 3 水平正交实验,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 的正交设计表结果(见表2),正交实验结果及数据分析见表2。正交实验中的极差数值表明:对胶原蛋白提取率影响的大小排列分别是温度(C) > 时间(D) > 料液比(A) > Ca(OH)<sub>2</sub> (B),最佳提取工艺的组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>。即料液比为 1:10, Ca(OH)<sub>2</sub> 1.6%, 70 ℃ 提取 9 h。

2.5.2 验证实验 为了验证碱法提取的效果,根据正交实验对工艺筛选出的最佳提取条件 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub> 进行验证实验。结果发现:碱法提取鲷鱼皮胶原蛋白的提取率为 79.67%,验证结果显示 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub> 为最佳提取工艺。

## 2.6 胶原蛋白的紫外扫描图谱

蛋白分子在溶液中能够吸收一定波长范围的紫外光,产生紫外吸收光谱。鲷鱼皮胶原蛋白的紫外扫描光谱如图5所示,其特征吸收波长均位于 230 nm 左右,主要是由肽键 C=O 的 n→π\* 跃迁所

贡献。Trp 在 280 nm 处有较强的紫外吸收,但是胶原蛋白中几乎不含有 Trp,故在 280 nm 处无吸收峰可作为一个鉴定胶原蛋白的方法,同时也表明通过该方法提取得到的胶原蛋白杂质少,纯度较高<sup>[15]</sup>。初步推断,所提取的物质为胶原蛋白。

表 2 正交实验结果

Table 2 Results and analysis of orthogonal experiment

实验号	料液比	Ca(OH) <sub>2</sub> (%)	温度 (°C)	时间 (h)	提取率 (%)
1	1	1	1	1	4.54
2	1	2	2	2	4.94
3	1	3	3	3	72.11
4	2	1	2	3	72.46
5	2	2	3	1	59.23
6	2	3	1	2	4.76
7	3	1	3	2	57.85
8	3	2	1	3	18.6
9	3	3	2	1	59.27
均值	27.197	44.950	9.3	41.013	
均值	45.483	27.590	45.557	22.517	
均值	45.240	45.380	63.063	54.390	
极差	18.286	17.790	53.763	31.873	

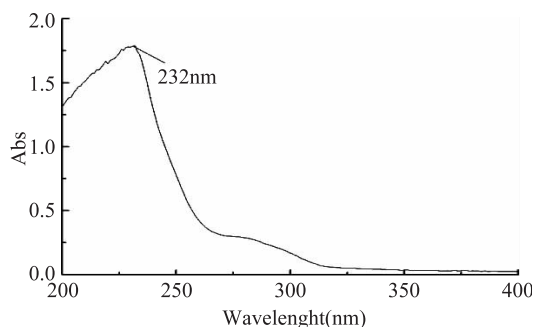


图 5 胶原蛋白的紫外吸收光谱

Fig.5 UV traviolet absorption spectroscopy of collagen

## 2.7 胶原蛋白的相对分子质量分布

用 HPLC 测定胶原蛋白的保留时间的结果见表 3。根据标准品的  $\lg Mw$  和保留时间的对数作图,呈现良好的线性关系,得到的回归方程为  $\lg Mw = -3.8951x + 6.0471, R^2 = 0.9994$ 。

表 3 碱溶性胶原蛋白的相对分子质量分布

Table 3 Average relative molecular weight distribution of alkali-soluble collagen

碱溶性胶原蛋白平均相对分子质量	含量(%)
6169	1.08
3772	3.91
2425	6.28
1414	16.63
699	26.08
280	35.25
151	10.76

碱溶性胶原蛋白的平均相对分子质量分布如表 3 所示,碱溶性胶原蛋白分子质量集中在 280~700 u

左右,且均无大分子物质存在。从分子质量分布看来,胶原蛋白的  $\alpha$  链已被打断,呈现多肽的性质,说明胶原蛋白在提取过程中发生了水解,形成了胶原蛋白多肽。胶原蛋白多肽除了具有多肽的典型特征以外,又具有普通多肽所不具备的功能,即不仅有显著的美容功效(美白、修复、保湿、滋养抗辐射等)<sup>[16-19]</sup>,还能有效促进骨骼关节的健康发展(促进骨细胞生成、加速骨骼发育、提高骨骼坚固性等)<sup>[20-23]</sup>。因此胶原蛋白多肽被广泛用于化妆品、保健食品、特殊营养食品以及医用材料中。

## 3 结论

碱法提取鲷鱼皮胶原蛋白最佳的提取工艺条件为料液比为 1:10 (w:v), Ca(OH)<sub>2</sub> 1.6%, 70 °C 提取 9 h, 提取率为 79.67%。鲷鱼皮在最佳工艺条件下水解,经过滤、浓缩、冷冻干燥后可得到色泽洁白、无异味且纯度较高的胶原蛋白粉末。通过紫外光谱扫描与高效液相色谱分析,碱法提取的鲷鱼皮胶原蛋白主要为典型的 I 型胶原蛋白多肽。利用 Ca(OH)<sub>2</sub> 提取的碱溶性胶原蛋白,工艺简单,提取温度低,时间短,且碱法水解胶原蛋白不受脂肪的影响<sup>[24]</sup>,这对于脂肪含量较高的鲷鱼皮来说是一个优点。相对比酸法和酶法提取的胶原蛋白具有较大的酸味,碱法提取的胶原蛋白保持了单纯胶原蛋白的风味,不仅为鲷鱼皮胶原蛋白的碱提取提供了工业化生产的理论依据,还开辟了碱法提取胶原蛋白更经济更优质的渠道。

## 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.
- [2] 楚水晶,农绍庄,柳春山.酶法提取马面鱼鱼皮胶原蛋白的工艺研究[J].食品科技,2010,35(5):234-237.
- [3] Harris J R, Soliakov A, Richard J. *In vitro* fibrillogenesis of collagen type I in varying ionic and pH conditions [J]. Micron, 2013(49):60-68.
- [4] Abou Neel E A, Bozec L, Knowles J C, et al. Collagen-emerging collagen based therapies hit the patient [J]. Advanced drug delivery reviews, 2013, 65(4):429-456.
- [5] 申锋.草鱼鱼鳞胶原肽的制备及其特性研究[D].武汉:华中农业大学,2009.
- [6] 官子慧.鲷鱼皮胶原蛋白的提取、特性和生物活性的研究[D].合肥:合肥工业大学,2012.
- [7] Sato K, Yoshinaka R., Sato M, et al. A Simplified Method for Determining collagen in Fish Muscle [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1986, 52(5):889-893.
- [8] Kolodziejaska I, Sikorski Z E, Niecikowska C. Parameters affecting the isolation of collagen from squid ( *Loligo ex argentine* ) skins [J]. Food Chem, 1999, 66(2):153-157.
- [9] GB/T9695.23-2008 肉与肉制品羧脯氨酸含量测定[S].
- [10] Iloa K, Krzysztof K, Barbara P, et al. Modification of the properties of gelatin from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase [J]. Food Chem, 2004, 86(2):203-209.

(下转第 242 页)

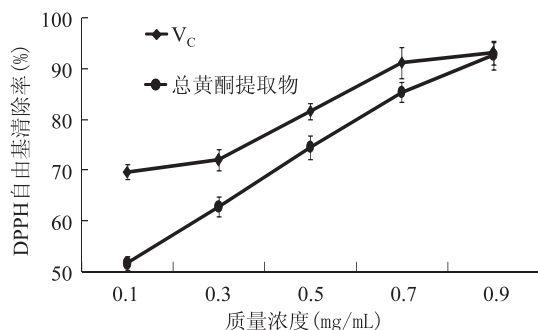


图10 不同浓度总黄酮清除 DPPH·的能力

Fig10 DPPH radical scavenging activities of different concentration of total flavonoids

### 3 结论

在单因素实验的基础上,采用响应面法优化文冠果壳总黄酮的超声波辅助提取工艺条件:原料粒度 250~178 μm、液料比 43:1 (mL:g)、乙醇体积分数 40%、超声时间 19 min、超声功率 400 W,在此条件下,总黄酮得率为 6.502%。乙醇体积分数与液料比,超声功率与液料比、超声功率与乙醇体积分数的相互作用对文冠果壳总黄酮得率有显著影响。总黄酮得率的回归分析和验证实验表明此方法合理可行。

抗氧化性的研究表明,文冠果壳总黄酮具有一定的抗氧化能力。文冠果壳总黄酮具有较强的还原能力和清除 DPPH 自由基的能力;但与 V<sub>c</sub> 相比,清除·OH 的能力较弱。实验结果可为开发利用文冠果壳总黄酮提供技术支持,同时也为文冠果壳总黄酮在食品添加剂和保健食品的开发利用方面提供理论依据。

### 参考文献

[1] 张洪梅,周泉城.文冠果壳开发利用研究进展[J].中国粮油学报,2012,27(11):118-121.

(上接第 236 页)

[11] Caputo I, Lepretti M, Scarabino C, et al. An acetic acid-based extraction method to obtain high quality collagen from archeological bone remains[J]. Analytical Biochemistry, 2012, 421(1):92-96.

[12] 陈丽丽. 鲟鱼皮中胶原蛋白的提取、性质及应用研究[D]. 南昌:江西科技师范大学,2012.

[13] Kolodziejaska I, Sikorski Z E, Niecikowska C. Parameters affecting the isolation of collagen from squid (*Illes argentinus*) skins[J]. Food Chemistry, 1999, 66:153-157.

[14] 林家福,谢福美,易美华,等. 热水提取罗非鱼鱼皮胶原蛋白的研究[J]. 中国热带医学, 2008, 8(8):1317-1328.

[15] 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, 2014, 34(23):41-46.

[16] Kim S, Kim Y T. Isolation and characterization of antioxidant peptides from gelatin hydrolysate of Alaska Pollack skin[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(4):1984-1986.

[17] Matsumoto H, Ohara H, Ito K, et al. Clinical effects of fish type I collagen hydrolysate on skin properties[J]. ITE Letters on Batteries, New Technologies and Medicine, 2006, 7(4):386-390.

[2] Adeneye A. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of methanol seed extract of *Citrus paradise* Macfad (Rutaceae) in alloxan-induced diabetic Wistar rats [J]. Nigerian quarterly journal of hospital medicine, 2008, 18(4):211-215.

[3] 林敏,吴冬青,任雪峰,等. 基于响应面分析法优化的蕨茎叶黄酮提取条件[J]. 食品工业科技, 2013, 34(23):211-215.

[4] 周达,罗成,鲁晓翔. 玫瑰花总黄酮微波辅助提取及其抗氧化研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(4):269-272, 276.

[5] 李加兴,孙金玉,陈双平,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取杜仲叶黄酮类化合物工艺优化[J]. 食品工业科技, 2013, 34(7):252-255, 259.

[6] 张圣燕,张成. 纤维素酶提取冬枣叶中总黄酮工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(1):188-190.

[7] 杜蕾,李新华,张振. 超声波辅助提取黑花生衣黄酮工艺优化[J]. 食品工业科技, 2013, 34(17):259-263.

[8] 王鹏,田春莲,田启建. 超声波预处理浸提飞龙掌血多糖的工艺优化[J]. 林产化学与工业, 2013, 33(4):108-112.

[9] 陈小强,张莹,于雪莹,等. 超声波辅助法提取黄槿叶片中总黄酮[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(9):70-72.

[10] 乔孟,屈晓清,丁之恩. 响应面法优化超声波辅助提取湖北海棠叶中总黄酮工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(2):143-147.

[11] 谷肆静,王立娟. 蒲公英总黄酮的提取及其抑菌性能[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(8):43-45.

[12] 孟娜,魏胜华,陶玉贵,等. 超声波-酶法联合提取绞股蓝总黄酮及其抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(3):138-141.

[13] 祝子坪,李娜. 桑黄菌多糖体外抗氧化作用[J]. 食品科学, 2011, 32(19):92-95.

[14] 郑燕菲,刘雄民,郭占京,等. 巨尾桉叶总黄酮提取条件及其抗氧化抑菌研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(13):120-124.

[15] 董发明,白喜婷. 响应面法优化超声提取杜仲雄花中黄酮类化合物的工艺参数[J]. 食品科学, 2008, 29(8):227-231.

[18] Sumida E, Hirota A, Kuwaba K, et al. The effect of oral ingestion of collagen peptide on skin hydration and biochemical data of blood[J]. Journal of Nutritional Food, 2004, 7(3):45-52.

[19] Cosgrove M C, Franco O H, Granger S P, et al. Dietary nutrient intakes and skin-aging appearance among middle-aged American women[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2007, 86(4):1225-1231.

[20] 李彦春,祝德义. 胶原多肽钙的制备及小鼠应用实验[J]. 中国皮革, 2005, 34(15):36-41.

[21] Moskowitz R W. Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease[J]. Seminars in Arthritis and Rheumatism, 2000, 30:87-99.

[22] 蒋国昌,黄明智. 水解胶原蛋白与中老年人骨骼健康[J]. 中国老年保健医学杂志, 2007, 5(1):18-20.

[23] Wu J, Fujioka M, Sugimoto K, et al. Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats[J]. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 2004, 22:547-553.

[24] 韩振为. 鱼皮胶原的分离与纯化[D]. 天津:天津大学化工学院, 2007.