

原型胶原蛋白的提取分离及其结构鉴定

孙圣伟¹, 何 健¹, 刘美娟¹, 李 俊², 殷光玲^{1*}

(1. 汤臣倍健股份有限公司, 珠海 519040; 2. 华南农业大学食品学院, 广州 510642)

摘 要: **目的** 比较不同产品中的原型胶原蛋白构型和理化性质差异。**方法** 经酶法、盐析等步骤对市售胶原蛋白产品进行提取分离纯化, 利用氨基酸测序技术、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)和圆二色谱技术对其结构进行鉴定。**结果** 1 号胶原蛋白为变性胶原蛋白, SDS-PAGE 方法未检测到蛋白的电泳条带, 表明其无明显的空间结构; 2 号胶原蛋白存在混杂现象, 为非纯的原型胶原蛋白; 3 号胶原蛋白为典型的 II 型胶原蛋白结构特征, SDS-PAGE 结果中存在单一的 α 链和 β 链, 与文献资料相符合。**结论** 3 种胶原蛋白均具有典型的胶原蛋白蛋白氨基酸组成, 但由于生产工艺的不同、物种来源、部位的差异, 导致表现出了 3 种不同的空间构型。

关键词: 原型胶原蛋白; 提取分离; 结构鉴定

Extraction and separation of prototype collagen and its structure identification

SUN Sheng-Wei¹, HE Jian¹, LIU Mei-Juan¹, LI Jun², YIN Guang-Ling^{1*}

(1. By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, China;

2. College of Food Sciences, South China University of Agriculture, Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: Objective To compare the differences in prototype collagen configuration and physicochemical properties in different products. **Methods** Commercially available collagen products were extracted, separated and purified by enzymatic method, salting out and other steps. Their structures were identified by amino acid sequencing, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and circular dichroism. **Results** Collagen 1 was a denatured collagen, and the electrophoresis band of the protein was not detected by SDS-PAGE, indicating that it had no obvious spatial structure. Collagen 2 had a mixed phenomenon, which was a non-pure prototype collagen. Collagen 3 was a typical type II collagen structural feature. There were single α and β chains in the SDS-PAGE results, which were consistent with the literature. **Conclusion** All 3 kinds of collagen have typical amino acid composition of collagen protein, but due to different production processes, differences in species source and location, 3 different spatial configurations are exhibited.

KEY WORDS: prototype collagen; extraction and separation; structure identification

1 引 言

胶原蛋白又名胶原, 是一种白色、不透明、无支链的纤维蛋白质, 主要存在于动物的皮、骨、软骨、牙齿、肌

腱、韧带和血管中^[1], 是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的主要成分, 与结缔组织统称为结构蛋白质, 起着支撑器官、保护机体的作用。胶原蛋白是哺乳动物体内含量最多的蛋白质, 约占胶原纤维固体物的 85%, 占体内蛋

*通讯作者: 殷光玲, 工程师, 主要研究方向为功能食品、制药工程、药物开发与分析等。E-mail: yingl@by-health.com

*Corresponding author: YIN Guang-Ling, Engineer, By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, China. E-mail: yingl@by-health.com

白质总量的 25%~30%，相当于体重的 6%^[2]。胶原蛋白通常是由 3 条 α 肽链相互缠绕形成的、含有右手超螺旋结构的一类蛋白质^[3]。胶原蛋白具有一定的乳化性，吸水保湿性和生物相容性，已广泛应用于食品^[4]、化妆品^[5]、医药^[6]等多个领域。

在胶原蛋白家族中，I 型胶原蛋白分子呈棒状，由 2 条 α_1 链，1 条 α_2 链组成，属于异源三聚体。3 条 α -肽链借范德华力、氢键及共价交联以平行、右手螺旋形式缠绕成“草绳状”三股螺旋结构。II 型胶原蛋白以原骨胶原同型三聚体的超螺旋结构存在于哺乳动物软骨，是由 3 条相同的 α_1 链组成的，在哺乳动物透明软骨中含量丰富，约占软骨组织蛋白质总量的 80%^[7]。II 型胶原蛋白作为典型的结构蛋白，甘氨酸和羟脯氨酸的含量很高，但不含有色氨酸，组氨酸、苯丙氨酸和半胱氨酸等氨基酸含量较少。基于氨基酸构成的胶原蛋白 3 条肽链形成的空间超螺旋结构和每一条肽链重复出现的 Gly-Xaa-Yaa 三肽单元密切相关，甘氨酸的空间位置能优化多肽链折叠构象，而且甘氨酸是唯一适合肽链折叠内部位置的氨基酸，产生(Gly-Xaa-Yaa)。氨基酸序列的重复最为常见的三肽单元 Gly-Pro-Hyp 有助于三股螺旋的稳定^[8]。

胶原蛋白的提取有酸法、碱法、酶法等，酸法提取纯度较高，但会使色氨酸全部破坏，且提取率低^[9,10]；碱法提取会破坏含有羟基和巯基的氨基酸且产生消旋，三螺旋结构被严重破坏，造成蛋白变性^[11]；酶法目前应用较多，以胃蛋白酶应用最为广泛，其提取率明显高于酸法和碱法提取。但酶法处理过程中对温度和 pH 的条件要求较高，需通过准确的酶解工艺参数获得高得率、非变性胶原蛋白，对保持胶原蛋白的天然结构至关重要^[12,13]。

市场上胶原蛋白产品琳琅满目，为准确判断其是否为原型蛋白及结构类型，本研究旨在通过对市场上 3 种胶原蛋白粉产品经酶法、盐析等步骤分离提取后，对其胶原蛋白结构进行鉴定，以期为市场上的胶原蛋白产品提供一个借鉴的标准和鉴定方法。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

胶原蛋白产品 A(样品 1)；胶原蛋白产品 B(样品 2)；胶原蛋白产品 C(样品 3)；考马斯亮蓝、胃蛋白酶(400 U/mg，上海瑞永生物科技有限公司)；盐酸胍(上海源叶生物科技有限公司)；胰蛋白酶(50 U/mg，广州齐云生物科技有限公司)；无水乙醇(分析纯，天津富宇化学试剂厂)；盐酸(分析纯，广州化学试剂厂)；氯化钠(分析纯，天津大茂化学试剂厂)。

2.2 仪器与设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪

器有限公司)；ME204E 万分之一天平、DELTA 320pH 计(瑞士梅特勒-托利多公司)；L530 低速离心机(湖南湘仪离心机有限公司)；Mini-PROTEAN Tetra 垂直电泳仪、Powerpac Basic 基础电源、ChemiDoc XRS+多功能凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 伯乐公司)；UC-120TPS 超声波清洗仪(宁波市双嘉仪器有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 原型胶原蛋白的提取分离

精确称取 2 g 胶原蛋白样品于 500 mL 烧杯中，再加入 200 mL 2 mol/L 盐酸胍溶液，置于 4 °C 冰箱搅拌过夜^[14]。取出 3000 r/min 离心 10 min，吸出上清液，保留不溶性残留物。再向不溶性残留物中加入 0.05 mol/L 胰蛋白酶溶液 50 mL，置于室温下孵育 48 h，同时保持连续搅拌。待孵育完成，3000 r/min 离心 10 min，吸出上清液，保留不溶性沉淀物。加入适量蒸馏水溶解沉淀物，再次 3000 r/min 离心 10 min，将沉淀取出，冻干并研磨成粉末。

2.3.2 原型胶原蛋白的酶解

实验步骤参考文献^[15]，胶原蛋白酶解的影响因素有 pH、酶解时间、酶用量。本研究设置酶解 pH、酶解时间和酶用量 3 个因素为变量。取一定量的胶原蛋白样品，按比例加入胃蛋白酶^[13]，调节 pH 为 2.2，用醋酸稀释，于 4 °C 下酶解 18 h。酶解结束后，酶解液用纱布过滤，取滤液，向滤液中加入 NaOH，调节 pH 至 7~8，边搅拌边加入一定 NaCl，盐析 12 h，待白色沉淀出现后，4000 r/min 离心 15 min，取沉淀，即得到原型胶原蛋白。

2.3.3 氨基酸组成分析

(1) 薄层层析茚三酮显色法

实验步骤参考相关文献^[16]。先取硅胶玻璃板置于 105 °C 烘箱烘烤 30 min。

点样：用铅笔在距硅胶板一端 2 cm 处划点样标记。分别用毛细玻璃管吸取样品液和标准溶液，分别点于已标记的加样处，每个点的直径不得大于 0.5 cm，冷风吹干。其中点板样品液分别为各样品用酸水解过滤后的溶液，标准溶液为配置好的羟脯氨酸标准溶液。

展开及显色：将点样的薄板置于层析缸内的展开剂中，严密封口。当展开剂前沿达到薄板 3/4 时，将薄板取出，用吹风机吹干，喷显色剂于板上，置 105 °C 烘箱中烘至薄板上出现氨基酸斑点。

(2) 氨基酸测序分析

参照 GB/T 5009.124-2003《食品中氨基酸的测定》^[17]测定样品中的氨基酸含量。准确称取各样品试样 18 mg (精确到 0.1 mg)，放入水解管中。在水解管内加 6 mol/L 盐酸 10 mL，在液面上方充入高纯氮气 2 min，在充氮气状态下封口。将已封口的水解管放在 110 °C 的恒温干燥箱内，水解 22 h 后，取出冷却。打开水解管，将水解液过滤(定性滤纸，中速)。吸取滤液 1 mL 于烧杯中 60 °C 水浴蒸干，残留

物用 1~2 mL 水溶解, 再干燥, 反复进行 2 次, 最后蒸干。将蒸干后的样品进行送检检测氨基酸序列。每个样品重复 3 次实验。

2.3.4 原型胶原蛋白的亚基组成

采用 SDS-PAGE 垂直电泳分析胶原蛋白的亚基组成, 相关溶液配制及具体操作参照陈丽清等^[18]的方法进行。以 0.25 mol/L Tris-HCl 为溶剂, 配制 1.0 mg/mL 的胶原蛋白溶液, 按体积比 4:1 添加样品缓冲液, 沸水浴 5 min, 冷却后上样, 上样量为 15 μ L (Marker 上样量为 10 μ L), 分离胶为质量分数 6%, 浓缩胶质量分数 5%。15 mA 恒流电泳, 待溴酚蓝跑到分离胶中后, 电流调至 25 mA, 电泳时间约为 1 h。考马斯亮蓝染色 2 h 后用脱色液脱色至蓝色被洗净, 然后用凝胶成像系统拍摄电泳图谱分析样品的亚基组成。

2.3.5 原型胶原蛋白的圆二色谱分析

参照 Li 等^[19]的方法进行测定, 按 10:1(mg/mL)的比例向胶原蛋白样品中加入 0.5 mol/L 的醋酸。测定前充分混匀, 在冰箱内平衡 12 h, 再在室温下放置 2 h。测定波长范围: 190~240 nm, 比色皿光程: 1 mm, 扫描速度: 0.5 nm/s。测定环境: 25 $^{\circ}$ C, 氮气, 以 0.5 mol/L 的醋酸为空白对照。

2.4 数据统计分析

采用 SigmaPlot 14.0、Microsoft Excel 2007 进行实验数据处理、分析及绘图。

3 结果与分析

3.1 原型胶原蛋白氨基酸组成分析

采用国标方法对 3 种胶原蛋白样品进行氨基酸组成分析, 经查阅文献^[20,21], 羟脯氨酸是胶原蛋白中所特有的氨基酸, 因此本研究将样品中蛋白质酸解为氨基酸, 用薄层层析茚三酮显色法来推断样品中是否含有羟脯氨酸, 并进一步对 3 种样品的水解液进行了氨基酸组成分析。

图 1 为氨基酸薄层层析显色图, 可以看到 3 种胶原蛋白样品中均有不同含量的羟脯氨酸, 样品 1 水解液中羟脯氨酸的含量最多, 颜色最深, 与图 2 显示的样品水解液中羟脯氨酸含量的大小基本一致, 因此用薄层层析法可以快速检测出羟脯氨酸相对含量。图 2 表明, 各样品中甘氨酸含量最多, 1 号样品的甘氨酸含量与 2 号和 3 号样品具有显著性差异($P<0.01$), 脯氨酸和羟脯氨酸含量次之, 此外还含有较多丙氨酸和谷氨酸, 经 SIGMAPLOT 软件统计分析, 3 个样品多个氨基酸含量上存在显著差异($P<0.05$), 其中 1 号样品各个氨基酸含量较高, 这与其制备工艺相关, 可能产品水解过度。3 个样品的氨基酸比例符合其他文献^[19,20]中对提取出的胶原蛋白中氨基酸含量的分析, 但含量均有相应减少, 可能原因是样品中的胶原蛋白纯度不高。因此初步判定 3 种样品中均含有不同纯度的原型胶原蛋白。

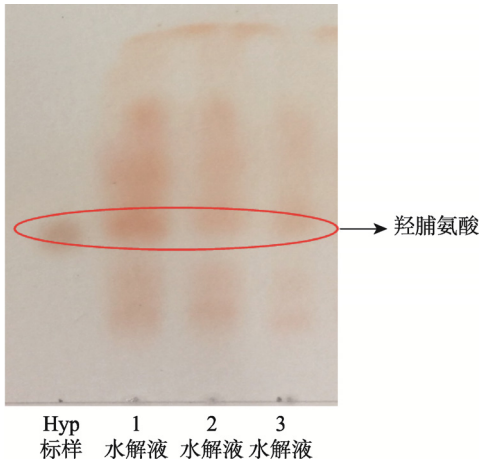
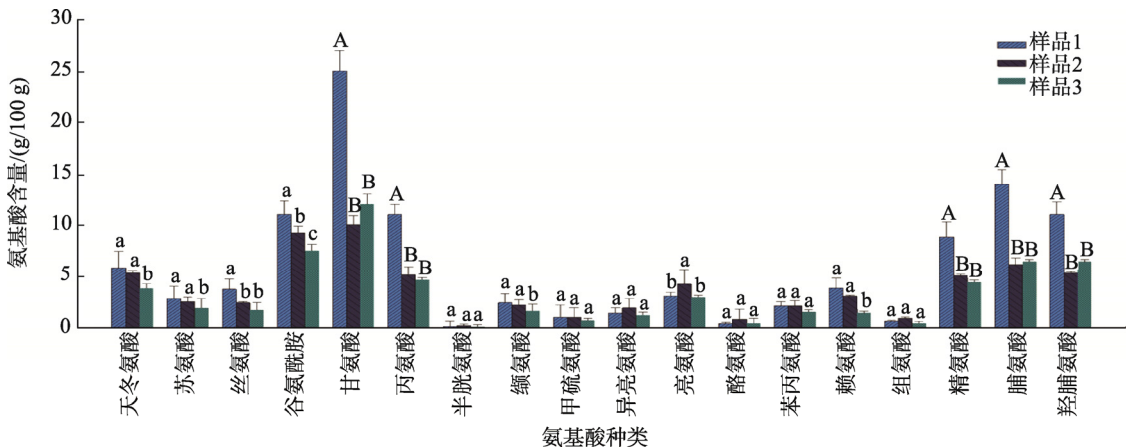


图 1 胶原蛋白样品水解后的氨基酸薄层层析结果
Fig.1 Thin layer chromatography results of amino acid after hydrolysis of collagen samples



注: 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

图 2 胶原蛋白样品中氨基酸测序仪检测结果($n=3$)

Fig.2 Amino acid sequencer detection results in collagen samples ($n=3$)

3.2 原型胶原蛋白的亚基组成

采用 SDS-PAGE 方法对 3 种胶原蛋白的亚基组成进行定性的检测。从图 3 中可以看出,各电泳条带存在明显的 α 链和 β 链结构^[22],1 号胶原蛋白供试样品未见 SDS-PAGE 电泳条带,推测可能是胶原蛋白在最初的制备工艺中,高温或者强酸强碱将其结构破坏,蛋白质变性,变成分子量更小的一类多肽物质;2 号和 3 号胶原蛋白供试样品在 130 kDa 左右存在明显条带,且 3 号样品在 280 kDa 左右存在一条电泳条带,3 号胶原蛋白为较纯的 II 型胶原蛋白;但 2 号样品在 115~140 kDa 分布中存在另一条电泳条带,推测表明 2 号样品为掺混的 II 型胶原蛋白,可能是 I 型胶原蛋白或 I 型胶原蛋白和 II 型胶原蛋白的混合物。

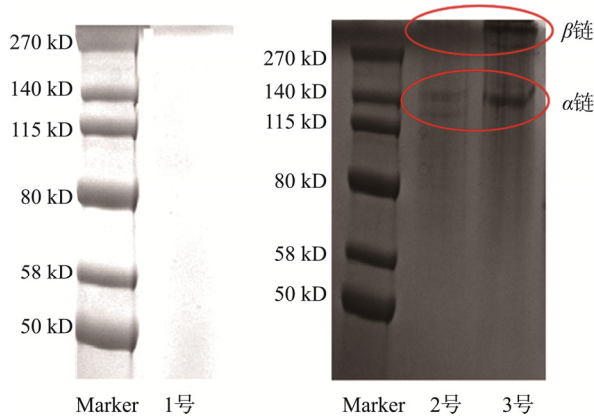


图 3 3 种胶原蛋白样品的亚基组成
Fig.3 Subunit composition of three collagen samples

3.3 原型胶原蛋白的圆二色谱分析

蛋白质的圆二色谱(circular dichroism, CD)信号反映了二级结构元件的总和,能估算未知结构蛋白质的螺旋、链和转角的比例。II 型胶原蛋白出现的正吸收峰与反式肽键的聚脯氨酸构型肽链有关,而其负吸收峰的出现与无规卷曲有直接的关系^[7]。

由图 4 可以看出,2 号和 3 号样品,在 198 nm 左右有强的负吸收峰,这是 II 型胶原分子构象中无规则卷曲结构的典型特征。在波长 221 nm 左右有弱的正吸收峰,这是左旋聚脯氨酸(P-II)构型肽链圆二色谱的典型特征;213 nm 处为 0,这是胶原蛋白三螺旋结构的典型特征。因此可以初步判断纯化过程中胶原蛋白的三螺旋结构没有被破坏。结合电泳谱图,判断 3 号样品是比较纯的单一物种来源 II 型胶原蛋白,2 号样品可能也具有 II 型胶原蛋白的特征结构,结合 SDS-PAGE 鉴别结果,初步判断 2 号样品掺有其他物种来源的 II 型胶原蛋白。从表 1 可以看出,II 型胶原蛋白的主链主要为 β -折叠、无规则卷曲结构,不包含 α -螺旋^[23],按照蛋白质的结构模式分类^[24]属于“全 β 型”三级结构。如图 4,1 号样品没有正吸收谱带,由圆二色谱的结果可以推

断 1 号样品未见胶原蛋白的特征螺旋结构,虽然氨基酸测定得到羟脯氨酸的含量较高,但是判断是由于加工或者处理过程中蛋白被水解成小的氨基酸^[25],丧失了胶原蛋白的特征结构,其二级结构可能在酶解过程中被高温、酸碱、或者胶原蛋白自组装遭到一定程度的破坏和重组。

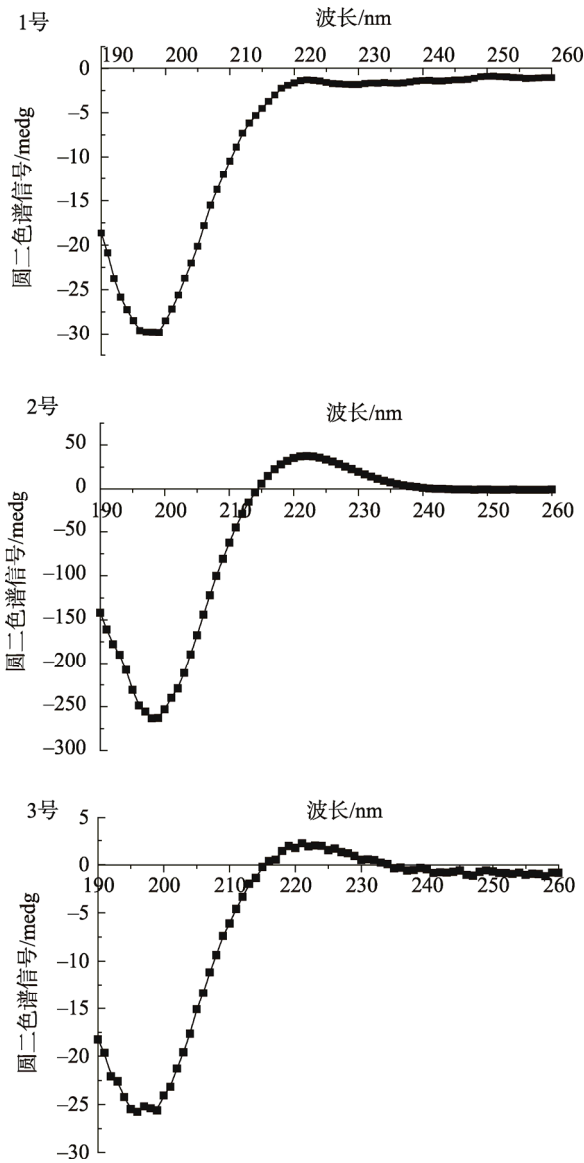


图 4 3 种胶原蛋白样品圆二色谱结果
Fig.4 Circular dichroism results of three collagen samples

表 1 3 种胶原蛋白的二级结构/%
Table 1 Secondary structure of three collagens/%

样品	螺旋	反平行	平行	β -转角	无规则卷曲
1	6.50	63.84	3.15	23.23	3.28
2	2.72	61.77	2.59	31.38	1.61
3	4.98	62.65	4.29	22.78	5.36

4 结 论

本研究以市场上 3 种胶原蛋白为样品, 经过分离纯化后, 利用氨基酸测序、SDS-PAGE 以及圆二色谱的方法对其进行检测分析。3 种胶原蛋白均具有典型的胶原蛋白氨基酸组成, 但由于生产工艺的不同、物种来源、部位的差异, 导致表现出了 3 种不同的空间构型, 结果表明, 1 号胶原蛋白为变性胶原蛋白, 无明显空间结构; 2 号胶原蛋白存在掺混的 II 型胶原蛋白; 3 号胶原蛋白存在单一的 α 链和 β 链, 与文献研究相符合, 为典型的 II 型胶原蛋白结构特征。本研究为市售胶原蛋白产品提供了一个有利的产品质量控制标准和结构鉴定方法, 为胶原蛋白产品开发提供了新思路和新方向。

参考文献

- [1] 王雪蒙, 于玮, 马良, 等. 兔皮胶原蛋白的提取及其结构鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(4): 209.
- Wang XM, Yu W, Ma L, *et al.* Extraction and structure identification of rabbit skin collagen [J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(4): 209.
- [2] 王沥浩, 王文慧, 郭咏昕, 等. 胶原蛋白功能概述[J]. 黑龙江农业科学, 2014, (3): 150–156.
- Wang LH, Wang WH, Guo YX, *et al.* Overview of collagen function [J]. Heilongjiang Agric Sci, 2014, (3): 150–156.
- [3] Goldberga I, Li R, Duer MJ. Collagen structure–function relationships from solid-state NMR spectroscopy [J]. Account Chem Res, 2018, 51(7): 1621–1629.
- [4] 李兴武, 章黎黎. 胶原蛋白的改性研究及在食品工业中的应用[J]. 肉类研究, 2009, (11): 80–84.
- Li XW, Zhang LL. Study on modification of collagen and its application in food industry [J]. Meat Res, 2009, (11): 80–84.
- [5] 王学川, 任龙芳, 强涛涛, 等. 胶原蛋白的研究进展及其在化妆品中的应用[J]. 日用化学工业, 2005, 35(6): 388–392.
- Wang XC, Ren LF, Qiang TT, *et al.* Research progress of collagen and its application in cosmetics [J]. J Chin Chem Ind, 2005, 35(6): 388–392.
- [6] Avila RM, Rodriguez BLG, Sánchez ML. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications [J]. J Cosmet Dermatol-US, 2018, 17(1): 20–26.
- [7] 宋瑞瑞, 包斌, 卜永士, 等. II 型胶原蛋白的热稳定性, 圆二色性和红外光谱研究[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(1): 55–62.
- Song RR, Bao B, Bu YS, *et al.* Thermal stability of type II collagen, circular dichroism and infrared spectroscopy [J]. Chin J Marine Drug, 2013, 32(1): 55–62.
- [8] Gauza-Włodarczyk M, Kubisz L, Włodarczyk D. Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects [J]. Int J Biol Macromol, 2017, (104): 987–991.
- [9] 施辉阳. 酶法提取猪皮胶原的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2004.
- Shi HY. Enzymatic extraction of collagen from pig skin [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2004.
- [10] 陈丽清. 超高压技术制备高品质明胶及其机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- Chen LQ. Preparation of high quality gelatin by ultrahigh pressure technology and its mechanism [D]. Chongqing: Southwest University, 2013.
- [11] 李兴武. 猪皮胶原蛋白的提取及琥珀酰化改性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2011.
- Li XW. Extraction of pig skin collagen and succinylation modification [D]. Chongqing: Southwest University, 2011.
- [12] Kezwoń A, Chromińska I, Frączyk T, *et al.* Effect of enzymatic hydrolysis on surface activity and surface rheology of type I collagen [J]. Colloid Surfac B, 2016, (137): 60–69.
- [13] Sompie M, Surtijono SE, Pontoh JHW, *et al.* The effects of acetic acid concentration and extraction temperature on physical and chemical properties of pigskin gelatin [J]. Proceed Food Sci, 2015, (3): 383–388.
- [14] 程媛, 曹慧, 徐斐, 等. 鸡胸软骨中 II 型胶原的制备工艺优化[J]. 食品科学, 2015, (6): 5–10.
- Cheng Y, Cao H, Xu F, *et al.* Optimization of preparation technology of type II collagen in chicken chest cartilage [J]. Food Sci, 2015, (6): 5–10.
- [15] 于玮, 王雪蒙, 马良, 等. 猪皮胶原蛋白提取过程中酶解条件优化及其结构鉴定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(4): 106–113.
- Yu W, Wang XM, Ma L, *et al.* Optimization of enzymatic hydrolysis conditions and structural identification during extraction of collagen from pig skin [J]. J Southwest Univ (Nat Sci Ed), 2015, 37(4): 106–113.
- [16] 王海龙, 崔智慧, 岳秀兰. 氨基酸薄层析茚三酮显色改良[J]. 包头医学院学报, 2003, 19(4): 312–313.
- Wang HL, Cui ZH, Yue XL. Improvement of ninhydrin coloration by amino acid thin layer chromatography [J]. J Baotou Med Coll, 2003, 19(4): 312–313.
- [17] GB/T 5009.124-2003 食品中氨基酸的测定[S].
- GB/T 5009.124-2003 Determination of amino acids in food [S].
- [18] 陈丽清, 张宇昊, 周梦柔, 等. 猪皮明胶提取过程中的超高压预处理工艺优化[J]. 农业工程学报, 2012, 28(19): 262–269.
- Chen LQ, Zhang YH, Zhou MR, *et al.* Optimization of ultra-high pressure pretreatment process in pig skin gelatin extraction process [J]. Transact Chin Soc Agric Eng, 2012, 28(19): 262–269.
- [19] Li D, Mu C, Cai S, *et al.* Ultrasonic irradiation in the enzymatic extraction of collagen [J]. Ultrason Sonochem, 2009, 16(5): 605–609.
- [20] 李赛娜. 牛关节软骨 II 型胶原的制备及其对骨形成的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
- Li SN. Preparation of type II collagen of bovine articular cartilage and its effect on bone formation [D]. Taian: Shandong Agriculture University, 2017.
- [21] 吴雷, 郑娟, 刘文涛, 等. 鸡关节软骨 II 型胶原蛋白结构及性能表征[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(11): 86–90.
- Wu L, Zheng J, Liu WT, *et al.* Characterization of structure and properties of type II collagen in chicken articular cartilage [J]. Food Graphic, 2016, 42(11): 86–90.
- [22] Wang L, Liang Q, Chen T, *et al.* Characterization of collagen from the skin

of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) [J]. Food Hydrocolloid, 2014, (38): 104–109.

- [23] 周晓辉, 常亚南, 何晓亮, 等. II 型胶原蛋白的结构、功能及其最新研究进展[J]. 河北科技大学学报, 2017, 38(2): 202–208.

Zhou XH, Chang YN, He XL, *et al.* The structure, function and recent research progress of type II collagen [J]. J Hebei Univ Sci Technol, 2017, 38(2): 202–208.

- [24] Levitt M, Chothia C. Structural patterns in globular proteins [J]. Nature, 1976, 261(5561): 552.

- [25] Usha R, Ramasami T. Structure and conformation of intramolecularly cross-linked collagen [J]. Colloid Surf B, 2005, 41(1): 21–24.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介

孙圣伟, 硕士, 工程师, 主要研究方向为功能食品、食品化学、药物分析等。

E-mail: 1554714208@qq.com

殷光玲, 工程师, 主要研究方向为功能食品、制药工程、药物开发与分析等。

E-mail: yingl@by-health.com