海蜷多糖性质及抗氧化活性研究

蒋长兴¹, 焦云鹏³, 熊清平¹, 陈晓明¹, 王纪忠¹, 曾晓雄²

(1. 淮阴工学院 生命科学与化学工程学院, 江苏 淮安 223003; 2. 南京农业大学 食品科技学院, 江苏 南京 210095; 3. 江苏食品职业技术学院, 江苏 淮安 223003)

摘要: 采用 DEAE-纤维素柱层析法对海蜷粗多糖(CP)进行初步分离, 获得 3 个组分(F_1 、 F_2 、 F_3)。采用 Sephadex G-100 凝胶柱层析进一步分离纯化, 获得 3 个纯化组分(f_1 、 f_2 、 f_3)。对 f_1 、 f_2 、 f_3 的纯度进行鉴定, 结果表明, f_1 、 f_2 、 f_3 为均一的多糖组分。采用苯酚-硫酸法、硫酸-间羟联苯法、考马斯亮蓝法、氯化钡-明胶法分别对 CP、 f_1 、 f_2 、 f_3 中总糖、糖醛酸、蛋白质、硫酸基含量进行分析。结果表明, CP、 f_1 、 f_2 、 f_3 总糖质量分数分别为 83.81%、98.75%、95.58%、84.71%; 糖醛酸质量分数分别为 1.58%、0.16%、0.96%、2.13%; 硫酸基质量分数分别为 0.92%、1.22%、2.08%、3.58%; CP、 f_3 蛋白质分别为 3.08%、6.34%, f_1 、 f_2 均未能检出; HPLC 分析结果表明, f_1 、 f_2 、 f_3 的平均相对分子质量分别为 68 600、80 600、100 600。采用化学方法对 CP、 f_1 、 f_2 、 f_3 进行体外抗氧化活性测定。结果表明, CP、 f_1 、 f_2 、 f_3 具有不同的还原力、脂质过氧化抑制活性、金属离子螯合能力。

关键词: 海蜷; 多糖; 性质; 抗氧化活性

中图分类号: TS 254.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)10—1091—06

Characterization and Antioxidant Activity in Vitro of Polysaccharides from *Chinese Venus*

JIANG Chang-xing¹, JIAO Yun-peng³, XIONG Qing-ping¹,
CHEN Xiao-ming¹, WANG Ji-zhong¹, ZENG Xiao-xiong²

(1. College of Life Science and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huaian 223003, China; 2. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Jiangsu Food Science College, Huaian 223003, China)

Abstract: The polysaccharide from Chinese Venus was firstly separated through a column of DEAE-cellulose (Whatman DE 52). As a result, three independent elution peaks (F_1 , F_2 and F_3) were obtained. The three fractions were loaded onto a column of Sephadex G-100, affording f_1 , f_2 and f_3 , respectively. Purity of f_1 , f_2 and f_3 was further confirmed by using HPLC, and results showed that f_1 , f_2 and f_3 were homogeneous polysaccharides respectively. The chemical characterizations of polysaccharides were investigated by various methods. As to CP, f_1 , f_2 and f_3 , polysaccharides content, measured by employing the method of sulfuric acid-phenol coloration, was 83.81%,

收稿日期: 2012-12-19

基金项目: 江苏省高校自然科学基金项目(13KJB550004)。

作者简介: 蒋长兴(1977—), 男, 河南漯河人, 工学博士, 讲师, 主要从事天然产物资源开发、天然产物活性评价与利用等研究。

E-mail: jlc2x3@gmail.com

98.75%, 95.58% and 84.71%, respectively. Uronic acid content, determined by using the method of sulfate-3-phenylphenylol assay, was 1.58%, 0.16%, 0.96% and 2.13%, respectively. Sulfuric radical content, determined by employing the method of gelatin-barium chloride assay, was 0.92%, 1.22%, 2.08% and 3.58%, respectively. Protein content, measured by applying the method of coomassie brilliant blue coloration, was 3.08%, not detected, not detected and 6.34% respectively. The relative molecular weight of f_1 , f_2 and f_3 , determined by HPLC, was 68 600, 80 600 and 100 600, respectively. The CP, f_1 , f_2 and f_3 had different reducing power, lipid peroxidation inhibition effect and ferrous ion chelating activity.

Keywords: chinese venus, polysaccharide, characterization, antioxidant activity

多糖是生物体内广泛存在的一类大分子物质,一些天然多糖已被证实具有抗肿瘤、抗病毒、抗感染、抗氧化、增强免疫力等多种生物学功能^[1]。多糖的这些生物学功能与其自身的理化性质、空间结构、取代基的类型等方面密切相关^[2]。较多研究表明,海蜷多糖具有抗肿瘤、增强免疫力、抗感染等生理功能^[3]。然而到目前为止有关海蜷多糖的分离纯化、理化性质及活性等方面的研究报道不多。采用离子交换柱层析(DEAE-纤维素)与凝胶柱层析(Sephadex G-100)法,将海蜷多糖进行分离纯化,获得不同纯化组分;测定粗多糖及其纯化组分的总糖质量分数、蛋白质质量分数、糖醛酸质量分数、硫酸基质量分数,以及相对分子质量及纯度,测定粗多糖及纯化产品的还原力、金属离子螯合能力、还原能力、脂质过氧化抑制活性等,对海蜷多糖及纯化组分的抗氧化活性进行体外评价。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜海蜷:南京惠民桥水产品批发市场提供;DEAE-纤维素、葡聚糖 G-100、葡萄糖醛酸、葡聚糖标准品:购于 Sigma 公司;考马斯亮蓝 G-250、氯化钡、明胶、三氯乙酸、三氟乙酸等:均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

可见分光光度计:721 型,上海菁华科技仪器有限公司产品;电子天平:AY-120 型、BL-220H 型,日本 SHIMADZU 公司产品;电脑全自动部份收集器:DBS-100A 型,上海沪西分析仪器厂产品;气相色谱仪:Agilent 6890N 型,美国 Agilent 公司产品;高效液相色谱仪:Agilent 1100 Series 型,美国 Agilent 公司产品;旋转蒸发器:Laborota-400 型,Heidolph 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 提取制备 鲜活海蜷清洗干净,暂养过夜。去壳,取肉、体积分数 75%乙醇保存。2 d 后将肉匀浆,向匀浆中加入体积分数 75%乙醇保存 4 周,以脱去海蜷匀浆中的脂肪、色素及其它杂物。离心,烘干,得海蜷组织粉。称取海蜷组织粉适量,加入一定体积的蒸馏水,水浴提取、离心、抽滤、浓缩、体积分数 75%乙醇沉淀、烘干得多糖粗提物。Sevag 法脱蛋白,得粗多糖,备用。

1.3.2 分离纯化 海蜷多糖 DEAE-纤维素层析柱的分离与葡聚糖凝胶柱层析法进一步纯化参照 Qiao 等^[4]报道的方法并稍作修改。称取 60 mg 海蜷多糖溶于 3 mL 去离子水中,加样于 DEAE-纤维素层析柱(2.6 cm×30 cm)中,用不同浓度的 NaCl 溶液依次洗脱,洗脱液流速设为 1.0 mL/min,自动部分收集器分步收集(10 min/管)不同浓度洗脱液对应的流出液。硫酸-苯酚法检测各管流出液的多糖含量(490 nm 处吸收值),将较大吸光值对应的流出液合并收集,合并液 50 °C 条件下旋转蒸发浓缩,,透析 24 h,经真空冷冻干燥,获得初步纯化产品。称取 20 mg 经 DEAE-纤维素初步纯化的多糖组分,溶于 5 mL 去离子水中,加样于 Sephadex G-100 凝胶层析柱(2.6 cm×60 cm)。用去离子水洗脱,洗脱速度为 0.25 mL/min,自动部分收集器分步收集流出液(5 min/管)。硫酸-苯酚法检测各管中流出液的多糖含量(490 nm 处吸收值),将较大吸光值对应的流出液合并收集,合并液于 50 °C 条件下旋转蒸发浓缩,自来水和去离子水分别透析 24 h,最后将透析液真空冷冻干燥,得到纯化产品。

1.3.3 理化性质测定 样品中总糖、蛋白质、糖醛酸硫酸基质量分数的测定,参照 Dubois 等^[5]、Bradford^[6]、Blumenkrantz 等^[7]、Dodgson 等^[8]等报道的

方法。样品的纯度和相对分子质量测定,参照 Roy 等^[9]报道的分子排阻高效液相色谱法。将已知相对分子质量的标准多糖用流动相配成 1.0 mg/mL 标准溶液,经 0.45 μm 滤膜过滤后,采用 Agilent 1100 series 高效液相色谱仪、TSK-Gel G3000 SW_{XL} 色谱柱、示差检测器(RID)进行分析。流动相为含 0.1 mol/L Na₂SO₄ 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6.8),流动相流速为 0.8 mL/min,色谱柱和检测器温度均为 25 °C,进样体积为 20 μL,记录示差色谱图的保留时间(T_R)。绘制多糖分子量的标准曲线。称取多糖样品配制 1.0 mg/mL 溶液,相同条件下进行高效液相色谱分析。

1.3.4 体外抗氧化活性

1) 金属螯合能力的测定 金属离子螯合能力的测定参照 Liu 等^[10]报道的方法。取不同浓度的样品(CP、 F_1 、 F_2 和 F_3)溶液 1.0 mL 于试管中,分别加入 0.05 mL 氯化亚铁溶液(2.0 mmol/L)、0.2 mL 菲洛嗪(ferrozine)溶液(5.0 mmol/L)、2.75 mL 去离子水。混匀反应体系,10 min 后分光光度法测定 562 nm 处吸光值。设 EDTA-2Na 为实验对照。金属离子螯合能力按照下面公式进行计算:螯合率(%)=($A_{\text{对照}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{干扰}})$)/ $A_{\text{对照}} \times 100\%$ 。

2) 还原力的测定 还原力测定参照 Oyaizu 等^[11]报道的方法。配制不同浓度的待测试样 1.0 mL,分别加入 1.0 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH=6.6)和 1.0 mL 铁氰化钾[K₃Fe(CN)₆]溶液(1%)。50 °C 水浴 20 min,迅速冷却,加入三氯乙酸(质量分数 10%) 1.0 mL,离心(5 000 r/min, 15 min)。取上清液 1.5 mL,依次加入 1.5 mL H₂O, 0.3 mL FeCl₃ 溶液(质量分数 0.1%),混匀,700 nm 处测定吸光值,得 A_1 。以 0.3 mL H₂O 代替 FeCl₃ 溶液(质量分数 0.1%),测得 A_2 。设 V_c 为实验对照。还原力为 $A_{700\text{nm}} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{干扰}})$ 。

3) 脂质过氧化抑制活性的测定 脂质过氧化抑制活性的测定采用硫代巴比妥酸反应底物(TBARS)法^[12]。取不同浓度的多糖溶液 1.0 mL,依次加入 1.0 mL 的质量分数 1% 的小鼠肝脏匀浆(每 100 mL 的匀浆含有 1 g 的小鼠肝脏)、0.05 mL 的 0.5 mmol/L FeCl₂ 溶液、0.05 mL 的 0.5 mmol/L H₂O₂ 溶液,混合物 37 °C 反应 60 min 后,再加入 1.5 mL 的 TCA 溶液(质量分数 20%)、1.5 mL TBA 溶液(质量分数 0.8%),所得混合液 100 °C 反应 15 min,4 000 r/min 离心 10 min 后,分光光度法测定上清

液在 532 nm 处的吸光值,设 V_c 为实验对照。抑制率(%)=($A_{\text{对照}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{干扰}})$)/ $A_{\text{对照}} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 海蛭多糖分离纯化

采用 DEAE-纤维素柱层析法,以不同浓度 NaCl 溶液(0、0.1、0.5 mol/L)作为洗脱液对海蛭粗多糖进行初步分离,得到 3 个主要组分,分别标记为 F_1 、 F_2 、 F_3 (图 1)。将这 3 个组分分别收集,50 °C 减压蒸发浓缩,浓缩液去离子水透析 48 h,透析液真空冷冻干燥,得到初步纯化产品。利用 Sephadex G-100 层析柱对经 DEAE-纤维素色谱柱初步分离的 3 个组分进行纯化处理,得到 3 个纯化组分(图 1)。分别记为 f_1 、 f_2 和 f_3 。

图 1 海蛭多糖 DE-52(a)与葡聚糖 G-100(b)柱层析洗脱曲线

Fig. 1 Stepwise elution curve of CP on anion-exchange chromatography column of DEAE-52 cellulose (A) and elution curve of polysaccharide fractions (F_1 , F_2 and F_3) from DEAE-52 cellulose on size-exclusion chromatography column of Sephadex G-100 (B)

2.2 海蛭多糖基本性质

海蛭多糖基本化学组成测定显示:海蛭粗多糖总糖、蛋白质质量分数分别为 83.81%、3.08%。表明

海蚬经过热水提、醇沉等工艺所得的产品多糖为主要成分。由于海蚬多糖属于动物性多糖,含有一定量的糖蛋白,采用 Sevag 法只能除去游离蛋白质,因此海蚬粗多糖的蛋白质可能是结合的糖蛋白。海蚬多糖纯化组分 f_1 、 f_2 、 f_3 总糖质量分数分别为 98.75%、95.58%、84.71% f_3 蛋白质质量分数为 6.34% f_1 、 f_2 蛋白质未能检出。表明 f_1 、 f_2 为单一的不含蛋白的多糖组分,而 f_3 含有一定量结合的糖蛋白。海蚬粗多糖通过 DEAE-纤维素与 Sephadex G-100 凝胶柱层析法分离纯化所得到的各个组分总糖质量分数、纯度均大大提高,并且能够将含有结合蛋白的组分与其他多糖组分进行有效地分离。

由糖醛酸、硫酸基质量分数测定结果可以看出,海蚬多糖糖醛酸质量分数分别为 1.58%、0.16%、0.96%、2.13%,硫酸基质量分数分别为 0.92%、1.22%、2.08%、3.58%。表明海蚬多糖均含有不等量的糖醛酸、硫酸基等带电基团,随着 NaCl 浓度的提高,所得到的纯化组分糖醛酸、硫酸基含量逐渐提高。该结论证实 f_2 、 f_3 为含有糖醛酸、硫酸基的酸性多糖组分, f_1 含有一定量的糖醛酸与硫酸基,与 f_2 、 f_3 相比,含量均较低,因此可以认为 f_1 是一种中性多糖。

2.3 海蚬多糖的纯度及相对分子质量

海蚬多糖分子排阻高效液相图谱表明 f_1 、 f_2 、 f_3 3 组分在高效液相图谱上的保留时间分别为 8.423、8.140、7.750 min,将保留时间代入回归方程,计算得到各组分的平均相对分子质量。 f_1 、 f_2 、 f_3 的平均相对分子质量分别为 68 600、80 600、100 600。

2.4 体外抗氧化活性

2.4.1 金属离子的螯合能力 海蚬多糖对金属离子螯合能力的测定结果见图 2。由图 2 可以看出,海蚬多糖具有一定金属离子的螯合能力。多糖浓度对金属离子的螯合能力影响极显著 ($P < 0.01$)。随着多糖质量浓度提高,金属离子的螯合能力呈上升趋势。对 CP 来说,当多糖质量浓度在 0~3.2 mg/mL 的范围内时,金属离子的螯合能力随着多糖质量浓度的提高呈较显著的上升趋势;当多糖质量浓度在 3.2~4.0 mg/mL 的范围内时,金属离子的螯合能力随着多糖质量浓度的提高上升趋势不显著 ($P > 0.05$)。对 f_3 、 f_2 、 f_1 来说,在实验设计的范围内 (0~4.0 mg/mL),金属离子的螯合能力随着多糖质量浓度的提高呈较显著的上升趋势。在实验设计的范围内 (0~4.0 mg/mL),海蚬多糖的金属离子的螯合能力由小

到大的顺序为 $F_1 < F_2 < F_3 < CP$ 。多糖质量浓度为 4.0 mg/mL 时,CP、 F_1 、 F_2 、 F_3 的金属离子的螯合能力分别为 95.1%、57.7%、63.5%、86.3%。由以上分析知,海蚬多糖高质量浓度时对金属离子的螯合能力较强。有报道称,化合物中如果含有 -OH、-SH、-COOH、-PO₃H₂、C=、-NH₂、-S-、-O- 等基团就有可能具有一定的金属离子螯合能力^[13]。海蚬多糖中的对金属离子的螯合能力可能是由于其分子链中含有的大量羟基、羧基等活性基团。

图 2 海蚬粗多糖及纯化组分的金属离子螯合能力

Fig. 2 Chelating effects and reducing power of CP, F_1 , F_2 and F_3

2.4.2 海蚬多糖的还原力 海蚬多糖还原力的测试结果见图 3。由图 3 可以看出,海蚬多糖具有一定还原能力。多糖浓度对还原力影响达到显著水平 ($P < 0.05$)。随着多糖质量浓度提高,还原力呈上升趋势。在实验设计的范围内 (0~4.0 mg/mL),海蚬多糖的还原力由小到大的顺序为 $CP < F_1 < F_2 < F_3$ 。多糖质量浓度为 4.0 mg/mL 时,CP、 F_1 、 F_2 、 F_3 还原力分别为 41.6%、42.9%、43.4%、59.6%。在实验设计的范围内 (0~4.0 mg/mL),海蚬多糖的还原力均显著低于 VC,表明海蚬多糖具有中等强度的还原力。

图 3 海蚬粗多糖及纯化组分的金属离子螯合能力

Fig. 3 Chelating effects and reducing power of CP, F_1 , F_2 and F_3

2.4.3 海蛭多糖的脂质过氧化抑制活性 脂质过氧化是生物体内氧自由基参与的不饱和脂肪酸自动氧化反应。生物体内脂质过氧化反应一方面破坏了细胞膜结构的完整性,另一方面生成了具有潜在的细胞毒性脂质过氧化产物。脂质过氧化产物通常是丙二醛(MDA),该物质的生成量是衡量生物体内脂质过氧化反应程度的重要指标^[14]。MDA能与巯代巴比妥酸发生化学反应,生成一种粉红色物质,该物质在波长532 nm处呈最大吸收。在多糖的脂质过氧化抑制活性测试中,通过采用分光光度法测定反应体系532 nm处吸光值的变化来确定多糖脂质过氧化抑制活性的高低^[15]。海蛭多糖脂质过氧化抑制活性的测试结果见图4。

图4 海蛭粗多糖及纯化组分的脂质过氧化抑制活性

Fig. 4 Lipid peroxidation inhibition activity of CP, F₁, F₂ and F₃

由图4可以看出,海蛭多糖具有一定脂质过氧化抑制活性。多糖质量浓度对脂质过氧化抑制活性影响达到极显著水平($P < 0.01$)。随着多糖质量浓度提高,脂质过氧化抑制活性呈上升趋势。对CP、F₁、F₂、F₃来说,多糖质量浓度较低时(0~0.8 mg/mL)时,脂质过氧化抑制活性随着多糖质量浓度的提高呈较显著的上升趋势;多糖质量浓度较高时(3.2~4.0

mg/mL)时,脂质过氧化抑制活性随着多糖质量浓度的提高上升趋势不显著。

在实验设计的范围内(0~4.0 mg/mL),海蛭多糖的脂质过氧化抑制活性由小到大的顺序为 $F_2 < F_1 < F_3 < CP$ 。多糖质量浓度为4.0 mg/mL时,CP、F₁、F₂、F₃的脂质过氧化抑制活性分别为59.6%、45.1%、43.4%、51.0%。高质量浓度时(3.2、4.0 mg/mL),海蛭多糖的脂质过氧化抑制能力与V_C较为接近,表明海蛭多糖具有中等的脂质过氧化抑制活性。海蛭多糖的脂质过氧化抑制活性可能是其在清除自由基、螯合金属离子、还原能力等方面活性的综合反映。

3 结论

1) 采用DEAE-纤维素柱层析法对海蛭多糖进行初步分离,获得3个组分(F₁、F₂、F₃)。采用Sephdex G-100凝胶柱层析进一步分离纯化,获得3个纯化组分(f₁、f₂、f₃)。对f₁、f₂、f₃的纯度进行鉴定,结果表明,f₁、f₂、f₃为均一的多糖组分。

2) 采用苯酚-硫酸法、硫酸-间羟联苯法、考马斯亮蓝法、氯化钡-明胶法分别对海蛭多糖中总糖、糖醛酸、蛋白质、硫酸基含量进行分析。结果表明,CP、f₁、f₂、f₃总糖质量分数分别为83.81%、98.75%、95.58%、84.71%;糖醛酸质量分数分别为1.58%、0.16%、0.96%、2.13%;硫酸基质量分数分别为0.92%、1.22%、2.08%、3.58%;CP、f₃蛋白质分别为3.08%、6.34%,f₁、f₂均未能检出;HPLC分析结果表明,f₁、f₂、f₃的平均相对分子质量分别为68 600、80 600、100 600。

3) 采用化学方法对CP、f₁、f₂、f₃进行体外抗氧化活性测定。结果表明,海蛭多糖具有不同的还原力、脂质过氧化抑制活性、金属离子螯合能力。

参考文献:

[1] Lu Y, Wang D, Hu Y, et al. Sulfated modification of epimedium polysaccharide and effects of the modifiers on cellular infectivity of IBDV[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 71(2): 180-186.

[2] Alban S, Schauerte A, Franz G. Anticoagulant sulfated polysaccharides; Part I. Synthesis and structure-activity relationships of new pullulan sulfates[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2002, 47(3): 267-276.

[3] 湛孝东. 贝类多糖生物学活性研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(7): 1285-1286.
ZHAN Xiao-dong. Progress on biological activities of polysaccharides from shellfish [J]. *LiShiZhen Medicine and Materia Medica Research*, 2006, 17(7): 1285-1286. (in Chinese)

[4] 乔德亮, 曾晓雄. 三角帆蚌多糖制备及基本理化性质[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, 1: 70-77.

- QIAO De-liang, ZENG Xiao-xiong. Preparation and preliminary feature of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 1: 70-77. (in Chinese)
- [5] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. **Analytical Chemistry**, 1956, 28(3): 350-356.
- [6] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. **Analytical Biochemistry**, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [7] Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acids [J]. **Analytical Biochemistry**, 1973, 54(2): 484-489.
- [8] Dodgson K, Price R. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides [J]. **Biochemical Journal**, 1962, 84(1): 106-110.
- [9] Roy SK, Maiti D, Mondal S. Structural analysis of a polysaccharide isolated from the aqueous extract of an edible mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, cultivar Black Japan[J]. **Carbohydrate Research**, 2008, 343(6): 1108-1113.
- [10] Liu C, Wang C, Xu Z, et al. Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water[J]. **Process Biochemistry**, 2007, 42(6): 961-970.
- [11] Oyaizu M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine[J]. **Japanese Journal of Nutrition**, 1986, 44(6): 307-315.
- [12] Yen G C, Hsieh C L. Antioxidant activity of extracts from *Du-zhong* (*Eucommia ulmoides*) toward various lipid peroxidation models in vitro[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1998, 46(10): 3952-3957.
- [13] Yuan Y V, Bone D E, Carrington M F. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro [J]. **Food Chemistry**, 2005, 91(3): 485-494.
- [14] Janero D R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury[J]. **Free Radical Biology and Medicine**, 1990, 9(6): 515-540.
- [15] Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, et al. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-. beta.-D-glucoside and cyanidin[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1994, 42(11): 2407-2410.

科 技 信 息

美国将对进口食品实施新的管制措施

美国食品药品监督管理局7月26日在其官方网站发布通知,就对进口食品实施的两项措施征求公众意见。这两项针对进口食品的措施,是根据美国食品安全现代化法案制定的,其一是“海外供货商证明方案(FSVP)”,该措施规定首次进口食品的美国进口企业,必须承担相应责任,负责制定进口食品“方案”,方案要明确与每一项进口食品相关联的危害因素及其控制措施等,以证明进口食品符合美国食品安全要求。其二是进口食品“第三方检查机构认可”,第三方检查机构可以是政府机构,也可以是私营企业,由美国食品药品监督管理局按照一定的标准,包括检查机构的资质和公正性等,经审查合格后予以认可。认可的第三方检查机构负责对海外食品企业进行检查并签署相应证明。食品进口企业必须获得这些证明,食品药品监督管理局根据第三方证明对进口食品开展风险评估并确定是否允许进口相关食品。这两项措施的公众评议期为120天。

[信息来源] 中华人民共和国商务部. 美国将对进口食品实施新的管制措施 [EB/OL]. (2013-9-17). <http://www.mofcom.gov.cn/article/i/jshz/xm/201309/20130900307515.shtml>.