不同方法提取鲢鱼皮胶原蛋白的理化特性比较

张强，王倩倩，陆剑锋，吕顺，叶应旺，姜绍通，林琳
（合肥工业大学生物与食品工程学院，安徽合肥 230009）

摘要：本文分别采用酸法（ASC）、酶法（PSC）和热水浸提法（HWSC）提取鲢鱼皮胶原蛋白，考察不同提取方法对鱼皮胶原蛋白理化性质的影响。研究表明，3 种方法所提取的鱼皮胶原蛋白的紫外吸收光谱、红外吸收光谱都较为相似，在 232 nm 处均出现胶原蛋白的最大吸收峰，在 280 nm 处几乎无吸收; SDS-PAGE 电泳图谱显示 3 种方法所提取的胶原蛋白，其亚基组成形式均为$(\alpha_1)_2\alpha_2$，同时，3 种方法所提取的胶原蛋白其氨基酸组成和比例类似，均符合Ⅰ型胶原蛋白特征。热水浸提法所提取的鱼皮胶原蛋白（HWSC）羟脯氨酸含量较低，凝胶特性较好，酸法提取对胶原蛋白空间网络结构影响最小。ASC、PSC 和 HWSC 的热变性温度分别为 31.05±0.14 ℃、31.45±0.01 ℃、43.75±1.20 ℃。不同提取方法对鱼皮胶原蛋白的羟脯氨酸含量、流变学特性、热变性温度及微观结构有一定的影响。

关键词：白鲢鱼皮；胶原蛋白；提取；理化性质；比较
文章篇号：1673-9078(2014)5-104-110

Comparison of Physical and Chemical Characteristics of Collagen from Silver Carp Skin using Different Extraction Methods

ZHANG Qiang, WANG Qian-qian, LU Jian-feng, LV Shun, YE Ying-wang, JIANG Shao-tong, LIN Lin
(School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: Acid soluble collagen (ASC), pepsin soluble collagen (PSC) and hot water-soluble collagen (HWSC) were successfully extracted from silver carp skin, and the physical and chemical characteristics of them were investigated and compared. The results showed that UV and FT-IR measurements of ASC, PSC and HWSC were quite similar, and all of them showed maximum absorption peak at 232 nm and almost no absorption peak at 280 nm. SDS-PAGE pattern indicated that all the collagen extracted by three methods contained two different α chains -$(\alpha_1)_2\alpha_2$, and their amino acid composition and proportion were similar. It was conformed to the characteristics of type I collagen. The hydroxyproline (Hyp) content of HWSC was lower than those of other two extracting methods, but the gel property by this method was better. The acid extraction had minimal effect on the network structure of collagen. The thermal denaturation temperature of ASC, PSC and HWSC were 31.05±0.14 ℃, 31.45±0.01 ℃ and 43.75±1.20 ℃, respectively. The Hyp content, rheological characteristics, thermal denaturation temperature and the microstructure of collagen were affected by different extraction methods.

Key words: silver carp skin; collagen; extraction; physical-chemical properties; comparison

胶原蛋白或称胶原（collagen）是很多脊椎动物和无脊椎动物体内含量最丰富而且是分布最广的蛋白质。它属于结构蛋白质，能使腱、骨、软骨、牙、皮和血管等结缔组织具有机械强度，起着支撑器官和保护机体的功能[1]。胶原蛋白的应用已经涉及到医疗器械、药品、照相、化妆品、日用化学品工业、功能性食品制造等领域。

目前，制备胶原蛋白（明胶）的原料主要是陆生哺乳动物，如猪、牛的皮和骨，但是由于疯牛病、口蹄疫等疾病的爆发使人们对陆生哺乳动物胶原蛋白制品的安全性产生了疑虑；另外，由于宗教方面的原因，一部分人排斥或拒绝使用从猪身上获得的胶原产品，这使得传统来源胶原蛋白的应用受到限制。因此，寻找猪、牛皮和骨以外的原料提取制备胶原蛋白的需求已显得越来越迫切，而水产动物来源的胶原蛋白就成为哺乳动物来源胶原蛋白理想和现实的替代产品，以水产动物皮、骨等为原料提取的胶原蛋白因其独特的生理功能和理化特性而成为研究的热点[2]。

鲢鱼（Hypophthalmichthys molitris）是我国四大

收稿日期：2013-12-12
基金项目：国家自然科学基金资助项目（31000832）；国家农业科技成果转化资金项目（2012GB2C300202）
作者简介：张强（1989-），男，硕士研究生，研究方向为水产生物活性物质；王倩倩（1990-），并列第一作者
通讯作者：林琳（1978-），女，博士，副教授，研究方向为水产品加工副产物高值化利用

淡水鱼之一，年产量大，鲢鱼位居淡水养殖产量第二，2011 年产量为 371.39 万 t[3]。在鲢鱼产品的加工过程中，每年能产生将近 17.00 万 t 的鱼皮副产物，这样既造成了资源的浪费又带来了环境的污染[4]。鱼皮中含有丰富的蛋白质，而胶原蛋白占粗蛋白的 80%左右[5]，因此，从鲢鱼皮中提取胶原蛋白，可以很好的提升鲢鱼皮的利用价值，提高鲢鱼产品加工的经济效益。本文分别采用酸提取法、酶提取法和热水浸提法从鲢鱼皮中提取胶原蛋白（明胶），并对不同方法所提取的胶原蛋白的理化特性进行研究和比较，研究结果可为鲢鱼皮胶原蛋白的进一步应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

鲢鱼：购于合肥市马鞍山路家乐福超市；胃蛋白酶（3000 U/g）：上海源聚生物科技有限公司产品；其它所有化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

PHS-3C 精密 pH 计，上海大普仪器有限公司；UV22102 PC 型紫外分光光度计，上海尤尼柯仪器有限公司；CT15RT 台式高速冷冻离心机，上海天美生化仪器设备工程有限公司；L-8900 氨基酸自动分析仪，日本日立公司；FD-1B-50 冷冻干燥机，北京博医康实验仪器有限公司；Nicolet 67 傅里叶红外光谱仪，美国 Thermo Nicolet 公司；DISICOVERY HR-3 流变仪，美国 TA 公司；DYY-11 型电泳仪，北京市六一仪器厂；RJP-1P 热机械检测仪，上海精密仪器有限公司；JSM-6490LV 扫描电子显微镜，JEOL 日本株式会社。

1.3 试验方法

1.3.1 原材料的预备

新鲜活鲢鱼去头、去内脏，对剖成两片，然后将鱼皮与鱼肉分离。将分离得到的鱼皮去鳞、去鳍，冲洗干净。将干净的鱼皮剪成碎片（5 mm×5 mm），放入保鲜袋中于-20 ℃冻藏备用。

1.3.2 鲢鱼皮基本成分的测定

水分：参考GB 50010.3-2011《食品中水分的测定》；灰分：参考GB 50010.4-2011《食品中灰分的测定》；蛋白质：参考GB 50010.5-2011《食品中蛋白质的测定》；脂肪：参考GB 50010.7-2011《食品中脂肪的测定》。

1.3.3 鱼皮预处理

在 4 ℃条件下，用 0.1 mol/L NaOH 溶液浸泡鱼皮 1 h 以除去杂蛋白和部分色素，然后用蒸馏水洗净，再用 2 倍体积的正己烷浸泡鱼皮 6 h 去除脂肪。

1.3.4 鲢鱼皮胶原蛋白的提取

1.3.4.1 酸法提取胶原蛋白（ASC）

以下操作过程均在4 ℃下进行。称取一定质量冻干后的鱼皮用其质量60倍pH 2.3的乳酸溶液提取46~48 h。过滤，取滤液于10000 r/min下离心30 min，上清液即为酸溶性胶原蛋白粗提液。往上清液中加入NaCl使其最终浓度为0.9 mol/L时，离心，收集沉淀。将沉淀复溶于浓度为0.5 mol/L的醋酸溶液中，先用0.1 mol/L的醋酸溶液透析过夜，每6 h换一次透析液，再用蒸馏水透析，每6 h换一次蒸馏水。直到透析液中不存在银离子时，停止透析。最后经冷冻干燥后将胶原蛋白储于-20 ℃备用。

1.3.4.2 酶法提取胶原蛋白（PSC）

以下操作过程均在4 ℃下进行。称取一定质量的冻干鱼皮，加入其质量50倍的蒸馏水，用乳酸调节溶液pH至1.8，加胃蛋白酶量为50 U/g，浸提17 h，过滤，取滤液于10000 r/min下离心30 min，上清液即为酶溶性胶原蛋白粗提液。盐析、离心和透析过程与酸法提取相同，最后经冷冻干燥后将胶原蛋白储于-20 ℃备用。

1.3.4.3 热水法提取胶原蛋白/明胶（HWSC）

以下操作过程均在常温下进行。称取一定量的冻干鱼皮，解冻，蒸馏水清洗后沥干水分，依次用7倍体积的0.2%硫酸溶液，1%柠檬酸溶液各浸泡约40 min，每次浸泡后用流动水洗至中性，最后用10倍体积的蒸馏水在45 ℃下提取12 h，过滤，滤液即为胶原蛋白粗提液。盐析、离心和透析过程与酸法提取和酶法提取相同，最后经冷冻干燥后将胶原蛋白储于-20 ℃备用。

1.3.5 鲢鱼皮胶原蛋白理化性质的测定

1.3.5.1 胶原蛋白的紫外光谱测定

取适量冻干的胶原蛋白样品溶于0.5 mol/L的醋酸溶液中，配制成0.1~0.5 mg/mL的胶原蛋白溶液，以0.5 mol/L的醋酸溶液作对照。在190~350 nm波长范围内用双光束紫外分光光度计对胶原蛋白溶液进行扫描，分辨率为0.5 nm。

1.3.5.2 胶原蛋白的SDS-PAGE电泳

采用8%分离胶和5%浓缩胶，样品浓度为1 mg/mL，上样量为10 μL。采用直流恒流电源：电压为100 V，电流为50 mA进行电泳。

1.3.5.3 胶原蛋白的红外光谱（FT-IR）分析

取适量冻干胶原蛋白样品经KBr压片后，用傅里叶红外光谱仪对样品进行扫描，扫描范围为4000~500 cm^{-1}。

1.3.5.4 胶原蛋白的氨基酸组成分析

称取 20 mg 冻干胶原蛋白样品于安瓿管中，加入

浓度为 6 mol/L 的 HCl 1 mL，真空封管，在 110 ℃条件下水解 22~24 h。水解后过滤，取滤液 0.1 mL 加入样品稀释液至 1 mL，上样量为 20 μL。水解液采用日立 L-8900 型氨基酸自动分析仪对样品进行检测。

1.3.5.5 胶原蛋白溶液的流变学特性[6]

取适量冻干胶原蛋白溶于0.5 mol/L醋酸中，配制成质量分数为0.3%的胶原蛋白溶液。在20 ℃下，剪切频率从0.1~150 rad/s，记录胶原蛋白溶液的流变学曲线。测定条件：40 mm；2°椎板；在振荡模式下，采用频率扫描的数据获取模式，频率扫描范围为0.1~150 rad/s；变量扫描为线性模式，采集33个变量点，控制变量为形变率（30%）。

1.3.5.6 胶原蛋白热变性温度（Td）的测定[7~8]

参考Zhang等的方法并作适当修改，用0.5 mol/L的醋酸溶液将冻干的胶原蛋白配制成0.5 mg/mL的溶液。用乌氏粘度计测定20~45 ℃范围内的胶原蛋白溶液的粘度，每个温度间隔为5 ℃，各温度保持20 min，以0.5 mol/L的醋酸溶液为对照，每个样品重复测试3次。

增比粘度：

$\eta_{sp}=(t-t_0)/t_0=t/t_0-1$

注：t是胶原蛋白样品溶液流出的时间，t_0是同温度下溶剂（醋酸）流出的时间。

以

Fractional viscosity=

[ηsp(T)-ηsp(Tmax)]/[ηsp(Tmin)-ηsp(Tmax)]

对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（Td）。

1.3.5.7 胶原蛋白的扫描电镜观察

分别取冷冻干燥后的胶原蛋白置入液氮中冷冻定型，将定型后的样品切成薄片再真空喷金，然后用 100 倍的放大率观察样品的表面形态。电压：20 kV。

1.4 数据处理与统计分析

数据用均值±标准偏差（$\bar{x}\pm s$）表示。

2 结果与讨论

2.1 鲢鱼皮的基本组成成分

表1 鲢鱼皮基本化学成分（以湿基计）

Table1 Basic chemical composition of silver carp (wet basic)

成分	水分	粗蛋白	脂肪	灰分
含量/%	63.06±1.44	31.06±0.63	1.56±0.019	0.51±0.0027

表1中列出了白鲢鱼皮的基本化学成分，从表中可以看出，白鲢鱼皮原料含水量为63.06%，干物质含量为33.13%，在这些干物质中主要为蛋白质，约占干物质总量的93.75%。在鱼皮蛋白质中，胶原蛋白的含量又占有较大比重，因此鲢鱼皮是一种较好的提取胶原蛋白的原料。

2.2 胶原蛋白的紫外光谱分析结果

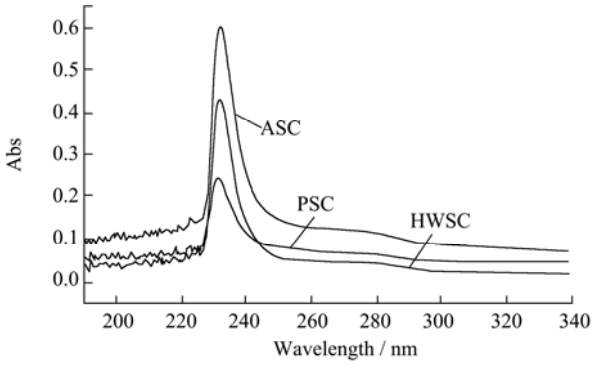


图1 鲢鱼皮胶原蛋白紫外吸收光谱

Fig.1 Ultraviolet absorption spectroscopy of collagen from silver carp skin

胶原蛋白的紫外扫描光谱如图1所示。一般具有共轭双键的物质都具有紫外吸收，在20种氨基酸中，尤其以Trp在280 nm处的紫外吸收最强，所以大多数蛋白质在280 nm处都有很强的紫外吸收，但胶原蛋白中几乎不含Trp，所以在280 nm处没有强吸收峰的出现，这可以作为一个鉴定胶原蛋白的方法[9]。由图1可知三种方法所提取的胶原蛋白的特征吸收波长都位于232 nm处，在280 nm处均无吸收峰，因此可以初步判断所提取的蛋白质为胶原蛋白。

2.3 胶原蛋白的SDS-PAGE电泳结果

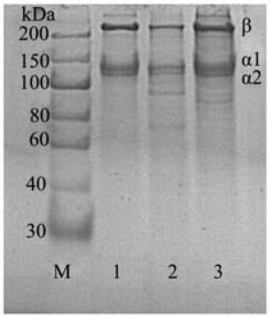


图2 鲢鱼皮胶原蛋白的SDS-PAGE电泳谱图

Fig.2 SDS-PAGE electrophoresis pattern of collagen from silver carp skin

注：1.ASC；2.PSC；3.HWSC。

胶原蛋白的SDS-PAGE电泳结果见图2。胶原蛋白呈三股螺旋结构，每个胶原分子以3条α肽链缠绕成三股螺旋，其中每股链自身是一种左手螺旋[1]。从图2中可以看出，三种方法所提取的胶原蛋白都在相对分子质量120 kDa左右出现2条条带，且2条带的宽度不同，

说明鲢鱼皮胶原蛋白是由两条α_1链和一条α_2链组成，这种组成类似哺乳动物的I型胶原蛋白[7]；在200 kDa附近出现β链，说明胶原蛋白分子中存在分子内和分子间的交联作用[10]。比较三种方法提取的胶原蛋白的电泳图谱，可以看出三种方法提取的胶原蛋白基本组成类似，但酶法和热水法所提取的胶原蛋白低分子条带比较多，可能是因为在提取过程中，由于胃蛋白酶和热水的作用使部分胶原蛋白降解成小分子的组分造成的。

2.4 胶原蛋白的红外光谱检测结果

胶原蛋白的红外光谱如图3所示。由图3可以看出，三种方法提取的鲢鱼皮胶原蛋白的红外光谱图趋势基本相同，这说明这三种胶原蛋白的结构很相似。

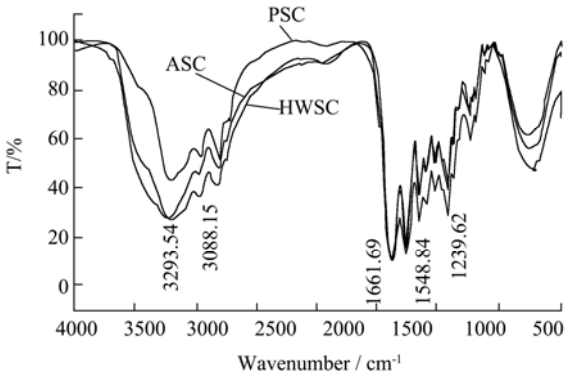


图3 白鲢鱼皮胶原蛋白的红外光谱图

Fig.3 Infrared spectra of skin collagen from silver carp skin

众所周知，在红外光谱中N-H基团的伸缩振动所产生的吸收峰在3400~3440 cm^{-1}处，但是，当含有N-H基团的肽段参与氢键的形成时，结果会使N-H的伸缩振动产生的吸收峰减低100 cm^{-1}左右[11]。图中可清楚的看到，ASC、PSC和HWSC中酰胺A的吸收峰位于3293.54 cm^{-1}左右，说明这三种蛋白分子中均有氢键存在。此外，由于蛋白质分子的亚甲基基团的不对称伸缩振动，使得酰胺B的吸收峰出现在3080 cm^{-1}处[12]。在蛋白质分子中，氨基酸之间含有大量肽键，且由于羰基键的伸缩振动，导致了酰胺Ⅰ带的特征吸收峰通常位于1600~1700 cm^{-1}处[13]。酰胺键通常是蛋白质二级结构变化敏感特征的官能团，常常被用来鉴定和分析蛋白质的二级结构。通过红外光谱分析，可以看出鲢鱼皮ASC、PSC和HWSC酰胺Ⅰ带的特征吸收峰在1661.69 cm^{-1}，这一结果与酰胺Ⅰ带的出峰位置是一致的。在已知的胶原蛋白分子中，胶原蛋白酰胺Ⅱ带的吸收峰通常位于1500~1600 cm^{-1}范围内[14]，由图可以看出，鲢鱼皮ASC、PSC和HWSC在1548.84 cm^{-1}处有明显的吸收，这说明该吸收区为酰胺Ⅱ带。同酰胺Ⅰ带一样，酰胺Ⅱ带也是由α-螺旋、β-折叠、转角和无规卷曲叠加共同作用所产生的吸收带。一般酰胺Ⅲ带的存在可以说明胶原蛋白的三螺旋结构能否保持完整[15]，且其吸收峰通常位于1200~1300 cm^{-1}，由图3可以看出，ASC、PSC和HWSC均在1239.62 cm^{-1}左右有明显的吸收峰，这表明鲢鱼皮ASC、PSC、HWSC均有酰胺Ⅲ带存在。

2.5 胶原蛋白的氨基酸组成分析

表2中列出了3种方法提取的鲢鱼皮胶原蛋白的氨基酸组成。

表2 鲢鱼皮胶原蛋白的氨基酸组成（残基/1000残基）

Table 2 Amino acid composition of collagen from the skin of silver carp skin (residues/1000 residues)

氨基酸	ASC	PSC	HWSC
天门冬氨酸(Asp)	48	53	55
苏氨酸(Thr)	27	30	30
丝氨酸(Ser)	39	41	44
谷氨酸(Glu)	73	82	86
脯氨酸(Pro)	128	116	115
甘氨酸(Gly)	325	302	288
丙氨酸(Ala)	128	138	143
半胱氨酸(Cys)	-	-	-
缬氨酸(Val)	17	19	18
蛋氨酸(Met)	15	13	17
异亮氨酸(Ile)	10	11	11
亮氨酸(Leu)	20	22	23
苯丙氨酸(Phe)	3	3	3
酪氨酸(Tyr)	14	14	16
赖氨酸(Lys)	28	30	31
组氨酸(His)	4	4	4
色氨酸(Trp)	-	-	-
精氨酸(Arg)	56	59	62
羟脯氨酸(Hyp)	65	63	54
总氨基酸数	1000	1000	1000
亚氨基酸	193	179	169

从表2中可以看出3种胶原蛋白的氨基酸组成相似，其中甘氨酸、谷氨酸、脯氨酸的含量均相当丰富，而半胱氨酸、色氨酸、组氨酸、苯丙氨酸的含量却很低或不含有；3种胶原蛋白中甘氨酸含量均最高，约占氨基酸总量的30%左右，这是因为胶原蛋白多肽链很长的区段序列是由Gly-x-y氨基酸序列重复而成的[16]。

不同方法所提取的胶原蛋白，其甘氨酸含量有所差异，这可能是由于不同的提取方法对胶原蛋白的结构改变影响不同。胃蛋白酶和热水处理会水解掉胶原蛋白分之中的一部分氨基酸，使胶原蛋白的分子间和分子内交联作用破坏。胶原蛋白α链间氢键的形成主要依赖于羟脯氨酸，它对胶原蛋白分子的三级结构的稳

定性起到非常重要的作用[17]，从表2中可以看出，HWSC中的羟脯氨酸含量显著低于ASC和PSC中羟脯氨酸的含量，说明胃蛋白酶和热水的作用主要破坏了胶原蛋白的三级结构，使胶原蛋白的3条α链分开。热水抽提对胶原蛋白结构的影响最大，而酸法提取过程对胶原蛋白的结构影响最小。

2.6 胶原蛋白溶液的流变学特性

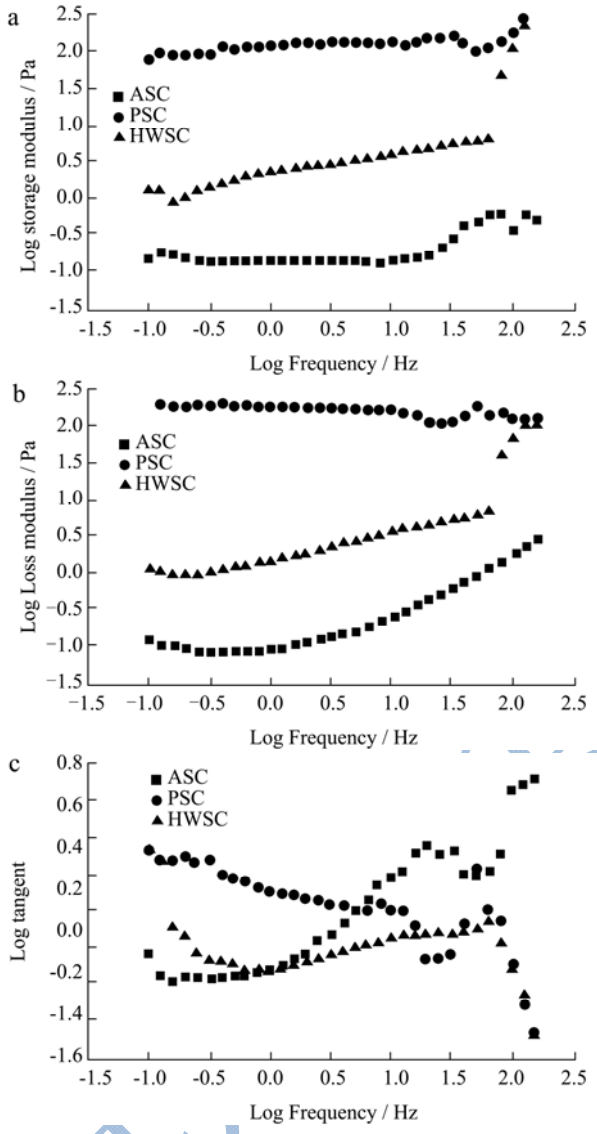


图4 鲢鱼皮胶原蛋白溶液在20℃下的流变学特性

Fig.4 The rheological characteristics of collagen solution of silver carp skin at 20 ℃

注：a：粘性模量；b：弹性模量；c：损耗角正切。

3种鲢鱼皮胶原蛋白溶液的粘弹性模量与剪切频率的关系如图4所示。由图4可以看出，HWSC的粘性模量（Loss modules，G’）的变化斜率较ASC和PSC大，说明其在给定的剪切频率的范围内，具有较高的凝胶稳定性[18]。HWSC为通过热水抽提法得到的胶原蛋白，即明胶，其凝胶特性较非变性的胶原蛋白要好。G’/G”的比值定义为损耗角正切（Loss tangent，tanδ），Log tanδ的值在0附近，表明三种胶原蛋白溶液均呈现部分粘性和部分弹性的流变学性质。

当剪切频率较低时，溶液主要以粘性为主；随着剪切频率的增加，PSC和HWSC溶液以弹性为主，而ASC溶液仍然以粘性为主。三种胶原蛋白溶液的粘性模量和弹性模量的交点是逐渐升高的，对应的频率也是不断增大的[6]。由此推断，当剪切频率增大时，胶原蛋白的肽链间易发生交联形成特定的分子结构，但是与Lai[19]等研究的牛皮胶原蛋白溶液的粘性模量和弹性模量的交点所对应的频率相比，鲢鱼皮胶原蛋白溶液的剪切频率要高得多，这充分说明了鱼皮胶原蛋白多肽链间交联能力是低于牛皮胶原蛋白的。

2.7 胶原蛋白的热变性温度（Td）测定

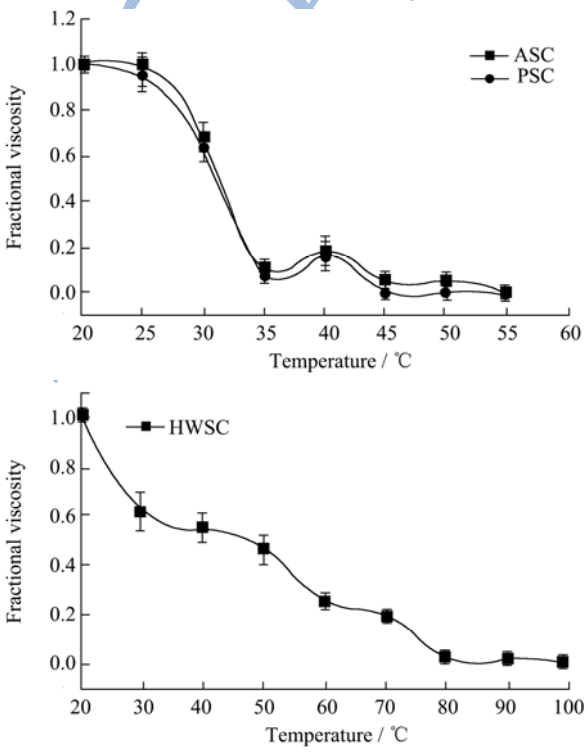


图5 鲢鱼皮胶原蛋白热变性曲线

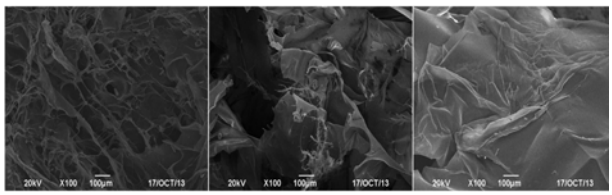
Fig.5 Thermal denaturation curve of collagen from silver carp skin

胶原蛋白的热稳定性是由其在溶液中分子的热变性温度（Td）所表达的，同时Td也表示了胶原蛋白三螺旋结构被破坏时的温度。图5为3种方法所提取的鲢鱼皮胶原蛋白的热变性曲线。根据图中数据计算可知，ASC、PSC、HWSC的热变性温度分别为31.05±0.14 ℃、31.45±0.01 ℃、43.75±1.20 ℃。

ASC和PSC的变性温度相差不大，但RSC的变性温度显著高于ASC和PSC，胶原蛋白分子的交联作用越少，其变性温度越低[20]，高温浸提作用使胶原蛋白的

三级结构受到破坏，胶原蛋白分子被降解成分子量较小的组分，从而形成了更复杂的、更多的分子内和分子间的交联[21]，因此，通过热水法提取的胶原蛋白（明胶）具有较高的热变性温度。

2.8 胶原蛋白的微观结构



a b c

图6 鲢鱼皮胶原蛋白的扫描电镜图

Fig.6 SEM images of collagen from silver carp skin

注：a: ASC; b: PSC; c:HWSC。

图7为3种不同方法所提取的胶原蛋白在放大100倍下的扫描电镜图。从图中可以看出通过酸法提取的鱼皮胶原蛋白（ASC）在放大100倍的情况下，呈现多孔的网状结构，分布比较均匀，说明酸提取过程基本保持了胶原纤维原有的结构；通过酶法提取的鱼皮胶原蛋白（PSC）的微观结构较ASC有一定的差别，网状结构分布不均匀，说明胃蛋白酶的作用对胶原蛋白的结构有一定的改变；通过热水法提取的鱼皮胶原蛋白（HWSC）在100倍的扫描电镜下，基本成片状结构，没有明显的网状结构存在，说明热水处理已使胶原蛋白发生变性和交联，呈现出明胶的凝胶性质。有研究表明胶原蛋白的微观结构（包括折叠和薄片大小、胶原网络连接性和表面积大小）是其作为生物医学材料的重要参数[22]。通过不同方法所提取的胶原蛋白的扫描电镜图比较来看，酸法提取的胶原蛋白能较好的保持胶原纤维的空间网状结构，比较适合作为生物医学材料的基料。

3 结论

通过采用酸法、酶法和热水法3种方法提取白鲢鱼皮胶原蛋白，比较了3种方法所提取的鱼皮胶原蛋白的理化性质的差别。紫外光谱表明，3种胶原蛋白都在232 nm处出现最大吸收峰，结合红外光谱检测以及SDS-PAGE电泳图谱，推断出3种方法所提取的蛋白均为典型的Ⅰ型胶原蛋白；SDS-PAGE电泳分析可知，三种胶原蛋白的亚基组成形式为$(\alpha_1)_2\alpha_2$；3种方法所提取的鱼皮胶原蛋白的氨基酸组成和比例类似，均符合Ⅰ型胶原蛋白的氨基酸组成特点，但热水法所提取的胶原蛋白的羟脯氨酸含量较酸法和酶法所提胶原蛋白的含量低；流变特性的测定结果表明热水法提取的胶原蛋白的凝胶特性较好；ASC、PSC和HWSC的热变性温度分别为31.05±0.14 ℃、31.45±0.01 ℃和43.75±1.20 ℃；3种方法所提取的鱼皮胶原蛋白的扫描电镜图表明酸法提取对胶原蛋白的空间网状结构影响最小。本文的研究结果可为鲢鱼皮的高值化利用和鱼皮胶原蛋白的进一步应用提供参考。

参考文献

[1] 王镜岩.生物化学第三版[M].北京:高等教育出版社,2002
WANG Jing-yan. Biochemistry (third edition) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2002

[2] 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 Sheng-jun, ZENG Ming-yong, DONG Shi-yuan. Progress in the study of collagen and active peptide of fisheries [J]. Fisheries Science, 2004, 23(6): 44-46

[3] 农业部渔业局.中国渔业统计年鉴 2011[M].北京:中国农业出版社,2011
Bureau of Fisheries of the Ministry of Agriculture. China fisheries yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011

[4] 陈善飞,伍久林,苗静,等.鲢鱼皮胶原蛋白的提取及性质分析[J].食品工业,2012,33(9):10-12
CHEN Shan-fei, WU Jiu-lin, MIAO Jing, et al. Extraction and characterization of collagens from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin [J]. Food Industry, 2012, 33(9): 10-12

[5] 宫子慧,林琳,孟昌伟,等.乳酸提取鮰鱼皮胶原蛋白工艺优化[J].肉类研究,2011,25(7):18-23
GONG Zi-hui, LIN Lin, MENG Chang-wei, et al. Optimization of conditions for collagen extraction with lactic acid from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin [J]. Meat Research, 2011, 25(7): 18-23

[6] 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 Ming-yan. Study on the structure and physical properties of pollagen from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) skin [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009

[7] Zhang J J, Duan R, Tian Y Y, et al. Characterisation of acid-soluble collagen from skin of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 318-322

[8] Zhang Y, Liu W T, Li G Y, et al. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of

grass carp (*Clenopharyngodon idella*) [J]. Food Chemistry, 2007, 103(3): 906-912

[9] 林琳.鱼皮胶原蛋白的制备及胶原蛋白多肽活性的研究[D].青岛:中国海洋大学,2006
LIN Lin. Studies on preparation of collagen and bioactivities of collagen polypeptide from skins of aquatic animals [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006

[10] 杨霞,王珊珊,赵芙钗,等.驴皮中胶原蛋白的提取及其特性[J].精细化工,2011,28(9):884-886
YANG Xia，WANG Shan-shan, ZHAO Fu-cha, et al. A study on the extraction of collagen from donkey skin and its properties [J]. Fine Chemicals, 2011, 28(9): 884-886

[11] Li H, Liu B L, Gao L Z, et al. Studies on bullfrog skin collagen [J]. Food Chemistry, 2004, 84(1): 65-69

[12] Muyonga J H, Cole C G B, Duodu K G. Characterization of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*) [J]. Food Chemistry, 2004, 85(1): 81-89

[13] Zhu B W, Dong X P, Zhou D Y, et al. Physicochemical properties and radical scavenging capacities of pepsin-solubilized collagen from sea cucumber Stichopus japonicas [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(1): 182-188

[14] Ahmad M, Benjakul S. Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monocerous*) [J]. Food Chemistry, 2010, 120(3): 817-824

[15] Liu D S, Liang L, Regenstein J M, et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) [J]. Food Chemistry, 2012, 133(4): 1441-1448

[16] Bae I, Osatomi K, Yoshida A, et al. Biochemical properties of acid soluble collagens extracted from the skins of underutilized fishes [J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 49-54

[17] 刘书成.水产食品加工学[M].郑州:郑州大学出版社,2011
LIU Shu-chen. Aquatic food process [M]. Zhengzhou: Zhengzhou University Press, 2011

[18] Binsi P K, Shamasundar B A, Dileep O, et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 132-145

[19] Lai G L, Li Y, Li G Y. Effect of concentration and temperature on the rheological behavior of collagen solution [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2008, 42(3): 285-291

[20] Pietrucha K. Changes in denaturation and rheological properties of collagen-hyaluronic acid scaffolds as a result of temperature dependencies [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2005, 36(5): 299-304

[21] Gómez-Guillén M C, Turnay J, Fernandez-Diaz M D, et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study [J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(1): 25-34

[22] Tamilmozhi S, Veeruraj A, Arumugam M. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*) [J]. Food Research International, 2013, 54(2): 1499-1505