

# 鲢鱼皮、鱼鳞胶原的制备及理化特性的研究

李越<sup>1</sup>, 刘志伟<sup>2</sup>, 张国秀<sup>1</sup>, 金钰<sup>1</sup>, 熊善柏<sup>1</sup>, 胡筱波<sup>1</sup>

(1. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070) (2. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北武汉 430023)

**摘要:** 从鲢鱼皮、鱼鳞中分别提取并纯化酸溶性和酶溶性胶原, 得到四种不同的胶原, 并分析四种胶原在分子组成、空间结构、热稳定性等方面的异同, 为基于淡水鱼来源的胶原材料的构建提供理论依据。研究发现, 四种胶原的紫外图谱、红外图谱和圆二色谱图相似, 即空间结构类似, 均具有天然三股螺旋的空间构象, 符合典型的 I 型胶原的特点; 四种胶原的氨基酸组成和比例接近; 酸溶性胶原 (ASC) 的分子结构中二聚体  $\beta$  链含量高, 且  $\alpha_1$  链和  $\alpha_3$  链的分子量相同, 酶溶性胶原 (PSC) 的分子结构中二聚体  $\beta$  链含量少, 三条  $\alpha$  链区分明显, 且鱼皮 PSC 和鱼鳞 PSC 的  $\alpha$  链分子量分布不同; ASC 溶液的粘度大于 PSC, 鱼皮 ASC 溶液的粘度大于鱼鳞 ASC; 四种鲢鱼胶原的热变性温度不同, 即用不同方法从不同部位提取的胶原热稳定性有差异。

**关键词:** 鲢鱼皮、鱼鳞; 胶原; 制备; 理化特性

文章编号: 1673-9078(2016)3-232-238

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.3.037

## Preparation and Physicochemical Properties of Collagen from Skin or Scale of *Hypophthalmichthys molitrix*

LI Yue<sup>1</sup>, LIU Zhi-wei<sup>2</sup>, ZHANG Guo-xiu<sup>1</sup>, JIN Yu<sup>1</sup>, XIONG Shan-bai<sup>1</sup>, HU Xiao-bo<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China)

(2. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

**Abstract:** The acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) were extracted from the skin or scale of *Hypophthalmichthys molitrix*, and four different collagen samples were obtained. The molecular structure and thermostability of the four collagen samples were compared, and this study provides a theoretical basis for the preparation of collagen materials from fresh fish. The study shows that the four collagen samples showed similar ultraviolet absorption spectra, FT-IR spectra, and circular dichroism spectra. Their spatial structures were similar, and they showed a natural triple helical conformation, matching the typical characteristics of type I collagen. The amino acid composition and proportion of the four collagen samples are quite similar. In the molecular structure of ASC, the content of dimeric ( $\beta$ -chains) subunits was relatively high, and the molecular weights of the  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  chains were the same. In the molecular structure of PSC, the content of dimeric ( $\beta$ -chains) subunits was relatively low. Significant differences were observed in three of the  $\alpha$  chains, and  $\alpha$  chain distributions in the collagen samples from PSC skin and PSC scale were different. The viscosity of ASC collagen solutions was greater than that of PSC collagen solutions, and the viscosity of the ASC skin collagen solution was greater than that of the ASC scale collagen solution. Finally, the thermal denaturation temperatures of the four *H. molitrix* collagens were different; that is, differences were present in the thermal stability of the collagen samples extracted from different parts by different methods.

**Key words:** *Hypophthalmichthys molitrix*; collagen; preparation; physicochemical properties

胶原 (Collagen) 广泛存在于动物的皮、骨、软骨、牙齿、肌腱、韧带和血管中, 是结缔组织极为重要的结构蛋白质, 起着支撑器官、保护机体的功能。胶原是细胞外基质的主要组成成分, 是动物体内含量最多、分布最广的蛋白质<sup>[1-2]</sup>。

随着经济的发展、科学的进步, 胶原作为一种天

然的生物活性高分子材料, 拥有合成高分子材料无法比拟的低抗原性、良好的生物相容性和生物降解性, 在医药、生物材料、食品、化妆品、饲料等方面越来越受到人们的重视。以往, 胶原大部分是从牛、猪、羊等陆地动物组织中获得, 近年来由于人畜共患病的增加和哺乳动物疫病的爆发, 使其安全性受到了质疑<sup>[3-4]</sup>。

鲢鱼 (*Hypophthalmichthys molitrix*), 又叫白鲢、水鲢等, 是著名的四大家鱼之一, 在我国分布范围广泛, 喜高温, 适宜的水温为 23~32 °C。鲢鱼加工会产

收稿日期: 2015-06-01

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-46-23)

作者简介: 李越 (1990-) 女, 硕士, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 胡筱波 (1974-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物化学

生大量的“下脚料”，其中鱼皮占鱼体总重的4%左右，鱼鳞占鱼体总重的2.2%左右，且鱼皮、鱼鳞中含有丰富的胶原。有文献报道，用不同方法，从不同原料中提取的胶原在空间结构、分子组成等理化特性上存在差异。胶原的结构、分子组成决定其功能特性<sup>[5]</sup>，进一步影响其应用领域。目前的研究报道缺少对鲢鱼皮、鱼鳞胶原的理化性质的综合对比研究，对胶原材料的构建缺乏理论基础，使得如此大量的胶原未能得到有效利用。

为此，以鲢鱼皮、鱼鳞为原料，用酸法和酶法提取并纯化胶原，开展其蛋白结构、分子组成、热稳定性方面的相关分析和比较，旨在为淡水鱼加工中废弃物资源的开发利用和胶原在功能食品和生物材料领域的应用提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜鲢鱼皮、鱼鳞收集于武汉华中农业大学农贸市场，鱼皮用蒸馏水清洗干净后，剪成1 cm×1 cm的小块，低温风干，在-20℃条件下冷冻保藏备用；鱼鳞用蒸馏水清洗干净后，低温风干，在-20℃条件下冷冻保藏备用。

NaOH、NaCl、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、乙酸等化学试剂均为国产分析纯；胃蛋白酶（1:3000），上海源叶生物科技有限公司；次高分子量标准蛋白质，中国科学院上海生物化学研究所。

### 1.2 仪器与设备

HJ-3恒温磁力搅拌器：常州国华电器有限公司；Beta2-8LD冷冻干燥机：德国Christ公司；Centrifuge 5804 (R) 冷冻离心机：德国Eppendorf公司；UV-1800紫外可见分光光度计：苏州岛津公司；NEXUS470傅里叶红外光谱分析仪：美国Nicolet公司；L-8800全自动氨基酸分析仪：日本日立公司；J-1500圆二色谱仪：日本JASCO公司；DV-II+粘度计：美国Brookfield公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 胶原的制备

以下所有操作均在低于15℃下进行。

鱼皮胶原的提取参考文献中的方法<sup>[6]</sup>，并加以修改：将解冻的鱼皮，在料液比为1:30的0.1 mol/L的NaOH溶液中浸泡12 h以除去杂蛋白，然后在料液比1:30的10%异丙醇溶液中浸泡，每6 h换液一次，共浸

泡12 h，以除去酯类成分；

鱼鳞胶原的提取参考文献中的方法<sup>[7-8]</sup>，并加以修改：将鱼鳞依次在料液比为1:30的0.5 mol/L的NaCO<sub>3</sub>溶液中浸泡12 h以除去杂蛋白，然后在0.3 mol/L的EDTA溶液中浸泡，每6 h换液一次，共浸泡12 h，以脱钙。

将预处理后的鱼皮、鱼鳞用料液比为1:30的0.5 mol/L的乙酸溶液搅拌提取，重复2次，每次24 h，合并上清液即得到酸溶性胶原(ASC)粗提液；将提取后的残渣用含有2%酶活力(3000 U/mg胃蛋白酶)的0.5 mol/L乙酸溶液搅拌提取，重复2次，每次24 h，合并上清液即得到酶溶性胶原(PSC)粗提液。分别向胶原粗提液中添加NaCl至浓度为0.9 mol/L，静置盐析24 h后过滤，取沉淀用0.5 mol/L的乙酸溶液复溶，重复盐析溶解1次，依次对0.1 mol/L的乙酸溶液和蒸馏水各透析2 d，最后冷冻干燥得到的四种胶原，分别为鱼鳞ASC、鱼鳞PSC、鱼皮ASC、鱼皮PSC。

#### 1.3.2 紫外光谱分析

将四种胶原分别用0.5 mol/L乙酸配成1 mg/mL的胶原溶液，用紫外-可见分光扫描仪高速测定200 nm~400 nm的吸收光谱。

#### 1.3.3 氨基酸组成分析

称取20 mg胶原样品于1 mL 6 mol/L盐酸溶液中，110℃下密封水解22~24 h。水解后过滤，取0.1 mL于样品稀释液1 mL，上样量为20 μL，用氨基酸自动分析仪进行测定。

#### 1.3.4 SDS-PAGE分析<sup>[9]</sup>

取5 mg样品于5 mL 0.1 mol/L的乙酸溶液中溶胀分散，将1 mL胶原溶液与1 mL样品缓冲液混合后，沸水浴2 min，每孔取7 μL点样，高分子量标准蛋白上样量为5 μL。电泳分离采用7.5%分离胶和5%浓缩胶体系，染色液为0.25%考马斯亮蓝R-250，脱色后分析各条带的分子质量。

#### 1.3.5 红外光谱分析

取150 mg溴化钾和2 mg胶原样品置于研钵中，研磨均匀，压片，置于傅立叶红外光谱仪样品室内，扫描范围400 cm<sup>-1</sup>~4000 cm<sup>-1</sup>。

#### 1.3.6 圆二色谱分析<sup>[10]</sup>

##### 1.3.6.1 光谱扫描曲线

用4℃预冷的0.01 M乙酸配制0.2 mg/mL的胶原样品，扫描波长是190 nm~240 nm，分别在15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃下，每个温度保持10 min，扫描时温度为15℃，空白参比是0.01 M乙酸，比色皿是1 mm石英比色皿，数据累积3次。

##### 1.3.6.2 变性温度曲线

取 4 °C 下溶解的不同胶原样品, 以 1 °C/min 的速度, 从 25 °C 加热到 45 °C, 波长 221 nm, 圆二色谱仪记录椭圆率随温度的变化。

### 1.3.7 粘度分析

用 0.05 M 的乙酸配置成 6 mg/mL 的胶原样品, 在不同温度下保持 10 min, 用布氏粘度计测定不同胶原在 15 °C 时粘度的差别, 并测定粘度随温度由 15 °C 加热至 42 °C 变化的曲线。

### 1.3.8 数据统计分析

实验数据表示为  $\bar{x} \pm s$ , 用 Microsoft Excel 2013、Origin8.0 等软件进行图表的绘制和相关数据的处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 四种胶原的感观性状

对已冷冻干燥的四种胶原进行气味、色泽和组织形态等方面的感官性状分析, 结果见表 1。

表 1 鲢鱼皮、鱼鳞胶原感观性状比较

**Table 1 Comparison of the sensory properties of the ASCs and PSCs after freeze-drying**

胶原种类	气味	色泽	组织形态
鱼鳞 ASC	轻微刺鼻腥味	乳白色	疏松, 薄褶, 有光泽
鱼皮 ASC	轻微刺鼻腥味	淡黄色	松脆, 分层, 有光泽
鱼鳞 PSC	淡刺鼻腥味	乳白色	绵软, 蓬松, 分层
鱼皮 PSC	淡刺鼻腥味	乳黄色	绵软, 松散, 表面平整

### 2.2 四种胶原紫外吸收光谱分析

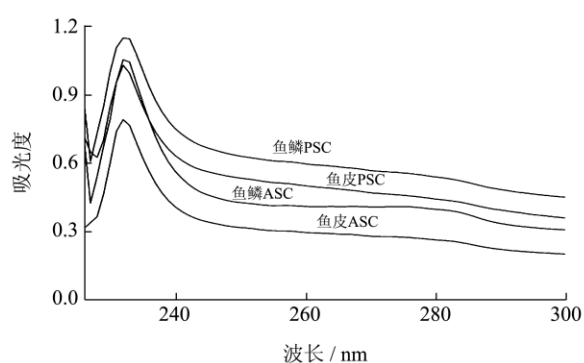


图 1 鲢鱼皮、鱼鳞胶原紫外吸收图谱

**Fig.1 Ultraviolet absorption spectra of *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale collagen**

四种胶原的紫外吸收图谱如图 1 所示, 在 220 nm-250 nm 范围内有吸收峰, 说明含有共轭不饱和双键结构的物质。由于胶原含有较低的酪氨酸和苯丙氨酸, 所以在 260 nm-280 nm 范围内没有或有微弱的吸收峰。由图可知, 四种胶原均在 232 nm 处有明显的

吸收峰, 主要是由肽键 C=O 的  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁所贡献, 符合 I 型胶原的紫外吸收特性, 并与文献报道的哺乳动物或水产动物胶原的一致<sup>[11]</sup>。

### 2.3 四种胶原氨基酸组成分析

氨基酸组成是表征胶原分子结构的重要手段, 不同来源胶原的氨基酸组成有很大的区别。四种胶原的氨基酸组成分析如表所示, 由于胶原分子中三股螺旋结构由周期性的甘氨酸-X-Y 序列组成, 则氨基酸组成中甘氨酸含量最高, 约占氨基酸总量的 30%<sup>[12]</sup>, 对于不同提取方法的胶原分子, 甘氨酸含量有区别, 是因为提取过程是否保留了胶原分子的端肽; 半胱氨酸 (0.3% 左右)、酪氨酸 (0.6% 左右)、组氨酸 (0.6% 左右) 含量很低, 同其他胶原一致<sup>[13]</sup>。

表 2 鲢鱼皮、鱼鳞胶原氨基酸组成分析

**Table 2 Compositions of amino acid *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale**

氨基酸种类	ASC		PSC	
	鱼鳞	鱼皮	鱼鳞	鱼皮
天冬氨酸	4.76	5.05	4.90	5.00
苏氨酸	2.52	2.48	2.55	2.55
丝氨酸	4.39	4.33	4.03	4.20
谷氨酸	8.04	7.93	7.57	7.50
甘氨酸	30.34	31.04	31.38	32.29
丙氨酸	11.03	11.13	10.87	10.64
半胱氨酸	0.45	0.24	0.34	0.19
缬氨酸	1.95	1.77	1.94	1.66
甲硫氨酸	1.84	1.68	1.69	1.69
异亮氨酸	1.36	1.24	1.41	1.20
亮氨酸	2.59	2.50	2.61	2.45
酪氨酸	0.75	0.64	0.68	0.53
苯丙氨酸	1.91	1.98	1.91	1.89
赖氨酸	2.96	2.90	2.78	2.63
组氨酸	0.76	0.50	0.70	0.50
精氨酸	5.56	5.47	5.25	5.14
羟脯氨酸	8.13	8.41	8.84	8.72
脯氨酸	10.65	10.71	10.53	11.22
亚氨基酸	18.78	19.12	19.38	19.94

注: % 为氨基酸残基数占 100 个总氨基酸残基数的比; 亚氨基酸残基数 = 脯氨酸残基数 + 羟脯氨酸残基数。

亚氨基酸 (脯氨酸和羟脯氨酸) 是胶原的特征性氨基酸<sup>[14]</sup>。亚氨基酸影响胶原分子间的氢键, 对于胶原分子的稳定性有重要作用, 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<sup>[15]</sup>。鲢鱼鳞、鱼皮胶原的羟脯氨酸含量在 85% 左右, 亚氨基酸



含量在190%左右,两者均大于深海鳕鱼胶原和其他淡水鱼胶原中的含量,低于陆地哺乳动物胶原中的含量,如表3所示,鲢鱼鳞、鱼皮胶原的热稳定性强于深海鱼胶原和其他淡水鱼胶原,低于陆地哺乳动物胶原。胶原中氨基酸的含量和热稳定性与动物生活环境尤其是栖息地温度相关<sup>[16]</sup>。

表 3 不同种 I 型胶原羟脯氨酸含量、亚氨基酸含量与变性温度

**Table 3 Hydroxyproline composition, amino acid composition (residues/1000), and denaturation temperatures of different type I collagen samples**

	羟脯氨酸	亚氨基酸	变性温度/°C
	含量/%	含量/%	
鲢鱼鳞 ASC	81	188	31
鲢鱼皮 ASC	84	191	32
鲢鱼鳞 PSC	88	194	31
鲢鱼皮 PSC	87	199	31
鲤鱼皮胶原	76	190	28
草鱼皮胶原	65	186	27
鳕鱼皮胶原	51	154	15
牛皮胶原	94	215	41
猪皮胶原	97	220	41

### 2.4 四种胶原 SDS-PAGE 分析

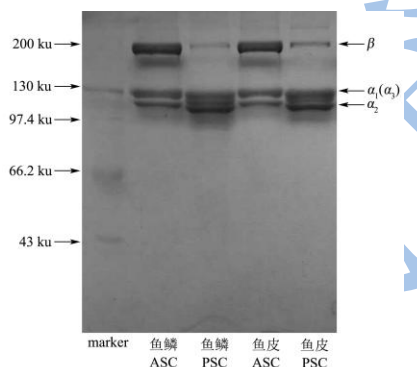


图 2 鲢鱼皮、鱼鳞胶原 SDS-PAGE 电泳图谱

Fig.2 SDS-PAGE pattern of *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale collagen

### 2.5 四种胶原傅立叶变换红外光谱分析

天然胶原的分子质量约为300 ku,  $\alpha$ 链的分子质量约为100 ku, 二聚体 $\beta$ 链的分子质量约为200 ku。由图2可知, 四种胶原均含有单链 $\alpha$ 链和二聚体 $\beta$ 链, 且其 $\alpha$ 链分子质量在100~120 ku范围内,  $\beta$ 链分子质量在200 ku以上。酸溶性胶原的二聚体含量明显高于酶溶性胶原,说明酸溶性胶原分子中有更多的分子内和分子间的交联<sup>[17]</sup>; 酸溶性胶原的 $\alpha_1$ 和 $\alpha_3$ 链分子质量很接近, 条带出现重叠; 酶溶性胶原的三条 $\alpha$ 链可明显区分, 鱼

皮PSC的 $\alpha_1$ 和 $\alpha_3$ 链分子质量更为接近。由以上结果得知四种胶原均属于 I 型胶原<sup>[6]</sup>, 鱼皮和鱼鳞胶原的分子组成存在差异; 图谱中无其他杂带, 说明提取的胶原纯度高。

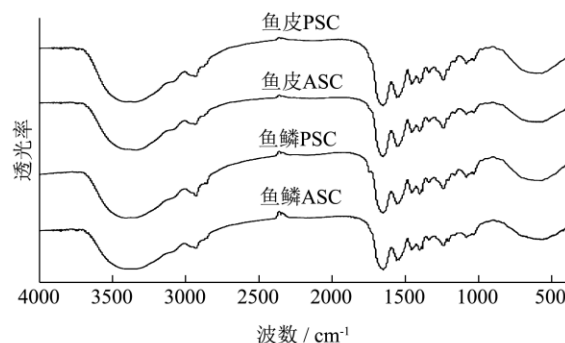


图 3 鲢鱼皮、鱼鳞胶原红外光谱

Fig.3 Infrared spectra of *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale collagen

红外光谱图中每一个吸收峰与分子中的官能团或原子的振动情况相对应。四种胶原的红外光谱如图3所示, 各红外吸收峰的振动归属<sup>[18]</sup>如表4所示, 均出现了酰胺 A、酰胺 B、酰胺 I、酰胺 II、酰胺 III 的吸收峰, 与 I 型胶原的红外图谱一致。酰胺 A 的吸收峰一般在 3400~3440  $\text{cm}^{-1}$  处, 当存在与氢键形成缔合的 N-H 肽段, 吸收峰向低波数移动, 图谱中四种胶原的酰胺 A 的吸收峰在 3350  $\text{cm}^{-1}$  左右, 说明四种胶原中均存在氢键<sup>[9]</sup>。1650  $\text{cm}^{-1}$  左右是酰胺 I 的吸收峰, 酰胺 I 带与蛋白肽骨架的有序程度相关, 鱼鳞、鱼皮的酸溶性和酶溶性胶原的酰胺 I 带的吸收峰均是 1653  $\text{cm}^{-1}$ ; 胶原的三股螺旋结构由 1240  $\text{cm}^{-1}$  左右的酰胺 III 吸收峰和 1454  $\text{cm}^{-1}$  左右的吸收峰确定<sup>[18]</sup>; 酰胺 I 和酰胺 III 是蛋白质二级结构的敏感区域, 说明四种胶原均存在  $\beta$  折叠,  $\alpha$  螺旋保持完整, 并保持着天然的三股螺旋空间结构, 与文献报道基本一致。

### 2.6 四种胶原圆二色谱分析

#### 2.6.1 四种胶原不同温度下光谱扫描

胶原有光学活性, 具有类似聚脯氨酸- II 型的螺旋结构。胶原的圆二色谱图中正吸收峰和负吸收峰比值的绝对值 Rpn 在 0.12~0.15 范围内则说明胶原保持了天然的三股螺旋结构<sup>[20]</sup>。

如图5所示, 四种胶原在未变性的条件下在 197.5 nm 左右有一个强的负吸收峰, 在 221 nm 处有一个弱的正吸收峰, 符合聚脯氨酸- II 型螺旋结构的圆二色谱特征<sup>[21]</sup>, 且四种胶原的 Rpn 值如表 3 所示, 均在 0.12~0.15 范围内, 表明四种胶原在 15 °C 下保持天然的三股螺旋结构。但随着温度的上升, 在 197.5 nm 处

的负吸收峰提升, 在 221 nm 处的正吸收峰变平甚至变为负值, 说明在 30 °C 左右四种胶原开始变性, 直至天然三股螺旋结构完全消失。

表 4 鲢鱼皮、鱼鳞胶原红外光谱峰位置和振动归属

Table 4 FT-IR peak positions and assignment of *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale collagen

	ASC		PSC		振动归属
	鱼鳞	鱼皮	鱼鳞	鱼皮	
酰胺 A	3396	3338	3403	3346	成氢键的 N-H 伸缩振动
酰胺 B	2927	2933	2927	2931	C-H 不对称伸缩振动
酰胺 I	1653	1653	1653	1653	COO- 中的 C=O 伸缩振动
酰胺 II	1540	1558	1558	1558	N-H 弯曲振动 C-N 伸缩振动
-	1456	1454	1456	1456	CH <sub>2</sub> 弯曲振动
-	1400	1400	1400	1400	COO- 对称伸缩振动
-	1338	1338	1338	1338	CH <sub>2</sub> 摇摆振动
酰胺 III	1238	1238	1240	1238	N-H 弯曲振动 C-N 伸缩振动
-	1081	1080	1032	1032	C-O 伸缩振动
-	588	611	617	621	骨架伸缩振动

注: -为没有通用名称的峰。

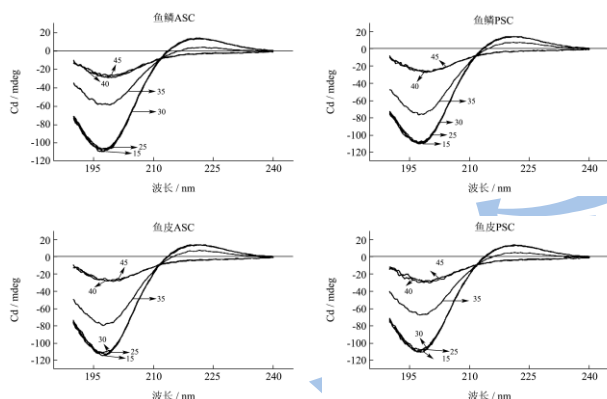


图 4 鲢鱼皮、鱼鳞胶原不同温度下圆二色谱扫描图谱

Fig.4 CD spectra of *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale collagen at different temperatures

表 5 四种胶原在 15 °C 下的 Rpn 值

Table 5 Rpn value of four collagen samples at 15 °C

	鱼鳞 ASC	鱼皮 ASC	鱼鳞 PSC	鱼皮 PSC
Rpn 值	0.1271 ±0.002	0.1222 ±0.001	0.1286 ±0.001	0.1265 ±0.001

### 2.6.2 四种胶原变性温度曲线分析

文献报道, 随着温度的上升, 胶原的天然三螺旋结构逐渐解体, 在 221 nm 处椭圆率值逐渐降低<sup>[10]</sup>。因此, 由胶原在 221 nm 处椭圆率的变化可以得知胶原的变性温度。如图 5 所示, 鱼鳞 ASC 的变性温度低于鱼皮 ASC 的变性温度, 两种胶原的差异明显。

如图 6 所示, 鱼鳞 PSC 的变性温度与鱼皮 PSC 的变性温度接近, 鱼鳞 PSC 在 221 nm 下的椭圆率的

变化比鱼皮 PSC 的变化慢。

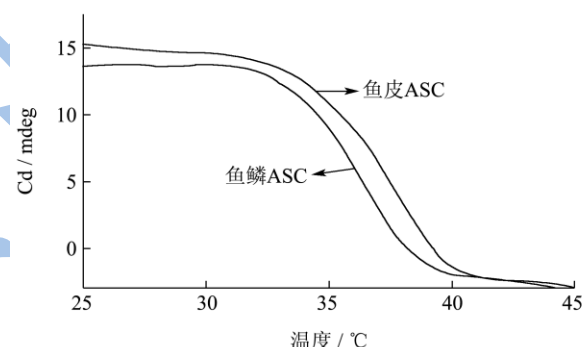


图 5 鲢鱼皮、鱼鳞胶原在 221 nm 下椭圆率随温度变化曲线

Fig.5 Temperature dependence of the ellipticity at 221 nm for ASCs from the skin and scale of *Hypophthalmichthys molitrix*

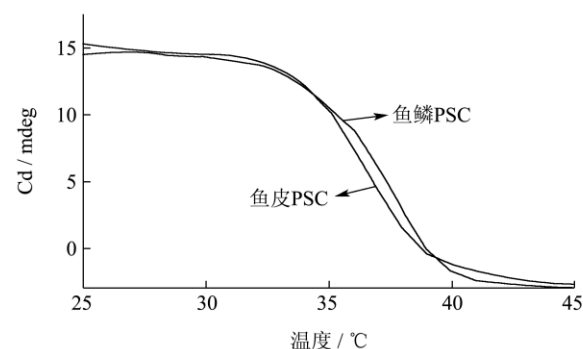


图 6 鲢鱼皮、鱼鳞胶原在 221 nm 下椭圆率随温度变化曲线

Fig.6 Temperature dependence of the ellipticity at 221 nm for PSCs from the skin and scale of *Hypophthalmichthys molitrix*

### 2.7 四种胶原的粘度分析

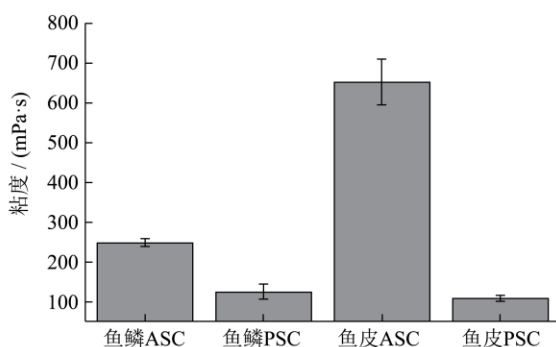


图7 鲢鱼皮、鱼鳞胶原在 15°C 粘度对比

**Fig.7 Comparison on the viscosities of *Hypophthalmichthys molitrix* skin collagen and *Hypophthalmichthys molitrix* scale collagen**

胶原在 15 °C 时保留着天然的结构,由图 7 可明显看出,酸法提取的胶原粘度大于酶法提取的胶原,是由于酸法提取的过程中保留了胶原分子两端的端肽成分,而酶法提取可以限制性水解胶原的端肽<sup>[1]</sup>,使得胶原分子内缠结减少,胶原溶液的粘度降低。

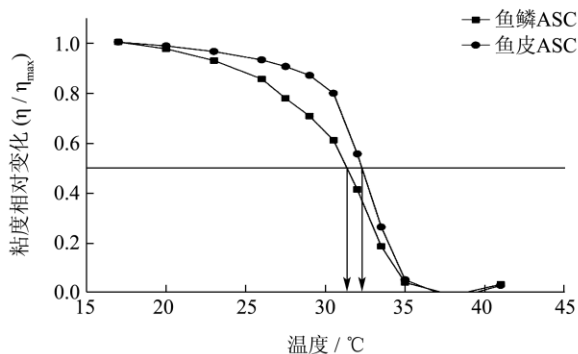


图8 鲢鱼皮 ASC 和鲢鱼鳞 ASC 的变性温度曲线

**Fig.8 Thermal denaturation curves of ASCs from the skin and scales of *Hypophthalmichthys molitrix***

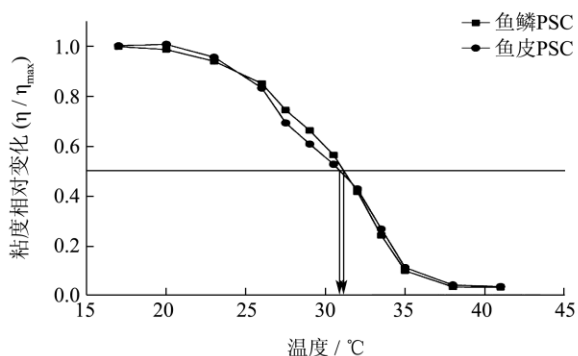


图9 鲢鱼皮 PSC 和鲢鱼鳞 PSC 的变性温度曲线

**Fig.9 Thermal denaturation curves of PSCs from the skin and scale of *Hypophthalmichthys molitrix***

当胶原分子吸收足够多热量后,非共价键就会遭

到破坏,三股螺旋构象解体,从三聚体变为单体或二聚体,此时胶原溶液的粘度急剧下降。如图9,鱼鳞和鱼皮胶原溶液随着温度的升高,粘度先缓慢地下降,是因为随着温度的升高,胶原分子的无规则运动加剧。之后,由于鱼鳞、鱼皮胶原变性,使胶原溶液的粘度迅速下降,通常把一半胶原分子发生变性,溶液粘度下降为原来的50%时,温度为胶原的变性温度<sup>[22]</sup>。鱼鳞ASC的变性温度为31.34 °C,明显低于鱼皮ASC的32.28 °C;鱼皮PSC的变性温度为30.86 °C与鱼鳞PSC的31.12 °C很接近。四种胶原的变性温度趋势与圆二色谱方法测得的相同。鱼鳞比鱼皮胶原溶液粘度下降迅速,即鱼鳞胶原比鱼皮胶原对于温度更为敏感。说明胶原的性质与生存环境和存在组织密切相关,鱼鳞比鱼皮所处的环境温度低,则具有相对较低的变性温度。

### 3 结论

提取纯化后的四种胶原在感官上略有区别,均达到了电泳纯,且四种胶原的分子组成和空间结构类似,均符合I型胶原的特点;鱼皮胶原的热变性温度高于鱼鳞胶原,即鱼皮胶原的热稳定性强于鱼鳞胶原;酸溶性胶原分子内的二聚体含量高于酶溶性胶原,即酸溶性胶原分子的交联程度大于酶溶性胶原,则其粘度明显高于酶溶性胶原。以上的研究结果可为水产品胶原的进一步应用和淡水鱼的高值化利用提供参考。

### 参考文献

- [1] 李国英,刘文涛.胶原化学[M].北京:中国轻工业出版社,2013  
LI Guo-ying, LIU Wen-tao. Collagen chemistry [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2013
- [2] 胡孝勇,袁晓玲,蒋寅,等.胶原蛋白酶解的研究进展[J].现代食品科技,2008,24(10):1075-1078  
HU Xiao-yong, YUAN Xiao-ling, JIANG Yin, et al. Progress of enzymolysis of collagen protein [J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 24(10): 1075-1078
- [3] ZENG S K, ZHANG C H, LIN H, et al. Isolation and characterization of acid-solubilised collagen from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Food Chemistry, 2009, 116: 879-883
- [4] 刘晓丹,陈嘉彦.崭露头角的鱼胶原蛋白[J].明胶科学与技术,2010,30(1):43-45  
LIU Xiao-dan, CHEN Jia-yan. The up-and-coming fish collagen [J]. Science and Technology of Gelatin, 2010, 30(1): 43-45
- [5] 瞿朝霞,刘焱,罗灿,等.草鱼鱼鳞、鱼皮和鱼骨酸性胶

- 原蛋白特性对比研究[J].中国酿造,2014,33(5):116-119  
QU Zhao-xia, LIU Yan, LUO Cai, et al. Comparative study of the acid soluble collagen from scale, skin and bone from grass carp fish [J]. China Brewing, 2014, 33(5): 116-119
- [6] 张强,王倩倩,陆剑锋,等.不同方法提取鲢鱼皮胶原蛋白的理化特性比较[J].现代食品科技,2014,30(5):104-110  
ZHANG Qiang, WANG Qian-qian, LU Jian-feng, et al. Comparison of physical and chemical characteristics of collagen from silver carp skin using different extraction methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(5): 104-110
- [7] 汪海波,梁艳萍,汪海婴,等.草鱼鱼鳞胶原蛋白的提取及其部分生物学性能研究[J].水产学报, 2012, 36(4): 553-561  
WANG Hai-bo, LIANG Yan-ping, WANG Hai-ying, et al. Extraction and biological properties analysis of Grass carp fish scale collagen [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(4): 553-561
- [8] 陈日春.鲢鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白提取工艺的优化[J].中国食品学报,2014,14(1):129-133  
CHEN Ri-chun. Optimization of extraction process of soluble collagen from Silver carp fish [J]. Journal of Chinese food, 2014, 14(1): 129-133
- [9] 万琼红,党美珠,曾建成,等.几种淡水鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白的比较研究[J].食品科学,2009,30(19):28-31  
WAN Qiong-hong, DANG Mei-zhu, ZENG Jian-cheng, et al. Comparative study of enzyme soluble collagen from several kinds of freshwater fish scales [J]. Food Science, 2009, 30(19): 28-31
- [10] Masahiro Ogawa, Ralph J Portier, Michael W. Moody. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*) [J]. Food Chemistry, 2004, 88: 495-501
- [11] 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,2013,34(23):41-45  
YANG Ling, ZHAO Yan, LU Liang, et al. Extraction and physical and chemical properties analysis of the collagen from sturgeon fish skin [J]. Food Science, 2013, 34(23): 41-45
- [12] Lin Wang, Xinxin An, Fangmei Yang, et al. Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (*Sebastes mentella*) [J]. Food Chemistry, 2008, 108: 616-623
- [13] Phanat K, Soottawat B, Wonnop V, et al. Isolation and characterization of collagen from the cartilages of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*) and blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) [J]. LWT - Food Science and Technology, 2010, 43: 792-800
- [14] 侯虎,孙江,毛家楠,等.海参胶原纤维形态及胶原蛋白理化性质研究[J].现代食品科技,2013,29(7):1491-1495  
HOU Hu, SUN Jiang, MAO Jia-nan, et al. Collagen fibers morphology and physical and chemical properties of collagen of sea cucumber [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(7): 1491-1495
- [15] 李八方,郭鸣,侯虎,等.胡子鲇鱼皮酸溶性胶原蛋白的理化性质研究[J].现代食品科技,2013,29(11):2580-2585  
LI Ba-fang, GUO Ming, HOU Hu, et al. Physicochemical properties of acid-soluble collagen from skin of clarias fuscus [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2580-2585
- [16] Anguchamy Veeruraj, Muthuvel Arumugam, Thangavel Balasubramanian. Isolation and characterization of thermostable collagen from the marine eel-fish (*Evenchelys macrura*) [J]. Process Biochemistry, 2013, 48: 1592-1602
- [17] Junjie Zhang, Rui Duan, Yuanyong Tian, et al. Characterisation of acid-soluble collagen from skin of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. Food Chemistry, 2009, 116: 318-322
- [18] Lin Wang, Qiufang Liang, Tingting Chen, et al. Characterization of collagen from the skin of Amur sturgeon (*Acipenserschrenckii*) [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 38: 104-109
- [19] Doyle B B, Bendit E G, Blout E R. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides [J]. Biopolymers, 1975, 14 (5): 937-957
- [20] Feng Y B, Melacini G, Taulane J P, et al. Acetyl-terminated and template-assembled collagen-based polypeptides composed of Gly-Pro-Hyp sequences. 2. Synthesis and conformational analysis by circular dichroism, ultraviolet absorbance, and optical rotation [J]. J. Am. Chem. Soc., 1996, 118(43): 10351-10358
- [21] Engel J. Folding and unfolding of collagen triple helices [J]. Advances in Meat Research, 1987, 4: 145-161
- [22] L WANG, X AN, Z XIN, L ZHAO, et al. Isolation and characterization of collagen from the skin of deep-sea redfish (*Sebastes mentella*) [J]. Food Engineering and Physical Properties, 2009, 27(8): 450-455

现代食品科技