

# 鳕鱼皮胶原蛋白肽的制备与活性研究进展

沈楚仪<sup>1</sup>, 杨最素<sup>2\*</sup>

(1. 浙江海洋大学东海科学技术学院, 浙江舟山 316000; 2. 浙江海洋大学食品与医药学院, 浙江舟山 316000)

**摘要** 鳕鱼皮富含胶原蛋白及胶原蛋白肽, 经蛋白酶酶解获得的胶原蛋白肽, 具有分子量小、易乳化、适热能力增加及易被肠道吸收等优势。主要阐述鳕鱼皮胶原蛋白肽的性质、功效等, 以期对鳕鱼皮胶原蛋白肽的综合利用提供参考。

**关键词** 鳕鱼皮; 胶原蛋白肽; 制备; 功效

**中图分类号** TS201.2<sup>+1</sup> **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)01-0016-02

## Research Progress on Preparation and Activity of Collagen Peptide from Cod Skin

SHEN Chu-yi<sup>1</sup>, YANG Zui-su<sup>2</sup> (1. College of East Asian Ocean Sciences and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316000; 2. College of Food and Medicine, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316000)

**Abstract** Cod skin is rich in collagen and collagen peptides. The collagen peptides obtained by protease hydrolysis have the advantages of small molecular weight, easy emulsification, increased thermal adaptability and easy absorption by intestinal tract. In this paper, the properties and efficacy of cod skin collagen peptide were mainly discussed, in order to provide reference for the comprehensive utilization of cod skin collagen peptide.

**Key words** Cod skin; Collagen peptide; Preparation; Efficacy

近年来,我国水产养殖、远洋捕捞及加工产业得到迅猛发展,鳕鱼作为世界上捕捞量较大的鱼品种之一,其在每年的加工过程中产生的鱼皮量约为4万t。鳕鱼皮中含有大量的胶原蛋白,具有很好的营养价值,但鳕鱼皮作为水产企业在鳕鱼加工中的下脚料,常被废弃或用于制作鱼粉等低值产品,综合利用水平不高,造成大量蛋白质资源的浪费和环境压力。鳕鱼皮中富含的胶原蛋白,经蛋白酶酶解后获得的胶原蛋白肽,具有较好的吸水性、吸油性、保水性和起泡性,且有一定的乳化性和较低的泡沫稳定性<sup>[1]</sup>,具有抗氧化、美容护肤、促进钙吸收、保护急性酒精性胃黏膜、护肝等功效,可以被应用到许多领域。

## 1 鳕鱼皮胶原蛋白肽

**1.1 肽的概念** 蛋白肽是介于氨基酸和蛋白质之间的一类化合物,是由2个或2个以上氨基酸分子通过肽键相互连接而成。蛋白肽作为蛋白质的结构和功能片段,具有较强的生理功能,也是蛋白质具有多种生理效应的分子结构基础。因此当氨基酸的排列、结构、数量改变时,也会伴随蛋白肽的功能改变。现代研究表明,生物活性肽是一种具有止痛、抑菌、抗疲劳、降血压等多种生理功能的蛋白质片段<sup>[2]</sup>。

**1.2 鳕鱼皮胶原蛋白肽的制备** 胶原完全水解后的产物便是胶原蛋白,胶原的三螺旋结构完全分离和断裂,且不可逆<sup>[3]</sup>。胶原蛋白是由胶原或明胶经蛋白酶降解处理后的一种产品,其提取的方法有胶原蛋白酸提法、碱提法、酶提法、盐提法和水提法5种<sup>[4]</sup>,每种提取方法各有优点及不足之处。如采用热水法提取刚得到的胶原蛋白一般被称为明胶,因此一般需要与酸提法结合进行。盐法提取胶原蛋白后需要通过透析等方法进行除盐,耗损材料较多,获得率也较低。

目前比较认可的是酶提法,酶更具备稳定性,而且提取条件温和、可以调整与控制,反应速率快,对环境没有污染<sup>[5]</sup>。综合多数研究表明,使用酶解法从鱼皮中得到的胶原蛋白肽更具备生物活性。酶解蛋白质产生活性肽是现今最为普遍的方法,常用的酶有胰蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶和复合蛋白酶等。鱼皮胶原蛋白的水解依次由以下几个步骤完成:鳕鱼皮的预处理去除杂质;选择适宜的蛋白酶,离心,盐析,复溶,盐析,复溶,透析,冷冻干燥,提取胶原蛋白,制备胶原蛋白肽,对胶原蛋白肽进行分离与纯化,得到精制的胶原蛋白肽<sup>[6]</sup>。董玉婷等<sup>[7]</sup>通过采用碱性蛋白酶水解鳕鱼皮胶原蛋白,其酶解产物对羟自由基的清除活性更好。Nagai等<sup>[8]</sup>应用胃蛋白酶从斑点触鱼皮中提取得到了酶溶性胶原蛋白,得到的胶原蛋白纯度高且不会造成很大的损伤,其安全性更高,性质也更加稳定,因此水解相对于其他提取法更方便。

## 2 鳕鱼皮胶原蛋白肽的功效

**2.1 功效概述** 鳕鱼皮中提取的胶原蛋白肽具有良好的生物活性,更容易被人体吸收。根据研究显示,鱼皮胶原蛋白肽具有很多的生理功能:消化吸收率高,增强人体免疫力;美容护肤,防止皮肤老化,增强皮肤弹性;抗氧化作用,活化细胞机能;止血作用;抑制关节疼痛并能有效治疗。

**2.2 抗氧化性** 现今一些疾病如动脉硬化、糖尿病及机体衰老等都是由于氧化应激损伤与自由基代谢失调引起的。鱼皮胶原蛋白肽具备良好的抗氧化作用,其安全性高,对人体无刺激,适量摄入具备抗氧化作用的物质,可以降低体内的自由基,帮助机体抑制疾病衰老。刘芳<sup>[9]</sup>通过以V<sub>C</sub>为标准品,以3项指标即DPPH自由基清除率、羟自由基清除率和超氧阴离子自由基清除率为检测指标,综合分析了不同分子段的鳕鱼皮胶原蛋白肽的抗氧化性能,结果表明不同分子段的胶原蛋白多肽对DPPH自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基均有较强的清除能力,且分子量大小呈反变关系。刘春娥等<sup>[5]</sup>通过研究鳕鱼皮胶原蛋白酶解液,结果表明胶原多

**基金项目** 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(2016R411001)。

**作者简介** 沈楚仪(1996—),女,江苏东台人,本科生,专业:食品卫生与营养。\*通讯作者,教授,硕士,硕士生导师,从事海洋生物活性物质的提取与功能研究。

**收稿日期** 2017-09-29

肽粗品有较好的抗氧化能力,对超氧阴离子自由基的清除作用较强。这些研究可为开发新的抗氧化剂提供科学参考,证明具有良好的开发利用前景。刘淇等<sup>[1]</sup>通过利用鳕鱼皮胶原蛋白肽进行体外抗氧化试验得出,该肽对 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基均有一定程度的清除功效,且清除率与多肽的浓度存在明显的剂量依赖关系。分子量 < 1 ku 的胶原蛋白肽对 DPPH 自由基和羟自由基的清除力最强,当浓度为 30 mg/mL 时清除率分别为 84.00% 和 90.97%; 分子量 > 5 ku 的蛋白肽对超氧阴离子自由基清除力最强,浓度为 30 mg/mL 时达 74.02%。张京楼<sup>[10]</sup>对鳕鱼皮多肽的体外抗氧化性研究发现,该多肽具有较强的抗氧化活性,且具有保护 DNA 损伤的作用。因此认为,从鳕鱼皮中提取的胶原蛋白肽均具备氧化作用,对清除体内自由基起到一定的作用,如能对提取的工艺条件进行优化,建立生产线,则应用前景广阔。

**2.3 美白护肤** 市场上将胶原蛋白运用到美容护肤产品非常广泛。李承威等<sup>[11]</sup>通过生物酶技术提取胶原蛋白肽,探讨其对于皮肤保健所起到的作用得出结论:胶原蛋白肽可补充水分,降低游离脂肪酸含量,增加皮肤愈合速度。李幸<sup>[12]</sup>运用碱性蛋白酶对鳕鱼皮胶原蛋白酶解,发现分子量越小的胶原肽体外吸湿保湿性越好,分子量小的胶原蛋白肽可以有效地修复由于衰老导致的皱纹、排列紊乱、松弛等现象。事实证明,鳕鱼皮胶原肽是可以对皮肤起到保护作用的物质,可以修复皮肤结构功能损伤。胡立新等<sup>[13]</sup>研究鱼下脚料中的胶原蛋白对皮肤的作用,表明胶原蛋白有良好的支撑力,对皮肤损伤可以很好地修复,促进细胞新陈代谢,其在美容整形方面也有一定的应用。鳕鱼皮胶原蛋白肽还有抑制黑色素的产生,抑制黑素细胞向角质形成细胞的转运具备一定的美白功能<sup>[14-15]</sup>。李昀<sup>[16]</sup>综述了胶原蛋白在化妆品中的应用及其研究前景,表明胶原蛋白的优点包括营养性、修复性、保湿型、配伍性和亲和性,胶原蛋白大大改善了皮肤活性,促进皮肤保湿,抗衰老、抗老化、去皱纹等。

**2.4 促进钙吸收** 钙是人体内较丰富的元素之一,骨骼和牙齿含钙量最大,其对于人体代谢、神经系统的运作等都起到至关重要的作用。钙主要通过影响骨矿物质含量来维持骨骼的强硬度。在人的成长期、发育期和老年期中,钙的摄入是维持和稳定人体骨量的重要可调控因素<sup>[17]</sup>。鳕鱼皮中的胶原蛋白肽作为一种海洋生物活性肽,具备更好的促钙吸收作用。卢玉坤等<sup>[18]</sup>采用自配低钙饲料形成缺钙大鼠模型,通过生长试验和钙代谢试验,经测定大鼠的股骨指标、血清指标及钙代谢指标,探讨不同分子量胶原多肽的促钙吸收作用,结果表明,胶原蛋白多肽可大大促进大鼠对钙的吸收率,钙储藏率也有显著提高。

**2.5 保护急性酒精性胃黏膜** 近年来,大量饮酒导致的胃溃疡发生率不断增加,酒精的吸收部位主要在胃,而饮用酒精后破坏了胃黏膜屏障,成为攻击胃黏膜的破坏因子,高浓度酒精会造成胃黏膜的急性损伤,引起胃表面上皮细胞的脱落、糜烂、溃疡及出血等病变。王志聪等<sup>[19]</sup>以胰蛋白酶酶解得

到鳕鱼皮胶原蛋白和胶原蛋白肽,并经超滤得到 > 8 000 Da (高分子量)、8 000 ~ 3 000 Da (中分子量)、< 3 000 Da (低分子量) 3 个不同分子量段的胶原肽,经灌胃用于经酒精诱导的大鼠急性胃溃疡模型,发现各肽段均能降低大鼠胃黏膜的出血损伤。低分子量肽与高分子量肽都能显著降低胃溃疡指数,高剂量的胶原蛋白与中分子量肽能极显著降低溃疡指数,这些结果表明,鳕鱼皮胶原蛋白及其酶解多肽能降低大鼠的胃溃疡出血和溃疡指数,具有很好的抗酒精性胃溃疡作用。

**2.6 对化学性肝损伤的修复作用** 肝是重要的消化腺,同时也是体内重要的代谢器官,在新陈代谢的过程中起着重要作用。如受到化学性有害因素的刺激,肝容易受到损害,严重情况下会发生肝坏死、肝硬化甚至急性肝坏死。刘晨晨等<sup>[20]</sup>通过胰蛋白酶制备鳕鱼皮胶原蛋白肽,作用于经 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠急性肝损伤模型,发现胶原蛋白肽能降低模型组小鼠血清中谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 的活性,升高肝组织匀浆中超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性,使丙二醛含量显著降低,改善肝的组织结构,WB 法显示,使 Bcl-2 表达量增加, Bax、Cleavage Caspase-3、TNF- $\alpha$  蛋白的表达量降低。表明胶原蛋白肽对 CCl<sub>4</sub> 小鼠急性肝损伤有较明显的保护作用。而将胶原蛋白肽作用于经 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠慢性肝损伤模型,也表明鳕鱼皮胶原蛋白肽对小鼠慢性肝损伤有明显的保护作用<sup>[21]</sup>。这些试验结果为鳕鱼皮产品的开发利用及在肝损伤方面的预防保护作用提供了依据。

### 3 小结

胶原蛋白肽具备良好的生物活性并且被广泛应用在多个领域,伴随社会的不断发展,科学技术的更新,对胶原蛋白肽会产生更多的需求量。鳕鱼具有极高的营养价值与经济价值,鳕鱼作为海洋生物,鳕鱼皮中所富含的胶原蛋白比陆生动物所含胶原蛋白具有更少的食源性危害,并且多项研究表明,鱼皮胶原蛋白肽并没有过敏反应。提高鱼副产品中胶原蛋白肽的利用率,不仅是对环境的美化,也是资源的一种节约形式,可提高水产品企业的经济效益。

### 参考文献

- [1] 刘淇,李慧,赵玲,等. 鳕鱼皮胶原蛋白肽的功能特性及抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2012,33(1):135-137,140.
- [2] 蔡路琦,吴晓洒,励建荣. 水产品加工副产物中的活性肽研究进展[C]//全国第二届海洋与陆地多糖多肽及天然创新药物研发学术会议论文集. 漠河:中国生物化学与分子生物学会,2015.
- [3] 梁飞,左红梅. 胶原蛋白肽的性质、应用及发展前景的研究综述[J]. 明胶科学与技术,2014,34(3):109-115.
- [4] 任惠. 鳕鱼皮胶原蛋白的制备技术研究[D]. 保定:河北农业大学,2013.
- [5] 刘春娥,刘峰,李刚杰,等. 鳕鱼皮胶原蛋白酶解液的制备及抗氧化研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(34):21328,21344.
- [6] 陈丽丽,赵利,刘华,等. 水产品胶原蛋白的研究进展[J]. 食品研究与开发,2012,33(1):205-208.
- [7] 董玉婷,李八方,王奕,等. 鳕鱼皮胶原蛋白多肽的制备及其对小鼠 B16 黑色素瘤细胞的作用[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),2006,36(S2):43-46.
- [8] NAGAI T, ARAKI Y, SUZUKI A. Collagen of the skin of ocellate puffer fish (*Takifugu rubripes*) [J]. Food chemistry, 2002, 78(2):173-177.
- [9] 刘芳. 混合菌种发酵法制备鳕鱼皮小分子胶原多肽及体外抗氧化性能研究[D]. 烟台:烟台大学,2014.

**2.2.4.3 微量元素复配对烟叶化学成分的影响。**由表 5 可知,竹山和竹溪点的烟叶烟碱、还原糖和总钾均在优质烟叶范围内,但是竹山点除施氯处理外,其他处理的烟叶氯含量偏低,这可能会影响烟叶的切丝率。施硼肥后,烟叶中钾含量和还原糖含量呈增加趋势;施用镁肥后,烟叶中钾含量呈下降趋势。

综合竹山点数据来看,以常规施肥 + 6.0 kg/hm<sup>2</sup> Cu + 2.25 kg/hm<sup>2</sup> B 的烟碱含量、氯含量、总氮含量、总钾含量、氮碱比、糖碱比和钾氯比均较适宜;竹溪点以常规施肥 + 9.0 kg/hm<sup>2</sup> Zn + 2.25 kg/hm<sup>2</sup> B 的烟碱含量、氯含量、总氮含量、总钾含量、氮碱比、糖碱比和钾氯比均较适宜。

### 3 结论与讨论

**3.1 5 种微量元素对烟叶农艺性状的影响** 在土壤镁元素缺乏的情况下,增施镁肥能明显促进烟叶的开片情况,提高烟叶的产量和产值;而在土壤镁元素相对丰富的情况下,集中条施镁肥对烟叶的叶片,尤其上部叶开片有明显抑制作用,明显降低了烟叶的产量,这与集中大量施用镁肥可能抑制烟叶对钾、硼等元素的吸收有关。

**3.2 5 种微量元素对烟叶产质量的影响** 在竹山点施用镁肥 30.0 kg/hm<sup>2</sup>,可有效提高烟叶产量 129.0 kg/hm<sup>2</sup>,产值 7 776.0 元/hm<sup>2</sup>,降低烟叶中的烟碱、总氮和总钾含量,提高还原糖含量;在竹溪点施用氯肥 22.5 kg/hm<sup>2</sup> 能够提高烟叶产量 127.5 kg/hm<sup>2</sup>,可增加产值 1 368.0 元/hm<sup>2</sup>,且可以降低烟叶中烟碱和总氮的含量,提高烟叶中氯含量;在竹溪点施用锌肥 13.5 kg/hm<sup>2</sup> 能够提高烟叶产量 148.5 kg/hm<sup>2</sup>,可增加产值 5 590.5 元/hm<sup>2</sup>,且可以降低烟叶中烟碱和总氮的含量。适量施硼肥和铜肥后,烟叶中烟碱和总氮含量呈下降趋势。

**3.3 5 种微量元素的最佳配比** 综合烟叶的化学成分和烟叶产量,在土壤交换性镁含量低于 90 mg/kg 的土壤中,以施用 22.5 ~ 30.0 kg/hm<sup>2</sup> 镁肥为宜,且施肥方法采取田面撒施

后起垄,防止集中施用而抑制烟株对其他元素的吸收;在土壤水溶性氯含量低于 10 mg/kg 的土壤中,以补充 22.5 ~ 37.5 kg/hm<sup>2</sup> 氯肥为宜,且施用的含氯肥料必须以基肥施入;在土壤有效锌含量低于 1.0 mg/kg 的土壤中,以添加 9.0 ~ 13.5 kg/hm<sup>2</sup> 锌肥为宜。综合在竹山点和竹溪点烟叶化学成分和烟叶产量来看,常规施肥 + 37.5 kg/hm<sup>2</sup> Cl + 2.25 kg/hm<sup>2</sup> B 的烟碱含量、氯含量、总氮、总钾、氮碱比、糖碱比和钾氯比均较适宜,烟叶的产量有一定的提高。

### 参考文献

- [1] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2004.
- [2] 胡国松,郑伟,王震东,等. 烤烟营养原理[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [3] 韩锦峰. 烟草栽培生理[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [4] 左天觉. 烟草的生产、生理和生物化学[M]. 上海:上海远东出版社,1993.
- [5] 袁可能. 植物营养元素的土壤化学[M]. 北京:科学出版社,1983.
- [6] 张延春,陈治锋,龙怀玉,等. 不同氮素形态及比例对烤烟长势、产量及部分品质因素的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2005,11(6):787-792.
- [7] 胡国松,曹志洪,周秀如. 烤烟根际土壤中钾素及微素行为的研究[J]. 中国烟草学报,1993(1):3-11.
- [8] 陈江华,刘建利,李志宏,等. 中国植烟土壤及烟草养分综合管理[M]. 北京:科学出版社,2008:55-59.
- [9] 聂新柏,靳志丽. 烤烟中微量元素对烤烟生长及产质量的影响[J]. 中国烟草科学,2003,24(4):30-34.
- [10] 蔡永占,韩小女. 生物钾肥对烤烟含钾量及品质影响的研究进展[J]. 农学学报,2016,6(11):37-41.
- [11] 陈瑞泰. 中国烟草栽培学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1987:135.
- [12] 高华军,林北森,黄忠言,等. 百色烟区植烟土壤和烟叶镁素的营养特征[J]. 湖北农业科学,2013,52(6):1267-1269.
- [13] 汪耀富,福谔,刘占卿. 灌水和过量施钾对烤烟养分含量及烟叶产量品质的影响[J]. 河南农业大学学报,2002,36(3):222-225.
- [14] 魏小慧,但国涵,张友臣,等. 十堰植烟土壤有效态微量元素分布特征及评价[J]. 安徽农业科学,2017,45(8):128-131,134.
- [15] 孙建峰,章新军,毕庆文,等. 河南烤烟主产区烟叶化学成分的比较分析[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版),2006,21(2):40-43.
- [16] 包勤,张艳玲,王爱国,等. 2002-2013 年间我国烤烟主要化学成分变化趋势及原因分析[J]. 烟草科技,2015,48(7):14-19.
- [17] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [18] 王彦亭,谢剑平,李志宏. 中国烟草种植区划[M]. 北京:科学出版社,2010.

(上接第 17 页)

- [10] 张京楼. 鳕鱼皮多肽的益生菌发酵工艺探索及体外抗氧化性能研究[D]. 烟台:烟台大学,2012.
- [11] 李承威,宋洁. 胶原蛋白肽对于皮肤保健的实验研究[J]. 牡丹江医学院学报,2015,36(4):1-3.
- [12] 李幸. 鳕鱼皮胶原蛋白肽保湿护肤效果的研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2014.
- [13] 胡立新,程骄,占稳,等. 鱼下脚料中胶原蛋白的提取与应用[J]. 化学与生物工程,2009,26(2):7-9,17.
- [14] ESPÍN J C, VARÓN R, FENOLL L G, et al. Kinetic characterization of the substrate specificity and mechanism of mushroom tyrosinase[J]. Eur J Biochem,2000,267(5):1270-1279.
- [15] HOU H, ZHAO X, LI B F, et al. Inhibition of melanogenic activity by ge-

- latin and polypeptides from pacific cod skin in B16 melanoma cells[J]. J Food Biochem,2011,35(4):1099-1116.
- [16] 李昀. 胶原蛋白在食品和化妆品中的应用[J]. 天津农学院学报,2005(2):54-57.
- [17] 王珊珊. 鳕鱼骨胶原肽与活性钙的制备及其抗骨质疏松活性研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2013.
- [18] 卢玉坤,姜慧明,王景峰,等. 鳕鱼皮胶原蛋白肽的促钙吸收作用[J]. 中国海洋药物,2013,32(4):49-56.
- [19] 王志聪,孙京沙,倪鑫,等. 鳕鱼皮胶原蛋白肽的抗酒精性胃溃疡作用[J]. 中国海洋药物,2012,31(5):17-22.
- [20] 刘晨晨,赵玉勤,杨最素,等. 鳕鱼皮胶原蛋白肽对小鼠急性肝损伤的保护作用研究[J]. 现代食品科技,2015,31(7):18-24.
- [21] 王加斌,刘晨晨,丁国芳,等. 鳕鱼皮胶原蛋白肽对小鼠慢性四氯化碳肝损伤的保护作用研究[J]. 营养学报,2016,38(2):133-137.

## 科技论文写作规范——文内标题

文章内标题力求简短,一般不超过 20 字,标题内尽量不用标点符号。标题顶格书写,文内标题层次不宜过多,一般不超过 4 级,分别以 1;1.1;1.1.1;1.1.1.1 方式表示。