

鱼类胶原蛋白研究进展

连喜军* 鲁晓翔 刘勤生

(天津商学院 生物技术与食品科学学院 天津 300134)

摘要: 鱼类骨骼和结缔组织的主要成份是胶原蛋白。胶原蛋白是一种功能性蛋白, 广泛应用于医疗和食品工业中。本文介绍了鱼类胶原蛋白的种类、性质、提取方法及应用等方面的研究现状。

关键词: 综述; 鱼类; 胶原蛋白

Abstract: The main composition of fish bone and connective tissues is collagens. Collagens is one kind of functional proteins with extensive application in medicine and food industry fields. The fish collagenous types, property, extract methods and applications are reviewed in the paper.

Keywords: Reviews, fish, collagen

胶原蛋白(Collagen)是一种高分子蛋白质, 丝状的胶原蛋白纤维, 能使皮肤保持结实而有弹性。它存在于人体皮肤、骨骼、牙齿、肌腱等部位, 主要生理机能是粘合结缔组织。胶原具有很强的生

物活性和生物功能, 能参与细胞的迁移、分化和增殖, 使骨骼、肌腱、软骨和皮肤具有一定的机械强度。胶原因其较弱的抗原性和良好的生物相容性, 在烧伤、创伤、眼角膜疾病、美容、矫形、硬组织修复、创面止血等医药卫生领域用途广泛^[1-3]。胶原蛋白在食品方面应用主要有食品包装、肉制品添加剂、胶原小食品、保健食品等^[3]。

近几年来, 胶原蛋白的开发与利用已引起人们广泛的关注。胶原蛋白中含有丰富的甘氨酸、脯氨酸和羟脯氨酸, 其水解产物中还含有丰富的生理活性肽, 这些特性使胶原蛋白及水解产物在医疗、保健及美容方面具有良好的应用前景^[4]。全球胶原蛋白目前产值超过40亿美元, 我国胶原蛋白产业化也取得重大进展, 2002年四川铭让生物科技有限公司年产胶原蛋白达到100吨^[2]。由于欧洲疯牛病和口蹄疫的影响, 以牛皮、猪皮作为主要原料的胶原蛋白的安全性受到人们的质疑, 人们开始以鱼皮、鱼骨等海洋生物材料代替猪、牛皮作为提取

好于未经保鲜液处理的辐照处理的冷却猪肉。

复合保鲜液与辐照处理结合对冷却猪肉的保鲜有明显的协同增效作用。辐照处理对于微生物抑制作用比较强, 所以贮存第21天时的细菌总数低于104CFU/g, 而且产品的TVB-N值、TBA值和汁液流失率均比较低, 感官评分也较高。辐照处理能够加速冷却肉脂肪氧化, 复合保鲜液在起到抑菌作用的同时也有一定的抗氧化作用。

参考文献

[1] Nam K.C, Ahn D.U. Carbon monoxide — heme pigment is responsible for the pink color in irradiated raw turkey breast

meat [J]. Meat Sci, 2002, 60: 25~33.

[2] 张子平. 冷却肉的加工技术与质量控制[J]. 食品科学, 2001, 22 (1): 83~89.

[3] Grolichova M, Dvorak P, Musilova H. Employing Ionizing Radiation to Enhance Food Safety—a Review[J]. Acta vet. Brno, 2004, 73: 143~149.

[4] 食品卫生微生物检验标准手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 1995. 11~34.

[5] 王秉栋. 动物性食品卫生理化检验[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999. 287~289.

[6] 哈益明, 王 锋, 李淑荣, 等. 辐照处理对冷却肉脂肪氧化影响的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(11): 303~306.

胶原蛋白的新原料,从七十年代人们就研究从鱼皮、鱼骨、鱼鳞中提取胶原蛋白,海洋生物胶原蛋白与猪、牛等陆生动物的胶原蛋白相比,其特性、组成及溶液的性质都存在显著不同。开发利用海洋鱼类中的胶原蛋白,不仅可以保护环境,扩大胶原蛋白的原料来源,同时拓宽了胶原蛋白的应用范围。

1 鱼类胶原蛋白的性质

1.1 鱼类胶原蛋白的结构

胶原蛋白在鱼类的真皮、骨、腱、鳞等处含量丰富。通常胶原由三条多肽链构成三股螺旋结构,分子量约30万道尔顿,主要组成氨基酸为脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸,而且脯氨酸为其特征氨基酸。胶原蛋白一级结构的特征是含有甘氨酸的三联体(Gly-X-Y)重复排列着,其中,X,Y经常为亚氨基酸的脯氨酸和羟脯氨酸。肖枫等报道^[5],海参胶原蛋白中除了以上三种氨基酸外,还含有大量赖氨酸、精氨酸和色氨酸。目前确认的胶原蛋白已有27型^[6-8],各型间结构差异主要在于多肽链的初级结构即氨基酸顺序不同,如图1所示,其中I型纤维状的胶原是最主要的分子类型。在鱼肌肉中主要含有I型和V型胶原蛋白。I型胶原的分子量为30万道尔顿,纤维长280nm,直径1.5nm,是细长型针状刚体,由三条分子量约10万的 α 链形成的螺旋结构。鱼类属于变温动物,其I型胶原性质上具有若干特异性。第一,I型胶原纤维即使在低温下也易溶于稀酸中,机理不清楚,可能与分子间的架桥有关;第二,鱼类胶原蛋白的热稳定性较低,并呈现有鱼种特异性。胶原蛋白的热稳定性由其纤维在水中的热收缩温度(T_s)或在溶液中分子的热变性温度(T_d)来衡量。曾名勇等人研究发现^[9],热水法提取鳙鱼、鲈鱼、鲫鱼鱼皮胶原蛋白的热变性温度分别为30℃,25℃,27℃。鱼皮胶原蛋白的凝胶强度则随着粘度、温度、pH值、外加介质等的变化而变化。

1.2 鱼类胶原蛋白的溶解性

胶原蛋白分子之间能够通过共价链搭桥交联,形成稳定的胶原纤维,因此不溶于水,有一部分不能共价交联或者在体内未成熟的胶原蛋白可用稀醋酸提取出来,此部分称为可溶性胶原蛋白或酸溶性胶原蛋白。难溶的胶原蛋白如用胃蛋白酶消

化水解去末端(非螺旋型区域)肽后再用稀醋酸提取出来,则称为胃蛋白酶促溶性胶原蛋白。

按照鱼类胶原蛋白的特性,可先用碱溶液除去非胶原组分,再用稀醋酸提取。Sato等^[10]对NaOH溶液的使用浓度进行了试验,发现用0.1N的NaOH,既可有效去掉非胶原组分又不会使胶原蛋白变性而溶出,其他浓度效果不佳。

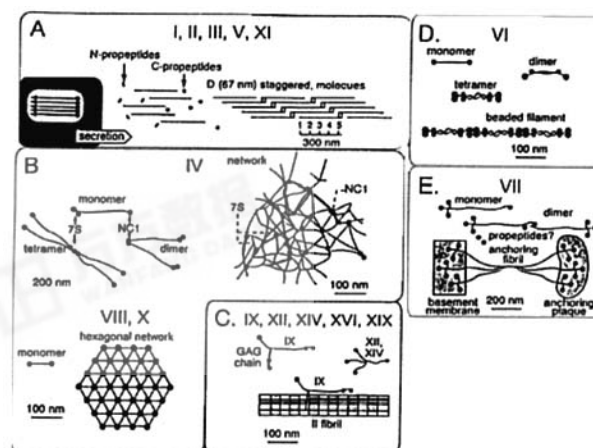


图1 不同胶原蛋白结构图

1.3 低温对鱼类胶原蛋白的作用

低温贮藏是鱼类贮藏的主要方式,而鱼类胶原蛋白与鱼肉质地有非常紧密的关系,所以胶原蛋白在低温贮藏条件下的变化对鱼肉品质有很大的影响。组织学研究得出细胞周围的连接组织比细胞间隙的连接组织在冷藏中变性降解得更厉害^[11-12]。Sato等^[13]研究表明,5℃下经过3天的贮藏,胶原含量没有明显的下降,而且电泳图中也未发现比 α 链分子量更低的分子片断;胶原蛋白I型经过1天的贮藏,溶解性无明显的变化,但是V型溶解性有显著增加。而且在5℃下经过1天的贮藏,虹鳟鱼肉的质地柔软了许多,相似的报道还有很多^[14-17],所以Sato等^[13]认为是由于V型胶原蛋白的降解使虹鳟鱼肉的质地变柔软。Ando等^[18]对冰藏3天后的虹鳟鱼肉的结缔组织进行考察发现,细胞周围的结缔组织变薄了,Ando等人认为这是由于胶原蛋白在冰藏中降解所引起。

胶原蛋白在冷藏时溶解性的变化被认为与酶有关^[15]。胶原蛋白稳定性主要是由于分子间的交联,交联主要发生在非螺旋区域,所以可通过裂开分子间的交联或非螺旋区域来增加溶解性。Sato等^[13]证实鱼体内存在的蛋白酶能降解胶原蛋白的非螺旋区域并增加其溶解性。

2 鱼类胶原蛋白的提取

由于胶原是一种纤维状蛋白, 对称性差, 分子结构类似于纤维, 溶解性差, 所以人们常认为胶原蛋白是一种不溶性蛋白。从1948年Orekhovith等人^[19]报道了一位法国研究人员在1900年发现胶原蛋白可溶于稀醋酸后, 经过人们的不断研究, 发现胶原蛋白可以溶解于多种不同pH和浓度的提取介质中。迄今为止, 依据提取介质的不同, 胶原蛋白的提取方法可分为五类, 即酸法、碱法、酶法、盐法以及热水浸提法等, 其基本原理都是根据胶原蛋白的特性改变蛋白质所在的外界环境, 把胶原蛋白与其他蛋白质进行分离。同时, 在实际提取过程中, 不同提取方法之间往往相互结合。

2.1 酸法提取

酸法提取即利用酸在一定的外界环境条件下提取胶原蛋白, 使用的酸有盐酸、柠檬酸、乳酸、醋酸等。蒋家新等^[20]以冷冻的鱿鱼皮为原料, 用一定量2%浓度盐酸提取胶原蛋白, 制得凝胶强度较好的明胶; Sato等^[21]用乙酸从22种鱼肉中提取酸溶性胶原蛋白, 得率在0.34~2.19% (以湿基计) 之间; Muyonga等^[22]用乙酸从Nileperch幼鱼和成鱼鱼皮中提取酸溶性胶原蛋白, 得率分别为63.1%, 58.7% (以干基计); Kimura等^[23]用酸和酶结合的方法从对虾和龙虾中提取胶原蛋白, 发现虾类腹肌中含有胶原蛋白约为2.4~2.6%; Kimura等^[24]采用酸和酶结合的方法从海蜇中提取了胶原蛋白; 刘庆慧报道了以淡水鱼鱼鳞为原料, 采用酸法和酶法提取酸溶性胶原蛋白和酶促溶性胶原蛋白^[25]。Nagai^[26]等从paper nautilus的皮中得到5.2% (以湿基计) 的酸溶性胶原蛋白以及占胶原蛋白总量50%的酶促溶性胶原蛋白; 傅燕凤等^[27]用醋酸、柠檬酸和乳酸提取鲢鱼、鳙鱼和草鱼皮中胶原蛋白, 结果表明, 鲢、鳙鱼皮经2.5%NaCl溶液(1:10), 草鱼鱼皮经5%NaCl溶液(1:10), 温度5℃左右, 12h磁力搅拌处理两次, 除去的可溶性杂蛋白分别占原总蛋白的5.9%、6.7%、9.1%, 鱼皮再经加酸(1:30)溶胀、均质处理后, 即可得到鱼皮胶原蛋白的粗提取液, 鲢、草鱼鱼皮的酸提取回收率以醋酸为最高, 分别为78.9%、84.1%, 鳙鱼皮以柠檬酸为最高, 约为82.0%, 粗提液再经抽滤、盐析、透析, 最后经冷冻干燥, 可得到纯度较高的胶原蛋白制品; 曾名勇报道^[9], 在0.1mol/L的乙酸溶液

中鱼皮胶原蛋白溶液的粘度随着胶原蛋白浓度的增大而增大, 随着温度的升高而下降。

2.2 碱法提取

碱法提取胶原蛋白的报道相对较少。Sato等^[28]用0.1M NaOH从虹鳟鱼、鲮、鲤鱼及鳊鱼肉中分离制得碱溶性胶原蛋白, 同时还采用酸法、热水法提取得到酸溶性胶原蛋白以及热水溶性胶原蛋白, 胶原蛋白含量分别为0.47%, 0.50%, 0.60%以及1.99% (以湿基计)。据王杏珠^[29]报道, 日本曾以蛙鱼皮为原料经碱液处理后, 用中性热水抽提出明胶。Kolodziejska等^[30]用NaOH从鱿鱼皮中提取碱溶性的胶原蛋白, 其得率为3% (以湿基计)。

2.3 酶法提取

酶法提取即利用各种不同的酶在一定的外界环境条件下提取胶原蛋白, 所使用的酶有中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶等。原料采用不同的前处理后, 加入不同的酶提取得到酶促溶性胶原蛋白。陶妍等^[31]经研究发现, 用中性蛋白酶对鳊鱼加工废弃物在40~50℃, pH7条件下, 进行水解, 可得到具有一定功能特性的粗酶促溶性胶原蛋白, 鱼鳞提取酸溶性胶原蛋白之后所得残渣中加入胃蛋白酶(1%), 于4~5℃下搅拌、消化可得到酶促溶性胶原蛋白粗制液; 秦玉青^[32]等分别用木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胰酶、胃蛋白酶以及胶原蛋白酶处理鱿鱼皮, 其羟脯氨酸的提取得率依次为58.0%, 74.3%, 63.2%, 62.8%, 75.8% (以干基计); Kimura等^[33]研究了以章鱼皮为原料, 在低温条件下, 采用胃蛋白酶提取得到含有酶促溶性的胶原蛋白溶液。

2.4 盐法提取

盐法提取盐溶性胶原蛋白所使用的盐主要的有氯化钠、氯化钾、乙酸钠等。秦玉青^[32]等研究报告了在0℃下, 用2%的氯化钠溶液从鱿鱼皮中提取盐溶性胶原蛋白得率为63.8% (湿基计); 木村等^[34]研究了用氯化钾从鲍鱼中提取得到中性盐溶性胶原蛋白; Montero^[35]等用不同浓度的氯化钠从Hake、Trout的肌肉以及鱼皮中提取盐溶性胶原蛋白, 发现肌肉中胶原蛋白含量分别为1.7%, 1.4%; 鱼皮中胶原蛋白含量分别为34.2%, 48.8%; Montero^[36]等也报道了从蝶鱼中提取盐溶性胶原蛋白的研究; 张宗恩^[37]等报道了在酸性条件下用乙酸钠在5℃下搅拌浸提, 离心得到粗制盐溶性胶原蛋

白液：郝林华等^[38]利用相似的方法从多棘海盘车体壁中提取得到了盐溶性胶原蛋白。

2.5 热水法提取

热水提取就是原料经过各种前处理后，在一定条件下用热水浸提从而得到水溶性胶原蛋白的方法。Sato等^[21, 28]用45℃热水从几种鱼肉及其鱼皮中提取热水溶性胶原蛋白；Mizuta等^[39]在40℃水浴条件下提取热水溶性胶原蛋白，鲤鱼肉中胶原提取得率为8.4%，而虾肉中胶原提取得率非常低，随着温度的升高，可得到不同温度下的热水溶性胶原蛋白，提取率也升高。Jamilah等^[40]用酸、碱预处理过的黑、红罗非鱼皮制备热水溶性胶原蛋白，得率分别为5.39%，7.81%（以湿基计）；Gomez-Guillen等^[41]也从megrim, cod以及hake等鱼皮中得到热水溶性的胶原蛋白，得率分别为7.4%，7.2%，6.5%（以湿基计）。

3 鱼类胶原蛋白在食品中的应用

目前，鱼皮胶原主要应用在啤酒工业中，作为澄清剂，它不仅可以结合啤酒中的一些物质，而且能促进啤酒的后成熟陈化^[41]。

与哺乳类动物的胶原蛋白相比，鱼类特别是海洋鱼类的胶原蛋白凝固点低，在冷冻-解冻贮藏过程中胶原蛋白变性相对较小，该蛋白能抑制重晶化，保持食品柔软的质地，还可在解冻过程中减少液滴以降低营养成分的损失^[42]。因此，利用鱼类胶原蛋白生产的火腿肠有可能采用冷冻贮藏的方式贮存。另外，鱼类胶原蛋白的抗冻性使其可应用于高寒地区保健食品，其低熔点有利于生产用于高寒地区的化妆品。

参考文献

- [1] 吴耀松, 廖艳阳, 印大中. 胶原蛋白在美容中的应用及皮肤衰老机制研究进展[J]. 中华现代皮肤科学杂志, 2004, 1(3): 219~223.
- [2] 张慧君, 罗仓学, 张新申等. 胶原蛋白的应用[J]. 皮革科学与工程, 2003, 13(6): 37~41.
- [3] 任俊莉, 付丽红, 邱化玉. 胶原蛋白的应用及其发展前景(续)[J]. 中国皮革, 2004, 33(1): 36~38.
- [4] 唐传核, 彭志英. 胶原的开发及利用[J]. 肉类研究, 2000, 3: 41~44.
- [5] 肖枫, 曾名勇, 董士远等. 海参胶原蛋白的研究

进展[J]. 水产科学, 2005, 24(6): 39~41.

- [6] 顾其胜, 蒋丽霞, 胶原蛋白与临床医学[M], 第二军医大学出版社出版发行, 2003年3月.
- [7] Wolfgang Friess. Collagen—biomaterial for drug delivery[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 45(1998)113~136.
- [8] Pace, James M; Corrado, Marcella; Misero, Catefina; Identification, characterization and expression analysis of a new fibrillar collagen gene, Col27A1[J]. Matrix Biology, Volum: 22, Issue: 1, March, 2003, PP. 3~14.
- [9] 曾名勇, 张联英, 刘尊英. 几种鱼皮胶原蛋白的理化特性及其影响因素[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(4): 608~612.
- [10] Sato, K, Yoshinaka, R, Sato, M. Isolation of native acid-soluble collagen from fish muscle[J]. Nippon Suisan Gakkaishi. 1991, 53(8): 1431~1436.
- [11] Bremner, H. A, Hallett, I. A. Muscle fiber—connective tissue junctions in the fish blue grenadier[J]. J. Food Sci. 1985, 50: 975~980.
- [12] Bremner, H. A, Hallett, I. A. Degradation in muscle fibre junctions in the spotted trevalla[J]. J. Sci. Food Agric. 1986, 37: 1011~1018.
- [13] Sato, K, Ohashi, C, Ohtsuki, K, and Kawabata, VI. Type V collagen in trout muscle and its solubility change during chilled storage of muscle[J]. J. Agric. Food. Chem. 1991, 39: 1222~1225.
- [14] Hatae, K, Tamari, S. Species difference and changes in the physical properties of fish muscle as freshness decrease[J]. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1985, 51: 1155~1161.
- [15] Montero, P, Borderias, J. Effect of rigor mortis and aging on collagen in trout muscle[J]. J. Sci. food Agric. 1990, 52: 141~146.
- [16] Oka, H, Ohno, K. Changes in texture during cold storage of cultured yellow tart meat prepared by different killing method[J]. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1990, 56: 1673~1678.
- [17] Toyohara, H, Shimizu, Y. Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of muscle[J]. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1988, 54: 1795~1798.
- [18] Ando, M, Toyohara, H, Shimizu, Y, and Sakaguchi, M. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by gradual disintegration of extracellular matrix structure[J]. J. Sci. Food Agric. 1991, 39(6): 1118~1123.