

董旭, 赵峡, 刘楚怡. 鱼鳔胶原肽的制备工艺及功能活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 436–442. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030285

DONG Xu, ZHAO Xia, LIU Chuyi. Progress in Preparation and Functional Activity of Fish Swimming Bladder Collagen Peptide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 436–442. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030285

· 专题综述 ·

鱼鳔胶原肽的制备工艺及功能活性研究进展

董旭¹, 赵峡^{1,2,*}, 刘楚怡^{1,2,*}

(1. 中国海洋大学医学院药学院海洋药物教育部重点实验室, 山东青岛 266003;

2. 青岛海洋生物医药研究院, 山东青岛 266000)

摘要: 我国渔业资源丰富, 在水产加工过程中, 大部分鱼鳔都被当作废料丢弃。研究发现, 鱼鳔中含有丰富的胶原蛋白, 经过酸、蛋白酶、热水等处理后可以提取得到, 而鱼鳔经过蛋白酶进一步水解后可得到具有多种生理活性和功能的小分子肽。根据研究报道鱼鳔胶原蛋白寡肽具有抗氧化、抗衰老、抗疲劳等功能, 鱼鳔胶原蛋白在食品、医药等领域有着巨大潜力。本文对近年来国内外对于鱼鳔胶原蛋白及寡肽的制备、功能活性进行了总结, 为以后鱼鳔胶原蛋白方面的研究提供参考。

关键词: 鱼鳔, 胶原肽, 制备, 功能活性

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)06-0436-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030285

本文网刊:



Progress in Preparation and Functional Activity of Fish Swimming Bladder Collagen Peptide

DONG Xu¹, ZHAO Xia^{1,2,*}, LIU Chuyi^{1,2,*}

(1. Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education, School of Medicine and Pharmacy,

Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Marine Biomedical Research Institute of Qingdao, Qingdao 266000, China)

Abstract: China is rich in fishery resources. In the process of aquatic processing, most of the swim bladders are discarded as waste. It is found that the swim bladders are rich in collagen, which can be extracted after acid, protease and hot water treatment. Small molecular peptides with a variety of physiological activities and functions can be obtained after further hydrolysis of the swim bladder by protease. It is reported that fish swim bladder collagen oligopeptide has the functions of anti-oxidation, anti-aging and anti-fatigue, and fish swim bladder collagen has great potential in food, medicine and other fields. This paper summarizes the preparation and functional activity of fish swim bladder collagen and peptides at domestic and abroad in recent years, in order to provide reference for the future research of fish swim bladder collagen.

Key words: swim bladder; collagen peptide; preparation; functional activity

中国水产资源丰富, 同时也是水产品消费大国, 随着生活水平的提高, 人们对于水产品的需求也不断增加, 同时水产品的加工副产物也在增多。鱼头、鱼骨、鱼皮、鱼鳞、鱼鳔、鱼内脏等占比总质量的 40% 以上, 大部分副产物都会废弃, 不仅浪费了资源, 还污染了环境, 因此高值化利用水产品加工副产物就成为了学者们研究的目标。其中鱼鳔是鱼用于

平衡和比重调节的重要器官, 用于感压、辅助呼吸等, 自古以来就被应用于药物和食品中。通常, 鱼鳔胶原蛋白含量与鱼皮中胶原蛋白含量大致接近, 却又明显高于鱼骨、鱼鳞、鱼鳍、鱼肉及内脏^[1-5]。在水凝胶制备过程中, 由于牛皮和鱼皮等胶原纤维形成速度慢且稳定性不佳^[6], 而鱼鳔胶原蛋白具有快速的纤维形成能力^[7]和较高的变性温度^[8]。因此, 鱼鳔胶原蛋

收稿日期: 2021-03-25

作者简介: 董旭 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 功能蛋白与生物活性肽, E-mail: dongxu0@163.com。

* 通信作者: 赵峡 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 海洋糖类创新药物研究, E-mail: zhaoxia@ouc.edu.cn。

刘楚怡 (1986-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功能蛋白与生物活性肽, E-mail: liucy@ouc.edu.cn。

白较适合作为哺乳动物胶原蛋白替代来源。

新鲜鱼鳔中蛋白质含量很高,如新鲜鲫鳔组织中蛋白质含量高达 84.2%,胶原蛋白含量为 115.05 mg/g,鳕鱼鱼鳔中蛋白质可达到 20%,脂肪却很少。鱼鳔胶原蛋白具有卓越的生物相容性、低免疫原性、可降解性等,易于人体的吸收和利用,并具有明显功效,可有效提高免疫力、抑制癌细胞、活化细胞、防止皮肤老化去除皱纹^[9]。但当前国内研究并不完善,其制备分离、功效因子、应用等方面研究关注不足,为此,本研究中系统地综述了鱼鳔胶原蛋白的研究现状并探讨了其应用发展。

1 鱼鳔胶原肽的制备工艺

目前,鱼鳔胶原蛋白研究的原料主要来自于草鱼、鳕鱼、黄姑鱼、鲤鱼、鲈鱼、鲑鱼等^[10-11]鱼的加工副产物。此类原料中富含胶原蛋白,对这些原料进行预处理、蛋白提取、分离纯化等操作来得到具有生物活性的胶原蛋白。

1.1 预处理

在鱼鳔胶原制备过程中,前处理非常重要,脂肪、杂蛋白以及钙质的脱除效果会影响之后胶原的提取质量^[12],通常用醇(异丙醇、丁醇等)或碱来脱除脂肪^[4],用酸(盐酸、乙酸、乙二胺四乙酸等)脱钙^[13],除杂蛋白工序主要采用氯化钠或氢氧化钠处理,在处理时可用磁力搅拌器、超声波等提高除杂效果^[14]。

1.2 胶原蛋白提取

天然肽主要存在生物体内,所以在制备过程中,提取过程尤为重要,预处理保证了杂质的消除,正式提取则要最大化胶原蛋白的提取量和生物活性。常用的提取方法有酸法、酶法、热水法、盐法、碱法和发酵法^[15]。在实验时也可以多种方法结合使用以提高提取率。

1.2.1 酸法 酸法提取胶原蛋白主要在酸性条件下浸渍处理原料,从而破坏分子间的盐键和希夫碱,而引起纤维膨胀、溶解^[16]。作为溶剂使用的酸,主要有盐酸或亚硫酸、磷酸、硫酸、醋酸、柠檬酸和甲酸等^[15]。酸法是提取胶原蛋白比较常用和有效的方法,用酸法提取的胶原最大程度地保持了其三股螺旋结构。此法处理快速,所得产物的分子是连续的。

因不同鱼类鱼鳔中胶原蛋白结构组成不同,为得到生物活性更高的胶原蛋白肽,故所用方法和操作流程有所不同。李娜等^[17]在研究鳕鱼鱼鳔时用 5 倍体积的 0.5 mol/L 的醋酸溶液溶解盐析后的沉淀样品,注入透析袋,用 0.1 mol/L 醋酸溶液透析 1 d,再用去离子水透析 2 d 得到酸溶胶原蛋白,提取率约为 10.23%。Chen 等^[18]以 0.5 mol/L 醋酸,料液比为 1:50(m/V),提取时间 24 h 的条件下提取黄姑鱼鳔的胶原蛋白,最终得率约为 11.33%。Pal 等^[7]用 0.5 mol/L 水醋酸提取鲤鱼鳔中的胶原蛋白,连续温和搅拌 72 h,得率约为 22.2%。Sinthusamran 等^[19]从鲈鱼(*Lates calcarifer*)的鱼囊中分离出酸溶性胶原

蛋白(Acid soluble collagen, ASC),先用 0.5 mol/L 乙酸溶解前处理过的样品,随后用 0.1 mol/L 乙酸透析 12 h,鱼鳔 ASC 的得率约为 28.5%。Kaewdang 等^[20]将黄鳍金枪鱼鱼鳔脱脂后的样品置于搅拌器连续搅拌,浸泡在 0.5 mol/L 醋酸中,在 4 ℃ 下连续搅拌 48 h,经过沉淀离心后,将沉淀溶解在 0.5 mol/L 的醋酸中,用 10 倍体积的 0.1 mol/L 醋酸透析 12 h 来提取胶原蛋白,但是最终得率仅为 1.07%,这一结果与 Singh 等^[21]的观点一致,他们在 2011 年发现了条纹鲈鱼皮胶原蛋白在 0.5 mol/L 醋酸中不能被完全水解。酸法提取胶原蛋白得率较少的原因,可能是由于鱼鳔中的胶原蛋白通过端肽区醛基的缩合以及分子间的交联而形成共价键交联,导致胶原在酸性条件下的溶解度下降^[21]。

1.2.2 酶法 酶法提取胶原蛋白是利用蛋白酶使胶原溶解,水解条件温和,反应速率快,蛋白纯度高,理化性质稳定,且无环境污染^[15]。工艺可选择一步法,即利用酶液直接提取;二步法,即先用酸或者碱进行初步提取,然后再用酶提取。Zhao 等^[22]选择了猪胃蛋白酶来制备鳕鱼鳔胶原蛋白,经过单因素实验筛选结果表明猪胃蛋白酶水解最佳条件为水解时间 3.5 h,温度 55 ℃,pH9.5,料液比为 1:5(m/V),酶剂量 2.5%,将鱼鳔提取物进一步悬浮在 10 倍体积的 0.5 mol/L 乙酸中,并加入猪胃蛋白酶(20 U/g)。将混合物在 4 ℃ 连续搅拌 2 d,得到了约为鱼鳔重量 8.37% 的胶原蛋白。Kaewdang 等^[20]在提取黄鳍金枪鱼鱼鳔胶原蛋白的实验中,用 0.5 mol/L 含粗胃蛋白酶的乙酸(20 单位/g 鱼鳔),以 1:10 的固液比在 4 ℃ 条件下提取 48 h,胶原蛋白得率高于 12.10%。Hong 等^[23]用中性酶对鲑鱼鱼鳔蛋白进行水解,酶用量为 1%(w/w,蛋白基),温度为 45 ℃,pH 为 7.0,最终胶原蛋白得率为 18.4%±0.4%。Pal 等^[7]将鲤鱼鱼鳔的脱蛋白和脱脂样品残留物悬浮在 0.5 mol/L 乙酸中,含有 0.2% 胃蛋白酶的乙酸,固液比为 1:40(w/v),温度为 4 ℃ 的条件下水解 72 h,产率为 61.3%±2.6%。酶法提取鱼鳔胶原蛋白的得率普遍较高,可能是因为随着胃蛋白酶的进一步消化,胃蛋白酶能够特异性地切割胶原的端肽区,端肽区的交联分子被切割,从而在进一步提取后提高了产量^[21]。此外研究观察到不同品种的鱼鳔胶原蛋白提取率差异很大,这种情况可能是由于原料中胶原纤维的不同交联所致。

1.2.3 热水提取法 在一些研究中对于鱼鳔胶原蛋白的提取采用了过程简单、便于操作的热水提取法,热水提取法就是原料经过各种前处理后,设置一定的条件用热水提取其中水溶性胶原蛋白的方法。相较于酸提取法,此方法可获得具有更高亚氨酸含量的胶原蛋白。周沫希等^[24]使用饮用水提取胶原蛋白,在黄唇鱼鱼鳔和饮用水比例为 1:5 的条件下,80 ℃ 煮沸 2 h 后离心、冷冻干燥得到鱼鳔胶原蛋白。涂宗财等^[25]按料液比 1:3 加入草鱼鱼鳔和 0.15% 的 NaOH

浸提 1 h, 水洗后再按 1:3 的料液比加 0.15% 的硫酸溶液, 静置 1 h 后水洗至中性, 最后用 80 °C 热水浸提 2 h 来提取鱼鳔胶原蛋白。此法在提取过程中温度较高, 经过热处理能够断裂胶原蛋白中的氢键和一部分共价键^[26], 使胶原蛋白内部三螺旋结构破坏, 便于提取。

1.2.4 其他方法 此外还有盐提取法、碱提取法、发酵法提取鱼鳔胶原蛋白, 前两者在实际应用中较少, 容易引入杂质^[27]、提取率和提取纯度都不尽人意^[28]。微生物发酵法的原理是利用微生物产生的蛋白酶水解鱼鳔蛋白, 此法可以通过控制发酵时间来获得不同目的蛋白^[29], 其优点是提取成本低、效率高, 并且比较其他方法提取得率高^[30], 得到的胶原蛋白抗氧化力更强, 使鱼鳔产品的营养和功效更加显著^[31]。

1.3 胶原蛋白肽的制备

目前, 鱼鳔胶原蛋白寡肽的研究相对较少, 制备寡肽的原料也是鱼的加工副产物, 不过为了制备胶原蛋白寡肽, 需要采用一系列方法破坏蛋白质的多级结构。当前, 鱼鳔胶原蛋白寡肽主要采用酶解法制备, 因为每种酶都有其固定的酶切位点, 针对不同的研究方向可以选择不同的酶和酶解条件, 单一酶解法提取胶原蛋白寡肽可以更好的保留寡肽的活性位点, 但其得到的肽段通常比较大。复合酶解法可以得到更小

的肽段, 从而研究具体发挥作用的小肽段或氨基酸^[32]。研究中常用的蛋白质水解酶包括碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶等。为了达到酶的最高活性, 制备过程中会提供给酶制剂最适的条件。郑婷婷^[14]设置了底物浓度为 3.09%、温度为 50 °C 和 pH6.0 的条件, 加胰蛋白酶酶解草鱼鱼鳔混合液 79.34 min 制备鱼鳔胶原寡肽粉。李娜等^[17]将预处理后的鳕鱼鱼鳔加入蒸馏水进行匀浆, 在 pH7.0 的条件下按照 100 U/mL 的酶添加量加入复合蛋白酶, 于 55 °C 水浴条件下酶解 4 h, 将酶灭活后, 真空旋转蒸发浓缩后冷冻干燥得到鳕鱼鱼鳔胶原蛋白寡肽。Zheng 等^[33]考察了 3 种不同的蛋白酶在最适条件下水解黄姑鱼鱼鳔胶原的效果, 酶的用量为 1000 U/g, 料液比为 1:4 的混合, 酶解 4 h。其中中性蛋白酶酶解产物小于 1 kDa 的胶原蛋白肽具有最好的抗氧化活性。此外, 在制备过程中借助超声波、微波辅助水解可以提高水解效果, 分离出更高活性的小肽段^[15]。

1.4 胶原蛋白肽的分离纯化

胶原蛋白经蛋白酶水解后得到具有不同分子质量的肽段混合物, 可通过分离纯化技术制备具有特定分子质量区间以及功能活性的寡肽组分。文献报道常用的分离纯化方法有利用透析、盐析、层析、离心、色谱等方法除去相关杂质, 如超滤膜过滤^[34]、葡聚糖凝胶色谱柱分离^[35]、高效液相色谱分离^[36]等。

Ramasamy 等^[37]将所得的罗虎鱼鳔组织进一步用胃蛋白酶处理后, 胃蛋白酶溶解的鱼胶原蛋白通过

盐析(氯化钠含量为 2.5 mol/L)沉淀法进一步纯化。Wu 等^[38]为比较酸提胶原蛋白和酶提胶原蛋白产物特性, 将初产物用 0.1 mol/L 乙酸透析 48 h 得到提纯产物。Chen 等^[18]为研究黄姑鱼鱼鳔中胶原蛋白理化特性, 采用了酸提取和酶提取两种方法, 并将初产物用 0.57~0.68 mol/L NaCl 浸泡后离心, 紧接用 0.08~0.12 mol/L 乙酸和蒸馏水透析 1.5~2.3 h 得到提纯产物。Zheng 等^[33]以 10、5 和 1 kDa 截留膜纯化中性蛋白酶水解后的黄姑鱼鳔多肽, 并进行抗氧化活性评价, 结果显示, 小于 1 kDa 的肽组分具有最高的 DPPH 自由基清除率。由于鱼鳔胶原蛋白肽的研究相对较少, 我们可借鉴其他原料提取的胶原肽分离纯化方法。Cai 等^[39]用碱性蛋白酶对草鱼皮进行酶解, 并通过 G-25 葡聚糖凝胶色谱柱和反相高效液相色谱对酶解物进行分离纯化, 得到 3 种抗氧化活性较高的组分, 通过 Tof-MS 分析确定其氨基酸序列分别为 Val-Gly-Gly-Arg-Pro、Gly-Phe-Gly-Pro-Glu-Leu 和 Pro-Tyr-Ser-Phe-Lys, 分子质量在 480~640 Da 之间。Gu 等^[40]采用超滤膜过滤(截留分子量为 10 和 1 kDa)和反相高效液相色谱来纯化从大西洋鲑鱼皮酶解产物中分离出的两种二肽, 分别为 Ala-Pro 和 Val-Arg。

文献报道表明, 现有各种分离纯化方法可以实现高活性目标组分的富集, 但也存在过程时间较长、效率较低且不易得到单组分产物等问题。从开发高附加值产品的角度出发, 如何利用新兴技术提高分离纯化环节的效率、建立具有经济技术可行性的规模化生产工艺, 还应作为今后研究的重点内容。

2 鱼鳔胶原肽的功能特性

来源于水产品的胶原蛋白的基本结构为三股螺旋结构, 在鱼类副产品中发现的主要胶原蛋白是 I 型胶原蛋白, 通常由 3 条左手螺旋构型 α 多肽链互相缠绕或者两条 α 多肽链和一条 β 链形成右手螺旋结构, 即超螺旋结构, 性质比较稳定^[41]。当胶原蛋白被降解为分子质量较低的寡肽以后, 更易透过肠道被人体吸收, 发挥生理功能^[42]。

2.1 抗氧化特性

含有不成对电子的自由基在生命活动中发挥着重要的作用。由于自由基非常活跃, 其可通过夺取电子(氧化过程)引发一系列有害健康的反应。研究表明, 过量的自由基会对生物体造成破坏, 如细胞破坏^[43]、脏器损伤^[44]、皮肤老化^[45]等, 并导致多种疾病的发生。因此, 开发和利用高效无毒的天然抗氧化剂——自由基清除剂对维护人体健康、预防疾病意义重大。

针对鱼鳔寡肽抗氧化活性的研究多采用 DPPH·、 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 等作为检测多肽抗氧化活性的标准物。Zhao 等^[22]将鳊鱼鳔以碱性蛋白酶酶解, 以超滤、Sephadex G15 凝胶柱和反相高效液相色谱分离纯化后得到了 10 组多肽。其中五肽(GIEWA)和六肽

(FPYLRH)的自由基清除率最高,六肽对·OH、DPPH·和 $O_2^{\cdot-}$ 的半数效应浓度分别为0.68、0.51和0.34 mg/mL。在鲤鱼鱼鳔生物活性肽的研究中,Pal等^[7]利用电子计算机方法进行活性预测,使用BIOPEP分析工具预测了显示抗氧化能力的潜在鱼类I型胶原衍生肽序列,理论上胃蛋白酶和木瓜蛋白酶的混合物或单独使用都能产生14种抗氧化性的二肽和三肽,但实际使用效果一般,用胶原酶效果更好。作者还用Peptide Ranker软件计算出了水解后的肽段的抗氧化活性潜力,其中胃蛋白酶水解出的抗氧化三肽(RHF)有着最高的抗氧化活性,等级为0.88。其次是木瓜蛋白酶和胃蛋白酶共同水解出的二肽(VW),等级为0.80。孙燕丽等^[46]研究了草鱼鱼鳔制备的生物活性肽,进行了单因素实验,对比了不同酶种类、时间、温度、料液比等因素对DPPH·自由基清除效果的影响。结果表明在木瓜蛋白酶0.5%,温度55℃,酶解时间5h,料液比50 mg/mL的条件下,DPPH·清除率最高达78.92%。

根据以上的研究,验证了鱼鳔胶原肽具有抗氧化活性,并且抗氧化胶原肽的相对分子质量为0.2~1.0 kDa,大多数抗氧化肽都具有低分子量分布,但抗氧化活性有待进一步提高,构效关系有待进一步明确研究。

2.2 抗衰老活性

衰老是生命体必然发生的现象。随着年龄的增长,生命体的器官或组织的形态结构和生理功能会出现生理性衰退。以皮肤为例,皮肤衰老作为机体整体衰老的一部分具有特殊意义。由于皮肤中纤维蛋白阳性结构的缺失,同时皮肤I型胶原蛋白和VII型胶原蛋白含量下降,导致皮肤表皮和真皮之间连接松散,使皮肤变得不规则且无组织^[47]。在机体进行正常的生命活动时,自由基和活性氧(ROS)会在新陈代谢过程中通过一些相互关联的反应生成^[48]。在众多的关于衰老的学说或理论中,自由基和活性氧(ROS)的过量产生被认为是衰老的主要原因,因为它们可以导致DNA、蛋白质和脂质的累积损伤,致使大量的细胞凋亡和细胞坏死。

通过研究发现,从鱼鳔中提取的胶原蛋白寡肽具有一定的抗衰老活性。李娜等^[17]研究了鳕鱼鱼鳔提取的生物活性肽的抗衰老活性,通过建立氧化诱导的细胞衰老模型,通过细胞存活率、ROS含量、SA- β -GAL染色和细胞凋亡率的分析,评价其对细胞衰老的影响^[49]。实验水解产物利用G-15葡聚糖凝胶色谱柱纯化得到了胶原蛋白寡肽,并且主要由天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸和脯氨酸组成,同时有较高含量的酪氨酸和苯丙氨酸等芳香族氨基酸。作者用不同浓度(100和400 μ g/mL)的寡肽培养细胞,随后用0.2 mmol/L H_2O_2 诱导(过氧化氢诱导的细胞会过早衰老)^[50]。结果显示与正常细胞相比模型组活性有所下降,但实验组分的细胞活性均高于70%,细

胞内ROS含量下降30%以上,高浓度的寡肽可使细胞衰老率和凋亡率降低50%以上。Zheng等^[33]研究了日本黄姑鱼鱼鳔制备的胶原蛋白肽SNNH-1对人脐静脉内皮细胞ROS水平的影响; H_2O_2 处理后,人脐静脉内皮细胞的荧光强度明显高于对照组;而SNNH-1处理可有效降低人脐静脉内皮细胞的ROS水平;另外,ROS水平随着SNNH-1浓度的增加而降低;此研究显示出天然的生物活性肽对过氧化氢诱导的氧化应激的细胞具有保护作用。

2.3 抗疲劳活性

鱼鳔胶原蛋白具有较好的抗疲劳活性。疲劳是身体剧烈运动时产生的一种综合性生理过程,持续的运动过程使肌肉的耗氧量增加、血糖下降及蛋白质消耗,疲劳最主要的表现是运动耐力的下降,这是反映机体疲劳程度最直接和最客观的指标。王丰雷等^[51]将提取梅鱼鱼鳔胶原蛋白进行小鼠体内抗疲劳活性实验,将小鼠按高剂量(200 mg·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃鱼鳔胶原蛋白4周后,对小鼠负重游泳时间、血清尿素氮、肝糖原和肌糖原的含量进行测定;结果表明,灌胃鱼鳔胶原蛋白后的小鼠负重游泳时间延长了91.69%,血清尿素氮含量减少了24.07%,肝糖原和肌糖原的含量分别增加了114.38%和123.81%,均有显著性提高。周末希等^[24]采用小鼠负重游泳实验评价墨西哥黄唇鱼鱼鳔胶的抗疲劳效果,测定其负重游泳时间、血乳酸、肝糖原和肌糖原的含量。结果显示,相比空白对照组,采用高剂量(2.66 g/kg)的墨西哥黄唇鱼鱼鳔胶连续灌胃40 d的小白鼠负重游泳时间延长了70.68%,血乳酸含量降低了34.58%,肝糖原和肌糖原的含量分别增加了50.29%和50.63%。

从以上研究结果来看,鱼鳔胶原蛋白具有显著的抗疲劳效果,在抗疲劳食品、保健品或药品方面具有研究价值,但还需要通过后续大量实验验证其具体作用方式和副作用,以达到安全有效的抗疲劳目的。

2.4 其他功能

2.4.1 促进创伤愈合 胶原蛋白具有重要的生物医学应用,参与骨修复、关节软骨再生、伤口愈合和止血。特别是促进伤口愈合方面,Chen等^[18]通过用NIH-3T3成纤维细胞进行划痕试验评估体外伤口愈合率,评价从日本黄姑鱼膀胱胶原蛋白中提取的胶原对创面愈合率的影响;与对照组相比,在PSC存在下,伤口划痕面积显著减少,并呈剂量依赖性;在PSC 12.5、25和50 μ g/mL浓度下的划痕闭合率明显高于对照组,而在50 μ g/mL的PSC浓度下的划痕闭合率与50 μ g/mL的牛I型胶原相似,24 h愈合率达到90%,划痕几乎完全闭合;体外伤口闭合实验结果支持了鱼鳔PSC诱导NIH-3T3细胞迁移的结论;在伤口愈合过程中,成纤维细胞的增殖和迁移加速了再上皮化过程,促进了伤口闭合。

2.4.2 预防溃疡性结肠炎(UC) Lu等^[52]采用过氧化氢诱导的肠上皮细胞(IEC-6)氧化应激模型和脂多

糖(LPS)诱导的 IEC-6 细胞炎症模型评估鲫鱼鱼鳔胃蛋白酶和胰蛋白酶先后水解的水解液(HCSB)的抗氧化和抗炎活性。经 50、100 和 150 $\mu\text{g/mL}$ HCSB 孵育后,细胞存活率分别恢复到 61.3%、72% 和 83.8%。经 H_2O_2 刺激后,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性分别下降了 31%、45.5% 和 39.8%。经 50、100、150 $\mu\text{g/mL}$ HCSB 预处理后,超氧化物歧化酶活性恢复到正常细胞的 77.5%、86.3% 和 92.6%,过氧化氢酶活性恢复到 61.1%、72.4% 和 89.4%,谷胱甘肽过氧化物酶活性恢复到 71%、78.7% 和 86.3%。这些结果表明,HCSB 预处理可显著提高细胞存活率。HCSB 不仅可以浓度依赖的方式抑制 H_2O_2 诱导的 IEC-6 细胞活力下降,还能有效缓解氧化应激引起的细胞内抗氧化酶活性下降,且这种作用也具有剂量依赖性。

2.4.3 糖尿病的治疗 二肽基肽酶 IV(DPP-IV)在血糖代谢中起重要作用, Hong^[23] 在实验中采用中性酶对鲢鱼鳔蛋白进行水解,肽段 WGDEHIPGSPYH 及其水解产物 IPGSPY 被完整地转运到 Caco-2 细胞单层。这两个肽对 Caco-2 和 INS-1 细胞的作用均表现出良好的抑制可溶性 DPP-IV 和促进胰岛素分泌的作用。

3 结语

水产养殖及加工业在我国有着巨大的规模和市场,在产业转型,提倡绿色环保的背景下,水产品的加工副产物如何有效利用是一个关键问题。目前,对鱼鳔来源的胶原蛋白、生物活性肽的研究尚有不足,虽然取得一定的研究成果,但是在功能性寡肽的构效关系与定向制备、目标产物的高效分离纯化、潜在生理功能的挖掘以及应用新兴技术提高生产效率等方面还存在广阔的研究开发空间。

参考文献

- [1] YU D, CHI C F, WANG B, et al. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from spines and skulls of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2014, 12(9): 712-720.
- [2] 王园园, 张靓, 周鹏, 等. 太湖白鱼中胶原蛋白的提取及其理化性质分析 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(18): 45-49. [WANG Y Y, ZHANG L, ZHOU P, et al. Extraction of collagen from white fish in Taihu Lake and analysis of its physicochemical properties [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(18): 45-49.]
- [3] 贡雯玉, 卞欢, 吴海虹, 等. 高效液相色谱法检测鲫鱼不同组织中的胶原蛋白含量 [J]. *食品科学*, 2015, 36(14): 65-69. [GONG W Y, BIAN H, WU H H, et al. Determination of collagen in different tissues of crucian carp by high performance liquid chromatography [J]. *Food Science*, 2015, 36(14): 65-69.]
- [4] 胡杨, 朱士臣, 熊善柏, 等. 鱼类加工副产物中胶原提取技术与性质分析 [J]. *渔业现代化*, 2016, 43(4): 44-50. [HU Y, ZHU S C, XIONG S B, et al. Extraction technology and property analysis of collagen from by-products of fish processing [J]. *Fishery Modernization*, 2016, 43(4): 44-50.]
- [5] LIU D, 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.
- [6] MREDHA M T I, KITAMURA N, NONOYAMA T, et al. Anisotropic tough double network hydrogel from fish collagen and its spontaneous *in vivo* bonding to bone [J]. *Biomaterials*, 2017, 132: 85-95.
- [7] PAL G K, SURESH P V. Physico-chemical characteristics and fibril-forming capacity of carp swim bladder collagens and exploration of their potential bioactive peptides by *in silico* approaches [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 101: 304-313.
- [8] ZHANG X, OOKAWA M, TAN Y, et al. Biochemical characterisation and assessment of fibril-forming ability of collagens extracted from Bester sturgeon *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* [J]. *Food Chemistry*, 2014, 160: 305-312.
- [9] 章丽莉, 谢润筹, 陈永东, 等. 食用鱼胶的制备和功效研究 [J]. *海洋与渔业*, 2017(6): 76-77. [ZHANG L L, XIE R C, CHEN Y D, et al. Study on the preparation and efficacy of edible fish gum [J]. *Oceans and Fisheries*, 2017(6): 76-77.]
- [10] 白洋. 罗非鱼下脚料制取胶原肽研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2009. [BAI Y. Study on preparation of collagen peptide from tilapia scraps [D]. Nanning: Guangxi University, 2009.]
- [11] 申锋, 杨莉莉, 熊善柏, 等. 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞制备胶原肽的工艺优化 [J]. *华中农业大学学报*, 2010, 29(3): 387, 391-391. [SHEN F, YANG L L, XIONG S B, et al. Optimization of preparation of collagen peptide from grass carp scales hydrolyzed by pepsin [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2010, 29(3): 387, 391-391.]
- [12] 熊善柏, 夏罗. 大宗淡水鱼贮运保鲜与加工技术 [M]. 北京: 农业出版社, 2014. [XIONG S B, XIA L. Storage, transportation and processing technology of bulk freshwater fish [M]. Beijing: Agricultural Publishing House, 2014.]
- [13] 陈红连. 鳙鱼鱼皮、鱼鳔胶原蛋白提取工艺及其性质的研究 [D]. 武汉: 武汉工业学院, 2011. [CHEN H L. Study on the extraction technology and properties of collagen from bighead carp skin and fish carp [D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2011.]
- [14] 郑婷婷, 涂宗财, 唐平平, 等. 鱼鳔胶原肽抗氧化稳定性研究 [J]. *食品与机械*, 2017, 33(9): 9-14. [ZHENG T T, TU Z C, TANG P P, et al. Study on antioxidant stability of fish carp collagen peptide [J]. *Food and Machinery*, 2017, 33(9): 9-14.]
- [15] 李玉玲, 范志强, 刘雯恩, 等. 鱼鳔胶原蛋白的研究进展 [J]. *大连: 大连海洋大学学报*, 2020, 35(1): 31-38. [LI Y L, FAN Z Q, LIU W E, et al. Research progress of swim bladder collagen [J]. *Dalian: Journal of Dalian Ocean University*, 2020, 35(1): 31-38.]
- [16] 于颖, 肖刚, 陈晚华. 鱼皮胶原蛋白的提取工艺及特性研究 [J]. *上海医药*, 2019, 40(3): 70-73. [YU Y, XIAO G, CHEN W H. Study on extraction technology and characteristics of fish skin collagen [J]. *Shanghai Medicine*, 2019, 40(3): 70-73.]
- [17] 李娜, 林海燕, 吕世伟, 等. 3 种不同方式提取鳙鱼鱼鳔胶原蛋白与胶原蛋白肽的基本特性研究 [J]. *中国海洋药物*, 2019,

- 38(3): 7–14. [LI N, LIN H Y, LU S W, et al. Basic characteristics of collagen and collagen peptides extracted from cod swim bladder by three different methods[J]. Chinese Marine Medicine, 2019, 38(3): 7–14.]
- [18] CHEN Y, JIN H, YANG F, et al. Physicochemical, antioxidant properties of giant croaker (*Nibea japonica*) swim bladders collagen and wound healing evaluation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 138: 483–491.
- [19] SINTHUSAMRAN S, BENJAKUL S, KISJIMURA H. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*)[J]. Food Chemistry, 2013, 138(4): 2435–2441.
- [20] KAEWDANG O, BENJAKUL S, KAEWMANEE T, et al. Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*)[J]. Food Chemistry, 2014, 155: 264–270.
- [21] SINGH P, BENJAKUL S, MAQSOOD S, et al. Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)[J]. Food Chemistry, 2011, 124(1): 97–105.
- [22] ZHAO W H, LUO Q B, PAN X, et al. Preparation, identification, and activity evaluation of ten antioxidant peptides from protein hydrolysate of swim bladders of miuiy croaker (*Müchthys müiuy*)[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 47: 503–511.
- [23] HONG H, ZHENG Y Y, SONG S J, et al. Identification and characterization of DPP-IV inhibitory peptides from silver carp swim bladder hydrolysates[J]. Food Bioscience, 2020: 38.
- [24] 周沐希, 来梦婕, 薛凡, 等. 墨西哥黄唇鱼鱼鳔胶抗疲劳作用的动物试验研究[J]. 中国海洋药物, 2018, 37(4): 31–38. [ZHOU M X, LAI M J, XUE F, et al. Animal experimental study on the anti-fatigue effect of swim bladder glue of Mexican yellow lip fish[J]. China Marine Medicine, 2018, 37(4): 31–38.]
- [25] 涂宗财, 唐平平, 郑婷婷, 等. 响应面优化鱼鳔胶原肽制备工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(5): 160–166. [TU Z C, TANG P P, ZHENG T T, et al. Study on the preparation and antioxidant activity of fish swim bladder collagen peptide optimized by response surface method[J]. Food and Fermentation Industry, 2017, 43(5): 160–166.]
- [26] 郝淑贤, 林婉玲, 李来好, 等. 不同提取方法对罗非鱼皮胶原蛋白理化特性的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 59–62. [HAO S X, LIN W L, LI L H, et al. Effects of different extraction methods on physicochemical properties of tilapia skin collagen[J]. Food Science, 2014, 35(15): 59–62.]
- [27] 诸永志, 王道营, 吴海虹, 等. 一种从鱼肉, 鱼皮, 鱼鳔中溶出胶原蛋白的工艺: 中国, 104970180B[P]. 2018-10-16. [ZHU Y Z, WANG D Y, WU H H, et al. A process for dissolving collagen from fish meat, skin and swim bladder: China, 104970180B[P]. 2018-10-16.]
- [28] 管景颖, 张志胜. 酶解胶原蛋白研究进展[J]. 浙江化工, 2007(1): 18–20. [SUI J Y, ZHANG Z C. Research progress of enzymatic hydrolysis of collagen[J]. Zhejiang Chemical Industry, 2007(1): 18–20.]
- [29] 刘梅花, 郑芷青, 王小琴, 等. 鱼鳔加工技术研究进展[J]. 安徽农学通报, 2018, 24(8): 115–116. [LIU M H, ZHENG Z Q, WANG X Q, et al. Research progress on processing technology of swim bladder[J]. Anhui Agricultural Bulletin, 2018, 24(8): 115–116.]
- [30] 韩玮, 邢瀚文, 施文正, 等. 罗非鱼胶原蛋白 4 种制备方法比较研究[J]. 河南农业大学学报, 2020, 54(1): 102–108. [HAN W, XING H W, SHI W Z, et al. Comparative study on four preparation methods of tilapia collagen[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2020, 54(1): 102–108.]
- [31] 詹永献. 草鱼鱼鳔胶原蛋白理化性质及结构特点的研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2012. [ZHAN Y X. Studies on the physicochemical properties and structural characteristics of collagen in grass carp swim bladder[D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2012.]
- [32] 杨敏, 吴兆明, 李晶晶, 等. 鱼皮胶原蛋白寡肽的生物活性及应用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 304–310. [YANG M, WU Z M, LI J J, et al. Research progress on biological activity and application of fish skin collagen oligopeptide[J]. Food Science, 2018, 39(5): 304–310.]
- [33] ZHENG J, TIAN X, XU B, et al. Collagen peptides from swim bladders of giant croaker (*Nibea japonica*) and their protective effects against H₂O₂-induced oxidative damage toward human umbilical vein endothelial cells[J]. Marine Drugs, 2020, 18(8): 430.
- [34] ROSLAN J, KAMAL S M, YUNOS K M, et al. Assessment on multilayer ultrafiltration membrane for fractionation of tilapia by-product protein hydrolysate with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity[J]. Separation & Purification Technology, 2017, 173(Complete): 250–257.
- [35] ZHANG Y, DUAN X, ZHUANG Y. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin[J]. Peptides, 2012, 38(1): 13–21.
- [36] PEI X, YANG R, ZHANG Z, et al. Marine collagen peptide isolated from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) skin facilitates learning and memory in aged C57BL/6J mice[J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 333–340.
- [37] RAMADHAR S, RAMADHAR K. A novel enzymatic method for preparation and characterization of collagen film from swim bladder of fish rohu (*Labeo rohita*)[J]. Food and Nutrition Sciences, 2015, 6(15): 1468–1478.
- [38] WU X, CAI L, CAO A, et al. Comparative study on acid-soluble and pepsin-soluble collagens from skin and swim bladder of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(3).
- [39] CAI L Y, WU X S, ZHANG Y H, et al. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin[J]. Journal of Functional Foods, 2015: 16.
- [40] GU R Z, LI C Y, LIU W Y, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of low-molecular-weight peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) skin[J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1536–1540.
- [41] GELSE K, PÖSCHL E, AIGNER T. Collagens—structure,

- function, and biosynthesis[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003, 55(12): 1531–1546.
- [42] 张宁, 康跻耀, 高建萍, 等. 胶原蛋白肽分子量对吸收过程的影响研究[J]. *生物学杂志*, 2013, 30(2): 10–13. [ZHANG N, KANG Z Y, GAO J P, et al. Study on the effect of molecular weight of collagen peptide on absorption process[J]. *Journal of Biology*, 2013, 30(2): 10–13.]
- [43] 林灼锋, 李校坤, 孟娟. 活性氧自由基对心肌细胞损伤效应研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2004(6): 81–85. [LIN Z F, LI X K MENG J. Study on the injury effect of reactive oxygen free radicals on cardiomyocytes[J]. *Chinese Journal of Biological Engineering*, 2004(6): 81–85.]
- [44] AZUMA K, OSAKI T, TSUKA T, et al. Effects of fish scale collagen peptide on an experimental ulcerative colitis mouse model[J]. *Pharmanutrition*, 2014, 2(4): 161–168.
- [45] TAKASHI F, TAKAHIRO O, NAOMI Y, et al. Effects of amla extract and collagen peptide on UVB-induced photoaging in hairless mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(1): 451–459.
- [46] 孙燕丽, 王琮生, 潘志斌, 等. 草鱼鱼鳔酶解液的抗氧化活性及理化性质研究[J]. *福建师大福清分校学报*, 2017(2): 30–36. [SUN Y L WANG Q S, PAN Z B, et al. Study on antioxidant activity and physicochemical properties of enzymatic hydrolysate of grass carp carp[J]. *Journal of Fuqing Branch of Fujian Normal University*, 2017(2): 30–36.]
- [47] 王惟浩, 马浩. 皮肤衰老机制及其年轻化治疗策略研究进展[J]. *中国美容医学*, 2020, 29(8): 178–182. [WANG W H, MA H. Research progress on the mechanism of skin aging and its rejuvenation treatment strategy[J]. *Chinese Cosmetic Medicine*, 2020, 29(8): 178–182.]
- [48] JOÃO P D C, RUI V, GUSTAVO M S, et al. A synopsis on aging—Theories, mechanisms and future prospects[J]. *Ageing Research Reviews*, 2016, 29: 90–112.
- [49] LI N, LV S, MA Y, et al. *In vitro* antioxidant and anti-aging properties of swim bladder peptides from Atlantic cod (*Gadus morhua*)[J]. *International Journal of Food Properties*, 2020, 23(1): 1416–1429.
- [50] ZHANG Z, WANG X, SU H, et al. Effect of sulfated galactan from *Porphyra haitanensis* on H₂O₂-induced premature senescence in WI-38 cells[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018: 106.
- [51] 王丰雷, 徐宝贵, 徐敏, 等. 梅鱼鱼鳔胶原蛋白的制备及抗疲劳活性实验[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2019, 38(4): 309–315. [WANG F L, XU B G, XU M, et al. Preparation and anti-fatigue activity of collagen from plum fish swim bladder[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science Edition)*, 2019, 38(4): 309–315.]
- [52] CHEN D A, LIN D A, FJY B, et al. Chemical and biological characteristics of hydrolysate of crucian carp swim bladder: Focus on preventing ulcerative colitis[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020: 75.