

不同预处理方法对酶法制备的草鱼鳞胶原蛋白肽特性的影响

胡杨^{1,2} 杨莉莉¹ 熊善柏^{1,2} 刘友明¹ 尤娟^{1,2} 尹涛¹

1. 华中农业大学食品科学技术学院/国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心, 武汉 430070;

2. 水产高效健康生产湖南省协同创新中心, 常德 415000

摘要 以草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)鳞为原料,采用3种常用工业蛋白酶酶解3种经不同预处理方法处理过的鱼鳞,经酶解、离心分离、冷冻干燥等工序制备胶原蛋白肽,比较不同预处理方法制得胶原蛋白肽的产率及产物特性。结果表明,预处理方法对鱼鳞酶解产物的氮收率、水解度和氨基氮生成量有显著影响($P < 0.05$),适宜的预处理方法为热处理结合粉碎处理;预处理方法对产物的分子质量及其分布影响不明显,产物的高效液相图谱均有3大组分峰,分别在10 000~14 000、8 000~9 000、4 000 ku附近;预处理方法对胶原蛋白肽的DPPH·清除率影响显著,主要受热处理影响,粉碎处理的影响较小。综合胶原蛋白肽的产率及产物特性,理想的鱼鳞预处理方法为热处理结合粉碎处理。

关键词 草鱼; 鱼鳞; 胶原蛋白肽; 热处理; 粉碎处理; 蛋白酶; 酶解

中图分类号 TS 254.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)05-0105-07

与胶原相似,胶原蛋白肽具有良好的加工特性、营养特性、蛋白功能特性及生物活性^[1-3]。相比胶原,胶原蛋白肽因其分子质量小、吸收利用率高、可促进食品中的其他蛋白质吸收等特点,近年来得到了广泛研究和应用^[4]。对胶原蛋白肽类产品需求量较大的国家主要是欧美和日本等发达国家。在中国以胶原蛋白肽为主要成分的产品越来越受到人们的欢迎,胶原蛋白肽的消费每年正以不低于20%的速度增长,预计到2020年中国胶原蛋白肽市场年需求量将近6万t。然而,目前的胶原蛋白肽主要来自猪、牛等哺乳动物,随着疯牛病、口蹄疫等疾病的流行,世界各国都趋向利用水产品及其下脚料制备胶原蛋白肽^[5]。鱼鳞作为有鳞鱼类加工过程中产生的副产物,除部分以原料形式出口外,多数未得到有效利用。鱼鳞中含有丰富的蛋白质,约占鱼鳞总质量的50%~70%,主要为胶原蛋白,另外还含有少量角蛋白、球蛋白及粘蛋白等^[6]。近年来,国内外对鱼鳞的综合利用进行了大量研究,其中方向之一在于利用鱼鳞制备胶原蛋白肽,以用于化妆品、食品及保健品等行业^[5,7-8]。目前,利用鱼鳞制备胶原蛋白肽

的方法主要有酸法、碱法和酶法。酶法因其具有反应时间短、条件温和以及利用蛋白酶的专一性可有效控制产物的酶解程度等优点,研究最为集中^[5,9-10]。就酶解反应而言,原料状态不仅影响产物产率,同时关系产物的组成及物理化学性质。此外,由于鱼鳞的特殊结构和性质,对鱼鳞进行一定程度的预处理可有效影响蛋白酶的酶解进程,进而对酶解产物特性如DPPH·清除率、分子质量等产生影响。在此基础上,笔者通过对鱼鳞采用不同预处理方法并应用3种常用工业蛋白酶制备胶原蛋白肽的酶解效果和产物特性进行研究,以期利用鱼鳞制备胶原蛋白肽提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1) 材料。草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*),购于华中农业大学菜市场,草鱼产自湖北武汉,鱼体平均长约350 mm,平均质量800 g左右,为1~2龄草鱼,鱼鳞经蒸馏水清洗干净后,用1%的HCl处理1 d,随后用饱和石灰水处理1 d,处理过的鱼鳞清洗

收稿日期: 2016-04-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(21506070);湖北省自然科学基金青年科学基金项目(2015CFB391);华中农业大学自主创新基金项目(2662015QC014);现代农业产业技术体系专项(CARS-46-23)

胡杨,博士,讲师,研究方向:农产品加工与贮藏, E-mail: huyang@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 熊善柏,博士,教授,研究方向:水产品加工保鲜理论与技术创新, E-mail: xionshanbai@mail.hzau.edu.cn

干净后,晾干、保存备用;碱性蛋白酶(alcalase 2.4 L FG)、中性蛋白酶(neutrase 1.5 MG)、复合蛋白酶(protamex),诺维信天津公司;其他化学试剂均为分析纯级。

2) 仪器与设备。TDL-80-2B 型离心机,上海安亭科学仪器厂;FD-1A-50 型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;KDN-08E 定氮仪,上海精隆科学仪器有限公司;高效液相色谱系统,美国瓦里安技术中国有限公司。

1.2 鱼鳞胶原蛋白肽的制备

取保存备用的草鱼鳞,调节料液质量比 1 : 17,

在特定条件下进行预处理(分别为热处理-粉碎处理、单独热处理、未预处理),随后用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值,加入一定量的蛋白酶(分别为碱性蛋白酶、中性蛋白酶、复合蛋白酶),于恒温水浴振荡器中酶解一定时间,之后于 85 °C 灭酶处理 15 min,冷却后于 4 000 r/min 离心 10 min,酶解上清液经冷冻干燥即得到目标产物鱼鳞胶原蛋白肽。具体流程如图 1 所示。

1.3 测试方法

1) 氮收率测定。参考文献[5, 11]方法,分别测定鱼鳞酶解液和原料中的总氮含量,氮收率 = 酶

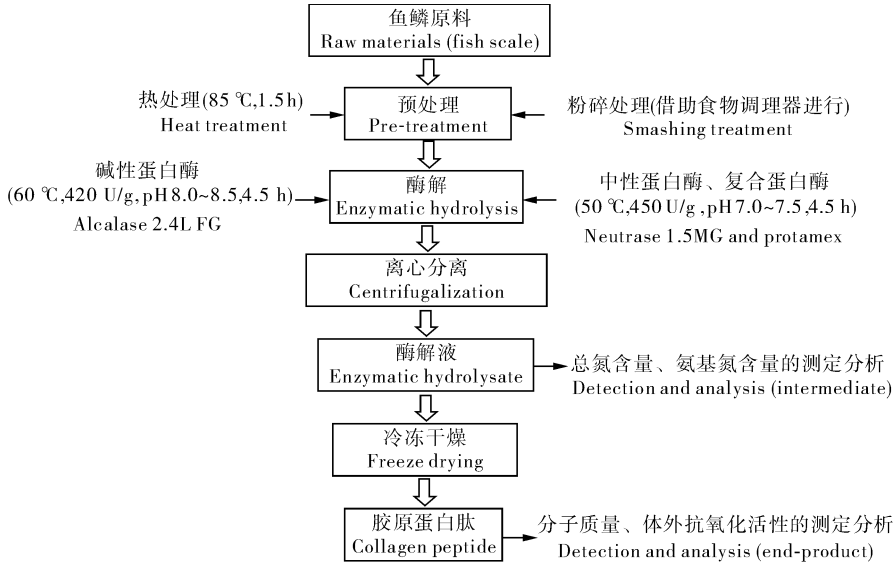


图 1 鱼鳞胶原蛋白肽制备流程图

Fig.1 Manufacturing process of collagen peptide from fish scale

解液中总氮含量/原料中总氮含量 $\times 100\%$ 。

2) 水解度测定。参考申锋^[5]方法,分别测定酶解液中的氨基氮含量和原料中的总氮含量,水解度 = 酶解液中氨基氮含量/原料中总氮含量 $\times 100\%$ 。

3) 氨基氮生成量测定。参考 GB/T 5009.39—2003 及黄晓钰等^[12]方法,适当修改。取酶解上清液 2 mL,加入蒸馏水 50 mL 和酚酞指示剂 2 滴,于磁力搅拌器上测定 pH 值,用一定浓度的标准 NaOH 溶液调其 pH 至 8.2,随后加入 20 mL 36% 的中性甲醛,继续滴定至 pH 为 9.2,记录 NaOH 消耗体积;用蒸馏水作为空白对照,按同样方法测定其 NaOH 消耗体积。计算酶解液中的氨基氮含量,氨基氮含量(mg/mL) = $1/2(V_{\text{NaOH}} - V_{\text{空}}) \times C_{\text{NaOH}} \times 14$,据此计算氨基氮生成量(mg/g)。式中, V_{NaOH} 为

滴定样液消耗 NaOH 的体积, mL; $V_{\text{空}}$ 为滴定空白蒸馏水消耗 NaOH 的体积, mL; C_{NaOH} 为标准 NaOH 溶液浓度, mol/L; 14 为 N 的摩尔质量, g/mol。

4) 分子质量及其分布的测定。采用高效液相色谱法,参考 QB/T 2653—2004 及申锋^[5]、杨立^[6]等方法测定胶原蛋白肽的分子质量及其分布。取不同分子质量的肽标准品,溶于 NaAC 缓冲液中,配制标准溶液,混匀、离心后,取上层溶液检测,以分子质量的对数值对保留时间作图得到标准曲线及其方程;将待测样品配制成 8~10 mg/mL 的溶液,混匀、离心后,按同样方法检测,将样品的色谱数据代入标准曲线方程,得到样品的分子质量及其分布,用峰面积归一法得出各不同分子质量胶原蛋白肽的相对百分含量^[6]。

5)体外抗氧化活性。参考杨立^[6]方法,采用分光光度法依据吸光度的变化测定样品的 DPPH·清除率。

1.4 数据处理

采用 SAS 和 Excel 进行数据分析,其中方差分析采用 Anova 过程,显著性分析采用 Duncan's 检验, $P < 0.05$ 表示存在显著性差异。

2 结果与分析

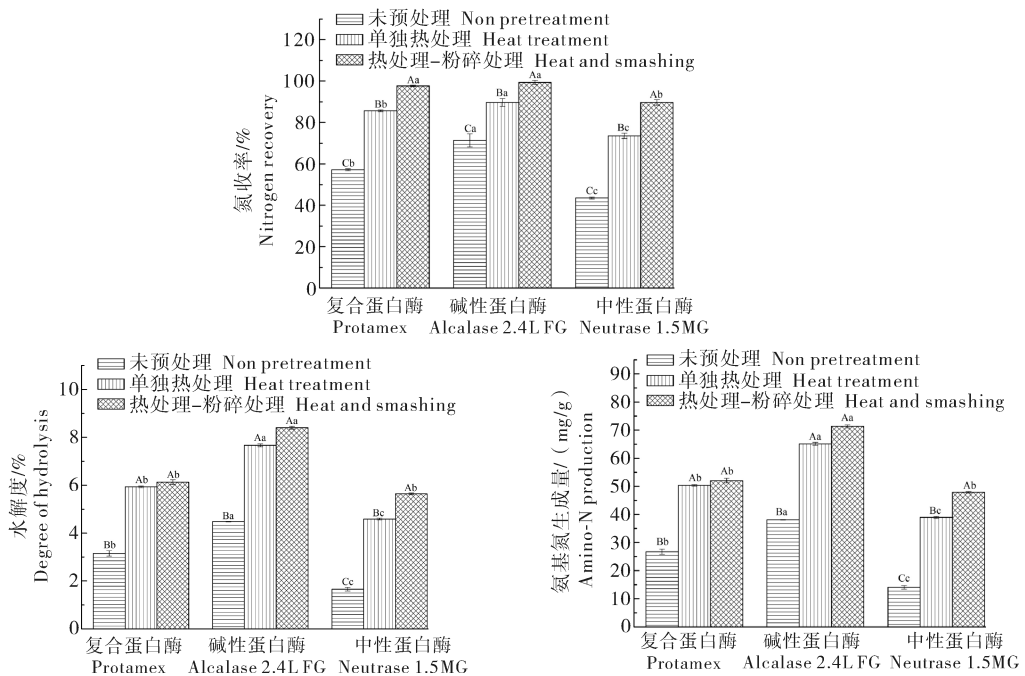
2.1 草鱼鳞基本成分分析

正式试验前,先对草鱼鳞的基本组成成分进行测定。结果表明,草鱼鳞主要由粗蛋白和粗灰分组成,脂肪含量较少,以干质量计的粗蛋白含量达到 $63.97\% \pm 0.55\%$,其中羟脯氨酸含量为 $7.63\% \pm 0.10\%$,说明草鱼鳞胶原蛋白含量丰富,可用于胶原蛋白肽的提取。草鱼鳞中的粗灰分含量达到

$31.71\% \pm 0.17\%$,粗脂肪为 $4.38\% \pm 0.17\%$,表明需重视鱼鳞的前处理工作,以除去其中的非胶原成分。

2.2 不同预处理方法对鱼鳞酶解产物的氮收率、水解度及氨基氮生成量的影响

预处理方法对鱼鳞酶解产物的氮收率、水解度及氨基氮生成量的影响如图 2 所示。由图 2 可知,预处理方法对鱼鳞酶解产物的氮收率、水解度及氨基氮生成量影响显著。单就预处理方法而言,同一种蛋白酶的氮收率、水解度及氨基氮生成量,热处理-粉碎处理的最高,其次是单独热处理,未预处理的最低。对于蛋白酶而言,同一种预处理方法的氮收率、水解度及氨基氮生成量,碱性蛋白酶的最大,其次是复合蛋白酶,中性蛋白酶的最小。这是由于酶作用的特异性而对同一底物呈现不同的酶解能力^[13-14]。



大写字母表示不同预处理方法间存在显著差异,小写字母表示不同蛋白酶间存在显著差异。Different uppercase letters indicated the mean values were significantly different between different pretreatment groups, different lowercase letters indicated the mean values were significantly different by different enzyme hydrolysis.

图 2 不同预处理方法对鱼鳞酶解产物的氮收率、水解度及氨基氮生成量的影响

Fig.2 Effects of different pretreatments of fish scale on nitrogen recovery, hydrolyzing degree and total amino-N of enzymatic hydrolysate

对于热处理-粉碎处理后的鱼鳞,采用碱性蛋白酶和复合蛋白酶酶解,其氮收率分别高达 99.32% 和 97.70% ,表明鱼鳞中的胶原蛋白基本以多肽或氨基酸形式溶于酶解液中。热处理-粉碎处理过的鱼鳞,其氮收率为 $89.69\% \sim 99.32\%$,显著高于单独热处

理 ($73.57\% \sim 89.70\%$) 和未预处理 ($43.50\% \sim 71.36\%$) 的鱼鳞。对于未预处理的鱼鳞,其氮收率最低,表明热处理和粉碎处理均有助于提高蛋白酶的酶解效果,主要在于热处理能够疏松鱼鳞的表层结构,软化鱼鳞,进而促进鱼鳞中胶原蛋白的释放,

使鱼鳞中的胶原蛋白在酶解作用下以多肽或氨基酸形式溶于酶解液中^[8]。粉碎处理可增大鱼鳞的表面积,扩大鱼鳞与酶的接触位点,继而提高酶解效果。试验范围内,各组酶解产物的水解度最高仅 8.40%,趋近或低于同研究水平^[5,15-16],可能在于本研究酶用量较小,酶解作用有限所致。采用 3 种预处理方法制备得到的酶解产物的氨基氮生成量最高仅 71.37 mg/g,最低 14.09 mg/g,表明试验范围内各组酶解产物中的游离氨基酸含量低,酶解产物的主要成分为多肽,且分子质量相对较大。

2.3 不同预处理方法对鱼鳞酶解产物分子质量及其分布的影响

通过标准曲线方程($y = -0.2357x + 6.2645$, $R^2 = 0.9999$),由样品高效液相色谱图中的保留时间和峰面积,计算样品的分子质量及其分布,以及各不同分子质量胶原蛋白肽的相对百分含量。不同预处理方法制备得到的鱼鳞酶解产物的分子质量分布及

相对百分含量如表 1 所示。由表 1 可知,试验范围制得的鱼鳞酶解产物的高效液相色谱图中均出现了 3 大吸收峰,分别在 10 000~14 000、8 000~9 000、4 000 ku 附近,表明其主要含 3 种不同分子质量组分的多肽。预处理方法对产物分子质量分布及相对百分含量的影响不明显,但总的来看,单独热处理的影响强于热处理-粉碎处理。蛋白酶种类对产物分子质量分布及百分含量的影响明显,对于同一种预处理方法,碱性蛋白酶的酶解能力较强,经其酶解得到的产物的分子质量相对较小。在热处理-粉碎处理的前提下,碱性蛋白酶酶解鱼鳞得到的分子质量在 10 000 ku 以下的多肽占 60.87%,而中性蛋白酶和复合蛋白酶酶解产物中 10 000 ku 以下的多肽仅占 36.28%和 46.38%。主要原因在于酶作用的专一性,使其只从特定位置切断肽链,进而产生不同分子质量的肽段^[17]。此外,酶解工艺的不同也可获得不同分子质量分布的胶原蛋白肽^[18]。

表 1 不同预处理方法对鱼鳞酶解产物分子质量分布及含量的影响

Table 1 Effects of different pretreatments of fish scale on the molecular weight distribution of enzymatic hydrolysate

预处理方法 Different pretreatments	复合蛋白酶 Protamex		碱性蛋白酶 Alcalase 2.4L FG		中性蛋白酶 Neutrase 1.5 MG	
	分子质量/ku Molecular weight ranges	含量/% Content	分子质量/ku Molecular weight ranges	含量/% Content	分子质量/ku Molecular weight ranges	含量/% Content
未预处理 Non pretreatment	9 952~39 708	48.53	9 952~38 052	47.76	9 952~45 925	58.46
	5 946~9 952	29.70	5 946~9 952	30.89	5 946~9 952	23.78
	138~5 946	21.77	138~5 946	21.35	138~5 946	18.26
单独热处理 Heat treatment	9 952~36 405	53.40	9 952~31 387	37.63	9 952~43 310	59.67
	5 946~9 952	28.03	5 946~9 952	32.28	5 946~9 952	20.42
	138~5 946	18.57	138~5 946	30.10	138~5 946	19.91
热处理-粉碎处理 Heat and smashing treatment	9 952~31 501	53.62	9 952~30 618	39.13	9 952~38 855	63.72
	5 946~9 952	28.21	5 946~9 952	33.14	5 946~9 952	20.97
	138~5 946	18.18	138~5 946	27.73	138~5 946	15.32

2.4 不同预处理方法对鱼鳞酶解产物体外抗氧化活性的影响

采用不同预处理方法制备得到的鱼鳞酶解产物对 DPPH· 的清除活性如图 3 所示。由图 3 可知,鱼鳞酶解产物清除 DPPH· 的能力随胶原蛋白肽质量浓度增大而增强,且在 20 mg/mL 时基本达到上限。鱼鳞胶原蛋白肽在 20 mg/mL 时对 DPPH· 的平均清除率高达 74%,文献^[19]报道的牛骨胶原蛋白肽在 80 mg/mL 对 DPPH· 的清除率仅为 27%,表明鱼鳞胶原蛋白肽清除 DPPH· 的能力较强。对于同一种蛋白酶,预处理方法对胶原蛋白肽的 DPPH· 清除率影响显著,当胶原蛋白肽的质量浓度达到 20 mg/mL 及以上时,单独热处理对胶原

蛋白肽的 DPPH· 清除率影响明显,热处理-粉碎处理影响较小。一定程度上,温度会影响胶原蛋白肽的活性,较高温度会导致蛋白质变性或者起抗氧化作用物质的结构发生改变^[2,6,14]。由图 3D 可知,经过热处理得到的产物的 IC₅₀ 高于未预处理的鱼鳞胶原蛋白肽,一定程度上说明热处理不利于产物抗氧化活性的保留,然而整体上,经过热处理得到的鱼鳞胶原蛋白肽的抗氧化活性已达到较高水平。对于同一种预处理方法,蛋白酶种类对胶原蛋白肽的 DPPH· 清除率的影响也十分显著,采用复合蛋白酶酶解所得产物的 DPPH· 清除率最佳,碱性蛋白酶和中性蛋白酶稍差,可能与酶的作用位点有关^[20]。

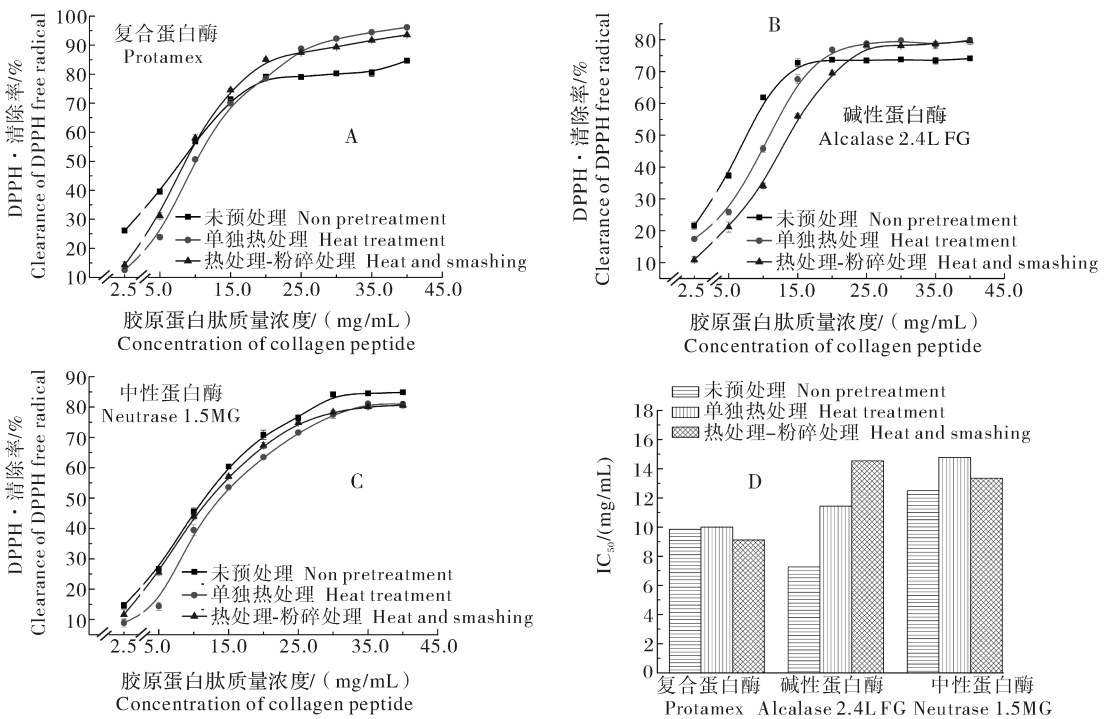


图 3 不同预处理方法对鱼鳞胶原蛋白肽清除 DPPH· 能力的影响

Fig.3 Effects of different pretreatments of fish scale on the scavenge of DPPH· of enzymatic hydrolysate

3 讨论

影响鱼鳞酶解效果和产物特性的因素不仅与酶解工艺有关^[16,21],还与酶解前原料的状态有着直接联系。本研究在采用 3 种常用蛋白酶酶解鱼鳞制备胶原蛋白肽的基础上,对影响鱼鳞酶解效果的 3 种预处理方法进行了重点研究。结果发现,热处理结合粉碎处理过的鱼鳞,即使在酶用量极低的情况下,平均氮收率也可达到 95% 及以上,而当前国内的一般水平为 50%~90%,且酶用量为本研究的 5~15 倍。热处理能够疏松鱼鳞的表层结构,软化鱼鳞,进而促进鱼鳞中胶原蛋白的释放,使鱼鳞中的胶原蛋白在酶解作用下以多肽或氨基酸形式溶于酶解液中^[8]。粉碎处理可增大鱼鳞的表面积,扩大鱼鳞与酶的接触位点,继而提高酶解效果。3 种预处理方法中,热处理结合粉碎处理得到的酶解产物的氮收率最高,而其氨基氮生成量最高仅 71.37 mg/g,制备得到的胶原蛋白肽在质量浓度为 20 mg/mL 时对 DPPH· 的平均清除率高达 74%,表明热处理结合粉碎处理不仅可提高酶法制备鱼鳞胶原蛋白肽的酶解效果,制备得到的鱼鳞胶原蛋白肽同时具有较强的清除 DPPH· 的能力。此外,热处理结合粉碎处理得到的胶原蛋白肽的分子质量及其分布与单独

热处理和未预处理无显著差异,均可得到 10 000~14 000、8 000~9 000 及 4 000 ku 左右的 3 大不同分子质量范围的多肽。上述结果表明,在试验范围内,理想的鱼鳞预处理方法为热处理结合粉碎处理。3 种蛋白酶中,碱性蛋白酶酶解鱼鳞制得的酶解产物的氮收率、水解度及氨基氮生成量最高,而其平均分子质量最小,可能与蛋白酶的酶解能力和作用位点有关。

目前,对鱼鳞胶原蛋白肽的生物活性研究主要集中在其抗氧化活性方面,然而当前的报道多集中在对其羟基自由基清除率的研究。本研究通过测定待测物对 DPPH· 的清除能力来考察鱼鳞胶原蛋白肽的抗氧化活性^[15,21-23]。天然抗氧化肽的作用机理一般包括:自身的结构、直接与活泼自由基反应、具有供氢/供电子能力、作用于自由基有关的酶、与诱导氧化的过渡金属整合及与其他抗氧化成分的协同作用等^[24]。DPPH· 是一种稳定的有机自由基,若待测物表现出一定的清除 DPPH· 的能力,则说明待测物具有降低自由基的能力^[25]。本研究的结果表明,试验范围内得到的胶原蛋白肽均具有较好的 DPPH· 清除能力,说明其抗氧化机理是自由基捕获剂或氢供体。同时,整体上经过热处理得到的产物的 DPPH· 清除率低于未预处理的鱼鳞胶原蛋白

肽,一定程度上表明热处理不利于产物抗氧化活性的保留,该结果与已有报道的文献一致^[2,6,14]。然而,整体上热处理得到的鱼鳞胶原蛋白肽的抗氧化活性已达到较高水平。此外,有文献报道,多肽的抗氧化活性主要与其氨基酸组成、氨基酸序列、结构、分子质量大小和疏水性等相关。申锋^[5]、鈕晓艳等^[26]对草鱼鳞胶原蛋白肽的氨基酸组成进行了研究,结果发现,草鱼鳞胶原蛋白肽中,甘氨酸最为丰富,羟脯氨酸、谷氨酸、丙氨酸、精氨酸、天冬氨酸和脯氨酸的含量也相对较高,而已有研究表明,谷氨酸、甘氨酸、天冬氨酸及赖氨酸等均具有较高的自由基清除能力。然而,单个氨基酸与多肽也存在较大区别,单个氨基酸的抗氧化活性并不能够代表多肽在抗氧化活性方面的表现。陈日春^[14]对鱼鳞胶原蛋白肽的抗氧化作用进行了系统研究,通过对鱼鳞胶原蛋白肽进行抗氧化肽的分离纯化和鉴定,收集到一个对自由基清除活性最强的组分,经鉴定为纯度较高的单一组分,其由组氨酸、脯氨酸、谷氨酸、酪氨酸组成,氨基酸序列为“组氨酸-脯氨酸-谷氨酸-酪氨酸”,初步分析其抗氧化活性是由酪氨酸提供质子能力、组氨酸螯合金属离子能力、强疏水性能以及其自身结构的稳定性决定。对此,有必要对草鱼鳞胶原蛋白肽的具体氨基酸序列进行研究。按分子质量对样品进行分级也可进一步提高其对 DPPH· 的清除能力^[14]。复合蛋白酶酶解鱼鳞得到的胶原蛋白肽的 DPPH· 清除率最大,可能与酶的特异性和作用位点有关^[20]。蛋白酶能够决定酶解得到的多肽的分子质量大小及氨基酸组成、序列。由于复合蛋白酶结合了巯基蛋白酶和金属蛋白酶的活性,鱼鳞经其酶解可得到更多具有抗氧化活性的多肽片段,进而其产物在抗氧化活性方面的表现较好。至于所制得的胶原蛋白肽的抗氧化机理是否还与其他因素相关,有待深入研究。此外,鱼鳞胶原蛋白肽可能具有的其他方面的生物活性也有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] YU X Y, TANG C E, XIONG S B, et al. Modification of collagen for biomedical applications: a review of physical and chemical methods[J]. Current organic chemistry, 2016, 20: 1-16.
- [2] HU Y, LIU L, DAN W H, et al. Evaluation of 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate based ionic liquid systems as a suitable solvent for collagen[J]. Journal of applied polymer science, 2013, 130(4): 2245-2256.
- [3] HU Y, LIU L, GU Z P, et al. Modification of collagen with a natural derived cross-linker, alginate dialdehyde[J]. Carbohydrate polymers, 2014, 102(1): 324-332.
- [4] HEMANTH-KUMAR M, SPANDANA V, POONAM T. Extraction and determination of collagen peptide and its clinical importance from tilapia fish scales(*Oreochromis niloticus*)[J]. International research journal of pharmacy, 2011, 2(10): 97-99.
- [5] 申锋. 草鱼鱼鳞胶原肽的制备及其特性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [6] 杨立. 鱼鳞胶原肽与活性钙的回收、活性评价及相关产品开发[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [7] PEI X R, YANG R Y, ZHANG Z F, et al. Effects of marine collagen peptide on delaying the skin aging[J]. Chinese journal of preventive medicine, 2008, 42(4): 235-238.
- [8] 李敏. 青鱼鱼鳞胶原蛋白和羟基磷灰石综合提取研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008.
- [9] CHO H N, CHO D W, HURK B S, et al. Characterization of off-odor compounds of collagen peptides from tilapia scale using GC-MS-olfactometry[J]. Food science and biotechnology, 2015, 24(2): 403-410.
- [10] 胡杨, 蒋远干, 但卫华, 等. 胃蛋白酶提取猪皮胶原的研究[J]. 中国皮革, 2010, 39(23): 11-16.
- [11] HU Y, LIU L, DAN W H. Protective effect of calcium hydroxide in hair-saving unhairing process[J]. Journal of the society of leather technologists and chemists, 2013, 97(5): 200-206.
- [12] 黄晓钰, 刘邻涓. 食品化学综合实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [13] 胡杨, 刘兰, 但卫华, 等. 酸-酶结合法用于制革含铬废弃物脱铬的研究[J]. 皮革科学与工程, 2010, 20(6): 47-51.
- [14] 陈日春. 鲢鱼鱼鳞胶原蛋白肽的制备及其抗氧化活性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [15] 胡娟, 李琳, 胡松青. 鱼鳞明胶酶解制备超氧阴离子活性肽的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(4): 293-354.
- [16] 黄焕, 王欣, 刘宝林, 等. 木瓜蛋白酶水解鱼鳞胶原蛋白的工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(24): 23-25.
- [17] 东忠芳, 闫鸣艳. 安康鱼鱼皮胶原蛋白多肽酶法制备工艺研究[J]. 食品工业, 2013, 34(3): 87-90.
- [18] 刘艳, 刘章武, 唐婧苗, 等. 酶法提取 4 种淡水鱼鱼鳞胶原蛋白的研究[J]. 水产科学, 2010, 29(4): 221-224.
- [19] 吴晖, 王晨, 李晓风, 等. 牛骨胶原蛋白肽抗氧化性的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(4): 156-161.
- [20] 贾韶千, 李艳霞. 黄鳍鱼骨多肽制备及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 133-138.
- [21] 杜云建, 赵玉巧, 李念念. 酶解法制备草鱼鱼鳞多肽及其清除羟自由基的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 168-172.
- [22] ZHUANG Y L, SUN L P, ZHAO X, et al. Antioxidant and melanogenesis-inhibitory activities of collagen peptide from jellyfish(*Rhopilema esculentum*)[J]. Journal of the science of food and agriculture, 2009, 89(10): 1722-1727.
- [23] LI K, YANG X H, HU L, et al. Study on anti-oxidant of poly-

- peptide from enzymatic hydrolysis bone collagen[J]. Natural product research and development, 2010, 22(2): 311.
- [24] 曾名勇. 罗非鱼皮胶原肽的制备及其抗氧化活性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
- [25] 安然, 罗永康, 尤娟, 等. 草鱼鱼鳞蛋白酶解产物功能特性及其抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(8): 76-80.
- [26] 鉏晓艳, 熊光权, 李新, 等. 草鱼鱼鳞胶原蛋白肽的制备及分析[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(7): 36-39.

Effects of different pretreatment methods on collagen peptide from crass carp scale

HU Yang^{1,2} YANG Lili¹ XIONG Shanbai^{1,2} LIU Youming¹ YOU Juan^{1,2} YIN Tao¹

1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/
National R & D Branch Center for Conventional Freshwater Fish Processing, Wuhan 430070, China;
2. Collaborative Innovation Center for Efficient and Health Production of Fisheries in
Hunan Province, Changde 415000, China

Abstract Under different pretreatment methods of heat, smashing and their combination, the collagen peptide of crass carp scale was obtained after the processes of enzymatic hydrolysis, centrifugalization and freeze drying. The yield and properties of specimens were compared and analyzed. Results showed that the average values of the nitrogen recovery, degree of hydrolysis, amino-N production and anti-oxidant activity *in vitro* were significantly different between different pretreatment groups ($P < 0.05$). The relative molecular weight and distribution did not vary significantly with pretreatment methods. Considering the yield and properties of end-products, the ideal pretreatment method is heat and smashing for collagen peptide extracted from crass carp scale.

Keywords *Ctenopharyngodon idellus*; fish scale; collagen peptide; heat treatment; smashing treatment; protease; enzymatic hydrolysis

(责任编辑: 陆文昌)