

水解进程对酶法制备的鱼鳞胶原蛋白肽性能的影响

胡杨^{1,2,3} 杨莉莉¹ 熊善柏^{1,2,3} 刘友明^{1,3} 尤娟^{1,3} 尹涛^{1,3}

1. 华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070;

2. 水产高效健康生产湖南省协同创新中心, 常德 415000; 3. 国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心, 武汉 430070

摘要 以草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)鳞为原料, 研究在3种常用工业蛋白酶作用下, 水解进程对酶法制备的鱼鳞胶原蛋白肽性能的影响。结果发现: 对于碱性蛋白酶, 在试验条件下水解4 h后, 水解度为9.5%, 此时胶原蛋白肽的综合性能最为理想, 对DPPH·的清除率为82.14%, 乳化活性指数为70.12 m²/g。对于复合蛋白酶, 在试验条件下水解4 h后, 水解度为8.7%, 胶原蛋白肽对DPPH·的清除率为86.32%, 乳化活性指数为32.93 m²/g。对于中性蛋白酶, 在试验条件下水解4 h后, 水解度为7.2%, 胶原蛋白肽对DPPH·的清除率为70.15%, 乳化活性指数为36.88 m²/g。以上结果表明, 不同水解程度的胶原蛋白肽性能存在差异, 使用不同蛋白酶进行水解, 在水解程度相同时, 所得胶原蛋白肽的性能也不相同。

关键词 鱼鳞; 胶原蛋白肽; 蛋白酶; 水解; 水解度; 抗氧化活性; 乳化性能

中图分类号 TS 254.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)01-0103-07

自肽被发现至今, 已有数十年历史。肽与蛋白质均由氨基酸通过肽键连接构成, 区别在于聚合度的大小。在结构上, 肽处于氨基酸和蛋白质的中间位置, 但它具有氨基酸与蛋白质不可替代的功能, 如良好的吸收特性等。目前, 肽类物质的生产方法主要有3种—基因工程方法、化学合成方法和酶解法。由于用基因工程方法和化学合成方法需要昂贵的仪器设备及技术, 前期投资大, 成本高, 且其安全性还需进一步检测, 应用受到很大的限制, 而用酶解法制备肽类物质则因原料来源广泛、制备工艺简单、生产成本低、安全性高等优点而得到了广泛研究和应用^[1-2]。

胶原是具有独特三股螺旋结构的蛋白质, 主要存在于动物的骨骼、肌腱和皮肤中^[3-6]。与其他蛋白质相比, 胶原中甘氨酸含量高, 半胱氨酸和酪氨酸缺乏, 此外, 胶原中存在羟赖氨酸和羟脯氨酸, 且脯氨酸和羟脯氨酸含量是各种蛋白质中最高的, 这些特点导致胶原具有不同于一般蛋白质的特殊性质, 如较强的生物活性及功能特性等^[1,7]。胶原蛋白肽是胶原经蛋白酶水解后的产物, 相对分子质量较小, 主要分布在几千到五万左右^[1]。胶原蛋白肽作为胶原

来源的肽具有其他来源肽不可比拟的优异性能, 如良好的保湿性、抗氧化活性、低过敏性等, 使其具有保持皮肤水分、延缓皮肤衰老, 以及调节和治疗皮肤色素和色斑等效果, 而被广泛应用于食品、化妆品等领域^[8-9]。目前, 制备胶原蛋白肽的原料一方面来自陆生动物的猪皮、牛皮、羊皮、牛跟腱等, 另一方面主要源自水产品及其下脚料, 如鱼皮、鱼鳞、鱼骨等。但是畜禽来源的胶原存在潜在的疯牛病、口蹄疫等传染性病原风险, 同时由于风俗习惯等问题, 部分国家和地区对使用畜禽来源的胶原蛋白肽有所顾虑^[10]。因此, 利用水产品尤其是水产加工副产品制备胶原蛋白肽越来越多地受到重视^[11]。

目前, 利用水产品及其下脚料制备胶原蛋白肽的报道较多。然而, 主要的研究集中在胶原蛋白肽的制备及产物特性方面(如常规的理化性能和保湿性、抗氧化活性等)^[11-12]。诚如周知, 就酶解法而言, 水解程度的控制至关重要, 合适的水解程度不破坏产物的组成和结构, 可保留甚至增加产物的特性, 过度水解可能会使其性能, 尤其是功能特性和生物活性降低甚至完全丧失。胶原蛋白肽性能的不确定性也正是由此原因造成, 两者的综合表现就是通过控

收稿日期: 2016-06-18

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); 华中农业大学自主科技创新基金项目(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: 水产品加工与贮藏. E-mail: huyang@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 熊善柏, 教授. 研究方向: 水产品加工与贮藏. E-mail: xiongshanbai@mail.hzau.edu.cn

制合适的水解程度或水解参数以获得具有既定组成结构和性能的目标产物。因此,有必要对水解程度和胶原蛋白肽性能两者的关联效应进行研究。在此基础上,本文以草鱼鳞为原料制备胶原蛋白肽,评价胶原蛋白肽性能,尤其是功能特性及生物活性与水解程度的关系,为基于酶法水解的鱼鳞胶原蛋白肽的工业化进程提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1)材料。草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)鳞,来自华中农业大学菜市场,鱼鳞参考文献[12]方法处理后,晾干、保存备用;碱性蛋白酶、中性蛋白酶、复合蛋白酶均购自诺维信天津公司;其他化学试剂均为分析纯。

2)仪器与设备。低速台式离心机(TDL-80-2B,上海安亭);冷冻干燥机(FD-1A-50,北京博医康);凯氏定氮仪(KDN-08E,上海精隆);高效液相色谱系统,美国瓦里安;色谱柱(PL Aquagel-OH),美国安捷伦。

1.2 鱼鳞胶原蛋白肽的制备

选用 3 种常用工业蛋白酶进行水解试验,在各种蛋白酶的优选条件下,研究水解进程对鱼鳞胶原蛋白肽性能,尤其是功能特性和生物活性等的影响。具体试验过程参照文献[12]的方法,其中预处理方法选用热处理-粉碎处理,酶解时间选取 1~9 h,具体试验流程如图 1 所示。

1.3 测试方法

1)氮收率的测定。参照文献[11-13]方法,测定并计算氮收率。

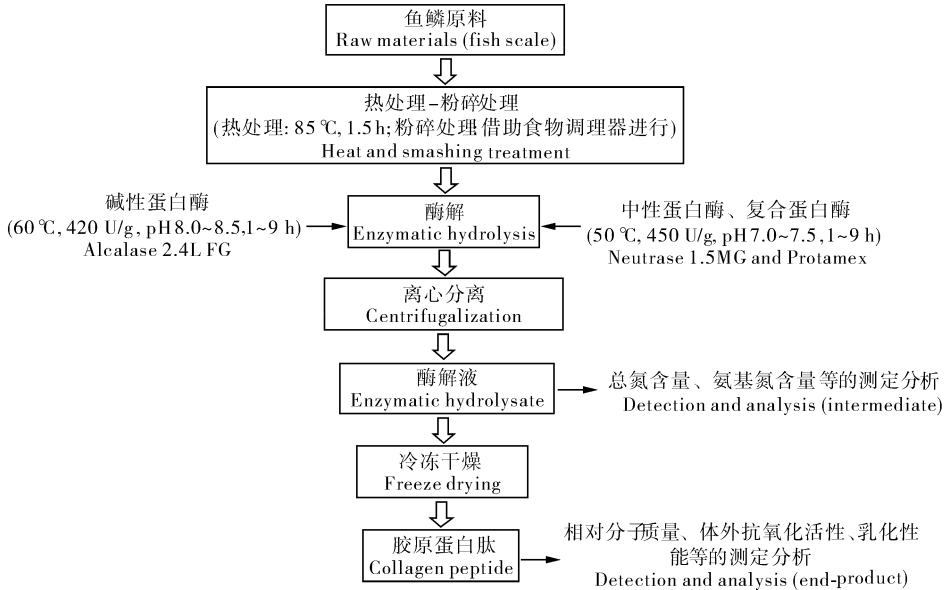


图 1 鱼鳞胶原蛋白肽的制备

Fig.1 Preparation of fish scale derived collagen peptide

2)水解度的测定。参照文献[11-12,14-16]方法,测定并计算水解度。

3)相对分子量及其分布的测定。参考 QB/T 2653—2004 并结合文献[12,14-15,17-18]方法,采用高效液相色谱系统测定并计算胶原蛋白肽的相对分子量及其分布。

4)DPPH·清除率的测定。参照文献[14,17,19-22]方法,采用分光光度法依据吸光度的变化测定样品对 DPPH·的清除能力。

5)乳化活性指数的测定。参照文献[11]方法,测定鱼鳞胶原蛋白肽的乳化活性指数。

1.4 数据处理

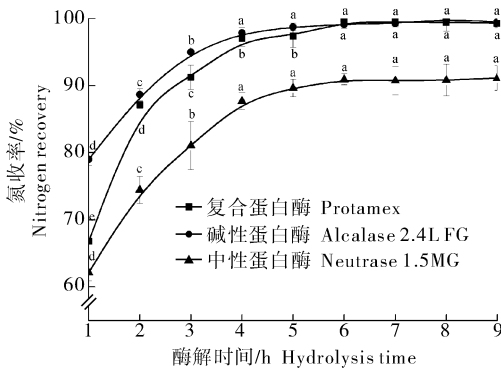
采用 SAS 软件进行数据处理,采用 Anova 过程进行数据的方差分析,采用 Duncan's 检验对数据进行显著性差异分析($P < 0.05$ 表示存在显著性差异)。

2 结果与分析

2.1 水解进程中鱼鳞酶解产物的氮收率变化

图 2 为水解进程中鱼鳞酶解产物的氮收率变化试验结果。由图 2 可知,对于 3 种蛋白酶,水解进程中鱼鳞酶解产物的氮收率变化规律相似,均随酶解

时间的延长呈先急剧升高后趋于平稳的变化趋势,且在 4 h 后趋于稳定。在水解 4 h 后,鱼鳞酶解产物的氮收率间未表现出显著性差异。以上结果表明,在试验条件下,水解 4 h 基本可完全使鱼鳞中的胶原以多肽或氨基酸形式溶于酶解液中。此外,由图 2 还可以看到,在水解 4 h 后,碱性蛋白酶水解鱼鳞所得酶解产物的氮收率高达 97.22%,复合蛋白酶为 97.00%,中性蛋白酶最低,为 87.68%。碱性蛋白酶和复合蛋白酶对鱼鳞的水解能力强于中性蛋白酶,该结果与已有文献[23-24]的报道一致,主要因为酶作用的特异性导致对同一底物呈现不同的水解能力。



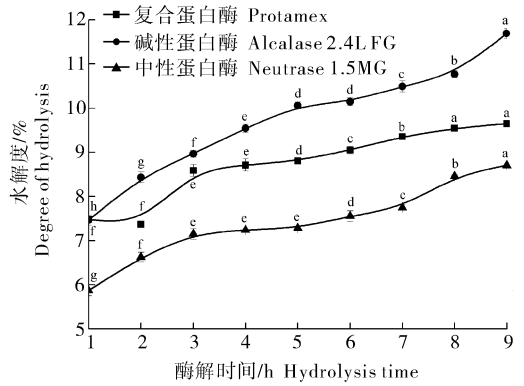
不同字母表示组内存在显著性差异($P < 0.05$)。Different letters indicate significant differences between each other within group ($P < 0.05$).

图 2 水解进程中鱼鳞酶解产物的氮收率变化

Fig.2 The influence of hydrolysis process on the nitrogen recovery of enzymatic hydrolysate

2.2 水解进程中鱼鳞酶解产物的水解度变化

图 3 为水解进程中鱼鳞酶解产物的水解度变化试验结果。对于 3 种蛋白酶,随酶解反应的进行,酶解产物的水解度变化规律相似,均随酶解反应的进行呈上升趋势。图 2 的结果已表明,水解作用 4 h 基本可完全使鱼鳞中的胶原以多肽或氨基酸形式溶解出来,继续延长酶解时间,酶解产物的水解度持续增大,说明体系中仍有有效蛋白酶残余,其可进一步将多肽水解。同时,也可以看到,在整个水解进程中,碱性蛋白酶水解鱼鳞得到的酶解产物的水解度最高,复合蛋白酶次之,中性蛋白酶最低,该现象与图 2 的结果一致,说明碱性蛋白酶的水解能力较强。在水解作用 4 h 后,碱性蛋白酶水解鱼鳞所得酶解产物的水解度为 9.5%,复合蛋白酶为 8.7%,中性蛋白酶为 7.2%。



不同字母表示组内存在显著性差异($P < 0.05$)。Different letters indicate significant differences between each other within group ($P < 0.05$).

图 3 水解进程中鱼鳞酶解产物的水解度变化

Fig.3 The influence of hydrolysis process on the degree of hydrolysis of enzymatic hydrolysate

2.3 水解进程中鱼鳞酶解产物的分子质量变化

表 1 为水解进程中鱼鳞酶解产物的分子质量变化试验结果,试验条件下得到的标准曲线方程为 $y = ax + b$,其中 $a = -0.2357$, $b = 6.2645$, $R^2 = 0.9999$ 。由表 1 可知,试验范围内制得的鱼鳞酶解产物主要成分为多肽,且主要含 3 种分子质量组分的多肽。同时,随酶解时间的延长,酶解产物的平均分子质量减小。图 2、图 3 的结果表明,试验条件下,水解作用 4 h 基本可使鱼鳞中的胶原以多肽或氨基酸形式溶于酶解液中,随酶解时间的延长,酶解产物的水解度持续增大,说明体系中仍有有效蛋白酶残余,其可进一步将分子质量较大的多肽剪切成相对分子质量较小的多肽,因而酶解产物的平均分子质量减小。

此外,可以发现,采用碱性蛋白酶水解鱼鳞得到的酶解产物的平均分子质量最小,复合蛋白酶次之,中性蛋白酶最大,这与已有文献报道^[25]以及图 2、图 3 得到的中性蛋白酶的水解能力较碱性蛋白酶和复合蛋白酶弱的结论一致,主要由酶的特异性决定。

2.4 水解进程中鱼鳞酶解产物清除 DPPH· 能力的变化

在前期试验以及不同预处理方法对酶法制备的鱼鳞胶原蛋白肽清除 DPPH· 能力的影响研究基础上^[12],确定了随胶原蛋白肽浓度的增大,其清除 DPPH· 的能力增强,且在 20 mg/mL 时基本达到上限。因此,在研究水解进程对鱼鳞酶解产物清除

表 1 水解进程中鱼鳞酶解产物的分子质量变化

Table 1 The influence of hydrolysis process on the molecular weight distribution of enzymatic hydrolysate

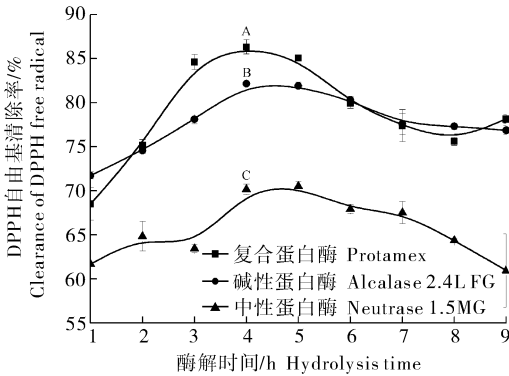
酶解时间/h Hydrolysis time	复合蛋白酶 Protamex		碱性蛋白酶 Alcalase 2.4L FG		中性蛋白酶 Neutrase 1.5MG	
	分子质量/u Molecular weight ranges	含量/% Content	分子质量/u Molecular weight ranges	含量/% Content	分子质量/u Molecular weight ranges	含量/% Content
1	138~5 947	10.28	138~5 947	20.94	138~5 947	9.94
	5 947~9 952	23.42	5 947~9 952	26.18	5 947~9 952	17.49
	9 952~42 446	66.30	9 952~47 239	52.97	9 952~42 075	72.57
2	138~5 947	21.26	138~5 947	23.29	138~5 947	13.58
	5 947~9 952	23.36	5 947~9 952	31.16	5 947~9 952	18.31
	9 952~39 708	55.38	9 952~34 359	45.55	9 952~39 708	68.12
3	138~5 947	22.85	138~5 947	25.09	138~5 947	21.44
	5 947~9 952	24.58	5 947~9 952	32.92	5 947~9 952	18.90
	9 952~38 576	52.51	9 952~31 501	41.99	9 952~38 576	59.67
4	138~5 947	23.03	138~5 947	30.82	138~5 947	18.76
	5 947~9 952	25.88	5 947~9 952	32.44	5 947~9 952	19.81
	9 952~37 476	51.09	9 952~31 387	36.75	9 952~37 340	61.43
5	138~5 947	16.57	138~5 947	21.91	138~5 947	19.84
	5 947~9 952	30.62	5 947~9 952	34.17	5 947~9 952	19.98
	9 952~36 340	52.81	9 952~27 256	43.92	9 952~36 937	60.78
6	138~5 947	24.59	138~5 947	27.57	138~5 947	13.77
	5 947~9 952	28.14	5 947~9 952	31.75	5 947~9 952	21.98
	9 952~36 405	47.27	9 952~26 479	40.68	9 952~29 091	64.25
7	138~5 947	25.10	138~5 947	20.39	138~5 947	13.70
	5 947~9 952	27.66	5 947~9 952	37.65	5 947~9 952	22.37
	9 952~36 580	47.24	9 952~29 421	41.95	9 952~28 985	63.93
8	138~5 947	19.96	138~5 947	24.51	138~5 947	13.17
	5 947~9 952	31.35	5 947~9 952	34.14	5 947~9 952	22.66
	9 952~31 501	48.69	9 952~29 729	41.35	9 952~29 729	63.96
9	138~5 947	32.56	138~5 947	24.52	138~5 947	13.66
	5 947~9 952	26.21	5 947~9 952	34.30	5 947~9 952	22.78
	9 952~31 387	41.23	9 952~27 256	41.18	9 952~29 729	63.25

DPPH· 能力的影响时,胶原蛋白肽的质量浓度统一固定为 20 mg/mL。

图 4 为水解进程中鱼鳞酶解产物清除 DPPH· 能力的试验结果。对于 3 种蛋白酶,水解进程对酶解产物清除 DPPH· 能力的影响规律一致。然而,采用不同蛋白酶进行水解所得产物对 DPPH· 的清除活性存在较大差异。随酶解时间的延长,酶解产物对 DPPH· 的清除能力呈先升后降的变化趋势,且在水解作用 4 h 时达到上限,该结果与已有文献^[14,24,26]的报道一致。水解作用 4 h,复合蛋白酶水解鱼鳞得到的酶解产物对 DPPH· 的清除率为 86.32%,碱性蛋白酶为 82.14%,而中性蛋白酶仅达到了 70.15%,且三者间表现出显著性差异。复合蛋白酶水解鱼鳞得到的酶解产物对 DPPH· 的清除率高于碱性蛋白酶和中性蛋白酶,该结果与已有文

献^[14,24]的报道一致。随水解反应的持续进行,酶解产物对 DPPH· 的清除能力表现出先增强后减弱的变化趋势,说明酶解产物对 DPPH· 的清除活性与水解进程存在一定的依赖关系。由前期的试验结果我们发现,水解作用 4 h 基本可使鱼鳞中的胶原以多肽或氨基酸形式溶解出来,继续延长酶解时间,体系中的蛋白酶可进一步将溶解出的多肽水解为分子质量更小的多肽或氨基酸。适度的水解作用,使鱼鳞胶原分解并产生大量具有抗氧化活性的多肽产物,然而,随酶解时间的延长,这些具有抗氧化活性的多肽被进一步水解为抗氧化能力较弱或无抗氧化活性的氨基酸,因而对 DPPH· 的清除能力减弱甚至完全丧失。结合已经得到的试验结果,可以得出如下结论,胶原蛋白肽清除 DPPH· 的能力可以通过控制水解程度加以调控,对于 3 种蛋白酶,水解作

用 4 h 均最为理想,基本兼顾了水解效果与产物特性的保留。



不同字母表示组间存在显著性差异($P < 0.05$)。Different letters indicate significant differences among three groups ($P < 0.05$).

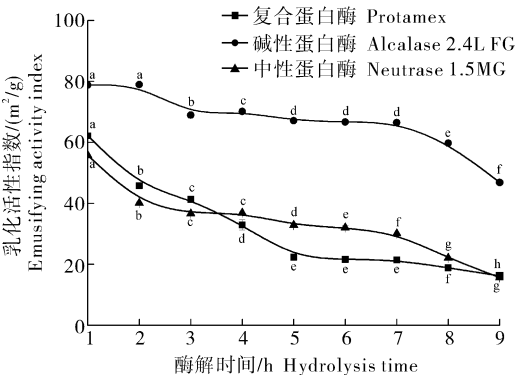
图 4 水解进程中鱼鳞酶解产物清除 DPPH· 能力的变化

Fig.4 The influence of hydrolysis process on the clearance of DPPH free radical of enzymatic hydrolysate

2.5 水解进程中鱼鳞酶解产物乳化活性指数的变化

乳化性是蛋白质的一项重要功能性质,是指蛋白质能将水和油结合在一起,形成乳状液的能力^[27]。乳化能力可以用乳化活性指数和乳化稳定指数反映,乳化活性指数是指通过单位面积的界面稳定每单位质量的蛋白质来衡量蛋白质有助于乳液形成和稳定化的能力^[11]。

图 5 为水解进程中鱼鳞酶解产物的乳化活性指数试验结果。对于 3 种蛋白酶,水解进程中鱼鳞酶解产物的乳化活性指数变化规律相似,均随酶解时间的延长呈下降趋势。胶原蛋白肽的乳化性质可通



不同字母表示组内存在显著性差异($P < 0.05$)。Different letters indicate significant differences between each other within group ($P < 0.05$).

图 5 水解进程中鱼鳞酶解产物乳化活性指数的变化

Fig.5 The influence of hydrolysis process on the EAI of enzymatic hydrolysate

过控制水解程度得以改善,一定程度上,乳化能力与蛋白质的分子质量呈数量关系,随着酶解反应的进行,产物水解度增大,胶原蛋白肽的分子质量减小,而分子质量的减小使胶原蛋白肽很难像完整蛋白质分子一样在界面展开和定向,胶原蛋白肽减少界面张力的能力减弱,乳化能力降低^[11]。前面的试验结果表明,水解进程中,酶解产物的水解度随酶解时间的延长持续增大,分子质量减小,因此酶解产物的乳化活性指数呈持续下降的变化趋势。此外,在整个酶解反应过程中,复合蛋白酶和中性蛋白酶水解鱼鳞得到的酶解产物的乳化活性指数较小,均小于碱性蛋白酶,可能与酶的特异性有关。

3 讨论

已有研究表明,多肽的抗氧化活性主要与其氨基酸组成、氨基酸序列、结构、分子质量和疏水性等相关^[14,24],而以上因素多受水解程度影响。本文通过分析胶原蛋白肽清除 DPPH· 的能力研究胶原蛋白肽抗氧化活性与水解程度两者间的关系。结果发现,酶解产物对 DPPH· 的清除活性与水解进程存在一定的依赖关系,水解程度过高或过低均会影响产物对 DPPH· 的清除能力。适度的水解作用,使鱼鳞胶原分解并产生大量具有抗氧化活性的多肽产物,然而,随着酶解时间的延长,这些具有抗氧化活性的多肽被进一步水解为抗氧化能力较弱或无抗氧化作用的氨基酸,因而其对 DPPH· 的清除能力减弱甚至完全丧失。采用复合蛋白酶水解鱼鳞得到的胶原蛋白肽对 DPPH· 的清除能力最强,该结果与已有文献^[14,24] 的报道一致,主要与酶的特异性有关。此外,研究结果表明,试验范围内制得的胶原蛋白肽均具有较强的清除 DPPH· 的能力,说明本研究得到的鱼鳞胶原蛋白肽具有降低自由基的能力,其抗氧化机制是自由基捕获剂或氢供体。然而,天然抗氧化物质的抗氧化机制十分复杂,单纯通过测定待测物对 DPPH· 的清除能力不足以反映其在抗氧化活性方面的综合表现,后续工作有必要对鱼鳞胶原蛋白肽的体外抗氧化活性及其作用机制进行进一步的系统研究。

待测物的乳化能力取决于其亲水和亲油之间的平衡,除与待测物所处环境条件(浓度、pH、离子强度、温度等)有关外,主要受待测物自身特性的影响,如氨基酸组成、分子质量以及表面疏水性等,而以上

因素均受水解程度影响。据报道,胶原蛋白肽的乳化能力主要受表面疏水性影响^[28]。除此之外,一定程度上,乳化能力也与其分子质量呈数量关系^[29]。研究表明,随酶解时间的延长,鱼鳞胶原蛋白肽的乳化能力下降,表明胶原蛋白肽的乳化性能与水解程度存在一定的内在联系。随着水解反应的进行,产物水解度增大,胶原蛋白肽的分子质量减小,使胶原蛋白肽很难像完整蛋白质分子一样在界面展开和定向,胶原蛋白肽减小界面张力的能力减弱,乳化能力下降^[11]。

目前,胶原蛋白肽主要采用水解动物胶原的方法生产,用这种方法生产需要考虑得到的产物是混合型的胶原蛋白肽,产物具有一定的不确定性,随着研究方法和手段的不断改进,特别是蛋白质工程和酶工程的进步,胶原蛋白肽的研究和工业化必将持续向前推进。

参 考 文 献

- [1] 李勇,蔡木易.肽营养学[M].北京:北京大学医学出版社,2007.
- [2] HAN N C, DONG W C, 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.
- [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] 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.
- [5] PARENTEAUBAREIL R, GAUVIN R, BERTHOD F. Collagen based biomaterials for tissue engineering application [J]. Materials, 2010, 3(3): 1863-1887.
- [6] 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, 2015, 20(999): 1.
- [7] ZHU S C, GU Z P, XIONG S B, et al. Fabrication of a novel bio-inspired collagen polydopamine hydrogel and insights into the formation mechanism for biomedical applications [J]. RSC advances, 2016, 6(70): 66180-66190.
- [8] 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.
- [9] KUMAR M H, 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 胡杨,杨莉莉,熊善柏,等.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[J].华中农业大学学报,2016,35(5):105-111.
- [13] 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.
- [14] 房望,靳挺,武玉学.带鱼蛋白酶解条件优化及酶解物抗氧化性能[J].食品科学,2013,34(9):234-239.
- [15] 宋茹,冯婷立,谢超.海产小杂鱼抗氧化肽制备工艺[J].食品科学,2011,32(12):29-33.
- [16] 胡杨,王希博,熊善柏,等.一种以鱼鳞为原料的多产物联产工艺的建立与优化[J].食品工业科技, <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20160909.0849.022.html>.
- [17] 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.
- [18] JANG B S, LEE M J, JEONG N H, et al. Physicochemical characteristics of collagen peptide from flatfish skin [J]. Applied chemistry for engineering, 2013, 24(1): 18-23.
- [19] JAO C L, KO W C. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice [J]. Fisheries science, 2002, 68(2): 430-435.
- [20] 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.
- [21] LI K, YANG X H, HU L, et al. Study on anti-oxidant of polypeptide from enzymatic hydrolysis bone collagen [J]. Natural product research and development, 2010, 22(2): 311-314.
- [22] XIE Z J, HUANG J R, XU X M, et al. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate [J]. Food chemistry, 2008, 111(2): 370-376.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 李向红,陈志军,刘永乐,等.鲢鱼酶解产物分子质量组成与抗氧化性[J].食品科学,2013,34(17):28-32.
- [26] 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.
- [27] 刘淇,李慧,赵玲,等.鲑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):135-140.
- [28] MINONES-CONDE J, MAR-YUST M D, PEDROCHE J, et al. Effect of enzymatic treatment of extracted sunflower proteins

on solubility, amino acid composition, and surface activity[J]. 8045.

Journal of agricultural and food chemistry, 2005, 53(20):8038- [29] 蒋挺大. 胶原与胶原蛋白[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.

Hydrolysis process of fish scale and its effect on properties of collagen peptide

HU Yang^{1,2,3} YANG Lili¹ XIONG Shanbai^{1,2,3}

LIU Youming^{1,3} YOU Juan^{1,3} YIN Tao^{1,3}

1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University,
Wuhan 430070, China;

2. Collaborative Innovation Center for Efficient and Health Production
of Fisheries in Hunan Province, Changde 415000, China;

3. National R&D Branch Center for Conventional Freshwater Fish Processing,
Wuhan 430070, China

Abstract Three kinds of industrial proteases were applied to investigate the effect of hydrolysis process on the functional properties of crass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) scale derived collagen peptide. The results revealed that collagen peptide with different DH and the same DH by different proteases showed different properties. For alcalase 2.4L FG group, after 4 h of hydrolysis, the clearance of DPPH free radical, emulsifying activity index (EAI) and DH were 82.14%, 70.12 m²/g and 9.5%, respectively. For protamex group and neutrase 1.5 MG group, after 4 h of hydrolysis, the DH of collagen peptide were 8.7% and 7.2%, the clearance of DPPH free radical were 86.32% and 70.15%, and the EAI were 32.93 m²/g and 36.88 m²/g, respectively.

Keywords fish scale; collagen peptide; protease; hydrolysis; degree of hydrolysis; antioxidant activity; emulsifying property

(责任编辑: 边书京)