

鲟鱼软骨中 II 型胶原蛋白的提取及其结构鉴定

胡 艺¹, 郑平安^{2,3*}

(1. 浙江恒和食品有限公司, 舟山 316000; 2. 海力生集团有限公司, 舟山 316000;
3. 浙江海力生生物科技股份有限公司, 舟山 316000)

摘要: **目的** 提取鲟鱼软骨中 II 型胶原蛋白, 并鉴定其结构。**方法** 选取鲟鱼软骨为提取对象, 采用碱洗、酸泡法去除非胶原成分、矿物质、多糖等物质, 再用胃蛋白酶酶解法、氯化钠盐析法、去离子水透析法、冷冻干燥法等提取纯化 II 型胶原蛋白; 采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、氨基酸分析法、紫外吸收光谱法、傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和圆二色谱法对提取的 II 型胶原蛋白进行鉴定。**结果** SDS-PAGE 电泳结果显示所得提取物至少由 2 条链组成(α 和 β); 氨基酸组成分析结果显示, 甘氨酸、丙氨酸和脯氨酸大量存在, 而酪氨酸、半胱氨酸和组氨酸的含量较低; 紫外吸收光谱显示鲟鱼软骨提取物最大吸收峰与蓝鲨软骨和鱿鱼软骨 II 型胶原蛋白最大吸收峰相近, 此吸收峰是胶原三螺旋结构的典型紫外吸收图谱特点; 红外光谱法和圆二色谱法测定结果表明, 所得提取物具有良好的三螺旋结构, 具备典型 II 型胶原蛋白吸收特征。**结论** 从鲟鱼软骨中提取的胶原蛋白为 II 型胶原蛋白, 且纯度较高。

关键词: 鲟鱼软骨; II 型胶原蛋白; 提取; 结构鉴定

Extraction and structural identification of collagen type II from sturgeon cartilage

HU Yi¹, ZHENG Ping-An^{2,3*}

(1. Zhejiang Hengho Foods Co., Ltd., Zhoushan 316000, China; 2. Hailisheng Group Co., Ltd., Zhoushan 316000, China;
3. Zhejiang Hailisheng Biotechnology Co., Ltd., Zhoushan 316000, China)

ABSTRACT: Objective To extract collagen type II from sturgeon cartilage and identify its structure. **Methods** The sturgeon cartilage was selected as raw materials, and the non collagen components, mineral and polysaccharides were removed by alkali washing and acid pickling. Collagen type II was extracted and purified by pepsin extraction, salting of sodium chloride, dialyzing of ultrapure water and cool-dry. The identification was done by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), the constitution of amino acid, ultraviolet absorption spectrometry, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and circular dichroism. **Results** SDS-PAGE tests showed that the product was mainly composed of 2 chains (α and β); The content of Gly, Ala, and Pro was highest by amino acid analysis, but the content of Tyr, Cys and His was lower. The ultraviolet absorption spectrum showed that the maximum absorption peak of sturgeon cartilage was similar to the blue shark cartilage and squid cartilage, which was a typical characteristic of collagen type II triple helix structure. FTIR and circular dichroism showed that the extractive had a good triple helical structure and the absorption peak was a typical absorption characteristic of

*通信作者: 郑平安, 硕士, 工程师, 主要研究方向为海洋生物资源高值化利用。E-mail: zhengpingan@hailisheng.com

*Corresponding author: ZHENG Ping-An, Master, Engineer, Hailisheng Group Co., Ltd, No.62, Xingangshiyi Road, Dinghai District, Zhoushan 316000, China. E-mail: zhengpingan@hailisheng.com

collagen type II. **Conclusion** The extracted from sturgeon cartilage is collagen type II with high purity.

KEY WORDS: sturgeon cartilage; collagen type II; extraction; structural identification

0 引言

胶原蛋白是生物体内含量最丰富、分布最广泛的蛋白质种类之一。目前已知的胶原蛋白种类超过 28 种, 分别被命名为 I 型、II 型、III 型等^[1-2]。在胶原蛋白家族成员中, II 型胶原蛋白主要分布在软骨、玻璃体中, 早在 20 世纪 70 年代初, 国外研究者从鸡软骨组织中分离出一种新型的胶原蛋白, 称之为 II 型胶原蛋白(collagen type II, C II)^[2]。II 型胶原蛋白的主链主要为 β -折叠、无规则卷曲结构; 甘氨酸残基占氨基酸总数的 30%左右, 是羟脯氨酸含量的几倍; 不含有色氨酸, 且芳香族氨基酸含量较少; 在 220~230 nm 近紫外区出现最大吸收峰; 水解的 α_1 肽链分子质量在 110~130 kDa 之间; 变性温度均在 34 °C 以上, 比较稳定; 是典型的纤维状蛋白质^[1-3]。

鲟鱼, 又称鲟龙, 隶属于硬骨鱼纲辐鳍亚纲硬鳞总目鲟形目, 和鲨鱼一样是地球上最古老和最原始的软骨鱼种, 是淡水鱼中个体最大、寿命最长的鱼类^[4]。据统计, 我国境内分布的鲟鱼主要有 8 种, 其中中华鲟、达氏鲟以及白鲟 3 种被列为国家一级保护动物, 养殖的商品鲟鱼主要包括俄罗斯鲟、史氏鲟和匙吻鲟^[5]。鲟鱼因其丰富的营养价值和较强的保健功能, 具有极高的经济价值和科学价值。鲟鱼软骨在鲟鱼体内所占比例约占体重 5.7%, 除了部分骨化的鱼鳍和头部的一块真骨外, 其他部分的骨骼均为软骨, 素有“鲨鱼翅、鲟鱼骨, 食之明目壮阳, 延年益寿”之说^[6-10]。鲟鱼软骨作为鲟鱼深加工后主要的副产物, 含有丰富的胶原蛋白, 因此可以作为天然优质胶原蛋白的提取原料, 目前针对鲟鱼皮提取胶原蛋白的相关研究已有较多报道^[11], 但是关于鲟鱼软骨提取后的胶原蛋白结构及理化性质等问题还未完全明晰。为此, 本研究主要以人工养殖的鲟鱼软骨为原料, 采用酶法提取胶原蛋白, 对其胶原蛋白相关理化性质进行测定和分析, 探讨其胶原结构、理化特性, 以期对鲟鱼加工副产物高效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜鲟鱼软骨, 来自西伯利亚鲟鱼(杭州千岛湖鲟龙科技股份有限公司)。

胍胺 T、异丙醇、4-二甲氨基苯甲醛(分析纯, 国药集团试剂公司); 蛋白分子量标准(宽分子量)、羟脯氨酸、胃蛋白酶(5×10^5 U/g)(上海安谱实验科技公司); 考马斯亮蓝

R-250、过氧化硫酸铵、四甲基乙二胺、丙烯酰胺、BIS-TRIS 凝胶电泳缓冲液、溴酚蓝(bromophenol blue, BPB)(分析纯, 上海安谱实验科技公司)。

1.2 主要仪器

MINI200 台式实验离心机(张家港市恒安机械制造有限公司); HJ-4A 数显四联异步磁力加热搅拌器(金坛科析试验仪器有限公司); BSA124S 分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司); UV-2600 分光光度计(日本岛津公司); DHG-9123A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); GZS-0.1 冷冻干燥机(沈阳北冰洋工程公司); FTIR-8400S 紫外分光光度计(日本岛津公司); Thermo 傅里叶红外光谱仪(赛默飞世尔科技公司); DSC-200PC 差示扫描量热仪(德国 Bavaria 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 鲟鱼骨中 II 型胶原蛋白的提取与纯化

将鲟鱼软骨用冰水冲洗, 去除其表面的杂质及非软骨组织, 切块后绞碎称重, 加入 10 倍体积预冷的 0.1 mol/L NaOH 浸泡过夜, 去除非胶原成分, 冲洗至中性。加入 10 倍体积预冷的 pH 7.4 的 0.5 mol/L 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)处理 48 h, 去除矿物质, 纯水清洗沉淀 3 次。沉淀混悬于 15 倍体积, 含有 0.1 g/100 mL 胃蛋白酶的 0.5 mol/L 冰醋酸中, 搅拌 48 h。将提取液于 4 °C、10000 r/min 离心 30 min, 得到的上清液迅速用 6 mol/L NaOH 调节 pH 至 7.5 灭酶, 至于 4 °C 暂存, 沉淀 2 次提取, 重复上述步骤, 合并 2 次的上清液。向合并的上清液中缓慢加入磨细的 NaCl 粉末进行盐析, 至终浓度为 2.6 mol/L, 并不断搅拌。待 NaCl 全部溶解后静置过夜, 将盐析液于 4 °C、10000 r/min 离心 30 min, 离心后沉淀用少量 0.5 mol/L 冰醋酸溶解, 用 25 倍体积的 0.1 mol/L 冰醋酸透析 12 h, 再用 25 倍体积的去离子水透析 48 h, 将透析后的内溶液冷冻干燥得到鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白样品^[12-13]。

1.3.2 氨基酸组成分析

称取样品 10 mg, 用 6 mol/L 盐酸在 100 °C 下水解 24 h, 水解液脱酸后用磷酸缓冲液(pH 2.2)定容, 使用氨基酸自动分析仪测定其氨基酸组成^[14]。

1.3.3 SDS-PAGE 分析

将样品配制成 1 mg/mL 溶液, 进行 SDS-PAGE 电泳。分离胶浓度 7.5%, 浓缩胶浓度 5%, 采用直流恒压电源, 电压 80 V, 电泳时间 2~3 h, 用考马斯亮蓝染色 45 min 后脱色^[15]。

1.3.4 紫外吸收光谱分析

将样品溶解于 0.5 mol/L 乙酸溶液中, 配制成浓度为

1 mg/mL 的溶液, 在 180~400 nm 波长区间内用紫外分光光度计进行扫描。以 0.5 mol/L 乙酸作为空白对照。

1.3.5 傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)分析

在红外灯照射下, 将适量的冻干样品与光谱纯 KBr 置于玛瑙研钵中混匀研磨成粉状, 取适量样品至压片机中压片, 将压完后的样品置于样品室, 在 400~4000 cm^{-1} 波长区间用红外光谱仪进行扫描, 分辨率设置为 2 cm^{-1} 。

1.3.6 差示量热扫描分析

称取样品 3.5~5.5 mg 放入铝制坩埚中, 以空白坩埚为参比, 加热温度范围为 30~150 $^{\circ}\text{C}$, 加热速率 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, 分析胶原蛋白的最大热变性温度。

1.3.7 圆二色谱分析

取适量样品溶于 0.5 mol/L 醋酸溶液中, 配成 0.25 mg/mL 的胶原蛋白溶液。充分溶解后, 以 10000 r/min 冷冻离心 20 min, 取上清, 在 10 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行圆二光谱扫描, 比色皿光程为 1 mm, 扫描波长范围为 190~300 nm。以 0.5 mol/L 的醋酸溶液作为空白对照。

2 结果与分析

2.1 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的氨基酸组成分析

样品的氨基酸组成如表 1 所示, 含量以每 1000 个总氨基酸残基中的残基数表示^[16]。表 1 中显示甘氨酸的含量最高, 约占总氨基酸残基数的 1/3, 甘氨酸的大量存在对空间结构有重要的作用, 其占比含量与鲨鱼软骨、鸡软骨和猪软骨类似^[17]。丙氨酸和脯氨酸残基与其他软骨中提取的 II 型胶原蛋白其含量占比类似, 具有一定的特征性。酪氨酸、半胱氨酸和组氨酸的含量较低, 不同于其他原料提取制备的 II 型胶原蛋白, 同一氨基酸残基在不同种属间数量不同, 表明这是由典型 II 型胶原蛋白的氨基酸组成。

2.2 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的分子量测定

样品经过 SDS-PAGE 电泳分析, 电泳图谱如图 1 所示, 在 110 kDa 附近有 1 条单一的 α 链, 其色谱带明显厚于对照品, 说明该肽链的组成可能不只 1 条; 在 200 kDa 附件有 1 条二聚体 β 链。上述图谱显示样品主要由 2 种肽链组成(α 和 β), 与文献报道的 II 型胶原蛋白结构一致, 由此可判断鲟鱼软骨中提取的胶原蛋白为 II 型胶原蛋白。

如图 2 所示, 样品在 229 nm 处出现最大吸收峰, 这与文献报道^[3]蓝鲨软骨 II 型胶原蛋白最大吸收峰(226 nm)和鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白最大吸收峰(224.5 nm)相近, 此吸收峰与多肽链的氨基酸组成和螺旋程度有关, 同时该吸收峰也是胶原三螺旋结构的典型紫外吸收图谱特点^[18]。

表 1 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的氨基酸组成及与其他物种 II 型胶原蛋白的对比

Table 1 Amino acid composition of type II collagen from sturgeon cartilage and comparison with type II collagen from other species

氨基酸种类	鲟鱼软骨	鲨鱼软骨	鸡软骨	猪软骨
天冬氨酸 Asp	62	42	47	36
苏氨酸 Thr	23	23	30	14
丝氨酸 Ser	51	41	25	23
谷氨酸 Glu	70	78	110	96
甘氨酸 Gly	311	317	313	419
丙氨酸 Ala	104	104	103	109
缬氨酸 Val	28	25	22	12
甲硫氨酸 Met	15	13	2	10
异亮氨酸 Ile	17	18	13	7
亮氨酸 Leu	57	24	94	27
酪氨酸 Tyr	5	-	-	-
苯丙氨酸 Phe	24	14	15	10
赖氨酸 Lys	17	28	15	15
组氨酸 His	12	-	4	3
精氨酸 Arg	77	51	53	44
脯氨酸 Pro	125	109	94	164
半胱氨酸 Cys	3	1	15	9

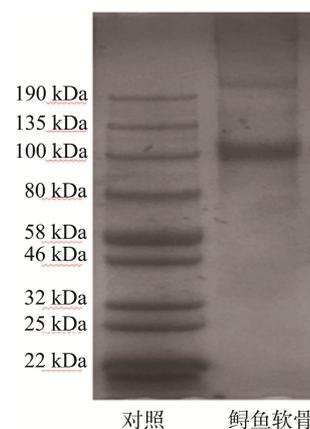


图 1 SDS-PAGE 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白电泳图谱
Fig.1 SDS-PAGE of type II collagen from sturgeon cartilage

2.3 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的紫外吸收光谱分析

鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的紫外吸收光谱图见图 2。

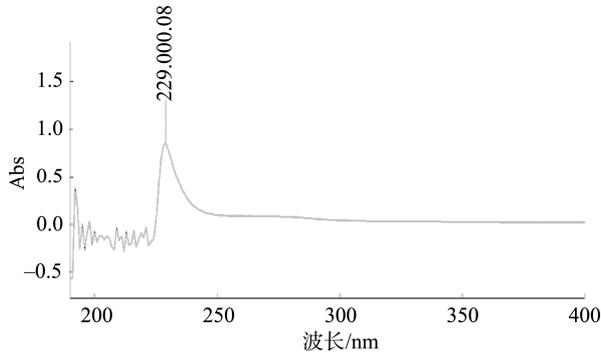


图 2 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的紫外吸收光谱图

Fig.2 UV spectrum of type II collagen from sturgeon cartilage

2.4 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的红外光谱分析

鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的红外光谱分析结果如图 3 所示。

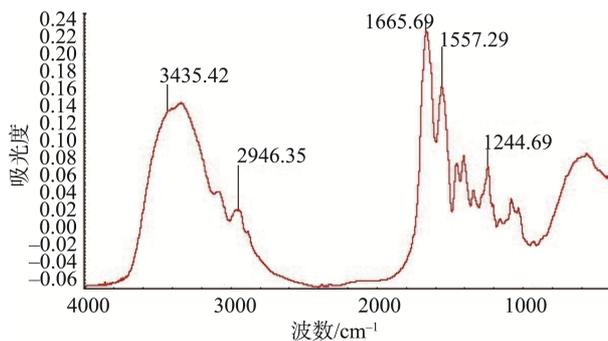


图 3 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白红外光谱图

Fig.3 The FTIR spectrum of type II collagen from sturgeon cartilage

研究报道表明^[19-21], 酰胺 A 带的 N-H 伸缩振动吸收峰通常出现在 3400~3450 cm^{-1} 。如图 3 所示, 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的酰胺 A 带出现在 3435.42 cm^{-1} ; 2945.35 cm^{-1} 处为酰胺 B 带 N-H 和 C-H 的伸缩振动吸收峰, 其主要是由手性的 CH_2 伸缩振动引起, 表明肽键间氢键的存在; 研究表明^[22], 1600~1700 cm^{-1} 之间是蛋白多肽骨架的 C=O 伸缩振动引起的酰胺带的特征吸收峰, 是蛋白质二级结构区域, 图 3 在 1665.69 cm^{-1} 出现一个极强的符合蛋白质二级结构的吸收峰, 与文献研究报道一致^[22]; 1550~1600 cm^{-1} 附近的吸收峰主要为胶原蛋白 C-N 伸缩振动与 N-H 弯曲振动所反应的吸收带, 图中 1557.29 cm^{-1} 显示为酰胺 II 带的 N-H 弯曲振动吸收峰; 1200~1360 cm^{-1} 谱带归属酰胺 III 带, 如图 3 所示 1244.69 cm^{-1} 吸收峰是由 C-N 伸缩和 N-H 弯曲引起的, 这是其他蛋白质没有的红外光谱特征, 这样的吸收峰可能是鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白中的甘氨酸、羟脯氨酸及脯氨酸的含量高, 形成(Gly-Pro-Hyp)结构。上述研究结果

表明提取的鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白基本保持了蛋白质原有的三螺旋结构, 对其活性功能的研究具有重要意义。

2.5 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白热稳定温度分析

鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的热稳定分析结果如图 4 所示。

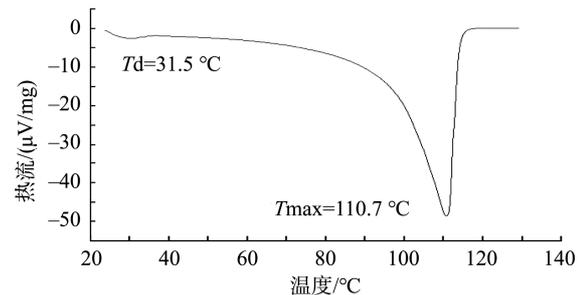


图 4 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白差示扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)曲线图谱

Fig.4 Differential scanning calorimetry (DSC) spectrum of type II collagen from sturgeon cartilage

热稳定性是评价胶原蛋白理化性能的重要指标之一^[23]。如图 4 所示, 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白有 2 个热吸收峰, 其中第 1 个热吸收峰在 31.5 $^{\circ}\text{C}$, 这一吸收峰明显低于蓝鲨 II 型胶原蛋白的热变性温度(41 $^{\circ}\text{C}$)^[23-24]。第 2 个热吸收峰在 110.7 $^{\circ}\text{C}$, 该热吸收峰与多肽链断裂相关, 但低于文献中报道的 II 型胶原蛋白肽键断裂温度^[25]。

2.6 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的圆二色谱分析

鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白的圆二色谱分析结果如图 5 所示。

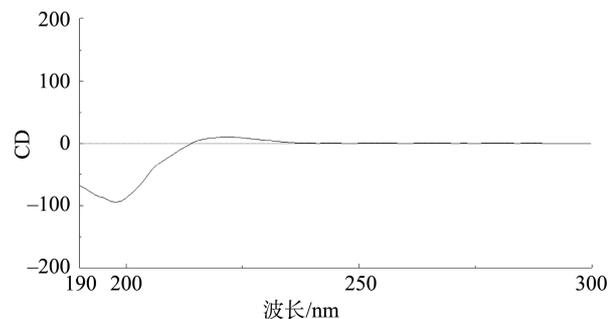


图 5 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白圆二色谱图

Fig.5 Circular dichroism spectrum of type II collagen from sturgeon cartilage

上述图谱结果表明, 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白在 198 nm 出现了负吸收谱带, 这是 II 型胶原分子构象中无规则卷曲结构的典型特征^[26]; 在 221 nm 处出现较弱的正吸收谱带, 是左旋聚脯氨酸(P-II)构型肽链圆二色谱的典型特征。II 型胶原蛋白结构主要由 β 折叠和无规则卷曲组成, 这说明鲟鱼软骨中提取的 II 型胶原蛋白其螺旋结构未被破坏。

3 结论与讨论

II 型胶原蛋白是一种难溶性蛋白,其分子结构也是通过各类分子键交互相连聚合而成,这种结构导致其难提取,对提取工艺要求较复杂^[27-28]。鉴于上述情况,本研究通过酸溶-胃蛋白酶提取,从鲟鱼软骨中提取的胶原蛋白能保持其结构的完整性,区别于传统胶原蛋白提取过程中的高温热解提取,而是严格控制提取温度,防止高温热解导致变性,生成水溶性明胶。

从鲟鱼软骨中提取的胶原蛋白通过 SDS-PAGE 电泳进行分析,结果显示其至少含 2 条链(α 和 β),是 1 种典型的 II 型胶原蛋白谱;圆二色谱、红外光谱、紫外光谱的结果表明,从鲟鱼软骨中提取的胶原蛋白具有天然三螺旋结构,即 II 型胶原蛋白;氨基酸组成成分分析中含有 13.2% 的酸性氨基酸,不含色氨酸,是典型动物 II 型胶原蛋白的一种。

综上所述,可以证实从鲟鱼软骨提取的胶原蛋白为 II 型胶原蛋白,纯度高,该 II 型胶原蛋白提取及结构鉴定为胶原蛋白活性成分的分析、功能研究提供了帮助,同时为鲟鱼加工下脚料高值化综合利用提供了方向,也为胶原蛋白系统性研究及产业化应用提供了数据和理论基础。

参考文献

- [1] 周晓辉,常亚南,何晓亮,等. II型胶原蛋白的结构、功能及其最新研究进展[J]. 河北科技大学学报,2017,38(2): 202-208.
ZHOU XH, CHANG YN, HE XL, *et al.* Structure, function and latest research development of collagen of type II [J]. J Hebei Univ Sci Technol, 2017, 38(2): 202-208.
- [2] 姜艳敏,丁长河. 水产类胶原蛋白的结构、生理功能及应用[J]. 食品科技,2019,44(8): 115-119.
JIANG YM, DING CH. Structure, physiological function and application of aquatic collagen [J]. Food Sci Technol, 2019, 44(8): 115-119.
- [3] 宋瑞瑞,包斌,卜永士,等. 蓝鲨软骨 II 型胶原蛋白的物理化学特性[J]. 食品科学,2013,34(9): 24-27.
SONG RR, BAO B, PU YS, *et al.* Physico-chemical characteristics of type II collagen isolated from prionace glauca cartilage [J]. Food Sci, 2013, 34(9): 24-27.
- [4] 孙大江,曲秋芝,马国军,等. 中国鲟鱼养殖概况[J]. 大连水产学院学报,2003,18(3): 216-221.
SUN DJ, QU Q Z, MA GJ, *et al.* The status of sturgeon culture in China [J]. J Dalian Fish Univ, 2003, 18(3): 216-221.
- [5] 杨移斌,夏永涛,赵蕾,等. 鲟鱼养殖常见疾病及防治[J]. 水产养殖,2013,34(2): 46-48.
YANG YB, XIA YT, ZHAO L, *et al.* Prevention and treatment of sturgeon culture [J]. J Aquac, 2013, 34(2): 46-48.
- [6] 郝淑贤,李晓燕,李来好,等. 鲟鱼养殖组成、高值化加工利用及质量安全研究进展[J]. 南方水产科学,2014,10(6): 101-106.
HAO SX, LI XY, LI LH, *et al.* Research progress on nutrition composition, high threshold processing technology and quality & safety of sturgeon [J]. South China Fish Sci, 2014, 10(6): 101-106.
- [7] BADIANI A, ANFOSSI P, FIORENTINI L, *et al.* Nutritional composition of cultured sturgeon (*Acipenser spp.*) [J]. J Food Comp Anal, 1996, 9(2): 171-190.
- [8] 郝淑贤,石红,杨贤庆,等. 鲟鱼软骨成分分析及营养评价[J]. 食品与发酵工业,2006,32(9): 72-74.
HAO SX, SHI H, YANG XQ. Analysis and evaluation of nutrient composition of sturgeon cartilage [J]. Food Ferment Ind, 2006, 32(9): 72-74.
- [9] 王琨,叶继丹,刘永. 鲟鱼软骨主要营养成分分析及评价[J]. 营养学报,2006,28(2): 187-188.
WANG K, YE JD, LIU Y. Analysis and evaluation of nutrient composition of sturgeon cartilage [J]. Acta Nutr Sinica, 2006, 28(2): 187-188.
- [10] 邓必阳,张展霞. 鲨鱼软骨营养成分分析及其评价[J]. 营养学报,1999,21(1): 104-108.
DENG BY, ZHANG ZX. Analysis and evaluation of nutrient composition of shark cartilage [J]. Acta Nutr Sinica, 1999, 21(1): 104-108.
- [11] 杨玲,赵燕,鲁亮,等. 鲟鱼鱼皮胶原蛋白的提取及其理化性能分析[J]. 食品科学,2013,34(23): 41-46.
YANG L, ZHAO Y, LU L, *et al.* Isolation and characterization of collagen from the skin of sturgeon [J]. Food Sci, 2013, 34(23): 41-46.
- [12] 王彦宏,朱平,冷南,等. II 型胶原蛋白的提取纯化与鉴定[J]. 第四军医大学学报,2002,23(19): 1820-1821.
WANG YP, ZHU P, LENG N, *et al.* Isolation, purification and identification of type II collagen [J]. J Fourth Military Med Univ, 2002, 23(19): 1820-1821.
- [13] 李振飞,莎丽娜. 羊软骨中 II 型胶原蛋白的提取纯化与鉴定[J]. 食品科技,2013,38(3): 233-236.
LI ZF, SHA LN. Isolation, purification and identification of type II collagen from sheep cartilage [J]. Food Sci Technol, 2013, 38(3): 233-236.
- [14] 袁兴宇,包小兰,冯文君,等. 花生肽钙复合物钙结合特性及氨基酸组成研究[J]. 中国油脂,2019,44(8): 18-21,27.
YUAN XY, BAO XL, FENG WJ, *et al.* Calcium binding property and amino acid composition of peanut peptide calcium complex [J]. China Oils Fats, 2019, 44(8): 18-21, 27.
- [15] HAO S, LI LH, YANG XQ, *et al.* The characteristics of gelatin extracted from sturgeon (*Acipenserbaeri*) skin using various pretreatments [J]. Food Chem, 2009, 115(1): 124-128.
- [16] 王南平,何兰,郭休玉,等. 罗非鱼皮胶原基生物医用材料的制备与表征[J]. 生物医学工程学进展,2014,35(3): 146-150.
WANG NP, HE L, GUO XY, *et al.* Extracting and characterizing medical graded collagen based biomaterial using tilapia mossambica fish skin [J]. Prog Biomed Eng, 2014, 35(3): 146-150.
- [17] NAGAI T, YAMASHITA E, TANIGUCHI K, *et al.* Isolation and characterisation of collagen from the outer skin waste material of cuttlefish (*Sepia lycidas*) [J]. Food Chem, 2001, 72(1): 425-429.
- [18] 郭休玉,何兰,位晓娟,等. 鲟鱼软骨 II 型胶原蛋白提取方法及结构分析[J]. 生物医学工程学进展,2016,37(1): 1-5.
GUO XY, HE L, WEI XJ, *et al.* Extracting technology and structure characterization of type II collagen from squid cartilage [J]. Prog Biomed Eng, 2016, 37(1): 1-5.
- [19] DOYLE BB, BENDIT EG, BLOUT ER. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides [J]. Biopolymers, 1975, 14(5): 937-957.

- [20] 吴雷, 郑娟, 刘文涛, 等. 鸡关节软骨II型胶原蛋白结构及性能表征[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(11): 86-90.
WU L, ZHENG J, LIU W T, *et al.* Structure and properties of type II collagen in chicken cartilage [J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(11): 86-90.
- [21] 纪倩, 宿丹丹, 应慧妍, 等. 猪皮中胶原蛋白的提取与结构鉴定[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(13): 44-49.
JI Q, SU DD, YING H Y, *et al.* Extraction of pigskin collagen and its structural identification [J]. Food Res Dev, 2017, 38(13): 44-49.
- [22] 闻崇炜, 赵焯清, 石莉, 等. 聚乙二醇沉淀联用双水相萃取法纯化蛋清溶菌酶的研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(5): 89-93.
WEN CW, ZHAO YQ, SHI L, *et al.* Purification of lysozyme from egg white by combination of polyethylene glycol precipitation and aqueous two-phase extraction [J]. Biotechnol Bull, 2017, 33(5): 89-93.
- [23] 杨玲, 赵燕, 鲁亮, 等. 鲟鱼鱼皮胶原蛋白的提取及其理化性能分析[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 41-46.
YANG L, ZHAO Y, LU L, *et al.* Isolation and characterization of collagens from the skin of sturgeon [J]. Food Sci, 2013, 34(23): 41-46.
- [24] 姜旭滢, 陈盛霞, 吴亮, 等. 可溶性鸡II型胶原蛋白的理化特性研究[J]. 临床检验杂志, 2011, (4): 268-271.
JIANG XG, CHEN SX, WU L, *et al.* Soluble chicken II type collagen research of physical and chemical properties [J]. J Clin Lab Med, 2011, (4): 268-271.
- [25] NAGAI T, YAMASHITA E, TANIGUCHI K, *et al.* Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) [J]. Food Chem, 2008, 111(2): 296-301.
- [26] 孙圣伟, 何健, 刘美娟, 等. 原型胶原蛋白的提取分离及其结构鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 7947-7952.
SUN SW, HE J, LIU MJ, *et al.* Extraction and separation of prototype collagen and its structure identification [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(23): 7947-7952.
- [27] 吴雷, 郑娟, 刘文涛, 等. 鸡关节软骨II型胶原蛋白结构及性能表征[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(11): 86-90.
WU L, ZHENG J, LIU WT, *et al.* Structure and properties of type II collagen in chicken cartilage [J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(11): 86-90.
- [28] 张自强. 去端肽胶原蛋白生物材料结构设计、制备及应用[D]. 北京: 中国地质大学, 2018.
ZHANG ZQ. Structure design, preparation and applications of the atelocollagen biomaterials [D]. Beijing: China University of Geosciences, 2018.

(责任编辑: 王欣)

作者简介



胡艺, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品加工与质量安全。
E-mail: zjhy1991@163.com



郑平安, 硕士, 工程师, 主要研究方向为海洋生物资源高值化利用。
E-mail: zhengpingan@hailisheng