

鲟鱼鳔胶原蛋白肽的制备、发酵及品质特性分析

万淋惠¹, 付懿¹, 王康², 张明竞², 魏一然³, 高瑞昌¹, 王林^{1,3*}

(1. 江苏大学食品科学与工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 江苏海福特海洋科技股份有限公司, 江苏连云港 222111)
(3. 镇江雅诗蓝肽生物科技有限公司, 江苏镇江 212009)

摘要: 针对胶原蛋白肽色泽差、苦味重、腥味大等缺陷, 本研究以鲟鱼加工副产物鱼鳔为原料, 通过仿生酶切制备胶原蛋白肽, 再经马克斯克鲁维酵母发酵制得一款蓝莓-胶原蛋白肽复合饮品。该产品的活菌数为 1.43×10^7 CFU/mL; 色度值 L^* 、 a^* 和 b^* 分别为 24.24、8.72 和 -0.96; pH 值和可滴定酸分别为 4.46 和 1.51 g/100 mL; 胶原蛋白肽和可溶性固形物分别为 14.55% 和 25.77%; 多酚、黄酮和花色苷分别为 147.05 mg 没食子酸当量/100 mL、113.63 mg 芦丁当量/100 mL 和 19.70 mg 矢车菊素-3-葡萄糖苷当量/100 mL; 挥发性特征风味化合物为乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯、乙酸己酯和芳樟醇。该产品色泽紫红亮丽, 质地均一稳定, 滋味酸甜适中, 气味丰富协调, 情感检验评分为 84.20 分, 描述检验综合评分为 82.34 分。该研究为鱼类加工副产物的高质化利用和风味健康型胶原蛋白肽类食品的开发提供了新途径。

关键词: 胶原蛋白肽; 马克斯克鲁维酵母; 鲟鱼鳔; 蓝莓; 理化特性; 感官品质

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0542

Preparation, Fermentation and Quality Properties Analysis of Collagen Peptides Derived from Sturgeon Swim Bladder

WAN Linhui¹, FU Yi¹, WANG Kang², ZHANG Mingjing², WEI Yiran³, GAO Ruichang¹, WANG Lin^{1,3*}

(1. School of Food Science and Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China) (2. Jiangsu Ocean Gift Ocean Sci-Tech Co. Ltd., Lianyungang 222111, China) (3. Zhenjiang Eslatide Biotechnology Co. Ltd., Zhenjiang 212009, China)

Abstract: To address the defects of poor color, bitter taste, and strong fishy odor in collagen peptide products, this study utilized sturgeon processing by-products (swim bladders) as raw materials to prepare collagen peptides via biomimetic enzymatic cleavage, followed by fermentation with *Kluyveromyces marxianus* to produce a blueberry-collagen peptide compound beverage. The final product had a viable bacterial count of 1.43×10^7 CFU/mL, with L^* , a^* , and b^* values of 24.24, 8.72, and -0.96, respectively. It contained 14.55% collagen peptides and 25.77% soluble solids, along with a pH value of 4.46 and a titratable acidity of 1.51 g/100 mL. The contents of total phenolics, flavonoids, and anthocyanins were 147.05 mg gallic acid equivalent per/100 mL, 113.63 mg rutin equivalent per/100 mL, and 19.70 mg cyanidin-3-glucoside equivalent per/100 mL, respectively. Characteristic volatile compounds identified in the beverage included ethyl acetate, isoamyl acetate, phenethyl acetate, hexyl acetate, and linalool. Additionally, it exhibited a bright purplish-red color, a uniform and stable texture, a well-balanced sweet-and-sour taste, a rich and harmonious aroma, and achieved an affective test score of 84.20 and a descriptive test score of 82.34. This study provides a new approach for the high-value utilization of fish processing by-products, and the development of flavor-oriented, healthy collagen peptide-based foods.

Keywords: collagen peptides; *kluyveromyces marxianus*; sturgeon swim bladder; blueberry; physicochemical property; sensory quality

胶原蛋白肽在延缓衰老领域的研究与应用历史悠久, 至今仍是食品工业与大健康产业关注的热点之一。鱼鳔是鲟鱼加工的重要副产物, 其干制品在中医中又称为“花胶”, 胶原蛋白含量高达 88.91%, 长期以来作为食药材和滋补品在中国及东南亚国家备受青睐^[1]。现有研究证明鲟鱼鳔胶原蛋白肽可延长线虫的自然寿命^[2], 延缓大鼠皮肤衰老^[3], 保护小鼠免受环磷酸腺苷诱导的卵巢早衰^[4], 并通过调节肠道微生物群稳态和睾丸氧化还原状态减轻镉诱导

收稿日期: 2026-04-09; 修回日期: 2026-06-22; 接受日期: 2026-06-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32272324)

作者简介: 万淋惠 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 胶原蛋白肽营养与健康, E-mail: ystlizw@163.com

通讯作者: 王林 (1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品精深加工与综合利用, E-mail: linwang@ujs.edu.cn

的小鼠生殖毒性^[5]。因此, 鲟鱼鳔可能是生产胶原蛋白肽的优质原料, 但如何高效制备高品质鲟鱼鳔胶原蛋白肽, 并将其开发为消费者可接受的功能性食品, 仍是当前面临的核心挑战。

酶切是目前胶原蛋白肽生产中最常用的方法。然而, 随着酶工程技术的不断进步, 种类繁多的商品化蛋白酶相继涌现, 研究人员通常需从大量酶中进行随机筛选, 并依据酶切产物的生物活性来确定所谓的最适酶。尽管蛋白质分子结构及蛋白酶的特异性酶切位点可供参考, 但这种经验性选酶模式仍存在较大的盲目性, 极易造成活性肽段被切割破坏, 或活性肽段存在冗余氨基酸残基而影响产物的目标生物活性^[2]。仿生酶切通过模拟人体胃肠消化模式, 可最大程度保留原料的潜在生物活性, 有效避免口服后因胃肠道再次消化而导致的功效衰减甚至丧失。然而, 该方法制得的胶原蛋白肽普遍存在色泽差、苦味重、腥味大等问题。为掩蔽上述感官品质缺陷, 目前市售的胶原蛋白肽类产品通常添加食品添加剂(如色素、甜味剂、香精等), 长期摄入可能存在潜在的食品安全风险。

利用蓝莓与益生菌发酵可能是改善鲟鱼鳔胶原蛋白肽感官品质的有效途径。蓝莓富含花青素、糖类及有机酸, 其中花青素特有的共轭结构使其在弱酸性环境中呈现紫红色泽, 糖类和有机酸则可掩蔽胶原蛋白肽的苦味, 并赋予怡人的蓝莓果香。马克斯克鲁维酵母(*Kluyveromyces marxianus*, Km)属于子囊菌门酵母菌科克鲁维酵母属, 天然广泛栖息于果蔬、乳制品及各类发酵食品中, 作为一种公认安全(Generally recognized as safe, GRAS)的非传统工业酵母, Km常应用于果酒、酸奶、纳豆及面包等发酵食品的生产中, 是一种兼具产酯与产香性能的益生菌^[6]。该菌发酵可产生多种酯类和醇类物质, 改善传统鱼露的不良气味, 提高无盐鱼露的可接受度^[7]; 降低鲢鱼干苦味, 增加甜味与丰富度, 并通过上调醛类、酮类、醇类和杂环化合物的丰度改善香气特征^[8]; 促进脂质代谢及风味形成, 改善低盐发酵黄鱼的滋味与风味特征^[9]。基于此, 本研究以鲟鱼鳔为原料, 采用仿生酶切制备胶原蛋白肽, 再以蓝莓为载体, 通过Km发酵开发了一种兼具良好理化特性与感官品质的蓝莓-胶原蛋白肽饮品(Blueberry-collagen peptides beverage, BCPs), 为鱼类加工副产物的高值化利用以及风味健康型胶原蛋白肽类食品的开发提供了新的技术思路与实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鱼鳔, 衢州鲟龙水产食品科技开发有限公司人工养殖的6~8龄雌性史氏鲟(*Acipenser schrenckii*); 兔眼蓝莓(*Vaccinium virgatum*), 2024年6月初采摘自云南省宜良县, 选取二级果(直径12~14 mm)置于4℃冷藏备用; Km, 商城北纳创联生物科技有限公司(编号BNCC187341); 胃蛋白酶(3 000 U g⁻¹)、胰蛋白酶(250 U mg⁻¹)、果胶酶(50 U mg⁻¹)和其它试剂(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

Mini Pellicon 超滤系统, 美国 Merck Minipore 公司; BA-PWGZ1000 喷雾干燥机, 长沙巴跃仪器有限公司; S433D 氨基酸分析仪, 德国 Sykam 公司; UitiMate 3000 高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; ColorQuest XE 分光测色仪, 美国 HunterLab 公司; TQ8040 三重四级杆气质联用仪, 日本岛津公司。

1.3 实验方法

1.3.1 鲟鱼鳔胶原蛋白肽的制备

取1 kg 鲟鱼鳔, 流水解冻, 自来水清洗后切块搅碎, 加入10 L 95%乙醇浸泡12 h; 尼龙网压滤后, 滤渣加入5 L 正己烷浸泡12 h; 再次压滤, 滤渣加入10 L 水, 于60℃连续搅拌30 min。冷却后以HCl调节pH值至2.0, 加入胃蛋白酶至5 000 U L⁻¹, 在37℃连续搅拌2 h模拟胃消化; 随后以NaOH调节pH值至6.8, 加入胰蛋白酶至250 000 U L⁻¹, 在37℃连续搅拌4 h模拟肠道消化。最后煮沸20 min灭酶, 经10 000 g离心15 min取上清液, 采用纳滤(截留分子量150 Da)浓缩脱盐, 取截留液喷雾干燥, 即得鲟鱼鳔胶原蛋白肽粉末^[10]。

1.3.2 鲟鱼鳔胶原蛋白肽氨基酸和分子量的检测

将胶原蛋白肽溶于含1% (m/V) 苯酚的6 mol L⁻¹ HCl, 于110℃水解24 h后利用氨基酸分析仪检测氨基酸组成。将胶原蛋白肽溶解并过滤, 然后进样于高效液相色谱仪检测分子量分布, 色谱柱为TSKgel G2000SWXL

(300 mm×7.8 mm), 流动相为乙腈/水/三氟乙酸 (45:55:0.1、V/V/V), 检测波长为 220 nm, 流速为 0.5 mL min⁻¹, 柱温为 30 ℃。

1.3.3 BCPs 的发酵

将 1 kg 蓝莓洗净沥干, 打浆后加入 5.0 g 果胶酶, 于 50 ℃连续搅拌 2 h, 随后 10 000 g 离心 15 min, 所得上清液即为蓝莓汁; 利用蓝莓汁溶解 30 g 胶原蛋白肽并定容至 200 mL, 转入 500 mL 锥形瓶中于 80 ℃灭菌 20 min。冷却后接入 Km 至 1×10⁶ CFU/mL, 在 20 ℃、160 r min⁻¹ 下好氧发酵 12 h。密封后在 4 ℃进一步后熟 8 h, 即得蓝莓汁和胶原蛋白肽的 Km 发酵产品 (BCPs)。在发酵 0、4、8 和 12 h 时分别取样 (分别记为 F0、F4、F8 和 F12), 并-80 ℃冻存。

1.3.4 微生物检测

参照 GB 4789.15-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》测定酵母活菌数。

1.3.5 理化特性分析

色泽 (L^* 、 a^* 和 b^* 值) 使用分光测色仪测定; pH 值依据 GB/T 10468-1989《水果和蔬菜产品 pH 值的测定方法》检测; 可滴定酸 (Titratable acid, TA) 参照 GB 12456-2021《食品中总酸的测定》检测; 羟脯氨酸 (Hydroxyproline, Hyp) 根据 GB/T 9695.23-2008《肉与肉制品 羟脯氨酸含量测定》检测, Hyp 与胶原蛋白肽之间的转换系数取 8.86; 可溶性固形物 (Total soluble solids, TSS) 使用折光仪测定; 还原糖使用 3,5-二硝基水杨酸法测定; 酒精度参照 GB 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》通过气相色谱法测定; 总酚采用福林酚法, 以没食子酸当量 (Gallic acid equivalent, GAE) 表示; 黄酮应用亚硝酸盐-硝酸铝-氢氧化钠显色法, 以芦丁当量 (Rutin equivalent, RE) 表示; 花色苷运用 pH 示差法, 以矢车菊色素-3-葡萄糖苷当量 (Cyanidin-3-glucoside equivalent, CGE) 表示。

1.3.6 挥发性化合物检测

利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法 (Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry, HS-SPME-GC/MS) 检测挥发性化合物。样品在 50 ℃平衡 20 min 后进行顶空萃取 30 min, 随后进样于 GC。萃取头为 DVB/CAR/PDMS, 色谱柱为 Rtx-WAX; 进样口温度为 250 ℃, 载气流速为 1 mL min⁻¹; 升温程序为 40 ℃保持 4 min, 然后以 5 ℃ min⁻¹ 升至 160 ℃保持 4 min, 再以 10 ℃ min⁻¹ 升至 200 ℃保持 13 min, 最后以 20 ℃ min⁻¹ 升至 240 ℃保持 5 min。离子源温度为 200 ℃, 传输线温度为 250 ℃, 扫描范围为 35~500 m/z。利用 NIST 数据库对化合物进行鉴定, 以 3-辛醇为内标进行半定量分析, 按公式 (1) 计算香气活性值 (OAV)。

$$OAV = \frac{C}{T} \quad (1)$$

式中:

C ——为化合物含量;

T ——为感官阈值。

1.3.7 感官评价

在符合 GB/T 13868-2009 的食品感官分析实验室中进行感官评价 (温度 24±2 ℃、相对湿度 50%±5%、白光照度 400 lx)。选择 50 名消费者型评价员 (22 男 28 女、年龄 18~52 岁) 进行情感检验 (表 1), 另筛选 10 名训练型评价员 (4 男 6 女、年龄 18~41 岁) 进行定量描述检验 (表 2)。将样品置于 20 ℃恒温箱中平衡 2 h 后, 每份样品各取 30 mL 注入无色无味的透明玻璃杯中, 以 3 位随机数字编码, 然后按圆形摆盘, 随机顺序呈送给评价员。

表 1 情感检验评分表

Table 1 Affective test score sheet

非常不喜欢	很不喜欢	不喜欢	不太喜欢	一般	稍喜欢	喜欢	很喜欢	非常喜欢
0~20	21~30	31~40	41~50	51~60	61~70	71~80	81~90	91~100

表 2 定量描述检验评分表

Table 2 Quantitative descriptive analysis score sheet

项目	分值
色泽	深紫红色, 明亮有光泽
	紫红色, 较为明亮
	色泽浅, 几乎无光泽
	色泽暗淡, 无光泽
	75~100
	50~75
	25~50
	0~25

质地	均匀, 无明显杂质及沉淀	75~100
	较为均匀, 有微量悬浮物	50~75
	不均匀, 有少量杂质和沉淀	25~50
	不均匀, 有大量杂质和沉淀	0~25
果香味	果香浓郁, 无异味	75~100
	果香一般, 无异味	50~75
	果香较淡, 略有异味	25~50
	果香较淡, 异味明显	0~25
鱼腥味	无明显的鱼腥味	75~100
	略有鱼腥味	50~75
	鱼腥味较重	25~50
	有浓厚的鱼腥味	0~25
酸甜味	酸甜度适中, 持续时间长	75~100
	酸味或甜味稍淡/稍重, 持续时间较短/长	50~75
	酸味或甜味不明显或较重	25~50
	酸味或甜味过重, 令人不适	0~25
苦涩味	无明显苦涩味	75~100
	略有苦涩味	50~75
	苦涩味较重	25~50
	苦涩味过重, 令人不适	0~25
综合评价		0~100

1.3.8 数据处理

数据以至少 3 次重复结果的平均值±标准差表示, 利用 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析 (Principal component analysis, PCA), 采用 SPSS 27.0 软件进行 ANOVA 分析和 LSD 多重比较, $P<0.05$ 即认为存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 鲟鱼鳔胶原蛋白肽的氨基酸组成

鲟鱼鳔胶原蛋白肽粉末呈黄棕色, 具有明显的苦味和鱼腥味; 含有 17 种氨基酸, 其中 Gly 最为丰富 (约占氨基酸残基总数的 1/3), Ala、Glu、Pro 和 Hyp 含量相对较高, His、Tyr 和 Met 含量相对较低, 未检出 Cys 和 Trp (表 3), 这与鱼源 I 型胶原蛋白的氨基酸组成相似。胶原蛋白的特征性氨基酸 Hyp 含量为 77.51 残基数/1 000 残基 (11.29%、 m/m), 与温热带鱼类相似 (9.7%~11.0%), 但高于冷水鱼类 (5.6%~8.0%), 低于哺乳动物类 (14.4%)^[11,12]。人体必需的氨基酸 Met 和 Ile 含量较低 (分别为 7.95 和 13.77 残基数/1 000 残基), 且不含 Trp, 表明其为不完全蛋白质水解物, 营养价值不高。此外, 该胶原蛋白肽的氨基酸组成与前期报道的鲟鱼鳔胶原蛋白和明胶存在一定差异, 这可能归因于鲟鱼的性别、年龄、养殖环境、营养状况和捕捞季节等因素的差异^[13]。

表 3 鲟鱼鳔胶原蛋白肽的氨基酸组成

Table 3 Amino acid profile of collagen peptides from sturgeon swim bladders			
氨基酸	含量/(残基数/1 000 个残基)	氨基酸	含量/(残基数/1 000 个残基)
羟脯氨酸 Hyp	77.51±1.62	甲硫氨酸 Met	7.95±0.68
天冬氨酸 Asp	27.02±0.03	异亮氨酸 Ile	13.77±0.87
苏氨酸 Thr	25.86±1.40	亮氨酸 Leu	19.80±0.65
丝氨酸 Ser	51.27±2.04	酪氨酸 Tyr	2.29±0.18
谷氨酸 Glu	84.29±4.24	苯丙氨酸 Phe	15.47±1.03
脯氨酸 Pro	94.37±3.18	组氨酸 His	4.70±0.32
甘氨酸 Gly	344.78±7.27	赖氨酸 Lys	23.69±4.61

现代食品科技	Modern Food Science and Technology		2027, Vol.43, No.6
丙氨酸 Ala	130.36±4.93	精氨酸 Arg	57.54±0.85
缬氨酸 Val	19.31±0.37		

2.2 鲟鱼鳔胶原蛋白肽的分子量分布

分子量可以影响胶原蛋白肽的理化特性、感官品质及可加工性^[14]。通过仿生酶切制备鲟鱼鳔胶原蛋白肽的数均和重均分子量分别为 483.69 Da 和 500.02 Da，分子量主要集中于 180~1 000 Da（占比 87.64%），高于 1 000 Da 的多肽占 6.53%，低于 180 Da 的二肽或游离氨基酸有 5.84%（表 4）。现有研究表明，胶原蛋白肽的分子量与其体内生理功效之间并无明确的直接关联性^[3]，但其溶液的黏度和风味特性却与之密切相关。一般而言，胶原蛋白肽的分子量越小，溶液黏度越低，同时暴露的疏水性氨基酸残基（如脯氨酸、苯丙氨酸等）越多，从而导致苦味和腥臭味增强，进而对产品的加工特性和感官品质产生显著影响^[15,16]。此外，该分子量显著小于碱性蛋白酶酶解物（其中高于 5 000 Da 的组分占 46.41%），这可能源于胶原蛋白中碱性蛋白酶酶切位点较少^[4]。李佩玉^[17]报道鲟鱼鳔胶原蛋白肽蛋白酶酶解物的平均分子量为 552 Da，Zeng 等^[5]亦报道胰蛋白酶酶解物中 180~1 000 Da 和 1 000~2 000 Da 的组分分别占 42.66%和 37.93%。这表明仿生酶切产物的分子量明显大于胰蛋白酶酶解物，可归因于仿生酶切过程中胃蛋白酶和胰蛋白酶的共同作用。

表 4 鲟鱼鳔胶原蛋白肽的分子量分布

Table 4 Molecular weight distribution of collagen peptides from sturgeon swim bladders

分子量范围/Da	含量/%	数均分子量/Da	重均分子量/Da
>10 000	0.02±0.00	14 401.22±448.87	14 578.73±419.02
10 000~5 000	0.04±0.00	6 197.85±209.04	6 260.64±250.28
5 000~3 000	0.40±0.02	3 487.61±84.06	3 512.71±27.02
3 000~2 000	1.30±0.03	2 311.13±9.45	2 383.72±29.67
2 000~1 000	4.77±0.08	1 272.64±45.30	1 321.70±15.79
1 000~500	25.23±1.19	731.96±4.07	752.37±1.50
500~180	62.41±2.55	292.96±9.15	304.65±12.44
<180	5.84±0.13	104.78±1.05	109.94±0.61
总计	100.00±0.00	483.69±3.02	500.02±7.54

2.3 BCPs 的活菌数

活菌数是评估微生物在特定环境中生长状况的关键指标，能够直观反映发酵进度和产品质量^[18]。从图 1A 可知，Km 发酵 4 h 后，活菌数由 0.92×10⁶ CFU/mL 增加至 3.90×10⁶ CFU/mL，表明 Km 在该发酵体系中延滞期较短，可快速适应发酵环境。然后，Km 活菌数快速增加，至 12 h 时达 1.49×10⁷ CFU/mL，说明该发酵体系中丰富的碳源（蓝莓中的糖类）和氮源（胶原蛋白肽）可能为 Km 提供了良好的生长基质。后熟 8 h 后，Km 活菌数无显著性变化（1.43×10⁷ CFU/mL），推测低温环境及代谢产物抑制了 Km 的增殖^[19]。

2.4 BCPs 的理化特性

色泽是衡量食品色调、明度及饱和度的综合指标，可直接影响消费者接受度^[20]。蓝莓汁的 *L*^{*}、*a*^{*}和 *b*^{*}值分别为 19.09、17.17 和 0.64（图 1B），加入胶原蛋白肽并灭菌后，*L*^{*}值增至 24.46，可能是因为胶原蛋白肽通过静电或疏水作用去除蓝莓汁的胶体颗粒（如果胶、单宁等），从而提高了亮度^[21]；*a*^{*}和 *b*^{*}值分别下降至 8.76 和-1.62，推测是由于 pH 值升高或加热灭菌改变了酚类物质的分子结构，使色泽向蓝绿色偏移^[22]。发酵过程中，*L*^{*}和 *a*^{*}值保持稳定，而 *b*^{*}值显著上升，可能归因于 Km 分泌的糖苷酶将糖苷结合态酚类物质转化为共轭体系更完整的游离多酚而增强了黄色调，同时多酚氧化降解、美拉德反应和 Km 代谢产物也可能提升 *b*^{*}值^[23-25]。由于低温抑制 Km 代谢和非酶促反应，BCPs 的 *L*^{*}（24.24）、*a*^{*}（8.72）和 *b*^{*}值（-0.96）均保持稳定。

pH 值和 TA 是判断发酵过程是否正常进行及发酵产物品质优劣的重要指标。由于蓝莓富含有机酸，蓝莓汁的 pH 值和 TA 分别为 2.85 和 1.03 g/100 mL（图 1C）。向蓝莓汁中加入胶原蛋白肽后，pH 值升至 4.36，发酵 4 h 后进一步增至 4.45，但在后续发酵及后熟阶段均无显著变化，这可归因于胶原蛋白肽良好的缓冲能力，最终 pH 值

为 4.46, 位于人的舒适酸味区间 (3.20~4.50)。F0 的 TA 为 1.41 g/100 mL, 在发酵过程中无显著性变化, 但在 BCPs 中提高至 1.51 g/100 mL, 可能是由于 Km 产生的 CO₂ 在密封体系中以碳酸的形式累积^[26]。

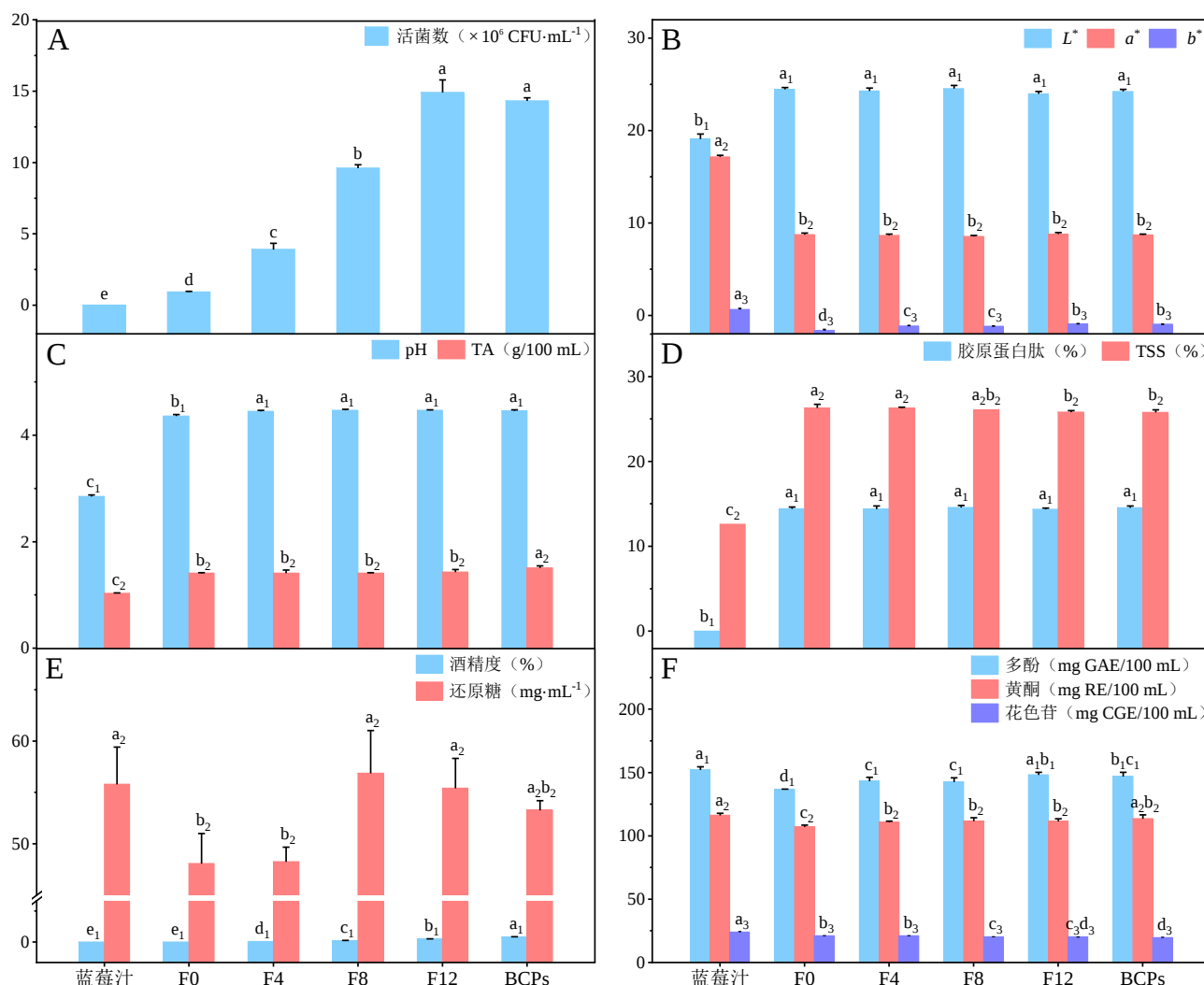


图 1 BCPs 发酵过程中活菌数 (A) 和理化特性 (B~F) 的变化

Fig.1 Changes in viable count (A) and physicochemical properties (B~F) during the fermentation of BCPs

注: 同一指标中不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

胶原蛋白肽含量可反映产品的营养价值与功能特性, 在发酵或后熟过程中均无显著性变化 (图 1D), 表明其可能未被微生物利用或代谢。TSS 作为可溶性化合物的总称, 是高效的过程控制工具与客观的品质量化指标^[14]。蓝莓汁的 TSS 为 12.60%, 加入胶原蛋白肽后提高至 26.30%, 且在 Km 发酵 8 h 时无显著变化, 表明胶原蛋白肽在蓝莓汁中具有良好的溶解性; 在发酵 12 h 时 TSS 显著降低, 可归因于 Km 利用碳水化合物、有机酸及氨基酸等维持生长繁殖, 并代谢产生酒精与 CO₂^[27]; 由于低温抑制了酵母活动, BCPs 的 TSS (25.77%) 无显著性变化。

还原糖和酒精度是评估食品风味的重要指标^[28]。蓝莓汁的还原糖含量为 55.79 mg mL⁻¹ (图 1E), 加入胶原蛋白肽并加热灭菌后显著降低, 可能归因于还原糖与胶原蛋白肽的美拉德反应。Km 发酵 4 h 时还原糖无显著变化, 8 h 时显著增加, 后续发酵或后熟阶段 (53.27 mg mL⁻¹) 又趋于稳定, 这可能是因为 Km 在生长代谢中消耗还原糖, 同时其分泌的果胶酶和 β -葡萄糖苷酶将蓝莓汁中的果胶和葡聚糖水解为半乳糖、葡萄糖等还原糖, 两者的共同作用使还原糖水平显著提高或维持动态平衡^[29]。在 Km 发酵过程中, 酒精度逐渐升高, 在 12 h 时达 0.29%, 后熟后进一步增至 0.47%, 符合 GB/T 31121-2014 要求, 这也表明 4 °C 冷藏无法完全抑制 Km 的无氧呼吸。

蓝莓汁含有丰富的多酚 (152.14 mg GAE/100 mL)、黄酮 (116.41 mg RE/100 mL) 和花青素 (24.06 mg CGE/100 mL), 但加入胶原蛋白肽并高温灭菌后分别下降至 136.92 mg GAE/100 mL、107.11 mg RE/100 mL 和 21.07 mg CGE/100 mL (图 1F), 这可能与降解、转化或与胶原蛋白肽形成复合物有

关^[30,31]。在发酵过程中,总酚和黄酮显著增加,这可能是由于 Km 产生的酶和酒精促进了多酚和黄酮的游离,同时有机酸提高了 Km 细胞膜的通透性,促进了胞内酚酸类物质释放^[23,32]。花色苷含量逐渐下降,这可能归因于三个方面: Km 分泌的糖苷酶水解了花色苷的糖苷键,美拉德反应生成的糠醛类化合物及衍生物通过亲电作用与花色苷结合而促使其降解, Km 细胞表面的甘露糖蛋白与花色苷通过疏水作用形成复合物^[33,34]。由于低温抑制微生物代谢,BCPs 的总酚(147.05 mg GAE/100 mL)、黄酮(113.63 mg RE/100 mL)或花色苷(19.70 mg CGE/100 mL)均无显著变化。

2.5 BCPs 的挥发性化合物

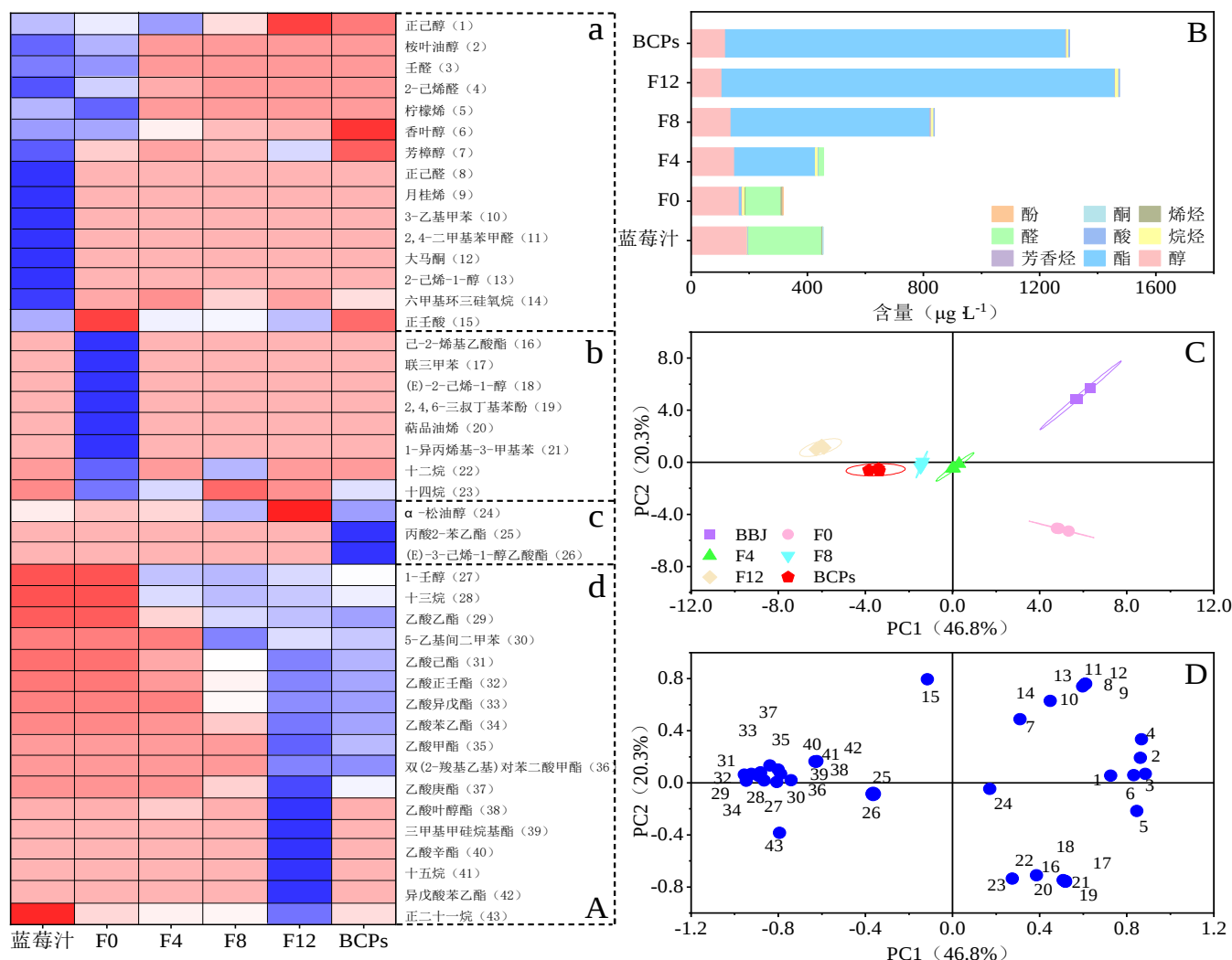


图2 BCPs 发酵过程中挥发性化合物的聚类热图 (A)、含量图 (B)、PCA 得分图 (C) 和载荷图 (D)

Fig.2 Cluster heatmap (A), content (B), PCA score (C) and loading plot (D) of volatile compounds during fermentation of BCPs

注: 图 2A 中蓝色越深表明含量越高, 红色越深表明含量越低。

挥发性化合物是食品风味的核心来源, 其种类和含量可直接影响消费者接受度^[35]。在 Km 发酵过程中共鉴定出 43 种挥发性化合物, 基于层次聚类分析可将其分为四类 (图 2A)。a 类物质在蓝莓汁中含量丰富, 包括 4 种烃、5 种醇、4 种醛、1 种酮和 1 种酸, 被认为是蓝莓特有果香风味的主要来源。该物质在 F0 中显著减少, 并在发酵过程逐渐降低, 致使 BCPs 的蓝莓果香明显下降。b 类物质主要富集于 F0, 包括 5 种烃、1 种醇、1 种酯和 1 种酚, 可能源于胶原蛋白肽或加热灭菌引起的非酶促反应, 并在发酵过程中逐渐减少。c 类物质主要生成于后熟阶段, 包括 α -松油醇、丙酸 2-苯乙酯和(E)-3-己烯-1-醇乙酸酯, 可能对后熟阶段的风味形成具有重要贡献。d 类物质包括 4 种烃、1 种醇和 12 种酯, 其在发酵过程中逐渐生成, 后熟阶段略有下降, 对 BCPs 的风味可能具有关键影响。

蓝莓汁中的主要挥发性化合物为醇类 (191.71 $\mu\text{g L}^{-1}$) 和醛类 (251.70 $\mu\text{g L}^{-1}$) (图 2B)。添加胶原蛋白肽并进行灭菌后, 二者的含量分别降至 166.05 $\mu\text{g L}^{-1}$ 和 122.13 $\mu\text{g L}^{-1}$, 这主要归因于加热过程中沸点较低或热稳定性较

差的醇类和醛类物质发生挥发或降解所致^[36]。在发酵过程中，醇类和醛类物质持续下降，而酯类含量显著升高，其原因在于醛类在乙醇脱氢酶作用下生成醇类，进而在发酵基质或微生物细胞内通过酯化反应转化为酯类物质^[37]。在后熟阶段，BCPs 中酯类含量下降至 1171.39 $\mu\text{g L}^{-1}$ ，醇类含量则上升至 118.56 $\mu\text{g L}^{-1}$ ，推测是酯类在后熟过程中发生轻微水解^[38]。

基于协方差矩阵的 PCA 结果显示，6 组样本的置信椭圆互不重叠，表明各组间的挥发性化合物存在显著差异（图 2C）。F0 与其他组别的分离主要与(Z)-己-2-烯基乙酸酯、萘品油烯、联三甲苯、1-异丙烯基-3-甲基苯、2,4,6-三叔丁基苯酚及(E)-2-己烯-1-醇等化合物相关；乙酸叶醇酯、乙酸甲酯、双(2-羧基乙基)对苯二酸甲酯、三甲基甲硅烷基酯、乙酸辛酯、异戊酸苯乙酯和十五烷则为区分 F12 与其他各组的关键物质；丙酸 2-苯乙酯与反式-3-己烯-1-醇乙酸酯是导致 BCPs 与其他各组产生差异的主要挥发性化合物（图 2D）。

香气活性值（Odor activity value, OAV）可衡量挥发性化合物对整体风味的贡献程度，OAV>1 的化合物对风味具有较大贡献，而 OAV>10 的化合物则对风味起决定性作用^[39]。在 BCPs 中共鉴定出 20 种挥发性化合物，总含量为 1301.99 $\mu\text{g L}^{-1}$ ，其中 OAV>10 的化合物包括乙酸乙酯（271.01 $\mu\text{g L}^{-1}$ ）、乙酸异戊酯（101.64 $\mu\text{g L}^{-1}$ ）、乙酸苯乙酯（222.49 $\mu\text{g L}^{-1}$ ）和乙酸己酯（480.76 $\mu\text{g L}^{-1}$ ）（表 5）。乙酸乙酯由糖酵解产生的乙醇与乙酰辅酶 A 经酯化反应生成；乙酸异戊酯和乙酸苯乙酯则分别来源于亮氨酸和苯丙氨酸代谢产生的异戊醇与苯乙醇，二者进一步与乙酰辅酶 A 发生酯化反应；乙酸己酯由脂肪酸 β -氧化生成的己醇与乙酰辅酶 A 酯化形成^[40]。此外，芳樟醇（36.53 $\mu\text{g L}^{-1}$ ）的 OAV 为 6.09，是蓝莓汁的特征性风味物质，可赋予其花香和薰衣草香气^[41]。

表 5 BCPs 的特征性挥发性化合物

Table 5 Characteristic volatile compounds of BCPs

名称	含量/($\mu\text{g L}^{-1}$)	阈值/($\mu\text{g L}^{-1}$)	OAV	香气特征
乙酸乙酯	271.01 $\pm$ 25.76	5	54.20 $\pm$ 5.15	果香
乙酸异戊酯	101.64 $\pm$ 11.70	2	50.82 $\pm$ 5.85	菠萝、花香
乙酸苯乙酯	222.49 $\pm$ 22.63	10	22.25 $\pm$ 2.26	玫瑰、蜂蜜香
乙酸己酯	480.76 $\pm$ 35.67	40	12.02 $\pm$ 0.89	果香
芳樟醇	36.53 $\pm$ 6.01	6	6.09 $\pm$ 1.00	花香、薰衣草香

2.6 BCPs 的感官评价

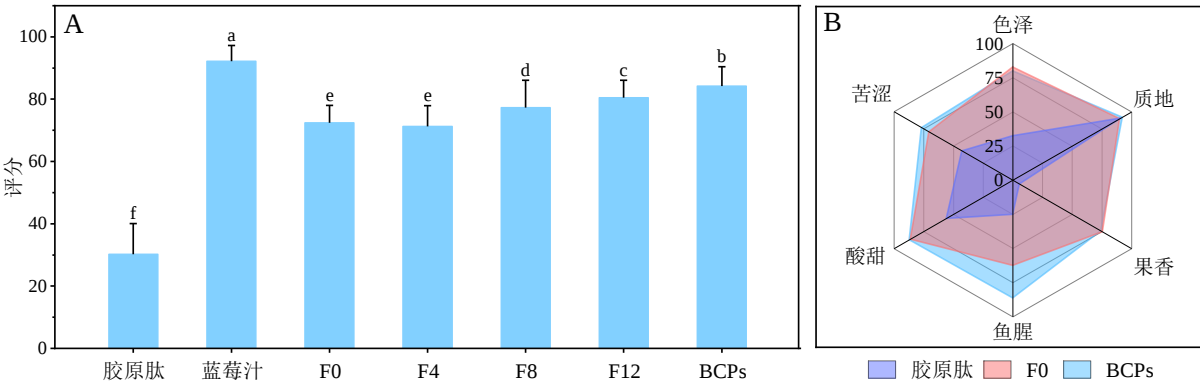


图 3 BCPs 发酵过程中的情感检验评分 (A) 及胶原蛋白肽、F0 和 BCPs 的描述检验评分 (B)

Fig.3 Affective test scores during fermentation of BCPs (A), and descriptive test scores of collagen peptidies, F0, and BCPs (B)

注：同一指标中不同字母表示差异显著（P<0.05）。

情感检验结果显示，胶原蛋白肽的评分为 30.26 分，消费者接受度较低（图 3A），而蓝莓汁的评分高达 92.14 分，具有极高的消费者接受性，二者混合后（F0）的评分提升至 72.38 分，表明蓝莓汁能有效掩蔽胶原蛋白肽的不良感官品质。与 F0 相比，Km 发酵 4 h 时评分无显著变化，随后逐渐提高，最终 BCPs 的评分达 84.20 分，表明 Km 发酵进一步提升了产品的感官品质。

描述检验结果显示，胶原蛋白肽溶液的质地评分为 90.89 分，但其他感官特征均低于 60 分（图 3B）。将胶原蛋白肽溶于蓝莓汁后（F0），除质地外其它感官特征均显著提高。这主要源于蓝莓汁的物理掩蔽作用：即蓝莓汁

的花青素在色泽上掩蔽了胶原蛋白肽的黄棕色,浓郁的果香在嗅觉上掩蔽了其腥臭味,而酸甜的口感则在味觉上掩蔽了其苦味。经 Km 发酵后,BCPs 的色泽紫红亮丽(80.01 分),质地均一稳定(92.26 分),果香淡雅清新(74.23 分),滋味酸甜适口(87.29 分),与 F0 相比均无显著差异,表明 Km 发酵过程中蓝莓汁的花青素与特征风味得到了良好保留。与此同时,BCPs 的鱼腥味(86.30 分)和苦涩味评分(76.89 分)均显著高于 F0(分别为 62.48 分和 70.64 分)。其中,鱼腥味的削减主要归因于 Km 的物理吸附、化学降解或转化作用,以及发酵过程中新生成挥发性风味化合物的物理掩蔽效应。此外,BCPs 的综合评分为 82.34 分,显著高于 F0(75.16 分)与胶原蛋白肽溶液(24.07 分),表明蓝莓汁与 Km 发酵均有效改善了胶原蛋白肽的感官品质。

3 结论

本研究采用仿生酶切技术制备了鲟鱼鳔胶原蛋白肽,进而以蓝莓汁为发酵基质,经 Km 发酵获得一款新型胶原蛋白肽饮品(BCPs)。该产品不仅实现了零添加与清洁标签,更兼具优良的理化特性及感官品质,为鱼类加工副产物的高值化利用以及风味健康型胶原蛋白肽类食品的开发开辟了新路径。未来研究仍需探明 BCPs 的安全性及货架期;结合现代仪器分析及多肽组学、代谢组学技术,解析 BCPs 中的生物活性成分及 Km 发酵过程中的代谢转化机制;通过细胞、动物及临床试验,联合分子生物学与转录组学、蛋白组学技术,进一步阐明 BCPs 的生理功效及其分子调控机制。

参考文献

- [1] 杨子帆,张科,刘莹,等.鲟鱼和草鱼鱼鳔酶溶性胶原蛋白的理化性质比较[J].食品工业科技,2021,42(15):27-32.
- [2] WANG L, LI P Y, ZHENG F P, et al. Collagen peptides from sturgeon swim bladder prolong the lifespan and healthspan in *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(9): 5244-5251.
- [3] WANG L, WANG X X, BAI F, et al. The anti-skin-aging effect of oral administration of gelatin from the swim bladder of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) [J]. Food & Function, 2019, 10(7): 3890-3897.
- [4] ZHANG M Y, CHEN T, HU J, et al. Collagen (peptide) extracted from sturgeon swim bladder: Physicochemical characterization and protective effects on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in mice [J]. Food Chemistry, 2025, 466: 142217.
- [5] ZENG F J, LI H Z, WANG C Y, et al. Sturgeon swim bladder hydrolysates alleviate cadmium-induced reproductive toxicity in male mice via regulating homeostasis of gut microbiota and testicular redox [J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105244.
- [6] REINA-POSSO D, GONZALES-ZUBIATE F A. Expanding horizons: The untapped potential of *Kluyveromyces marxianus* in biotechnological applications [J]. Fermentation-Basel, 2025, 11(2): 98.
- [7] GAO P, XIA W S, LI X Z, et al. Use of wine and dairy yeasts as single starter cultures for flavor compound modification in fish sauce fermentation [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2300.
- [8] YU J, GAO X P, YU G, et al. Synthetic microbial communities: A new strategy to enhance texture, taste, and flavor attributes of slightly fermented dried bonito [J]. Food Research International, 2025, 218: 116911.
- [9] WANG J, NIE C Z, YANG W, et al. Decoding the mechanism of flavor improvement mediated by inoculated starter cultures in low-salt HuangYuXiang: From lipids to volatile flavor compounds [J]. Food Bioscience, 2025, 71: 107251.
- [10] 王林.一种延缓衰老的鱼源胶原蛋白肽的制备方法 中国,CN201811518157.8[P].2019-03-26.
- [11] TYLINGO R, MANIA S. Isolation and characterization of acid soluble collagen from the skin of african catfish (*Clarias gariepinus*), salmon (*Salmo salar*) and baltic cod (*Gadus morhua*) [J]. Journal of Biotechnology & Biomaterials, 2016, 6(2): 1000234.
- [12] 朱俊颖,王耀松,赵黎明,等.复合酶法制备高纯度鱼基质胶原蛋白肽[J].中国食品学报,2015,15(12):47-54.
- [13] WANG L, LI P Y, REN Y H, et al. A novel extraction approach and unique physicochemical properties of gelatin from the swim bladder of sturgeon [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 101(7): 2912-2919.
- [14] LI Y J, MA B X, LI C, et al. Accurate prediction of soluble solid content in dried hami jujube using SWIR hyperspectral imaging with comparative analysis of models [J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2022, 193: 106655.
- [15] FENG M M, SHI J, MA S P, et al. Profiling the flavor and peptide characteristics in fish-derived oligopeptides based on a quantitative peptide profile and bionic sensory technology [J]. Food Research International, 2025, 218: 116925.
- [16] ONODERA M, FUKAE R, KATO Y, et al. Effects of molecular weight of added collagen-peptide from porcine skin on rheological and

- thermal properties of agar gels [J]. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2011, 58(4): 150-158.
- [17] 李佩玉.基于多组学的鲟鱼鳔胶原蛋白肽延缓衰老作用及分子机制研究[D].镇江:江苏大学,2021.
- [18] 唐宗馨,杨硕,段勃帆,等.基于蔗糖代谢途径分析保加利亚乳杆菌的后酸化性能[J].现代食品科技,2023,39(12):142-150.
- [19] XU Z B, LI Y Q, LIU Z Q, et al. Current knowledge on cryogenic microorganisms and food safety in refrigerators [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 146: 104382.
- [20] 王杰,鲍晓龙,汪兰,等.烤制大口黑鲈短期冻藏过程中的品质变化[J].中国调味品,2025,50(9):12-17.
- [21] WANG B, HEINONEN M. Protein-tannin interactions of tryptic digests of α -lactalbumin and procyanidins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(1): 148-155.
- [22] YOU Y L, LI N, HAN X, et al. Influence of different sterilization treatments on the color and anthocyanin contents of mulberry juice during refrigerated storage [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2018, 48: 1-10.
- [23] 李子晏,陈颖,刘瑞玲,等.发酵时间对蓝莓-胶原蛋白肽饮料功能特性与风味品质的影响[J].食品工业科技,2026,47(3):124-137.
- [24] PIEMOLINI-BARRETO L T, ZACARIA J, DELAMARE A P L, et al. Variation in phenolic compounds, anthocyanins, and color in red wine treated with enzymatic extract of *Kluyveromyces marxianus* [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2014, 30(5): 1541-1547.
- [25] HSIEH H J, LIN J A, CHEN K T, et al. Thermal treatment enhances the α -glucosidase inhibitory activity of bitter melon (*Momordica charantia*) by increasing the free form of phenolic compounds and the contents of Maillard reaction products [J]. Journal of Food Science, 2021, 86(7): 3109-3121.
- [26] 张倩茹,殷龙龙,尹蓉,等.果酒主要成分及其功能性研究进展[J].食品与机械,2020,36(4):226-230.
- [27] 杨杰,韦娇霞,黄翠姬,等.固定化酵母应用于百香果汁酒精发酵的研究[J].食品科技,2020,45(8):84-91.
- [28] CHEN T, WEI C K, LI T, et al. Effects of reducing sugars on the structural and flavor properties of the maillard reaction products of *Lycium barbarum* seed meal [J]. Foods, 2023, 12(23): 4346.
- [29] RAVEENDRAN S, PARAMESWARAN B, UMMALYMA S B, et al. Applications of microbial enzymes in food industry [J]. Food Technology and Biotechnology, 2018, 56(1): 16-30.
- [30] LI X, ZHU F Y, ZENG Z W. Effects of different extraction methods on antioxidant properties of blueberry anthocyanins [J]. Open Chemistry, 2021, 19(1): 138-148.
- [31] 苟彦君,胡孝君,林德贤,等.胶原蛋白与多酚相互作用机理研究及应用进展[J].食品与发酵工业,2024,50(14):357-363.
- [32] TANG F H, WEI B Y, QIN C, et al. Enhancing the inhibitory activities of polyphenols in passion fruit peel on α -Amylase and α -Glucosidase via β -Glucosidase-producing *Lactobacillus* fermentation [J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105005.
- [33] MONTEIRO L M O, PEREIRA M G, VICI A C, et al. Efficient hydrolysis of wine and grape juice anthocyanins by *Malbranchea pulchella* β -glucosidase immobilized on MANAE-agarose and ConA-Sepharese supports [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136: 1133-1141.
- [34] GONCALVES F J, FERNANDES P, WESSEL D F, et al. Interaction of wine mannoproteins and arabinogalactans with anthocyanins [J]. Food Chemistry, 2018, 243: 1-10.
- [35] WU T, YIN J X, WU X L, et al. Discrimination and characterization of volatile organic compounds in *Lonicerae Japonicae* flos and *Lonicerae* flos using multivariate statistics combined with headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry and headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry techniques [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2024, 38(6): 9693.
- [36] XI J Z, ZHAO Q Y, XU D, et al. Volatile compounds in Chinese steamed bread influenced by fermentation time, yeast level and steaming time [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 141: 110861.
- [37] 杨洋洋,冶海潇,梁安健,等.不同地区甜酒曲发酵米酒工艺的优化及风味成分比较分析[J].现代食品科技,2025,41(8):257-265.
- [38] HUANG Z J, ZENG Y H, SUN Q Y, et al. Insights into the mechanism of flavor compound changes in strong flavor baijiu during storage by using the density functional theory and molecular dynamics simulation [J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131522.
- [39] CHEN S, TANG J, FAN S S, et al. Comparison of potent odorants in traditional and modern types of Chinese *Xiaoqu* Liquor (Baijiu) based on odor activity values and multivariate analyses [J]. Foods, 2021, 10(10): 2392.

- [40] KRUIS A J, LEVISSON M, MARS A E, et al. Ethyl acetate production by the elusive alcohol acetyltransferase from yeast [J]. Metabolic Engineering, 2017, 41: 92-101.
- [41] PICO J, GERBRANDT E M, CASTELLARIN S D. Optimization and validation of a SPME-GC/MS method for the determination of volatile compounds, including enantiomeric analysis, in northern highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130812.