

脱灰与未脱灰黄鲷鱼骨胶原蛋白肽功能特性比较

张金库¹, 杨星伟¹, 朱素芹², 齐新原^{1,3}, 于建伟^{1,4}, 赵子方^{1,3*}, 吴浩浩^{1*}, 曾名湧¹

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266400) (2. 青岛大学公共卫生学院, 山东青岛 266021)
(3. 海口市生物多肽技术研究开发中心, 海南省生物多肽工程技术研究中心, 海南华研胶原蛋白科技股份有限公司, 海南海口 571000) (4. 烟台新时代健康产业日化有限公司, 山东烟台 261400)

摘要: 为了提高黄鲷鱼骨资源的利用价值, 该研究以黄鲷鱼骨为原料, 探讨脱灰处理对黄鲷鱼骨胶原蛋白肽制备的影响。通过碱性蛋白酶水解脱灰与未脱灰黄鲷鱼骨制备胶原蛋白肽, 结合分子量分布、氨基酸组成、红外光谱和功能特性分析, 发现脱灰处理 ($0.50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸处理) 使 $<1000 \text{ Da}$ 寡肽占比提升至 75.96%, 重均分子量由 587 Da 降低至 441 Da 。脱灰鱼骨 (DMB) 胶原蛋白肽中甘氨酸 (313/1000) 和亚氨基酸 (174/1000) 显著富集, 酰胺 A 带蓝移 3.8 cm^{-1} , 表明分子规整度提高。功能特性方面, DMB 胶原蛋白肽吸水率 (96.14%) 和持水率 (65.33%) 较未脱灰鱼骨 (MB) 胶原蛋白肽分别提升 16.09% 和 10.09%, 吸油性由 $4.63 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 降至 $4.32 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 特征肽段 X-Hyp-Gly 含量增加 11.23%, 显示出更强的生物活性。研究结果表明, 脱灰处理能够显著提升黄鲷鱼骨胶原蛋白肽的小分子肽占比、氨基酸组成规整度以及吸水率、持水率, 对提高黄鲷鱼骨资源利用价值具有积极作用, 为其在食品领域中的应用提供理论基础和技术支撑。

关键词: 黄鲷鱼; 鱼骨; 胶原蛋白肽; 脱灰

文章编号: 1673-9078(2026)07-78-84

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.7.0507

Comparison of the Functional Properties of Demineralized and Mineralized *Seriola lalandi* Bone Collagen Peptides

ZHANG Jinku¹, YANG Xingwei¹, ZHU Suqin², QI Xinyuan^{1,3}, YU Jianwei^{1,4}, ZHAO Zifang^{1,3*}, WU Haohao^{1*}, ZENG Mingyong¹

(1.College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266400, China) (2.School of Public Health, Qingdao University, Qingdao 266021, China) (3.Haikou Bio-Peptide Technology Research and Development Center/Hainan Bio-Peptide Engineering Technology Research Center, Hainan Huayan Collagen Technology Co. Ltd., Haikou 571000, China) (4.Yantai New Era Health Industry Cosmetics Co. Ltd., Yantai 261400, China)

Abstract: To enhance the utilization value of *Seriola lalandi* bone resources, this study investigated the effects of demineralization treatment on collagen-peptide preparation from *S. lalandi* bones. Collagen peptides were prepared from demineralized *S. lalandi* bone (DMB) and mineralized *S. lalandi* (MB) via alkaline protease hydrolysis. Through analyses of molecular-weight distribution, amino acid composition, infrared spectroscopy, and functional properties, the study revealed that

引文格式:

张金库,杨星伟,朱素芹,等.脱灰与未脱灰黄鲷鱼骨胶原蛋白肽功能特性比较[J].现代食品科技,2026,42(7):78-84.

ZHANG Jinku, YANG Xingwei, ZHU Suqin, et al. Comparison of the functional properties of demineralized and mineralized *Seriola lalandi* bone collagen peptides [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(7): 78-84.

收稿日期: 2025-04-11; 修回日期: 2025-05-19; 接受日期: 2025-05-20

基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2024XDNY191); 烟台市开发区科技领军人才项目 (2021RC014); 国家自然科学基金 (8200120914; 32272240); 山东省重大科技创新工程项目 (2022CXGC020414); 三亚市科技创新专项项目 (2022KJCX59); 海口市重大科技计划项目 (2220016000054)

作者简介: 张金库 (2000-), 男, 在读硕士, 研究方向: 水产品高值化利用, E-mail: 1932340155@qq.com

通讯作者: 赵子方 (1987-), 男, 博士研究生, 工程师, 研究方向: 水产生物活性肽, E-mail: 290638921@qq.com; 共同通讯作者: 吴浩浩 (1987-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品高值化利用, E-mail: wuhaohao@ouc.edu.cn

demineralization treatment ($0.50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hydrochloric acid) increased the proportion of $<1\ 000 \text{ Da}$ oligopeptides to 75.96%, while decreasing the weight-average molecular weight from 587 to 441 Da. DMB collagen peptides showed significant enrichment of glycine (313 residues per 1 000) and amino acids (174 residues per 1 000), with a 3.8 cm^{-1} blue shift in the amide A band, indicating improved molecular regularity. In terms of functional properties, DMB collagen peptides exhibited a water absorption capacity of 96.14% and a water-holding capacity of 65.33%, representing increases of 16.09% and 10.09% compared to MB collagen peptides, respectively. Its oil absorption capacity decreased from 4.63 to $4.32 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, while the content of the characteristic tripeptide X-Hyp-Gly increased by 11.23%, suggesting enhanced bioactivity. These results demonstrate that demineralization treatment significantly improves the proportion of small-molecule peptides, amino acid compositional regularity, water absorption capacity, and water-holding capacity of *S. lalandi* bone collagen peptides. This study contributes to enhancing the utilization value of *S. lalandi* bone resources, offering a theoretical foundation and technical support for their application in the food industry.

Key words: *Seriola lalandi*; fish bone; collagen peptides; demineralization

黄鲷鱼又称黄条鲷、黄尾鲷、拉氏鲷，俗称黄腱牛、黄腱子，其肉质鲜嫩、营养价值高，主要用于制作生鱼片，是我国近年来用于发展深远海养殖的优良鱼种^[1]。黄鲷鱼骨约占鱼体总质量的 15%，富含胶原蛋白，是黄鲷鱼类加工的重要副产物，目前黄鲷鱼骨的利用率较低，大量鱼骨被废弃或仅作为低附加值的饲料原料使用，造成了资源浪费，亟待开发利用。胶原蛋白因其优良的生物相容性和生理活性，在食品、医药及化妆品等领域备受关注^[2]。目前，蛋白酶水解法因反应条件温和、效率高、工艺环保及低成本等优势，成为制备胶原蛋白肽的常用技术^[3]。鱼骨中的胶原蛋白主要为 I 型，含有多种人体必需氨基酸，是一种良好的提取胶原蛋白的原料。Ramli 等^[4]从笛鲷属鱼骨中提取的胶原蛋白产量为 4.535%，可用作天然抗癌剂。He 等^[5]利用半仿生萃取方法从废鱼中分离出钙、软骨素以及胶原蛋白。然而，黄鲷鱼骨中大量灰分（主要为羟基磷灰石结合的生物钙，即从生物体内提取的与羟基磷灰石结合的钙化合物）导致胶原蛋白与矿物质紧密结合，不仅增加提取难度，还降低了产物质量^[6]，因此脱灰处理成为提升胶原蛋白提取效率的关键步骤。鱼骨脱灰主要有盐酸法和 EDTA 法等，其中 EDTA 法的作用浓度和时间较难掌握，且该方法操作比较繁琐，特别是 EDTA 存在难以溶解、容易损伤人体皮肤等问题^[7]，而盐酸法实际操作简便、成本低，脱灰效果较好^[6]。John 等^[8]利用盐酸对罗非鱼骨进行不同时间的脱灰处理，提取高质量的细胞外基质。Lingam 等^[9]以鱼废弃物为原料，通过盐酸脱灰制备的脱矿骨基质具有多孔结构和良好的成骨潜力，可作为骨再生材料的替代来源。因此本实验采用盐酸法进行脱灰。

本研究聚焦于黄鲷鱼骨胶原蛋白肽的制备与特性探究。深入分析黄鲷鱼骨各基本成分含量，通过脱灰处理对比制备产品的酶解效果和特性影响。借助氨基酸组成分析，确定未脱灰鱼骨（Mineralized *Seriola*

lalandi Bone, MB）与脱灰鱼骨（Demineralized *Seriola lalandi* Bone, DMB）胶原蛋白肽的氨基酸种类及含量，揭示脱灰处理对关键氨基酸保留的影响。利用分子量分布情况分析，探究脱灰前后胶原蛋白肽的分子量变化及其对人体吸收的影响。借助傅里叶变换红外光谱分析，探究胶原蛋白肽分子官能团的变化情况。评估胶原蛋白肽的吸水性、持水性和吸油性，进一步对 MB 和 DMB 胶原蛋白肽特征肽段进行分析，揭示脱灰处理对黄鲷鱼骨胶原蛋白肽制备及功能特性的影响。

1 材料与仪器

1.1 主要试剂与原料

黄鲷鱼均产于海南省周边海域，黄鲷鱼排由海南建良南极虾食品有限公司代为加工。盐酸、乙酸镁，购于四川西陇科学有限公司；甲酸，购于上海麦克林生化科技有限公司；碱性蛋白酶，购于沧州夏盛酶生物技术有限公司；鱼胶原蛋白肽，市售（百福美品牌）。

1.2 主要仪器与设备

MDP-150 小型喷雾干燥机，购于上海力辰邦西仪器科技有限公司；800Y 高速粉碎机，购于铂欧五金制品有限公司；DF-101T-5L 电热恒温水浴锅，购于上海力辰邦西仪器科技有限公司；722S 可见分光光度计，购于上海菁华科技仪器有限公司；LC-600 液相色谱仪，购于南京科捷分析仪器有限公司；日立 -L8900 全自动氨基酸分析仪，购于日立高新技术公司；LC-QQQ 液相色谱-三重四级杆质谱联用仪，购于安捷伦科技（中国）有限公司；HF90 二氧化碳恒温培养箱，购于力康生物医疗科技有限公司；DM0412 低温冷冻离心机，购于北京大龙兴创实验仪器公司；SW-CJ-1FD 超净工作台，购于苏州安泰空气技术有限公司；Nicolet iS10 傅里叶变换红外光谱仪，购于美国赛默飞世尔公司；

XQM-2 球磨机, 购于长沙天创粉末技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鱼骨基本成分测定

(1) 鱼骨水分含量测定: 根据 GB 5009.3-2016^[10] 直接干燥法进行测定;

(2) 鱼骨粗脂肪含量测定: 根据 GB 5009.6-2016^[11] 索氏抽提法进行测定;

(3) 鱼骨粗蛋白含量测定: 根据 GB 5009.5-2016^[12] 凯氏定氮法进行测定;

(4) 鱼骨灰分含量测定: 根据 GB 5009.4-2016^[13] 食品中总灰分的测定进行测定;

(5) 鱼骨总糖含量测定: 根据 GB 9695.31-2008^[14] 分光光度法进行测定。

1.3.2 鱼骨高压前处理及酶解工艺流程

黄鲷鱼排洗净、蒸煮、去除残肉, 得到黄鲷鱼骨, 并用高温高压技术 (0.08 MPa、120 °C 条件下处理 2.0 h) 软化鱼骨, 软化的鱼骨利用 800Y 高速粉碎机粉碎至完全粉碎成较小颗粒后, 烘干后利用 XQM-2 球磨机研磨成粉, 过 60 目筛, 得到黄鲷鱼骨粉待用。

MB 与 DMB 胶原蛋白肽酶解制备工艺流程:

黄鲷鱼骨粉 → 0.50 mol·L⁻¹ 盐酸脱灰^[7] (MB 样品不进行此步骤) → 酶解 → 灭酶 → 抽滤 → 脱色 → 抽滤 → 旋转蒸发 → 喷雾干燥 → 成品

脱灰工艺在刘闪等^[7]的基础上略作修改, 设置为盐酸浓度 0.50 mol·L⁻¹, 料液比 1:8 (g·mL⁻¹), 浸酸时间 45 min, 搅拌速度 100 r·min⁻¹。

根据生产实际将酶解条件设置为酶解温度 56.0 °C, 加酶量 1.00%, 酶解时间 2.0 h。

1.3.3 氨基酸组成分析

按照 GB 5009.124-2016^[15] 对样品进行前处理, 使用全自动氨基酸分析仪对氨基酸含量进行测定。氨基酸含量用残基数量 / 1 000 个氨基酸残基表示。所有结果均为三次独立测定的平均值。

1.3.4 分子量分布的测定

采用高效液相色谱法测定样品分子量分布情况。色谱条件为: 色谱柱选用 TSK G2000 SWXL 300 mm×700 mm, 柱温为 30 °C, 流动相为乙腈:超纯水:三氟乙酸 (40:60:0.05), 流量为 0.50 mL·min⁻¹, 检测波长为 220 nm, 进样体积为 10 μL, 样品质量浓度为 0.125 mg·mL⁻¹。

1.3.5 红外光谱分析

参照 Aase 等^[16]的方法, 取少量 MB 与 DMB 胶原

蛋白肽样品与适量溴化钾粉末在干燥条件下充分研磨混匀, 压片, 再将其置于模具中, 放入样品室待测。以纯溴化钾为背景, 用傅里叶变换红外光谱仪在波数范围 4 000~500 cm⁻¹ 进行检测, 分辨率为 4 cm⁻¹, 扫描次数为 64 次。

1.3.6 功能特性测定

1.3.6.1 吸水率

分别称取 1 g MB 与 DMB 胶原蛋白肽样品平铺于培养皿中, 记样品质量为 m , 样品和培养皿总质量为 m_1 , 之后将其置于室内相对湿度为 85% 的干燥器中, 每间隔 5 h 称量一次培养皿质量, 当两次质量差 ≤ 0.000 2 g 时停止称量, 记录此时培养皿的质量为 m_2 , 同时对市售鱼胶原蛋白肽吸水率进行测定, 根据下式计算 MB 与 DMB 胶原蛋白肽吸水率:

$$W = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

W —吸水率, %;

m —样品质量, g;

m_1 —样品和培养皿总质量, g;

m_2 —培养皿两次质量差 ≤ 0.000 2 g 时培养皿的质量, g。

1.3.6.2 持水率

分别将 1 g MB 与 DMB 胶原蛋白肽样品置于培养皿中, 加入 1 mL 超纯水, 记样品质量为 m , 样品溶水后与培养皿总质量为 m_1 , 之后将其置于室内相对湿度为 85% 的干燥器中, 每隔 30 min 称量一次培养皿总质量, 至恒重后停止称量, 记录此时培养皿的质量为 m_2 , 同时对市售鱼胶原蛋白肽持水率进行测定, 根据下式计算 MB 与 DMB 胶原蛋白肽的持水率:

$$Y_w = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

Y_w —持水率, %;

m —样品质量, g;

m_1 —样品和培养皿总质量, g;

m_2 —培养皿两次质量差 ≤ 0.000 2 g 时培养皿的质量, g。

1.3.6.3 吸油性

分别称取 0.5 g MB 与 DMB 胶原蛋白肽样品置于 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 大豆油, 记样品质量为 m , 大豆油体积为 V_1 , 混匀后于室温下静置 15 min, 然后 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 记录游离油的体积为 V_2 。以相同方法测定市售鱼胶原蛋白肽吸油性, 根据公式 (3) 计算吸油性:

表 1 黄鲷鱼骨粉的基本成分

Table 1 The basic components of yellowtail bone meal

成分	水分	灰分	脂肪	总糖	粗蛋白质
含量 (wt.%)	8.21 ± 0.45	56.85 ± 1.19	6.06 ± 0.36	1.49 ± 0.16	24.81 ± 0.70

表 2 氨基酸组成分析

Table 2 Amino acid composition analysis

氨基酸种类	相对含量/(个数/1 000 个残基, %)		氨基酸种类	相对含量/(个数/1 000 个残基, %)	
	DMB 胶原蛋白肽	MB 胶原蛋白肽		DMB 胶原蛋白肽	MB 胶原蛋白肽
牛磺酸 Tau	0.40 ± 0.10	0.60 ± 0.10	酪氨酸 Tyr	0.30 ± 0.10	0.50 ± 0.10
天冬氨酸 Asp	5.20 ± 0.20	6.40 ± 0.20	苯丙氨酸 Phe	1.00 ± 0.10	1.10 ± 0.10
苏氨酸 Thr	3.10 ± 0.20	3.70 ± 0.10	赖氨酸 Lys	2.90 ± 0.20	3.20 ± 0.20
丝氨酸 Ser	4.20 ± 0.20	4.30 ± 0.20	组氨酸 His	0.60 ± 0.10	0.60 ± 0.10
谷氨酸 Glu	8.10 ± 0.30	9.60 ± 0.30	精氨酸 Arg	4.60 ± 0.20	3.70 ± 0.20
甘氨酸 Gly	31.30 ± 0.30	28.00 ± 0.20	脯氨酸 Pro	10.40 ± 0.20	8.80 ± 0.20
丙氨酸 Ala	13.60 ± 0.20	13.70 ± 0.20	羟脯氨酸 Hypro	7.10 ± 0.30	5.70 ± 0.40
半胱氨酸 Cys	0.00 ± 0.00	0.10 ± 0.00	必需氨基酸 ∑EAA	14.30 ± 0.50	18.00 ± 0.70
缬氨酸 Val	2.50 ± 0.20	3.30 ± 0.20	非必需氨基酸	85.70 ± 1.10	82.00 ± 1.00
甲硫氨酸 Met	1.10 ± 0.10	1.40 ± 0.10	亚氨基酸	17.40 ± 0.40	14.50 ± 0.50
异亮氨酸 Ile	1.20 ± 0.20	1.80 ± 0.20	疏水性氨基酸	32.20 ± 0.40	33.70 ± 0.40
亮氨酸 Leu	2.50 ± 0.20	3.60 ± 0.20	total	100.00	100.00

$$X = \frac{V_2 - V_1}{m} \tag{3}$$

式中:

X ——吸油性, mL·g⁻¹;

m ——样品质量, g;

V_1 ——大豆油体积, g;

V_2 ——离心后游离油的体积, g。

1.3.7 特征肽段分析

1.3.7.1 色谱条件

采用 Waters UPLC BEH300 C18 (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以体积分数为 100% 乙腈溶液 (A) 和体积分数为 0.1% 甲酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱。流量为 0.4 mL·min⁻¹, 检测波长为 214 nm, 柱温为 40 ℃, 进样体积为 2 μL, 样品室温度为 8 ℃。

1.3.7.2 质谱条件

采用电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式, 脱溶剂气流速为 8 L·min⁻¹, 脱溶剂气温度为 350 ℃, 毛细管电压为 4.5 kV, 锥孔电压 35 V, 源温 120 ℃, 数据采集范围 (m/z) 为 50~1 000。采用 MSE 模式获取特征肽段母离子一级质谱和二级质谱数据。

1.3.8 数据分析

本文使用 SPSS 22.0 软件进行实验数据处理和显著性分析, 采用 Origin 软件进行图表绘制, 各实验结

果均取 3 次平行测定的平均值。采用 Design expert 13 软件进行响应面数据三元二次回归拟合分析。

2 结果与分析

2.1 鱼骨基本成分

黄鲷鱼骨各基本成分含量见表 1, 灰分是其重要成分, 占比高达 56.85 wt.%, 可通过纯化处理, 作为食品添加剂用于保健食品, 补充人体必需的矿物质。灰分中的羟基磷灰石和磷酸钙与胶原蛋白相互结合, 对胶原蛋白的提取可能会产生一定影响, 因此后续研究对鱼骨脱灰前后制备产品特性进行了探究。其次是蛋白质, 粗蛋白含量占 24.81 wt.%, 蛋白质含量较为丰富, 适宜于后续提取。水分含量占 8.21%, 糖 (1.49 wt.%) 和脂肪 (6.06 wt.%) 含量均较低, 不易发生氧化影响产品风味, 对后续操作影响较小。

2.2 MB与DMB胶原蛋白肽的氨基酸组成

MB 与 DMB 胶原蛋白肽根据 1.3.2 步骤制备后分析氨基酸组成, 如表 2 所示。MB 与 DMB 胶原蛋白肽均符合水产胶原蛋白特征, 含羟脯氨酸 (特征性氨基酸) 及除色氨酸外的 7 种必需氨基酸, 其中羟脯氨酸是胶原蛋白的特征氨基酸。MB 胶原蛋白肽检测到

19种氨基酸(含2种半必需氨基酸、牛磺酸),甘氨酸占比最高(280/1 000个氨基酸残基),亚氨基酸(脯氨酸+羟脯氨酸)含量达145/1 000个氨基酸残基,疏水性氨基酸337/1 000个氨基酸残基,均高于报道的马面鱼骨胶原蛋白肽(91/1 000个氨基酸残基)^[17]。DMB胶原蛋白肽有18种氨基酸(无半胱氨酸),甘氨酸显著提升至313/1 000个氨基酸残基,亚氨基酸比例增至174/1 000个氨基酸残基(提升2.90%),疏水性氨基酸322/1 000与MB胶原蛋白肽相近,酪氨酸成为最低含量(3/1 000个氨基酸残基)。脱灰处理可以有效保留胶原蛋白肽的关键氨基酸,He等^[18]通过双酶水解(木瓜蛋白酶和复合蛋白酶)和优化的超声辅助保留了废弃牛皮胶原蛋白肽中的关键氨基酸序列,从而增强其生物活性。

2.3 MB与DMB胶原蛋白肽的分子量分布

根据氨基酸的数量和肽的分子量大小,蛋白肽可分为寡肽和多肽。寡肽由2~10个氨基酸组成,分子量通常在1 000 Da以下。多肽则包含10~1 000个氨基酸,分子量一般介于1 000~3 000 Da之间。小分子肽相较于大分子量的胶原蛋白多肽,更易于被人体吸收。MB与DMB胶原蛋白肽的分子量分布情况如表3所示。MB胶原蛋白肽分子量在1 000 Da以下的胶原蛋白肽占67.02%,1 000~2 000 Da的占16.97%,2 000 Da以上的占15.23%。其中,胶原三肽(189~500 Da)占比为31.44%,重均分子量(M_w)为587 Da。DMB胶原蛋白肽分子量在1 000 Da以下的胶原蛋白肽占75.96%,1 000~2 000 Da之间的占15.75%,2 000 Da以上的占8.29%。胶原三肽(189~500 Da)占比为37.35%, M_w 为441 Da。与脱灰前相比,脱灰后1 000 Da以下的胶原蛋白肽含量提高了约8.94%,胶原三肽占比提高了约5.91%,同时 M_w 明显下降,2 000 Da以上的胶原蛋白肽含量降低了约6.94%。这些变化表明脱灰后的鱼骨水解效果更佳,可能是因为脱灰处理去除了与胶原蛋白结合的羟基磷灰石,从而使鱼骨更易于被酶解。含有2~6个氨基酸的寡肽能够在小肠中通过寡肽转运体被快速吸收,并且在进入小肠后仍保持完整肽链,其生物活性也不会被破坏。经小肠吸收后,这些寡肽可进入人体循环系统并发挥其生理作用。而大分子量的胶原蛋白多肽则需要体内被进一步水解成寡肽或氨基酸才能被吸收。DMB胶原蛋白肽不仅寡肽含量更高,而且 M_w 更低,因此具有更高的营养价值,更易于被人体吸收。与MB胶原蛋白肽相比,DMB胶原蛋白肽中寡肽含量更多(75.96%),具有较高的营养价值并且易于被人体吸收,可考虑将其有针对性地应

用于保健或美容等领域。蔡金秀等^[19]从鲑鱼皮胶原蛋白中制备出的胶原蛋白肽分子量主要分布在1~5 kDa(占总重的45.58%),脱灰处理后的黄鲈鱼骨胶原蛋白肽,<1 000 Da多肽占比更高,这可能与鱼骨和鱼皮的胶原蛋白结构及酶解工艺的差异有关。王秋萍等^[20]利用鲑鱼碎肉经固定化胃蛋白酶和固定化风味蛋白酶分步水解后制备高F值寡肽。

2.4 MB与DMB胶原蛋白肽的红外光谱特征

如图1所示,MB与DMB胶原蛋白肽均表现出典型胶原蛋白红外光谱特征。其中,酰胺A带(N-H/O-H/C-H伸缩振动)在MB胶原蛋白肽中位于 $3\ 288\text{ cm}^{-1}$,DMB胶原蛋白肽蓝移至 $3\ 326\text{ cm}^{-1}$,表明脱灰处理后N-H基团的氢键作用模式发生调整,其振动自由度或分子间相互作用存在差异;酰胺B带(C-H不对称振动)波数分别为 $2\ 938\text{ cm}^{-1}$ (MB胶原蛋白肽)和 $2\ 969\text{ cm}^{-1}$ (DMB胶原蛋白肽),与传统马面鱼骨胶原图谱的共性特征相比,在C-H振动模式上存在脱灰导致的特异性结构分化^[17]。酰胺I带(C=O伸缩振动)波数从MB胶原蛋白肽的 $1\ 650\text{ cm}^{-1}$ 红移至DMB胶原蛋白肽的 $1\ 652\text{ cm}^{-1}$,反映分子规整度提升,Song等^[21]发现尼罗罗非鱼皮肤胶原蛋白的酰胺I带位于 $1\ 677\text{ cm}^{-1}$,经交联处理后红移至 $1\ 636\text{ cm}^{-1}$,同时热稳定性显著提高,表明酰胺I带红移是分子链规整性增强的普遍特征;酰胺II带(C-N/N-H扭转振动)波数分别为 $1\ 558\text{ cm}^{-1}$ (MB胶原蛋白肽)和 $1\ 542\text{ cm}^{-1}$ (DMB胶原蛋白肽),与大黄鱼骨明胶共性特征波数相比,二者在N-H扭转振动模式上的差异反映了脱灰处理对肽链局部构象的特异性影响^[22]。此外,二者在 $1\ 300\sim 1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 范围内均存在酰胺III带(脯氨酸/甘氨酸- CH_2 振动),表明侧链氢键复合结构保留。

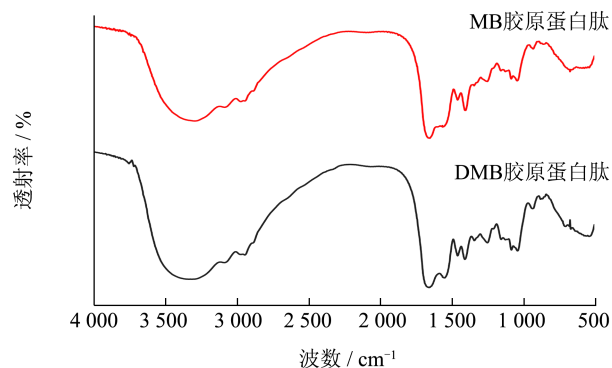


图1 MB和DMB胶原蛋白肽的红外光谱图

Fig.1 Infrared spectrum of MB collagen peptide and DMB collagen peptide

表 3 MB和DMB胶原蛋白肽分子量分布

Table 3 Molecular weight distribution of MB collagen peptide and DMB collagen peptide

类别	189~500 Da/%	≤1 000 Da/%	1 000~2 000 Da/%	≥2 000 Da/%	Mw/Da
MB 胶原蛋白肽	31.44	67.02	16.97	15.23	587
DMB 胶原蛋白肽	37.35	75.96	15.75	8.29	441

2.5 MB与DMB胶原蛋白肽的功能特性分析

吸水性是胶原蛋白肽在一定条件下与水分达到动态干湿平衡后含水量的体现，是胶原蛋白肽重要的功能特性之一，与温度和蛋白质的氨基酸组成等因素有关，反映蛋白质或胶原蛋白肽吸收水分的能力。如表 4 所示，MB 胶原蛋白肽的吸水率为 82.83%，高于市售鱼胶原蛋白肽（180~1 000 Da）的吸水率（62.12%）。这可能是因为胶原蛋白水解后，其分子结构被破坏，内部原本隐藏的亲水基团得以暴露，从而使其具有较高的吸水能力。持水性是指蛋白质或胶原蛋白肽吸水后保持水分的能力，受蛋白质构象和温度等因素影响。MB 胶原蛋白肽的持水率为 59.34%，略高于市售鱼胶原蛋白肽的持水率（56.82%）。经过脱灰处理后，DMB 胶原蛋白肽的吸水率和持水率分别为 96.14% 和 65.33%，均高于市售鱼胶原蛋白肽与 MB 胶原蛋白肽的吸水率。这可能是脱灰处理导致胶原蛋白形成更松散的网状结构，扩大了与水的接触面积，水分子更易渗透到肽链内部，固定更多水分。DMB 胶原蛋白肽的吸油性为 4.32 mL·g⁻¹，低于市售鱼胶原蛋白肽的吸油性（5.23 mL·g⁻¹）与 MB 胶原蛋白肽的吸油性（4.63 mL·g⁻¹），表明 DMB 胶原蛋白肽可能含有较少的疏水基团和较多的亲水基团，从而具有更低的吸油性。有研究在制备鱼鳞胶原蛋白肽时，通过弱酸溶液进行预处理实现鱼鳞的高效脱灰和脱钙，再进行碱解和酶解，提高了产物的功能性^[23]。这表明脱灰处理是改善胶原蛋白肽特性的有效手段。

表 4 MB和DMB胶原蛋白肽的功能特性

Table 4 Functional characteristics of MB and DMB collagen peptide

类别	吸水率/%	持水率/%	吸油性/(mL·g ⁻¹)
MB 胶原蛋白肽	82.83 ± 4.52 ^b	59.34 ± 2.02 ^b	4.63 ± 0.73 ^a
DMB 胶原蛋白肽	96.14 ± 2.13 ^a	65.33 ± 2.61 ^a	4.32 ± 0.75 ^a
市售鱼胶原蛋白肽	62.12 ± 4.63 ^c	56.82 ± 3.24 ^c	5.23 ± 1.06 ^a

注：不同字母表示差异显著（*P* < 0.05）。

2.6 MB与DMB胶原蛋白肽的肽段序列特征

表 5 MB和DMB胶原蛋白肽特征肽段分析

Table 5 Analysis of characteristic peptide segments of MB and DMB collagen peptide

类型	寡肽	质量权重占比/%	
		MB 胶原蛋白肽	DMB 胶原蛋白肽
Gly-Pro-Y	Gly-Pro-Val	4.50 ± 0.33	2.10 ± 0.13
	Gly-Pro-Hyp	14.13 ± 0.83	21.17 ± 1.24
	Gly-Pro-Gln	15.22 ± 0.33	4.60 ± 0.35
	Gly-Pro-Ala	2.58 ± 0.09	0.32 ± 0.02
	Gly-Pro-Glu	2.12 ± 0.15	2.04 ± 0.12
	Gly-Pro-Arg	19.44 ± 1.13	9.48 ± 0.83
X-Hyp-Gly	Thr-Hyp-Gly	0.61 ± 0.04	0.37 ± 0.02
	Pro-Hyp-Gly	2.74 ± 0.19	2.35 ± 0.13
	Glu-Hyp-Gly	3.51 ± 0.26	1.32 ± 0.09
	Phe-Hyp-Gly	5.12 ± 0.46	1.95 ± 0.15
	Ile/Leu-Hyp-Gly	4.45 ± 0.38	3.59 ± 0.24
	Ala-Hyp-Gly	2.91 ± 0.29	21.01 ± 1.96
Z-Pro-Gly	Ala-Pro-Gly	4.38 ± 0.37	3.81 ± 0.16
	Leu-Pro-Gly	0.34 ± 0.25	0.33 ± 0.28
二肽	Hyp-Gly	14.69 ± 1.34	21.89 ± 1.56
四肽	Gly-Pro-Hyp-Gly	3.27 ± 0.31	3.68 ± 0.30

选择表 5 中 MB 和 DMB 胶原蛋白肽特征肽段进行分析。液质联用分析结果表明，Gly-Pro-Y 型三肽占 MB 胶原蛋白肽（57.99%）显著高于 DMB 胶原蛋白肽（39.71%），其次为 X-Hyp-Gly 型三肽（MB 胶原蛋白肽：19.35%；DMB 胶原蛋白肽：30.58%，较 MB 胶原蛋白肽提升 11.23%）。其中，Gly-Pro-Hyp 可通过抑制活性氧自由基和基质金属蛋白酶分泌促进胶原合成^[24]，而 X-Hyp-Gly 序列（如 Phe-Hyp-Gly）可以刺激成纤维细胞增殖^[25]。脱灰处理后，DMB 胶原蛋白肽中 Gly-Pro-Y 与 X-Hyp-Gly 肽段含量和占比有明显提高，表明其抑制成纤维细胞活性氧自由基和基质金属蛋白酶的能力更强，稳定性更好；刺激成纤维细胞生长和促进成骨细胞分化的生理活性也进一步提高。

He 等^[18]通过超声辅助联合木瓜蛋白酶与复合蛋白酶的双酶水解技术,有效保留了胶原蛋白肽中如 X-Hyp-Gly 特征结构等关键氨基酸序列,提高了生物活性。此外,MB 与 DMB 胶原蛋白肽均含 Z-Pro-Gly 三肽、Hyp-Gly 二肽及 Gly-Pro-Hyp-Gly 四肽。Gly-Pro-Hyp-Gly 在胃肠道中会被降解为 Pro-Hyp-Gly 和 Pro-Hyp^[26], Gly-Pro-Hyp 在胃肠道中会被降解为 Pro-Hyp^[27], 这些二肽和三肽更易被人体吸收。二肽和三肽可以通过肠道刷状黏膜上的寡肽转运体 1 以活性形式被完整吸收^[28],寡肽与游离氨基酸的转运系统相互独立,并且寡肽的吸收和利用效率更高^[29]。MB 与 DMB 胶原蛋白肽中高占比的二肽/三肽(67.02%~75.96%)表明其易被人体利用,兼具抗氧化、促修复等功效,适用于功能食品及护肤品开发。

3 结论

本研究针对脱灰与未脱灰黄鲷鱼骨胶原蛋白肽的制备及特性展开深入探究。氨基酸组成分析显示,MB 与 DMB 胶原蛋白肽均具水产胶原蛋白特征,含羟脯氨酸及除色氨酸外的 7 种必需氨基酸,其中脱灰处理后的 DMB 胶原蛋白肽甘氨酸、亚氨基酸比例及疏水性氨基酸含量均较高,且分子量更小,更易于人体吸收。功能特性分析表明,脱灰后的 DMB 胶原蛋白肽吸水率和持水率更高,吸油性更低。特征肽段分析显示,DMB 胶原蛋白肽中具有更高生理活性的 X-Hyp-Gly 肽段含量和占比明显提高。因此,脱灰处理对黄鲷鱼骨胶原蛋白肽的制备和特性有显著改善效果,使其在保健、美容等领域具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 宋仪,燕建辉,张梅超,等.酵母发酵脱腥对黄鲷鱼鱼白风味特性的影响[J].食品研究与开发,2023,44(16):9-17.
- [2] GUO J J, ZHU S L, CHEN H B, et al. Ultrasound-assisted solubilization of calcium from micrometer-scale ground fish bone particles [J]. Food Science & Nutrition, 2022, 10(3): 712-722.
- [3] ZAHRA R, NUNZIA G, LUCA S, et al. Collagen derived from fish industry waste: progresses and challenges [J]. Polymers, 2023, 15(3): 544.
- [4] RAMLI L, NATSIR H, DALI S, et al. Collagen extraction from bone of *Lutjanus* sp. and toxicity assay [J]. Jurnal Akta Kimia Indonesia (Indonesia Chimica Acta), 2019, 12(1): 67.
- [5] HE G, YIN Y, YAN X, et al. Semi-bionic extraction of effective ingredient from fishbone by high intensity pulsed electric fields [J]. Journal of Food Process Engineering, 2017, 40(2): e12392.
- [6] JOKO S, YOHANNA I P, ROMANA F S T, et al. Physicochemical and functional properties of fish skin collagen hydrolysate extracted using microbial protease [J]. BIO Web of Conferences, 2025, 158: 04004.
- [7] 刘闪,刘良忠,杨永生,等.白鲢鱼骨脱钙工艺优化[J].食品与机械, 2013,29(5):164-168.
- [8] JOHN M N, HERNANDO B, GLADINE L, et al. Time-dependent demineralization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) bones using hydrochloric acid for extracellular matrix extraction [J]. Biomimetics (Basel, Switzerland), 2023, 8(2): 217.
- [9] LINGAM P C, SENTHIL R, KUMAR P R, et al. Preparation and characterization of demineralised bone matrix from fish waste [J]. Journal of Pioneering Medical Sciences, 2023, 12(4): 17-20.
- [10] GB 5009.3-2016,食品安全国家标准 食品中水分的测定[S].
- [11] GB 5009.6-2016,食品安全国家标准 食品中脂肪的测定[S].
- [12] GB 5009.5-2016,食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S].
- [13] GB 5009.4-2016,食品安全国家标准 食品中灰分的测定[S].
- [14] GB/T 9695.31-2008,肉制品 总糖含量测定[S].
- [15] GB 5009.124-2016,食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定[S].
- [16] AASE K K, INGRID M, GIZACHEW S W, et al. FTIR-based prediction of collagen content in hydrolyzed protein samples [J]. Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 301, 122919.
- [17] 杨露.马面鱼骨胶原多肽的制备及其抗氧化活性研究[D].广州:广东工业大学,2012.
- [18] HE L, WANG X Y, WANG Y R, et al. Production and identification of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from discarded cowhide collagen [J]. Food Chemistry, 2022, 405(PA): 134793.
- [19] 蔡金秀,马佳雯,何璐瑶,等.复合酶法制备鲑鱼皮胶原蛋白抗冻肽的工艺研究[J].核农学报,2023,37(4):749-757.
- [20] 王秋萍,余新威,童晓倩,等.固定化酶水解鲑鱼碎肉制备高F值寡肽的工艺优化[J].中国食品学报,2017,17(3):113-119.
- [21] SONG K W, LIU D, SUN L L, et al. Physicochemical and biocompatibility properties of type I collagen from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) for biomedical applications [J]. Marine Drugs, 2019, 17(3): 137.
- [22] 杜瀚.大黄鱼鱼骨明胶/多糖复合体系流变学特性研究[D].厦门:集美大学,2021.
- [23] 纳泰(阳江)生物科技有限公司.一种抗氧化鱼胶原蛋白肽的制备方法和应用:202410581379.3[P].2024-11-08.
- [24] ASAI T T, OIKAWA F, YOSHIKAWA K, et al. Food-derived collagen peptides, Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp), and Hydroxyprolyl-Glycine (Hyp-Gly) enhance growth of primary cultured mouse skin fibroblast using fetal bovine serum free from Hydroxyprolyl peptide [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 21(1): 229.
- [25] HIROKI O, SATOMI I, HITOSHI M, et al. Collagen-derived dipeptide, proline-hydroxyproline, stimulates cell proliferation and hyaluronic acid synthesis in cultured human dermal fibroblasts [J]. The Journal of Dermatology, 2010, 37(4): 330-338.
- [26] YUKI T, MASASHI K, KIYOKO O, et al. Efficient absorption of X-Hydroxyproline (Hyp)-Gly after oral administration of a novel gelatin hydrolysate prepared using ginger protease [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(14): 2962-2970.
- [27] JIHYUN W, JUHYUNG K, KEUMHAN N, et al. Pharmacokinetics of collagen dipeptides (Gly-Pro and Pro-Hyp) and tripeptides (Gly-Pro-Hyp) in rats [J]. Journal of Food Science, 2023, 89(1): 701-709.
- [28] XU C, LIU Y, LI K, et al. Absorption of food-derived peptides: Mechanisms, influencing factors, and enhancement strategies [J]. Food Research International, 2024, 197(P1): 115190.
- [29] LOURDES A, BLANCA H. Current evidence on the bioavailability of food bioactive peptides [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(19): 4479.