

# 水产胶原蛋白的提取纯化及理化特性的研究进展

杨桢楠, 李彩燕, 钱国英

(浙江万里学院 生物与环境学院, 浙江 宁波 315100)

**摘要:** 胶原蛋白是一种重要的功能性蛋白质。水产动物源胶原蛋白因其丰富的来源和特殊的优点受到广泛关注, 本文对国内外水产源胶原蛋白的提取、纯化方法以及理化性质的研究进展进行了综述, 并对今后的研究方向做了展望, 以期在水产胶原蛋白的进一步应用研究提供一定的理论基础。

**关键词:** 水产胶原蛋白; 提取; 纯化; 理化性质

中图分类号: Q51 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2016)01-0138-09

doi: 10.11759/hyxx20150126001

胶原蛋白是生物体内重要的结构蛋白, 是支持机体结缔组织的主要组成部分, 也是动物体内含量最多、分布最广的功能性蛋白, 占蛋白质总量的25%~30%。与组织的形成、成熟、细胞间信息的传递, 以及关节润滑、伤口愈合、钙化作用、血液凝固和衰老等有着密切的关系<sup>[1]</sup>。胶原蛋白所特有的三重螺旋的氨基酸结构使它具有许多很有用的特性, 如高拉伸强度、良好的生物相容性、低抗原性、低刺激性和低细胞毒性以及促进细胞生长的性能<sup>[2]</sup>。

目前, 胶原蛋白因其良好的生物学性能在生物医药材料、食品、美容等方面得到了广泛的关注。陆生动物组织一直是人们获取天然胶原蛋白的主要途径, 但由于疯牛病(BSE)、口蹄疫(FMD)、禽流感等疾病的发生, 使人们对陆生哺乳动物胶原蛋白及其制品的安全性产生了质疑, 而水产胶原蛋白因其丰富的来源和相较于陆生动物良好的生化性能和独特的优点正在被广泛研究, 如良好的凝胶性、高分散性、低黏度性、低抗原性、高可溶性、易被蛋白酶水解等特性。我国是水产大国, 随着水产养殖规模的扩大和加工业的发展, 许多水产品包括其加工后的废弃物含有丰富的胶原蛋白, 可以成为胶原蛋白的良好来源。本文重点介绍水产动物源胶原蛋白的提取、纯化方法及理化性质, 以期为更好地综合利用水产品这一生物资源及进一步开发水产胶原蛋白提供参考。

## 1 水产胶原蛋白的提取纯化方法

### 1.1 提取方法

水产胶原蛋白的提取方法主要有热水提取<sup>[3]</sup>、碱

法提取<sup>[4]</sup>、酸法提取<sup>[5]</sup>、酶法提取<sup>[6]</sup>等方法。

热水浸提的温度是 100℃左右<sup>[3]</sup>, 而胶原蛋白的热变性温度一般在 30℃左右<sup>[1]</sup>, 高温环境会直接导致胶原蛋白变性形成明胶。张强等<sup>[7]</sup>发现热水浸提会使鲢鱼皮胶原蛋白的微观结构呈现片状结构, 不再具有明显的胶原蛋白网状结构。碱法提取不仅会使水产胶原蛋白的氨基酸结构破坏, 而且使水产胶原蛋白提取率降低<sup>[8]</sup>, 所以这两种提取方法并不常用。

酸法提取是利用低离子浓度酸性条件破坏分子间盐键和希夫碱, 引起胶原纤维膨胀、溶解, 采用酸法提取的胶原蛋白通常称为酸促溶性胶原蛋白(ASC)。由于无机酸(如盐酸、硫酸)使胶原纤维的膨胀极不明显, 通常选择有机酸提取胶原蛋白。常用有机酸溶剂有乙酸、乳酸、柠檬酸, 其中, 以乙酸最为常用, 陈丽丽<sup>[9]</sup>通过比较相同浓度的柠檬酸、乳酸、乙酸三种有机酸对鮰鱼皮胶原蛋白提取率的影响, 发现乙酸提取率最高, 目前国内外已用乙酸从蜥蜴鱼<sup>[5]</sup>、草鱼<sup>[10]</sup>、鲶鱼<sup>[11]</sup>、鳕鱼<sup>[12]</sup>、鲑鱼<sup>[13]</sup>、乌贼<sup>[14]</sup>、金枪鱼<sup>[15]</sup>等水产动物中提取胶原蛋白, 发现胶原蛋白分子三螺旋结构均未遭到破坏, 说明酸法提取对

收稿日期: 2015-01-26; 修回日期: 2015-06-10

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(201405015); 浙江省公益性技术应用研究计划项目(2014C32072); 宁波市科技创新团队项目(2012B82016)

[Foundation: Marine public welfare industry research projects supported by State Oceanic Administration of China, No.201405015; Research Project of Public Welfare Technology Application in Zhejiang Province, No. 2014C32072; Innovation Team Project of Ningbo Municipal Science and Technology Bureau, No.2012B82016]

作者简介: 杨桢楠(1990-), 女, 河南开封人, 硕士研究生, 研究方向为水产动物活性物质, 电话: 13932183251, Email: 543192165@qq.com; 李彩燕(1982-), 通信作者, 女, 副教授, 博士, 电话: 15958293719, Email: licy82@163.com

胶原蛋白的分子结构不会造成影响，但是酸法提取水产胶原蛋白仍存在提取得率不高、提取速率慢等缺点<sup>[8-9]</sup>，需要改进。

酶法提取指利用蛋白酶的特异作用位点来提取胶原蛋白，所得到的胶原蛋白通常称为酶促溶性胶原蛋白(PSC)，酶法提取中常用的蛋白酶包括木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶等，其中，胃蛋白酶的应用最为广泛，因为胃蛋白酶不仅能催化切去胶原蛋白  $\alpha$  肽链非螺旋区的端肽，而且对螺旋区没有作用，提取到的胶原蛋白仍保持完整的三螺旋结构，降低

了胶原蛋白的抗原性，这为胶原蛋白在生物医药材料中的利用提供了良好的生物基础。笔者所在课题组前期比较了胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶对中华鳖裙边中胶原蛋白的提取率<sup>[8]</sup>，得出胃蛋白酶的提取得率最高，且本课题组将此方法用于中华鳖肺组织胶原蛋白的提取<sup>[16]</sup>。目前，国内外已用胃蛋白酶从多种水产动物中提取 PSC，如海参<sup>[6]</sup>、鲟鱼<sup>[17-18]</sup>、马面鱼<sup>[19]</sup>、水母<sup>[20]</sup>、鲷鱼<sup>[21]</sup>、鲨鱼<sup>[22]</sup>等，并且，在对多种水产动物胶原蛋白提取方法比较之后，发现酶法提取一般要比酸法提取得率高，对比如表 1 所示。

表 1 不同水产动物组织提取胶原蛋白的方法比较  
Tab.1 Extraction methods of different aquatic animal tissues

水产动物	组织	提取方法及提取率(%)				参考文献
		水法	碱法	酸法	酶法	
中华鳖	裙边		1.03	2.26	22.58	[8]
鲟鱼	鱼皮			5.10	7.70	[11]
鳕鱼	鱼皮			37.36	55.96	[12]
鲑鱼	鱼皮			23.51	35.73	[13]
金枪鱼	鱼皮			28.4	49.8	[15]
史氏鲟	鱼皮			37.42	52.80	[17]
	软骨			27.04	55.92	[18]
军曹鱼	鱼皮			35.5	12.2	[23]
鲢鱼	鱼皮	13.2		11.8	13.6	[24]
点纹斑竹鲨	鱼皮			9.38	8.86	[22]
马面鱼	鱼皮			44.75	57.95	[25]
鲤鱼	鱼皮			16.89	16.75	[26]
鲷鱼	鱼皮			46.28	52.01	[27]
乌贼	皮			56.80	24.60	[28]
旗鱼	鱼皮			5.76	5.76	[29]
草鱼	鱼皮	0.67	1.39	7.36	6.13	
	鱼鳞	1.29	1.3	13.64	14.14	[10]
	鱼骨	0.42	0.97	4.33	5.34	
	鱼鳔			15.80	16.65	[30]
鳗鱼	鱼皮			8.00	7.10	[31]
海藻尖嘴	鱼皮			5.50	33.20	[32]

另外，为了缩短酶解时间，加快提取速率，有学者采用超声波法辅助提取水产胶原蛋白<sup>[33]</sup>，因为超声波的空化、湍动、微扰、界面、聚能等效应有力地促进了溶剂向生物材料的渗透和目标物质向溶剂的释放。王林等<sup>[34]</sup>用超声波辅助酶法从深海红鱼中提取胶原蛋白，提取时间缩短了 30 h，而且胶原蛋白的结构相较于酶法的单独提取没有差异。

## 1.2 纯化

目前，水产动物源胶原蛋白的纯化方法包括盐

析法、超滤法、色谱法等，其中，NaCl 盐析法<sup>[35]</sup>最为常用，不仅能够有效的纯化胶原蛋白，而且相对于其他纯化方法费用很低；郑森<sup>[36]</sup>采用了硫酸铵分级沉淀的方法对林蛙皮胶原蛋白进行分段盐析，发现硫酸铵的质量浓度为 10%~30%时，胶原蛋白出现大量沉淀。胶原蛋白盐析后一般采用透析法进行脱盐，因为盐析后残留的较低浓度盐离子会使胶原蛋白的热变性温度降低<sup>[37]</sup>，对胶原蛋白盐析后进行完全脱盐非常必要。但是用透析袋进行盐析除盐速度缓慢、用时较长，有学者采用超滤方法对三文鱼皮 ASC 进

行脱盐, 超滤 7 h 即可达到 74.4% 的脱盐效果<sup>[38]</sup>。

超滤基于筛分原理即膜孔尺寸的大小对不同大小的物质进行分离、浓缩, 由于其操作环境温和、无相变、无溶剂污染、容易保持生物分子的活性、操作简单可靠等特点, 对于分离热敏性的酶或蛋白质等物质有着独特的优点。石旗红<sup>[39]</sup>针对海蜇胶原蛋白提取中采用了超滤浓缩纯化工艺, 得到分子质量在 10~30 kDa 的胶原蛋白, 截留率达 95%~98%, 获得较高纯度的胶原蛋白, 而且对胶原蛋白粗提液进行超滤也避免了除盐这一环节; 金桂芬<sup>[40]</sup>也应用了超滤的方法对海蜇胶原蛋白粗提液进行纯化, 研究超滤效果的影响因素并建立了数学模型, 说明超滤对于胶原蛋白的纯化快速、方便、高效。

色谱法具有分离效率高、分析速度快、灵敏度高、易于自动化等优点, 利用此方法能够得到更高纯度的胶原蛋白。郑森<sup>[36]</sup>在对中国林蛙皮肤胶原蛋白进行一系列的超滤和离子交换层析纯化后, 用凝胶型号 G-75 对胶原蛋白进行了凝胶过滤层析, 得到了纯度为 96.1% 的胶原蛋白, 但胶原蛋白的回收率非常低。刘磊等<sup>[41]</sup>是用 CM-52 阳离子交换层析对酶法提取的海蜇胶原蛋白做的进一步纯化, 也得到了较高纯度的胶原蛋白。

## 2 理化性质

### 2.1 类型及分子质量

目前, 胶原蛋白类型较多, 由于水产胶原蛋白主要是从水产动物组织如皮<sup>[14]</sup>、骨头<sup>[18]</sup>、鱼鳞<sup>[5]</sup>等提取的, 所以主要以 I 型为主, 由胶原蛋白的 SDS-PAGE 图谱得知水产胶原蛋白的分子质量是 300 kDa 左右, 由三条肽链组成,  $\alpha_1$  的分子质量为 130 kDa,  $\alpha_2$  的分子质量为 110 kDa, 组成形式主要是 $[\alpha_1(\text{I})]_2\alpha_2(\text{I})$ <sup>[14-27]</sup>, A Veeruraj 等<sup>[31]</sup>发现鳗鱼皮 I 型胶原蛋白是由  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  和  $\alpha_3$  组成的, Senaratne 等<sup>[42]</sup>发现蟾酥皮肤 I 型胶原蛋白是也由  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  和  $\alpha_3$  组成的, 宋瑞瑞<sup>[43]</sup>从蓝鲨软骨中提取了以 $[\alpha_1(\text{I})]_3$ 形式组成的 I 型胶原蛋白, Wang 等<sup>[17]</sup>还从史氏鲟鱼皮中提取出来了微量的以 $\alpha_1(\text{I})\alpha_2(\text{I})\alpha_3(\text{I})$ 组成的 I 型胶原蛋白。据研究报道, 胶原蛋白的分子质量会受到提取方法的影响<sup>[44]</sup>, 王忠稳等<sup>[45]</sup>对草鱼鱼皮和乌鳢鱼皮的 ASC 和 PSC 进行了 SDS-PAGE 类型检测, 与标准 I 型胶原蛋白比较发现, 两种水产动物胶原蛋白均是典型的 I 型胶原蛋白, 以 $[\alpha_1(\text{I})]_2\alpha_2(\text{I})$ 形式组成, 但是两种水产动物的 ASC 分子质量均高于 PSC, 这可能与胃蛋白酶

能特异的切掉胶原蛋白端肽有关。

### 2.2 氨基酸组成

水产动物胶原蛋白的氨基酸组成类型与陆生动物的基本保持一致。其螺旋区的一级结构氨基酸排列形式主要是“Gly-X-Y”, 其中甘氨酸(Gly)含量最高, 约占氨基酸总量的 1/3, X、Y 位置为脯氨酸(Pro)和羟脯氨酸(Hyp), 是胶原蛋白的特征氨基酸<sup>[1]</sup>, Hyp 具有很强的吸水性和持水性, 这是胶原蛋白可用于美容护肤的重要因素之一<sup>[46]</sup>。根据研究, 不同动物中氨基酸比例相差比较大, 尤其是 Hyp 含量, 一般是陆生动物胶原蛋白中 Hyp 含量大于水产动物, 而且对于不同种类的水产动物, Hyp 含量也是相差较大, 其中冷水性鱼类的 Hyp 含量最低。宋芹等<sup>[47]</sup>比较了猪皮、牛皮和部分鱼皮、鱼鳞中胶原蛋白中氨基酸的组成及含量, 其中甘氨酸(Gly)、Hyp、Pro 和丙氨酸(Ala)含量最高, 鱼类胶原蛋白中 Hyp 的含量明显低于猪皮和牛皮, 而且典型的冷水性鱼三文鱼鱼皮胶原蛋白中 Hyp 含量也显著低于温水性鱼鲤鱼鱼鳞中的含量。王林<sup>[48]</sup>对深海红鱼胶原蛋白进行氨基酸分析发现, 其 Hyp 含量明显低于温带和热带鱼种来源的胶原蛋白。另外, 胶原蛋白氨基酸组成特别是 Hyp 含量会受到胶原蛋白提取方法的影响, 但影响不显著。

### 2.3 光谱分析

利用胶原蛋白的光谱吸收可以灵敏、快速的鉴别其结构、物质组成及相对含量, 通常利用红外光谱对胶原蛋白的二级结构进行鉴定, 观察其是否具有三螺旋结构; 用紫外吸收光谱检测胶原蛋白的最大吸收峰, 既能检测胶原蛋白的含量, 也可以鉴定其纯度。

红外光谱(FIR)区域通常是指波数为 4000~200  $\text{cm}^{-1}$  的中红外区, 利用红外光在各种波数下透过样品的光的强度不同分析样品中的官能团和氢键, 进而证明蛋白质的二级结构。对不同种类的水产动物胶原蛋白进行比较发现, 只要水产胶原蛋白的二级结构没有遭到破坏, 其红外吸收图谱均是相似的, 没有显著差异<sup>[16-27]</sup>, 王忠稳等<sup>[45]</sup>对草鱼鱼皮胶原蛋白和乌鳢鱼皮胶原蛋白同时进行了红外吸收图谱检测, 发现二者的红外吸收峰几乎是吻合的; 而且来源于同种水产动物的胶原蛋白, 其红外吸收图谱不会受到提取方法的影响, Prabjeet 等<sup>[11]</sup>对鲶鱼皮 PSC、ASC 的红外吸收图谱进行比较发现二者是相

似的,而且均能保持完整的三螺旋结构。

紫外吸收光谱分析法是根据物质对不同波长的紫外线吸收程度不同而对物质组成进行分析的方法,对于一般蛋白质来说,在 280 nm 和 200~230 nm 有两处吸收峰,前者是因为蛋白质含有色氨酸(Trp)残基和酪氨酸(Tyr)残基,分子内部存在着共轭双键,后者是因肽键存在而引起的,一般前者用于蛋白质的定量测定。但是胶原蛋白中 Trp 和 Tyr 含量甚微或者基本没有。与其他蛋白质不同的是,胶原蛋白只在 200~230 nm 处有强吸收,这一紫外吸收特性可以用来检测胶原蛋白的纯化程度。Yung 等<sup>[49]</sup>比较了蛙皮、鲨鱼皮、牛皮、猪皮中 I 型胶原蛋白的紫外吸收峰,发现最大吸收峰是在 218 nm 附近,在 280 nm 出均无吸收峰,可见水产动物和陆生动物胶原蛋白的紫外吸收特征并无差异,且不同水产动物胶原蛋白之间也没有差异。

## 2.4 热稳定性

胶原蛋白的热稳定性是指其在特定加热条件下,在一定时间间隔内其结构和粘度等参数的变化,通常用胶原蛋白溶液热变性温度(Td)和胶原纤维热收缩温度(Ts)来表示其热稳定性。Td 是指胶原蛋白增比黏度变为原来 50%时所对应的温度, Ts 表示使胶原纤维发生突然收缩和卷曲的温度,即胶原纤维收缩至原来长度的 1/3 时的温度。目前测定 Td 和 Ts 的方法分别主要是采用乌氏粘度法和差示热量扫描法(DSC)。在两种温度下,胶原蛋白三螺旋结构均被破坏,氢键在胶原蛋白的三螺旋结构稳定性中起主要作用,在胶原蛋白热变性过程中发生相应的强度变化,从而导致胶原蛋白三螺旋结构的改变。

在对多种水产胶原蛋白热稳定性比较之后发现不同水产胶原蛋白热稳定性相差较大,如表 2 所示。

表 2 不同水产动物胶原蛋白的氨基酸及热稳定性特点比较

Tab.2 Comparison of amino acid and thermal stability of collagen from different aquatic animals

水产动物	组织	提取方法	羟脯氨酸含量(%)	热变性温度(°C)	参考文献
草鱼	鱼鳞	PSC	7.70	35.2	[10]
		ASC	5.30	34.8	
	鱼骨	PSC	7.80	36.4	[45]
		ASC	8.30	36	
	鱼皮	PSC	7.58	35.81	[45]
		ASC	7.67	35.62	
鱼鳔	PSC	—	29.4	[30]	
	鳕鱼	鱼皮	PSC	7.62	25.6
ASC		9.05	26.8		
金枪鱼	鱼皮	PSC	—	32.43	[15]
		ASC		30.67	
史氏鲟	鱼皮	ASC	9.78	32.78	[17]
		PSC	10.33	32.46	
		ASC	10.25	32.98	
鳊鱼	鱼皮	PSC	10.41	35.71	[21]
		ASC	—	39.60	
		ASC	—	39.30	
点纹斑竹鲨	鱼皮	PSC	—	34.52	[22]
		ASC		34.45	
军曹鱼	鱼皮	PSC	9.4	36.03	[23]
		ASC	9.8	38.17	
鲢鱼	鱼皮	PSC	—	30.5	[24]
		ASC		31.3	
马面鱼	鱼皮	PSC	—	18.66	[25]
		ASC		19.96	
鲳鱼	鱼皮	PSC	8.72	22.0	[27]
		ASC	9.45	29.8	

续表

水产动物	组织	提取方法	羟脯氨酸含量(%)	热变性温度(°C)	参考文献
乌贼	皮	PSC	9.9	35.70	[28]
		ASC	10.1	34.80	
鳗鱼	鱼皮	PSC	—	39.00	[31]
		ASC		35.00	
海藻尖嘴	鱼皮	PSC	—	34.80	[32]
		ASC		35.10	
蓝鲨	软骨	PSC	—	40.5	[43]
深海红鱼	鱼鳞	ASC	6.5	17.7	[48]
		ASC	6.1	17.5	
		ASC	6.4	16.1	
		PSC	6.1	15.7	
狭鳕鱼	鱼皮	ASC	6.9	24.6	[51]
鲤鱼(冬)	鱼皮	ASC	—	31.0	[52]
			鱼骨		
鲤鱼(夏)	鱼皮	ASC	—	32.0	
			鱼骨		
中华鳖	裙边	PSC	7.30	32.33	[53]
		PSC	7.80	36	[54]
大鲵	皮	PSC	7.4	26.5	[55]
		ASC	6.2	23.5	
罗非鱼	鱼皮	PSC	7.50	31	[56]
		ASC	7.78	31	
黑鳍鲨	鱼皮	PSC	—	34.23	[57]
		ASC		34.37	

注: ASC, 酸促溶胶原蛋白; PSC, 酶促溶胶原蛋白; “—”未测定

胶原蛋白的热稳定性是在其进一步的加工利用中重要的影响因素, 如在生物材料中的应用<sup>[2]</sup>。由表 2 发现水产胶原蛋白的热变性温度与水产动物栖息的最高环境温度及羟脯氨酸含量呈一定的正相关<sup>[50]</sup>, 热带性水产动物蓝鲨的软骨胶原蛋白 Td 为 40.6°C<sup>[43]</sup>, 和牛骨胶原蛋白的 Td(40.8°C)接近, 高于冷水性水产动物狭鳕鱼<sup>[51]</sup>胶原蛋白的 Td(24.6°C); 对于同种水产动物, 其胶原蛋白热稳定性也会受到不同的栖息环境影响, 段蕊等<sup>[52]</sup>对比了夏、冬鲤鱼胶原蛋白的热稳定性, 发现前者优于后者; 而且, 对于同一水产动物不同组织提取的胶原蛋白, 其热稳定性也是有差异的, 黄石溪<sup>[10]</sup>比较了草鱼鱼鳞、鱼皮、鱼骨胶原蛋白的热稳定性, 发现鱼鳞 < 鱼皮 < 鱼骨; 另外, 胶原蛋白热变性温度会受到提取方法一定的影响, 但影响不显著, Phanat 等<sup>[22]</sup>测得鲨鱼皮 PSC、ASC 的 Td 分别是 34.45°C 和 34.52°C, 可见提取方法不会对胶原蛋白的 Td 造成明显影响。

## 2.5 微观结构

胶原蛋白溶液在冷冻干燥之后呈多孔结构的海绵状, 本课题组已对从中华鳖裙边提取的胶原蛋白进行显微扫描观察, 证实了这一现象(结果未发表), 可为软骨、肌腱、皮肤、神经、血管等不同组织的修复提供具体的三维生长环境<sup>[54]</sup>, 还可作为药物缓释载体进行定向释放药物<sup>[58]</sup>。合适的孔径和相连的孔形态能够诱导并决定细胞的生长与分化, 而且胶原蛋白可以通过交联改性等方法来改变孔隙率及孔径大小, 让其能够随着组织个体特殊需要来改变内部孔状结构具有较高的可塑性。詹永献<sup>[16]</sup>用扫描电镜观察了纯化后冷冻干燥的草鱼鱼鳔胶原蛋白的微观结构, 其在低倍电镜下呈现规则的丝状纤维结构, 在高倍电镜下显示为形状不规则并且有联通的孔。Jeong 等<sup>[59]</sup>对金枪鱼鱼骨胶原蛋白进行微观结构扫描发现其不仅具有 3D 海绵支架结构, 还具有细胞相容性, 能为细胞生长提供体外高度相容性和

无毒环境。

### 3 展望

我国水产资源丰富,越来越多的水产动物成为获取胶原蛋白的重要来源,相关应用正在逐渐得到推广,并且已有相应产品投放市场,有公司将从鱼皮中提取的胶原蛋白制成止血海绵,还有各种胶原蛋白粉及胶原蛋白口服液。随着对胶原蛋白微观结构研究的深入,科学家们正在将胶原蛋白应用到生物材料中。但是,鉴于目前市场上胶原蛋白及相关制品的价格昂贵,如何提高水产品胶原蛋白的提取率和纯度是亟需解决的问题。此外,如何利用水产胶原蛋白的理化性质和生物学性能使其在进一步加工利用中发挥更大的生物作用,创造更多的经济价值,也需要深度研究。

参考文献:

- [1] 蒋挺大. 胶原与胶原蛋白[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.  
Jiang Tingda. Collagen and collagen protein[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006.
- [2] Leah C A, Erin Z, Bernardo P R, et al. Guide to collagen characterization for biomaterial studies[J]. Journal of Materials Research, 2008, 87B(1): 264-285.
- [3] 林家福, 谢福美, 易美华, 等. 热水提取罗非鱼鱼皮胶原蛋白的研究[J]. 中国热带医学, 2008, 8(8): 1317-1318, 1328.  
Lin Jiafu, Xie Fumei, Yi Meihua, et al. The extraction of tilapia skin collagen by using hot water[J]. China tropical medicine, 2008, 8(8): 1317-1318, 1328.
- [4] 潘杨, 许学勤. 酸碱法提取鱼鳞胶的工艺研究[J]. 食品科技, 2008, 22(4): 139-141.  
Pan Yang, Xu Xueqin. Study on the gelatin processing from fish scale by the method of acid-alkali[J]. Food science and technology, 2008, 22(4): 139-141.
- [5] Minh T L T, Okazaki E, Osako K. Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam[J]. Food Chemistry, 2013, 149: 264-270.
- [6] Nasim A, Saeed A, Shahla J, et al. Purification and Characterization of Pepsin-Solubilized Collagen from Skin of Sea Cucumber *Holothuria parva*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 173(1): 143-154.
- [7] 张强, 王倩倩, 陆剑锋, 等. 不同方法提取鲢鱼皮胶原蛋白的理化特性比较[J]. 现代食品科技, 2014, 30(5): 104-110.  
Zhang Qiang, Wang Qianqian, Lu Jianfeng, et al. Comparison of Physical and Chemical Characteristics of Collagen from Silver Carp Skin using Different Extraction Methods[J]. Modern food science and technology, 2014, 30(5): 104-110.
- [8] 田永通, 沈欢欢, 宋伟, 等. 鳖源胶原蛋白的提取工艺优化及结构表征[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 265-269.  
Tian Yongtong, Shen Huanhuan, Song Wei, et al. Extraction optimization characterization of collagen from soft-shelled turtle[J]. Jiangsu agriculture science, 2013, 41(12): 265-269.
- [9] 陈丽丽. 鲟鱼皮中胶原蛋白的提取、性质及其应用研究[D]. 南昌: 江西科技师范大学, 2012.  
Chen Lili. Study on the preparation, partial characterization and application collagen from the skin of *Amiurus nebulou*[D]. Nanchang: Jiangxi Normal University of science and technology, 2012.
- [10] 黄石溪. 草鱼不同部位胶原蛋白的提取及特性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.  
Huang Shixi. Studies on extraction and characterization of collagen from different parts of grass carp[D]. Changsha: Hunan agricultural University, 2013.
- [11] Prabjeet S, Soottawat B, Sajid M, et al. Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)[J]. Food Chemistry, 2010, 124(1): 97-105.
- [12] 任惠. 鳙鱼皮胶原蛋白的制备技术研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013.  
Ren Hui. Study on preparation of the collagen form the skin of the cod[D]. Baoding: Hebei agricultural University, 2013.
- [13] 辛菲, 李华, 罗星, 等. 鲢鱼皮酸性胶原蛋白提取及分子特性的初步研究[J]. 新疆农业科学, 2012, 49(1): 122-126.  
Xin Fei, Li hua Luo Xing, et al. Research on the extraction and characteristics of acid soluble collagen from *Scomberomorus* skin at molecular level[J]. Xinjiang agricultural science, 2012, 49(1): 122-126.
- [14] Pasiyappazham R, Namasivayam S, Vairamani S, et al. Isolation and structural characterisation of acid- and pepsin-soluble collagen from the skin of squid *Sepioteuthis lessoniana* (Lesson, 1830)[J]. Natural Product Research, 2014, 28(11): 838-842.
- [15] 秦福敏, 冷云, 陈海华, 等. 金枪鱼皮胶原蛋白制备工艺和功能性质的研究[J]. 青岛农业大学学报, 2014, 31(2): 120-124.  
Qin Fumin, Leng Yun, Chen Haihua, et al. Study on the preparation and functional properties of tuna fish skin collagen[J]. Journal of Qingdao agricultural University, 2014, 31(2): 120-124.
- [16] Song W, Chen W, Yang Y N, et al. Extraction optimization and characterization of collagen from the lung of soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis*[J]. International Journal of Nutrition and Food Sciences, 2014, 3(4): 270-278.
- [17] Wang L, Liang Q F, Wang Z B, et al. Preparation and characterisation of type I and V collagens from the skin

- of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*)[J]. Food Chemistry, 2014, 148: 410-414.
- [18] Liang Q F, Wang L, Sun W H, et al. Isolation and characterization of collagen from the cartilage of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*)[J]. Process Biochemistry, 2014, 49: 318-323.
- [19] 曹少谦, 夏珊珊, 刘亮, 等. 马面鱼皮胶原蛋白的提取及其特性研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(10): 117-123.  
Cao Shaoqian, Xia Shanshan, Liu Liang, et al. Extraction and characterization of collagen from *Navodon septentrionalis* skin[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(10): 117-123.
- [20] Barzideh Z, Aishah A L, Gan C Y, et al. Isolation and characterisation of collagen from the ribbon jellyfish (*C hrysaora sp.*)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2014, 49(6): 1490-1499.
- [21] Benjakul S, Thiansilakul Y, Visessanguan W, et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(1): 132-138.
- [22] Phanat K, Soottawat B, Wonnop V, et al. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brown-banded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*)[J]. Food Chemistry, 2009, 119 (4): 1519-1526.
- [23] 杨树奇. 军曹鱼鱼皮胶原蛋白的提取及其功能特性的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2010.  
Yang Shuqi. Study on extraction and functional properties of collagen from the skin of cobia (*Rachycentron canadum*)[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2010.
- [24] 陈善飞, 伍久林, 苗静, 等. 鲢鱼皮胶原蛋白的提取及性质分析[J]. 食品工业, 2012, 33(9): 10-13.  
Chen Shanfei, Wu Jiulin, Miao Jing, et al. Extraction and characterization of Collagens from Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Skin[J]. The food industry, 2012, 33 (9): 10-13.
- [25] 楚水晶. 马面鱼皮胶原蛋白的制备及特性研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2010.  
Chu Shuijing. Research on preparation and characteristic of collagen from *Navodon modestus* skins[D]. Dalian: Dalian University of technology, 2010.
- [26] 邱园园. 黄河鲤鱼鱼鳞胶原蛋白的提取、性质及胶原肽活性研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2013.  
Qiu Yuanyuan. Study on extraction, nature and peptide activity of collagen from the Yellow River carp fish-scale[D]. Luoyang, Henan University of science and technology, 2013.
- [27] 宫子慧. 鲟鱼皮胶原蛋白的提取、特性和生物活性的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2012.  
Gong Zihui. Isolation, Characterization and biological activity of collagen extracted from the Channel catfish skin[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2012.
- [28] Anguchamy V, Muthuvel A, Thangappan A, et al. Isolation and characterization of collagen from the outer skin of squid (*Doryteuthis singhalensis*)[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 708-716.
- [29] Somasundaram T, Anguchamy V, Muthuvel A. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platyp-terus*)[J]. Food Research International, 2013, 54: 1499-1505.
- [30] 詹永献. 草鱼鱼鳔胶原蛋白理化性质及结构特点的研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2012.  
Zhan Yongxian. Physicochemical properties and structural characteristics of collagen from grass carp of swimming bladder[D]. Luoyang: Henan University of science and technology, 2012.
- [31] Veeruraj A, Arumugam M, Balasubramanian T. Isolation and characterization of thermostable collagen from the marine eel-fish (*Evenchelys macrura*)[J]. Process Biochemistry, 2013, 48 (10): 1592-1602.
- [32] Khan S B, Qian Z J, Ryu B M, et al. Isolation and biochemical characterization of collagens from seaweed pipefish *Syngnathus schlegeli*[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2009, 14 (4): 436-442.
- [33] 王希, 钟耀广, 市川寿. 响应面优化超声波快速提取鳕鱼皮中胶原蛋白的工艺研究[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(7): 117-123.  
Wang Xi, Zhong Yaoguang, Shi Chuanshou. Optimization of cod skin collagen extrating conditions by ultrasonicrespose surface methodology[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2014, 45 (7): 117-123.
- [34] 王林, 梁秋芳, 王振斌, 等. 深海红鱼胶原蛋白的超声波辅助提取及其理化特性[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(9): 18-22.  
Wang Lin, Liang Qiufang, Wang Zhenbin, et al. Ultrasonic-assisted extraction and physicochemical characteristics of collagen from deep-sea redfish[J]. Food research and development, 2014, 35 (9): 18-22.
- [35] 陈申如, 蔡扬鹏, 周琼, 等. 鲨鱼鱼皮、鱼骨胶原蛋白的纯化及其特性的初步研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 173-178.  
Chen Shenru, Cai Yangpeng, Zhou Qiong, et al. Study on collagen from shark skin and bone[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(1): 173-178.
- [36] 郑森. 中国林蛙皮肤胶原蛋白的提取纯化及性质研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.  
Zheng Miao. The extraction and purification of collagen from the Chinese forest frog (*Rana chensinensis*)[D]. Harbin: Northeast forestry University, 2008.
- [37] 康俊霞, 康永锋, 包斌, 等.  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 pH 值对鲸鲨皮胶原蛋白热变性温度的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(13): 66-70.  
Kang Junxia, Kang Yongfeng, Bao Bin, et al. Effects of metal ions and pH on thermal stability of whale sharp

- (*Rhincodon typus*) skin collagen[J]. Food science, 2011, 32 (13): 66-70.
- [38] 张雄, 李云雁, 张凯, 等. 酸溶性三文鱼皮胶原蛋白超滤脱盐的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 69-72, 76.  
Zhang Xiong, Li Yunyan, Zhang kai, et al. Application of ultrafiltration in the desalination process of acid-soluble collagen from salmon shin[J]. Food industry technology, 2014, 35(21): 69-72, 76.
- [39] 石红旗. 海蜇蛋白及其制备方法[P]. 中国专利: 1803836A, 2006-7-19.  
Shi Hongqi. Jellyfish proteins and their preparation methods[P]. China patent: 1803836A, 2006-7-19.
- [40] 金桂芬. 海蜇胶原蛋白提取及超滤在胶原蛋白分离纯化中的应用[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2008.  
Jin Guifen. Jellyfish collagen extraction and ultrafiltration application in collagen purification[D]. Hangzhou: Zhejiang University of technology, 2008.
- [41] 刘磊. 海蜇胶原蛋白的提取、纯化及理化性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.  
Liu Lei. Study on extraction and purification and the physical-chemical property of collagen from *Rhopilema esculenta*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.
- [42] Senaratne L S, Park P J, Kim S K. Isolation and characterization of collagen from brown backed toadfish (*Lagocephalus gloveri*) skin[J]. Bioresource Technology, 2005, 97 (2): 191-197.
- [43] 宋瑞瑞. 蓝鲨 II 型胶原蛋白生物化学特性和免疫耐受特性的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.  
Song Ruirui. Research of the biochemistry and immune tolerance of *Prionace Glauca* type II collagen[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013.
- [44] Minh T L T, Okazaki E, Osako K. Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam.[J]. Food Chemistry, 2013, 149: 264-270.
- [45] 王忠稳, 汪海波, 梁艳萍, 等. 乌鳢和草鱼鱼皮胶原蛋白的提取与理化性能分析[J]. 食品科学, 2013, 34(17): 23-27.  
Wang Zhongwen, Wang Haibo, Liang Yanping, et al. Isolation and characterization of collagens from skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and snakehead (*Channa argus*)[J]. Food science, 2013, 34(17): 23-27.
- [46] 叶少奇. 胶原蛋白及其在美容方面的应用[J]. 中国医疗美容, 2012, 1: 58-60.  
Ye Shaoqi. Collagen and its application in beauty [J]. Chinese medical beauty, 2012, 1: 58-60.
- [47] 宋芹, 董小萍, 郁小兵. 部分哺乳动物和鱼类胶原蛋白中氨基酸的组成和含量的比较[J]. 现代食品科技, 2008, 24(12): 1239-1242.  
Song Qin, Dong Xiaoping, Yu Xiaobing. Comparison of components and contents of collagen amino acids in some mammal and fishes[J]. Modern food science and technology, 2008, 24(12): 1239-1242.
- [48] 王林. 深海红鱼胶原蛋白的制备及其理化特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.  
Wang Lin. Study on preparation and physico-chemical properties of deep sea fish collagen[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009.
- [49] Yung K L, Deng C L. Comparison of physical- chemical properties of type I collagen from different species[J]. Food Chemistry, 2006, 99: 244-251.
- [50] Miles C A, Burjanadze T V, Bailey A J. The kinetics of the thermal denaturation of collagen in unrestrained rat tail tendon determined by differential scanning calorimetry[J]. Journal of Molecular Biology, 1995, 245: 437-446.
- [51] 闫鸣艳. 狭鳕鱼皮胶原蛋白结构和物理特性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.  
Yan Mingyan. Study on the structure and physical properties of collagen from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) skin[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [52] 段蕊, 张俊杰, 陈玲, 等. 冬夏鲤鱼鱼皮和鱼骨胶原蛋白稳定性比较(英文)[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 96-100.  
Duan Rui, Zhang Junjie, Chen Ling, et al. Comparison on the stability of collagens from skin and bone of carp (*Cyprinus carpio*) caught in winter and summer[J]. Food science, 2010, 31(23): 96-100.
- [53] 陆剑锋, 万全, 殷章敏, 等. 中华鳖裙边胶原蛋白的提取及其特征[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 981-988.  
Lu Jianfeng, Wan Quan, Yin Zhangmin, et al. Extraction and characterization of collagen from calipash of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(6): 981-988.
- [54] Nagai N, Kobayashi H, Katayama S, et al. Preparation and characterization of collagen from soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) skin for biomaterial applications[J]. Journal of Biomaterials Science, 2009, 20: 567-576.
- [55] 顾赛麒, 李莉, 王锡昌, 等. 人工养殖大鲵皮胶原蛋白的性质研究[J]. 食品科学, 2014, 35(9): 74-79.  
Gu Saiqi, Li Li, Wang Xichang, et al. Properties of collagen extracted from the skin of farmed Chinese giant salamander (*Andrias davidianus Blanchard*)[J]. Food science, 2014, 35(9): 74-79.
- [56] 郝淑贤, 林婉玲, 李来好, 等. 不同提取方法对罗非鱼皮胶原蛋白理化特性的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 59-62.  
Hao Shuxian, Lin Wanling, Li Laihao, et al. Effect of extraction methods on physico-chemical properties of collagen from Tilapia Shin[J]. Food science, 2014, 35(15): 59-62.
- [57] Phanat K, Soottawat B, Wonnop V, et al. Isolation and properties of acid- and pepsin-soluble collagen from the skin of blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*)[J]. European Food Research and Technology, 2010, 230(3): 475-483.
- [58] Anguchamy V, Muthuvel A, Thangappan A, et al. Iso-



lation and characterization of drug delivering potential of type-I collagen from eel fish *Evenchelys macrura* [J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2012, 23(7): 1729-1738.

[59] Jeong H S, Venkatesan J, Kim S K. Isolation and characterization of collagen from marine fish (*Thunnus obesus*)[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2013, 18(6): 1185-1191.

## Research progress in extraction, purification, and determination of properties of aquatic collagen

YANG Ya-nan, LI Cai-yan, QIAN Guo-ying

(College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China)

Received: Jan., 26, 2015

Key words: aquatic collagen; extraction; purification; physical and chemical properties

**Abstract:** Collagen is an important functional protein and much attention has been paid to aquatic collagen due to its abundance and unique advantages. In this paper, we review research progress in the extraction, purification and determination of the properties of aquatic collagen. We also consider the prospects for future developments in aquatic collagen research in order to provide a theoretical basis for further applied aquatic collagen research.

(本文编辑: 康亦兼)