

鲨鱼皮胶原蛋白肽成分分析

蒋 哲,王 勤,邱 凌,陈晋安,陈清西*

(厦门大学生命科学学院,细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室,福建 厦门 361005)

摘要:应用植物蛋白酶和动物蛋白酶来处理酶解鲨鱼皮,通过现代生物化学方法分离制备鲨鱼胶原蛋白肽,并对其组成成分进行分析,测定了它们的粗蛋白、粗脂肪、灰分、氨基酸及 Cu、Zn、Fe、Ca、Na、K、Pb 等金属元素的含量.应用 MALDI-TOF 分析两种胶原蛋白肽分子量的分布范围.结果表明,植物蛋白酶酶解方法研制的胶原蛋白肽分子量分布范围在 2~3 ku 区间,而用动物蛋白酶酶解方法研制的胶原蛋白肽分子量分布范围在 2~7 ku 区间.

关键词:胶原蛋白肽;成分分析;质谱

中图分类号: Q 516

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2006)S-0169-03

胶原蛋白作为动物结缔组织的主要组成成分,主要存在于动物皮、骨、肌腱等组织中,是结缔组织中极其重要的一种结构蛋白,起着支撑器官和保护肌体的功能,也是组成细胞间质的最重要功能蛋白质.目前,国内外对胶原蛋白的酸水解产物明胶研究较多,但对胶原蛋白的酶解产物胶原肽的功能特性进行系统研究的报道较少.有研究表明,胶原蛋白肽的营养及生理功能主要有以下几方面:保护胃粘膜以及抗溃疡作用、抑制血压上升作用、促进骨形成作用、促进皮肤胶原代谢作用、对关节炎等胶原病具有很好的预防及治疗作用^[1].因此,胶原蛋白肽在食品及医药等领域将有很大的开发前景.而近年来随着疯牛病和口蹄疫的爆发,引起了人们对哺乳动物为来源的胶原蛋白产品的卫生及安全的关注,因此开发新型的胶原蛋白原料已成为新的研究课题.在本论文中,我们采用酶解法,分别用植物蛋白酶和动物蛋白酶从鲨鱼皮中提取胶原蛋白肽,并对它们的一些基本成分进行分析及比较,为以后的深入研究做准备.

1 材料与方法

1.1 实验材料

采用灰星鲨 (*Mustelus griseus*) 的皮为原材料.植物蛋白酶和动物蛋白酶为 Amresco 公司生产. MALDI-TOF 质谱仪及质谱所用试剂均为布鲁克公司产品.其余为国产分析纯试剂.

1.2 实验方法

粗蛋白含量测定:采用 GB/T5009.5-85 凯氏定氮

法;粗脂肪含量测定:采用 GB/T5009.6-85 索氏抽提法;灰分含量测定:采用 GB/T5009.4-85 高温烧法;金属元素测定:采用火焰原子吸收光谱法测定^[2].氨基酸含量测定:待测样品置 6 mol/L HCl 中,于 110 °C 水解 24 h,用氨基酸自动分析仪测定氨基酸组成.羟脯氨酸含量测定:采用比色法测定^[3].分子量测定:采用基质辅助激光解吸附飞行时间质谱法.

2 结果与讨论

2.1 基本成分测定

应用现代生物化学方法,分别用植物蛋白酶(酶 1)和动物蛋白酶(酶 2)在特定条件下水解鲨鱼皮,酶解产物经过一系列的生化分离、提取,和再次的处理等生化技术制成海鱼胶原蛋白干品.用酶 1 处理制得的胶原蛋白肽标为 S1,用酶 2 处理制得的胶原蛋白肽标为 S2.本文,我们对上述两种胶原蛋白肽进行各种营养成分的分析、比较.

对两种胶原蛋白肽基本成分分析的结果见表 1.由表 1 可知,两种胶原蛋白肽的粗脂肪和灰分的含量很低,而其粗蛋白含量都很高,属于“低脂高蛋白”产品.随着人们生活水平的提高,糖尿病、高血压等“富贵病”也逐渐增多.这与人们的饮食结构及饮食习惯有一定的关系.现在,人们已经注意到这一点,开始对

表 1 S1、S2 基本成分含量比较

Tab 1 Comparison of contents of the essential components in S1、S2

样品	粗蛋白 / %	脂肪 / %	灰分 / %
S1	87.5	0.15	1.0
S2	81.25	0.48	1.0

收稿日期: 2005-11-25

基金项目: 厦门大学科技创新工程基金(XDKJCX20043001)资助

作者简介: 蒋哲(1982-),男,硕士研究生.

*通讯作者: chenqx@jingxian.xmu.edu.cn

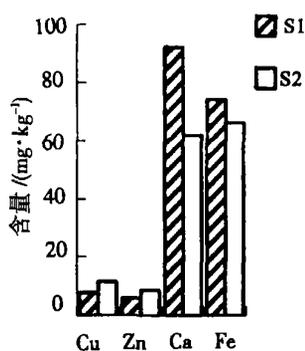


图 1 S1、S2中 Cu、Zn、Fe、Ca含量

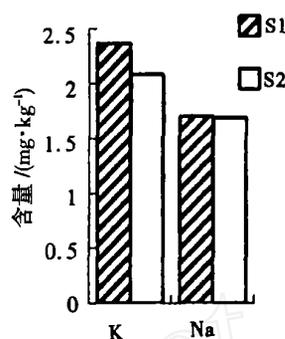


图 2 S1、S2中 K、Na含量

Fig 1 Contents of Cu, Zn, Fe, Ca in S1, S2

Fig 2 Contents of K, Na in S1, S2

饮食结构进行调整. 胶原蛋白肽的蛋白质含量高, 脂肪含量极少, 符合人们对“低脂高蛋白”食品的需求.

2.2 金属元素含量测定

对两种胶原蛋白肽中金属元素 (Cu、Zn、Ca、Fe、Na、K、Pb等) 含量进行测定分析, 结果见图 1、2. 可以看出, 两种样品中均含有人体必需金属元素 Cu、Zn、Ca、Fe、Na、K 众所周知, Ca 不仅是构成骨骼、牙齿和软组织的主要成分, 而且还参与调节机体的多种生理机能如神经冲动的传递和血凝过程等; Fe 是组织代谢不可缺少的物质, 缺 Fe 可引起多种组织改变和功能失调, 如影响淋巴组织的发育和对感染的抵抗力. Fe 还与造血有关, 是血红蛋白的重要成分, 若缺乏将患缺铁性贫血; Zn、Cu 则是体内一系列酶的组成成分, 广泛参与氧化磷酸化等生理过程. 此外, Zn、Cu 还是葡萄糖代谢、胆固醇代谢等机能代谢所必需的微量元素; Na、K 是调节体内酸碱平衡及维持人体渗透压的重要成分; Pb 的含量无法测出, 说明样品中几乎不含该重金属. 胶原蛋白肽富含这些营养元素, 又有较高的蛋白质含量, 显示它具有很高的营养保健价值.

2.3 氨基酸含量测定

对两种胶原蛋白肽进行氨基酸含量测定. 结果如

表 2 所示, 除色氨酸水解被破坏未能测出外, 共测出 18 种氨基酸, 其中必需氨基酸 7 种, 非必需氨基酸 11 种, 氨基酸种类齐全. 两种胶原蛋白肽中甘氨酸含量最高, 这是因为胶原蛋白肽链中含有很多 Gly-x-y 结构, 保证了胶原蛋白分子间及分子内的广泛交联, 从而使胶原具有很强的稳定性. 两种酶解方法研制的胶原蛋白肽中羟脯氨酸 (Hyp) 的含量分别为 7.08% 和 6.26%, Hyp 在其他蛋白中很少发现, 可以说胶原蛋白中含有大量的羟脯氨酸是这类蛋白特有的性质. 补充羟脯氨酸可以增加骨结构性网架的规则性和牢固性, 使机体所吸收的大量钙盐有序沉着, 从而真正达到补骨壮骨的目的^[4]. 近几年研究表明, 胶原蛋白肽可以在肠道直接被吸收, 肽类和氨基酸以不同的途径被吸收, 而且肽类比氨基酸具有更大的吸收量^[5]. 由此表明, 胶原蛋白肽在食品领域有很好的开发前景.

2.4 分子量检测

分子量的测定采用基质辅助激光解吸飞行时间质谱法 (MALDI-TOF). 分别配制浓度为 50 μg/mL 的 S1、S2 水溶液, 将其与基质混匀, 点样, 最后用质谱仪进行分子量检测. 由图 3、4 可知, 由酶 1 酶解方法研制的胶原蛋白肽的分子量范围为 2 ~ 3 ku, 而用酶 2 酶

表 2 S1、S2 氨基酸含量

Tab 2 Contents of amino acids in S1, S2

样品	S1 / %	S2 / %	样品	S1 / %	S2 / %
天冬氨酸	5.81	5.34	亮氨酸 #	4.24	3.86
苏氨酸 #	2.32	2.06	酪氨酸	1.16	0.89
丝氨酸	2.25	2.01	苯丙氨酸 #	2.38	2.22
谷氨酸	12.09	11.25	赖氨酸 #	4.42	4.07
甘氨酸	17.00	16.29	组氨酸	1.08	0.98
丙氨酸	8.59	8.11	精氨酸	7.35	6.77
半胱氨酸	0.09	0.06	脯氨酸	4.43	4.11
缬氨酸 #	3.15	2.80	羟脯氨酸	7.08	6.26
蛋氨酸 #	2.02	1.99	氨基酸总量	88.34	81.66
异亮氨酸 #	2.88	2.59	必需氨基酸总量	21.41	19.59

注: # 为必需氨基酸.

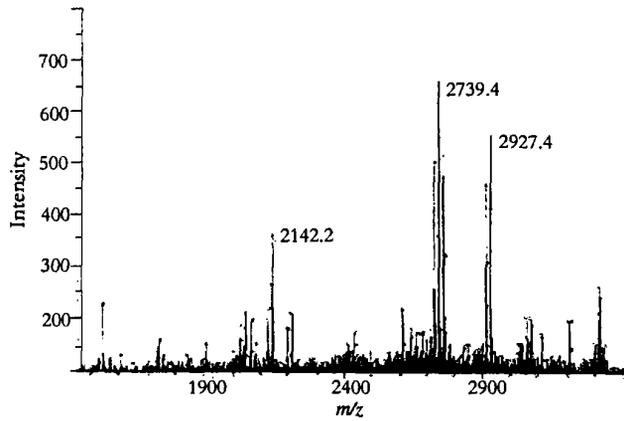


图 3 S1的质谱分析图

Fig 3 Mass spectrogram of S1

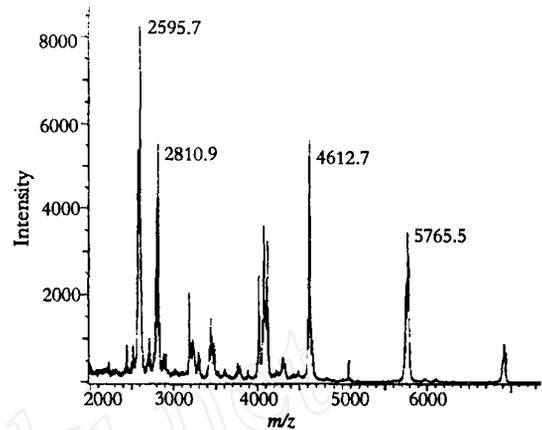


图 4 S2的质谱分析图

Fig 4 Mass spectrogram of S2

解方法研制的胶原蛋白肽的分子量范围为 2~7 ku,说明从胶原蛋白肽分子量的分布范围来讲,动物蛋白酶酶解方法研制的胶原蛋白肽的分子量范围较植物蛋白酶酶解的胶原蛋白肽更广.这可能是由于植物蛋白酶和动物蛋白酶的酶切位点不同造成的.它们的生理功能有待于进一步研究.

参考文献:

[1] 陈胜军,曾名勇,董士远. 水产胶原蛋白及其活性肽的研

究进展 [J]. 水产科学, 2004, 6(23): 44 - 46

[2] 宁正祥,彭新湘,甘霖,等. 食品成分分析手册 [M]. 中国轻工业出版社, 1998: 594 - 627.

[3] 张俊杰,曾庆孝. 比色法测定鱼鳞中羟脯氨酸的研究 [J]. 食品科技, 2004, 4: 83 - 85.

[4] 修海霞,徐颖,程显峰. 胶原鹿骨粉中羟脯氨酸含量测定 [J]. 中医药信息, 2003, 20: 28 - 29.

[5] Adibi A S. Intestinal phase of protein assimilation in man [J]. *American Journal of Nutrition*, 1984, 14: 11 - 22.

Analysis of Components in Sharkskin Collagen Peptide

JIANG Zhe, WANG Qin, QIU Ling, CHEN Jin-an, CHEN Qing-xi*

(Key Laboratory of Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Two kinds of sharkskin collagen products (S1 and S2) were prepared by the methods of hydrolysis with proteinase from plant and animal tissue, respectively. The nutritive compositions of these two products were analyzed. The contents of protein, lipid, ash, amino-acids and the metallic elements such as Cu, Zn, Fe, Ca, Na, K, Pb were measured and compared. The ranges of the molecular weights of S1 and S2 peptides were determined by the method of MALDI-TOF. The results showed that the molecular weight of S1 was between 2 ku and 3 ku and that of S2 was between 2 ku and 7 ku.

Key words: collagen peptide; component analysis; mass spectrum