

鱼翅营养成分提取及定性分析

徐凤香¹, 高昕^{1*}, 李昭勇², 许加超¹, 薛长湖¹

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003; 2. 青岛市质量监督检验所)

摘要: 主要对鱼翅营养成分、氨基酸组成及胶原蛋白特性进行定性分析。结果表明, 鱼翅中主要成分是由蛋白质组成, 其中胶原蛋白含量占粗蛋白的 92% 以上; 必需氨基酸占氨基酸总量的 20.5%, 不含蛋氨酸, 色氨酸。非必需氨基酸含量丰富, 甘氨酸含量最高, 几乎占到氨基酸总含量的 1/3, 酪氨酸占氨基酸总量的 6%。鱼翅的胶原蛋白是由三个相同的类 1 链构成的拟弹性胶原蛋白, 其热变性温度为 67.98, 分子量约为 130kDa。

关键词: 鱼翅, 氨基酸组成, 胶原蛋白, 热变性

Abstract: Nutritional elements, amino acid components and collagen characteristics of shark fins were studied. The results showed that the main component of shark fins is protein, in which collagen is as much as 92%. Necessary amino acid was about 20.5% of total amino acid. Met and Try were not detected. Unnecessary amino acids were very rich. The most was glycine, which constituted as much as 1/3 of the total. Tyr was 6%. The collagen's thermal denaturalization temperature is 67.98, consisted of three similar 1 chains, and the molecular weight is 130kDa.

Key words: shark fin; amino acid analysis; collagen; heated denaturalization

中图分类号: TS254.5*1 文献标识码: B
文章编号: 1002-0306(2007)01-0225-04

鱼翅是我国传统的名贵海珍品, 它是由鲨鱼、鳐鱼、银鲛鱼的鳍(背鳍、胸鳍、腹鳍、臀鳍、尾鳍), 经过一系列的加工而成。食用部分是其中的翅筋。世界上的鲨鱼约有 300 多种, 用来割取鱼翅的有 20 多种^[1]。现代医学认为, 鱼翅具有滋补养颜、促进新陈代谢、降血脂、抗动脉硬化及抗凝血的作用, 适当食用对冠心病等疾患有一定疗效^[2]。近年医学界报道, 从鱼翅

中提取的血管生成抑制因子, 具有抗肿瘤的作用^[3]。但也有报道从营养学的观点看, 鱼翅虽然价格昂贵, 蛋白质含量很高, 但缺乏多种必需氨基酸。国外对鱼翅内部胶原蛋白类型的研究较多, 有研究报道鱼翅主要是由一种纤维蛋白组成, 被称为拟弹性蛋白(elastoidin), 它是一种特殊的细胞内部结构蛋白, 主要含胶原蛋白和很少的非胶原蛋白^[4,5]。许多研究报道了拟弹性蛋白的蛋白类型和氨基酸组成不同于其它动物的胶原蛋白和弹性蛋白^[6,7]。Kimura 等研究了鲨鱼(*Prionace glauca*) 拟弹性蛋白为 [1(E)]₃, 是由三条相同的类 1 链构成^[8], P. Sivakumar 和 Gowri Chandrakasan 研究鲨鱼软骨的胶原蛋白类型为 I 型胶原^[9]。本文主要对鱼翅营养成分进行分析, 用氨基酸分析仪分析鱼翅氨基酸组成, 在 4 条件下提取胶原蛋白, 并用差示扫描量热仪(DSC)和 SDS-page 电泳对其进行定性分析, 初步确定了鱼翅的胶原蛋白类型。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

鲨鱼尾鳍、牙拣翅 购自台东鱼翅专卖店, 将原翅用冷水浸泡 2d, 使其初步回软, 将其中的翅针取出, 待用。

恒温水浴锅, 水分测定仪, 氨基酸自动分析仪, 差示扫描量热仪(DSC)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 将鱼翅放入 2mol/L NaOH 中浸泡约 2h, 待其翅针全部露出, 取出翅针, 用水冲洗后, 放于 0.2mol/L NaOH 中保存。

1.2.2 成分测定 蛋白含量采用半微量凯氏定氮法; 水分含量采用恒温干燥法; 粗脂肪含量采用氯仿甲醇法; 灰分含量采用干法灰化法; 总糖含量采用硫酸-苯酚法。

收稿日期: 2006-06-20 * 通讯联系人

作者简介: 徐凤香(1981-), 女, 硕士。

基金项目: 教育部科学技术重点项目(106106); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(2004BS07003); 青岛市科技发展人才基金(04-2-Z-110)。

表1 鱼翅的基本成分

基本成分	总蛋白	水分	脂肪	灰分	胶原蛋白
含量(%)	44.62±2.00	54.47±0.70	0.98±0.10	0.21±0.05	41.50±0.17

1.2.3 胶原蛋白含量的测定

1.2.3.1 标准曲线的制作 吸取羟脯氨酸储存液30mL到100mL容量瓶中,用蒸馏水定容到100mL,浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。吸取羟脯氨酸标准工作液3.0、6.0、9.0、12.0、15.0mL,分别用蒸馏水定容到100mL,浓度分别为1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。以蒸馏水为空白,分别吸取上述标准液1mL,加入1mL柠檬酸缓冲液和1mL氯胺T溶液在室温氧化10min后,加入高氯酸1mL放置10min,加入对二甲基氨基苯甲醛1mL,65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴显色20min,冷却后在560nm处测吸光度。

1.2.3.2 胶原蛋白含量的测定 称取0.5g左右干燥样品放入安瓿瓶中,然后加入浓度为6mol/L HCl溶液2mL,封口,置于130 $^{\circ}\text{C}$ 下水解3h。将水解液定容后,测定吸光值,将测得的羟脯氨酸含量再乘以转换系数13.3即可得胶原蛋白含量^[10]。

1.2.4 胶原蛋白提取方法 先将碱发的鱼翅绞碎,用0.1mol/L NaOH浸泡搅拌3d,除去杂蛋白,并洗涤沉淀至中性。将沉淀用0.5mol/L乙酸浸泡搅拌2~3d,取出,10000r/min离心40min,得沉淀I和上清液,上清液即为酸溶性胶原蛋白。用0.8mol/L NaCl盐析,搅拌过夜,9000r/min离心20min,去上清,沉淀用0.5mol/L乙酸溶解,用0.02mol/L的 NaH_2PO_4 (pH为8.0)透析2d,沉淀用少许0.5mol/L乙酸溶解,对0.1mol/L乙酸透析,用硝酸银滴入透析液,至无沉淀为止。将透析袋内液体冷冻干燥得到酸溶胶原蛋白。沉淀I用含0.5%胃蛋白酶(酶活力为1:10000)的0.5mol/L乙酸浸泡搅拌2~3d。离心后取上清液,处理同上,可得酶促溶胶原蛋白。

1.2.5 氨基酸分析 准确称取一定量冻干鱼翅样品,精确到0.0001g,用日立835-50型氨基酸自动分析仪对其主要氨基酸组成进行分析。

1.2.6 差示扫描量热(DSC)测定 将原翅放入2mol/L NaOH中浸泡约2h,待其翅针全部露出,取出翅针,用水冲洗后,取样品重量34mg,用DSC(2000PC,NETZSCH Gerätebau GmbH,Germany)测定。升温速度为2.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 。

1.2.7 胶原蛋白紫外分光吸收测定 将胶原蛋白用0.5mol/L乙酸溶解,使其终浓度为0.5mg/mL,采用751UVGD紫外可见分光光度计测定。

1.2.8 SDS-page电泳 取20 μL 胶原上清液,加入5 $\mu\text{L}\times 5$ 样品缓冲液(60mmol/L Tris-HCl缓冲液,25%甘油,2%SDS,14.4mmol/L巯基乙醇,0.1%溴酚蓝)100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸5min,进行SDS-PAGE垂直板电泳。浓缩胶的浓度为5%,分离胶的浓度为9%,电泳缓冲液

采用SDS-Tris-胍氨酸系统,以30mA/胶恒流电泳直至溴酚蓝前沿距离凝胶下端1cm左右时结束。

2 结果与讨论

2.1 基本成分

鱼翅的基本成分见表1。由表1可以看出,冷水浸泡的鱼翅中水分含量较高,可达54%,粗蛋白含量将近45%,脂肪及灰分含量较少,相加之和稍多于1%。通过L-羟脯氨酸法测得鱼翅中羟脯氨酸含量为3.08%,进而得胶原蛋白占鱼翅基本成分的41.5%,占粗蛋白的92%。由此可知,胶原蛋白是鱼翅中的主要蛋白质。

2.2 氨基酸分析结果

鱼翅的氨基酸分析结果如表2所示。由表2可以看出,在鱼翅的氨基酸组成中,含有多种必需氨基酸,具有较高的营养价值。必需氨基酸占氨基酸总量的20.5%,其中,没有检测到色氨酸,其它必需氨基酸含量较高,缬氨酸含量可达6.373mol。非必需氨基酸中,甘氨酸含量最高,为23.975mol,几乎占到氨基酸总含量的1/3,说明鱼翅中的胶原蛋白含量相当高。此外,与鲟鱼鳍氨基酸组成成分相比较可知,天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、精氨酸含量相对较低,而酪氨酸、缬氨酸含量明显较高^[11]。

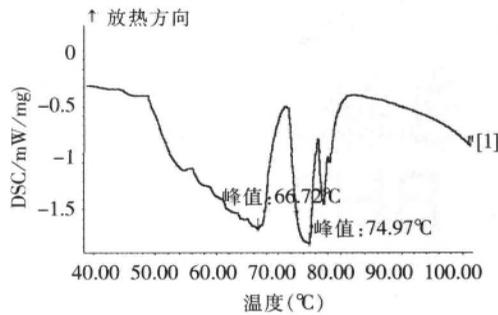
表2 鱼翅氨基酸分析结果

氨基酸	物质的量(mol)	氨基酸	物质的量(mol)
Asp(天冬氨酸)	5.301	Ile(异亮氨酸)*	2.118
Thr(苏氨酸)*	1.972	Leu(亮氨酸)*	1.951
Ser(丝氨酸)	3.514	Tyr(酪氨酸)*	4.752
Glu(谷氨酸)	7.916	Phe(苯丙氨酸)*	1.383
Gly(甘氨酸)	23.975	Lys(赖氨酸)*	2.480
Ala(丙氨酸)	10.446	His(组氨酸)	0.930
Val(缬氨酸)*	6.373	Arg(精氨酸)	4.744
Met(蛋氨酸)*	1.358	共计	79.213

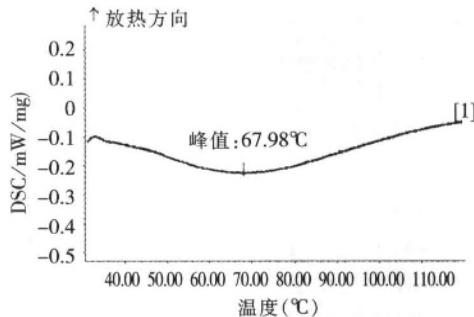
注:*表示必需氨基酸。

2.3 DSC热分析结果

未经加热碱处理鱼翅的差示扫描量热分析结果如图1a所示,从DSC吸热曲线可以看出,在66~76 $^{\circ}\text{C}$ 范围内有两个明显的吸热峰,分别为66.72 $^{\circ}\text{C}$ 和74.97 $^{\circ}\text{C}$ 。从鱼翅中提取胶原蛋白的DSC热分析结果(图1b)中发现,鱼翅的胶原蛋白的热变性温度为67.98 $^{\circ}\text{C}$,与图1a中66.72 $^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰值基本吻合,故推论66.72 $^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰为胶原蛋白热变性所引起。Kimura等研究指出,鱼翅胶原蛋白是与I型不同的胶原蛋白,称为拟弹性蛋白,是支撑鱼翅的一种胶原蛋白复合体,在拟弹性蛋白中,占角质纤维的80%的胶原是由3条同样的 α 链组成,与真皮中的 $\alpha 1(I)$ 胶



(a) 为原翅的 DSC 吸热曲线



(b) 为所提取的胶原蛋白的结果

图 1 鱼翅的 DSC 吸热曲线图

原类似。而约占纤维 20% 的非胶原性蛋白质能显著提高拟弹性蛋白的热稳定性^[12,13]。DSC 图谱中 74.97 的吸收面积明显少于 66.72 的峰面积, 鉴于此, 我们推测 74.97 吸热峰为拟弹性蛋白中的非胶原性蛋白所引起的。

2.4 鱼翅胶原蛋白的紫外可见吸收光谱

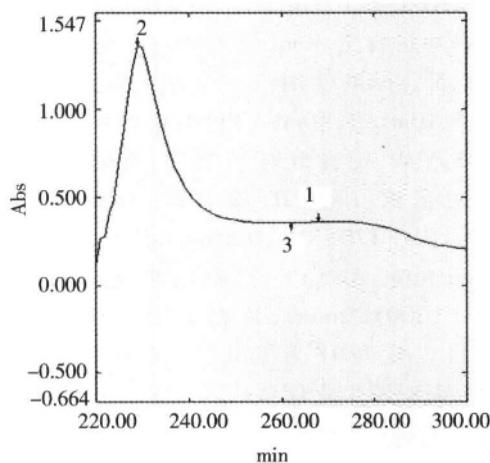


图 2 胶原蛋白紫外吸收光谱

对所提取的胶原蛋白在 200~300nm 近紫外光区进行紫外吸收的测定, 结果见图 2。由图可见, 胶原蛋白的最大吸收波长为 230nm, 而胶原蛋白的特征吸收在 220nm 左右^[14], 说明所提取的为胶原蛋白, 并有一定的纯度。

2.5 胶原蛋白 SDS-page 电泳

图 3 为所提取的胶原蛋白电泳图。由图可以看

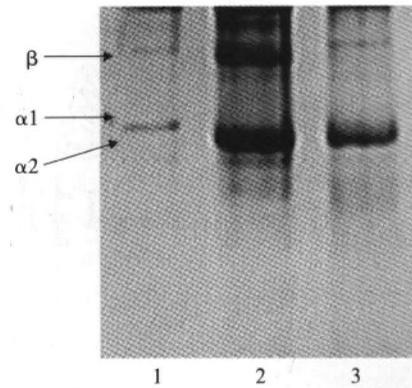


图 3 SDS-page 电泳分析

1. 为 I 型胶原蛋白标准品; 2. 为胃蛋白酶促溶胶原; 3. 为乙酸溶胶原蛋白

出, 鱼翅的胶原蛋白为单个多肽链组成, 分子量在 1 链和 2 链之间, 大约为 130kDa, 与 Kimura 等报道的鲨鱼 (*Prionace glauca*) 拟弹性蛋白为 [1(E)]₃, 是由三条相同的类 1 链构成^[15]相符合, 故推测所提取的胶原蛋白为拟弹性蛋白 [1(E)]₃。比较条带 2 和条带 3 可以看出, 经胃蛋白酶酶解所提取的胶原蛋白链下端有一些杂蛋白, 是由于蛋白酶对胶原蛋白的降解所致。

3 结论

鱼翅的主要成分是蛋白质, 脂肪含量较少, 而蛋白中主要是胶原蛋白。氨基酸分析结果显示, 必需氨基酸占氨基酸总量的 20.5%, 不含色氨酸。非必需氨基酸含量丰富, 甘氨酸含量最高, 几乎占到氨基酸总含量的 1/3, 酪氨酸、缬氨酸含量相对较高。鱼翅的胶原蛋白的热变性温度为 67.98, 在 230nm 有最大吸收峰。鱼翅的胶原蛋白由三个相同的类 1 多肽链构成, 分子量在 130kDa 左右。

参考文献:

- [1] 邵建华. 燕翅鲍肚参之再认识[J]. 四川烹饪, 2004(3): 22-24.
- [2] 青岛良友餐饮有限公司编. 吃鱼翅[M]. 青岛出版社, 2006, 1.5-7.
- [3] 贾福星, 沈先荣. 鲨鱼软骨血管生成抑制因子的研究进展[J]. 解放军药学学报, 2002, 18(1): 34-37.
- [4] Kimura S, Kubota M. Studies on elastoidin—some chemical and physical properties of elastoidin and its components[J]. J Biochem, 1996, 60: 615-621.
- [5] Galloway J. Elastoidin. In biology of invertebrate and lower Vertebrate Collagens[M]. A Bairati, R Garrone (Ed), New York: Plenum Press, 1985. 43-450.
- [6] Skorski Z F, Scott DN, Buisson D H. The role of collagen in the quality and processing of fish[J]. CRC Crit Rev Food Sci Nutr, 1984, 20: 301-341.

(下转第 224 页)

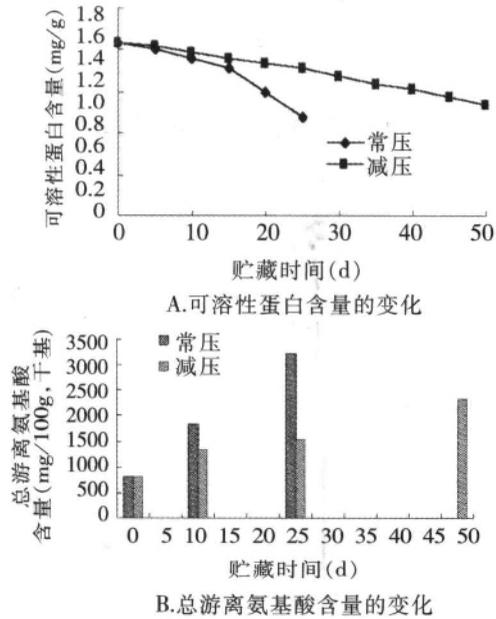


图7 不同贮藏条件对绿芦笋可溶性蛋白和总游离氨基酸含量的影响

常压冷藏条件下,可溶性蛋白在贮藏的前10d下降比较缓慢,与三阶段减压贮藏条件下差异不显著($P>0.05$);之后可溶性蛋白迅速下降,至贮藏的第25d,可溶性蛋白比入贮当天降低了42.51%,而三阶段减压贮藏条件下可溶性蛋白只比入贮当天降低了14.97%,其下降速度是常压冷藏条件下的35.22%,二者差异显著($P<0.05$)。从图7B可见,两种贮藏条件下总游离氨基酸含量的变化均随贮藏时间的延长呈上升趋势。常压冷藏条件下,总游离氨基酸在贮藏的前10d增加缓慢,与三阶段减压贮藏条件下差异不显著($P>0.05$);之后总游离氨基酸迅速增加,至贮藏的第25d,总游离氨基酸增至入贮当天的3.31倍,而三阶段减压贮藏条件下总游离氨基酸增至入贮当天的2.11倍,其增加速度是常压冷藏条件下的47.97%,二者差异显著($P<0.05$)。说明三阶段减压贮藏条件可显著抑制可溶性蛋白的分解,延缓总游离氨基酸的上

升速度,也即三阶段减压贮藏能显著延缓绿芦笋采后的衰老进程。

3 结论

3.1 在绿芦笋采后贮藏过程中,碳水化合物的代谢是由还原糖向非还原糖、膳食纤维等物质的方向转化,使得绿芦笋随着贮藏时间的延长,其膳食纤维含量逐渐增加,嫩度逐渐下降,由此导致了绿芦笋食用品质降低。三阶段减压贮藏因能抑制碳水化合物的代谢,因而可减缓绿芦笋老化。

3.2 绿芦笋在采后贮藏过程中,绿色色泽的消退,不是类胡萝卜素含量的增加所致,相反,在叶绿素降解的同时类胡萝卜素含量也逐渐降低;绿芦笋在贮藏后期绿色消退变黄的原因是叶绿素大幅度的降解使类胡萝卜素色泽有所显现的结果。

3.3 三阶段减压贮藏工艺,可明显抑制采后绿芦笋总酸、抗坏血酸、类胡萝卜素、叶绿素及蛋白质的降解速率,延缓总游离氨基酸的上升速度,保持绿芦笋良好的营养品质,延缓绿芦笋衰老进程,使绿芦笋的保鲜期延长至50d,是常压冷藏条件下的两倍。

参考文献:

- [1] Lill R E. Storage of fresh asparagus [J]. New Zealand Journal of the Experimental Agriculture, 1980, 8(2):163-167.
- [2] 沈莲清,黄光荣. 芦笋MAP气调保鲜研究[J]. 浙江农业学报,2004,16(1):42-46.
- [3] 郭志义,程治山,马翠萍,等. 芦笋采后环境因素与生理变化的关系及对贮藏的影响[J]. 华北农学报,1995,10(3):33-37.
- [4] Sanchez P I M, Cano M G, Cruz R J. Use of controlled atmospheres in the preservation of green asparagus[J]. Alimentaria, 2000, 317:125-128.
- [5] 侯曼玲. 食品分析[M]. 北京:化学工业出版社,2004, 6: 38-97.
- [6] 潘增光,王国宾,李奎明,等. 红红星苹果果实着色期几种色素含量变化及其相关性[J]. 植物生理学通讯,1996,32:347-349.
- [7] Bailey A J. The biological diversity of collagen: A family of molecules. In Advances in Meat Research[M]. New York: Van Nostrand Reinhold Co,1987:1-47.
- [8] Kimura S, Uematsu Y, Miyauchi Y. Shark (prionace glauca) elastoidin: Characterization of its collagen as [1(E)]₃ homotrimers. Comp[J]. Biochem physiol,1986,84:305-308.
- [9] Svakumar, Gowri Chandrakasan. Occurrence of a novel collagen with three distinct chains in the cranial cartilage of the squid Sepia officinalis: comparison with shark cartilage collagen. Biochimica et Biophysica Acta 1381,1998:161-169.
- [10] Woessner J F. The determination of Hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of imino acid[J]. Arch Biochem Biophys, 1961,93: 440-447.
- [11] 程波,卢业丽,等. 施氏鲟鱼鳍营养成分分析[J]. 水产养殖, 2006, 27(1):6-8.
- [12] S Kimura, Y. Uematsu and Y. Miyauchi: Comp. biochem. Physiol., 75B, 681(1983).
- [13] S Kimura and M. Kubota: Biochem, 65, 141(1969).
- [14] 赵苍碧,黄玉东,李艳辉. 从牛腱中提取胶原蛋白的研究[J]. 哈尔滨工业大学学报,2004,36(4):289-293.

(上接第227页)

- [7] Bailey A J. The biological diversity of collagen: A family of molecules. In Advances in Meat Research[M]. New York: Van Nostrand Reinhold Co,1987:1-47.
- [8] Kimura S, Uematsu Y, Miyauchi Y. Shark (prionace glauca) elastoidin: Characterization of its collagen as [1(E)]₃ homotrimers. Comp[J]. Biochem physiol,1986,84:305-308.
- [9] Svakumar, Gowri Chandrakasan. Occurrence of a novel collagen with three distinct chains in the cranial cartilage of the squid Sepia officinalis: comparison with shark cartilage collagen. Biochimica et Biophysica Acta 1381,1998:161-169.