

# 鮟鱇鱼皮胶原蛋白肽的抗氧化活性

马华威<sup>1</sup>, 杨会成<sup>2,3</sup>, 付万冬<sup>2</sup>, 廖妙飞<sup>2</sup>, 周宇芳<sup>2</sup>, 相兴伟<sup>2</sup>, 陈 孟<sup>1</sup>, 郑 斌<sup>2,\*</sup>

(1. 浙江海洋学院海洋科学学院, 浙江 舟山 316022; 2. 浙江省海洋开发研究院, 浙江 舟山 316021;

3. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

**摘 要:** 选取铁离子还原体系和3种自由基体系为指标, 研究鮟鱇鱼皮胶原蛋白肽体外清除自由基效果和抗氧化作用。采用超滤膜分离鮟鱇鱼皮胶原蛋白肽组分, 筛选出体外清除 $\cdot\text{OH}$ 活性最好的组分, 再建立小鼠衰老模型, 将分离得到活性最好的组分采用灌胃法, 测定小鼠皮肤中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)和羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)的含量, 研究鮟鱇鱼皮胶原蛋白肽体内抗氧化和清除自由基作用。结果表明: 鮟鱇鱼皮胶原蛋白肽具有较强的还原能力且对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH自由基、 $\cdot\text{OH}$ 具有清除效果, 质量浓度为10 mg/mL时对 $\cdot\text{OH}$ 、DPPH自由基、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率和对 $\text{Fe}^{3+}$ 的还原能力分别为70.48%、68.78%、42.53%和0.676; 分子质量小于2 000 D的鮟鱇鱼皮胶原蛋白肽组分对 $\cdot\text{OH}$ 具有较好的清除效果,  $\text{IC}_{50}$ 为15.7 mg/mL; 剂量为100 mg/(kg·d)时, 显著提高了皮肤中SOD、GSH-Px、CAT的活性, 较模型组分别增加20.9%、41.3%和58.1%, 且显著抑制MDA的形成。

**关键词:** 鮟鱇鱼皮; 胶原蛋白肽; 抗氧化; 丙二醛; 羟脯氨酸

## Antioxidant Activity of Collagen Peptides from *Lophius litulon* Skin

MA Hua-wei<sup>1</sup>, YANG Hui-cheng<sup>2,3</sup>, FU Wan-dong<sup>2</sup>, LIAO Miao-fei<sup>2</sup>, ZHOU Yu-fang<sup>2</sup>, XIANG Xing-wei<sup>2</sup>, CHEN Meng<sup>1</sup>, ZHENG Bin<sup>2,\*</sup>

(1. School of Marine Science, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316021, China;

3. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** A ferric ion-reducing system and three free radical systems were used to evaluate the radical-scavenging capacity and antioxidant activity of collagen peptides from *Lophius litulon* skin *in vitro*. The peptide components were separated by ultrafiltration and the fraction with the highest hydroxyl radical scavenging activity *in vitro* was obtained. In addition, aged mouse models were constructed and determined for SOD, CAT, GSH-Px, MDA and Hyp contents in the skin after oral administration of the screened fraction. The results showed that *Lophius litulon* skin collagen peptides had strong reducing power and superoxide anion, DPPH and hydroxyl radical scavenging capacity *in vitro*. When the sample concentration was 10 mg/mL, the scavenging rates of hydroxyl, DPPH and superoxide anion radicals and the ferric ion reducing power were 70.48%, 68.78%, 42.53% and 0.676, respectively. The fraction with relative molecular weight less than 2 000 D had stronger hydroxyl radical scavenging activity, and its  $\text{IC}_{50}$  was 15.7 mg/mL. The activities of SOD, GSH-Px and CAT in skin were increased by respectively 20.9%, 41.3% and 58.1% at the dose of 100 mg/(kg·d) when compared with the model group. Moreover the generation of MDA was significantly inhibited.

**Key words:** *Lophius litulon* skin; collagen peptide; antioxidant activity; malondialdehyde; hydroxyproline

中图分类号: Q936.16

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 09-0080-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201409017

在水产品加工过程中, 会产生大量的下脚料(包括鱼头、鱼皮、鱼鳍、鱼尾、鱼骨及其残留鱼肉), 其质量约占原料鱼的30%~55%, 不同部位胶原蛋白的含量从

20%~50%不等<sup>[1-3]</sup>。鮟鱇鱼(*Lophius litulon*)属冷温性底层鱼类, 常栖伏海底, 分布于北太平洋西部, 我国产于东海北部、黄海及渤海<sup>[4]</sup>。近年来我国鮟鱇鱼出口需求

收稿日期: 2013-05-07

基金项目: 浙江省厅市会商项目(2011C02003); 舟山市海洋类项目(2011C21059);

浙江省公益技术研究农业项目(2012C22068); “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD28B05-02)

作者简介: 马华威(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物资源开发与利用。E-mail: ma463543285@163.com

\*通信作者: 郑斌(1968—), 男, 研究员, 硕士, 研究方向为水产品加工及质量安全控制。E-mail: 6369958@163.com

旺盛,产量和价格大幅增加,鮫鮓鱼出口已成为我国的新兴渔业。然而,在鮫鮓鱼的加工中,大量鱼皮被作为下脚料而废弃,这不仅污染了环境,也造成了资源的浪费<sup>[5]</sup>。目前,为了提高鮫鮓鱼皮的经济附加值,已有学者开始研究从鮫鮓鱼加工副产物中提取硫酸皮肤素、硫酸软骨素、胶原蛋白等。

以水产胶原蛋白或多肽为基料可开发成各种保健品、功能食品、添加剂等,但与哺乳动物胶原蛋白的应用研究相比,水产胶原蛋白的特性及其在医学、美容护肤、食品、化工及生物材料等方面的应用研究相对较少,限制了其应用范围<sup>[6]</sup>。初步研究结果表明,水产胶原蛋白和多肽具有保护胃黏膜、抗溃疡作用、抗过敏、降血压、降胆固醇、抗衰老、促进伤口愈合、增强骨强度和预防骨质疏松、预防关节炎、促进角膜上皮创伤修复和促进角膜上皮细胞生长等多种生理活性功能<sup>[7-9]</sup>。

人体内有多种自由基,尤以氧自由基最多<sup>[12]</sup>。研究证实人体内氧化产生的自由基与人的衰老、癌症、动脉硬化等许多疾病有关。过多的自由基可损伤机体内生物大分子,影响细胞的正常结构和功能<sup>[10-11]</sup>。而在食品等复杂体系中,大量的自由基也会严重影响体系的稳定性。因此,越来越多的学者将目光投入到海洋天然抗氧化活性物质的研究中,相关研究报道较多,结果也证实多种水产动物中提取的多肽物质具有体内外抗氧化活性,并显示了较好应用前景<sup>[13-21]</sup>。但迄今关于鮫鮓鱼皮制备多肽及其抗氧化研究的报道还较少。

本实验通过选取铁离子还原体系和具有代表性的 $O_2^{\cdot-}$ 、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼((1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl)), DPPH)自由基、 $\cdot OH$  3种自由基体系为指标,并构建抗氧化实验动物模型,研究鮫鮓鱼(*Lophius litulon*)皮胶原蛋白肽体外清除自由基效果和体内抗氧化作用,旨在为实现鮫鮓鱼皮的高值化加工利用提供数据支撑。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

鮫鮓鱼皮胶原蛋白肽粉末是由本实验室利用蛋白酶酶解鮫鮓鱼皮,再经冷冻干燥制得。昆明种小白鼠,体质量23~25 g,雌雄各半,浙江大学实验动物中心提供。实验动物合格证号SCXK(浙)20030001。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒 南京建成生物工程研究所;其他的试剂为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

80-2B型高速离心机 湖南星科科学仪器有限公司; UV-2102 C型紫外分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司; WDD-2型电脑发光测试仪 北京瑞利分析仪器公司; SCM-300型杯式超滤器 中国科学院上海应用物理研究所; AL-104电子分析天平 梅特勒-托利多仪器有限公司; 手持式快速pH计 意大利Hanna公司; Micct-Q型超纯水器 日本Milli-Por公司; 海尔冰箱 青岛海尔股份有限公司; EYELA冷冻干燥机 上海爱朗仪器有限公司; SK21-4型数显水浴锅 天津欧诺仪器公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 鮫鮓鱼皮胶原蛋白肽抗氧化能力测定

在本研究中选取VC、茶多酚、叔丁基羟基茴香醚(butylated hydroxyanisole, BHA)为对照样品,体外实验设置的鮫鮓鱼皮胶原蛋白肽质量浓度梯度为2、4、6、8、10 mg/mL。

##### 1.3.1.1 还原能力测定<sup>[22]</sup>

取一定鮫鮓鱼皮胶原蛋白肽质量浓度的样品,加入2.5 mL pH 6.6的磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L)和2.5 mL体积分数1%的铁氰化钾溶液,混匀,在50℃保温20 min后加入2.5 mL 10%的三氯乙酸,混合后以3 000 r/min离心10 min。取上清液2.5 mL,加蒸馏水2.5 mL和0.5 mL质量分数为0.1%的 $FeCl_3$ ,然后在700 nm波长处比色。

##### 1.3.1.2 清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力测定

采用邻苯三酚自氧化法<sup>[23]</sup>,邻苯三酚在碱性条件下会发生自氧化,生成有色中间产物和超氧阴离子自由基, $O_2^{\cdot-}$ 对自氧化有催化作用。具体操作:取0.05 mol/L Tris-HCl pH 8.2缓冲液4.5 mL,置于25℃水浴预热20 min,加0.1 mL不同质量浓度的样品,2.5 mmol/L邻苯三酚0.4 mL,混匀后在25℃水浴中反应4 min,立即用VC溶液终止反应,测 $A_{299\text{ nm}}$ 值。以蒸馏水代替样品做空白组,按式(1)计算清除率并求得 $IC_{50}$ 。

$$O_2^{\cdot-} \text{清除率}/\% = \frac{A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 为样品吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为空白的吸光度。

##### 1.3.1.3 清除DPPH自由基的能力测定

采用DPPH酶标仪法<sup>[24]</sup>,加不同质量浓度的样品溶液100  $\mu\text{L}$ 和1 mmol/L的DPPH自由基甲醇溶液100  $\mu\text{L}$ 于96孔酶标板中,振荡30 s,37℃保温20 min后在517 nm波长处测定。每个样品平行测定3次,然后按式(2)计算。

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_p - A_c}{A_{\text{max}}}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中: $A_p$ 为样品和1 mmol/mL DPPH自由基反应后的吸光度; $A_c$ 为不加DPPH自由基时样品的吸光度; $A_{\text{max}}$ 为

加DPPH自由基但不加样品（以80%甲醇代替样品）的吸光度。

#### 1.3.1.4 清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力测定<sup>[25]</sup>

取0.025 mol/L、pH 7.4的磷酸缓冲液1 mL、40  $\mu\text{g/mL}$  番红花红1 mL、供试样品0.5 mL、3%过氧化氢1 mL（新鲜配制）、0.945 mmol/L EDTA-Fe（II）1 mL（新鲜配制），混合后在37  $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应30 min后在520 nm波长处测定吸光度。空白组以0.5 mL蒸馏水代替供试样品，对照组以1.5 mL蒸馏水代替EDTA-Fe（II）和供试样品，并按式（3）计算清除率。

$$\cdot\text{OH清除率}/\% = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (3)$$

式中： $A_{\text{样品}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 分别为样品、空白和对照组的吸光度。

#### 1.3.2 不同分子质量的鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽的制备

称取一定量的鲛鳕皮胶原蛋白肽粉末，用超纯水溶解后，依次用截留值分子质量为10 000、5 000、2 000 D的超滤膜进行超滤处理，得到分子质量（ $M_r$ ）范围为： $M_r > 10\,000\text{ D}$ ， $5\,000\text{ D} < M_r < 10\,000\text{ D}$ ， $2\,000\text{ D} < M_r < 5\,000\text{ D}$ 等不同组分的多肽，分别测定各组分多肽对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率以及蛋白含量，并计算各组分的 $\text{IC}_{50}$ ，冻干保存。

#### 1.3.3 动物实验

##### 1.3.3.1 实验动物的处理

昆明种小白鼠40只，雌雄各一半，按性别、体质量随机分为模型组、正常组和实验组（低剂量组和高剂量组），分组后饲养观察5 d，以便剔除发育不良个体。模型组每天颈背部皮下注射1 000 mg/（ $\text{kg}\cdot\text{d}$ ）的D-半乳糖，同时灌胃2 mL生理盐水（10 mL/（ $\text{kg}\cdot\text{d}$ ））。以超滤膜分离的胶原蛋白肽（ $M_r < 2\,000\text{ D}$ ）进行给药灌胃，按体质量分别设为50 mg/（ $\text{kg}\cdot\text{d}$ ）（低剂量组）和100 mg/（ $\text{kg}\cdot\text{d}$ ）（高剂量组，灌胃量按照0.1 mL/（10 g $\cdot\text{d}$ ），正常组用生理盐水2.0 mL/d进行连续灌胃30 d，实验期间，小鼠自由摄食及饮水。

##### 1.3.3.2 实验样本采集

小鼠停止灌胃、停食1 d后，取背部皮下组织，剪碎，并加4  $^{\circ}\text{C}$ 预冷的生理盐水以固液比1:9（ $m/V$ ）混合，用组织匀浆机充分研磨，于3 200 r/min，离心15 min，取上清液-20  $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

##### 1.3.3.3 指标测定

皮肤中SOD、GSH-Px、CAT活力和MDA含量的测定分别按照试剂盒说明进行。羟脯氨酸含量的测定利用ISO3496（E）的比色法测量在130  $^{\circ}\text{C}$ 条件下6 mol/L的HCl水解4 h的待测样品。

## 2 结果与分析

### 2.1 鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽的抗氧化能力

#### 2.1.1 鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽的还原能力

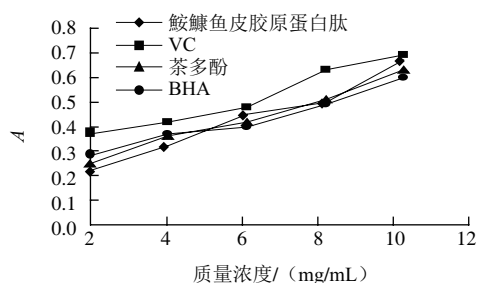


图1 鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽、VC、茶多酚和BHA的还原能力比较

Fig.1 Comparison of reducing power of collagen peptide, vitamin C, tea polyphenols and BHA

由图1可知，鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽对 $\text{Fe}^{3+}$ 的还原能力随质量浓度的增加而增强。与VC、BHA和茶多酚相比，10 mg/mL相同质量浓度条件下，鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽的还原能力介于VC和BHA之间，以VC的还原能力最高，鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽的还原能力0.676。

#### 2.1.2 鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 是生物有机体代谢过程中能产生强氧化能力的自由基，其清除效果可用来表征样品的抗氧化能力<sup>[26]</sup>。由图2可知，随抗氧化剂质量浓度的增加，鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽、VC、茶多酚和BHA对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除率也随之增大，其中鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽质量浓度为10 mg/mL时 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除率为42.53%。

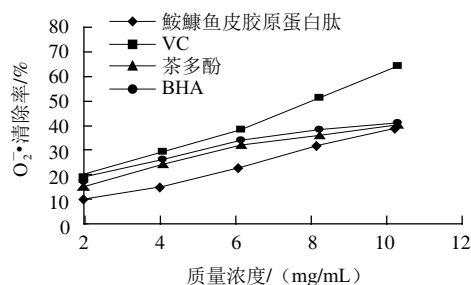


图2 鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽、VC、茶多酚和BHA清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力比较

Fig.2 Comparison of superoxide anion radical scavenging capacity of collagen peptide, vitamin C, tea polyphenols and BHA

#### 2.1.3 鲛鳕鱼皮胶原蛋白肽清除DPPH自由基的能力

DPPH自由基在有机溶剂中是一种稳定的自由基，其乙醇紫色溶液在517 nm波长处有强烈的吸收。抗氧化剂能使这一吸收现象消失，颜色褪化，因此通过衡量样品溶液吸光度的变化能够快速灵敏的评价抗氧化剂的抗氧化能力<sup>[27-28]</sup>。由图3可知，各受试样品清除DPPH自由基的能力均随其质量浓度的增加而增大，鲛鳕鱼皮胶原蛋白

白肽质量浓度为10 mg/mL时, DPPH自由基清除率可达68.78%。质量浓度相同时, 各抗氧化剂清除DPPH自由基能力大小依次为茶多酚>VC>鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽>BHA。

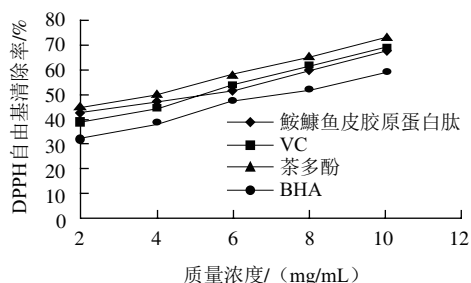


图3 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽、VC、茶多酚和BHA清除DPPH自由基的能力比较

Fig.3 Comparison of DPPH radical scavenging capacity of collagen peptide, vitamin C, tea polyphenols and BHA

#### 2.1.4 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽清除·OH的能力

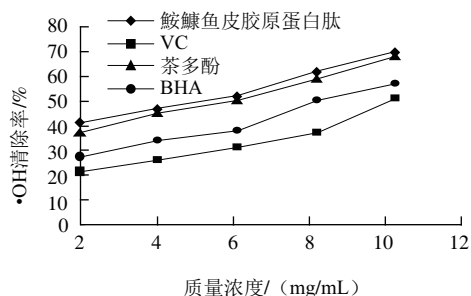


图4 鱼皮胶原蛋白肽、VC、茶多酚和BHA清除·OH的能力比较

Fig.4 Comparison of hydroxyl radical scavenging capacity of collagen peptide, vitamin C, tea polyphenols and BHA

·OH是需氧生物代谢过程中生成的具有强氧化能力的氧自由基, 因此可以用清除·OH能力来反映样品抗氧化性的强弱<sup>[29-30]</sup>。由图4可知, 不同抗氧化剂清除·OH的能力均随质量浓度的增加而增大, 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽质量浓度为10 mg/mL时, 对·OH的清除率达70.48%, 明显高于VC和BHA。此外, 不同抗氧化剂在相同质量浓度条件下, 清除·OH能力的大小依次为: 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽>茶多酚>BHA>VC。由此可知, 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽具有较强的清除·OH能力。

#### 2.2 不同分子质量的鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽的活性

鲛鳔鱼皮酶解液经过10 000、5 000、2 000 D超滤膜, 对收集到的各组分按1.3.1.4节中·OH清除能力测定, 结果见表1。各受试组分均有清除·OH能力, 且活性高低与其分子质量大小相关, 随着分子质量减小而增大, 2 000 D以下的活性最高, 其 $IC_{50}$ 达到15.7 mg/mL。因此对2 000 D以下的酶解液组分进行收集并冻干保存, 用于抗氧化活性的进一步研究。

表1 超滤分离及清除·OH活性测定结果

Table 1 Hydroxyl radical scavenging activity of ultrafiltration fractions

组分	体积/mL	·OH清除率/%	蛋白质量浓度/(mg/mL)	$IC_{50}$ /(mg/mL)
鲛鳔鱼皮蛋白液	500	76.14	30.00	19.2
$M_r > 10\ 000$ D酶解液	75	53.40	27.43	18.9
$5\ 000\ D < M_r < 10\ 000\ D$ 酶解液	82	63.40	30.43	17.8
$2\ 000\ D < M_r < 5\ 000\ D$ 酶解液	187	84.36	35.21	16.3
$M_r < 2\ 000\ D$ 酶解液	152	74.24	23.45	15.7

#### 2.3 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽抗氧化活性动物实验

以清除·OH活性最强的鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽 ( $M_r < 2\ 000\ D$ ) 进行动物实验, 对小鼠血清及皮肤中各项生化指标进行检测, 结果如表2所示。颈背部皮下注射100 mg/(kg·d) D-半乳糖后的模型组动物体内的自由基大量增加, 此时, 抗氧化酶体系严重破坏, 致使SOD、GSH-Px、CAT的活力降低, Hyp水平减少, MDA含量增多, 说明致动物衰老模型构建成功。

MDA的形成常用于表示脂质过氧化作用的指数, Hyp的含量是衡量机体对自由基攻击反应的指数。

表2 鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽对小鼠皮肤的抗氧化指标影响

( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=20$ )

Table 2 Effects of collagen peptides in skin antioxidant parameters in mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=20$ )

组别	剂量/(mg/(kg·d))	SOD活力/(U/mL)	GSH-Px活力/(U/0.1 mL)	CAT活力/(U/mL)	MDA含量/(nmol/mL)	Hyp含量/(mg/g)
正常组		24.84±1.96	33.2±7.12	4.33±0.70	5.02±0.56	1.08±0.12
模型组		20.8±3.51 <sup>△△</sup>	22.8±2.56 <sup>△△</sup>	3.00±0.86 <sup>△△</sup>	6.86±1.42 <sup>△△</sup>	0.75±0.053 <sup>△△</sup>
低剂量组	50	22.0±1.42*	28.2±6.25	4.02±0.46**	5.33±1.45*	0.88±0.09*
高剂量组	100	24.7±0.99**	32.6±4.05*	4.68±0.44**	5.21±0.34**	0.95±0.13**

注: \*, 与模型组比较, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\*, 与模型组比较, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ); △△, 与正常组比较, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

由表2可知, 模型组小鼠脂质过氧化产物增加, 皮肤中Hyp含量显著降低 ( $P < 0.01$ )。鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽可以极大提高皮肤中SOD、GSH-Px、CAT活性 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽剂量100 mg/(kg·d)时, 小鼠皮肤中各抗氧化酶的活力最高, 较模型组分别增加20.9%、41.3%和58.1%。鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽剂量50 mg/(kg·d)时, 皮肤中的MDA含量降低 ( $P < 0.05$ ), 并对皮肤中的GSH水平没有影响 ( $P > 0.05$ )。因此, 不同剂量的鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽均能显著增加GSH水平, 降低MDA水平, 且剂量为100 mg/(kg·d), 能显著抑制MDA的形成, 并增加皮肤组织的GSH水平 ( $P < 0.01$ )。

### 3 结论

3.1 低分子质量鲛鳔鱼皮胶原蛋白肽具有较好的抗自由基活性, 对·OH、DPPH自由基和 $O_2^{\cdot-}$ 具有清除作用。其样品质量浓度为10 mg/mL时对·OH、DPPH自由基、

O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>的清除率和还原能力分别为70.48%、68.78%、42.53%和0.676。相同质量浓度下,对•OH清除能力的大小为:鮫鮓鱼皮胶原蛋白>茶多酚>BHA>VC,对DPPH自由基清除能力的大小为:茶多酚>VC>鮫鮓鱼皮胶原蛋白>BHA。

3.2 小于2 000 D胶原蛋白肽组分对•OH具有较好的清除效果,其IC<sub>50</sub>为15.7 mg/mL。

3.3 动物实验结果表明,鮫鮓鱼皮胶原蛋白剂量100 mg/(kg•d)时,皮肤中抗氧化酶的活力最高,较模型组分别增加20.9%、41.3%和58.1%,显著抑制MDA的形成。

#### 参考文献:

- [1] 鸿巢章二,桥本周久.水产利用化学[M].北京:中国农业出版,1994: 202-204.
- [2] 傅燕凤,沈月新,杨承刚.淡水鱼鱼皮胶原蛋白的提取[J].上海水产大学学报,2004,13(2): 146-151.
- [3] ZHANG Zhongkai, LI Guoying, SHI B L. Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes[J]. Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists, 2006, 90: 23-28.
- [4] 徐开达,贺舟挺,朱文斌,等.东海北部和黄海南部黄鮫鮓的数量分布及其群体结构特征[J].大连水产学院学报,2010,25(5): 465-470.
- [5] 白宗萍,申玉梅.鮫鮓鱼片的加工技术[J].中国水产,1999(4): 46-47.
- [6] KOŁODZIEJSKA I, SIKORSKI Z E, NIEŁKOWSKA C. Parameters affecting the isolation of collagen from squid (*Illexaax genntinus*) skin[J]. Food Chemistry, 1999, 66: 153-157.
- [7] FAROUK M M, PRICE J F, SALIH A M. Effect of edible collagen film overwrap on exudation and lipid oxidation in beef round steak[J]. Food Science, 1990, 55: 508-510.
- [8] 杜敏,南庆贤.猪皮胶原蛋白的制备及在食品中的应用[J].食品科学,1994,15(7): 36-40.
- [9] 徐海菊,蔡健,陈江萍.水产胶原蛋白质的基本特性及其在食品加工中的应用[J].浙江农业科学,2010(2): 324-327.
- [10] 陈君石,闻之梅.食物、营养与癌症预防[M].上海:上海医科大学出版社,1999: 301-304.
- [11] 陈炳卿.营养与食品卫生学[M].北京:人民卫生出版社,2000: 124-126.
- [12] 李胜利.营养与膳食[M].北京:人民卫生出版社,2004: 222-224.
- [13] 林琳,李八方.鲑鱼皮胶原蛋白水解肽抗氧化活性研究[J].中国海洋药物杂志,2006,25(4): 48-51.
- [14] 陈胜军,李来好,曾名勇.罗非鱼皮胶原蛋白降压肽酶解液的制备与活性研究[J].食品科学,2005,26(8): 229-232.
- [15] NAZEER R A, SAMPSTH N S, GANESH R J. *in vitro* and *in vivo* studies on the antioxidant activity of fish peptide isolated from the croaker (*Otolithes ruber*) muscle protein hydrolysate[J]. Peptides 2012, 35: 261-268.
- [16] ZHU Beiwei, DONG Xiuping, ZHOU Dayou, et al. Physicochemical properties and radical scavenging capacities of pepsin-solubilized collagen from sea cucumber (*Stichopus japonicus*) [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28: 182-188.
- [17] YOU Lijun, ZHAO Mouming, REGENSTEIN J M, et al. *in vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion[J]. Food Chemistry, 2011, 124: 188-194.
- [18] BEMARDINI R D, HAMEDY P, BOLTON D, et al. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products[J]. Food Chemistry, 2011, 124: 1296-1307.
- [19] SUN Liping, ZHANG Yunfeng, ZHUANG Yongliang. Antiphotaging effect and purification of an antioxidant peptide from tilapia (*Oreochromis niloticus*) gelatin peptides[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5: 154-162.
- [20] 丁利君,钟森辉.鲑鱼蛋白酶解工艺优化及其酶解液抗氧化研究[J].食品科学,2008,29(8): 398-401.
- [21] 牛瑞,于建生.鲑鱼多肽的抗氧化活性及其分离纯化[J].食品与生物技术学报,2010,29(4): 562-566.
- [22] 荣建华,李小定,谢笔钧.大豆肽体外抗氧化效果的研究[J].食品科学,2002,23(11): 118-120.
- [23] MARKLUND S, MARKLUND G. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase[J]. European Journal of Biochemistry, 1974, 47: 469-473.
- [24] 许申鸿,杭瑚. DPPH分析法研究野生植物的抗氧化活性[J]. 青岛大学学报,1999,12(3): 75-78.
- [25] 陈学勤.抗氧化研究实验方法[M].北京:中国医药科技出版社,1996.
- [26] 章绍兵.水酶法从油菜籽中提取油和生物肽的研究[D].无锡:江南大学,2008: 34-35.
- [27] 彭长连.用清除有机自由基DPPH法评价植物抗氧化能力[J].生物化学与生物物理进展,2000,27(6): 658-661.
- [28] NEGRO C. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts[J]. Bioresource Technology, 2003, 87: 41-44.
- [29] 许申鸿.一种测定•OH产生与清除的新化学发光体系[J].分析测试学报,2000,19(3): 11-13.
- [30] LI Yanhong, JIANG Bo, ZHANG Tao. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH)[J]. Food Chemistry, 2008, 106: 444-450.