

· 动物药 ·

# 从生物体中获得胶原蛋白的研究进展

贾雪婷, 孙佳明, 张 辉\*

(长春中医药大学, 长春 130117)

**摘要:** 胶原蛋白提取多集中在皮肤和肌腱等含胶原较为丰富的组织, 牛、猪、羊、人的胎盘、海洋生物、植物均是其来源。胶原蛋白提取分离方法包括热水浸提提取法、酸法提取、碱法提取、盐法提取、酶法提取等, 因其具有良好的物理性能和生物学特性, 被广泛应用在医药卫生、化妆品、食品等高附加值领域中。

**关键词:** 胶原蛋白; 提取; 分离; 热水浸提提取法; 酸法; 碱法; 盐法; 酶法

中图分类号: R282.74

文献标志码: B

文章编号: 1003-5699(2013)10-1034-02

胶原蛋白(也称胶原)是蛋白质中的一种, 胶原蛋白的来源广泛, 提取一般集中于皮肤和肌腱等含胶原较为丰富的组织。胶原的提取除传统的牛、猪、羊等来源, 还拓展到人的胎盘<sup>[1]</sup>、海洋生物、植物等其他资源, 甚至是利用基因生物技术从转基因动物获取的重组人胶原<sup>[2]</sup>。胶原中富含大量的甘氨酸、脯氨酸和羟脯氨酸, 其水解产物中还富含丰富的生理活性肽, 这些特性使胶原及其水解产物在医疗、保健及化妆品等行业具有良好的应用前景<sup>[3]</sup>。目前胶原的开发与利用已引起人们广泛的关注。

## 1 胶原蛋白的提取

胶原的提取是将胶原从原料中分离出来的过程, 其步骤一般为: 原料—粉碎—脱脂—提取分离—纯化—干燥。胶原是不完全的蛋白, 具有蛋白质的某些性质, 大多可溶于水及稀盐、稀酸和稀碱溶液等, 因此可根据需要采用不同的溶剂提取分离胶原蛋白。但在所有这些步骤中必须保证胶原生物大分子的完整性, 防止过酸、过碱、有机溶剂、高温、剧烈机械作用等破坏胶原的结构而导致其生物活性丧失。

**1.1 热水浸提提取法** 在胶原的生产中, 含脂量要求一般低于2%<sup>[4]</sup>。含脂量过高, 在提取过程中会生成难溶的沉积与骨表面的脂肪酸钙结块, 进一步影响胶原的色泽、透明度和亲水性, 严重影响胶原的提取。在一定条件下将经过各种前处理的原料用热水浸提

可得到水溶性胶原, 并且胶原在溶液中的溶解性与提取的温度成正比。但此法常与酸法提取相结合使用, 赵睿等<sup>[5]</sup>采用此法提取鳕鱼鱼皮胶原, 最佳提取条件是 pH 5.0, 在 42 °C 提取 25.72 h, 得率为 83.75%。林家福等<sup>[6]</sup>用热水浸提罗非鱼鳞胶原蛋白在温度 90 °C, pH 6.0, 固液比 1:13, 提取 2 h 效果最优, 蛋白得率为 212 mg/g。但此法提取的胶原在高温下极易变性, 不具有胶原的三螺旋结构, 不能用于医用生物材料。

**1.2 酸法提取** 酸法提取主要利用低离子浓度酸性条件下使分子间的盐键破坏而引起纤维的膨胀及溶解。酸法提取不仅可以使没有交联的胶原分子溶解出来, 也可使含有醛胺类交联键的胶原纤维溶解。朱秀灵等<sup>[7]</sup>采用此法以鲫鱼为原料, 乙酸质量浓度 0.41 mol/L, 液料比 12 mL/g, 提取 54.81 h, 胶原得率为 20.68%。陈丽丽等<sup>[8]</sup>采用此法对鲟鱼皮中胶原进行提取, 最佳工艺固液比 1:50, 在 15 °C 下用 0.5 mol/L 的醋酸浸提 72 h, 提取率达 62.05%。胡建平<sup>[9]</sup>采用此法提取鱼鳞胶原, 乙酸质量浓度 0.6 mol/L, 提取温度 36 °C, 提取时间 6 h, 料液比 1:30, 羟脯氨酸含量为 2.752 2 mg/mL, 提取率达 73.32%。酸法提取的胶原最大程度的保持了其三螺旋结构, 更适用于医用生物材料及原料的制备。

**1.3 碱法提取** 碱法提取是利用碱性物质为外界环

[作者简介] 贾雪婷(1987—), 女, 硕士研究生。研究方向: 中药学。

\*[通信作者] 张 辉, 电话: 0431-86172080, 电子邮箱: zhanghui\_8080@163.com

境的条件下进行浸渍处理以提取胶原的方法。郝文芳<sup>[10]</sup>从黑木耳中提取胶原碱法最优,最佳条件:NaOH 质量浓度 0.22 mol/L,提取时间 6.46 h,料液比 1:58.82,得率达 0.645%。此法提取的胶原乳化性、吸油性较高。但目前关于碱法提取胶原的报道尚少,可能是碱法提取易导致蛋白变性,发生消旋现象,故一般此法常与酸法提取结合应用。

1.4 盐法提取 盐法提取主要是利用胶原在盐溶液中受盐溶液离子的影响打开离子键。所应用的盐主要有 NaCl、KCl、CH<sub>3</sub>COONa 等。由于盐溶液质量浓度偏低无法溶解胶原,故一般选用相对质量浓度较高的盐溶液,一般盐溶液质量浓度为 0.5~2.0 M。郝林华等<sup>[11]</sup>用 0.5 M 乙酸-乙酸钠缓冲液从多棘海盘车中成功提取得到胶原。梁权<sup>[12]</sup>以猪皮为原料,在 65 °C 下,用 NaHSO<sub>3</sub> 和醋酸配置缓冲液、pH 值为 3.5,盐处理 1.5 h,酸处理 1.5 h 为最佳提取工艺,基本保持原蛋白质特性,吸水性好。一般采用不同质量浓度的氯化钠溶液对提取的胶原进行盐析,可沉淀出不同类型的胶原。

1.5 酶法提取 酶法提取即利用不同的酶在一定的外界环境条件下进行提取而得到酶溶性的胶原。胶原对胶原酶以外的蛋白酶有抵抗作用,故较少有关于单独使用酶提取的研究,大多与酸等物质相结合使用<sup>[13,14]</sup>,此法近几年来在医学和药物合成方面也是被关注的新途径<sup>[15]</sup>。张鹤等<sup>[16]</sup>应用此法从鹿筋中提取制备胶原蛋白,采用醋酸体积分数 5.5%、料液比 1:7 (mL/g)、浸提时间 14 h,胃蛋白酶与底物比 1:1 000 (g/g)、酶解时间 24 h,得率达 74.56%。李志洲<sup>[17]</sup>采用胰蛋白酶在超声条件下提取鳝鱼皮中胶原蛋白,酶加入量 125 U/g, pH 值 7.2,温度 35 °C,超声波辅助提取时间 3 min,酶解时间 7 h,得率达 92.4%。酶法提取胶原蛋白含量高,杂蛋白含量低,具有反应速度快、时间短、条件温和、无环境污染等优点<sup>[18-20]</sup>。

## 2 胶原蛋白的应用

国内外对胶原蛋白的利用主要分为 2 大类:一是着眼于胶原独特的宏观物理性能(纤维性能),主要用于相纸底片、纺织、造纸等;二是着眼于其内在性能(胶原的生物功能),主要用于食品保健、美容化妆品、医用材料等。

2.1 作为功能食品和保健食品的应用 胶原与体内钙的关系密切,羟基脯氨酸构成血浆中的胶原并将血浆中的钙运送到骨细胞;而骨细胞中的胶原(骨胶原)

将羟基磷灰石粘合到一起,并与之共同构成骨骼的主体。由此只要摄入足够的可与钙结合的胶原蛋白,促使钙在体内被较快消化吸收,且能较快的达到骨骼部位而沉积。因此胶原蛋白可制成一种补钙的保健食品<sup>[21]</sup>。有相关报道<sup>[22]</sup>指出如果没有足够的胶原蛋白,单纯的通过补钙无法防治骨质疏松。

2.2 胶原在化妆品中的应用 胶原及其水解物与人皮肤胶原的结构相似,相容性好,可扩散到皮肤的深层,对皮肤不仅具有很好的营养作用、修复性、保湿性而且还有很强的抗辐射等作用,被广泛应用于化妆品行业。现如今有很多含有胶原成分的面膜、眼霜等化妆品得到了广大消费者们的青睐。刘群<sup>[23]</sup>研制的以纯植物为原料的胶原蛋白护肤品,对改善皮肤松弛、老化、干燥缺水等症状疗效显著,6 000 例有效受试者中总有效率高达 97%。

2.3 胶原在生物医疗方面的应用 胶原具有力学性能高、促进细胞生长、止血、生物相容性和生物降解性等重要的生物学性质被广泛应用于生物医疗方面。有报道由柠檬酸缓冲液溶解胶原蛋白和聚乙烯吡咯烷酮制得胶原蛋白-PVP 聚合物(C-PVP)在应用于加固受伤的骨骼方面,较传统的效果更好,安全性更高。在长时间的实验和临床试验中均未表现出淋巴肿大、DNA 损伤,未引起肝、肾的代谢紊乱和诱发人体产生其抗体,亦有益于治疗尿不尽等方面的相关报道<sup>[24]</sup>。

## 3 结语

随着我国畜牧业和制革工业的迅猛发展,每年都有大量富含胶原的加工后废弃物没有得到充分的利用,造成了资源的极大浪费。近年来,科学工作者们利用不同的酶解方法进行处理得到胶原多肽并对其开发研究,为资源的合理利用以及其功能特性的开发利用奠定了良好基础。此外,由于动物胶原本身具有病原性,科学工作者们把目光投向了海洋生物、植物等其他产品来源,同时此类胶原自身具有良好的溶解性以及较低的抗原性等特点,使其拥有更大的应用与开发价值。相信随着科学技术的不断发展和提高,胶原的加工工艺也将日趋成熟,必将使胶原在医药卫生、保健品、化妆品等行业中拥有更大的经济效益和应用前景。

## 参考文献:

- [1] Piez KA. Molecular and aggregate structures of the collagens, in: K. A. Piez, A. H. Reddic (Eds.), Extracellular (下转第 1048 页)

衰大鼠的血流动力学指标<sup>[5-8]</sup>, 本实验研究结果显示, 与模型组相比, FR 配伍高、中、低剂量组均可不同程度改善 LVSP、dp/dtmax、-dp/dtmax 指标, 增加心肌收缩力, 改善心肌舒张功能, 缓解心衰症状。其中高、中剂量组作用优于低剂量组。可见附子与人参配伍后, 不同剂量组能够通过改善相关血流动力学指标而增强心肌的舒缩功能, 进而控制或缓解心衰, 发挥其回阳救逆之功。本实验研究为含有该药对的方剂临床应用与研究提供了理论依据及实验方法。

参考文献:

[ 1 ] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[ M ]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 976.

[ 2 ] 金惠明. 病理生理学[ M ]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 194.

[ 3 ] 葛敬岩, 赵春燕. 龙牙葱木皂苷对实验性心力衰竭大鼠心功能的影响[ J ]. 吉林大学学报(医学版), 2005, 31(2): 244.

[ 4 ] 王雁, 崔伟光, 李剑琦. 滋心阴胶囊对麻醉大鼠血流动力学的影响[ J ]. 中成药, 2000, 22(5): 354-356.

[ 5 ] 王立岩, 张志仁, 王奕琛, 等. 附子炮制前后对急性心衰大鼠血流动力学的影响[ J ]. 时珍国医国药, 2009, 34(6): 1327-1328.

[ 6 ] 张志仁, 张大方, 李丽静, 等. 附子炮制前后有效部位对正常及心衰大鼠血流动力学影响[ J ]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(3): 331-332.

[ 7 ] 王立岩, 张大方, 曲晓波, 等. 附子炮制前后有效部位强心作用的实验研究[ J ]. 中国中药杂志, 2009, 34(5): 593-598.

[ 8 ] 曾代文, 彭成, 余成浩, 等. 附子干姜组分配伍对急性心衰心阳虚证大鼠血流动力学的影响[ J ]. 中药药理与临床, 2011, 27(5): 93-96.

(责任编辑: 张海洋 收稿日期: 2013-09-09)

(上接第 1035 页)

Matrix Biochemistry, Elsevier, New York, 1984: 1-39.

[ 2 ] Berg RA. Human collagen or Pro-collagen Production from milk Produced by non-human mammal transformed with appropriate expression system provides homogeneous product For therapeutic use[ P ]. PCT WO, 1994(94): 165-170.

[ 3 ] Clark JM, Diehl AM. Defining nonalcoholic fatty liver disease: implications for epidemiologic studies[ J ]. Gastroenterology, 2003, 124: 248-250.

[ 4 ] 彭必先, 陈丽娟. 从胶原到明胶[ J ]. 明胶科学与技术, 1994, 14(1): 1-11.

[ 5 ] 赵睿, 王晓丹, 祖国仁, 等. 热水法抽提鳕鱼皮胶原蛋白条件的响应面分析[ J ]. 大连工业大学学报, 2011, 30(2): 98.

[ 6 ] 林家福, 易美华, 王锡彬, 等. 热水水解法提取罗非鱼鱼皮胶原蛋白的研究[ J ]. 中国热带医学, 2008, 8(8): 1317-1319.

[ 7 ] 朱秀灵, 戴清源, 蔡为荣, 等. 响应面法优化鲫鱼鱼鳞磷酸酯性胶原蛋白的提取工艺[ J ]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 247-251.

[ 8 ] 陈丽丽, 赵利, 刘华, 等. 有机酸提取鳕鱼皮胶原蛋白的工艺研究[ J ]. 食品与机械, 2010, 26(5): 118-121.

[ 9 ] 胡建平. 鱼鳞胶原蛋白的酸法提取及性质研究[ J ]. 食品科技, 2012(11): 141-148.

[ 10 ] 郝文芳. 黑木耳胶原蛋白的分离提取及其功能特性的研究[ D ]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.

[ 11 ] 郝林华, 李八方. 多棘海盘车体壁胶原蛋白的研究[ J ]. 中国水产科学, 1999, 6(2): 18-21.

[ 12 ] 梁权. 低变性胶原蛋白的提取工艺研究[ J ]. 科技致富向导, 2011, 19(11): 70+62.

[ 13 ] 李二凤, 何小维, 罗志刚. 胶原蛋白的提取工艺研究[ J ].

食品研究与开发, 2006, 27(3): 64-65.

[ 14 ] 陈小娥, 方旭波, 钟秋琴. 安康鱼皮中胶原蛋白的提取工艺研究[ J ]. 食品工业科技, 2007, 28(3): 131-133.

[ 15 ] I. P. Odigie, R. R. Ettah, S. A. Adigun. Chronic administration of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats[ J ]. Journal of Ethnopharmacology, 2003, 86(2-3): 181-185.

[ 16 ] 张鹤, 赵雨, 徐云凤, 等. 梅花鹿鹿筋胶原蛋白提取工艺条件优化[ J ]. 食品科学, 2010, 38(18): 14-17.

[ 17 ] 李志洲. 超声波条件下胰蛋白酶提取鳕鱼皮中胶原蛋白的工艺研究[ J ]. 精细化工, 2010, 27(6): 553-557.

[ 18 ] 汪秋安. 天然产物化学[ M ]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

[ 19 ] Zhou JinLin, Gong hanyan, Zhou yongzhi. Identification of a glycine-rich protein from the tick Rhipicephalus haemaphysaloides and evaluation of its vaccine potential against tick feeding [ J ]. Original Paper, 2006, 100(1): 77-84.

[ 20 ] 王川, 李燕, 马志英, 等. 几种酶法从猪皮中提取胶原蛋白的对照研究[ J ]. 食品科学, 2007, 28(1): 201-204.

[ 21 ] 何永超. 一种复合天然胶原蛋白的保健食品及其制造方法: 中国, 102210455[ P ]. 2011-10-12.

[ 22 ] Kerry Hughes. Functional proteins and hydroly sates[ J ]. Prepared Foods, 2005(4): 123-129.

[ 23 ] 刘群. 改善皮肤缺陷的胶原蛋白护肤品: 中国, 102670477 [ P ]. 2012-09-19.

[ 24 ] Janette Funuzawa-Caballero, Rojas E, Valverde M, et al. Cellular and humoral responses to collagen polyvinyl pyrrolidone administered during short and long periods in humans[ J ]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2003, 81(11): 1029-1036.

(责任编辑: 张海洋 收稿日期: 2013-07-18)