张展鸿, 钟碧銮, 田柬昕, 等. 基于同位素代谢流分析法对金蝶胶吸收路径及效率研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(14): 433−441. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060130

ZHANG Zhanhong, ZHONG Biluan, TIAN Jianxin, et al. Investigation of Absorption Pathways and Efficacy of Gold Butterfly Collagen Peptides Using Isotope Metabolic Flux Analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(14): 433−441. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060130

· 营养与保健 ·

基于同位素代谢流分析法对金蝶胶吸收路径及效率研究

张展鸿[1], 钟碧銮[2], 田柬昕[1], 黎　攀[1], 张　宇[2,*], 杜　冰[1,*]

（1.华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642;
2.广东官栈营养健康科技有限公司, 广东 广州 510300）

摘　要: 本研究旨在探究金蝶胶胶原蛋白肽在小鼠体内的吸收路径与效率。通过体外消化法提取并纯化金蝶胶胶原蛋白肽，分析其氨基酸组成特征；进一步采用固相合成法制备同位素标记肽段 [$^{13}C_5$-$^{15}N_1$-Pro]，以替代目标肽段中的所有同类氨基酸，并对 C57BL/6 小鼠进行灌胃实验；利用超高效液相色谱-串联质谱技术（Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry，UPLC-MS/MS）在 24 h 内动态监测各器官和组织中标记脯氨酸的代谢分布。结果显示，金蝶胶胶原蛋白肽的特征氨基酸以甘氨酸（20.80%）、脯氨酸（10.72%）和丙氨酸（10.60%）为主；小肠为主要吸收器官，各时段吸收效率均高于 50%；皮肤在 12 h 吸收效率上升至 11.71%，提示其可能参与皮肤组织修复过程；胃、盲肠及结肠等器官的吸收效率呈现动态波动，而心脏与肺部的吸收效率较低。综上，金蝶胶胶原蛋白肽的消化吸收过程具有明显的时间与器官特异性，为该肽类的营养学应用提供了理论依据。

关键词: 金蝶胶, 胶原蛋白肽, 同位素代谢流分析, 吸收效率

中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)14−0433−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060130

本文网刊:

Investigation of Absorption Pathways and Efficacy of Gold Butterfly Collagen Peptides Using Isotope Metabolic Flux Analysis

ZHANG Zhanhong[1], ZHONG Biluan[2], TIAN Jianxin[1], LI Pan[1], ZHANG Yu[2,*], DU Bing[1,*]

（1.College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China;
2.Guangdong Guanzhan Nutritional Health Technology Co., Ltd., Guangzhou 510300, China）

Abstract: To investigate the absorption pathways and efficacy of Gold Butterfly Collagen Peptides in mice, Gold Butterfly Collagen Peptides were extracted and purified using an *in vitro* digestion method, and their amino acid composition was analyzed. Subsequently, isotope-labeled peptide segments [$^{13}C_5$-$^{15}N_1$-Pro] were prepared via solid-phase synthesis to replace all homologous amino acids in the target peptide segments, and peptides were administered to C57BL/6 mice via gavage. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was employed to dynamically monitor the metabolic distribution of labeled proline in various tissues and organs over 24 hours. The characteristic predominant amino acids of Gold Butterfly Collagen Peptides were glycine (20.80%), proline (10.72%), and alanine (10.60%). The small intestine was the primary organ absorbing Gold Butterfly Collagen Peptides, with uptake exceeding 50% across all time points. Skin absorption increased to 11.71% at 12 hours, suggesting potential involvement of Gold Butterfly Collagen Peptides in skin tissue repair. Uptake into the stomach, cecum, and colon exhibited dynamic fluctuations,

收稿日期: 2025−06−12

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系（CARS-21）。

作者简介: 张展鸿（2000−）（ORCID: 0009−0008−7056−5054）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品新原料及功能性食品, E-mail: 2389288935@qq.com。

*** 通信作者:** 张宇（1981−）, 男, 本科, 研究方向: 食品保健品开发, E-mail: zy@gnlifetech.cn。

杜冰（1973−）（ORCID: 0000−0002−5301−2756）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品新原料的开发, E-mail: dubing@scau.edu.cn。

while uptake by the heart and lungs was relatively low. This study demonstrates that Gold Butterfly Collagen Peptide digestion and absorption processes exhibit prominent temporal and organ-specific characteristics, providing theoretical foundation for their nutritional applications.

Key words: Gold Butterfly Collagen Peptide; collagen peptide; isotope metabolic flow analysis; absorption efficiency

鱼胶, 又称花胶、鱼肚等, 是将特定鱼类鱼鳔清理干净后经洗净、压扁, 再经过日晒等加工工序制成的干制品[1], 是我国传统的营养保健品, 适用人群广泛, 保健效果良好, 一直以来广受推崇。生活水平的不断提高促使人类消费水平的提高, 人们对于营养保健品的需求增长十分迅速。鱼胶相较于日常的畜禽肉富含胶原蛋白, 除了能满足人类对胶原蛋白的需求外, 其蛋白结构的纤维较短、分子结构简单等优点使其更容易被吸收, 因此广泛被应用于食品、营养保健、制药等行业[2]。目前市面上常见的鱼胶大部分都来自于石首鱼类, 种类较为单一, 已无法满足消费者需求, 因此一些传统鱼类如鳕鱼、鲈鱼、鳗鱼等鱼胶也日渐进入市场[3]。金蝶胶, 又称白玉花胶, 是一种来源于查鱼的鱼鳔, 在近 10 年间广泛受到相关企业的关注, 相关产品也不断出现在市场当中[4]。目前对于金蝶胶的相关研究主要集中于其理化性质[5] 和成分分析[6−7], 研究表明金蝶胶在模拟胃肠消化后得到的消化液具有良好的抗氧化活性, 自由基清除率达 71.68%, 且富含胶原蛋白特有的特征氨基酸-脯氨酸。针对金蝶胶的优良理化特性和营养成分, 课题组进一步深化研究其消化后的胶原蛋白肽在体内的吸收路径及吸收效率。

目前, 国内外对于鱼胶的研究重点更多侧重于对鱼胶的营养成分分析、加工提取技术、功能性研究与消化代谢机制等方面[8−11], 对于鱼胶进入体内经过消化后的吸收路径及去向的研究较少。胶原蛋白的吸收机理和路径复杂, 目前尚未完全清楚, 有研究证明胶原蛋白进入体内被消化成肽段以及氨基酸后经血液循环运送至身体各处利用[12], 但具体运送至各个器官的时段、器官对肽段的特异性吸收效率没有清晰的研究。缺乏肽段在进入体内后的时段性流向以及器官的特异性消化吸收数据, 限制了后续胶原蛋白肽的营养功效发挥机制研究, 因此需要采用高示踪性技术手段对肽段的吸收路径及效率进行研究。近年来, 同位素代谢流检测被广泛应用于各个领域中, 在需要研究的代谢途径中, 对参与该过程的前体物质进行特异性标记, 并借助核磁和质谱等工具, 根据中间代谢物的同位素丰度变化, 推测该过程中特定的代谢通路[13]。代谢流检测的优势在于可以明确某个物质参与的具体代谢途径, 在目前已有的相关研究中, 研究人员通过同位素代谢检测发现了二甲双弧通过减少磷酸果糖激酶-1 的代谢通量起到了肝脏抗肿瘤的效果; 孟爽[14] 采用 ^{13}C-葡萄糖对 A549 肺癌细胞标记, 发现葡萄糖转换成 UXP 和 CXP 的效应会降低, 但转换成 P-胆碱、GPC 和 AMP 的效应会增强。以上研究结果表明, 使用同位素代谢流检测方法探究鱼胶在进入体内后的路径具有可行性。

对此, 本文使用金蝶胶采用体外消化法制备了胶原蛋白肽, 通过 DEAE-52 层析柱分离纯化后氨基酸组成测定确定了金蝶胶的氨基酸组成及含量, 并探究其在进入体内后的消化路径及效率, 通过动物实验和同位素标记后的代谢流测定, 对被同位素标记后的金蝶胶胶原蛋白肽进入体内后的 24 h 内进行示踪, 评估胶原蛋白肽在体内各组织被消化吸收的路径及效率, 旨在探究金蝶胶胶原蛋白肽进入体内的消化特征, 为后续金蝶胶的开发应用提供具有指向性的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金蝶胶　广东官栈营养健康科技有限公司; α-淀粉酶(猪胰腺, ≥5 U/mg)、胃蛋白酶(猪胃, ≥400 U/mg)、胰蛋白酶(猪胰, ≥5 U/mg)　上海源叶生物科技有限公司; 无酶无菌人工唾液、无酶无菌人工胃液、无酶无菌人工小肠液　上海源叶生物科技有限公司; DEAE-52 凝胶填料　北京瑞达恒辉科技有限公司; 猪胆盐　AR, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 茚三酮　AR, 济宁宏明化学试剂有限公司; 氯化钠、氢氧化钠　AR, 广州化学试剂厂; 甲酸　AR, 赛默飞世尔科技公司; 其他试剂均为国产分析纯; SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠　体重 18~22 g, 6 周龄, 120 只, 从南方医科大学实验动物中心购入, 实验动物生产许可证号: SCXK(粤)2021-0041。饲养在华南农业大学实验动物中心 SRF 级屏障环境动物实验室适应性一周, 室温控制在: 20~26 ℃, 湿度控制在 40%~70% 范围。实验动物合格证编号: SYXK(粤)2024-0136。

RE-5298 旋转蒸发仪　上海亚荣生化仪器厂; ANKE TDL-5-A 低速离心机　上海安亭分析仪器有限责任公司; UV759 紫外分光光度计　上海精密科学仪器有限公司; Fresco 17 冷冻离心机、Ultimate 3000 UHPLC 超高压液相色谱、Easy-nLC1200 纳升液相系统、Q EXactive 高分辨质谱仪　赛默飞世尔科技公司; CV100-DNA 真空离心浓缩仪　北京吉艾姆仪器有限公司; C18 Zip-Zip 除盐柱　安捷伦科技中国有限公司; 1290-6470 UPLC-MS/MS 超高效液相色谱-质谱联用仪　美国 Agilent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1　花胶前处理　使用三级水除去金蝶胶表面杂质, 加入 0.1 mol/L NaOH 浸泡 24 h(1∶50 W/V)去除

杂蛋白，水洗至中性；随后加入 1∶10(V/V)、10% 异丙醇浸泡 24 h 去除脂肪，水洗至中性。使用剪刀将花胶剪至小块，装入密封袋，在 4 ℃ 下保存备用。

1.2.2　体外消化胶原蛋白并提取胶原蛋白肽　提取胶原蛋白肽的方法参考罗非鱼鱼糜的消化方法[15] 并稍作修改。按照人体消化顺序进行胶原蛋白肽的提取，花胶与三种溶液的料液比均为 1∶30 w/v。称取适量的花胶小块，加入模拟唾液(150 mL 无酶无菌人工唾液加入 192 mg α-淀粉酶)，37 ℃ 磁力水浴搅拌加热 5 min，在 90 ℃ 以上的条件灭活 10 min，取出冷却至室温；随后加入模拟胃液(150 mL 无酶无菌人工胃液加入 267 mg 胃蛋白酶+100 μL 氯化钙+45.7 mL 三级水)，用 1 mol/L 盐酸滴定至 pH 为 2.0±0.2，继续置于 37 ℃ 磁力搅拌水浴 2 h，重复上述灭活步骤；冷却至室温后加入模拟肠液(10 mL 无酶无菌人工肠液+160 mg 胰蛋白酶+25 mL 16 mmol/L 胆盐溶液+400 μL 氯化钙+63.1 mL 三级水)，用 1 mol/L NaOH 滴定至 pH 为 7.0±0.2，重复磁力搅拌水浴 2 h 并重复灭活步骤，得到花胶酶解液。装入 100 Da 透析袋透析 3 d，真空冷冻干燥，得到金蝶胶胶原蛋白肽冻干粉。

1.2.3　游离氨基酸组成测定　氨基酸测定方法参照 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》方法。参照钟碧銮等[16] 的处理方法并稍作修改，测试金蝶胶模拟消化后的胶原蛋白肽冻干粉的氨基酸组成。

1.2.4　DEAE-52 纤维素阴离子交换层析柱纯化　花胶模拟消化后胶原蛋白肽冻干粉溶解在三级水中直至浓度为 10 mg/mL，使用 10 mL 注射器，0.22 μm 微孔滤膜过滤，通过压力泵上样进入 DEAE-52 纤维素阴离子交换层析柱，按序用 0、0.1、0.2、0.3 mol/L 梯度浓度的氯化钠进行洗脱。设定流速为 1 mL/min，每 5 mL 收集为一管。用微量紫外分光光度计法设定 220 nm 吸光度测定每管洗脱液，以洗脱管数为横坐标，220 nm 下的洗脱液吸光度值为纵坐标绘制洗脱曲线。

1.2.5　样品收集、肽段测序和挑选　根据 DEAE-52 层析柱洗脱曲线收集洗脱峰值范围内的样品，装入 100 Da 透析袋透析 3 d，真空冷冻干燥，对其中的肽段测序。测序方法参考李永富等[17] 的肽序列鉴定方法，采用高效液相色谱-质谱联用技术(high performance liquid chromatography-tandem massspectrometry，HPLC/MS-MS)进行肽段测序。样品冻干粉经过 C_{18} 柱脱盐处理，系统为串联 EASY-nano LC 1200 的 Q-Exactive 质谱仪结合纳升喷雾 Nano Flex 离子源，分析柱规格为 C_{18} 反相色谱柱(Acclaim PepMap 100，75 μm×25 cm，C_{18}-2 μm，100 A)，上样体积为 1.5 μL，柱流速 300 nL/min，柱温控制在 40 ℃，喷雾电压为 1.9 kV，离子传输管加热温度为 275 ℃。在 60 min 的梯度内分离样品，A 相为超纯水(加入体积分数为 0.1% 的甲酸)，流动相 B(80% 乙腈，0.1% 甲酸)由 5% 升高至 38%。

质谱扫描方式为信息依赖的采集工作模式下运行，一级质谱扫描分辨率为 70000 MDa，扫描范围 m/z 350~2000，最大注入时间 100 ms。每次 DDA 循环下最多采集 20 个电荷为 2^+到 5^+的二级图谱，二级质谱离子最大注入时间为 50 ms。碰撞室能量设定为 28 eV，动态排除设置为 25 s。采用 PEAKS Online 11(Bioinformatics SolutionsInc. Waterloo，Canada)软件进行加工处理和检索分析。数据库为 NCBI 下载的 Pangasiusbocourti 蛋白数据库。对检测得到的肽段结果按照峰值面积大小排序，挑选前三条肽段作为后续合成肽段的参考肽段。

1.2.6　同位素标记肽段合成　经筛选，考虑到胶原蛋白的特征氨基酸为脯氨酸，同时在金蝶胶中含量较为丰富，且测序得到的肽段富含脯氨酸，因此选择脯氨酸作为同位素标记的目的氨基酸。使用固相法合成同位素标记肽段，从肽段的起始端 C 端开始，使用带有同位素标记的($^{13}C_5$-$^{15}N_1$-Pro)取代需要合成的肽段中的所有相同形式的氨基酸，直到肽段 N 端为结束。参照万紫红[18] 的固相合成法并稍作修改，利用 Fmoc 法进行肽段合成，用高效液相法进一步纯化，经真空冷冻干燥后得到合成肽段。

1.2.7　小鼠分组及实验设计　120 只小鼠适应性一周后随机分为空白组(K 组)、同位素标记肽段组 1(P1 组)、同位素标记肽段组 2(P2 组)、同位素标记肽段组 3(P3 组)、同位素标记肽段组 4(P4 组)，其中 P1 组指灌胃后 3 h 解剖组，P2 组指灌胃后 6 h 解剖组，P3 组指灌胃后 12 h 解剖组，P4 组指灌胃后 24 h 解剖组，每只小鼠采用灌胃形式给药，所给药物均为三条合成的肽段，且每条肽段灌胃体积均为 0.1 mL/10 g。除空白组给药生理盐水外，其余 4 组小鼠均给药同位素标记肽段溶液，给药浓度按照 100 mg/kg 为标准。各组小鼠在同一时间内完成灌胃，在灌胃后 3、6、12 和 24 h 按顺序以安乐死形式处死同位素标记肽段灌胃的 4 组小鼠以及空白组中的随机 6 只小鼠，需要收集的样品为各小鼠的腹部皮肤、背部皮肤、血液、肺部、肝脏、脾脏、肾脏、胃、小肠、盲肠、结肠及其粪便，除血液外的每个样品均装入病理组织袋中，血液收集于 2 mL EP 管中，离心后分离取血浆。所有样品均于−80 ℃ 冻存，备用。

1.2.8　同位素代谢流测定　参考周慧灵等[19] 的检测方法，使用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)对收集样本进行同位素检测。

1.2.8.1　样品前处理　血浆：移取 20 μL 血样，加入 120 μL 冷甲醇沉淀蛋白，涡旋混匀后离心(4 ℃，12000 r/min，10 min)取 10 μL 上清液加入硼酸缓冲溶液，涡旋 30 s。最后加入 5-AIQC 乙腈溶液，涡旋，55 ℃ 水浴中衍生反应 10 min，反应结束后，向溶液中加入甲酸。离心(4 ℃，12000 r/min，10 min)取上

清，用 0.22 μmol/L 滤膜过滤。

粪便、盲肠、小肠、结肠、肝脏、背皮、腹皮、肺、肾、胃、心脏、脾脏：称取 20 mg 左右样本，加入研磨珠，加入 500 μL 冷甲醇水溶液（2∶1，v/v），使用组织研磨仪匀浆（50 Hz，90 s），加入冷甲醇水溶液重复提取 2 次。取 10 μL 匀浆液，加入硼酸缓冲溶液，涡旋 30 s。最后加入 5-AIQC 乙腈溶液，涡旋，55 ℃水浴中衍生反应 10 min，反应结束后，向溶液中加入甲酸。离心（4 ℃，12000 r/min，10 min）取上清，用 0.22 μmol/L 滤膜过滤。

1.2.8.2 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 柱（2.1×100 mm，1.8 μm）；流动相为含 0.1% 甲酸的超纯水（A）-含 0.1% 甲酸的色谱纯甲醇（B）；设置梯度洗脱程序（0~2 min，1% B；2~4 min，1%~3.8% B；4~7.3 min，3.8%~14% B；7.3~10.7 min，14%~22% B；10.7~14.7 min，22%~24% B；14.7~16 min，24%~30% B；16~16.3 min，30%~60% B；16.3~17.3 min，60%~70% B；17.3~17.31 min，70%~95% B；17.31~20 min，95% B）；流速为 0.35 mL/min；柱温为 50 ℃；进样量为 1 μL。

1.2.8.3 质谱条件 采用电喷雾离子源正离子模式（ESI^+），多反应监测模式（MRM）扫描；离子源条件：干燥气流量 10 L/min，干燥气温度 315 ℃，雾化器压力 50 psi，鞘气温度 350 ℃，鞘气流量 10 L/min，喷嘴电压 500 V，毛细管电压 4000 V。

1.3 数据处理

使用 Mass Hunter 软件（Version B.08.00，Agilent，USA）采集以及分析同位素检测数据，与标准品比对保留时间和 MRM 离子对来定性，以百分比形式相对定量。收集检测到的总脯氨酸（P）含量以及每个样本中的同位素标记脯氨酸（P^*）百分比，按照以下公式计算同位素标记脯氨酸（P^*）的相对丰度变化，作为金蝶胶胶原蛋白肽在器官中被吸收的效率指标。采用 GraphPad Prism 9 做图，结果以折线图表示。

$$P^*\text{积累相对丰度}(\%)=\frac{\text{同位素标记脯氨酸}(P^*)\text{信号值}}{\text{总脯氨酸}(P)\text{信号值}}$$

2 结果与分析

2.1 金蝶胶胶原蛋白肽游离氨基酸组成分析

金蝶胶胶原蛋白肽的游离氨基酸组成如表 1 所示。氨基酸是蛋白质的基本构成单位，氨基酸的种类、含量与组成是评价其营养价值的重要指标，也是水产品重要的风味前体物质[20]。由表 1 各氨基酸含量可发现，金蝶胶中的氨基酸含量最高的为甘氨酸，占比 20.80%，其次是脯氨酸、丙氨酸、谷氨酸、精氨酸和天冬氨酸，占比分别为 10.72%、10.60%、8.64%、6.91%、3.50%。金蝶胶的甘氨酸含量占比与其他市场常见鱼胶的甘氨酸占比含量特征一致，这种高甘氨酸比例是胶原蛋白三螺旋结构的基础，因其分子中每三个残基即有一个甘氨酸（Gly-X-Y 重复序列）[21]。

表 1 金蝶胶胶原蛋白肽游离氨基酸组成

Table 1 Free amino acid composition of collagen peptide from Gold Butterfly Collagen Peptides

序号	氨基酸种类	含量(%)
1	天冬氨酸（Asp）	3.50
2	谷氨酸（Glu）	8.64
3	丝氨酸（Ser）	2.76
4	甘氨酸（Gly）	20.80
5	苏氨酸（Thr）	2.23
6	组氨酸（Hs）	1.00
7	丙氨酸（Ala）	10.60
8	精氨酸（Arg）	6.91
9	酪氨酸（Tyr）	0.52
10	缬氨酸（Val）	2.01
11	蛋氨酸（Met）	0.03
12	苯丙氨酸（Phe）	1.64
13	异亮氨酸（Ile）	1.32
14	亮氨酸（Leu）	2.33
15	赖氨酸（Lys）	2.55
16	脯氨酸（Pro）	10.72

以上 6 种氨基酸均为胶原蛋白的特征氨基酸，并且不含有精氨酸，这与此前的研究结果一致[22]；此外研究表明，脯氨酸是众多鱼类的条件性必需氨基酸或功能性氨基酸，部分受伤动物的伤口修复愈合也需要其参与[23]。这些氨基酸的组成特征不仅关系到产品的营养价值评价，同时作为重要的风味前体物质，对水产品的品质特性产生重要影响，谷氨酸和天冬氨酸是鲜味主要贡献者，而甘氨酸、丙氨酸赋予甜味[24]。例如，牡蛎美拉德反应产物中，谷氨酸添加显著增强蘑菇味和蔬菜风味[25]。综合考量金蝶胶特征氨基酸以及游离氨基酸组成分析结果，后续鉴别肽段以及同位素标记等实验以脯氨酸作为本实验的后续研究对象，氨基酸的组成差异为后续进一步针对金蝶胶的产品开发提供了风味调控的理论依据。

2.2 DEAE-52 纤维素阴离子交换层析柱洗脱曲线

使用 10 mL 离心管收集洗脱液，测试每管洗脱液在 220 nm 下的吸光值，并分别以管数作 X 轴，吸光值作 Y 轴[26]，得到图 1 所示的金蝶胶胶原蛋白肽经过 DEAE-52 纤维素阴离子交换层析柱洗脱得到

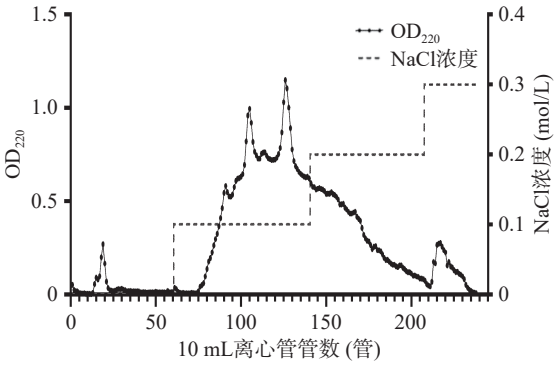


图 1 DEAE-52 层析柱洗脱曲线

Fig.1 DEAE-52 column elution curve

的洗脱曲线。分别以蒸馏水、0.1、0.2、0.3 mol/L NaCl 进行梯度洗脱，在蒸馏水洗脱范围内出现一个小的峰值，在 0.1 mol/L NaCl 洗脱范围内出现多峰，有两个明显峰值，可能是因为金蝶胶胶原蛋白肽中存在较多除肽以外的其他组分，纯化效果有待进一步控制提升。随着洗脱液浓度的上升，组分吸光值整体呈现下降趋势。以洗脱曲线为依据收集主峰组分，透析后合并浓缩，真空冷冻干燥 48 h，得到纯化后的纯度较高金蝶胶胶原蛋白肽冻干粉，以此粉为实验原料进行后续的肽段鉴别、测序以及合成。

2.3　金蝶胶胶原蛋白肽肽段测序结果分析

根据 NCBI 下载的 Pangasiusbocourti 蛋白数据库进行肽段比对，以肽段在质谱中的出峰面积大小作为筛选标准，得到了如表 2 所示的 8 个肽段。根据筛选结果，选择峰面积大小前三位的肽段 GESGPAGPAGAAGPAGPR、GEAGPSGAVGPAGPAGAR 以及 TGDRGESGPAGPAGAAGPAGPR 作为同位素标记合成的肽段参考肽段，且选取的肽段均具有典型的胶原蛋白的重复序列 GPAGP，而肽段结构的特殊性与蛋白的生物活性密切相关[27]，具有胶原蛋白标志性序列的肽段在后续的研究中具有关键作用，为进一步的吸收效率和体内去向研究提供了分子基础。每条肽段中的每个脯氨酸(P)均被带有同位素标记的脯氨酸(记为 P*)取代。

表 2　金蝶胶胶原蛋白肽肽段测序筛选结果

Table 2　Peptide sequencing results of collagen peptide screening of Gold Butterfly Collagen Peptides

序号	肽段序列	峰面积(mAU·min)
1	GESGPAGPAGAAGPAGPR	3.77×10^{9}
2	GEAGPSGAVGPAGPAGAR	2.66×10^{9}
3	TGDRGESGPAGPAGAAGPAGPR	2.33×10^{9}
4	TGPAGPAGPLG	6.56×10^{8}
5	GLTGPIGPPGPSGPN(+0.98)GAKG	6.10×10^{8}
6	IAGASGPLGPAG	5.70×10^{8}
7	GEIGPAGPSGPAGPQ(+0.98)GQR	4.95×10^{8}
8	GEIGPAGPSGPAGPQGQ(+0.98)R	4.95×10^{8}

2.4　同位素代谢流测定结果分析

2.4.1　血浆脯氨酸同位素代谢流检测结果分析　对血浆中的脯氨酸代谢产物进行检测，得到表 3。其中，P1 开头编号为灌胃后 3 h 解剖的小鼠血浆编号；P2 开头为灌胃后 6 h 解剖的小鼠血浆编号；P3 开头为灌胃后 12 h 解剖的小鼠血浆编号；P4 为灌胃后 24 h 解剖的小鼠血浆编号，每组按顺序选取前四序号的小鼠标号血浆进行检测。脯氨酸肽段中以 P 表示，在自然界当中，脯氨酸会以多种同位素的形式存在，如检测到的 L-Proline、L-Proline M+1、L-Proline M+2 以及 L-Proline M+3，但 L-Proline M+6 是非常规存在形式，其检测信号的存在证明我们标记了同位素的 P*在进入小鼠的体内后成功被分解，同位素标记成功。脯氨酸进入体内后的含量变化为整体变化，同

表 3　脯氨酸代谢产物信号检测

Table 3　Proline metabolite signaling assays

编号	L-Proline (%)	L-Proline M^{+1}(%)	L-Proline M^{+2}(%)	L-Proline M^{+3}3(%)	L-Proline M^{+6}(%)
P11	93.85	5.57	0.50	0.02	0.05
P12	93.83	5.57	0.50	0.02	0.08
P13	93.82	5.58	0.50	0.02	0.08
P14	93.88	5.54	0.50	0.03	0.05
P21	93.83	5.61	0.51	0.02	0.03
P22	93.87	5.58	0.50	0.02	0.03
P23	93.87	5.56	0.52	0.02	0.04
P24	93.85	5.57	0.51	0.02	0.04
P31	93.88	5.58	0.50	0.02	0.02
P32	93.89	5.57	0.49	0.02	0.02
P33	93.88	5.57	0.50	0.02	0.03
P34	93.89	5.57	0.50	0.02	0.02
P41	93.92	5.53	0.51	0.02	0.02
P42	93.91	5.55	0.51	0.02	0.01
P43	93.86	5.59	0.51	0.03	0.03
P44	93.86	5.59	0.50	0.02	0.02

注：编号P11、P12、P13、P14为灌胃后3 h组的解剖小鼠编号；编号P21、P22、P23、P24为灌胃后6 h组的解剖小鼠编号；编号P31、P32、P33、P34为灌胃后12 h组的解剖小鼠编号；编号P41、P42、P43、P44为灌胃后24 h组的解剖小鼠编号。

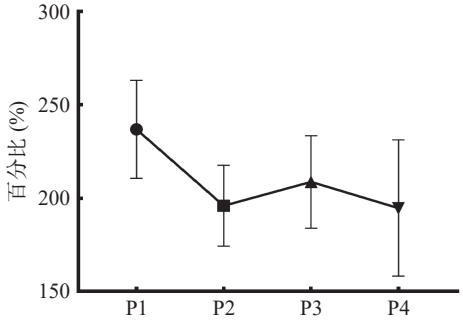


图 2　24 h 内血浆脯氨酸含量变化

Fig.2　Changes in plasma proline levels over 24 h

注：P1 为灌胃后 3 h 解剖的小鼠血浆编号；P2 为灌胃后 6 h 解剖的小鼠血浆编号；P3 为灌胃后 12 h 解剖的小鼠血浆编号；P4 为灌胃后 24 h 解剖的小鼠血浆编号，图 3~图 5 同。

位素 P*的信号显示提供了定位依据后，含量分析以总脯氨酸变化为准，表示为 L-Proline 含量变化。

图 2 为胶原蛋白肽进入体内的 24 h 血浆中的脯氨酸含量变化图。血浆中的脯氨酸含量变化可以反映花胶进入体内后经过消化产生的脯氨酸进入血液当中被运送至各处利用。从图 2 中的趋势变化可以看出，在灌胃后 6~12 h 之间，血浆中的脯氨酸含量上升，由此推测花胶进入体内后的 6~12 h 之间是主要的消化运输阶段，3~6 h 阶段血液的脯氨酸含量降低的可能原因是血浆原来存在的脯氨酸被吸收速度大于进入血浆的脯氨酸产生速度。血浆中脯氨酸的动态变化反映了胶原蛋白肽进入体内 24 h 内的消化吸收规律，进入体内后 6~12 h 的含量提升为确定最佳摄入时段提供了参考依据。在血浆脯氨酸含量检测基础上，随后进行了各身体组织部位以及小鼠粪便的脯氨酸定量测定。

2.4.2　消化道主要器官脯氨酸含量变化分析　金蝶

胶进入小鼠体内 24 h 内的消化道主要器官脯氨酸含量变化如图 3 所示。从图 3 中可以看出，在花胶进入体内后 3~6 h，胃部和小肠的脯氨酸含量变化趋势相同，均出现不同程度的上升；但在 6~12 h 之间，小肠脯氨酸含量迅速下降，造成此现象的原因可能是在这个阶段，花胶在胃部和小肠得到了更充分的消化分解，小肠为主要吸收器官，正在快速吸收分解得到的脯氨酸，吸收量大于产出量，所以检测含量下降。这与上述血浆中脯氨酸含量上升建立了联系，小肠吸收的脯氨酸进入血液使得血液中的脯氨酸浓度在同一时间段呈现上升趋势。胶原蛋白主要在胃部和小肠经过胃蛋白酶、胰蛋白酶等非特异性蛋白酶分解为小分子肽后进一步吸收利用，在 6~12 h 间小肠与胃部的脯氨酸含量变化明显，结合前一点的血浆中同时段的脯氨酸含量变化分析，确认小肠是肽段的主要吸收部位，胃部是主要消化部位，与前人研究一致[12]。胃部的脯氨酸含量曲线中，12 h 时段的误差棒较大，推测原因是不同个体的差异导致金蝶胶胶原蛋白肽在经过胃部的胃蛋白酶消化的同时，暴露的肽段与氨基酸会被胃酸造成破坏，导致吸收效率的差异较大，以此为提示可以在后续开发生产金蝶胶胶原蛋白肽产品时通过包埋或者缓释技术对肽段进行保护，免受胃酸的破坏，提高在小肠中的释放以及吸收效率。

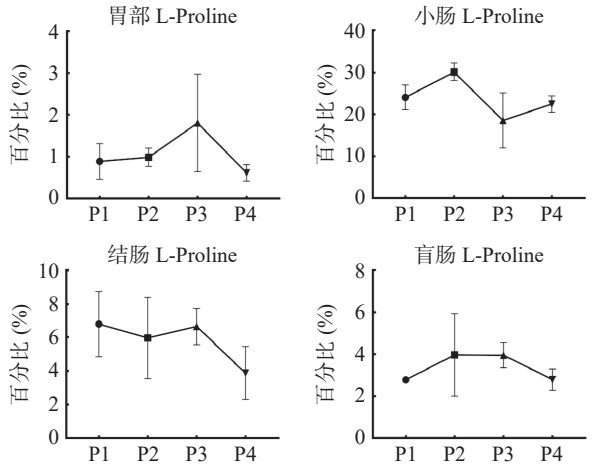


图 3 24 h 内消化道主要器官脯氨酸含量变化

Fig.3 Changes in proline content in major organs of the digestive tract during 24 h

2.4.3 小鼠心脏及肺部脯氨酸含量变化分析 金蝶胶进入小鼠体内 24 h 内的心脏及肺部脯氨酸含量变化如图 4 所示。如图 4 所示，心脏与肺部的脯氨酸含量变化在 24 h 内基本趋于一致，均在花胶进入体内的 6~12 h 内出现了迅速的下降趋势。心脏部位的肌肉需要极高的强度才足以将血液输送至全身，肌肉的泵血工作需要线粒体代谢产生能量供应，而脯氨酸在线粒体中的摄取与分解能为心脏产生大量的能量确保心脏的正常运行[28]，由此课题组推测，花胶在体内经消化分解产生的脯氨酸在 6~12 h 之内被运输至心脏与肺部参与线粒体的能量代谢过程，因此该阶段脯氨酸的含量迅速下降。根据此研究结果为提示，金蝶胶胶原蛋白肽可能为心肺发挥功能提供所需的代谢能量基础，在后续的金蝶胶产品开发可以以此为理论基础，研究开发针对心肺功能较弱的消费群体的对应金蝶胶胶原蛋白肽产品以及相应的食用补充时段。

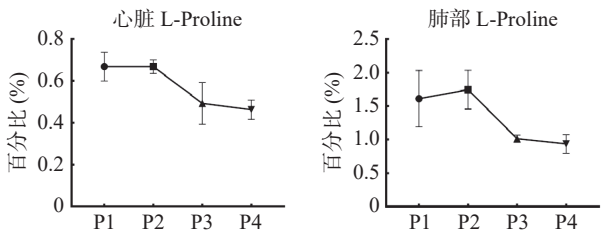


图 4 24 h 内小鼠心脏及肺部脯氨酸含量变化

Fig.4 Changes in proline content in the heart and lungs of mice during 24 h

2.4.4 小鼠皮肤以及粪便脯氨酸含量变化分析 图 5 展示的是小鼠皮肤及粪便的脯氨酸含量变化图。结合血液动力学分析，脯氨酸经血液循环分布至全身组织，在 3~6 h 内，脯氨酸经血液的运输到达皮肤细胞并不断积累，累积量大于合成细胞的消耗量；在 6~12 h 阶段，皮肤的脯氨酸含量迅速下降，在 12~24 h 之间又缓慢上升，这一现象可能表明：皮肤组织在 6~12 h 时段利用脯氨酸进行细胞的合成，吸收的脯氨酸可能参与了皮肤细胞外基质的合成与组织修复过程。据已有的文献报道，在对大鼠使用低分子量胶原蛋白肽灌胃处理 2 周后，在血液中可以检测到 Gly-Pro-Hyp 三肽的存在，且在皮肤中检测发现进入体内的胶原蛋白肽被富集利用，表明胶原蛋白肽对皮肤的健康有正向反馈作用[11]。粪便中脯氨酸含量变化可反映消化吸收效率及肠道菌群代谢状态，体内部分未被吸收的游离脯氨酸或短肽最终会通过粪便排出[29]。皮肤在 6~12 h 时段活跃利用脯氨酸进行胶原合成以及修复作用，此发现可为金蝶胶在护肤产品中的应用提供有力数据依据，在后续的产品开发中重点突出其持续修护滋养，促进皮肤胶原合成，减缓胶原

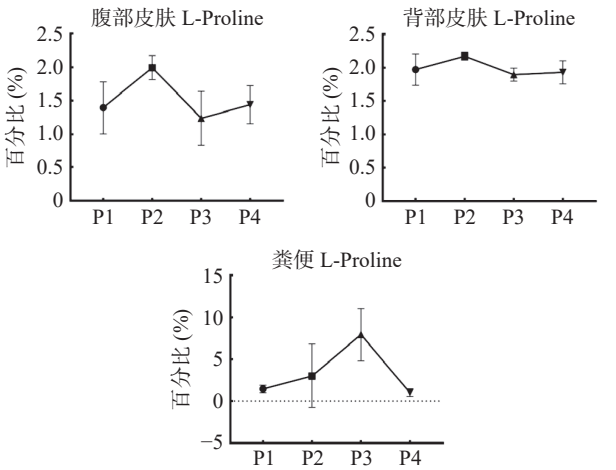


图 5 24 h 内小鼠皮肤以及粪便脯氨酸含量变化

Fig.5 Changes in proline content of skin and faeces of mice over a 24 h period

蛋白流失的功效特性；粪便中的脯氨酸含量全时段显示均较低，进一步表明金蝶胶进入体内消化分解为胶原蛋白肽能被机体有效吸收利用，具有较高的利用率，为金蝶胶能被活体有效吸收利用提供有力说明。

2.5　小鼠器官胶原蛋白肽吸收相对丰度分析

表 4 展示的是经过计算后花胶胶原蛋白肽进入体内，各个时间段在各个器官的相对丰度，以丰度的大小间接反映胶原蛋白肽在每个器官的吸收效率。纵向对比发现，在花胶进入体内 3 h 的时间段胶原蛋白肽吸收效率最高的四个器官是：小肠、胃部、盲肠和结肠；在花胶进入体内 6 h 的时间段胶原蛋白肽吸收效率最高的四个器官是：小肠、盲肠、结肠和皮肤；在花胶进入体内 12 h 内的时间段胶原蛋白肽吸收效率最高的四个器官是：小肠、盲肠、结肠和皮肤；在花胶进入体内 24 h 内的时间段胶原蛋白肽吸收效率最高的四个器官是：小肠、结肠、肝脏和盲肠。Ahmed 等[30] 研究结果发现，在口服胶原蛋白肽后，超过 63.4% 比例的肽能在肠道中被完整吸收。在现有的对胶原蛋白肽在肠道中的消化吸收变化过程研究显示，肽段的进一步降解主要发生在小肠，并被小肠粘膜细胞吸收运用，在小肠中未经吸收的进入大肠和结肠区域进一步消化吸收[31]。

表 4　各时间段器官中外源性标记脯氨酸（P^*）的相对丰度

Table 4　Relative abundance of exogenously labeled proline (P^*) in organs at various time intervals

部位	3 h(%)	6 h(%)	12 h(%)	24 h(%)
心脏	1.02	0.63	0.64	0.69
肺部	1.68	1.80	1.22	1.90
胃部	9.88	1.04	2.45	1.14
小肠	57.73	55.29	54.55	51.81
结肠	6.21	8.70	8.87	8.01
盲肠	6.40	10.24	9.78	7.95
肝脏	3.87	4.95	5.83	7.08
脾脏	3.44	4.17	5.66	5.18
肾脏	4.65	4.80	5.02	6.26
粪便	1.94	0.74	0.68	0.93
皮肤	3.18	7.65	11.71	4.18

横向比对，发现肽最初进入体内时在胃部会出现短时间的吸收，3 h 后胃部的标记脯氨酸丰度下降，小肠作为主要吸收器官一直维持较高的丰度，剩余器官如肝脏、脾脏和肾脏等在不同的时间段出现不同程度的丰度下降或升高，推测在花胶进入体内后的 3~24 h 之间在血液的运输下到达不同的器官被吸收，但在心脏和肺部中的吸收效率一直较低，可能这两个器官对胶原蛋白肽不存在明显的吸收作用；在进入体内 12 h 的时间段皮肤的丰度对比起其他时间段有明显上升，推测在肽进入体内的 12 h 左右能够经过血液的运输参与皮肤的构建。

横纵向比对结果显示，金蝶胶胶原蛋白肽的吸收效果具有明显的器官及时效特异性，为其差异化营养功效提供了初步的机制解释。各个器官的吸收效率差异表明，金蝶胶在心脏、肾脏、肝脏的吸收利用效率总体不及其在皮肤中的吸收利用效率，针对此差异可以开发金蝶胶修护皮肤和美容养颜相关功能的产品；而金蝶胶在消化道中的消化吸收效率整体较高，证明机体对于金蝶胶胶原蛋白肽的吸收较为充分，因此可以将金蝶胶胶原蛋白或者胶原蛋白肽提纯，制备高纯度的高蛋白或者高含量肽的营养品，具有较好的市场前景。

3　结论

本研究采用体外消化法成功制备金蝶胶胶原蛋白肽，并明确了其特征性氨基酸组成：甘氨酸 20.80%，脯氨酸 10.72%，丙氨酸 10.60%。通过应用同位素代谢流分析技术，系统揭示了金蝶胶原蛋白肽中富含脯氨酸组分在小鼠体内的动态吸收路径与器官特异性积累规律。研究表明，小肠作为主要吸收器官，其 P^* 丰度指标在 24 h 内持续高于 50%，是肽进入体循环吸收的主要器官。胃、盲肠、结肠、肝脏、脾脏、肾脏等器官的积累水平随时间呈现动态变化，反映了肽在体内的复杂分布与代谢过程；心脏和肺部的积累水平始终较低，反映了肽在体内的吸收具有器官特异性。在摄入后 12 h，皮肤中 P^* 的相对丰度指标显著提升至峰值（11.71%），由此推测其富含脯氨酸的组分能有效靶向递送至皮肤组织，并可能深度参与皮肤胶原蛋白合成与组织修复过程。

本研究不仅为金蝶胶作为一种新型胶原蛋白肽资源的开发应用提供了重要的体内代谢动力学理论基础，其揭示的皮肤特异性吸收特征，也为深入探究金蝶胶原蛋白肽的“美容养颜”、“养宫护宫”以及“助消化”功效机制指明了方向。但在使用同位素代谢流检测分析过程中，由于首次使用此方法进行检测分析，操作不熟悉以及实验条件有限导致的数据偏差比较大，需要在后期研究采用更高精度仪器熟悉操作后高精度检测，并结合体内功效评价如皮肤羟脯氨酸含量、组织学观察、屏障功能测试，和修复机制探索如胶原合成相关基因通路分析，进一步确证其皮肤营养功效并阐明具体作用途径。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 刘梅花，郑芷青，王小琴，等. 鱼鳔加工技术研究进展[J]. 安徽农学通报，2018，24(8)：115-116. [LIU Meihua, ZHENG Zhiqing, WANG Xiaoqin, et al. Research progress on processing technology of swim bladder[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2018, 24(8): 115-116.]

[2] KURNIASIH R A, SWASTAWATI F, RIYADI P H, et al. The influence of extraction period on the characteristics of acid soluble collagen from sea catfish (*Arius* thalassinus) swim bladder[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 890

(1): 012052.
[3] 陈良辉, 刘亚群, 林敏, 等. 鱼胶营养成分、功能及其应用研究[J]. 江苏调味副食品, 2023(4): 4−9. [CHEN Lianghui, LIU Yaqun, LIN Min, et al. Research progress in nutritional composition and function and application of fish glue[J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2023(4): 4−9.]
[4] THANH N M, JUNG H, LYONS R E, et al. A transcriptomic analysis of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in response to salinity adaptation: *De novo* assembly, gene annotation and marker discovery[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2014, 10: 52−63.
[5] 冯瑞, 黄达荣, 钟碧銮, 等. 白玉花胶消化液理化性质及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(12): 137−145. [FENG Rui, HUANG Darong, ZHONG Biluan, et al. Study on the physicochemical properties and antioxidant capacity of fish maw digestive juices from *Pangasianodon hypophthalmus*[J]. Food & Machinery, 2024, 40(12): 137−145.]
[6] 冯瑞, 梁结桦, 田東昕, 等. 基于电子鼻和顶空固相微萃取-气相色谱-质谱技术分析不同品种鱼胶的风味差异[J]. 食品科技, 2024, 49(5): 289−298. [FENG Rui, LIANG Jiehua, TIAN Jianxin, et al. Analysis of flavor characteristics of different varieties of fish maws based on electronic nose and headspace solid phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(5): 289−298.]
[7] 赵敏豪, 黎攀, 张豫粤, 等. 不同来源鱼鳔的营养成分比较分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(24): 12−17. [ZHAO Minhao, LI Pan, ZHANG Yuyue, et al. Comparison of nutritional quality in fish maw products from different sources[J]. Food Research and Development, 2020, 41(24): 12−17.]
[8] 张志军, 王李平, 方军, 等. 花胶营养成分分析及其品质评价[J]. 食品工业, 2018, 39(7): 299−302. [ZHANG Zhijun, WANG Liping, FANG Jun, et al. Analysis and quality evaluation of nutritional components in the fish maw[J]. The Food Industry, 2018, 39(7): 299−302.]
[9] 李玉玲, 范志强, 刘雯恩, 等. 鱼鳔胶原蛋白的研究进展[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(1): 31−38. [LI Yuling, FAN Zhiqiang, LIU Wenen, et al. Research progress on collagen from fish swim bladders: A review[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2020, 35(1): 31−38.]
[10] 董旭, 赵峡, 刘楚怡. 鱼鳔胶原肽的制备工艺及功能活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 436−442. [DONG Xu, ZHAO Xia, LIU Chuyi. Progress in preparation and functional activity of fish swimming bladder collagen peptide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 436−442.]
[11] WATANABE-KAMIYAMA M, SHIMIZU M, KAMIYAMA S, et al. Absorption and effectiveness of orally administered low molecular weight collagen hydrolysate in rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(2): 835−841.
[12] 曹玮, 孔英俊, 康跻耀, 等. 胶原蛋白肽氨基酸组成对小鼠肠道吸收的影响研究[J]. 生物学杂志, 2016, 33(1): 53−56,61. [CAO Wei, KONG Yingjun, KANG Jiyao, et al. Effect of amino acid composition in collagen peptides on the intestinal absorption in mice[J]. Journal of Biology, 2016, 33(1): 53−56,61.]
[13] 武文泽, 令狐婷, 高耀, 等. 稳定同位素示踪代谢组学技术在葡萄糖分解代谢研究中的应用进展[J]. 药学学报, 2021, 56(5): 1286−1292. [WU Wenze, LINGHU Ting, GAO Yao, et al. Application of stable isotope-resolved metabolomics in glucose catabolism[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2021, 56(5): 1286−1292.]
[14] 孟爽. 基于代谢组学分析的肺腺癌细胞 Oct4 代谢重编程研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2017. [MENG Shuang. Metabolic reprogramming of lung adenocarcinoma cell Oct4 based on metabonomics analysis[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2017.]
[15] 刘晓艳, 叶月华, 白卫东, 等. 外源物质对低盐罗非鱼糜蛋白构象及体外消化特性的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(1): 80−87. [LIU Xiaoyan, YE Yuehua, BAI Weidong, et al. Effects of different exogenous substances on the protein conformation andin vitro digestion characteristics of low-salt tilapia surimi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(1): 80−87.]
[16] 钟碧銮, 廖静如, 黄泽敏, 等. 红鳘鱼胶胶原蛋白对 D-半乳糖致衰老小鼠皮肤的抗衰老作用研究[J]. 日用化学工业(中英文), 2024, 54(5): 550−557. [ZHONG Biluan, LIAO Jingru, HUANG Zemin, et al. Study on the anti-aging effect of red slate fish gelatin collagen in mice skin caused by D-galactose[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2024, 54(5): 550−557.]
[17] 李永富, 陈珺雯, 周玲, 等. 牛骨胶原蛋白肽对于血管紧张素转化酶和二肽基肽酶-Ⅳ抑制活性的生物信息学预测及验证[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(15): 166−173. [LI Yongfu, CHEN Junwen, ZHOU Ling, et al. Bioinformatics prediction and validation of the inhibitory activity of bovine bone collagen peptide on angiotensin-converting enzyme and dipeptidyl peptidase-Ⅳ[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(15): 166−173.]
[18] 万紫红. 固相合成法合成含酰胺键的单分子量聚乙二醇[D]. 武汉: 武汉大学, 2017. [WAN Zihong. Synthesis of monomolecular weight polyethylene glycol with amide bond by solid state synthesis[D]. Wuhan: Wuhan University, 2017.]
[19] 周慧灵, 张静, 熊倪, 等. 基于 HPLC-MS/MS 的川产道地药材活性成分测定及干燥条件探究[J]. 预防医学情报杂志, 2025, 41(11): 1543−1550. [ZHOU Huiling, ZHANG Jing, XIONG Ni, et al. A study on active constituents detection and drying technology exploration of genuine medicinal materials in Sichuan Province based on HPLC-MS/MS[J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2025, 41(11): 1543−1550.]
[20] 王灵昭, 王善宇, 简冲, 等. 水产品加工与储藏过程中脂质氧化及其对品质影响的研究进展[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2021, 30(2): 42−49. [WANG Lingzhao, WANG Shanyu, JIAN Chong, et al. Research progress on lipid oxidation and its influence on quality during processing and storage of aquatic products[J]. Journal of Jiangsu Ocean University (Natural Science Edition), 2021, 30(2): 42−49.]
[21] TAGA Y, TANAKA K, HATTORI S, et al. In-depth correlation analysis demonstrates that 4-hydroxyproline at the Yaa position of Gly-Xaa-Yaa repeats dominantly stabilizes collagen triple helix[J]. Matrix Biology Plus, 2021, 10: 100067.
[22] 李航婷, 莫奕雯, 李诺营, 等. 响应面法优化酸溶性鳗鱼鱼鳔胶原蛋白提取工艺[J]. 广东海洋大学学报, 2022, 42(6): 114−121. [LI Hangting, MO Yiwen, LI Nuoying, et al. Optimized extraction of acid-soluble collagen from eel swim bladder by response surface methodology[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2022, 42(6): 114−121.]
[23] BARBUL A. Proline precursors to sustain mammalian collagen synthesis 1 2[J]. The Journal of Nutrition, 2008, 138(10): 2021S−2024S.
[24] DU Mengdi, YU Wei, DING Ning, et al. Antioxidant, aroma, and sensory characteristics of Maillard reaction products from *Urechis unicinctus* hydrolysates: Development of food flavorings[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1325886.
[25] 袁林, 董士远. 不同氨基酸对牡蛎美拉德反应产物特征风味

的影响[C]//中国食品科学技术学会第十二届年会暨第八届中美食品业高层论坛. 中国辽宁大连, 2015: 3. [YUAN L, DONG S Y. Effects of different amino acids on the characteristic flavour of oyster melanoidin reaction products[C]//Twelfth Annual Conference of the Chinese Society of Food Science and Technology and the Eighth Sino-US Food Industry High-Level Forum. Dalian, Liaoning, China, 2015: 3.]

[26] 刘鑫, 李华, 齐磊, 等. 重组人Ⅲ型胶原蛋白的表达纯化及性能研究[J]. 国际生物医学工程杂志, 2021, 44(1): 18−22,33. [LIU Xin, LI Hua, QI Lei, et al. Expression, purification and characterization of recombinant human type Ⅲ collagen[J]. International Journal of Biomedical Engineering, 2021, 44(1): 18−22,33.]

[27] MAESTRI E, PAVLICEVIC M, MONTORSI M, et al. Meta-analysis for correlating structure of bioactive peptides in foods of animal origin with regard to effect and stability[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18(1): 3−30.

[28] ATLANTE A, SECCIA T M, MARRA E, et al. Carrier-mediated transport controls hydroxyproline catabolism in heart mitochondria from spontaneously hypertensive rat[J]. FEBS Letters, 1996, 396(2-3): 279−284.

[29] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(4): 62−65,32. [ZHANG Dianzhong, WANG Peihong, ZHAO Huixian. Determination of the content of free proline in wheat leaves[J]. Plant Physiology Communications, 1990, 26(4): 62−65,32.]

[30] AHMED M, VERMA A K, PATEL R. Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: A review[J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2020, 18: 100315.

[31] LARDER C E, ISKANDAR M M, KUBOW S. Collagen hydrolysates: A source of bioactive peptides derived from food sources for the treatment of osteoarthritis[J]. Medicines, 2023, 10(9): 50.