

响应面法优化鱿鱼(*Ommastrephes bartrami*)皮胶原蛋白提取液脱色工艺*

张雪 令狐青青 童晓倩 毛贵珠 罗红宇 宋茹

(浙江省海产品健康危害因素关键技术研究重点实验室 浙江海洋学院食品与医药学院 舟山 316022)

摘要 采用活性炭吸附法脱除鱿鱼(*Ommastrephes bartrami*)皮胶原蛋白提取液中色素, 优化脱色条件, 以进一步利用鱿鱼皮胶原蛋白。在确定该色素特征吸收波长为 420 nm 条件下, 分别研究了活性炭添加量、脱色时间、溶液 pH 值和脱色温度对鱿鱼皮胶原蛋白液色素脱除效果影响。在单因素实验基础上, 选择脱色时间 30 min, 进行活性炭添加量、溶液 pH 值、脱色温度三因素三水平 Box-Behnken 中心组合响应面分析试验。结果表明, 活性炭吸附鱿鱼皮胶原蛋白液色素最佳条件为活性炭添加量 4.2%, 溶液 pH 值 2.27, 脱色温度 35°C, 该条件下鱿鱼皮胶原蛋白液的脱色率为 45.6%, 蛋白质和氨基酸损耗率分别为 19.65%和 22.93%。脱色后鱿鱼皮胶原蛋白的甘氨酸含量最高(136.02 mg/g, 相对含量 23.05%), 谷氨酸、精氨酸和脯氨酸含量也较高, 而半胱氨酸和蛋氨酸总量不到 1%, 符合水产蛋白氨基酸和 I 型胶原蛋白氨基酸特点。

关键词 鱿鱼皮; 胶原蛋白提取液; 色素; 活性炭; 脱色

中图分类号 Q53 **doi:** 10.11693/hyhz20141000297

鱿鱼(*Ommastrephes bartrami*)属海洋头足类, 无脊椎软体动物, 富含蛋白质、脂肪、矿物质及维生素等多种营养成分, 是我国一种非常重要的水产品加工原料。鱿鱼在加工过程中大约产生 15%—30%的头、足、内脏及表皮等废弃物, 其中鱿鱼皮约占废弃物总量的 8%—10%, 主要由结构蛋白——胶原蛋白组成(郭无瑕等, 2006)。以往胶原蛋白的提取主要从陆地动物的皮、骨、筋腱中获得, 但是近年来由于一些人畜共患病爆发, 如: 疯牛病、禽流感、口蹄疫等, 陆地动物源胶原蛋白的安全性引发公众关注。相比之下, 海洋动物源胶原蛋白则具有更高的安全性, 鱿鱼皮中胶原蛋白除了可以直接食用外, 还富含甘氨酸、脯氨酸及羟脯氨酸, 对皮肤有良好的修复和滋养作用。此外, 国内外大量研究还报道鱿鱼皮胶原蛋白水解液具有抗氧化、降血压、调血脂、提高免疫力等生理活性(刘克海等, 2008; Giménez *et al*, 2009; Alemán

et al, 2011, 2013; Gómez-Guillén *et al*, 2011; LIN *et al*, 2012; Veeruraj *et al*, 2015)。

胶原蛋白可以采用酸法、碱法和酶法提取, 但是颜色较深的胶原蛋白提取液需要经过适宜的脱色处理才能进一步应用。蛋白质及其水解液的脱色主要采用化学法和物理法, 化学脱色法因为加入氧化型或还原型化学试剂, 所以对脱色液中各组分离理化性质影响大, 而且也存在安全隐患。物理脱色法主要通过吸附作用完成, 因此对脱色液性质影响小, 安全性高。活性炭吸附法是一种常用的物理脱色法, 具有吸附效果好、成本低, 且对样品液影响小等优点, 因此广泛被用于食品中蛋白液、糖浆、酱油等脱色处理(Sessa *et al*, 2008; 孙玉军等, 2012; 周统武等, 2013; 谢建华等, 2013; Miyagi *et al*, 2013)。在前期研究中, 用酸法提取的鱿鱼皮胶原蛋白提取液为红棕色, 本文选择粉末活性炭为吸附剂, 研究吸附条件对鱿鱼

* 国家星火计划项目, 2013GA700260 号; 浙江省厅市会商项目, 2013C02003 号; 舟山市科技局项目, 2013C41008 号。张雪, E-mail: 616741730@qq.com

通讯作者: 宋茹, 博士, 副教授, E-mail: rusong545@163.com

收稿日期: 2014-10-23, 收修改稿日期: 2014-11-26

皮胶原蛋白提取液脱色效果影响, 然后采用响应面分析法优化活性炭吸附脱色条件, 并分析脱色后鱿鱼皮胶原蛋白提取液的蛋白质含量及氨基酸组成变化, 旨在为鱿鱼皮胶原蛋白的应用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

鱿鱼皮由浙江省舟山市富丹旅游食品有限公司提供; 粉末活性炭购于上海国药化学试剂集团; 正丁醇(食用级); 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

CU420 型电热恒温水浴锅, 上海棱光技术有限公司; 721G 型可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; TGL-16C 型高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; CH-420 型电热恒温水槽, 上海一恒科技有限公司; L-8900 型氨基酸分析仪, 日本日立公司。

1.3 试验方法

1.3.1 鱿鱼皮胶原蛋白提取液的制备 冷冻保藏的鱿鱼皮先用流动水解冻, 清洗干净后切碎, 加入 10% 正丁醇浸没鱼皮, 4°C 下萃取 24 h 除去脂类, 将脱脂的鱼皮用蒸馏水冲洗干净。根据鱼皮质量, 按照 1 : 6 (*W* : *V*) 比例加入 0.05 mol/L NaOH, 室温浸泡 60 min, 充分溶胀鱼皮后用蒸馏水洗至中性, 再按照鱼皮质量以 1 : 5 (*W* : *V*) 比例加入 0.5 mol/L 冰醋酸, 匀浆, 将匀浆液在 40°C 恒温水浴搅拌器中抽提 6 h, 然后 4000 r/min 离心 20 min, 弃去不溶物, 得到颜色发红的鱿鱼皮胶原蛋白提取液, 经旋转蒸发浓缩后置于 4°C 冷藏, 备用。

1.3.2 鱿鱼皮胶原蛋白提取液中色素特征吸收波长 鱿鱼皮胶原蛋白提取液呈红棕色, 说明在可见光区有特征吸收。将鱿鱼皮胶原蛋白浓缩液用 0.5 mol/L 的冰醋酸适当稀释, 然后在 400—800 nm 进行可见光谱扫描。

1.3.3 活性炭吸附影响因素 采用活性炭吸附法对鱿鱼皮胶原蛋白提取液进行脱色, 在前期研究中发现粉末型活性炭对鱿鱼皮胶原蛋白提取液中色素吸附效果好于颗粒型活性炭。所以, 本研究采用粉末型活性炭为吸附剂, 分别研究活性炭添加量(1.0%—8.0%)、脱色时间(10—70 min)、溶液 pH 值(2.4—7.4)和脱色温度(10—40°C)对鱿鱼皮胶原蛋白提取液脱色效果影响。

1.3.4 活性炭吸附鱿鱼皮胶原蛋白提取液色素条件优化 在研究活性炭对鱿鱼皮胶原蛋白提取液色

素脱除效果的基础上, 选择活性炭用量、胶原蛋白提取液 pH 值和脱色温度进行三因素三水平的响应面分析 Box-Behnken 中心组合试验, 试验因素水平及编码值见表 1, 特征波长下胶原蛋白提取液色素的吸光值为响应值, 采用 Design Expert Software (version 7.1.4, USA) 软件对结果进行 Quadratic 模型拟合:

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^3 \beta_j X_j + \sum_{j=1}^3 \beta_{jj} X_j^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

式中, y 表示响应值, X_i 和 X_j 代表因素水平, β_0 、 β_j 、 β_{jj} 和 β_{ij} 分别表示常数项、一次项、二次项和交互项系数。

1.3.5 蛋白质含量测定 考马斯亮蓝法(Bradford, 1976), 牛血清白蛋白为标准品。

1.3.6 氨基酸组成分析 取冻干样品适量, 加入 15 mL 的 6 mol/L HCl 溶解, 在 110°C 下氮气保护水解 22 h, 冷却后转移至 25 mL 容量瓶中定容。取 1 mL 水解液用 55°C 氮气吹干, 加入 1 mL 蒸馏水再烘干, 反复 3 次, 再用 0.02 mol/L HCl 溶解定容至 1 mL, 0.45 μm 滤膜过滤, 取滤液 20 μL 上 L-8900 型氨基酸分析仪测定。

1.4 数据统计分析

鱿鱼皮胶原蛋白提取液色素脱除结果用平均值 ± 标准差表示($n=2$), $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 鱿鱼皮胶原蛋白提取液色素特征吸收波长

如图 1 所示, 鱿鱼皮胶原蛋白提取液在 400—450 nm 有一个非常明显的吸收峰, 经测定确定鱿鱼皮胶原蛋白提取液中色素的特征吸收波长为 420 nm (图 1b)。

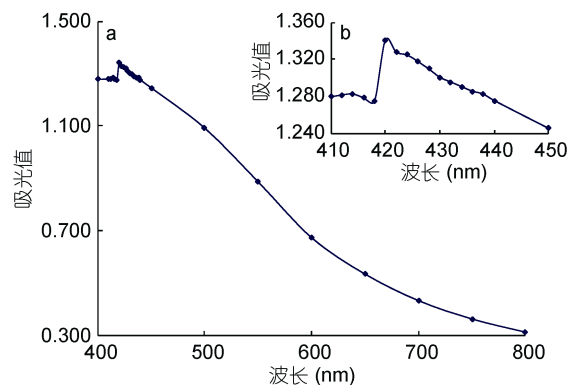


图 1 鱿鱼皮胶原蛋白提取液可见吸光光谱

Fig. 1 The absorbance spectrum of collagen extract from squid skin

2.2 鱿鱼皮胶原蛋白提取液脱色条件

活性炭对色素类具有良好的吸附作用, 前期研究中发现粉末活性炭的脱色效果好于颗粒活性炭。所

以采用粉末活性炭为吸附剂, 分别研究活性炭添加量、脱色时间、吸附 pH 值和脱色温度对鱿鱼皮胶原蛋白提取液色素脱除影响, 结果见图 2。

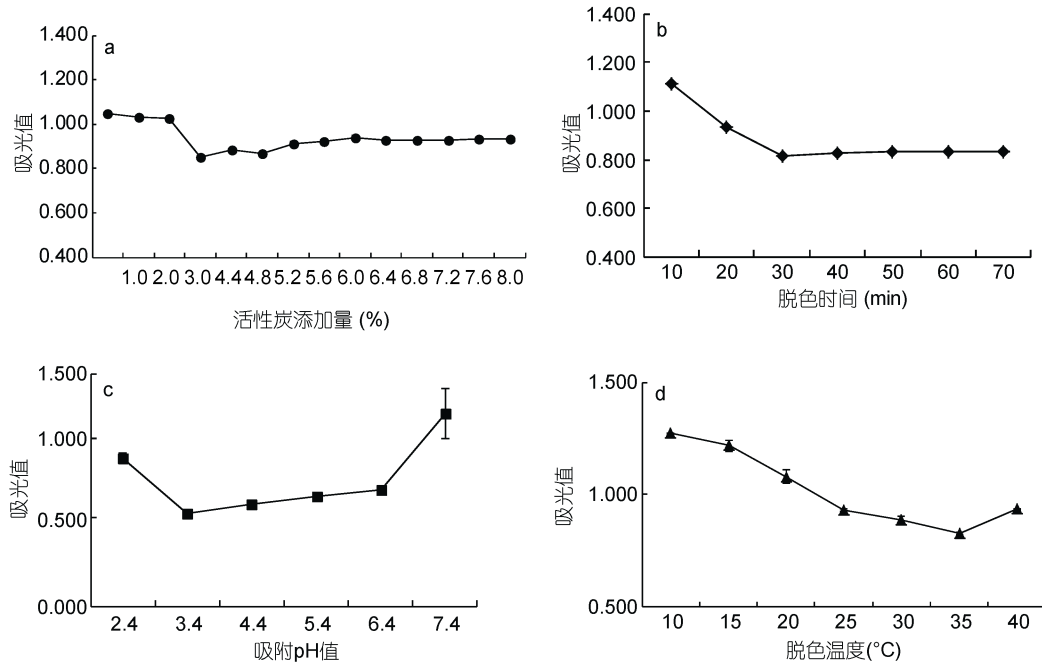


图 2 各因素对鱿鱼皮胶原蛋白提取液色素脱除影响

Fig.2 Effects of each factor on the decoloring of collagen extract from squid skin

a. 活性炭添加量; b. 脱色时间; c. 吸附 pH 值; d. 脱色温度

粉末活性炭具有多孔结构, 适当地加大活性炭用量能提高对色素的物理性吸附作用, 但是当吸附达到饱和时, 加大活性炭用量并不能有效提高色素的脱除效果(陈荔红等, 2009)。从图 2a 可以看出, 随着活性炭用量的增加, 鱿鱼皮胶原蛋白液在 420 nm 处吸光值逐渐地降低, 在活性炭添加量 4.0% 时脱色液的吸光值最低。当活性炭添加量大于 5.2% 时, 脱色液的吸光值反而略有增加, 说明此时活性炭吸附已经达到饱和, 而且添加过多粉末活性炭也不利于后续离心分离, 而脱色液中残留的活性炭粉末会造成吸光值的增加。

由图 2b 可知, 延长脱色时间有助于活性炭与色素分子的充分接触, 从而提高吸附效果。当脱色时间为 30 min 时, 鱿鱼皮胶原蛋白脱色液的吸光值最低, 而后增加脱色时间并没有进一步地提高脱色效果。

图 2c 结果显示, 在偏酸性 pH 值下, 活性炭吸附鱿鱼皮胶原蛋白液中色素效果好, 而在 pH 值为 7.4 时, 脱色液在 420 nm 处吸光值剧烈增加, 说明该条件下活性炭吸附色素能力急剧降低。

从图 2d 可以看出, 脱色温度在 10—35°C 时, 活性炭的脱色效果随着脱色温度的升高而逐渐地增强, 说明活性炭吸附鱿鱼皮胶原蛋白液中色素应是一个吸热过程, 脱色温度的提高有助于增加活性炭颗粒能量, 结果提高了与色素分子碰撞几率, 从而提高脱色作用。此外, 适当地提高吸附温度也有利于降低鱿鱼皮胶原蛋白液的黏度, 减少与活性炭分子间作用阻力, 有助于提高吸附作用。当脱色温度大于 35°C 时, 鱿鱼皮胶原蛋白脱色液在 420 nm 处吸光值又开始上升, 可能与色素在较高温度下从活性炭上解吸有关(陈荔红等, 2009)。

2.3 鱿鱼皮胶原蛋白提取液脱色工艺优化

因为活性炭对氨基酸、肽、蛋白质等有吸附作用, 而动物蛋白色素常与蛋白质结合在一起, 所以为了尽量降低蛋白质损耗率, 吸附作用应控制在短时内完成。由图 2b 结果可知, 脱色时间为 30 min 时, 活性炭对鱿鱼皮胶原蛋白液的脱色作用基本完全, 所以选择活性炭添加量、溶液 pH 值和脱色温度做响应面分析试验进一步优化脱色条件, 具体因素编码值和实际值见表 1, 试验安排和结果见表 2。

表 1 响应面分析 Box-Behnken 中心组合试验因素编码值和实际值

Tab.1 Experimental code and corresponding real values in the Box-Behnken design of response surface method

因素	代码	编码水平		
		-1	0	+1
活性炭添加量(%)	x_1	3.6	4.2	4.8
溶液 pH 值	x_2	2.0	2.5	3.0
脱色温度(°C)	x_3	25	30	35

表 2 响应面分析 Box-Behnken 中心组合试验安排和结果

Tab.2 Experimental design and results of Box-Behnken response surface method

试验号	活性炭添加量 x_1 (%)	溶液 pH 值 x_2	脱色温度 x_3 (°C)	吸光值
1	3.6	2.0	30	1.086±0.002
2	4.8	2.0	30	0.940±0.004
3	3.6	3.0	30	1.084±0.003
4	4.8	3.0	30	1.077±0.003
5	3.6	2.5	25	1.071±0.003
6	4.8	2.5	25	1.055±0.002
7	3.6	2.5	35	0.971±0.003
8	4.8	2.5	35	0.852±0.005
9	4.2	2.0	25	1.002±0.004
10	4.2	3.0	25	1.106±0.003
11	4.2	2.0	35	0.955±0.004
12	4.2	3.0	35	0.952±0.006
13	4.2	2.5	30	0.976±0.001
14	4.2	2.5	30	0.978±0.001
15	4.2	2.5	30	0.984±0.004
16	4.2	2.5	30	0.986±0.003
17	4.2	2.5	30	0.984±0.004

所用未脱色的鲑鱼皮胶原蛋白液 420 nm 处特征吸光值为 1.542

根据表 2 中数据进行 Quadratic 回归方差模型拟合, 得到活性炭吸附鲑鱼皮胶原蛋白提取液中色素方程为:

$$y = 0.98 - 0.036x_1 + 0.030x_2 - 0.063x_3 + 0.035x_1x_2 - 0.026x_1x_3 - 0.027x_2x_3 + 0.024x_1^2 + 0.041x_2^2 - 0.019x_3^2$$

对模型拟合结果进行方差分析, 结果见表 3。

表 3 方差分析结果显示模型 P 值小于 0.0001, 表明该模型极显著 ($P < 0.01$), 且相关系数 $R^2 = 0.9783$, 说明各因素值和响应值之间的关系可以用 Quadratic 模型进行函数化, 实验确定的回归方程能够代替真实点的预测结果。当 $P < 0.05$ 时, 因素对结果影响显著, 由此可以看出表 3 中各因素一次项、交互项和二次项对响应值均有显著性影响。在脱色时间为 30 min 条件下, 表 2 数据经 Quadratic 回归模型拟合得到活性炭吸附鲑鱼皮胶原蛋白液色素最佳条件为: 活性炭添加量 4.2%, 胶原蛋白液 pH 值 2.27, 脱色温度 35°C。鲑鱼皮胶原蛋白提取液在该条件下脱色后理论特征吸光值 (OD_{420nm}) 为 0.854, 经验证脱色后鲑鱼皮胶原蛋白液的实际特征吸光值为 0.839, 与理论值一致, 色素脱除率为 45.6%。

活性炭添加量和 pH 值 (x_1x_2)、活性炭添加量和脱色温度 (x_1x_3) 和 pH 值和脱色温度 (x_2x_3) 的交互作用与鲑鱼皮胶原蛋白液色素脱除效果关系, 结果见图 3。

从图 3a 能够看出, 鲑鱼皮胶原蛋白提取液中色素脱除效果总体趋势是随着活性炭添加量的增加而逐渐地增强, 即: 420 nm 下特征吸光值逐渐地降低。特别是在 pH 2.6—2.0 时, 吸光值下降趋势更为明显,

表 3 响应面分析 Box-Behnken 中心组合试验方差分析

Tab.3 Variance analysis for Box-Behnken design of response surface method

来源	平方和	自由度	平均平方值	F 值	P 值
模型	0.070	9	7.818E-003	35.07	< 0.0001
x_1	0.010	1	0.010	46.50	0.0002
x_2	6.962E-003	1	6.962E-003	31.23	0.0008
x_3	0.032	1	0.032	142.41	< 0.0001
x_1x_2	4.830E-003	1	4.830E-003	21.66	0.0023
x_1x_3	2.652E-003	1	2.652E-003	11.90	0.0107
x_2x_3	2.862E-003	1	2.862E-003	12.84	0.0089
x_1^2	2.491E-003	1	2.491E-003	11.17	0.0124
x_2^2	7.018E-003	1	7.018E-003	31.48	0.0008
x_3^2	1.468E-003	1	1.468E-003	6.59	0.0372
残差	1.561E-003	7	2.230E-004		
失拟项	1.485E-003	3	2.230E-004	26.34	0.0043
误差值	7.520E-005	4	1.880E-005		
总和	0.072	16			

$R^2=0.9783$

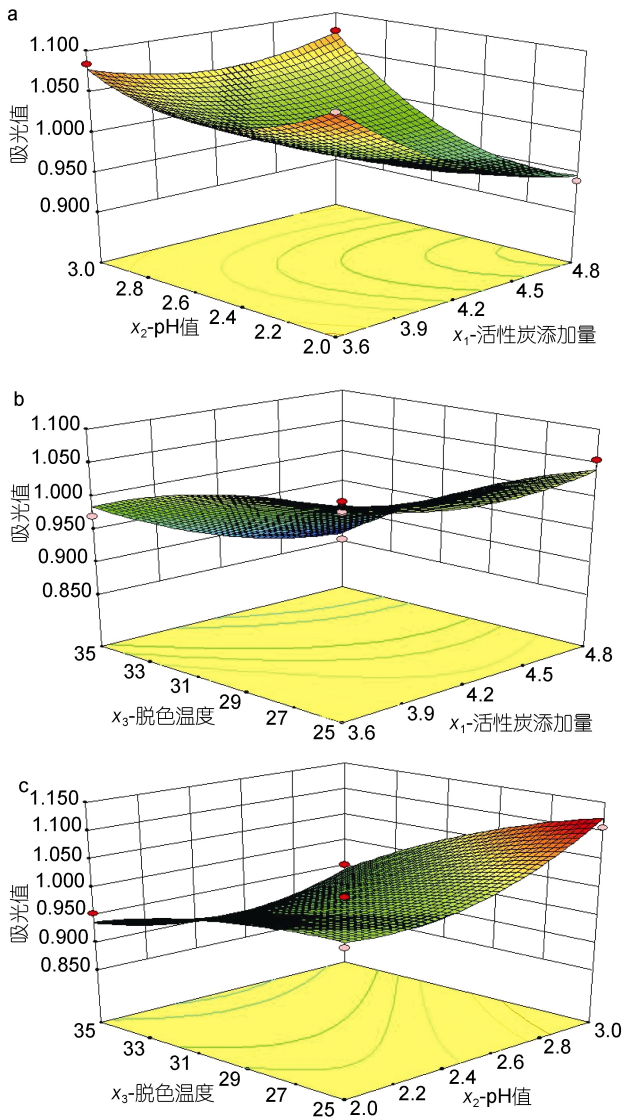


图3 各因素交互作用对鱿鱼皮胶原蛋白提取液色素脱除影响

Fig.3 Interactions of independent variables on the decoloring effects of collagen extract from squid skin

- a. 活性炭添加量和 pH 值; b. 活性炭添加量和脱色温度;
c. pH 值和脱色温度

说明活性炭用量对提取液色素脱除具有线性影响。当 pH 值 3.0 时, 活性炭添加量对胶原蛋白液中色素脱除效果影响平缓。而且粉末活性炭添加量过大时, 有一些粉末活性炭会漂浮在提取液表面, 后面的离心处理也很难再除去, 所以未考查活性炭添加量大于 4.8% 时对胶原蛋白液的脱色效果。

图 3b 显示, 在相对较低脱色温度 25℃ 时, 活性炭添加量的加大对胶原蛋白液色素的脱除影响不明显, 表现为胶原蛋白液吸光值变化平缓。同样, 当活性炭添加量较低时, 如: 3.6%, 脱色温度对胶原蛋白

液中色素脱除影响平缓。而当活性炭添加量为 4.8% 时, 鱿鱼皮胶原蛋白液色素的脱除随着脱色温度的升高而增强。由此可以判定活性炭添加量和脱色温度在实验设定的较高水平时对胶原蛋白液色素脱除影响显著, 因脱色温度大于 35℃ 不利于鱿鱼皮胶原蛋白液色素的脱除(见图 2d 结果), 所以图 3b 未考查脱色温度大于 35℃ 情况。

由图 3c 可知, 鱿鱼皮胶原蛋白液的 pH 值为 2.4—3.0 时, 提高脱色温度有利于活性炭吸附色素, 但当 pH 值小于 2.4 时, 脱色温度对胶原蛋白提取液色素的脱除影响比较平缓。

2.4 蛋白质含量和氨基酸组成分析

测定优化条件下活性炭吸附鱿鱼皮胶原蛋白液色素后蛋白质含量, 分析氨基酸组成变化, 未脱色样品为对照, 具体结果分别见图 4 和表 4。

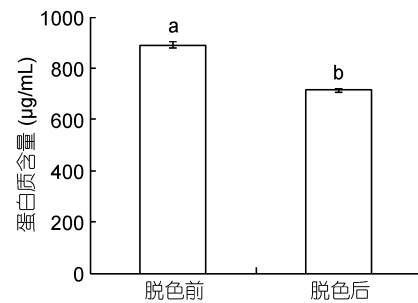


图4 鱿鱼皮胶原蛋白提取液的蛋白质含量变化

Fig.4 Changes in protein content of collagen extract from squid skin

活性炭对色素类物质的吸附具有非特异性, 在吸附色素时, 溶液中蛋白质、肽以及氨基酸类也同时被吸附(Sessa *et al*, 2008)。徐曼等(2013)用粉末活性炭对豆粕蛋白酶解液进行脱色处理, 结果发现最优脱色条件下(溶液 pH 4.0, 粉末活性炭用量 0.6%, 脱色温度 50℃, 吸附时间 50min), 豆粕蛋白酶解液肽的损失率为 24.96%。章绍兵等(2011)报道粉末活性炭对花生蛋白酶解液脱色(溶液 pH 3.2, 活性炭用量 8%, 吸附温度 55℃, 吸附时间 30min)后蛋白损失 20.86%。上述文献报道虽然活性炭吸附条件不同, 但是脱色液中蛋白质及肽类损耗在 20% 左右。图 4 中鱿鱼皮胶原蛋白液的蛋白质含量由脱色前 890.26μg/mL 降至脱色后 715.27μg/mL ($P < 0.05$), 蛋白质损失率为 19.65%, 与上述文献报道结果一致。

由表 4 氨基酸分析结果可知, 鱿鱼皮胶原蛋白提取液的氨基酸总量由脱色前 765.72 mg/g 降至脱色后 590.16 mg/g, 损耗率为 22.93%, 略高于图 4 蛋白质损

表 4 鱿鱼皮胶原蛋白提取液的氨基酸组成分析
Tab.4 Amino acid analysis for collagen extract from squid skin

氨基酸	脱色前(mg/g)	脱色后(mg/g)	损耗率(%)	氨基酸	脱色前(mg/g)	脱色后(mg/g)	损耗率(%)
天冬氨酸	67.50(8.82%)	48.40(8.20%)	-28.29	异亮氨酸	17.53(2.29%)	12.00(2.03%)	-31.57
苏氨酸	25.11(3.28%)	19.92(3.38%)	-20.67	亮氨酸	35.44(4.63%)	26.02(4.41%)	-26.56
丝氨酸	34.27(4.48%)	27.24(4.62%)	-20.50	酪氨酸	9.82(1.28%)	8.05(1.36%)	-18.01
谷氨酸	98.70(12.89)	76.84(13.02%)	-22.15	苯丙氨酸	23.97(3.13%)	20.87(3.54%)	-12.94
甘氨酸	175.67(22.94)	136.02(23.05%)	-22.57	赖氨酸	18.54(2.42%)	13.83(2.34%)	-25.41
丙氨酸	58.57(7.65)	45.22(7.66%)	-22.78	组氨酸	11.22(1.47%)	8.17(1.38%)	-27.22
半胱氨酸	2.72(0.36%)	4.25(0.72%)	+55.90	精氨酸	78.36(10.23%)	59.74(10.12%)	-23.77
缬氨酸	28.54(3.73%)	23.84(4.04%)	-16.45	脯氨酸	75.89(9.91%)	58.29(9.88%)	-23.20
蛋氨酸	3.86(0.50%)	1.46(0.25%)	-62.21	总量	765.72(100%)	590.16(100%)	-22.93

色氨酸和胱氨酸在酸性水解条件下被破坏,因此未检出。括号中数据为氨基酸的相对百分含量,根据氨基酸总量计算

耗率。甘氨酸含量无论是脱色前(175.67 mg/mL, 22.94%)还是脱色后(136.02 mg/g, 23.05%)均最高,谷氨酸、脯氨酸、天冬氨酸和丙氨酸含量也较高,而酪氨酸和组氨酸含量较低,符合水产胶原蛋白氨基酸和 I 型胶原蛋白氨基酸特点(李八方等, 2013; 侯虎等, 2013; 夏珊珊等, 2014)。此外,鱿鱼皮胶原蛋白液中蛋氨酸和半胱氨酸总量不到 1%,与胶原蛋白几乎不含有含硫氨基酸报道一致(李八方等, 2013)。表 4 结果显示活性炭脱色后,鱿鱼皮胶原蛋白提取液的半胱氨酸含量增加了一倍,应与酸性条件下活性炭吸附促进蛋氨酸转化为半胱氨酸有关。脱色液中一些氨基酸,如:异亮氨酸、天冬氨酸、组氨酸、亮氨酸和赖氨酸的损耗率要高于其它氨基酸,可能与活性炭吸附的蛋白质或色素蛋白中这几种氨基酸含量相对较高,或者与活性炭直接吸附这些游离氨基酸有关。

3 结论

活性炭吸附法能有效减少鱿鱼皮胶原蛋白提取液的色素值,当脱色时间为 30 min 时,经响应面分析得到活性炭最佳脱色条件为:活性炭添加量 4.2%,溶液 pH 2.27,脱色温度 35°C。在最优条件下,鱿鱼皮胶原蛋白提取液的脱色率为 45.6%,蛋白质和氨基酸损耗率在 20%左右。氨基酸分析显示脱色后的鱿鱼皮胶原蛋白具有水产胶原蛋白氨基酸和 I 型胶原蛋白氨基酸特点。但是,如何利用被活性炭吸附的蛋白质或氨基酸,还有待进一步深入研究。

参 考 文 献

刘克海,秦玉青,徐海波等,2008. 鱿鱼皮胶原蛋白的提取及在化妆品中的应用. 水产科学, 27(8): 411—413

- 孙玉军,李正鹏,2012. 羊肚菌胞外多糖活性炭脱色工艺. 中国医院药学杂志, 32(23): 1885—1888
- 李八方,郭鸣,侯虎等,2013. 胡子鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的理化性质研究. 现代食品科技, 29(11): 2580—2585
- 陈荔红,郑宝东,2009. 仙草胶提取液脱色工艺的研究——活性炭. 中国农学通报, 25(17): 36—40
- 周统武,梁志坚,吴天秀等,2013. 熟地多糖活性炭脱色工艺的研究. 天然产物研究与开发, 25(7): 972—975, 994
- 侯虎,孙江,毛家楠等,2013. 海参胶原纤维形态及胶原蛋白理化性质研究. 现代食品科技, 29(7): 1491—1495
- 夏珊珊,曹少谦,刘亮等,2014. 响应面法优化马面鱼皮胶原蛋白提取工艺及胶原组成分析. 核农学报, (5): 869—875
- 徐曼,马寒冰,李铮等,2013. 粉末活性炭脱色豆粕蛋白酶解液的条件优化. 食品工业科技, 34(11): 263—266
- 郭无瑕,胡建恩,王秀武等,2006. 鱿鱼副产物的综合利用. 精细与专用化学品, 14(18): 6—8
- 章绍兵,甘晓露,龚琴,2011. 花生蛋白酶解液的活性炭脱色工艺研究. 河南工业大学学报(自然科学版), 32(2): 10—14
- 谢建华,申明月,聂少平等,2013. 青钱柳多糖活性炭脱色工艺. 南昌大学学报(理科版), 37(4): 382—385
- Alemán A, Gómez-Guillén M C, Montero P, 2013. Identification of ACE-inhibitory peptides from squid skin collagen after *in vitro* gastrointestinal digestion. Food Research International, 54(1): 790—795
- Alemán A, Pérez-Santín E, Bordenave-Juchereau S *et al*, 2011. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. Food Research International, 44(4): 1044—1051
- Bradford M M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. Analytical Biochemistry, 72: 248—254
- Gómez-Guillén M C, Montero M P, 2011. Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate.

- Food Chemistry, 125(2): 334—341
- Giménez B, Gómez-Estaca J, Alemán A *et al*, 2009. Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. Food Hydrocolloids, 23(5): 1322—1327
- LIN Lin, LV Shun, LI Ba-fang, 2012. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory and antihypertensive properties of squid skin gelatin hydrolysates. Food Chemistry, 131(1): 225—230
- Miyagi A, Nabetani H, Nakajima M, 2013. Decolorization of Japanese soy sauce (shoyu) using adsorption. Journal of Food Engineering, 116: 749—757
- Sessa D J, Palmquist D E, 2008. Effect of heat on the adsorption capacity of an activated carbon for decolorizing/deodorizing yellow zein. Bioresource Technology, 99: 6360—6364
- Veeruraj A, Arumugam M, Ajithkumar T *et al*, 2015. Isolation and characterization of collagen from the outer skin of squid (*Doryteuthis singhalensis*). Food Hydrocolloids, 43: 708—716

OPTIMIZATION OF DECOLORING FOR COLLAGEN EXTRACT FROM SQUID (*OMMASTREPHEs BARTRAMI*) SKIN WITH ACTIVATED CARBON

ZHANG Xue, LINGHU Qing-Qing, TONG Xiao-Qian, MAO Gui-Zhu, LUO Hong-Yu, SONG Ru
(Zhejiang Provincial Key Laboratory of Health Risk Factors for Seafood, College of Food Science and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract The color of collagen extract from squid (*Ommastrephes bartrami*) skin is brown-red, which may be an unwanted property in food industry, to which we use activated carbon to absorb the pigment of collagen extract from squid skin. Results show that the pigment demonstrated characterized absorbance at 420 nm. The effects of independent variables on the decoloring of collagen extract, including activated carbon addition content, decoloring time, pH value of solution, and absorbing temperature were evaluated. Three independent variables including activated carbon addition content, pH value, and absorbing temperature were selected in the response surface method in the Box-Behnken design under decoloring time of 30 min. Results show that the optimal absorbance conditions for decoloring of collagen extract were: activated carbon addition content 4.2%, pH 2.27, and temperature 35 °C. The decoloring ratio was 45.6%. Moreover, the loss rates were 19.65% for protein and 22.93% for amino acid in the decoloring process. The glycine content was the highest (136.020mg/g, relative content 23.05%), and the levels of glutamic acid, arginine, and proline were relatively high as indicated in amino acid composition analysis. In addition, the total content of cysteine and methionine was below 1%. Amino acid analysis indicated that the squid skin collagen after decolorization was in accordance with the aquatic collagen and type I collagen characteristics.

Key words squid (*Ommastrephes bartrami*) skin; collagen extract; pigment; activated carbon; decoloring