

脱色工艺对鱼皮胶原肽品质的影响

Effect of decoloring process on the quality of fish skin collagen peptides

张萌 王宝周 陈俊 翁武银

ZHANG Meng WANG Bao-zhou CHEN Jun WENG Wu-yin

(集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

(College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China)

摘要:利用复合酶通过酶解方法制备罗非鱼皮胶原肽, 考察活性炭、大孔吸附树脂对胶原肽的脱色效果。以脱色率和肽损失率为指标, 通过正交试验进行工艺优化, 结果表明: 在 pH 4.5、活性炭添加量 2% (m/V)、脱色时间 60 min、蛋白浓度 50 mg/mL 的条件下, 活性炭脱色效果最佳, 脱色率可达 92.66%, 肽损失率为 11.23%; 而大孔吸附树脂在最佳脱色条件下, 脱色率只有 83.02%, 肽损失率却高达 30.77%, 脱色效果明显不及活性炭。根据胶原肽分子量分布和氨基酸组成分析结果发现: 经活性炭、大孔吸附树脂脱色后, 鱼皮胶原肽中分子量 500~1 000 Da 组分比例明显减少, His、Tyr 和 Phe 等氨基酸含量显著下降。

关键词:胶原肽; 脱色; 活性炭; 大孔吸附树脂; 罗非鱼皮

Abstract: Collagen peptides from tilapia skin were prepared by enzymatic hydrolysis with protamex, and effects of activated carbon and macroporous adsorption resin on decolorizing of peptides were investigated. Based on the decolorizing rate and peptide loss, the optimum decolorizing conditions of collagen peptides were determined by orthogonal test. The results showed that the optimum decolorizing conditions of activated carbon were pH 4.5, 2% (m/V) activated carbon dosage, decolorizing time of 60 min and protein concentration of 50 mg/mL. Under those conditions, the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides were 92.66% and 11.23%, respectively. However, the decolorizing effect of macroporous adsorption resin was significantly inferior to activated carbon, which the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides were 83.02% and 30.77%, respectively. Based on the results of the molecular weight distribution and amino acid composition, it was found that both component ratio of 500~1 000 Da and amino acid content of His, Tyr or Phe were significantly decreased after decolorizing whether with activated

carbon or macroporous adsorption resin.

Keywords: collagen peptides; decolorizing; activated carbon; macroporous adsorption resin; tilapia skin

近年来, 中国淡水渔业快速发展, 2013 年淡水鱼年产量已经超过 2 600 万 t^[1], 随着鱼类深加工制品的市场需求和消费比例的上升, 加工过程产生了大量的鱼皮、鱼鳞和鱼骨等下脚料。鱼皮中胶原含量占干重的 50% 左右^[2], 可以制备成具有抗氧化、降血压、抗肿瘤和抗衰老等生物活性的胶原肽^[3-5]。现代营养学研究^[6-9]发现, 寡肽与氨基酸一样可以被人体直接吸收, 而且人体对寡肽的利用效果甚至高于游离氨基酸。然而, 随着寡肽含量的增加胶原肽颜色逐渐变黄^[10,11], 导致鱼皮胶原肽产品的应用受到限制。

目前, 蛋白肽脱色大多采用双氧水氧化法、活性炭和大孔树脂吸附法^[12-15]。利用双氧水对蛋白肽进行脱色处理, 虽然可得到较好的脱色效果^[12], 但由于双氧水具有强致癌性, 残留物将会给具有保健功能的蛋白肽带来负面影响。而活性炭和大孔吸附树脂作为脱色吸附剂具有脱色率高、脱色用时短、安全可靠等特点, 已在多肽制备领域得到广泛应用。然而, 有关活性炭、大孔吸附树脂对胶原肽脱色的系统比较却未见报道。

本研究拟以罗非鱼皮胶原为原料制备胶原肽, 利用活性炭、大孔吸附树脂建立胶原肽脱色工艺, 考察脱色前后的胶原肽的分子量分布和氨基酸组成, 为优化胶原肽的脱色工艺提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

鱼皮胶原: 由集美大学水产品加工研究室提供;

复合蛋白酶: 20 万 U/g, 龙岩市润宝生物科技有限公司;

粉末活性炭 (粒径 200 目)、LH-301 型大孔吸附树脂: 龙岩市润宝生物科技有限公司;

DC 蛋白测定试剂盒: 美国 Bio-Rad 公司;

基金项目:福建省杰出青年科学基金项目 (编号: 2014J06013); 厦门市科技计划项目 (编号: 3502Z20131152)

作者简介:张萌 (1989—), 女, 集美大学在读硕士研究生。

E-mail: zmeng200822@163.com

通讯作者:翁武银

收稿日期:2015-03-29

羧脯氨酸试剂盒:南京建成生物工程研究所;
乙腈、甲醇:色谱纯,美国 INC 公司;
三氟乙酸:色谱纯,美国 Amresco 公司;
盐酸、氢氧化钠、无水乙醇:分析纯,西陇化工股份有限公司;

试验用水:本实验室用 Millipore Milli Q RG 超纯水系统制备。

1.1.2 仪器与设备

高速冷冻离心机:Avanti J-25 型,美国 Beckman 公司;
pH 计:FE 20 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;
紫外分光光度计:UV-2600A 型,上海元析仪器有限公司;
高效液相色谱仪:Aglient 1200 型,美国 Agilent 公司;
高速全自动氨基酸分析仪:日立 L-8900 型,日本日立制造所;

凝胶色谱柱:TSKgel G2000 SWXL 型,日本 Tosho 株式会社。

1.2 试验方法

1.2.1 鱼皮胶原肽的制备 将鱼皮胶原溶解后调整至一定浓度,加入相对蛋白质量 1% 的复合蛋白酶,在 pH 7.5, 50 ℃ 水浴下酶解 6 h 后,利用沸水浴灭酶 5 min,冰浴冷却、离心(10 000×g,4 ℃,30 min)后,获得的上清液通过冷冻干燥制备成胶原肽粉末。

1.2.2 脱色率和肽损失率的测定 将胶原肽用蒸馏水溶解后,加入活性炭或大孔吸附树脂进行脱色,通过测定脱色前后胶原肽溶液在波长为 400 nm 处的吸光值,按式(1)计算胶原肽脱色率^[16]。通过测定胶原肽溶液在脱色前后蛋白含量的变化,按式(2)计算肽损失率。

$$A=\frac{A_1-A_2}{A_1}\times 100\%$$

(1)

$$W=\frac{W_1-W_2}{W_1}\times 100\%$$

(2)

式中:
A——脱色率,%;
A₁——脱色前酶解液在 400 nm 处的吸光值;
A₂——脱色后上清液在 400 nm 处的吸光值。
W——肽损失率,%;
W₁——脱色前酶解液中蛋白含量,mg/mL;
W₂——脱色后上清液中蛋白含量,mg/mL。

1.2.3 活性炭脱色工艺优化 在预试验中,研究了温度(35,40,45,50 ℃)对胶原肽脱色的影响,发现温度对活性炭脱色没有显著的影响,因此选择在室温条件下,考察 pH 值、活性炭添加量、脱色时间以及蛋白浓度等 4 个因素对胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(1) pH 值的影响:在蛋白浓度 50 mg/mL,活性炭添加量 1.00%,脱色时间 30 min 的条件下,考察 pH 对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(2) 活性炭添加量的影响:在蛋白浓度 50 mg/mL,

pH 5.0,脱色时间 30 min 的条件下,考察活性炭添加量对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(3) 脱色时间的影响:在 pH 5.0,蛋白浓度 50 mg/mL,活性炭添加量 1.00% 的条件下,考察脱色时间对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(4) 蛋白浓度的影响:在 pH 5.0,活性炭添加量 1.00%,脱色时间 30 min 的条件下,考察蛋白浓度对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(5) 正交试验:在单因素试验的基础上进行正交试验,通过脱色率和肽损失率两个指标来综合评定脱色效果^[17],按式(3)计算脱色效果的综合评分。

$$T=[A\times 0.5+(100-W)\times 0.5]\times 100$$

(3)

式中:
T——综合评分,%;
A——脱色率,%;
W——肽损失率,%。

1.2.4 大孔吸附树脂脱色工艺的优化 在预试验中,研究了温度(35,40,45,50 ℃)对胶原肽脱色的影响,发现温度对大孔吸附树脂脱色没有显著的影响,因此选择在室温条件下,考察 pH 值、大孔吸附树脂添加量、脱色时间以及蛋白浓度等 4 个因素对胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(1) pH 值的影响:在蛋白浓度 50 mg/mL,大孔吸附树脂添加量 1.00%,脱色时间 30 min 的条件下,考察 pH 对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(2) 大孔吸附树脂添加量的影响:在 pH 5.0,蛋白浓度 50 mg/mL,脱色时间 30 min 的条件下,考察大孔吸附树脂添加量对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(3) 脱色时间的影响:在 pH 5.0,蛋白浓度 50 mg/mL,大孔吸附树脂添加量 0.75% 的条件下,考察脱色时间对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(4) 蛋白浓度的影响:在 pH 5.0,大孔吸附树脂添加量 0.75%,脱色时间 45 min 的条件下,考察蛋白浓度对罗非鱼皮胶原肽脱色率和肽损失率的影响。

(5) 正交试验:在单因素试验的基础上进行正交试验,通过脱色率和肽损失率两个指标来综合评定脱色效果^[17],按式(3)计算脱色效果的综合评分。

1.2.5 胶原肽分子量分布的测定 利用高效液相色谱仪^[18]测定胶原肽分子量,并用 GPC 软件对其分子量分布进行分析。色谱柱为 TSKgel G2000 SWXL (300 mm×7.8 mm),流动相为乙腈/水/三氟乙酸(45:55:0.1,V/V/V),在柱温 30 ℃、流速 0.5 mL/min 条件下,以检测波长 214 nm 对样品进行测定。其中标准品为:细胞色素 C (12 327 Da)、抑肽酶(6 533 Da)、氧化型谷胱甘肽(613 Da)、Gly—Gly—Gly (189 Da)、Gly (75 Da)。

1.2.6 氨基酸组成分析 胶原肽粉末利用可密封的消化管,在抽真空、充氮气、110 ℃ 下用 6 mol/L HCl 水解 22 h 后,通过蒸馏除去盐酸,稀释至一定浓度后过 0.22 μm 水系滤膜,利用全自动氨基酸分析仪进行分析。其中羧脯氨酸的

含量利用试剂盒进行测定。

1.2.7 数据分析 采用 SPSS 17.0 软件(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)对所得数据进行方差分析(ANOVA),显著性检验方法为 Duncan 多重检验,显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 活性炭脱色工艺的优化

2.1.1 pH 值的影响 由图 1 可知,伴随 pH 的升高,胶原肽的脱色率与肽损失率都出现下降趋势。这与明胶酶解液、大豆多肽的活性炭脱色效果类似^[16,19],在弱酸性条件下脱色率高,但多肽容易被吸附。由于在 pH 5.0 下脱色率已经达到 82.57%,因此为了避免 pH 过低导致胶原肽的损失,选择 pH 为 5.0。

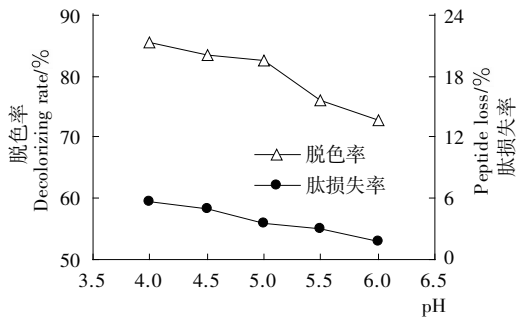


图 1 pH 对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 1 Effect of pH on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

2.1.2 活性炭添加量的影响 由图 2 可知,当活性炭添加量由 0.25%增加到 2.00%时,胶原肽的脱色率由 61.47%提高到 87.46%,然而肽损失率也由 2.20%上升至 11.07%,这个趋势类似于 Ma 等^[20]的报道。为了尽量减少多肽损失,选择活性炭添加量为 1.00%。

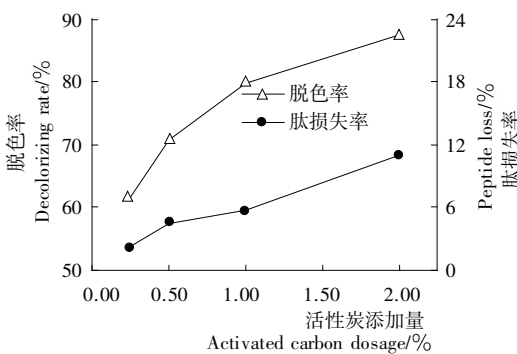


图 2 活性炭添加量对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 2 Effect of activated carbon dosage on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

2.1.3 脱色时间的影响 由图 3 可知,伴随着脱色时间的延长,胶原肽脱色率与肽损失率都出现逐渐上升并趋向稳定的趋势,其中脱色率在 30 min 时趋于稳定,而肽损失率却在 60 min 后才开始达到平稳。因此,选用脱色时间为 30 min 考察蛋白浓度对脱色效果的影响。

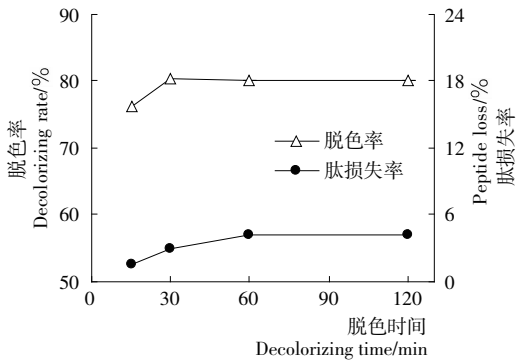


图 3 脱色时间对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 3 Effect of decolorizing time on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

2.1.4 蛋白浓度的影响 由图 4 可知,蛋白浓度对脱色率具有显著的影响,浓度从 50 mg/mL 时提高到 300 mg/mL 时,胶原肽的脱色率由 80.82%降至 43.40%。然而蛋白浓度对肽损失率的影响并不明显,基本稳定在 4.5%左右。综合考虑,选择蛋白浓度为 50 mg/mL。

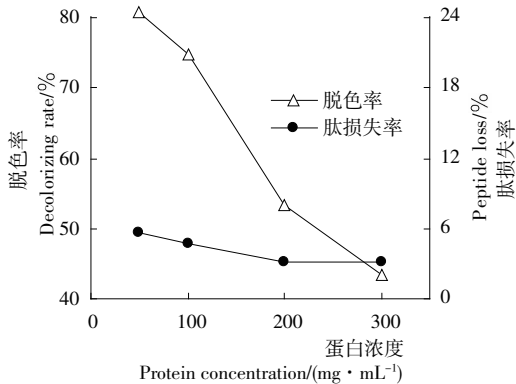


图 4 蛋白浓度对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 4 Effect of protein concentration on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

2.1.5 正交试验结果与分析 根据单因素试验结果,设计了活性炭脱色的正交试验的各因素水平见表 1,正交试验结果见表 2。

由表 2 可知:各因素对活性炭脱色率影响大小为:蛋白浓度>活性炭添加量>pH>时间,优化结果为:pH 4.5、活性炭添加量 2.00%、脱色时间 60 min、蛋白浓度 50 mg/mL。

表 1 活性炭脱色试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of decolorizing experiment with activated carbon

水平	A pH	B 活性炭添加量/%	C 时间/min	D 蛋白浓度/(mg · mL ⁻¹)
1	4.5	0.50	15	50
2	5.0	1.00	30	100
3	5.5	2.00	60	200

表 2 活性炭脱色正交试验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal tests for decolorizing conditions of activated carbon							
试验 编号	A	B	C	D	脱色率/ %	肽损失率/ %	综合评分/ %
1	1	1	1	1	75.00	5.65	84.68
2	1	2	2	2	76.85	5.85	85.50
3	1	3	3	3	73.15	7.46	82.85
4	2	1	2	3	46.30	3.63	71.34
5	2	2	3	1	84.26	6.85	88.71
6	2	3	1	2	77.78	6.65	85.57
7	3	1	3	2	58.33	1.61	78.36
8	3	2	1	3	50.93	5.04	72.95
9	3	3	2	1	89.81	12.7	88.56
脱 色 率	k_1	75.00	59.88	67.90	83.02		
	k_2	69.45	70.68	70.99	70.99	因素主次:	DBAC
	k_3	66.36	80.25	71.91	56.79	最优方案:	$A_1B_3C_3D_1$
	R	8.64	20.37	4.01	26.23		
肽 损 失 率	k_1	6.32	3.63	5.78	8.40		
	k_2	5.71	5.91	7.39	4.70	因素主次:	BDCA
	k_3	6.45	8.94	5.31	5.38	最优方案:	$A_2B_1C_3D_2$
	R	0.74	5.31	2.09	3.70		
综 合 评 分	k_1	84.34	78.13	81.07	87.32		
	k_2	81.87	82.39	81.80	83.14	因素主次:	DBAC
	k_3	79.96	85.66	83.31	75.71	最优方案:	$A_1B_3C_3D_1$
	R	4.39	7.53	2.24	11.60		

肽损失率影响大小为:活性炭添加量>蛋白浓度>时间>pH,优化结果为:pH 5.0、活性炭添加量 0.50%、脱色时间 60 min、蛋白浓度 100 mg/mL。

为进一步确定最佳试验方案,根据正交试验结果,以综合加权评分的方法对脱色率和肽损失率两项指标进行综合评分,得到各因素对活性炭总体脱色效果的影响与脱色率一致。验证实验($n=5$)表明,活性炭脱色效果最佳时,胶原肽的脱色率可以达到 $(92.66\pm1.99)\%$,肽损失率为 $(11.23\pm0.18)\%$,综合评分为 $(90.72\pm1.40)\%$ 。

2.2 大孔吸附树脂脱色工艺的优化

2.2.1 pH 值的影响 由图 5 可知,伴随 pH 的升高,胶原肽的脱色率与肽损失率都出现下降趋势,与活性炭类似。当 pH 为 5.0 时,胶原肽的脱色率为 42.74%,脱色效果不及活性炭。为了避免 pH 过低导致胶原肽的损失,选择 pH 为 5.0。

2.2.2 大孔吸附树脂添加量的影响 由图 6 可知,在 pH 5.0 下增加大孔吸附树脂添加量,胶原肽的脱色率与肽损失率都出现上升趋势,这与大孔树脂对海地瓜胶原多肽的脱色效果类似^[13]。以脱色率最高和肽损失率最小为目标,选择大孔吸附树脂添加量为 0.75%。

2.2.3 脱色时间的影响 由图 7 可知,随着脱色时间的延长,胶原肽脱色率与肽损失率都逐渐上升并趋向稳定,二者均在 45 min 时趋于稳定。因此,选用脱色时间为 45 min 考察蛋白浓度对胶原肽脱色效果的影响。

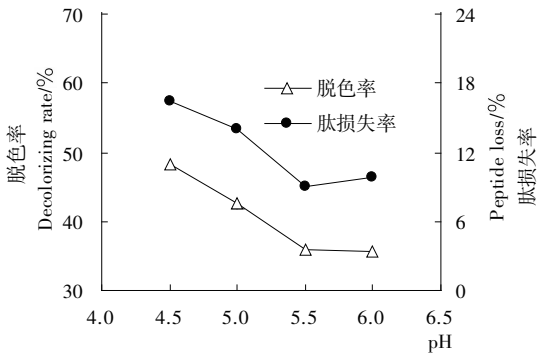


图 5 pH 对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 5 Effect of pH on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

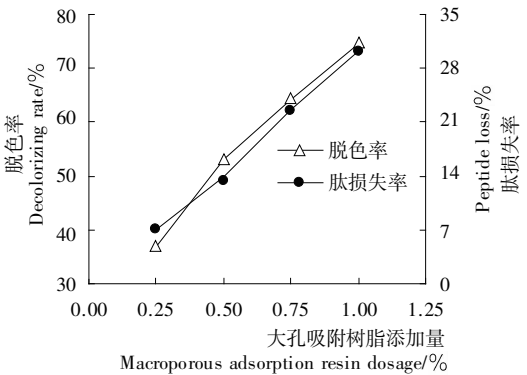


图 6 大孔吸附树脂添加量对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 6 Effect of macroporous adsorption resin dosage on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

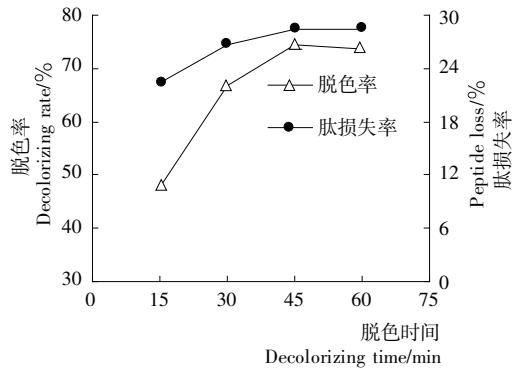


图 7 脱色时间对胶原肽脱色率和肽损失率的影响
Figure 7 Effect of decolorizing time on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

2.2.4 蛋白浓度的影响 由图 8 可知,当蛋白浓度从 50 mg/mL 提高到 300 mg/mL 时,胶原肽的脱色率从 77.04% 下降至 41.51%,然而蛋白浓度对肽损失率的影响并不明显,这与活性炭脱色效果(图 4)类似。因此,根据脱色效果,选择蛋白浓度为 50 mg/mL。

2.2.5 正交试验结果与分析 根据单因素试验结果,设计了大孔吸附树脂的正交试验的各因素水平见表 3,正交试验结果见表 4。

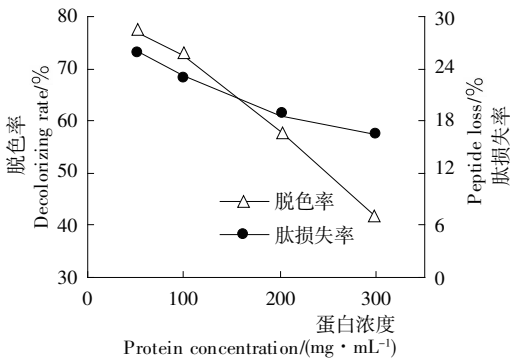


图 8 蛋白浓度对胶原肽脱色率和肽损失率的影响

Figure 8 Effect of protein concentration on the decolorizing rate and peptide loss of collagen peptides

表 3 大孔吸附树脂脱色正交试验因素与水平

Table 3 Factors and levels of decolorizing experiment with macroporous adsorption resin

水平	A pH	B 大孔吸附树脂 添加量/%	C 时间/ min	D 蛋白浓度/ (mg · mL ⁻¹)
1	4.5	0.50	30	50
2	5.0	0.75	45	100
3	5.5	1.00	60	200

由表 4 可知,各因素对大孔吸附树脂脱色率的影响大小为:蛋白浓度>大孔吸附树脂添加量>时间>pH,优化结果为 pH 4.5、大孔吸附树脂添加量 1.00%、脱色时间 45 min、蛋白浓度 50 mg/mL。各因素对肽损失率影响大小为:大孔吸附树脂添加量>蛋白浓度>时间>pH,优化结果为 pH 5.5、大孔吸附树脂添加量 0.50%、脱色时间 45 min、蛋白浓度为 200 mg/mL。

综合评分优化大孔吸附树脂最佳脱色条件,验证实验($n=5$)表明,大孔吸附树脂脱色率为 $(83.02\pm1.04)\%$,肽损失率为 $(30.77\pm0.41)\%$,综合评分为 $(76.13\pm0.41)\%$,结果表明大孔吸附树脂对胶原肽的脱色效果低于活性炭。

综上所述,不管是活性炭还是大孔吸附树脂,影响脱色率的主要因素都是蛋白浓度,而影响肽损失率的主要因素都是吸附材料的添加量。虽然胶原肽溶液中蛋白浓度越低,脱色效果越好,然而考虑到实际应用的生产成本,本试验将溶液中蛋白浓度的最低值设定为 50 mg/mL。

2.3 脱色工艺对胶原肽分子量分布的影响

利用 HPLC 对活性炭或大孔吸附树脂脱色前后罗非鱼皮胶原肽的分子量进行测定,并利用 GPC 软件对胶原肽分子量进行分段分析,结果见图 9 和表 5。由图 9 和表 5 可知,本研究制备的胶原肽其分子量分布在 150~2 000 Da,而且主要集中于 350 Da 和 1 400 Da 附近。其中,分子量小于 1 000 Da 的寡肽含量占总胶原肽的比例为 66.3%,高于 Julio 等^[21]利用鲨鱼皮制备的胶原肽。虽然 Wasswa 等^[22]制备的鲈鱼、草鱼和罗非鱼皮多肽中小于 1 000 Da 的组分占比达到

表 4 大孔吸附树脂脱色正交试验结果与分析

Table 4 Results and analysis of orthogonal tests for decolorizing conditions of macroporous adsorption resin

试验 编号	A	B	C	D	脱色率/ %	肽损失率/ %	综合评分/ %
1	1	1	1	1	63.73	20.32	71.71
2	1	2	2	2	67.65	24.96	71.35
3	1	3	3	3	58.82	27.45	65.69
4	2	1	2	3	42.16	14.97	63.60
5	2	2	3	1	73.53	28.16	72.69
6	2	3	1	2	70.59	29.23	70.68
7	3	1	3	2	56.86	18.18	69.34
8	3	2	1	3	50.00	18.54	65.73
9	3	3	2	1	79.41	32.09	73.66
脱 色 率	k_1	63.40	54.25	61.44	72.22		
	k_2	62.09	63.73	63.07	65.03	因素主次:	DBCA
	k_3	62.09	69.61	63.07	50.33	最优方案:	A ₁ B ₃ C ₂ D ₁
	R	1.31	15.36	1.63	21.90		
肽 损 失 率	k_1	24.24	17.82	22.70	26.86		
	k_2	24.12	23.89	24.01	24.12	因素主次:	BDCA
	k_3	22.94	26.59	24.60	20.32	最优方案:	A ₃ B ₁ C ₁ D ₃
	R	1.31	11.77	1.90	6.54		
综 合 评 分	k_1	69.58	68.22	69.37	72.69		
	k_2	68.99	69.92	69.54	70.46	因素主次:	DBAC
	k_3	69.57	70.01	69.24	65.01	最优方案:	A ₁ B ₃ C ₂ D ₁
	R	0.59	1.79	0.30	7.68		

78%左右,但其中含有大量游离氨基酸,分子量分布比较分散。相对氨基酸及大分子多肽,寡肽不仅易于人体吸收代谢,而且具有更高的生物活性^[6-9]。因此,本研究制备的胶原肽具有良好的应用价值。

利用活性炭对鱼皮胶原肽进行脱色后,在 HPLC 图谱中 1 400 Da 的波峰没有发现明显的变化,但 350 Da 的波峰却转变成 310 Da。通过分析分子量分布的变化,发现经过活性炭脱色后,500~1 000 Da 的胶原肽组分含量的占比明显减少的同时,1 500 Da 以上的胶原肽组分含量也出现一定程度地减少,表明这些组分容易被活性炭吸附脱除。另一方面,利用大孔吸附树脂对鱼皮胶原肽进行脱色时,500~1 000 Da 的胶原肽组分含量的减少比例明显低于活性炭脱色的样品。这个结果与脱色效果(表 2 和表 4)趋势一致。据报道,活性炭在脱色过程会吸附一定量的氨基酸^[23],而大孔吸附树脂除了吸附游离氨基酸外,对肽分子也有较强的吸附作用^[24]。而且,Wasswa 等^[10]研究发现当草鱼鱼皮酶解液中分子量为 500~1 000 Da 组分所占比例升高时,酶解液的颜色会加深。因此,可推测分子量在 500~1 000 Da 的组分可能是影响胶原肽颜色的主要因素。

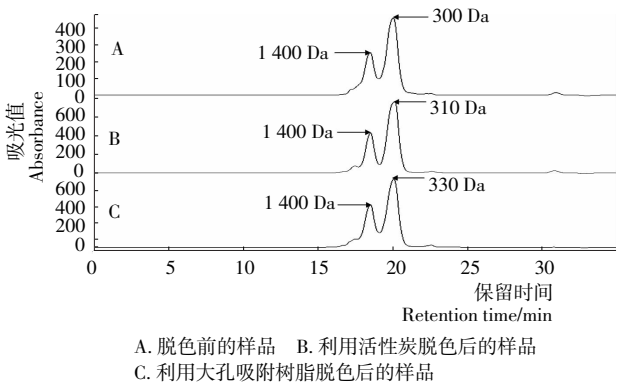


图 9 胶原肽高效液相凝胶色谱图

Figure 9 SE—HPLC of collagen peptides

表 5 脱色工艺对胶原肽分子量分布的影响

Table 5 Effect of decolorizing on the molecular weight distribution of collagen peptides						%
样品	分子量					
	<150 Da	150~500 Da	500~1 000 Da	1 000~1 500 Da	1 500~2 000 Da	>2 000 Da
A	1.3	46.9	18.1	15.3	12.2	6.2
B	1.3	51.9	14.5	15.3	11.1	5.9
C	1.1	46.4	16.2	16.3	12.3	7.7

2.4 脱色工艺对胶原肽氨基酸组成的影响

脱色工艺对胶原肽氨基酸含量的影响见表 6。由表 6 可知,吸附前酶解液中氨基酸含量为 568.7 mmol/L。经活性炭

表 6 脱色工艺对胶原肽氨基酸含量的影响[†]

Table 6 Effect of decolorizing on the amino acid content of collagen peptides					
氨基酸	吸附前	氨基酸含量/(mmol·L ⁻¹)			
		活性炭 脱色后	Δ/%	大孔吸附树脂 脱色后	Δ/%
天冬氨酸(Asp)	24.8	22.0	11.34	18.8	24.31
苏氨酸(Thr)	11.8	10.8	8.99	8.8	25.93
丝氨酸(Ser)	17.1	15.5	8.97	13.1	23.44
谷氨酸(Glu)	39.8	35.1	11.71	29.8	24.92
甘氨酸(Gly)	189.5	161.2	14.97	139.7	26.28
丙氨酸(Ala)	65.2	47.3	27.46	41.8	35.89
缬氨酸(Val)	11.1	7.5	32.30	6.6	41.01
蛋氨酸(Met)	5.4	4.9	9.36	4.3	21.39
异亮氨酸(Ile)	5.1	3.7	26.99	3.3	34.36
亮氨酸(Leu)	11.1	9.2	16.84	10.2	8.19
酪氨酸(Tyr)	2.4	0.6	74.36	0.5	80.77
苯丙氨酸(Phe)	9.1	4.1	54.48	5.4	40.69
赖氨酸(Lys)	13.4	11.5	13.79	9.2	31.54
组氨酸(His)	25.4	1.2	95.28	1.7	93.24
精氨酸(Arg)	30.2	26.3	12.75	21.0	30.36
脯氨酸(Pro)	80.5	63.9	20.57	60.8	24.53
羟脯氨酸(Hyp)	26.8	21.6	19.55	23.5	12.29
半胱氨酸(Cys)	0	0	0	0	0
合计	568.7	446.5	—	398.3	—

[†] Δ表示活性炭和大孔吸附树脂脱色前后胶原肽氨基酸损失的摩尔数百分比^[24]。

脱色后,氨基酸含量减少 21.48%,而经大孔吸附树脂脱色后,氨基酸含量减少 29.96%,表明大孔树脂对极性氨基酸吸附量略高于活性炭。研究发现,活性炭对芳香族氨基酸具有较强的吸附作用^[25];而大孔吸附树脂通过疏水相互作用对色素及蛋白质进行吸附的同时,其本身的多孔性结构还会保留部分多肽^[24,26]。因此,利用大孔吸附树脂脱色容易吸附极性氨基酸,导致胶原肽氨基酸损失率高于活性炭。

3 结论

在单因素试验基础上,通过正交试验分别获得罗非鱼皮胶原肽的活性炭和大孔吸附树脂脱色的最优条件,活性炭的脱色效果明显优于大孔吸附树脂。通过比较脱色前后胶原肽的分子量分布发现,500~1 000 Da 组分可能是影响胶原肽颜色的主要因素。经活性炭或大孔吸附树脂脱色后,胶原肽中氨基酸含量均减少,但利用大孔吸附树脂脱色会使胶原肽氨基酸损失率更高。本研究结果将为胶原肽的脱色工艺优化提供理论基础,有助于提高鱼胶原肽产品品质和扩大其应用范围。

参考文献

- 1 中华人民共和国农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴 2014[Z]. 北京: 中国农业出版社, 2014.
- 2 Nagai T, Suzuki N. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins [J]. Food Chemistry, 2000, 68 (3): 277~281.
- 3 Alemán A, Pérez-Santín E, Gómez-Guillén M C, et al. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity [J]. Food Research International, 2011, 44 (4): 1 044~1 051.
- 4 Xu Ya-jun, Han Xiao-long, Li Yong. Effect of marine collagen peptides on long bone development in growing rats [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90 (9): 1 485 ~ 1 491.
- 5 杨国燕, 陈栋梁, 陈龙, 等. 胶原三肽的抗氧化功能研究 [J]. 食品与机械, 2010, 26 (6): 75~78.
- 6 李勇. 生物活性肽研究现况和进展 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33 (1): 3~9.
- 7 冯秀燕, 计成. 寡肽在蛋白营养中的作用 [J]. 动物营养学报, 2001, 13 (3): 8~13.
- 8 励建荣, 封平. 功能肽的研究进展 [J]. 食品科学, 2004, 25 (11): 415~419.
- 9 贺光祖, 谭碧娥, 肖昊, 等. 肠道小肽吸收利用机制及其营养功能 [J]. 动物营养学报, 2015, 27 (4): 1 047~1 054.
- 10 Wasswa J, Tang Jian, Gu Xiao-hong, et al. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (Ctenopharyngodon idella) skin [J]. Food Chemistry, 2007, 104 (4): 1 698~1 704.
- 11 郑拯. 胶原蛋白肽 [J]. 明胶科学与技术, 2009, 29 (4): 195~201.
- 12 熊燕飞, 陈怀新. H₂O₂ 用于蛋白水解物脱色的研究 [J]. 江汉大学学报(医学版), 2002, 30 (3): 9~11.

(下转第 259 页)

from the laboratory to commercial production[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2008, 9(2): 147~154.

13 梁汉华, 杨汝德. 超声处理大豆浆体对提高蛋白质和固形物萃取率的作用[J]. 中国乳品工业, 1998, 26(3): 7~11.

14 王小英, 李娜. 超声处理对大豆蛋白溶解性及蛋白组分的影响[J]. 中国油脂, 2009, 34(4): 31~34.

15 时冬梅, 陈复生, 刘海远, 等. 响应面法优化超声波辅助含酶反胶束体系后萃大豆蛋白的研究[J]. 食品科技, 2011, 36(3): 183~188.

16 高亚辉, 陈复生, 赵俊廷. 反胶束萃取大豆蛋白后萃过程的动力学研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(7): 206~211.

17 Zhu Ke-xue, Sun Xiao-hong, Zhou Hui-ming. Optimization of ultrasound-assisted extraction of defatted wheat germ proteins by reverse micelles [J]. Journal of Cereal Science, 2009, 50(2): 266~271.

18 熊柳, 孙高飞, 王建化, 等. 花生分离蛋白的超声波制取工艺[J]. 中国油脂, 2009, 34(2): 20~23.

19 朱建华, 邹秀容, 罗红. 稻谷加工业副产物碎米中蛋白的超声提取工艺研究[J]. 江西农业学报, 2013(1): 106~108.

20 朱建华, 杨晓泉. 超声处理对大豆蛋白分子结构的影响[J]. 粮油加工, 2010, 7(4): 39~42.

21 Wang Li-chuan. Soybean protein agglomeration: promotion by ultrasonic treatment [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1981, 29(1): 177~180.

22 朱建华, 杨晓泉, 熊健. 超声处理对大豆蛋白表面性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(3): 16~20.

23 Jambrak A R, Lelas V, Mason T J, et al. Physical properties of ultrasound treated soy proteins[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 93(4): 386~393.

24 韦小英. 超声处理对大豆蛋白膜性能和微观结构的影响[J]. 食品科技, 2006, 31(10): 55~58.

25 张海华, 朱科学, 周惠明. 超声波对小麦面筋蛋白结构的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(22): 4 687~4 693.

26 Hu Hao, Wu Jia-hui, Li-Chan E C Y, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 647~655.

27 孙冰玉, 石彦国. 超声波对醇法大豆浓缩蛋白乳化性的影响[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(4): 60~63.

28 孙冰玉, 石彦国. 超声波对醇提大豆浓缩蛋白起泡性的影响[J]. 中国食品学报, 2007, 6(6): 100~104.

29 Jambrak A R, Mason T J, Lelas V, et al. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 121: 15~23.

30 Jambrak A R, Mason T J, Lelas V, et al. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 86(2): 281~287.

31 张涛, 魏安池, 郑华丽, 等. 醇法芝麻浓缩蛋白的超声波改性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2013, 34(1): 26~30.

32 Hu Hao, Fan Xin, Zhou Zhi, et al. Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1): 187~195.

33 朱建华, 杨晓泉, 熊健. 超声处理对大豆分离蛋白热致凝胶功能性质的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(1): 15~20.

34 罗华. 超声波对葡萄酒微生物活性影响及部分相关基因表达水平研究[D]. 陕西: 西北农林科技大学, 2013.

(上接第 217 页)

13 张翠玉, 王彦超, 薛长湖, 等. 大孔树脂对海地瓜多肽脱色工艺的研究[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(7): 77~80.

14 吕振磊, 王雨生, 修方珑, 等. 活性炭对紫贻贝蛋白酶解液脱色效果的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 32~36.

15 郭玉华, 李钰金, 吴新颖, 等. 鲑鱼皮胶原蛋白肽酶解液脱色脱腥工艺的研究[J]. 中国食品添加剂, 2010(4): 125~128.

16 王芙蓉, 黄文, 陈红秀, 等. 谷氨酸菌体蛋白酸水解及脱色工艺研究[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 155~158.

17 扈瑞平, 敖长金, 杜玲, 等. 沙葱多糖活性炭脱色工艺的研究[J]. 科学技术与工程, 2010, 34(10): 8 380~8 383.

18 Gu Rui-zeng, Li Chen-yue, Liu Wen-ying, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of low-molecular-weight peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) skin[J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1 536~1 540.

19 张毅, 华欲飞, 孔祥珍, 等. 活性炭对大豆多肽脱色效果的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2010(8): 31~33.

20 Ma Yong-sheng, Wang Lin-tong, Sun Xian-hui, et al. Study on soybean polypeptide refining process[J]. Advanced Materials Research, 2013, 652~654: 439~442.

21 Julio C, Rodríguez-Díaz, Louise E K, et al. Optimization of the enzymatic hydrolysis of Blue shark skin[J]. Journal of Food Science. 2011, 76(7): C938~C949.

22 Wasswa J, Tang Jian, Gu Xiao-hong. Functional properties of Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), Nile perch (*Lates niloticus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin hydrolysates [J]. International Journal of Food Properties, 2008, 11(2): 339~350.

23 陈瑞峰, 陈璐, 陈廷登. 用活性碳分离纯化苯丙氨酸与酪氨酸的研究[J]. 浙江工业大学学报, 2006, 34(4): 373~376.

24 赵谋明, 任娇艳, 崔春, 等. 大孔吸附树脂静态吸附草鱼蛋白水解物中氨基酸的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(4): 22~26.

25 王喜波, 迟玉杰, 孙波. 活性炭吸附分离芳香族氨基酸的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(1): 62~64.

26 程云辉, 王璋, 许时婴. 大孔吸附树脂对麦胚肽的吸附特性研究[J]. 食品与机械, 2005, 21(6): 7~12.