

响应面法优化狭鳕鱼鱼皮酸溶性胶原蛋白的提取工艺*

Optimization of Extraction Process of Acid-soluble Collagen from the Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) by Response Surface Methodology

李 晓, 李红艳, 王 颖**, 刘天红, 吴志宏, 孙元芹

LI Xiao, LI Hongyan, WANG Ying, LIU Tianhong, WU Zhihong, SUN Yuanqin

(山东省海洋生物研究院, 山东青岛 266100)

(Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao, Shandong, 266100, China)

摘要:【目的】优化狭鳕鱼(*Theragra chalcogramma*)鱼皮中酸溶性胶原蛋白的提取工艺,为实际生产提供工艺数据和理论依据。【方法】在乙酸浓度、提取时间和料液比的单因素实验基础上,以酸溶性胶原蛋白提取率为响应值,采用 Box-Behnken 设计实验,建立提取率的二次多项式回归模型,考察 3 个因素对提取率的影响。【结果】对酸溶性胶原蛋白提取率的影响为料液比>提取时间>乙酸浓度;交互项中“料液比-提取时间”项对提取率影响极其显著,“料液比-乙酸浓度”项对提取率影响显著,其他交互项对提取率影响不显著;通过实验数据结合回归模型进行数学分析,得到提取狭鳕鱼鱼皮酸溶性胶原蛋白的最佳工艺参数为乙酸浓度 0.5 mol/L、提取时间 40 min、料液比 1:9。在优化参数条件下,酸溶性胶原蛋白提取率的理论预测值为 20.53%,实测值为 20.10%;试验提取得到的胶原蛋白电泳图谱较为清晰,无杂条带出现。【结论】该回归模型合理可行,提取的产物基本保持了胶原蛋白的原有结构。

关键词:狭鳕鱼 鱼皮 酸溶性胶原蛋白 响应面法

中图分类号:S985.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-7378(2016)04-0250-08

Abstract:【Objective】Walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) is one of the commercial fish species in China. The skin of pollock is usually dumped without utilization, which would cause environment pollution and resource waste. The main component of pollock skin is collagen. For effective use of the dumped skin to prepare collagen, it is necessary to obtain fundamental information about the pollock skin collagen. 【Methods】In this research, on the basis of one-factor-at-a-time experiments, a Box-behnken design experiment was used to evaluate the optimal extraction conditions of acid-soluble collagen from the walleye pollock skin. The concentration of acid, solid-to-liquid ratio and extraction time were the three test factors and the extraction rate of collagen was the target parameter. Response surface methodology was used to describe the influence of the three factors on the extraction rate of collagen and aquadratic

polynomial regression model was developed to optimize the extraction conditions. 【Results】The order of the factors influence was: Solid-to-liquid ratio > extraction time > concentration of acid. The interaction between the solid-to-liquid ratio and extraction time had a extremely significant effect on the collagen extraction rate, interaction between the solid-to-liquid ratio and concentra-

收稿日期: 2016-09-30

作者简介: 李 晓(1985—),女,助理研究员,主要从事水产品加工与安全研究, E-mail: lixiaohappy9@163.com.

* 国家海洋局公益性项目(201205027-3)资助。

** 通信作者: 王 颖(1971—),女,研究员,主要从事水产养殖及水产品加工研究, E-mail: food_rc@sina.com.

tion of acid had a significant effect on the collagen extraction rate, while other interactions had no significant effect. Through the experiment combined with regression model, the specific parameters were: The concentration of acid was 0.5 mol/L, the extraction time was 40 min, and the solid-to-liquid ratio was 1 : 9. Under these conditions, the extraction rate was 20.10%, which was similar to the theoretical value (20.53%) predicted by the regression model. The SDS-PAGE pattern was clear. **【Conclusion】**The regression model was reasonable and feasible. The collagen was of good purity and maintained its original structure.

Key words: walleye pollock, fishskin, acid-soluble collagen(ASC), response surface methodology

0 引言

【研究意义】胶原是一类重要的结构蛋白,广泛分布于动物的骨骼、皮肤、结缔组织和软骨等部位^[1],胶原的水解产物被称为胶原蛋白,变性产物俗称明胶,明胶、胶原蛋白统称为胶原蛋白^[2]。胶原分子呈现三螺旋构型,其非螺旋部位的范围和分布决定了胶原蛋白的不同类型,而不同类型的胶原蛋白具有不同的生物活性,使其在美容、食品和医药等不同领域具有广泛的应用^[3-5]。近年来,胶原蛋白的市场需求量逐年增加,而陆地畜源胶原蛋白主要局限于猪皮及牛皮,由于疯牛病、口蹄疫等安全性原因及宗教原因,世界各国都在寻找应用更加广泛的水产胶原蛋白源^[6]。狭鳕鱼(*Theragra chalcogramma*)属于鳕形目(Anacanthini),鳕鱼科(Gadidae),狭鳕属(*Theragra*)^[7],目前多用于加工冻鱼片,加工过程中产生的大量鱼皮、鱼骨等往往作为饲料原料处理,利用率较低,又由于这些副产物胶原蛋白含量高且安全,是较好的水产胶原蛋白来源,如果能有效利用该资源,可产生巨大的经济效益。**【前人研究进展】**Yan等^[8]发现狭鳕鱼片胶原蛋白属于I型胶原蛋白,在228 nm波长处有最大吸收值,谭洪亮等^[9]研究表明金枪鱼(*Katsuwonus pelamis*)鱼骨胶原蛋白肽具有良好的抗氧化活性,可以用于相关功能食品、药品或食品添加剂,邓晓龙等^[10]研究表明秘鲁鱿鱼(*Dosidicus gigas*)真皮胶原蛋白最大吸收波长在228 nm处,盐浓度达到2.0%以上时,相对溶解度迅速下降至4.23%。**【本研究切入点】**响应面法设计是回归试验设计的一种,既可以用于分析实验中各因子间的交互影响,又可以用来建立准确合理的数学模型,更好地处理数据^[11]。本研究以狭鳕鱼鱼皮为原料,利用乙酸提取酸溶性胶原蛋白,在单因素实验基础上,采用响应面法优化提取条件,通过Box-Behnken试验设计,确定多因素系统的最佳条件。

【拟解决的关键问题】在评价各因素对响应值的影响及其交互作用的同时,优化酸溶性胶原蛋白的提取,获得最佳条件,为实际生产提供工艺数据和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

狭鳕鱼鱼皮由青岛奥海生生态生物有限公司提供,洗净,控水,4℃冷藏备用;Premixed Protein Marker(Board)为TaKaRa产品(大连宝生生物);其他试剂均为分析纯。UV2450型分光光度计(日本岛津);Avanti J-26XP系列高效离心机(美国贝克曼);EPS-600电泳仪(上海天能)。

1.2 方 法

1.2.1 预 处 理

洗净的鱼皮加入0.1 mol/L的NaOH溶液浸泡24 h除去杂质蛋白和色素,洗至中性,匀浆,备用。

1.2.2 酸 溶 性 胶 原 蛋 白 质 制 备

取预处理的鱼皮浆,按照实验设计的料液比、乙酸浓度和时间浸提,经4℃、11 400×g离心30 min,上清液逐渐添加研细的NaCl,控制加入NaCl的质量,至溶液中最终浓度为2.6 mol/L,呈絮状物析出的沉淀即为胶原蛋白。4℃、11 400×g离心30 min,沉淀物以0.5 mol/L的乙酸溶液复溶,依次以0.1 mol/L的乙酸透析1 d,蒸馏水透析2 d,透析后的液体经冷冻干燥,即可得到酸溶性胶原蛋白^[12]。

1.2.3 胶 原 蛋 白 质 提 取 率 测 定

羟脯氨酸(Hydroxyproline, Hyp)是胶原蛋白的特征性氨基酸,其含量乘以换算系数即为提取液中胶原蛋白含量^[13]。

标准曲线的绘制^[14]:配制羟脯氨酸储备液(1 mg/mL),之后稀释储备液得到标准溶液(10 μg/mL),取标准溶液0.0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6

mL、0.8 mL 和 1.0 mL, 分别以 0.001 mol/L 的 HCl 补足至 1 mL, 加入 2 mL 氯胺 T 溶液, 混匀, 室温静置 20 min, 之后加入 2 mL 高氯酸溶液, 混匀室温静置 5 min, 再加入对二甲基氨基苯甲醛溶液 2 mL, 混匀, 60℃ 加热 20 min 显色, 流水冲冷, 以空白液调零, 在 560 nm 处测定各自吸光度(A)值, 绘制标准曲线。

样品测定: 按照实验设计的料液比、浓度和时间, 经乙酸 4℃ 浸提离心的样品上清液 1 mL 于安瓿瓶中, 加入 1 mL 6 mol/L 的 HCl, 130℃ 水解 3 h, 上清液按照文献[14]方法测定羟脯氨酸含量。

$$\text{胶原蛋白提取率} = \frac{C \times V}{m} \times 100\%$$

式中, m 表示狭鳕鱼鱼皮中羟脯氨酸的质量(g); C 表示提取液中羟脯氨酸的浓度(g/mL); V 表示提取液的体积(mL)。

1.2.4 单因素实验

准确称取鱼皮浆 20 g, 经过 0.1 mol/L NaOH 预处理, 选取乙酸浓度、提取时间和料液比(W/V)为单因素, 以提取液中羟脯氨酸含量为提取率指标, 每组实验重复 3 次, 取平均值。

(1) 乙酸浓度 固定料液比为 1:10, 4℃ 提取 24 h, 乙酸浓度分别为 0.2 mol/L、0.3 mol/L、0.4 mol/L、0.5 mol/L、0.6 mol/L、0.7 mol/L 和 0.8 mol/L, 确定最佳乙酸浓度。

(2) 提取时间 固定料液比为 1:10, 以 0.5 mol/L 乙酸浸提, 4℃ 提取, 提取时间分别为 6 h、12 h、24 h、48 h 和 96 h, 确定最佳提取时间。

(3) 料液比 以 0.5 mol/L 乙酸浸提, 4℃ 下提取 48 h, 料液比分别为 1:5、1:10、1:15、1:20 和 1:50, 确定最佳料液比。

1.2.5 响应面法优化设计实验

采用响应面法中的 Box-Behnken 设计^[15-16], 以酸溶性胶原蛋白的提取率(Y)为响应值, 选取乙酸浓度(A)、提取时间(B)和料液比(C)做三因素三水平的响应面实验设计, 利用 Design Expert 8.0 进行数据分析, 建立二次响应面模型, 寻找最佳的提取工艺条件。

1.2.6 胶原蛋白的鉴定

采用 SDS-PAGE 电泳鉴定胶原蛋白, 取 1.2.2 节制备的酸溶性胶原蛋白冷冻干燥样品溶于 0.5 mol/L 的乙酸溶液(浓度 1~2 mg/mL), 以 NaOH 溶液调节 pH 值至中性。分离胶 8%、浓缩胶 5%, 上样量 20 μ L, 采用直流恒压电源(电压 200

V)电泳 40 min, 考马斯亮蓝 R-250 染色 20 min 后脱色, 观察染色条带^[17]。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 乙酸浓度的影响

在乙酸 0.2~0.4 mol/L 浓度区间内, 随乙酸浓度的增加, 酸溶性胶原蛋白的提取率也升高; 在 0.4~0.8 mol/L 浓度区间内, 随乙酸浓度的增加, 提取率下降; 当乙酸浓度为 0.4 mol/L 时, 提取率最大(图 1), 因此最佳乙酸浓度为 0.4 mol/L。

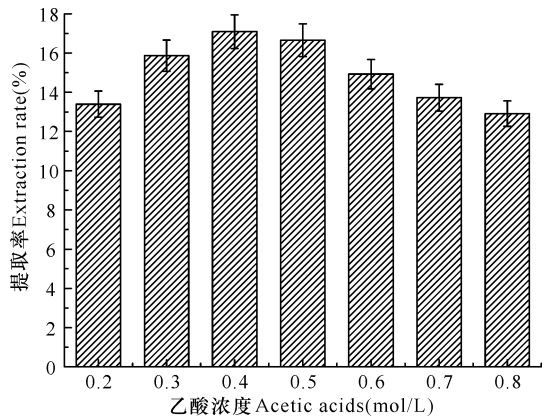


图 1 乙酸浓度对酸溶性胶原蛋白提取率的影响

Fig. 1 Effect of concentration on the extraction yield

2.1.2 提取时间的影响

随提取时间的延长, 酸溶性胶原蛋白提取率增加, 48 h 内提取率增加较快, 超过 48 h, 提取率增加不显著(图 2), 因此 48 h 为最佳提取时间。

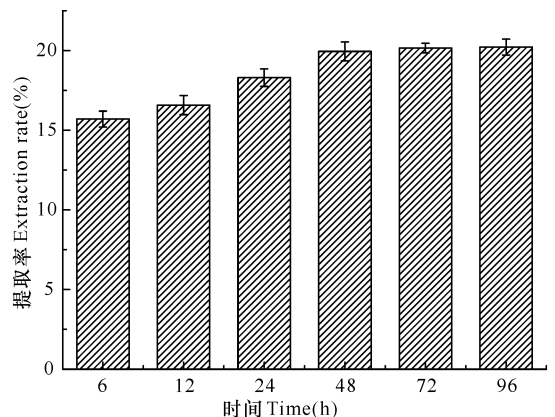


图 2 提取时间对酸溶性胶原蛋白提取率的影响

Fig. 2 Effect of time on the extraction yield

2.1.3 料液比的影响

随料液比增加, 酸溶性胶原蛋白提取率逐渐增加, 当料液比达到 1:10 时, 提取率最大, 之后料液比增加, 提取率不再增加(图 3), 因此确定最佳料液比为 1:10。

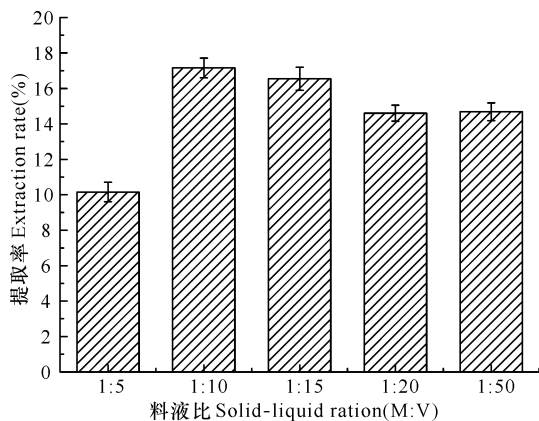


图3 料液比对酸性胶原蛋白提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid-to-liquid on the extraction yield

2.2 响应面法优化结果

2.2.1 模型及显著性检验

采用中心组合设计,得到 17 个实验点,其中 12 个析因点,5 个零点(估计误差)。析因点为自变量取值在 A、B、C 所构成的三维顶点,零点为区域的中心点(表 1)。

表 1 酸性胶原蛋白提取工艺 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 1 Box-Behnken design and result

序号 Test number	因素 Factor			Y (%)
	A	B	C	
1	0.40	40	0.10	13.67
2	0.50	40	0.10	20.10
3	0.40	50	0.10	16.57
4	0.50	50	0.10	15.23
5	0.40	45	0.08	17.74
6	0.50	45	0.08	17.98
7	0.40	45	0.12	13.37
8	0.50	45	0.12	18.01
9	0.45	40	0.08	17.32
10	0.45	50	0.08	16.76
11	0.45	40	0.10	18.21
12	0.45	50	0.12	15.30
13	0.45	45	0.10	19.38
14	0.45	45	0.10	20.48
15	0.45	45	0.10	19.33
16	0.45	45	0.10	18.76
17	0.45	45	0.10	19.33

为检验方程的可靠性,对方程进行方差分析,结果见表 2。

表 2 提取工艺回归模型方差分析

Table 2 Variance analysis for the regression model

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean of aquare	P	显著性 Significance
模型 Model	68.042 01	9	7.560 223	0.000 9	**
A	12.425 11	1	12.425 11	0.001 8	*
B	3.699 2	1	3.699 2	0.032 0	*
C	3.013 513	1	3.013 513	0.046 8	*
AB	15.093 23	1	15.093 23	0.001 0	**
AC	4.84	1	4.84	0.018 5	*
BC	1.380 625	1	1.380 625	0.147 0	
A ²	10.684 84	1	10.684 84	0.002 7	*
B ²	9.104 717	1	9.104 717	0.004 1	*
C ²	4.984 185	1	4.984 185	0.017 4	*
残差 Residual	3.633 895	7	0.519 128		
失拟项 Lack of fit	2.063 375	3	0.687 792	0.294 8	
纯误差 Pure error	1.570 52	4	0.392 63		
总和 Total	71.675 91	16			

注: $P \leq 0.05$, 模型或考察因素有显著影响, 用 * 表示; $P \leq 0.01$, 模型或考察因素有极其显著影响, 用 ** 表示

Note: $P \leq 0.05$ indicate significant difference(*), $P \leq 0.01$ indicate extremely significant difference(**)

根据表 2 结果,对数据进行多元回归拟合,得到回归方程为

$$Y = 19.46 + 1.25 * A - 0.68 * B - 0.61 * C - 1.94 * A * B + 1.10 * A * C - 0.59 * B * C - 1.59 * A^2 - 1.47 * B^2 - 1.09 * C^2,$$

A、B、C 均为编码值。

对回归方程进行显著性分析,可知失拟项 P 不显著($0.294 8 > 0.05$),表明该回归模型的预测值与

实际值拟合较好。模型 $P < 0.01$, 表明该模型极其显著,实验方法准确可行,所选的二次回归模型用于模拟提取过程的三因素三水平有效。在所选的各因素水平范围内,对结果的影响排序为料液比 > 提取时间 > 乙酸浓度(由 P 值可知)。模型 $R^2 = 94.93\%$ ($> 90\%$),说明各因素存在线性相关,拟合程度良好,试验误差小。因此,可以采用该模型分析和预测不同条件下的提取率。

方程中 A、B、C 对提取率的影响均显著，二次项影响也显著，交互项 AB 作用极其显著，AC 作用显著，说明乙酸浓度、提取时间和料液比对提取率的影响不是简单的线性关系，二次项和交互项对提取率也有影响。

2.2.2 响应面分析

根据三维立体图对任何两个因素的交互作用及

各因素对响应值的影响进行分析，确定最佳因素水平(图 4)。响应面三维图等高线的形状可反应交互项影响的强弱，椭圆形表明两者交互作用显著，越接近圆形表示两因素的交互作用越弱^[18]。等高线呈椭圆形，表明提取时间与乙酸浓度、料液比与乙酸浓度、料液比与提取时间交互作用均比较明显(图 4)。

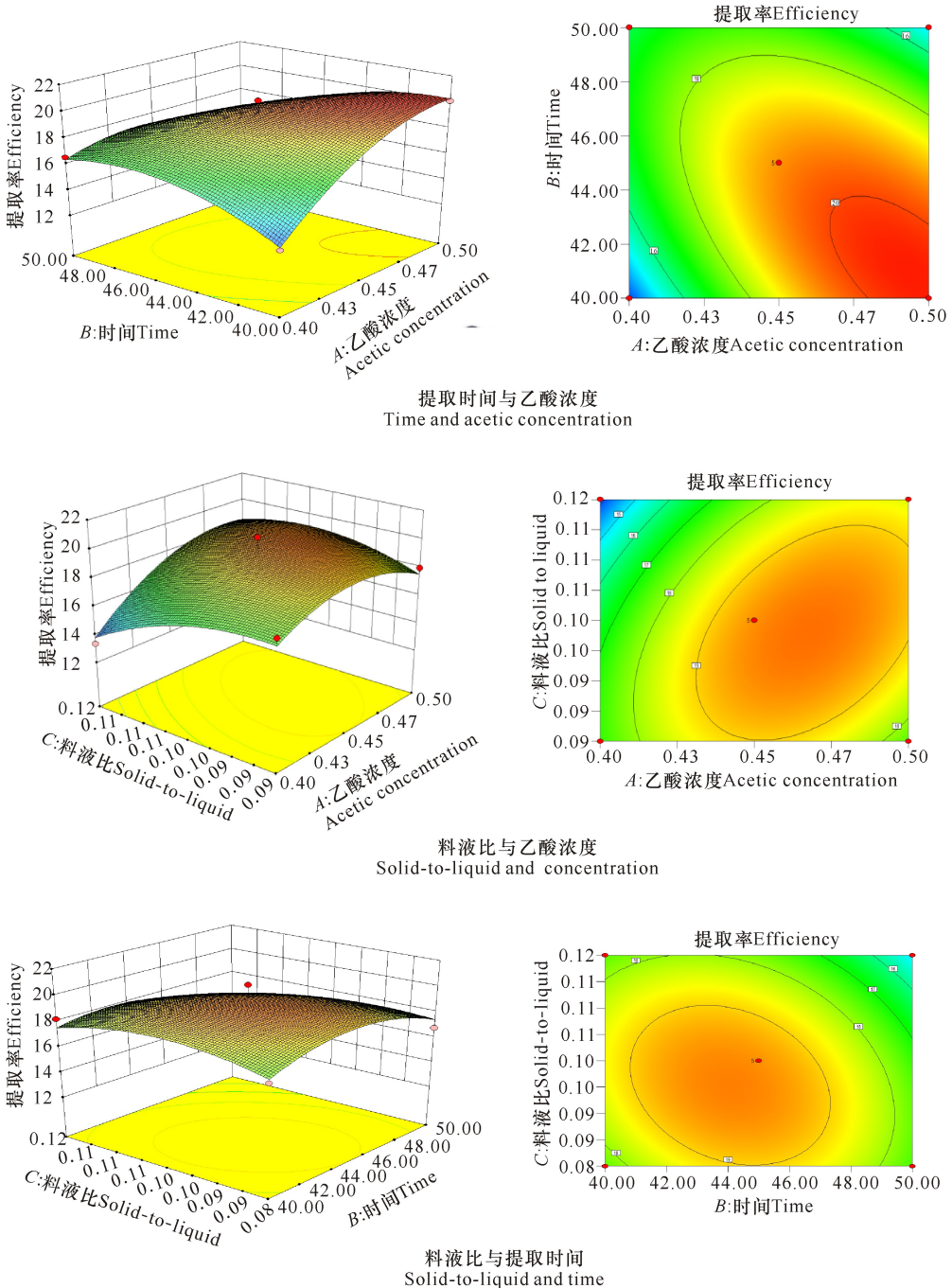


图 4 两因素交互作用对酸溶性胶原蛋白提取率的影响

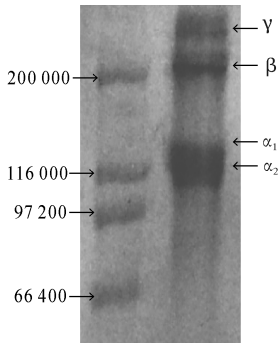
Fig. 4 Response surface plot for interactive effects on the extraction efficiency

2.2.3 提取工艺最佳条件

优化分析后,确定最佳的乙酸提取狭鳕鱼鱼皮酸溶性胶原蛋白的工艺参数为乙酸浓度 0.5 mol/L,提取时间 40 min,料液比 1:9,在此参数条件下,提取率的理论预测值为 20.53%,实际测得提取率为(20.10±1.25)%,表明该模型合理可行。

2.3 胶原蛋白结构

狭鳕鱼鱼皮的酸溶性胶原蛋白至少由两条 α 链(α_1 和 α_2)组成, β 链含量较高,并含有少量的 γ 链(图 5)。



1:蛋白质标准品;2:酸溶性胶原蛋白

1:Premixed protein marker;2:Acid-soluble collagen

图 5 酸溶性胶原蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig. 5 SDS-PAGE patterns of ASC

3 讨论

3.1 酸溶性胶原蛋白的提取率

本研究中狭鳕鱼鱼皮酸溶性胶原蛋白的提取率为 20.10%,要高于赵海英等^[19]的提取率(19.3%),与其他原料来源的研究提取率也不尽相同,这可能与原料种类、温度、羟脯氨酸换算系数、液料比、pH 值及时间等因素有关^[20-22],对本研究结果来说,提取温度及换算系数影响较大。水产胶原一般在 25℃左右即开始变性,因此,为保证生理活性,胶原的提取及前处理都在低于 10℃下的环境下进行^[22]。本试验在 4℃下进行,得到的酸溶性胶原蛋白实际上应该是胶原,赵海英等^[19]对鳕鱼皮胶原蛋白的提取温度为 37℃,产物应为胶原蛋白,因此,两者提取率不同。而李莉等^[22]在提取大鲵胶原蛋白时,空白试验(未添加酶)提取率为 28.88%,添加胃蛋白酶后提取率可达到 66.99%,说明酶的添加能显著提高提取率,但此情况下产物不再是单一胶原,而成为胶原、胶原蛋白及明胶的混合物,高于本研究结果。朱文学等^[14]采用响应面法优化提取黄河鲤鱼酸溶性胶原蛋白的提取率为 15.89%,低于本研究结果,可能是由于原料种类存

在差异;李八方等^[23]在 4℃下提取胡子鲶鱼酸溶性胶原蛋白的提取率为 20.32%,温度与本实验一致,胶原蛋白的提取率也与本实验较为接近。另外,羟脯氨酸与胶原蛋白之间不同的换算系数也会导致各研究中提取率有所不同。来自不同原料、不同组织、不同部位的胶原蛋白中羟脯氨酸的含量互不相同,因而两者之间的换算系数会因为原料、组织、部位等因素而不能采用单一数值。一般情况下,陆生动物的常用换算系数为 7.1,而水生动物采用 11.1 或 14.1。也有报道采用其他系数的,例如 Nalinanon 等^[24]采用 7.7 作为换算系数,而张帅等^[25]采用 14.7。Nalinanon 等^[24]研究鲷鱼的胶原蛋白提取率仅为 9.86%,远低于本试验结果,而张帅等^[25]研究罗非鱼的胶原蛋白提取率为 30.30%,要高于本实验结果。这就造成了换算系数不一致使得提取率难以比较,较低的换算系数会导致最终提取率数值偏低,而较高的换算系数提取率数值会偏高。

3.2 酸溶性胶原蛋白的结构

本研究中 α_1 和 α_2 所测相对分子质量约为 110 000 和 105 000,稍小于罗非鱼^[26](α_1 和 α_2 分别为 125 000 和 116 000)、草鱼(α_1 和 α_2 都大于 116 000)等^[26,4]淡水鱼胶原; β 相对分子质量约为 200 000; γ 相对分子质量为 220 000。胶原蛋白作为结构蛋白,其中的 β 链是两条 α 链的二聚体, γ 链为结构比较完整的 α 链三聚体^[27]。

参考文献:

- [1] 蒋挺大. 胶原与胶原蛋白[M]. 北京:化学工业出版社, 2006:28.
JIANG T D. Collagen and Collagen Hydrolysate[M]. Beijing:Chemical Industry Press, 2006,28.
- [2] 李国英,张忠楷,雷苏,等. 胶原、明胶和水解胶原蛋白的性能差异[J]. 四川大学学报:工程科学版, 2005, 37(4):54-58.
LI G Y, ZHANG Z K, LEI S, et al. Differences in properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate[J]. Journal of Sichuan University: Engineering Science Edition, 2005, 37(4): 54-58.
- [3] LIN Y K, LIU D C. Effects of pepsin digestion at different temperatures and times on properties of telopeptide-poor collagen from bird feet[J]. Food Chemistry, 2006, 94(4): 621-625.
- [4] 林琳,郑钰,吕顺,等. 有机酸提取草鱼皮胶原蛋白的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(5): 2246-2247, 2301.

- LIN L, ZHENG Y, LV S, et al. Research on the extraction technology of collagen from carp skin with organic acid[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(5):2246-2247, 2301.
- [5] 刘丽莉, 马美湖, 杨协力, 等. 牛骨 I 型胶原蛋白提取及结构表征[J]. 食品科学, 2010, 31(2):87-91.
- LIU L L, MA M H, YANG X L, et al. Extraction and characterization of type I collagen from bovine bone [J]. Food Science, 2010, 31(2):87-91.
- [6] 赵玉勤, 王玉梅, 王斌, 等. 绿鳍马面鲈 (*Navodon septentrionalis*) 鱼头酸溶性与酶溶性胶原蛋白的分离纯化及理化性质研究[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(3):703-709.
- ZHAO Y Q, WANG Y M, WANG B, et al. Isolation and characterization of acid and pepsin soluble collagens from the head of bluefin leatherjacket (*Navodon septentrionalis*) [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(3):703-709.
- [7] 南京熙, 王海丽, 刘畅, 等. 深海明太鱼油中脂肪酸含量的测定[J]. 食品科技, 2011, 36(12):313-315.
- NAN J X, WANG H L, LIU C, et al. Determination of fatty acid content in deep-sea *Alaska pollack* [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(12):313-315.
- [8] YAN M Y, LI B F, ZHAO X, et al. Characterization of acid-soluble collagen from the skin of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) [J]. Food Chemistry, 2008, 107(4):1581-1586.
- [9] 谭洪亮, 郁迪, 王斌, 等. 金枪鱼鱼骨胶原肽的制备及抗氧化活性研究[J]. 水产学报, 2014, 38(1):143-148.
- TAN H L, YU D, WANG B, et al. Preparation and evaluation of an antioxidant peptide from collagen hydrolysate of skipjack tuna fishbone[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(1):143-148.
- [10] 邓晓龙, 高德友, 俞微微, 等. 秘鲁鱿鱼皮酸溶性胶原蛋白的分离及特征分析[J]. 食品科技, 2015, 40(7):252-256.
- DENG X L, GAO D Y, YU W W, et al. Isolation and characterization of acid soluble collagen from the skin of Peru squid (*Dosidicus gigas*) [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(7):252-256.
- [11] ŹELECHOWSKA E, SADOWSKA M, TURK M. Isolation and some properties of collagen from the backbone of Baltic cod (*Gadus morhua*) [J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24(4):325-329.
- [12] YU D, CHI C F, WANG B, et al. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from spines and skulls of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2014, 12(9):712-720.
- [13] 宫子慧, 林琳, 孟昌伟, 等. 乳酸提取鲟鱼皮胶原蛋白工艺优化[J]. 肉类研究, 2011, 25(7):18-23.
- GONG Z H, LIN L, MENG C W, et al. Optimization of conditions for collagen extraction with lactic acid from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin [J]. Meat Research, 2011, 25(7):18-23.
- [14] 朱文学, 邱园园, 肖枫, 等. 响应面法优化黄河鲤鱼鱼鳞磷酸溶性胶原蛋白提取工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(20):94-98.
- ZHU W X, QIU Y Y, XIAO F, et al. Optimization of extraction process for acid-soluble collagen from *Cyprinus carpio haematopterus* scale by response surface methodology [J]. Food Science, 2013, 34(20):94-98.
- [15] 杨文雄, 高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用 [J]. 中国食品添加剂, 2005(2):68-71.
- YANG W X, GAO Y X. Response surface methodology & its application in food industry [J]. China Food Additives, 2005(2):68-71.
- [16] AHMAD M, BENJAKUL S. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) [J]. Food Chemistry, 2010, 120(3):817-824.
- [17] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2002:77-90.
- WANG J Z, FAN M. The Technical Manuals of Protein [M]. Beijing: Science Press, 2002:77-90.
- [18] 赵黎骅, 张文, 吕珍珍, 等. 响应面法优化酒糟微波间歇干燥工艺 [J]. 农业工程学报, 2011, 27(3):369-374.
- ZHANG L H, ZHANG W, LV Z Z, et al. Optimization of intermittent microwave drying technology for lees by response surface methodology [J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(3):369-374.
- [19] 赵海英, 梁程超, 缪锦来, 等. 鳕鱼皮胶原蛋白的制备及其成分分析 [J]. 中国海洋药物, 2005, 24(5):30-32.
- ZHAO H Y, LIANG C C, MIAO J L, et al. Preparation and composition analysis of cod skin collagen protein [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2005, 24(5):30-32.
- [20] NAGAI T, SUZUKI N. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins [J]. Food Chemistry, 2000, 68(3):277-281.
- [21] ETHERINGTON D J, SIMS T J. Detection and estimation of collagen [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1981, 32(6):539-546.

- [22] 李莉,顾塞麒,王锡昌,等. 响应面法优化酶法提取大鲵皮胶原蛋白工艺[J]. 中国水产科学, 2013, 20(4): 876-883.
LI L, GU S L, WANG X C, et al. Optimization of conditions for the extraction of pepsin-soluble collagen from the skin of Chinese giant salamander (*Andrias davidianus*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(4): 876-883.
- [23] 李八方,郭鸣,候虎,等. 胡子鲶鱼皮酸溶性胶原蛋白的理化性质研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(11): 2580-2585.
LI B F, GUO M, HOU H, et al. Physicochemical properties of acid-soluble collagen from skin of *Clarias fuscus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2580-2585.
- [24] NALINANON S, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) [J]. Food Chemistry, 2007, 104(2): 593-601.
- [25] 张帅. 罗非鱼皮胶原蛋白提取及性质研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2010: 12-13.
ZHANG S. Study on Extraction and Characterization of Collagen from Tilapia Skin [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2010: 12-13.
- [26] 张俊杰,段蕊,刘佳梅,等. 鲤鱼鱼皮胶原蛋白的提取及其性质研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2008, 30(1): 18-21.
ZHANG J J, DUAN R, LIU J M, et al. Study on extraction and properties of collagen from carp skin [J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2008, 30(1): 18-21.
- [27] 江颖,邓明霞,汪海婴,等. 热变性对鱼胶原海绵材料性能的影响[J]. 功能材料, 2015, 46(9): 9045-9051.
JIANG Y, DENG M X, WANG H Y, et al. Effect of thermal denaturation on the properties of collagen sponges from fish [J]. Journal of Functional Materials, 2015, 46(9): 9045-9051.

(责任编辑:陆 雁)

《广西科学院学报》致谢 2015~2016 年审稿专家

《广西科学院学报》在主办单位,以及主编、编委和审稿专家的大力支持下,圆满完成了 2015 年 1~4 期的编辑和出版工作。专家们在百忙中承担繁重的审稿任务,是您严谨治学的态度及奉献精神保证了《广西科学院学报》的学术质量。同时,编辑和投稿作者有幸也得到了审稿专家的帮助。《广西科学院学报》编辑部在此谨向以下审稿专家致以诚挚的敬意和谢意! 并祝各位在新的一年里身体健康,万事如意!

丁兰平	丁向东	万中	王 萌	王 勤	王 瑁	王一兵	王为东	王玉霞
王志萍	王青艳	王彦昌	王桂文	王祥红	邓雁如	韦 宵	韦宇拓	韦志杨
韦保耀	冯春华	申玉春	农旭华	刘小玲	刘长春	刘布鸣	刘永学	刘永贤
刘幽燕	刘洪波	刘雄民	吕镇梅	孙丰强	安俊岭	朱 坤	朱志斌	江 涛
祁 超	许晓东	严红革	何 斌	何铁光	何斌源	吴仁海	吴烈善	吴琴瑟
吴群英	宋金明	宋金明	张玉和	张乔民	张鸿雁	李东飞	李秉正	李谊纯
李陶深	李瑞杰	李瑞杰	杨 勇	杨兵初	杨章旗	沈爱国	苏 琴	邵伟增
陆光涛	陆登俊	陈 波	陈可泉	侍茂崇	周本杰	周浩郎	庞 浩	易湘茜
武 波	郑媛媛	郑德凤	姜 岷	胡小波	胡亚芹	赵进创	赵慧敏	郝林华
郝林华	唐 立	唐亚	唐赛春	徐尚进	莫 宁	莫竹承	贾洪飞	陶站华
高劲松	高晓清	高程海	梁 和	梁世楚	阎 冰	黄日明	黄寿先	黄凯
黄国强	黄庶识	温远光	童 茵	童张法	蒋承建	谢能中	窦衍光	蒙健宗
赖茂祥	赖俊翔	鲍献文	廖咏梅	管卫兵	裴道武	谭伟福	谭光兴	谭宗琨
樊治平	滕建文	潘为高	潘红平	黎广钊	黎 宁	黎晓峰	薛 郁	戴雪荣

注:专家名单按姓氏笔画顺序排序,截止到 2016 年 11 月 30 日。