

活性炭及羟基化多壁碳纳米管对大鲵酶解液的吸附性能比较

纪莹¹, 邓晶², 赵薇^{1*}

¹武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉

²湖北优鲵可生物科技有限公司, 湖北 荆州

收稿日期: 2023年4月5日; 录用日期: 2023年4月13日; 发布日期: 2023年5月10日

摘要

活性炭及羟基化多壁碳纳米管均具有良好的吸附性能。为促进大鲵蛋白产品的进一步开发, 为大鲵酶解液在食品及医药领域的应用提供理论依据, 实验采用大鲵酶解液作为底物, 探究活性炭及羟基化多壁碳纳米管对大鲵酶解液中的腥苦味成分的吸附能力, 比较两种材料的吸附性能差异, 优化脱腥脱苦工艺。试验结果表明, 活性炭吸附法最佳条件下 OD_{220}/OD_{280} 值为10.6576, 蛋白质回收率为80.52%, 而羟基化多壁碳纳米管吸附法最佳条件下 OD_{220}/OD_{280} 值为23.9990, 蛋白质回收率为71.63%。活性炭和羟基化多壁碳纳米管对疏水性氨基酸均有良好的吸附效果, 活性炭吸附法对蛋白质的损耗较羟基化多壁碳纳米管吸附法小, 但羟基化多壁碳纳米管的吸附性能和选择性能力比活性炭更好, 羟基化多壁碳纳米管的脱苦脱腥能力较强。

关键词

大鲵酶解液, 吸附效果, 活性炭, 羟基化多壁碳纳米管

Comparison of Adsorption Properties of Active Carbon and Hydroxylated Multi Walled Carbon Nanotubes on the Hydrolysates of Giant Salamander

Ying Ji¹, Jing Deng², Wei Zhao^{1*}

¹College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan Hubei

²Hubei Younike Biology Science and Technology CO., Ltd, Jingzhou Hubei

*通讯作者。

文章引用: 纪莹, 邓晶, 赵薇. 活性炭及羟基化多壁碳纳米管对大鲵酶解液的吸附性能比较[J]. 药物化学, 2023, 11(2): 60-69. DOI: 10.12677/hjmce.2023.112009

Received: Apr. 5th, 2023; accepted: Apr. 13th, 2023; published: May 10th, 2023

Abstract

Activated carbon and hydroxylated multi walled carbon nanotubes have good adsorption properties. In order to promote the further development of protein products of giant salamander and provide theoretical basis for the application of enzymatic hydrolysate of giant salamander in the field of food and medicine, the enzymatic hydrolysate of giant salamander was used as substrate in the experiment, and the adsorption capacity of activated carbon and hydroxylated multi walled carbon nanotubes for the bitter and fishy components in the hydrolysate of giant salamander (*Andrias davidianus*) was studied. The results showed that under the optimum conditions of activated carbon adsorption, the OD_{220}/OD_{280} was 10.6576, and the protein recovery was 80.52%, while under the optimum conditions of hydroxylated multi walled carbon nanotubes adsorption, the OD_{220}/OD_{280} was 23.9990, the protein recovery was 71.63%. Both active carbon and hydroxylated multi walled carbon nanotubes have good adsorption effects on hydrophobic amino acids, and the loss of protein by activated carbon adsorption method is smaller than that by hydroxylated multi walled carbon nanotubes adsorption method. However, the adsorption and selectivity of hydroxylated multi walled carbon nanotubes were better than that of activated carbon, and the hydroxylated multi walled carbon nanotubes had better ability to remove bitterness and odor.

Keywords

Hydrolysates of Giant Salamander, Adsorption Effect, Active Carbon, Hydroxylated Multi Walled Carbon Nanotubes

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

活性炭(AC)作为传统型吸附材料,具有多孔结构,比表面积高,性质稳定,吸附能力较强,应用广泛[1]。碳纳米管(CNTs)分为单壁碳纳米管(SWCNTs)以及多壁碳纳米管(MWCNTs),是一种潜力很大的新型吸附材料,不仅具有传统吸附材料的优点,还具有选择性吸附的能力,但其粒径小难以回收,在水相中不易分离,选择吸附性不强,因此研究人员经常对碳纳米管进行化学修饰以提高其选择性和吸附性能[2]。

大鲵(*Andrias davidianus*)又叫娃娃鱼,是国家重点开发的特色农业品种,也是一种良好的中药药材,其营养价值和药用价值颇高[3]-[8]。因大鲵中具有丰富的营养价值及药用价值而使其拥有较大的加工利用价值,因此关于大鲵的技术研究具有较大的意义,目前,大鲵蛋白酶解技术较为完善,但如同大多数水产品蛋白酶解液一样,大鲵酶解液中苦味肽等物质的存在限制了其应用,因此大鲵酶解液要经过脱苦脱腥处理,也是其加工过程中需要解决的主要问题[9] [10]。试验采用活性炭和羟基化多壁碳纳米管对大鲵酶解液进行味道去除,优化脱腥脱苦工艺,比较两种材料的吸附性能以及吸附差异,为大鲵蛋白产品的开发提供新思路,为大鲵酶解液在食品及医药领域的应用提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

大鲵酶解液：自制；活性炭粉末(200 目)及其他化学试剂(分析纯)：武汉欣申试化工科技有限公司；羟基化多壁碳纳米管：上海柏卡化学技术有限公司；BCA 总蛋白试剂盒：上海迈瑞尔化学技术有限公司。

2.2. 仪器

AL104 分析天平：梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司；HC-2518 高速离心机：安徽中科中佳科学仪器有限公司；UV-4802 双光束紫外可见分光光度计：尤尼科(上海)仪器有限公司；Elx800 酶标仪：美国伯腾仪器有限公司；85-2 数显恒温磁力搅拌器：金坛大地自动化仪器厂。

3. 试验方法

3.1. 吸附效果检测

材料的吸附效果可用紫外可见分光光度计来检测。在大鲵酶解液混合物中，某些氨基酸在 220 nm 波长处或 280 nm 波长处有一最大吸收峰，而其它氨基酸在此波长处无吸收峰，这两处吸收峰分别代表的是高支链氨基酸和芳香族氨基酸。产生苦味的主要原因是生成了疏水性氨基酸，这些疏水性氨基酸多为脂溶性氨基酸，大多都是芳香族的氨基酸[11]，因此以 OD_{220}/OD_{280} 的值作为评价指标，一般以支链氨基酸吸附少，即 OD_{220} 较大，而芳香族氨基酸吸附多，即 OD_{280} 较小，来表明吸附效果更好，因此 OD 比越大，表明吸附效果越好[12]。

3.2. 蛋白质含量及蛋白质回收率测定

参考文献可以得出，蛋白质含量可采用 BCA 蛋白试剂盒来测定[13]。用蒸馏水稀释 52.4 g/L (52,400 $\mu\text{g/mL}$) 的牛血清白蛋白(BSA)标准品成以下浓度：125、250、500、1000、2000 $\mu\text{g/mL}$ ，然后用 BCA 总蛋白定量试剂盒测试，用酶标仪测定 OD_{562} ，即可绘制牛血清白蛋白吸光度与浓度的标准曲线，拟合得到线性回归方程： $y = 0.9819x - 0.0357$ ， $R^2 = 0.9979$ (如图 1)。测定吸附前后多肽溶液的吸光度，根据标准曲线拟合计算该吸光度下的蛋白质浓度，从而得到脱苦脱腥后的蛋白质回收率。每个样品测 3 次，取其平均值[14]。

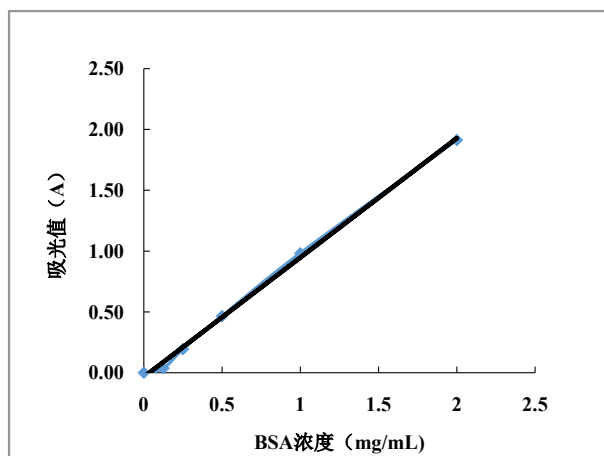


Figure 1. Standard curve of BCA-absorbance

图 1. BCA-吸光度标准曲线

3.3. 活性炭吸附法吸附能力测定

从活性炭添加量、温度、pH 和吸附时间四个方面来考察活性炭吸附法对大鲵酶解液的吸附效果，如表 1。

Table 1. Factors affecting the adsorption efficiency of active carbon adsorption

表 1. 活性炭吸附法吸附效果的影响因素

序号	活性炭添加量/g	温度/°C	pH	时间/h
1	0.5	25	7.0	2.0
2	1.0	25	7.0	2.0
3	1.5	25	7.0	2.0
4	2.0	25	7.0	2.0
5	2.5	25	7.0	2.0
6	3.0	25	7.0	2.0
7	2.0	20	7.0	2.0
8	2.0	30	7.0	2.0
9	2.0	25	3.0	2.0
10	2.0	25	3.5	2.0
11	2.0	25	4.0	2.0
12	2.0	25	3.5	1.5
13	2.0	25	3.5	2.5

3.4. 羟基化多壁碳纳米管吸附法吸附能力测定

首先要将碳纳米管活化。将羟基化多壁碳纳米管倒入烧瓶中，加入一定量浓度为 1.0 mol/L 的 HNO₃ 溶液，将烧瓶置于水浴锅中，加热至 60°C，持续搅拌 12 h。反应完成后进行抽滤，并用去离子水洗涤滤饼三次，随后将洗涤干净的羟基化多壁碳纳米管于 110°C 条件下干燥 24 h。干燥结束后，将活化后的羟基化多壁碳纳米管装入褐色试剂瓶中，避光干燥条件下保存备用。

从羟基化多壁碳纳米管添加量、温度、pH 和吸附时间四个方面来考察羟基化多壁碳纳米管吸附法对大鲵酶解液的吸附效果，如表 2。

Table 2. Factors affecting the adsorption efficiency of hydroxylated multi walled carbon nanotubes

表 2. 羟基化多壁碳纳米管吸附法吸附效果的影响因素

序号	羟基化多壁碳纳米管添加量/g	温度/°C	pH	时间/h
1	0.5	25	7.0	0.50
2	0.6	25	7.0	0.50
3	0.7	25	7.0	0.50
4	0.8	25	7.0	0.50
5	0.9	25	7.0	0.50
6	1.0	25	7.0	0.50
7	0.7	15	7.0	0.50
8	0.7	20	7.0	0.50
9	0.7	20	4.5	0.50
10	0.7	20	5.0	0.50
11	0.7	20	5.5	0.50
12	0.7	20	5.0	1.25
13	0.7	20	5.0	1.50
14	0.7	20	5.0	1.75

4. 结果与讨论

4.1. 活性炭吸附法吸附能力测定

活性炭是一种广泛使用的吸附剂，其生产工艺简单，制作成本低，并且容易脱附再利用，活性炭具有多孔结构，能够吸附不同大小分子的物质且吸附速度快，能良好地选择性吸附非极性物质[1]。酶解过程中产生的苦味物质为疏水性氨基酸，而疏水性氨基酸是非极性物质，因此可以使用活性炭来吸附溶液中的这类氨基酸，致使腥苦味减弱或消失[11]。

4.1.1. 活性炭添加量对吸附效果的影响

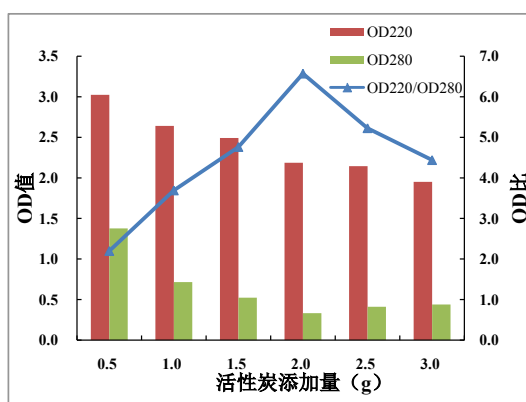


Figure 2. Effect of activated carbon addition amount on adsorption

图 2. 活性炭添加量对吸附效果的影响

由图 2 可知，固定吸附温度为室温，在自然 pH，吸附时间为 2 h 的前提下，当添加的活性炭的量少于 2.0 g 时， OD_{220}/OD_{280} 随着活性炭添加量的增多而不断增大；在活性炭添加量为 2.0 g 时， OD_{220}/OD_{280} 达到最大值，此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 6.5716；当添加的活性炭多于 2.0 g 时， OD_{220}/OD_{280} 随着活性炭添加量的增多而不断减小。总体而言，OD 比值随着活性炭添加量的逐渐增加而呈先上升后下降的趋势，可能是因为活性炭添加量达到饱和造成的，因此选取活性炭添加量为 2.0 g。

4.1.2. 温度对吸附效果的影响

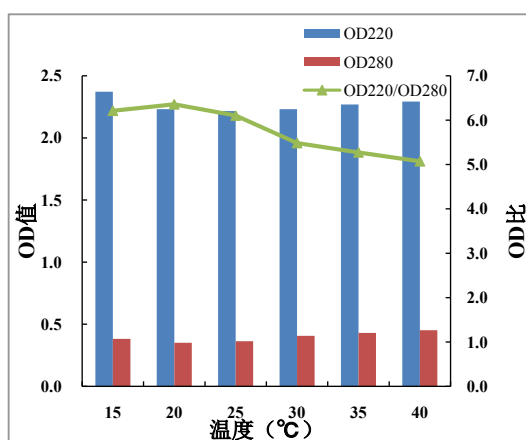


Figure 3. Effect of temperature on adsorption

图 3. 温度对吸附效果的影响

由图 3 可知, 固定吸附时间为 2 h, 添加 2.0 g 活性炭, 在自然 pH 的前提下, 当温度低于 25℃ 时, OD_{220}/OD_{280} 随温度变化而差异不明显; 在温度为 20℃ 时, OD_{220}/OD_{280} 达到最大值, 此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 6.3576; 当温度高于 25℃ 时, OD_{220}/OD_{280} 随着温度的升高而不断减小。由图可知, OD_{220} 和 OD_{280} 随温度升高变化并不大, 这是由于温度达到一定程度后, 活性炭吸附苦味肽的能力达到极限, 导致吸光度变化较小。虽然在 20℃ 时 OD 比值最大, 但其与 25℃ 时的比值差异不大, 从节约能源方面考虑, 25℃ 为室温, 因此选择 25℃ 为最佳温度。

4.1.3. pH 对吸附效果的影响

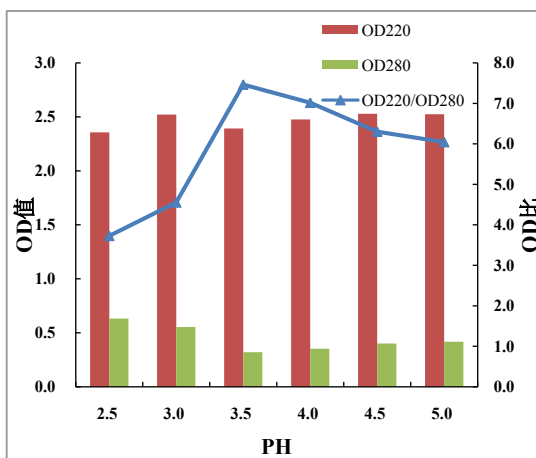


Figure 4. Effect of pH on adsorption

图 4. pH 对吸附效果的影响

由图 4 可知, 固定活性炭添加量为 2.0 g, 在温度为 25℃, 吸附时间为 2 h 的条件下, 当 pH 小于 3.5 时, OD_{220}/OD_{280} 随着 pH 的增大而不断变大; 在 pH 为 3.5 时, OD_{220}/OD_{280} 达到最大值, 此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 7.4648; 当 pH 大于 3.5 时, OD_{220}/OD_{280} 随着 pH 的增大而不断变小。总体上看, OD 比值随着 pH 的增大而呈先上升后下降的趋势, 在酸性条件下, 活性炭的吸附效果较好, 因此选用 pH 为 3.5 为最优吸附条件。

4.1.4. 吸附时间对吸附效果的影响

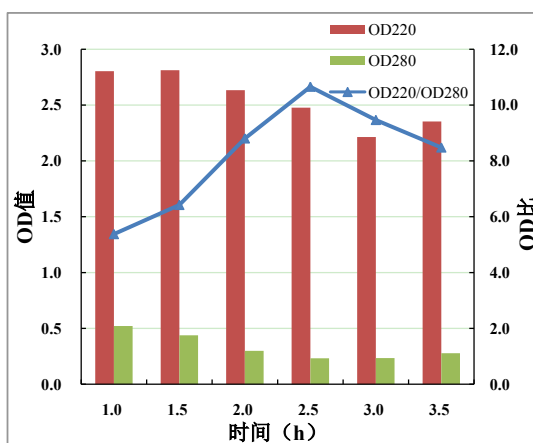


Figure 5. Effect of adsorption time on adsorption

图 5. 吸附时间对吸附效果的影响

由图 5 可知, 固定活性炭添加量为 2.0 g, 在温度为 25℃, pH 为 3.5 的条件下, 当吸附时间少于 2.5 h 时, OD_{220}/OD_{280} 随着吸附时间的增多而不断增大; 在吸附时间为 2.5 h 时, OD_{220}/OD_{280} 达到最大值, 此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 10.6576; 当吸附时间多于 2.5 h 时, OD_{220}/OD_{280} 随着吸附时间的增多而不断减小。总而言之, 随着吸附时间的延长, OD 比值呈先上升后下降的趋势, 这是因为随着吸附时间的增多, 活性炭吸附苦味肽逐渐达到最佳程度, 继续增加吸附时间虽然会再次吸附一些芳香族氨基酸, 但 OD_{280} 变化不大, 可 OD_{220} 差异较大, 即对支链氨基酸吸附较多, 因此为保证支链氨基酸尽量保留较多, 选择活性炭最佳吸附时间为 2.5 h。

此时, 取一定量大鲎酶解液溶于蒸馏水中, 添加活性炭 2.0 g, 在温度为 25℃, pH 为 3.5 的条件下, 搅拌吸附 2.5 h, 离心过滤, 取清液, 测定其蛋白质回收率为 80.52%。

4.2. 羟基化多壁碳纳米管吸附法吸附能力测定

碳纳米管作为一种新型材料, 吸附性能优越, 为提高材料的选择性和吸附性, 选择使用羟基修饰的多壁碳纳米管进行试验[2]。

4.2.1. 羟基化多壁碳纳米管添加量的吸附效果的影响

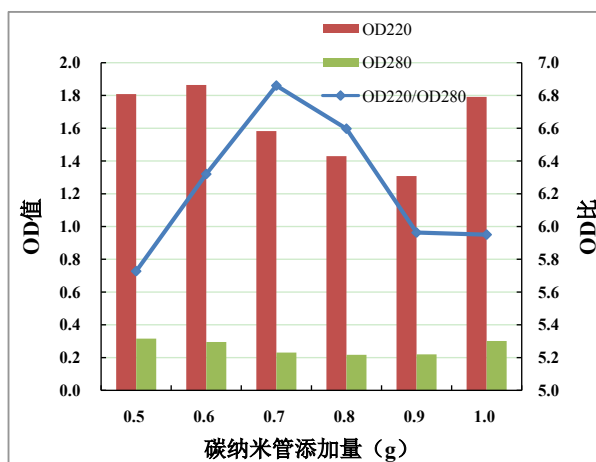


Figure 6. Effect of hydroxylated multi walled carbon nanotubes on adsorption

图 6. 羟基化多壁碳纳米管添加量对吸附效果的影响

羟基化多壁碳纳米管添加量对吸附效果的影响见图 6, 随着羟基化多壁碳纳米管添加量的增加, OD_{220}/OD_{280} 值先上升后下降, 当羟基化多壁碳纳米管添加量为 0.7 g 时, OD_{220}/OD_{280} 达到最大值, 此时的 OD 比值为 6.8602, 可能是因为羟基化多壁碳纳米管需求量达到饱和造成的, 随着添加量的增加, OD_{220} 、 OD_{280} 和 OD_{220}/OD_{280} 均在减小, 而一般以支链氨基酸吸附少, 即 OD_{220} 较大, 而芳香族氨基酸吸附多, 即 OD_{280} 较小, 来表明吸附效果更好, 故选取羟基化多壁碳纳米管添加量为 0.7 g 作为最佳吸附条件。

4.2.2. 温度对吸附效果的影响

温度对吸附效果的影响见图 7, 当温度低于 20℃ 时, OD_{220}/OD_{280} 随温度的升高而不断增大; 在温度为 20℃ 时, OD_{220}/OD_{280} 达到最大值, 此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 6.5969; 当温度高于 20℃ 时, OD_{220}/OD_{280} 随着温度的升高而不断减小。可能是因为较低的温度对羟基化多壁碳纳米管没有较大影响, 而随着温度升高, 羟基化多壁碳纳米管的结构遭到破坏, 导致吸附能力减弱, 故选择 20℃ 为最佳吸附温度。

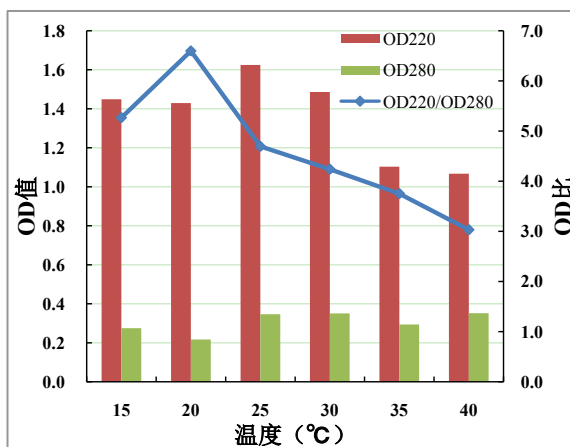


Figure 7. Effect of temperature on adsorption of carbon nanotubes
图 7. 温度对碳纳米管吸附效果的影响

4.2.3. pH 对脱苦效果的影响

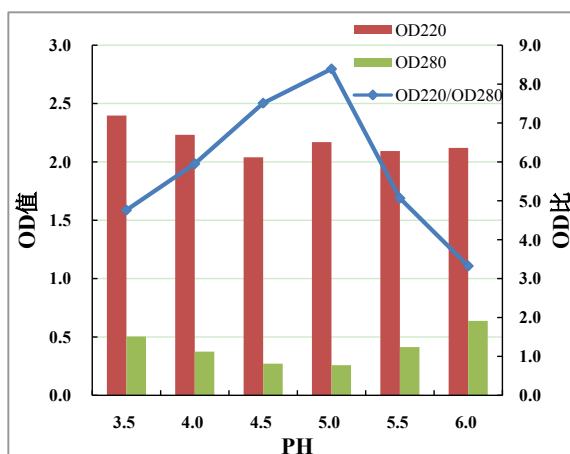


Figure 8. Effect of pH on adsorption of carbon nanotubes
图 8. pH 对碳纳米管吸附效果的影响

pH 对吸附效果的影响见图 8，可以看出， OD_{220}/OD_{280} 值随着 pH 的增大而先增大后减小，总体而言，在弱酸性环境下，羟基化多壁碳纳米管的吸附效果较好，可能是碱性或强酸性环境会对羟基化多壁碳纳米管的结构造成一定程度的破坏，从而导致其吸附能力下降。在 pH 为 5.0 时， OD_{220}/OD_{280} 达到最大值，此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 8.3903，故选用 pH 为 5.0 为最优吸附条件。

4.2.4. 吸附时间对脱苦效果的影响

吸附时间对吸附效果的影响见图 9，当吸附时间为 1.50 h 时， OD_{220}/OD_{280} 值达到最大值，此时 OD_{220}/OD_{280} 值为 23.9990，随着吸附时间的延长， OD_{220}/OD_{280} 值呈先上升后下降的趋势，可能是由于随着吸附时间的增多，羟基化多壁碳纳米管的吸附效果达到最佳，继续延长吸附时间会导致苦味肽被脱附，以致吸附效果变差，故为保证吸附效果，选择最佳吸附时间为 1.50 h。

此时，取一定量大鲎酶解液溶于蒸馏水中，添加羟基化多壁碳纳米管 0.7 g，在温度为 20℃，pH 为 5.0 的条件下，搅拌吸附 1.50 h，离心过滤，取清液，测定其蛋白质回收率为 71.63%。

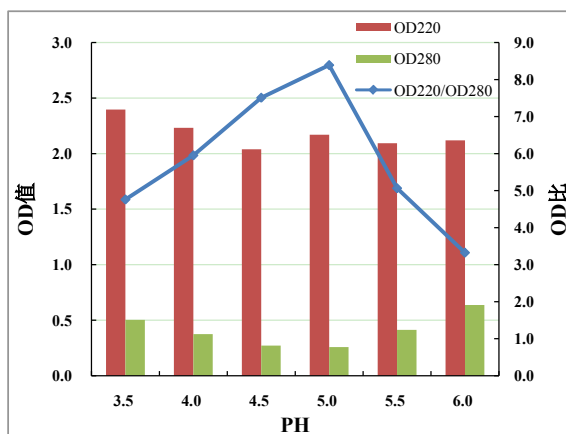


Figure 9. Effect of adsorption time on adsorption of carbon nanotubes
图 9. 吸附时间对碳纳米管吸附效果的影响

5. 结论

活性炭吸附法吸附效果最佳的条件为：添加活性炭 2.0 g，在温度为 25℃，pH 为 3.5 的条件下，搅拌吸附 2.5 h，此时其 OD₂₂₀/OD₂₈₀ 值为 10.6576，蛋白质回收率为 80.52%。羟基化多壁碳纳米管吸附法吸附效果最佳的条件为：添加羟基化多壁碳纳米管 0.7 g，在温度为 20℃，pH 为 5.0 的条件下，搅拌吸附 1.50 h，此时其 OD₂₂₀/OD₂₈₀ 值为 23.9990，蛋白质回收率为 71.63%。

实验结果表明，活性炭和羟基化多壁碳纳米管对疏水性氨基酸均有良好的吸附效果，而羟基化多壁碳纳米管的吸附性能和选择性能力比活性炭更好，因此羟基化多壁碳纳米管的脱苦脱腥能力较强，但同时其蛋白质的损耗也比活性炭吸附法多。

参考文献

- [1] 苏晓濛, 汤昊洋, 吕伟, 等. 活性炭吸附法在挥发性有机物治理中的应用研究进展[J]. 化工管理, 2022(6): 38-40.
- [2] Kang, S.Z., Yin, D.E., Li, X.Q., *et al.* (2011) A Facile Preparation of Multiwalled Carbon Nanotubes Modified with Hydroxyl Groups and Their High Dispersibility in Ethanol. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **384**, 363-367. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.04.036>
- [3] Zhu, W.M., Ji, Y., Wang, Y., *et al.* (2018) Structural Characterization and *in Vitro* Antioxidant Activities of Chondroitin Sulfate Purified from *Andrias davidianus* Cartilage. *Carbohydrate Polymers*, **196**, 398-404. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.047>
- [4] Zhou, Z.Y., Geng, Y., Liu, X.X., *et al.* (2013) Characterization of a Ranavirus Isolated from the Chinese Giant Salamander (*Andrias davidianus*, Blanchard, 1871) in China. *Aquaculture*, **384-387**: 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.12.018>
- [5] Zhou, M., Ren, G.Y., Zhang, B., *et al.* (2022) Screening and Identification of a Novel Antidiabetic Peptide from Collagen Hydrolysates of Chinese Giant Salamander Skin: Network Pharmacology, Inhibition Kinetics and Protection of IR-HepG2 Cells. *Food & Function*, **13**, 3329-3342. <https://doi.org/10.1039/D1FO03527D>
- [6] Ramadhan, A.H., Pembe, W.M., Omar, K.A., *et al.* (2017) Characterization of Antioxidant Activity of Peptide Fractions from Chinese Giant Salamander (*Andrias davidianus*) Proteinhydrolysate. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*, **5**, 14-19.
- [7] Yan, M., Tian, H.F., Hu, Q.M., *et al.* (2018) Molecular Cloning of Cathelicidin-Like cDNA from *Andrias davidianus*. *Russian Journal of Genetics*, **54**, 75-82. <https://doi.org/10.1134/S102279541801012X>
- [8] Jiang, N., Fan, Y.D., Zhou, Y., *et al.* (2021) The Immune System and the Antiviral Responses in Chinese Giant Salamander, *Andrias davidianus*. *Frontiers in Immunology*, **12**, 718627. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.718627>
- [9] 曹川, 朱文广, 包建强. 贻贝肉酶解液的脱苦脱腥研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(2): 216-218.
- [10] Hau, Y.C., Chi, W.Y., Joo-Shin, K., *et al.* (2006) Static Headspace Analysis-Olfactometry (SHA-O) of Odor Impact

Components in Salted-Dried White Herring (*Ilisha elongata*). *Food Chemistry*, **104**, 842-851.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.036>

- [11] 黄薇, 邓尚贵, 唐艳, 等. 鳕鱼皮复合肽脱腥脱苦工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(11): 99-102.
- [12] 李治龙, 刘新华, 赵晨霞, 等. 活性炭在初步纯化玉米肽中的应用研究[J]. 粮食与饲料工业, 2010(11): 37-39.
- [13] Anthony, B., Lyra, C., Thomas, J., *et al.* (2011) Bicinchoninic Acid (BCA) Assay in Low Volume. *Analytical Biochemistry*, **410**, 310-312. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.11.015>
- [14] 赵李妮, 蒋璐, 张宇, 等. 平鲐海蛇酶解液脱腥去苦工艺研究[J]. 食品工业, 2016, 37(1): 32-35.