

文章编号:1000-0615(2008)05-804-07

## 海洋活性胶原肽酶解液的脱色脱腥工艺

宋永相<sup>1,2</sup>, 孙 谡<sup>1</sup>, 王海英<sup>1</sup>, 王跃军<sup>1</sup>, 李 伟<sup>2</sup>, 袁 翠<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 大连水产学院食品工程系, 辽宁 大连 116023)

**摘要:** 以富含胶原的海产品下脚料为原料,用海洋碱性蛋白酶894水解,得到具有清除羟自由基活性的酶解液。采用一次正交回归实验设计及结果分析,建立回归方程,研究了活性炭、 $\beta$ -环糊精、酵母三者用量及温度、pH和作用时间6因子及其可能存在交互作用的变化关系对该酶解液综合脱色脱腥效果的影响。结果表明,在给定取值范围内,pH对综合脱色脱腥效果影响高度显著,酵母添加量、pH与酵母添加量的交互作用影响显著,其它因子及其可能的交互作用影响不显著,得最佳工艺为:温度37℃、pH4.0、活性炭0.8%、 $\beta$ -环糊精和酵母分别为0.1%,作用30min。此时,综合脱色脱腥效果值为90.90,蛋白回收率为98.02%,羟自由基清除率的 $IC_{50}$ 浓度从原来的 $1.42\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 增加到 $1.62\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**关键词:** 海产品下脚料;正交回归;羟自由基;酶解液;脱色;脱腥

**中图分类号:** S986

**文献标识码:** A

近年来以动物骨皮为原料提取的具有抗氧化、降压、抗肿瘤等保健功能的蛋白水解物,已被越来越多的人所认识<sup>[1-3]</sup>,市场上包括食品、化妆品、医疗保健等领域对具有该功能的产品需求日益旺盛。同时由于疯牛病、禽流感等陆栖动物疾病的流行,以及水生原料水解产物独特的生理活性,使其成为人们研究的热点<sup>[4-7]</sup>。但水生生物原料水解产物令人不愉快的颜色和气味,是其推广应用的一大障碍,目前的解决方法还待改进。为使人们能够更加容易地接受这种具有营养性、功能性的产品,对其进行脱色脱腥是最关键的问题。

通常,人们使用的脱色脱腥法有微生物发酵法,理化吸附法,酸碱处理法,溶剂萃取法,分子包埋法,掩蔽法以及几种方法结合的复合处理法等。本文用海洋碱性蛋白酶水解富含胶原成分的海产品下脚料,得到具有羟自由基清除活性

的酶解液,其色、腥味成分与其他海洋类生物酶解产物一样,成分复杂,颜色除包括未离心分离掉的色素成分外还可能含有新生成成分,腥味成分主要是底物降解后产生的含氮化合物的胺类,酸类,羰基化合物,含硫化合物及其他的烃、醇、酚、醛类物质等<sup>[8]</sup>。这些成分种类繁多,变化多样,而且在清除过程中还要对酶解液的营养和活性成分进行最大限度的保护,这就要求脱色剂不仅要具有广泛适用性,而且还要具有温和、安全、经济等特点。

对所得活性胶原酶解液,以常用脱色剂活性炭、 $\beta$ -环糊精、酵母为载体,将理化吸附、生物发酵和分子包埋方法相结合,参考其常规用量及作用条件<sup>[9-11]</sup>,采用一次回归正交设计,将多个因子在同一系统下进行脱色脱腥处理,探讨各因子及其交互作用的显著性,从而找出回归方程,确定各因子的变量关系以确定最佳脱色脱腥效果的作用条件<sup>[12]</sup>。

收稿日期: 2007-09-05

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2007AA09Z441);国家自然科学基金(40706051)

作者简介: 宋永相(1980-),男,河南濮阳人,硕士研究生,从事水产品加工与贮藏工程方面研究。Tel: 13646486169, E-mail: songxiang0517@126.com

通讯作者: 孙 谡, Tel: 0532-85819525, E-mail: sunmi@ysfri.ac.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 酶解液的制备

将富含胶原的海产品下脚料(来自黄海水产研究所麦岛养殖实验基地),用清水清洗干净,剪碎,DS-1 高速组织搅碎机  $15\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  剪切 5 min。20 倍原料质量的  $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NaOH 浸泡脱杂蛋白、于  $4\ ^\circ\text{C}$  浸提 4 h,取沉淀反复冲洗至中性,用同样质量 10% 的异丙醇于  $4\ ^\circ\text{C}$  脱脂 24 h,将沉淀反复冲洗,脱净异丙醇,至无异味<sup>[13]</sup>。按照优化工艺,以本实验室自行研制的海洋碱性蛋白酶 894,于  $45\ ^\circ\text{C}$  下水解 30 min,灭酶后  $10\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 30 min,得到淡乳黄色而有浓鱼腥味的胶原酶解液,具有明显的羟自由基清除能力。

### 1.2 酶解液脱色脱腥

按实验方案将脱色脱腥剂加入已制备的酶解液中,进行脱色脱腥处理,结束后以  $10\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,上清液即为脱色脱腥液,分离后进行综合脱色脱腥指标的评价。

### 1.3 羟自由基清除活性的测定

参考文献<sup>[14]</sup>并略有改进,取  $0.025\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 7.4 的磷酸缓冲液 1 mL,  $40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的番红花红 1 mL,供试药品 0.5 mL,1% 过氧化氢 1 mL,  $0.945\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDTA-Fe(II) 1 mL,混匀后在  $37\ ^\circ\text{C}$  水浴中反应 30 min,在 520 nm 处测定吸光值。空白组以 0.5 mL 蒸馏水代替供试样品,对照组以 1.5 mL 蒸馏水代替 EDTA-Fe(II) 和供试样品。并按下式计算清除率:

$$\text{清除率}(\eta) = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $A_{\text{样品}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{对照}}$  分别为样品、空白和对照的吸光值。

### 1.4 活性回收率的计算

$$\text{活性回收率}(\eta_{\text{回收}}) = \frac{\eta_{\text{处理后}}}{\eta_{\text{处理前}}} \quad (2)$$

### 1.5 综合脱色脱腥指标

酶解液处理即要达到理想的脱色脱腥效果,又要最大限度地保留所含活性成分,根据现代控制理论<sup>[15]</sup>,在前期实验摸索的基础上,建立了衡量综合脱色脱腥效果的数学模型,如(3)式:

$$\text{综合脱色脱腥指标}(Y) = \text{感观值} \times 0.6 + \text{活性回收率}(\eta_{\text{回收}}) \times 100 \times 0.4 \quad (3)$$

评定人员按照食品感观质量评定操作要求<sup>[16]</sup>进行(表 1)。

表 1 感观值打分表

Tab. 1 Taste and visual sense value

感观性状 taste and visual sense	分值 scores	备注 remarks
淡乳黄色,浓鱼腥味	30	酶解液
亮乳黄色,淡鱼腥味	30~40	
淡乳白色,淡而微腥	40~50	
微亮黄色,淡而微腥	50~60	
微亮黄色,淡而无味	60~80	
清亮,淡而无味	80~100	

### 1.6 实验设计

采用一次回归正交设计,在用二水平安排正交实验时,使用“-1”代换通常二水平正交表中的“2”,以适应因子水平编码的需要,因子水平编码见表 2。实验设计表的选择仍同正交设计一样,既要考虑因子的个数,还要考虑交互作用的个数。本实验选择  $L_{16}(2^{15})$  正交表,从六个因子及其交互作用中筛选显著因子,优化建立回归方程,进行统计分析,确定最佳实验方案。

表 2 因子编码水平表

Tab. 2 Encoding and levels of factors

水平 levels	编码值 encoding value	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$
		温度( $^\circ\text{C}$ ) temperature	pH	活性炭(% active carbon	$\beta$ -环糊精(% $\beta$ -cyclodextrin	酵母(% yeast	时间(min) time
$X_{1j}$	1	50	6.0	1.5	1.1	1.1	70
$X_{\bar{1}j}$	-1	30	4.0	0.5	0.1	0.1	30
$X_{0j} = (X_{1j} + X_{\bar{1}j})/2$	0	40	5.0	1.0	0.6	0.6	50
$\Delta_j = (X_{1j} - X_{\bar{1}j})/2$		10	1.0	0.5	0.5	0.5	20

## 2 结果与分析

### 2.1 实验方案及结果

鉴于因子的交互作用在正交表中所占的空列对单因子排列位置的影响,分别选择正交表  $L_{16}(2^{15})$  的第 1、2、4、7、8、11 列安排因子  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 、 $X_6$  的编码水平值,并形成实验方案,具体实验方案及实验结果见表 3。

可能存在交互作用的两因子,可由表示各因子不同水平的“1”与“-1”在正交表中相应列的

对应水平相乘得到,进而算出可能存在交互作用的交互因子在回归方程中的分配系数。相应的计算结果如表 4。

由表 3、4,采用一次回归正交设计的统计分析方法对实验结果进行数据处理,得到综合脱腥效果值( $Y$ )关于各因子及其交互作用的回归方程为:

$$Y = 70.83 + 1.30X_1 - 8.94X_2 + 1.18X_3 - 0.71X_4 - 3.49X_5 - 0.26X_6 + 0.07X_1X_3 - 0.76X_2X_3 - 0.34X_1X_5 + 2.61X_2X_5 + 0.83X_3X_4 - 0.59X_3X_5$$

表 3 实验方案及结果

Tab. 3 The design and results of experiments

序号 No.	$X_0$	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$	综合指标值( $Y$ ) value of comprehensive evaluation		
								感官值 sense value	活性回收率 active recovery	综合值 comprehensive evaluation
1	1	1	1	1	1	1	1	35	0.9716	59.86
2	1	1	1	1	1	-1	-1	46	0.9204	64.42
3	1	1	1	-1	-1	1	1	38	0.9773	61.89
4	1	1	1	-1	-1	-1	-1	45	0.9063	63.25
5	1	1	-1	1	-1	1	-1	68	0.9659	79.44
6	1	1	-1	1	-1	-1	1	90	0.8949	89.80
7	1	1	-1	-1	1	1	-1	55	0.9744	71.98
8	1	1	-1	-1	1	-1	1	82	0.9290	86.36
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	42	0.9233	62.13
10	1	-1	1	1	-1	-1	1	47	0.8665	62.86
11	1	-1	1	-1	1	1	-1	37	0.9489	60.15
12	1	-1	1	-1	1	-1	1	40	0.9148	60.59
13	1	-1	-1	1	1	1	1	59	0.8723	70.29
14	1	-1	-1	1	1	-1	-1	87	0.8778	87.31
15	1	-1	-1	-1	-1	1	1	57	0.9688	72.95
16	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	75	0.8750	78.00
$B_j = \sum X_{ij} Y_j$	1133.28	20.72	-143	18.92	-11.36	-55.88	-4.08		$S_T = \sum Y_j^2 - S_0 = 1693.55$	
$b_j = B_j/n$	70.83	1.30	-8.94	1.18	-0.71	-3.49	-0.26		$S_R = \sum S_j = 1668.32$	
$S_j = B_j b_j$	80269.8	26.83	1278.1	22.37	8.07	195.16	1.04		$S_e = S_T - S_R = 25.23$	

表 4 可能存在交互作用因子的计算

Tab. 4 Calculating for the possible interaction factors

交互作用值 value of interaction	$X_1X_3$	$X_2X_3$	$X_1X_5$	$X_2X_5$	$X_3X_4$	$X_3X_5$
$B_j = \sum X_{ij} Y_j$	1.14	-12.18	-5.42	41.74	13.34	-9.42
$b_j = B_j/n$	0.071	-0.76	-0.34	2.61	0.83	-0.59
$S_j = B_j b_j$	0.08	9.28	1.84	108.91	11.13	5.55

### 2.2 对方程的失拟性检验

在中心点即“零”水平下进行 5 次重复实验,实验结果如表 5。

对表 5 中数据进行  $t$  检验,得  $t$  值为  $2.17 < t_{0.975}(5) = 2.57$ ,因此认为在显著水平  $\alpha$  为 0.05 时所拟回归方程是合适的。

表 5 中心点实验结果

Tab. 5 Results of experiment in center points

指标 evaluation	1	2	3	4	5
活性回收率(%) active recovery	93.18	93.18	93.47	93.47	94.03
感观值 value of taste and visual sense	51	52	52	50	49
综合评价指标( $Y_0$ ) value of comprehensive evaluation	67.87	68.47	68.59	67.39	67.01

### 2.3 结果分析

将所得实验数据进行数理统计,对所得方程的意义和各因子及其可能存在交互作用的显著性进行分析(表 6)。

由表 6 知,  $F = S_R / S_e = 16.53 > F_{0.95}(12, 3) = 8.74$ , 所以在显著性水平  $\alpha$  为 0.05 时, 所求回归方程是有意义的。

由表中各因子的显著性分析及回归系数可知, 温度( $X_1$ ) 在 30~50 °C 时无显著影响( $P > 0.05$ ), 但综合脱色脱腥效果随温度的增加而增大; pH 值( $X_2$ ) 在 4~6 时影响非常显著( $P < 0.01$ ), 综合脱色脱腥效果随着 pH 值的减小而增大; 酵母添加量( $X_5$ ) 在 0.1%~1.1% 时影响显著( $P < 0.05$ ), 综合脱色脱腥效果随着添加量的增加而减小; 活性炭添加量( $X_3$ ) 虽然在 0.5%~1.5% 时脱色脱腥效果随添加量的增大而增加, 但无显著影响( $P > 0.05$ ); 同时  $\beta$ -环糊精添加量( $X_4$ ) 在 0.1%~1.1%, 反应时间( $X_6$ ) 在 30~70 min 时均无显著影响( $P > 0.05$ )。

表 6 对方程与其系数检验的方差分析表

Tab. 6 Analysis of variance to the equation and its quotient

因子 factors	平方和 sum of square	自由度 degrees of freedom	均方和 mean square	F 值 value of F	显著性 significance
$X_1$	26.83	1	26.83	3.19	
$X_2$	1278.06	1	1278.06	151.97	**
$X_3$	22.37	1	22.37	2.66	
$X_4$	8.07	1	8.07	0.96	
$X_5$	195.16	1	195.16	23.01	*
$X_6$	1.04	1	1.04	0.12	
$X_1 X_3$	0.08	1	0.08	0.01	
$X_2 X_3$	9.28	1	9.28	1.10	
$X_1 X_5$	1.84	1	1.84	0.22	
$X_2 X_5$	108.91	1	108.91	12.95	*
$X_3 X_4$	11.23	1	11.23	11.12	
$X_3 X_5$	5.55	1	5.55	5.55	
回归平方和 $S_R$ regression sum squares	1668.32	12	139.03	16.53	
残差平方和 $S_e$ residual sum squares	25.23	3	8.41		
总和 sum total	1693.55	15			

Notes:  $F_{0.95}(12, 3) = 8.74$ ,  $F_{0.99}(12, 3) = 27.05$

交互作用因子中, pH 与酵母的添加量( $X_2 X_5$ ) 影响显著( $P < 0.05$ ), 在给定的取值范围内, 随着 pH 的降低和酵母添加量的减少, 酶解液的澄清度明显提高, 酵母异味几乎消失, 而羟自由基清除率保持不变。其它各因子的交互作用对综合脱色脱腥效果的影响几乎没有或者不显著( $P > 0.05$ )。

以上说明在脱色脱腥效果体系中, 决定其最终效果的是由少数因子及其交互作用决定的。

### 2.4 最佳脱色脱腥工艺的确定及检验

通过回归方程及各因子的显著性分析知, 由显著性因子及其交互作用决定的最佳脱色脱腥效果的取值为 pH( $X_2$ ) 为 4.0, 酵母粉( $X_5$ ) 为

0.1%,综合不显著因子的作用条件,适当向正效应范围调整非显著因子的取值水平,得到最佳脱色脱腥效果的工艺条件为:( $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 、 $X_6$ ):(37℃、4.0、0.8%、0.1%、0.1%、30 min)。对其进行放大实验,检验脱色脱腥效果(表7)。

表7 脱色脱腥前后酶解液相关指标比较  
Tab.7 Comparisons of some indexes before and after decolorization and deodorization

指标 evaluation	处理前 before processing	处理后 after processing	回收率 (%) recovery
感官效果值 value of taste and visual sense	30	85	
羟自由基清除率( $\eta\%$ ) hydroxyl radical scavenging	75.58	75.40	99.76
蛋白含量( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) protein content	34.26	33.58	98.02
$\text{IC}_{50}$ ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	1.42	1.62	

将表7感官效果值和羟自由基清除率代入综合评价公式得综合评价值为90.90,同时蛋白回收率达到98.02%,自由基清除率的半数抑制浓度虽有所提高,但没有明显变化,实现了既脱色脱腥而又最大限度保留活性的目的。

### 3 讨论

目前对多肽液澄清工艺的研究报道多采用正交实验设计,本文在现有研究基础上采用一次回归正交设计法,对海产品下脚料酶解液的脱色脱腥工艺进行研究,与单独使用正交实验相比,在有多因子参与的情况下不但可以减少实验次数,而且还使得各实验因子间的关系更加量化,更具科学性和说服力<sup>[12]</sup>。另外,对脱色脱腥效果的评价,不同于以往的单独以感官值为评价指标<sup>[9-11]</sup>,本文采用以感官值与活性回收率的加权之和为综合评价指标。因为脱色脱腥的本身既要活性的有价值回收为意义,同时活性的回收又要以脱色脱腥目的的实现为前提,因此合理选用二者的权重系数构造目标关系式是本实验的关键。由实验结果可知(表3),在所选权重系数的调控下,当感官值为优良时,综合评价也处于优良水平,且与感官值大小的排序基本对应;当感官值处于优良以下时,对应的综合评价大小的排序有

相应变化,权重系数起到了相应的调控作用,达到了预期目的。

实验结果表明,所采用的三种脱色脱腥剂,除活性炭外, $\beta$ -环糊精和酵母均随添加量而呈负相关效应。虽然活性炭随用量的增加酶解液活性有一定损失,但其自身微孔结构所构成的巨大表面积可以对色素和挥发性腥味物质起到良好的吸附和过滤作用<sup>[17]</sup>;由7个葡萄糖分子以 $\alpha$ -1,4-糖苷键连接而成的 $\beta$ -环糊精,构成环状立体结构,其内腔的疏水性区域可根据主-客间分子大小的匹配,以及范德华力、疏水作用力与许多客体分子形成包合物<sup>[18]</sup>,使得色素成分和腥味的胺类、醛类等有机质得以络合或包埋,掩盖了色质和腥味成分,但随着添加量的增大,减少腥味的同时会因其自身的白色而使溶液的澄清度下降;在一定的环境下,酵母以自身的物理结构和特有代谢途径可以有效清除色质和腥味成分,但由于酵母自身的颜色使添加量增大到1.1%时,溶液的色质就会变浓且带来异味,这与李春美等<sup>[9]</sup>所报道的添加量达到4%时才有异味不一致,可能是由不同水解产物的特殊性以及酵母作用环境和条件的不同所致。因此,找到三种脱色脱腥成分在脱色脱腥过程中的定量关系是关键。

最后,通过回归方程和实验数据统计分析,得出最佳脱色脱腥工艺为( $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 、 $X_6$ ):(37℃、4.0、0.8%、0.1%、0.1%、30 min),即温度37℃、pH 4.0,活性炭添加量为0.8%,糊精和酵母添加量分别为0.1%时作用30 min,综合评价指标值可以达到90.90,实现了预期目的。其相关性质的研究有待深入进行。

### 参考文献:

- [1] 赵丽,苏伟,胡火根,等. 胶原蛋白生物活性肽的研究进展[J]. 食品科学,2005(26):578-582.
- [2] Saiga A, Tanabe S, Nishimura T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment [J]. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2003, 51: 3661-3667.
- [3] Fahmi A, Morimura S, Guo H C, et al. Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sea bream scales [J]. Process Biochemistry,2004,39:1195-1200.
- [4] Byun H G, Kim S K. Purification and



- characterization of angiotensin I converting (ACE) inhibitory peptides from Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) skin [J]. *Process Biochemistry*, 2001, 36: 1155 - 1162.
- [5] Gildberg A, Arnesen J A, Carlehog M. Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation [J]. *Process Biochemistry*, 2002, 38: 475 - 480.
- [6] Mendis E, Rajapakes N, Kim S K. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepare fish skin gelatin hydrolysates [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53: 581 - 587.
- [7] 林琳. 鱼皮胶原蛋白的制备及胶原蛋白多肽活性的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学博士论文, 2006, 16 - 45.
- [8] 鸿巢章二, 桥本周久. 水产利用化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 133.
- [9] 李春美, 彭光华, 胡元华, 等. 鱼鳞酶解及酶解液脱腥工艺研究 [J]. *食品工业科技*, 2005, (3): 36 - 38.
- [10] 施文正, 汪之和, 林争艳, 等. 白鲢鱼蛋白水解液脱腥脱苦的研究 [J]. *海洋水产研究*, 2004(3): 28 - 32.
- [11] 裘迪仙, 周涛, 戴志远, 等. 鲑鱼蛋白液脱苦脱腥的研究 [J]. *北京水产*, 2002, (6): 46 - 48.
- [12] 茆诗松. 实验设计 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2004: 287 - 341.
- [13] 陈申如, 蔡扬鹏. 鲨鱼鱼皮、鱼骨胶原蛋白的纯化及其特性的初步研究 [J]. *中国食品学报*, 2006, (3): 173 - 178.
- [14] 陈学勤. 抗氧化研究实验方法 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 499 - 500.
- [15] 仁和生. 现代控制理论及其应用 [M]. 北京: 电子工业出版社, 1992.
- [16] 吴谋称. 食品分析与感官评定 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 301 - 332.
- [17] 吴浩汀, 孔宇. 粉末活性炭—生物处理技术及工程应用 [J]. *环境污染治理技术与设备*, 2004, 9(5): 61 - 63.
- [18] 刘海燕, 许波, 黄尊锡. 环状糊精在生物法处理废水中的应用 [J]. *云南环境科学*, 2006, 25(25): 33 - 34.

## Decolorization and deodorization of enzymolysis liquid of marine active collagen peptide

SONG Yong-xiang, SUN Mi, WANG Hai-ying, WANG Yue-jun, Li Wei, YUAN Cui

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Department of Food Engineering, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

**Abstract:** In recent years, the protein hydrolysates which come from aquatic organisms, especially from marine organisms, have been known and accepted widely due to their special functionality, however, they often have the unpleasant color and odor. Researchers have been working hard in order to look for the better way to remove the unpleasant color and odor and protect the functional material as much as possible at the same time. The enzymolysis liquid with high hydroxyl radical scavenging activity was gotten from waste of seafood. The waste of seafood is rich in collagen and hydrolyzed by marine alkaline protease 894. In order to determine the better way to decolorize and deodorize, comprehensive value had been adopted by the formula of “comprehensive value( $Y$ ) = sensory value  $\times$  0.6 + activity recovery  $\times$  100  $\times$  0.4”. The decolorization and deodorization effect on the enzymolysis liquid had been investigated with the six factors such as reaction temperature( $X_1$ ), pH( $X_2$ ), reaction time( $X_6$ ) and the amount of active carbon( $X_3$ ),  $\beta$ -cyclodextrin( $X_4$ ), yeast( $X_5$ ) through linear regression orthogonal design. Analyses were carried out based on F-test and t-test. Results showed that both the temperature from 30 to 50 °C and the amount of active carbon from 0.5% to 1.5% were insignificant ( $P > 0.05$ ), though the comprehensive value increased with the increasing of the factors value. The pH value was highly significant ( $P < 0.01$ ) from 4 to 6, and the comprehensive value decreased remarkably with the increasing pH value. The amount of yeast was significant ( $P < 0.05$ ) from 0.1% to 1.1%, and the comprehensive value decreases with the amount increasing. Both the amount of  $\beta$ -cyclodextrin from 0.1% to 1.1% and action time from 30 to 70 minutes were all insignificant ( $P > 0.05$ ). Among the possible interactions, the interaction of the pH and the amount of yeast was significant ( $P < 0.05$ ) in their data zone, the comprehensive value became higher with decreasing of pH value and the amount of yeast. Through the regression equation and results analysis the optimum conditions were obtained: 37 °C, pH 4.0, active carbon 0.8%,  $\beta$ -cyclodextrin and yeast 0.1% respectively, reaction for 30 minutes. Under these conditions, the comprehensive value was 90.90, the protein recovery was 98.02%, the  $IC_{50}$  concentration of hydroxyl radical scavenging had been changed to 1.62 mg·mL<sup>-1</sup> from 1.42 mg·mL<sup>-1</sup>. More properties need to be investigated deeply.

**Key words:** waste of seafood; regression orthogonal design; hydroxyl radical; enzymolysis liquid; decolorization; deodorization