



引用格式:汪薇,杨宏,严守雷.斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备及其胶凝性能优化研究[J].轻工学报,2018,33(5):9-19.

中图分类号:TS254.9 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.002

文章编号:2096-1553(2018)05-0009-11

斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备及其胶凝性能优化研究

Preparation of gelatin from Channel Catfish skin and its gelling performance optimization

汪薇¹,杨宏^{1,2,3},严守雷^{1,3}

WANG Wei¹,YANG Hong^{1,2,3},YAN Shoulei^{1,3}

1. 华中农业大学 食品科技学院,湖北 武汉 430070;

2. 湖南文理学院 水产高效健康生产湖南省协同创新中心,湖南 常德 415000;

3. 华中农业大学 环境食品学教育部重点实验室,湖北 武汉 430070

1. College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Hunan Collaborative Innovation Center for Aquatic Efficient Health Production, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China;

3. Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

摘要:以斑点叉尾鮰鱼皮为原料制备食用明胶,通过单因素试验比较 NaOH 处理浓度和处理时间、醋酸处理浓度和处理时间、熬胶温度和熬胶时间对明胶品质的影响,并通过正交试验优化工艺条件,探究斑点叉尾鮰鱼皮明胶的最佳制备工艺.分别选择卡拉胶、海藻酸钠和黄原胶 3 种亲水胶体与斑点叉尾鮰鱼皮明胶进行复配,以改善鱼皮明胶胶凝性能.结果表明:1)斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备的最佳工艺为,先用 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2 h,然后用 0.2 mol/L 醋酸溶液浸泡 4 h,最后在 60 ℃ 条件下热水浴提取 4 h.在此工艺条件下,明胶得率达 73.36%,凝胶强度为 434.86 g,胶凝温度和融化温度分别为 19 ℃ 和 26 ℃,等电点 pI 为 6.8. SDS-PAGE 分析结果表明,鱼皮水解制备的明胶是多组分的混合物,没有确定的分子量,但具有分子量段.2)当鱼皮明胶质量分数为 1.6%,卡拉胶质量分数为 0.4%,复配胶临界质量分数为 2.0% 时,鱼皮明胶与卡拉胶的复配效果最优.此配方所得复配凝胶的胶凝温度和融化温度分别为 17.6 ℃ 和 35.1 ℃,相较于空白组,其胶凝温度和融化温度分别提高了 13.8 ℃ 和 22.8 ℃.可见,卡拉胶的加入可提高鱼皮明胶的热稳定性,对改善鱼皮明胶加工性能具有重要作用.

关键词:

斑点叉尾鮰;鱼皮明胶;胶凝性能;工艺优化

Key words:

channel catfish;
fish skin gelatin;
gelling performance;
process optimization

收稿日期:2018-04-19

基金项目:“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD27B03);中央高校基本科研业务费专项项目(2013PY096)

作者简介:汪薇(1989—),女,湖北省武汉市人,华中农业大学博士研究生,主要研究方向为农产品加工及贮藏.

通信作者:杨宏(1968—),男,重庆市人,华中农业大学教授,博士生导师,主要研究方向为食品加工.

Abstract: The effect of NaOH treatment concentration and treatment time, acetic acid treatment concentration and treatment time, temperature and treatment time of preparation process on the quality of gelatin were compared by single factor test, and orthogonal test optimization process was performed, to explore the optimal preparation process of channel catfish skin gelatin. Then three hydrocolloids including carrageenan, sodium alginate and xanthan gum were selected to be compounded with channel catfish skin gelatin to improve its gelling performance. The results showed that: 1) The optimal preparation process of gelatin for channel catfish skin was first soaked in 0.2 mol/L NaOH solution for 2 h, then soaked in 0.2 mol/L acetic acid solution for 4 h, and finally extracted in hot water bath at 60 °C for 4 h. Under this process conditions, the yield of gelatin reached 73.36%, the gel strength was 434.86 g, and the gelling temperature and melting temperature were 19 °C and 26 °C, respectively. The isoelectric point pI was 6.8. The result of SDS-PAGE analysis showed that gelatin prepared by hydrolysis of fish skin was a multi-component mixture with no definite molecular weight, but a molecular weight segment. 2) When the fish skin gelatin concentration was 1.6%, the carrageenan added amount was 0.4%, and the critical concentration of the compounding gel was 2.0%, the fish skin gelatin and carrageenan had the best compounding effect. The gelling and melting temperatures of the gel were 17.6 °C and 35.1 °C, respectively, compared with the blank group, the gelling temperature and melting temperature were increased by 13.8 °C and 22.8 °C, respectively. The addition of carrageenan can improve the thermal stability of fish skin gelatin, which is of important role for improving the processing performance of fish skin gelatin.

0 引言

鱼皮是渔业加工的副产品之一,主要由水分、蛋白质、脂质、矿物质和少量碳水化合物组成,鱼皮中含有丰富的胶原蛋白,其含量达到鱼皮蛋白质总量的60%以上^[1].与普通蛋白质不同,胶原蛋白含有大量脯氨酸、羟脯氨酸和一定量的羟赖氨酸^[2-3].胶原蛋白分子长为300 nm,相对分子质量约为300 kDa,由3条多肽链借助范德华力、疏水相互作用、氢键和共价交联相互缠绕形成三股螺旋结构^[4].肽链具有重复的氨基酸序列:甘氨酸-X-Y, X通常为脯氨酸, Y为羟脯氨酸或羟赖氨酸.羟脯氨酸含量稳定,一般在13%~14%,可以通过测定羟脯氨酸的含量来推算胶原蛋白的含量.

胶原蛋白经稀酸液或稀碱液浸泡预处理后加热,可转变为可溶性的明胶, A. G. Ward等^[5]将明胶定义为温和而不可逆的胶原断裂后的主要产物.明胶生产包括原料预处理、明胶提取、纯化和干燥等步骤.预处理方法主要有酸法、碱法和酶法.酸法耗时短,废水少,但明胶纯度不

高;碱法制得的明胶品质较高,但生产周期长;酶法制胶在实验室规模上已获得较好的明胶产品,但由于在工艺上较难控制水解程度,该法存在着明胶中易残留酶、可用酶较少、生产成本高等问题,致使其在工业化生产上仍得不到推广.近年来,由于疯牛病、口蹄疫等哺乳动物传染病的传播和宗教信仰的差异,人们开始寻找鱼皮、鱼鳞、鸡皮等其他原料来代替哺乳动物明胶. L. M. Kasankala等^[6]以草鱼鱼皮作为原料提取明胶,用质量分数为1.19%的HCl溶液预处理24 h,在52.61 °C条件下提取5.12 h,明胶得率为19.83%.李丁等^[7]用NaOH溶液处理斑点叉尾鲷鱼皮制备明胶,所得凝胶强度高达337 g.因此,探索合适的预处理方法对于提高鱼皮明胶得率,改善明胶品质至关重要.

我国对于斑点叉尾鲷的加工,一般仅限于将其加工成鱼片以出口至美国、欧洲^[8],大量的鱼皮被当作废弃物扔掉,这不仅是资源的浪费,而且还会造成环境污染.因此,开发利用鱼皮资源来生产食用明胶,既可变废为宝,解决鱼类加

工副产物造成的环境污染及其综合利用问题,同时又可满足特定人群的特殊需求.然而,鱼皮明胶热稳定性较差,其热变性温度普遍低于哺乳动物明胶,如猪皮明胶的热变性温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$,而罗非鱼鱼皮明胶的热变性温度为 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[9],这就使得鱼皮明胶在夏季高温条件下易熔化变形,从而严重限制了水产类明胶的应用.亲水胶体自身具有形成凝胶的能力,将亲水胶体与鱼皮明胶进行复配,有望改善鱼皮明胶的胶凝性能,但亲水胶体与鱼皮明胶复配使用时,大分子间的热力学不兼容性尚需进一步研究.

本文拟针对斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备工艺进行研究,采用酸碱结合法预处理斑点叉尾鮰鱼皮,进而以热水浴提取制备明胶,比较 NaOH 处理浓度和处理时间、醋酸处理浓度和处理时间、熬胶温度和熬胶时间 3 种处理方法对所制鱼皮明胶品质的影响,并通过正交试验优化鱼皮明胶制备预处理工艺条件;在此基础上,针对鱼皮明胶热稳定性较差的问题,通过添加亲水胶体与鱼皮明胶进行复配,改善鱼皮明胶的胶凝性能,以满足鱼皮明胶凝胶产品加工成型的要求,为鱼皮明胶的开发利用提供新的理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

斑点叉尾鮰鱼皮,购于湖北省荆州洪湖市井力水产食品有限公司;猪皮,购于华中农业大学农贸市场;NaOH, HCl, 考马斯亮蓝 R-250, 醋酸, 乙醇等试剂,均为 AR 级,国药集团化学试剂有限公司产;卡拉胶,海藻酸钠,黄原胶,均为食品级,汇通生物科技有限公司产.

1.2 仪器与设备

DZD-400/2S 型真空包装机,江苏腾通包装公司产;AB204-S 型分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产;722 型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司产;Avanti J-E 型高

速冷冻离心机,美国 BECKMAN COULTER 公司产;HH-8 型数显恒温水浴锅,常州市国华电器有限公司产;TA-XT Plus 型质构仪,英国 Stable Micro System 公司产;AR-2000ex 型动态流变仪,美国 TA 仪器公司产;PB-10 型 pH 计,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司产;FJ200-SH 型数显高速分散均质机,上海标本模型厂产.

1.3 实验方法

1.3.1 鱼皮明胶的提取 鱼皮的预处理过程为:鱼皮($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存) $\rightarrow 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱解冻 \rightarrow 手工剥去鱼皮上粘连的脂肪组织等 \rightarrow 水洗净 \rightarrow 剪切成长约 $2\sim 5\text{ mm}$ 条状,分装备用($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏保存不宜超过 2 个月).

鱼皮明胶提取工艺流程为:鱼皮 \rightarrow 剪碎 \rightarrow NaOH 溶液处理 \rightarrow 水洗至中性 \rightarrow 醋酸溶液处理 \rightarrow 水洗至中性 \rightarrow 热水浴提胶 \rightarrow 过滤 \rightarrow 浓缩 \rightarrow 冷冻干燥 \rightarrow 明胶成品^[10].

1.3.2 鱼皮膨胀度计算 用排水法取一定体积新鲜鱼皮,经酸碱处理,水洗中和后,再测膨胀鱼皮的体积.膨胀鱼皮体积与处理前鱼皮原体积之比即为鱼皮膨胀度.

1.3.3 鱼皮明胶得率计算 鱼皮明胶得率 = 鱼皮明胶冻干样质量/鱼皮干重 $\times 100\%$.

1.3.4 鱼皮明胶凝胶强度测定 制备质量分数为 6.67% 的鱼皮明胶溶液(准确称取 7.5 g 冻干鱼皮明胶,加入 105 g 蒸馏水),于 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下溶胀 1 h 后,在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中搅拌至鱼皮明胶全部溶解,倒入直径 4 cm ,高 2 cm 的模具中,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置 $16\sim 18\text{ h}$ 成胶,采用质构仪测定鱼皮明胶的凝胶强度.

测试条件如下:采用 P/0.5 探头,触发力 5 g ,测试前速度 5.0 mm/s ,测试中速度 1.0 mm/s ,测试后速度 5.0 mm/s ,压入距离 4.0 mm .

1.3.5 鱼皮明胶提取工艺优化

1.3.5.1 单因素试验设计 以鱼皮明胶得率和凝胶强度为指标,分别研究不同 NaOH 处理

浓度(0, 0.1 mol/L, 0.2 mol/L, 0.3 mol/L, 0.4 mol/L, 0.5 mol/L)、不同 NaOH 处理时间(0.5 h, 1.0 h, 1.5 h, 2.0 h, 2.5 h)、不同醋酸处理浓度(0, 0.1 mol/L, 0.2 mol/L, 0.3 mol/L, 0.4 mol/L, 0.5 mol/L)、不同醋酸处理时间(2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h)、不同熬胶温度(40 ℃, 50 ℃, 60 ℃, 70 ℃, 80 ℃, 90 ℃)和不同熬胶时间(2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h)对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,并确定最优的鱼皮明胶提取工艺单因素条件。

1.3.5.2 正交试验设计 为了确定最佳的斑点叉尾鮰鱼皮预处理工艺条件,在单因素试验的基础上,以鱼皮明胶得率和凝胶强度为指标,以 NaOH 浓度(A)、NaOH 处理时间(B)、醋酸浓度(C)、醋酸处理时间(D)为影响因素,设计四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交试验.表1为预处理工艺正交试验因素水平表。

表1 预处理工艺正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test factor level table of pretreatment process

水平	因素			
	A/(mol · L ⁻¹)	B/h	C/(mol · L ⁻¹)	D/h
1	0.15	1.5	0.15	3.5
2	0.20	2.0	0.20	4.0
3	0.25	2.5	0.25	4.5

1.3.6 鱼皮明胶胶凝温度和熔化温度测定

制备质量分数为6.67%的鱼皮明胶溶液(方法同1.3.4)。采用动态流变仪以动态黏弹性(G' 和 G'')法测定凝胶温度和熔化温度,选用直径40 mm 平板,调节平板和样台之间的距离为0.15 mm,加热过程中用三甲基硅油密封以防止水分蒸发。

动态流变仪的参数为:振荡频率1 Hz,应变5%。设置两组温度扫描程序:降温扫描程序是从40 ℃降温到5 ℃,升温扫描程序是从5 ℃升温到40 ℃,升温和降温速率均为2 ℃/min。胶

体溶液在降温过程中, G' 迅速上升并开始大于 G'' 时,对应的温度被定义为胶凝温度.胶体溶液在升温过程中, G' 迅速下降并开始小于 G'' 时,对应的温度被定义为熔化温度^[11]。

1.3.7 鱼皮明胶的等电点测定 配制质量分数为1%的鱼皮明胶溶液,分别以浓度0.1 mol/L的HCl溶液和浓度0.1 mol/L的NaOH溶液调节为pH不同的鱼皮明胶溶液,以精密pH计测定其准确pH值,并在660 nm波长下测定各溶液的透光度 T ,做pH值与 T 的关系曲线.透光度最小时对应的pH值为鱼皮明胶的等电点^[12]。

1.3.8 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)实验 分别取1 g冷冻干燥后的鱼皮酸性胶原、鱼皮明胶和猪皮明胶,加入质量分数为5%的SDS后,采用高速分散均质机均质,再于85 ℃的水浴中保温1 h来溶解样品中的蛋白质,以8000 r/min离心20 min后取上清液,用Lorry法测定上清液中蛋白质的含量,并将蛋白质浓度调至1 mg/mL,用于SDS-PAGE分析.电泳样品在质量分数为5%的浓缩胶里进行浓缩,在质量分数为8%的分离胶里进行电泳分离.以考马斯亮蓝R-250染色,用醋酸乙醇溶液进行脱色。

1.3.9 亲水胶体对鱼皮明胶胶凝特性的影响实验 分别选择卡拉胶、海藻酸钠和黄原胶3种亲水胶体与明胶进行复配.配制质量分数为1.5%的鱼皮明胶溶液,分别加入质量分数为0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%的3种亲水胶体,制成复配胶样品,测定各样品凝胶强度。

1.4 统计学分析

为了减少实验误差,提高数据可信度,每个实验均重复3次,结果取平均值.所有数据采用Microsoft Excel和GraphPad Prism 5进行处理和作图.采用SPSS(17.0)软件对实验数据进行显著性分析:当 $P < 0.05$ 时,为差异显著;当 $P <$

0.01时,为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 鱼皮明胶提取工艺单因素试验结果分析

2.1.1 NaOH 浓度对鱼皮明胶品质的影响

考虑到中性盐溶液也具有部分除去盐溶性非胶原蛋白的作用,因此,在研究用不同浓度 NaOH 溶液处理对鱼皮明胶影响的同时,将 NaCl 溶液和 NaOH 溶液处理的样品进行比较,结果如图 1 所示,不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$),下同。

由图 1 可知,随着 NaOH 浓度的增大,鱼皮明胶的得率依次下降,并且逐渐低于 NaCl 溶液处理组 ($P < 0.05$);而凝胶强度呈现先增大后减小的趋势,且显著高于 NaCl 溶液处理组 ($P < 0.05$),表明中性盐溶液预处理所得的鱼皮明胶纯度不及碱液处理组.与空白组相比,经碱液和盐液预处理工序处理后所得的鱼皮明胶,其凝胶强度显著提高,表明浸碱工序是明胶制备工艺中必不可少的步骤.这是因为碱液浸

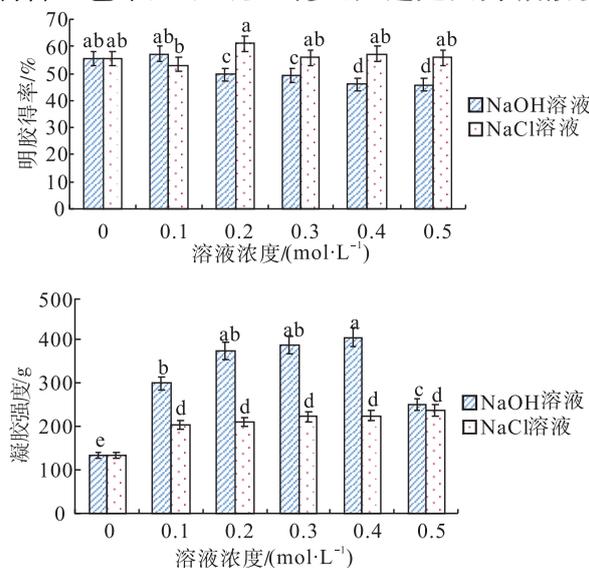


图 1 不同 NaOH 浓度和 NaCl 浓度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 1 Effect of different NaOH concentration and NaCl concentration on yield and gel strength of fish skin gelatin

泡可使碱与鱼皮脂肪发生皂化反应,除去大部分的脂肪,通过反复洗涤,能加速盐溶性蛋白的溶出,除去鱼皮中非胶原蛋白和色素等^[13],从而提高明胶品质.同时,NaOH 溶液能打断胶原中的部分氢键,使胶原分子螺旋结构展开,使得水分子易于进入形成蛋白质-水氢键,从而有助于明胶的提取.当 NaOH 浓度从 0.1 mol/L 增加到 0.2 mol/L,尽管明胶得率有所下降,但凝胶强度可达 374.67 g.当 NaOH 浓度达到 0.5 mol/L 时,凝胶强度显著减小 ($P < 0.05$),这可能是由于过高浓度的碱液处理导致鱼皮胶原间化学键断裂较充分,胶原结构十分松散,经后续加热处理,部分明胶发生次级水解,小片段进入溶液引起凝胶强度显著减小.综合考虑,NaOH 浓度选择 0.2 mol/L 为宜。

2.1.2 NaOH 处理时间对鱼皮明胶品质的影响

选择 0.2 mol/L 的 NaOH 溶液,探究 NaOH 处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,随着 NaOH 处理时间的延长,鱼皮明胶得率呈现先显著下降后上升再下降的趋势,而凝胶强度先增大后减小 ($P < 0.05$).当 NaOH 处理时间从 0.5 h 增加到 1.0 h 时,明胶

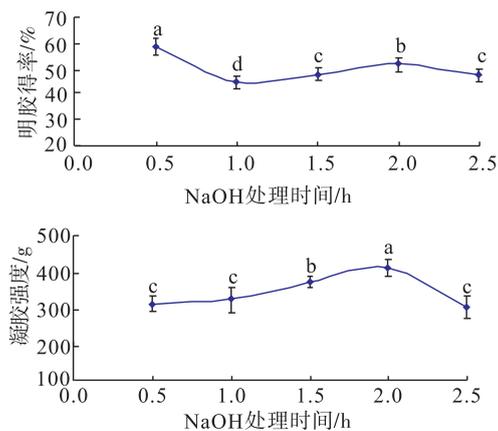


图 2 NaOH 处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 2 Effect of NaOH treatment time on yield and gel strength of fish skin gelatin

得率有明显的下降,但凝胶强度没有显著性差异($P > 0.05$),表明此时鱼皮脂肪被皂化除去,明胶纯度有所提高.当处理时间继续增加,明胶纯度也继续提高,并且 NaOH 处理打断了鱼皮上的小部分作用键,有利于明胶的提取,此时鱼皮明胶得率和凝胶强度均增大,当处理 2.0 h 时,鱼皮明胶得率和凝胶强度均达到较大值.之后随着处理时间继续增加,鱼皮明胶得率和凝胶强度均显著降低,这可能是由于 NaOH 处理时间过长导致胶原部分溶出.综合考虑,NaOH 处理时间选择 2.0 h 为宜.

2.1.3 醋酸浓度对鱼皮明胶品质的影响 经 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2.0 h 后的鱼皮,再用醋酸溶液处理,探究醋酸浓度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 3 所示.

由图 3 可知,随着醋酸浓度的增大,鱼皮明胶得率逐渐提高并达到平衡,但凝胶强度呈减小趋势.当醋酸浓度为 0.1 mol/L 时,鱼皮吸水膨胀程度较低,胶原不易溶出,尽管此时酸水解程度较小,维持了胶原分子链长,形成的三维凝胶网络稳定,凝胶强度较大,但明胶得率较低.当醋酸浓度增大到 0.2 mol/L 时,鱼皮膨胀较充分,凝胶强度略有减小,而明胶得率却有较大

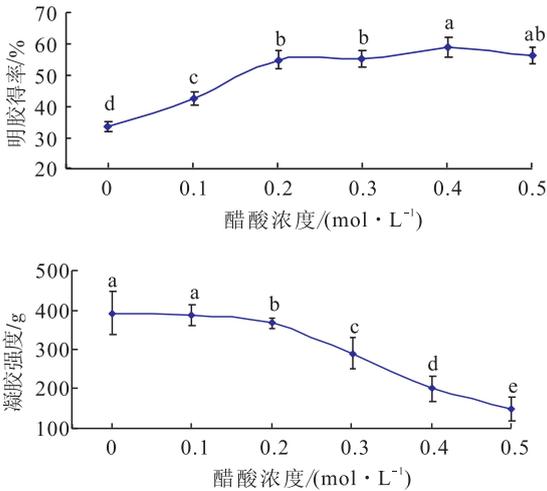


图 3 醋酸浓度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响
Fig. 3 Effect of acetic acid concentration on yield and gel strength of fish skin gelatin

幅度的提高.当醋酸浓度高于 0.2 mol/L 后,明胶得率趋于平缓,凝胶强度大幅减小($P < 0.05$),这可能是由于高浓度醋酸处理使得鱼皮明胶过水分水解成小片段,故凝胶强度降低.综上,当醋酸浓度为 0.2 mol/L 时,凝胶强度较好,得率较高.而未经浸酸工序的鱼皮,胶原仍保持了较为致密的结构,不易溶出,因此明胶得率极低,表明浸酸工艺是鱼皮明胶提取不可或缺的环节.鱼皮经温和酸预处理,可打断非共价交联键,使得胶原分子间作用力减弱,有利于熬胶过程中转化为明胶,提高明胶得率,然而凝胶强度由于酸水解略有减小.但当醋酸浓度继续升高,明胶过水分水解成小片段,不利于三维网络的形成,此时凝胶强度低.综合考虑,醋酸浓度选择 0.2 mol/L 为宜.

2.1.4 醋酸处理时间对鱼皮明胶品质的影响 经 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2 h 后的鱼皮,再用 0.2 mol/L 醋酸溶液处理,探究醋酸处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 4 所示.

由图 4 可知,当醋酸处理时间从 2 h 延长至 4 h,鱼皮明胶得率显著提高,之后趋于平缓.鱼皮明胶凝胶强度与酸浸泡时间成反比,即随

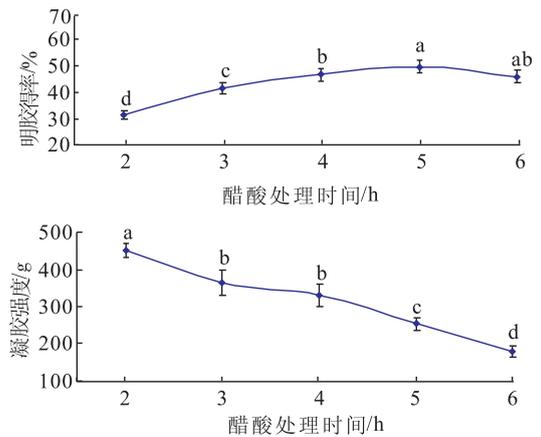


图 4 醋酸处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响
Fig. 4 Effect of acetic acid treatment time on yield and gel strength of fish skin gelatin

着醋酸作用时间的增加,凝胶强度逐渐减小($P < 0.05$)。浸酸 2 h 时所得凝胶强度最大,但此时明胶得率仅有 31.42%;醋酸浸泡 3 h 和 4 h 所得明胶凝胶强度无显著性差异($P > 0.05$),但 4 h 时明胶得率显著高于 3 h 处理组($P < 0.05$);当处理时间超过 5 h,明胶得率略有下降,凝胶强度显著减小($P < 0.05$)。随着醋酸作用时间的增加,稳定胶原螺旋结构的作用力被破坏,明胶得率上升;另一方面,酸处理使得胶原骨架主肽链部分降解^[14],其交联能力下降,凝胶强度逐渐减小。当酸处理时间过长时,可能使一些酸溶性蛋白过多地溶解在醋酸中,胶原在清洗过程中大量损失,再加上浸酸加重了明胶的次级水解,凝胶强度显著减小。综合考虑,醋酸处理时间选择 4 h 为宜。

2.1.5 熬胶温度对鱼皮明胶品质的影响 在鱼皮明胶制备预处理单因素试验基础上,继续探究熬胶温度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 5 所示。

由图 5 可知,在较低温度(40 ℃)制备的鱼皮明胶凝胶强度最大,但是明胶得率低;当熬胶温度从 40 ℃ 升高到 50 ℃ 时,明胶得率和凝胶强度变化不显著($P > 0.05$);当温度升高到

60 ℃ 时,明胶得率显著提高($P < 0.05$),但其凝胶强度有所减小($P < 0.05$);随着温度继续升高,明胶得率增加并趋于平缓,当鱼皮明胶受热超过 80 ℃ 时,过高的温度会使鱼皮明胶的凝胶强度明显减小($P < 0.05$)。因此,温度过高或过低均不符合要求,试验熬胶温度不宜超过 80 ℃,最好维持在 70 ℃ 以下。原料鱼皮经温和酸碱预处理后,胶原分子的交联键被破坏,胶原充分溶胀。之后用高于 40 ℃ 的热水浴提胶处理,氢键和一部分共价交联键断裂释放出明胶^[15],40 ℃ 是鱼皮胶原由螺旋向无规卷曲转变的温度,通过螺旋向无规卷曲的转变可破坏胶原三股螺旋结构。升高温度可打断胶原分子的次级键和少部分肽键,使 α 链断裂, α 链和少量 α 链聚集体进入溶液,形成可溶的明胶^[16]。在熬制明胶的过程中,关键是要控制温度条件,防止明胶发生次级水解^[17]。在较低的温度下制备明胶,鱼皮胶原水解温和,所得肽链较长,有助于凝胶网络结构,一般低温制备的明胶品质较好,但是产量低;明胶受热温度过高又将加速明胶的次级水解速度,分子链排序被打乱,并且蛋白质分子的氢键、范德华力也会遭到破坏^[15],致使明胶的凝胶强度急剧下降。综合考虑,熬胶温度选择 60 ℃ 为宜。

2.1.6 熬胶时间对鱼皮明胶品质的影响 选择熬胶温度为 60 ℃,探究熬胶时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 6 所示。

由图 6 可知,随着熬胶时间的延长,鱼皮明胶得率逐渐提高,当熬胶时间超过 4 h,明胶得率变化不显著($P > 0.05$),而凝胶强度随着熬胶时间的延长呈现先增大后减小的趋势。短时间加热提取明胶,胶原分子释放出的 α 肽链过少,含有高分子量的多聚体组分过多,导致此时鱼皮明胶得率和凝胶强度都较低,尤其是明胶得率。随着熬制时间的延长,鱼皮胶原水解程度增大, α 链增多,形成较为有序的凝胶网络结

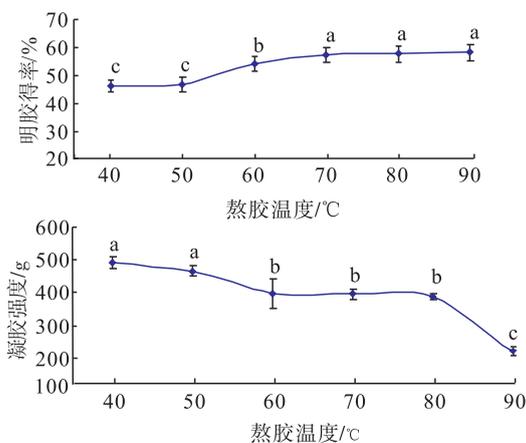


图 5 熬胶温度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 5 Effect of extraction temperature on yield and gel strength of fish skin gelatin

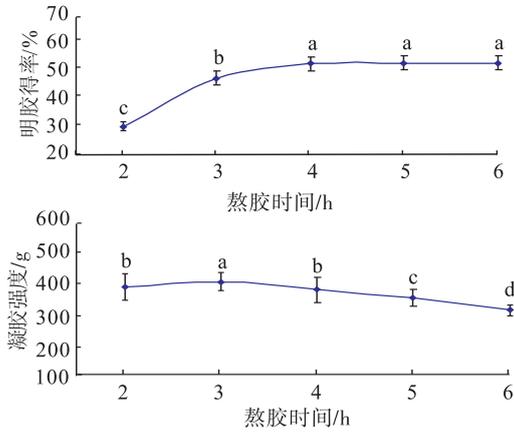


图6 熬胶时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 6 Effect of extraction time on yield and gel strength of fish skin gelatin

表2 预处理工艺正交试验设计方案与结果

Table 2 Orthogonal test design scheme and results of pretreatment process

试验号	因素				明胶得率/%	凝胶强度/g
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	56.64	397.67
2	1	2	2	2	63.75	350.27
3	1	3	3	3	69.13	298.93
4	2	1	2	3	67.69	316.75
5	2	2	3	1	65.31	350.31
6	2	3	1	2	64.82	354.41
7	3	1	3	2	67.98	319.34
8	3	2	1	3	69.31	331.31
9	3	3	2	1	65.11	322.90
k_1	63.17	64.10	63.59	62.35		
k_2	65.94	66.12	65.52	65.52		
k_3	67.47	66.35	67.47	68.71		
r	4.29	2.25	3.88	6.36		
K_1	348.96	344.59	361.13	356.96		
K_2	340.49	343.96	329.97	341.34		
K_3	324.52	325.41	322.86	315.66		
R	24.44	19.17	38.27	41.30		

注: k, r 为明胶得率极差分析; K, R 为凝胶强度极差分析

表3 正交试验明胶得率的方差分析

Table 3 Analysis of variance of gelatin yield in orthogonal test

差异来源	自由度 df	平方和 SS	均方 MS	F 值	显著性
因素	8	357.55	44.69	159.46	**
误差	18	5.05	0.28		
总和	26	362.60			
A	2	94.21	47.11	168.07	**
B	2	30.33	15.16	54.10	**
C	2	52.28	26.14	93.27	**
D	2	180.73	90.37	322.42	**

注: ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$), * 表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

构. 然而,熬胶时间过长又会导致次级水解产物增加,比 α 链小的片段增多,明胶纯度下降,明胶的凝胶强度减小且能耗增加. 综合考虑,熬胶时间选择 4 h 为宜.

2.2 鱼皮明胶制备预处理工艺正交试验结果与分析

从以上单因素试验可以看出,鱼皮经酸碱结合法预处理浸泡后充分吸水膨胀,使胶原更容易转变为明胶,并且浸碱工艺和浸酸工艺有一定的交互作用. 以鱼皮明胶得率和凝胶强度为指标,预处理工艺正交试验设计方案与结果见表 2,正交试验明胶得率和凝胶强度的方差分析结果分别见表 3 和表 4.

由表 3 可知,NaOH 浓度、NaOH 处理时间、醋酸浓度和醋酸处理时间在显著性水平上均是差异极显著的,结合表 2 可知,4 种因素对鱼皮明胶得率的影响大小为醋酸处理时间 > NaOH 浓度 > 醋酸浓度 > NaOH 处理时间,并且,以明胶得率为评定指标的最佳组合为 $A_3B_2C_1D_3$. 由表 4 可知,NaOH 浓度、NaOH 处理时间、醋酸浓度和醋酸处理时间在显著性水平上均是差异极显著的,结合表 2 可知,4 种因素对鱼皮明胶凝胶强度的影响大小为醋酸处理时间 > 醋酸浓

度 > NaOH 浓度 > NaOH 处理时间,并且,以凝胶强度为评定指标的最佳组合为 $A_1B_1C_1D_1$.

由表 2 可知,鱼皮明胶得率与其对应的凝胶强度呈现相反的趋势,需要找出二者的平衡点. 综合考虑明胶得率和凝胶强度,选择斑点叉尾鲷鱼皮明胶制备处理工艺为:NaOH 浓度为 0.2 mol/L, NaOH 处理时间 2 h, 醋酸浓度为 0.2 mol/L, 醋酸处理时间 4 h, 然后在 60 °C 条

件下水浴提取 4 h. 根据此工艺进行验证试验, 明胶得率达 73.36%, 凝胶强度为 434.86 g. 由动态流变学降温 and 升温模式测得鱼皮明胶的胶凝温度和融化温度分别为 19.0 °C 和 26.0 °C, 且此时鱼皮明胶等电点 pI 为 6.8.

表 4 正交试验凝胶强度的方差分析

Table 4 Analysis of variance of gel strength in orthogonal test

差异来源	自由度 <i>df</i>	平方和 <i>SS</i>	均方 <i>MS</i>	<i>F</i> 值	显著性
因素	8	21 583.97	2 698.00	342.20	**
误差	18	141.92	7.88		
总和	26	21 725.89			
<i>A</i>	2	2 574.97	1 287.48	192.55	**
<i>B</i>	2	3 036.13	1 518.06	163.30	**
<i>C</i>	2	7 055.66	3 527.83	447.46	**
<i>D</i>	2	8 917.21	4 458.61	565.51	**

2.3 鱼皮明胶 SDS-PAGE 实验结果分析

斑点叉尾鮰鱼皮明胶的 SDS-PAGE 实验结果如图 7 所示. 由图 7 可知, 鱼皮酸性胶原 (ASC) 的电泳条带非常明显, 具有较完整的胶原三股螺旋结构, α 组分包含 α_1 和 α_2 两条链, 相对分子质量为 120 kDa, β 链相对分子质量大约为 α 链的两倍, 表明 β 组分是 α 链的二聚体. 鱼皮经部分水解转变成明胶时, 共价交联键、次级键等的断裂是随机无规则的, 从而造成明胶分子是多组分的混合物, 没有确定的分子量. 猪皮明胶的分子量段大于鱼皮明胶, 这也解释了为什么鱼皮明胶的凝胶强度、胶凝温度和融化温度均低于猪皮明胶.

2.4 亲水胶体对鱼皮明胶品质的影响

前期试验发现, 当鱼皮明胶质量分数小于 1.5% 时, 明胶不形成凝胶; 当鱼皮明胶质量分数达到 1.5% 时, 明胶开始形成凝胶, 但此时所形成的凝胶网络结构松散. 因此, 可以认为 1.5% 是斑点叉尾鮰鱼皮明胶的最小胶凝质量分数. 由于此时明胶溶液尚未达到复配胶的临界质量分数, 可在此基础上添加一定量的亲水

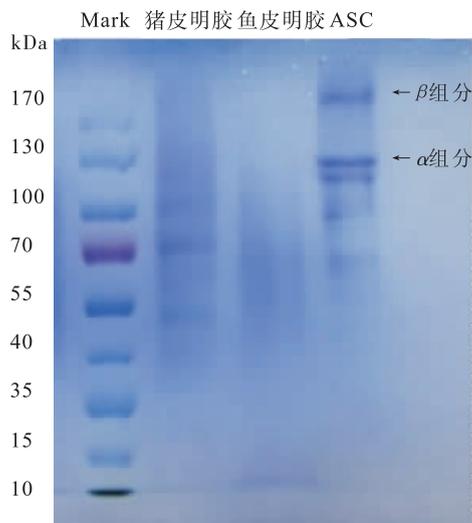


图 7 明胶样品电泳图

Fig. 7 SDS-PAGE of gelation samples

胶体. 由图 8 可知, 在鱼皮明胶与亲水胶体的复配胶中, 鱼皮明胶与卡拉胶复配效果最好, 由于海藻酸钠和黄原胶在水中分散性较差, 加入鱼皮明胶溶液中易发生聚集团. 随着卡拉胶质量分数的增加, 鱼皮明胶 - 卡拉胶复配胶的凝胶强度逐渐增大, 当卡拉胶质量分数增大到 0.5% 时, 复配胶凝胶强度达到最大值. 之后进一步增大卡拉胶质量分数, 凝胶强度反而减小, 表明此时可能超过了二者复配的临界质量分数, 且可认为鱼皮明胶 - 卡拉胶复配胶临界质量分数为 2.0%.

固定鱼皮明胶 - 卡拉胶复配胶总质量分数为 2.0%, 改变其中明胶与卡拉胶的配比, 探究不同配比下凝胶强度和持水性的变化. 由图 9 可知, 随着明胶 - 卡拉胶复配胶中卡拉胶比例的增大, 其凝胶强度显著增大, 同时失水率增加, 复配胶持水性降低. 研究发现, 卡拉胶持水性差, 当复配胶中卡拉胶所占比例较小时, 持水性较好, 在 92% 以上; 当添加质量分数为 0.4% 的卡拉胶时, 复配胶持水性为 83.68%; 但当卡拉胶质量分数增加到 0.5% 时, 复配胶持水性下降到 63.44%. 综合考虑复配胶的凝胶强度和持

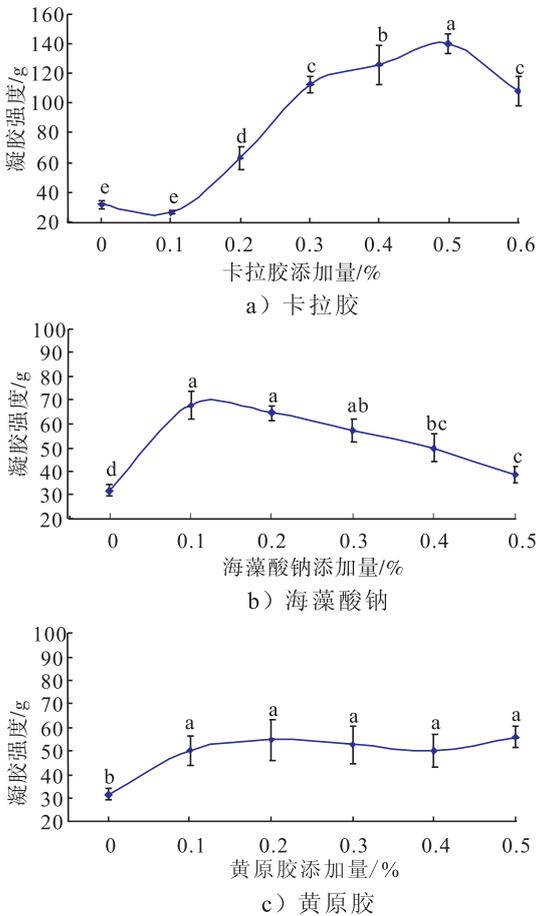


图8 亲水胶体对鱼皮明胶凝胶强度的影响

Fig. 8 Effect of hydrocolloids on the gel strength of fish skin gelatin

水性,选择鱼皮明胶质量分数为 1.6%,卡拉胶质量分数为 0.4%,明胶-卡拉胶复配胶总质量分数为 2.0%。此配方所得复配凝胶的胶凝温度和融化温度分别为 17.6 °C 和 35.1 °C,相较于空白组,其胶凝温度和融化温度分别提高了 13.8 °C 和 22.8 °C。因此,卡拉胶的加入可提高鱼皮明胶的热稳定性,并且,所得复配明胶质地均匀,弹性良好,透明度高,气味诱人。

复配溶液交互作用主要分为 3 种形式,即相容、不相容和共溶。鱼皮明胶与多糖类亲水胶体均为高聚物,发生共溶的几率较小。两种或两种以上胶体通过静电作用、氢键、共价键等发生相互作用称为相容,在胶凝临界质量分数以下,带正电荷的鱼皮明胶与卡拉胶的硫酸基团发生静电相互作用,可稳定复配胶的凝胶结构。但是

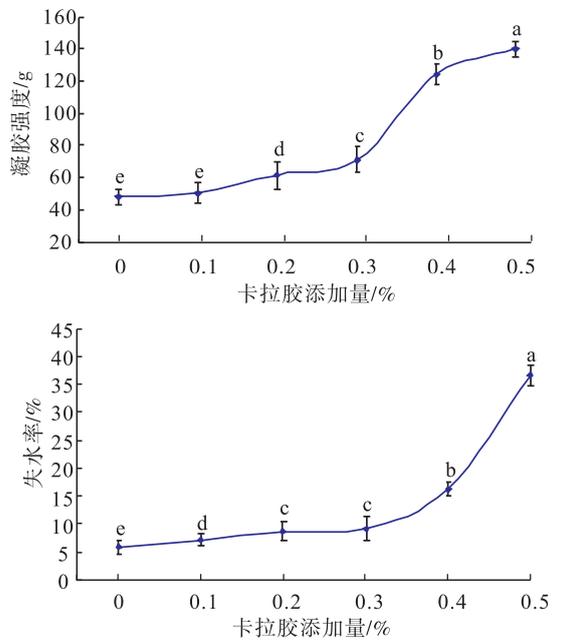


图9 不同配比对明胶-卡拉胶复配胶凝胶强度和持水性的影响

Fig. 9 Effect of different proportions on gel strength and water-holding capacity of gelatin-carrageenan mixture

当超过二者胶凝临界质量分数时,明胶与卡拉胶大分子彼此相互排斥,二者自我缔合,复配胶体系呈现不相容性。可以推断,当不添加卡拉胶时,形成的是以鱼皮明胶为主的网络结构;当逐渐增大复配体系中卡拉胶的比例时,鱼皮明胶与卡拉胶形成互穿型的网络结构,鱼皮明胶中带正电荷的基团与卡拉胶的硫酸基团发生静电反应,宏观上表现出较致密的网络结构,凝胶强度随之增大。

3 结论

本文采用酸碱结合法对鱼皮进行预处理,然后以热水浴提胶,通过单因素试验和正交试验优化鱼皮明胶制备工艺参数,确定了斑点叉尾鲷鱼皮明胶制备的最佳工艺:首先用 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2 h,然后用 0.2 mol/L 醋酸浸泡 4 h,最后在 60 °C 条件下水浴提取 4 h。此时,明胶得率达 73.36%,凝胶强

度为 434.86 g,胶凝温度和熔化温度分别为 19 ℃ 和 26 ℃,等电点 pI 为 6.8. SDS-PAGE 分析结果表明,鱼皮水解制备的明胶是多组分的混合物,没有确定的分子量,但具有分子量段. 通过卡拉胶、海藻酸钠和黄原胶 3 种亲水胶体分别与斑点叉尾鮰鱼皮明胶复配,对比得出鱼皮明胶与卡拉胶的复配效果最优,选择鱼皮明胶质量分数为 1.6%,卡拉胶质量分数为 0.4%,鱼皮明胶-卡拉胶复配胶总质量分数为 2.0%,此配方所得复配凝胶的胶凝温度和熔化温度分别为 17.6 ℃ 和 35.1 ℃,相较于空白组,其胶凝温度和熔化温度分别提高了 13.8 ℃ 和 22.8 ℃. 这表明,卡拉胶的加入可提高鱼皮明胶的热稳定性,并且,所得复配凝胶质地均匀,弹性良好,透明度高,气味诱人.

本文获得的鱼皮凝胶产品的初步配方,为研发出热稳定性好、能在夏季高温中稳定贮存的鱼皮明胶凝胶类食品提供了新的理论依据和参考,同时为解决鱼类加工副产物造成的环境污染及其综合利用问题提供了参考途径.

参考文献:

- [1] 杨树奇,章超桦,曾少葵,等. 3 种鱼皮的基本成分及氨基酸组成分析[J]. 广东海洋大学学报(自然科学版),2010,30(1):97.
- [2] 崔凤霞. 海参胶原蛋白生化性质及胶原肽活性研究[D]. 上海:中国海洋大学,2008.
- [3] YANG H S, WANG Y F, JIANG M K, et al. 2-step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelation[J]. Journal of Food Science, 2007, 72(4): C188.
- [4] PAPON P, LEBLOND J. Gelation and transitions in biopolymers[M] // The physics of phase transitions, Berlin Heidelberg: Springer, 2002: 185.
- [5] WARD A G, COURTS A. Science and technology of gelatin[M]. New York: Academic Press, 1977.
- [6] KASANKALA L M, YAN X, YAO W L, et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(17): 3338.
- [7] 李丁,刘海英,过世东. 斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2006(12): 134.
- [8] 刘海英. 斑点叉尾鮰鱼皮胶原蛋白及胶原蛋白多肽的研究[D]. 无锡:江南大学,2009.
- [9] IKOMA T, KOBAYSSHI H, TANAKA J, et al. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 32(3/5): 199.
- [10] JONGJAREONRAK A, BENIAKUL S, VISESANGNAN W, et al. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(8): 1216.
- [11] MONTERO P, FERNÁNDEZ-DÍAZ M D, GÓMEZ-GUILLÉN M C. Characterization of gelatin gels induced by high pressure[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(3): 197.
- [12] 刘小玲. 鸡骨明胶的制备、结构及功能性研究[D]. 无锡:江南大学,2005.
- [13] JONGJAREONRAK A, BENJAKUL S, VISESANGVAN W, et al. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper[J]. European Food Research and Technology, 2006, 222(3/4): 229.
- [14] 于洋,方旭波. 罗非鱼皮明胶的制备及性质研究[J]. 中国食物与营养, 2009(1): 26.
- [15] 陈小娥,方旭波,钟秋琴. 安康鱼皮明胶的制备及性质研究[J]. 食品科技, 2006(12): 173.
- [16] MONTERO P, GÓMEZ-GUILLÉN M C. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(3): 434.
- [17] 王卫东,李超,孙月娥. 鱼皮明胶的制备、特性及应用[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 484.