

# 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶理化性质的影响

陈书霖, 郝更新, 翁武银

(集美大学食品与生物工程学院, 福建厦门 361021)

**摘要:** 本文探究了酸预处理时间对鲢鱼皮明胶理化性质的影响。结果发现, 当酸预处理时间从 10 min 增加到 80 min, 鲢鱼皮的结构变得疏松, 在热水浸提中  $\beta$  肽链等胶原高分子组分易发生降解, 提取的明胶其羟脯氨酸含量从 61 个残基下降到 43 个残基/1000 个氨基酸。不管酸预处理时间多长, 提取的鲢鱼皮明胶其等电点均在 pH 9.2 附近, 但长时间的酸处理会使明胶的黏度、凝胶性能和成膜性能下降。当酸预处理时间为 10 min 时, 制备的明胶凝胶强度、膜的抗拉伸强度和断裂延伸率分别为 242.67 g、28.24 MPa 和 65.52%。根据圆二色光谱扫描的结果, 发现酸预处理时间对明胶二级结构没有明显的影响, 但酸预处理时间越长, 提取的明胶在干燥过程中越不易复性形成三股螺旋结构, 结果导致成膜性能下降。

**关键词:** 鲢鱼皮; 酸预处理; 明胶; 理化性质; 凝胶性能; 成膜性能

文章编号: 1673-9078(2016)6-239-245

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.038

## Effect of Acid Pretreatment Time on the Physicochemical Properties of Gelatin Produced from Silver Carp Skins

CHEN Shu-lin, HAO Geng-xin, WENG Wu-yin

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

**Abstract:** In this study, the effect of acid pretreatment duration on the physicochemical properties of gelatin from silver carp skins was investigated. The results showed that when the acid pretreatment time was increased from 10 to 80 min, the structure of silver carp skin was loosened; the high molecular weight fractions of collagen, including the  $\beta$ -chain, were susceptible to degradation during the hot-water extraction. The hydroxyproline content of the extracted gelatin was decreased from 61 to 43 residues per 1000 amino acid residues. The isoelectric point of gelatin from silver carp skins was approximately at pH 9.2, regardless of the duration of acid pretreatment. However, viscosity, gel properties, and film-forming ability of extracted gelatin were decreased after long acid pretreatment. When the acid pretreatment time was 10 min, the strength of prepared gelatin gel, the tensile strength, and the elongation at break of the prepared gelatin gel were 242.67 g, 28.24 MPa, and 65.52%, respectively. Based on circular dichroic analysis, the acid pretreatment time had no significant effect on the secondary structure of extracted gelatin. However, the longer the acid pretreatment time, the more difficult it became to form triple helical structures through renaturation route in the drying process of the gelatin solution, resulting in a decrease in film-forming ability.

**Key words:** silver carp skins; acid pretreatment; gelatin; physicochemical properties; gel properties; film-forming ability

明胶是胶原的变性产物, 由于其具有良好的凝胶性和成膜性, 已被广泛应用于食品、医药等领域<sup>[1]</sup>。然而, 目前市售明胶主要是利用猪、牛等的皮和骨进行生产, 但由于疯牛病、口蹄疫的频繁爆发和宗教信仰等原因, 哺乳动物来源明胶的应用受到一定的限制<sup>[2]</sup>。另一方面, 2014 年我国淡水鱼年产量已超过 2700

收稿日期: 2015-08-18

基金项目: 福建省杰出青年科学基金项目(2014J06013); 国家自然科学基金(31271984); 厦门市海洋经济发展专项资金(14CZP031HJ05)

作者简介: 陈书霖(1989-), 男, 硕士, 研究方向: 水产品加工副产物综合利用

通讯作者: 翁武银(1974-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 蛋白质化学和水产加工副产物综合利用研究

万 t<sup>[3]</sup>, 在淡水鱼加工过程中必然会产生大量的鱼皮、鱼鳞等副产物。据报道, 鱼皮中含有丰富的蛋白质, 其中 80% 左右的蛋白属于胶原蛋白<sup>[4]</sup>。因此, 利用鱼皮等鱼类加工副产物制备明胶成为研究热点。

天然不溶的胶原需要通过预处理, 破坏稳定胶原结构的共价键, 使胶原发生溶胀和溶解<sup>[5]</sup>。按照预处理方法的不同, 明胶分为酸法明胶(A 型明胶)、碱法明胶(B 型明胶)和酶法明胶。通常, A 型明胶的等电点在 pH 6~9 之间, 而 B 型明胶的等电点在 pH 5 左右<sup>[2]</sup>, 且有研究表明 A 型明胶的表面活性强于 B 型明胶<sup>[6]</sup>。由于鱼皮胶原纤维中的交联在酸性条件下不稳定, 适当的酸预处理即可使胶原溶解出来<sup>[7-8]</sup>。据报道, 单角革鲀鱼皮经磷酸预处理提取的明胶其凝胶强度优于

乙酸预处理的样品<sup>[9]</sup>。与柠檬酸相比,盐酸处理鲢鱼鳞提取的明胶其羟脯氨酸的含量较高,当盐酸浓度小于0.2 M时,鱼鳞明胶的凝胶强度随着盐酸浓度的增加而增大<sup>[10]</sup>。这些研究表明了预处理采用的酸的种类和浓度对明胶性质具有明显的影响,然而有关酸预处理时间对鱼皮明胶性质影响的研究却尚未见报道。

因此,本研究以我国四大淡水鱼之一的鲢鱼加工副产物-鱼皮为原料,考察酸预处理时间对提取明胶性质的影响,为利用淡水鱼加工副产物提取优质明胶提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

原料:白鲢鱼(约1 kg/条)购于当地农贸市场,经鉴定学名为 *Hypophthalmichthys molitrix*。

主要试剂:氢氧化钠、盐酸、甘油、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、无水乙醇、氢氧化钾,AR,西陇化工股份有限公司;25%戊二醛溶液、硝酸,AR,国药集团化学试剂有限公司;DC 蛋白测定试剂盒,美国 Bio-Rad 公司。

### 1.2 主要仪器设备

UM-113 型搅拌脱泡机,日本 Unix 有限公司;PSX 智能型恒温恒湿箱,宁波莱福科技有限公司;UV-8000A 紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;TMS-PRO 质构仪,美国 Food Technology 公司;WSC-S 测色色差计,上海精密科学仪器有限公司;J-810 圆二色光谱仪,日本 Jasco 公司;S-4800 型冷场扫描电镜,日本日立制作所;BrookField DV-II 粘度计,美国 Brookfield 公司;NanoZS Zeta 电位仪,英国 Marlvern 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 鱼皮前处理和明胶提取

鱼皮明胶的前处理和提取参考 Jongjareonrak 等<sup>[11]</sup>报道的方法并做些许改动。由新鲜鲢鱼剥下来的鱼皮经冰水漂洗,在4℃下利用0.05 mol/L NaOH 浸泡16 h后,用冰水漂洗至中性,再于4℃下利用0.05 mol/L HCl 浸泡一定时间(10~80 min),冰水漂洗至中性后,在80℃水浴下浸提2 h,浸提液迅速冷却至室温后通过离心(15000×g, 20℃, 15 min),获得的上清液进行冷冻干燥制备成明胶粉末,供以下实验使用。

#### 1.3.2 扫描电镜观察

将 HCl 前处理、冰水漂洗后的鱼皮切成小块,利

用2.5%戊二醛溶液在4℃下固定24 h后,再用0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.2)漂洗,然后依次用30%、50%、60%、70%、80%、90%和100%乙醇进行梯度脱水,经过二氧化碳临界点干燥,离子溅射仪喷金后,用扫描电镜对鱼皮的微观结构进行观察,加速电压为5kV。

#### 1.3.3 SDS-PAGE

将前处理后的鱼皮、冷冻干燥的明胶粉末、制备的凝胶和蛋白膜利用含2% SDS、8 mol/L 尿素、20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.8)的蛋白变性剂溶解后,经过离心(10000 r/min, 15 min, 20℃),上清液中的蛋白根据 Laemmli<sup>[12]</sup>报道的方法进行 SDS-PAGE 分析。其中浓缩胶和分离胶的浓度分别为4%和6%。在10 mA 电流下进行电泳后,用考马斯亮蓝 R-250 染色液染色,利用脱色液(甲醇:乙酸:水=3:1:6, V/V/V)脱色至背景完全透明,再进行照相。

#### 1.3.4 Zeta 电位

冻干的鱼皮明胶用蒸馏水调制成浓度为0.5 mg/mL 溶液,利用 Zeta 电位仪测定其电位,明胶溶液的 pH 利用1.0 mol/L HNO<sub>3</sub> 和1.0 mol/L KOH 进行调节。

#### 1.3.5 氨基酸分析

鱼皮明胶粉末经6 mol/L HCl 水解24 h后,利用氨基酸分析仪测定其氨基酸组成。

#### 1.3.6 明胶黏度

鱼皮明胶利用蒸馏水于室温下溶胀30 min后,经60℃水浴加热60 min 使明胶充分溶解,调制成6.67% (m/V)的明胶溶液,流水冷却至室温后利用粘度计测定其黏度,转子为S63,转速为60 r/min。

#### 1.3.7 鱼皮明胶凝胶的制备

鱼皮明胶凝胶的制备参考了黄玉平等<sup>[13]</sup>的明胶凝胶制备方法。将鱼皮明胶按照1.3.6的方法调制成6.67% (m/V)的明胶溶液,装入直径3.5 cm、高3 cm的不锈钢圈内,两端密封后放在4℃冰箱16~18 h 制备成凝胶,供凝胶强度测定使用。

#### 1.3.8 明胶凝胶强度的测定

在室温下利用 TMS-PRO 质构仪,直径为1.27 cm 的球形探头,在下压速度为0.5 mm/s 下测定凝胶强度,压入4 mm 时为鱼皮明胶凝胶的最大强度值。

#### 1.3.9 明胶膜的制备

明胶膜参考翁武银等<sup>[14]</sup>报道的方法进行制备。将明胶溶液的蛋白浓度调配成2% (m/V),并添加蛋白质质量20% (m/m)的甘油,利用搅拌脱泡机对其进行脱泡后,将制备的溶液(4 g)倒在5 cm×5 cm 的有机硅树脂框内,放在相对湿度(RH)为50%、温度为

25 °C 的恒温恒湿箱中干燥 24 h 后制备成明胶膜，揭膜后继续放在恒温恒湿箱中平衡 48 h，作为以下实验的测试样品。

### 1.3.10 膜的性质分析

#### 1.3.10.1 机械性能

明胶膜机械性能的测定参考翁武银等<sup>[14]</sup>报道的方法。将明胶膜切成宽 15 mm，长 45 mm 矩形长条，测定厚度后，利用 TMS-PRO 质构仪对膜进行拉伸试验。力量感应元为 100 N，初始间隔为 30 mm，拉伸速率为 60 mm/min。膜的拉伸强度 (TS) 和断裂伸长率 (EAB) 按照以下公式进行计算：

$$TS \text{ (MPa)} = F/S$$

$$EAB \text{ (%) } = (E/30) \times 100$$

式中，F 为膜断裂时承受的最大张力 (N)；S 为膜的横断面积 (m<sup>2</sup>)，是膜的宽度和厚度的乘积；30 为膜断裂时被拉伸的长度 (mm)。

#### 1.3.10.2 颜色和透光率

利用色差计对明胶膜的颜色进行测定，膜的颜色采用 L\* (黑-白)、a\* (绿-红)、b\* (蓝-黄) 值进行表示。明胶膜的透光率和透明度值按照 Hoque 等<sup>[15]</sup>的方法测定，利用紫外分光光度计测定膜在 600 nm 波长下的透光率，膜的透明度值按以下公式进行计算：

$$\text{透明度值} = -\lg T_{600}/x$$

式中，T<sub>600</sub> 为膜在 600 nm 波长下的透光率值；x 为膜的厚度 (mm)。透明度值越高表示蛋白膜越不透明。

### 1.3.11 圆二色光谱分析

室温下利用圆二色光谱仪测定明胶溶液和明胶膜在 190~250 nm 范围内的光谱。测定明胶溶液时，利用 1 mm 光径的石英比色皿对浓度为 0.1 mg/mL 明胶溶液进行扫描。测定明胶膜时，将一定量浓度为 1 mg/mL 的明胶溶液涂在石英片，在 15 °C、20 °C、25 °C 下干燥成膜后再利用圆二色光谱仪进行扫描。采用曲线拟合软件 CDPro 计算明胶溶液及明胶膜的二级结构组成。

### 1.3.12 数据统计与分析

所有数据采用 SPSS17.0 软件进行 ANOVA 方差分析，显著性检验方法为 Duncan 多重检验，检测限为 0.05。

## 2 结果与讨论

### 2.1 鱼皮的微观结构

由图 1 可知，新鲜的鲢鱼皮主要呈现紧密有序的束状纤维结构，与 Rawdkuen 等<sup>[16]</sup>报道的罗非鱼皮结构类似。经过酸预处理 10 min 后，鲢鱼皮原有的紧密结构开始变得疏松；随着酸处理时间的延长，鱼皮中束状纤维逐渐转变成丝状纤维网络结构，在酸预处理 80 min 后甚至出现大量的孔洞。这可能是提高 H<sup>+</sup> 浓度将有利于水分子接近胶原纤维，进而影响胶原的溶胀和溶解性能<sup>[17]</sup>。

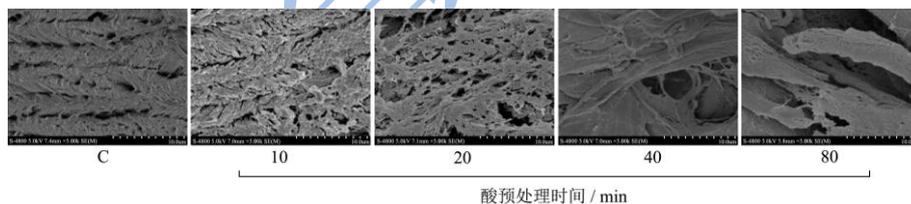


图 1 酸预处理时间对鲢鱼皮微观结构的影响 (×5000)

Fig.1 Effect of acid pretreatment time on the microstructure of silver carp skins (×5000)

注：C：新鲜鱼皮。

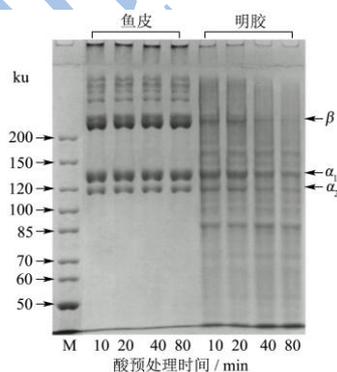


图 2 酸预处理时间对鲢鱼皮及其明胶蛋白组成的影响

Fig.2 Effect of acid pretreatment time on the protein composition of silver carp skins and gelatins

注：M：标准蛋白。

### 2.2 鱼皮及明胶的 SDS-PAGE

从图 2 中可以看到，即使经过不同时间的酸预处理，鲢鱼皮中 β 肽链、α<sub>1</sub> 肽链、α<sub>2</sub> 肽链，以及分子量高于 β 肽链的胶原蛋白组分没有明显的变化，这表明酸预处理只会影响鱼皮的结构。当预处理后的鱼皮利用 80 °C 热水浸提时，发现利用酸预处理 10~20 min 的鱼皮提取的明胶不仅含有 β 肽链、α<sub>1</sub> 肽链和 α<sub>2</sub> 肽链，还出现两条分子量分别为 160 ku、85 ku 左右的蛋白条带。然而，当进一步延长酸预处理时间时，提取的鱼皮明胶中几乎看不到 β 肽链。据报道，罗非鱼鳞在

pH>5、80℃下浸提时，由于内源性蛋白酶的作用明胶容易发生酶解<sup>[18]</sup>。本研究中浸提的鲢鱼皮明胶溶液 pH 为 5.0 左右，因此推测明胶蛋白的降解可能与蛋白酶的作用有关。

### 2.3 明胶的 Zeta 电位

由图 3 可以看出，无论酸预处理时间如何变化，热水浸提的鱼皮明胶溶液的 pH 从 3.0 增加到 6.0 时，明胶表面电荷均快速下降。当明胶溶液从 pH 6.0 增加到 9.0 时，明胶表面电荷下降速度明显减缓。而且，在 pH 为 9.2 时，不同酸预处理条件下制备的鱼皮明胶其表面电荷都接近 0，表明鲢鱼皮明胶等电点为 9.2。有研究报道，提高预处理的柠檬酸浓度会导致氨基酸组成中的谷氨酰胺和天冬酰胺发生脱氨基作用，结果使明胶的等电点发生下降<sup>[19]</sup>。然而，可能是因为 HCl 是强电解质，在水中能够完全电离出 H<sup>+</sup>，迅速对鱼皮胶原氨基酸产生脱氨基作用，因此即使经过不同时间的酸预处理热水浸提鲢鱼皮明胶等电点没有发生明显的变化。

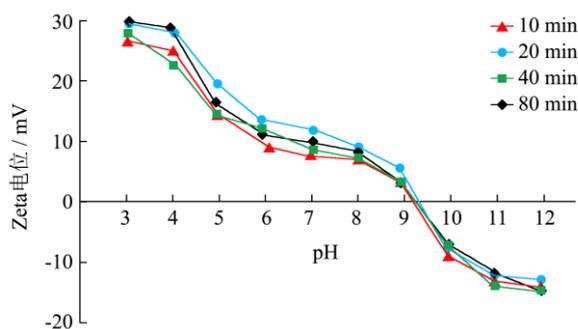


图 3 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶 Zeta 电位的影响

Fig.3 Effect of acid pretreatment time on the zeta potential of gelatin from silver carp skins at different pH values

### 2.4 明胶的氨基酸组成

由表 1 可知，鲢鱼皮经过 10~80 min 酸预处理后，热水浸提获得的明胶中甘氨酸含量最高，分布在 342~354 个残基/1000 个氨基酸残基之间，略高于 Tang 等<sup>[20]</sup>报道的鲢鱼皮胶原 (335 个残基/1000 个氨基酸残基)。明胶中丙氨酸含量随着酸预处理时间的延长，出现先降低后上升的趋势，当酸预处理为 40 min 时含量最低。这与张兵等<sup>[21]</sup>在研究预处理酸浓度对酶法提取牛骨明胶时丙氨酸含量变化趋势类似。据报道，酸预处理会使得明胶酸性氨基酸的含量增加，色氨酸和含硫氨基酸的含量减少<sup>[22]</sup>。在本研究中随着酸预处理时间的延长，明胶中的甲硫氨酸含量也出现明显的下降 (表 1)。通常，亚氨基酸 (脯氨酸与羟脯氨酸) 对胶

原三维网络结构的稳定起重要作用。Hao 等<sup>[23]</sup>比较了不同前处理方法对热水浸提鲢鱼皮明胶性质的影响，结果发现直接利用 50℃ 纯水浸提的明胶其羟脯氨酸含量低于碱预处理鱼皮明胶的羟脯氨酸含量，但二者都高于酸预处理明胶的羟脯氨酸含量。在本研究中，伴随酸预处理时间的延长，热水浸提鲢鱼皮明胶的亚氨基酸尤其羟脯氨酸含量出现明显的下降 (表 1)，表明延长酸预处理时间可能会破坏羟脯氨酸，进而影响鱼皮胶原的稳定性。

表 1 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶氨基酸组成的影响 (氨基酸残基数/1000 个氨基酸残基)

Table 1 Effect of acid pretreatment time on the amino acid composition of gelatin from silver carp skins (number of amino acid residues per 1000 total amino acid residues)

氨基酸	酸预处理时间/min			
	10	20	40	80
天冬氨酸 Asp	47	48	49	49
苏氨酸 Thr	23	23	24	25
丝氨酸 Ser	31	31	32	32
谷氨酸 Glu	79	81	82	80
甘氨酸 Gly	342	351	354	348
丙氨酸 Ala	116	104	97	122
半胱氨酸 Cys	0	0	0	1
缬氨酸 Val	20	21	21	22
甲硫氨酸 Met	15	14	13	6
异亮氨酸 Ile	11	12	13	13
亮氨酸 Leu	21	24	26	26
苯丙氨酸 Phe	4	5	7	7
酪氨酸 Tyr	14	14	14	13
赖氨酸 Lys	26	27	27	27
组氨酸 His	5	6	6	6
精氨酸 Arg	54	55	55	54
脯氨酸 Pro	130	135	133	126
羟脯氨酸 Hyp	61	49	47	43

### 2.5 明胶的黏度和凝胶强度

表 2 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶黏度和凝胶强度的影响

Table 2 Effect of acid pretreatment time on the viscosity and gel strength of gelatin from silver carp skins

酸预处理时间/min	黏度/(mPa·s)	凝胶强度/g
10	10.50±0.79 <sup>a</sup>	242.67±7.51 <sup>a</sup>
20	9.97±0.45 <sup>a</sup>	236.50±8.43 <sup>a</sup>
40	6.17±0.35 <sup>b</sup>	215.67±6.06 <sup>b</sup>
80	4.03±0.45 <sup>c</sup>	190.00±7.55 <sup>c</sup>

注：同一列中相同小写字母表示差异不显著 (p>0.05)。

从表 2 中可以看到, 鱼皮经过酸预处理 10 min 后利用 80 °C 热水浸提的明胶其黏度与酸预处理 20 min 后提取的样品无显著差异 ( $p>0.05$ ), 但进一步延长酸预处理的时间, 明胶的黏度开始出现显著的下降低趋势 ( $p<0.05$ )。通常, 明胶溶液的黏度主要受明胶的分子量及其分子量分布的影响<sup>[19]</sup>。由于延长酸预处理时间, 热水提取的鲢鱼皮明胶中高分子蛋白容易发生降解 (图 2), 结果导致明胶溶液的黏度发生下降。另一

方面, 明胶的凝胶强度与其  $\alpha$  组分的含量有关<sup>[24]</sup>, 延长酸预处理时间后, 明胶中  $\alpha$  亚基也发生了降解 (图 2), 结果导致制备的明胶其凝胶强度也发生了下降(表 2)。

## 2.6 明胶膜的性质

### 2.6.1 机械性能

表 3 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶膜抗拉伸强度 (TS)、断裂延伸率 (EAB)、颜色和透明度值的影响

Table 3 Effect of acid pretreatment time on the tensile strength (TS), elongation at break (EAB), color and transparency value of gelatin film from silver carp skins

酸预处理 时间/min	TS/MPa	EAB/%	颜色			透明度值
			L*	a*	b*	
10	28.24±3.36 <sup>a</sup>	65.52±6.43 <sup>b</sup>	89.88±0.24 <sup>b</sup>	-0.97±0.17 <sup>a</sup>	2.41±0.14 <sup>a</sup>	1.68±0.17 <sup>b</sup>
20	19.09±2.31 <sup>b</sup>	70.84±5.94 <sup>b</sup>	90.48±0.36 <sup>a</sup>	-0.84±0.17 <sup>a</sup>	1.92±0.39 <sup>ab</sup>	2.18±0.21 <sup>a</sup>
40	9.74±1.69 <sup>c</sup>	80.99±7.77 <sup>a</sup>	90.39±0.18 <sup>a</sup>	-0.81±0.04 <sup>a</sup>	2.06±0.19 <sup>ab</sup>	2.31±0.19 <sup>a</sup>
80	8.61±1.13 <sup>c</sup>	86.22±8.41 <sup>a</sup>	90.67±0.22 <sup>a</sup>	-0.81±0.21 <sup>a</sup>	1.69±0.25 <sup>b</sup>	1.97±0.37 <sup>ab</sup>

注: 同一列中相同小写字母表示差异不显著 ( $p>0.05$ )。

当酸预处理时间为 10 min 时, 鲢鱼皮明胶膜的抗拉伸强度 (TS) 和断裂延伸率 (EAB) 分别为 28.2 MPa 和 65.5% (表 3), 略优于 Wu 等<sup>[25]</sup>在 22 °C 下制备的鲢鱼皮明胶膜 (TS=25.3 MPa, EAB=48.1%)。然而, 酸预处理 10~40min 热水浸提明胶制备的蛋白膜其 TS 呈现降低的趋势 ( $p<0.05$ ), 并在酸预处理时间超过 40 min 后趋于稳定 ( $p>0.05$ )。明胶膜的 TS 与明胶溶液的黏度存在一定的正相关关系 ( $R^2=0.8377$ )。另一方面, 利用酸预处理 10~20 min 的鱼皮制备的明胶膜其 EAB 明显低于酸预处理 40~80 min 的样品 ( $p<0.05$ )。研究表明, 明胶中高分子量组分越多, 氨基酸含量越高, 明胶膜的机械性能越强<sup>[26]</sup>。因此, 不同酸预处理时间鲢鱼皮明胶膜性质的差异主要与明胶分子量分布、氨基酸组成的不同有关 (图 2, 表 1)。

### 2.6.2 颜色和透明度值

表 3 还给出了酸预处理时间对鲢鱼皮明胶膜颜色和透明度值影响的结果。与白板 ( $L^*=91.86$ 、 $a^*=-0.88$ 、 $b^*=1.42$ ) 相比较, 利用酸预处理 10 min 的鱼皮制备的蛋白膜其  $L^*$ 值、 $a^*$ 值基本一致,  $b^*$ 值略高, 表明鲢鱼皮明胶膜在外观接近白色。延长酸预处理时间后, 明胶膜的  $L^*$ 值出现一定程度的增加,  $a^*$ 值无明显变化 ( $p>0.05$ ),  $b^*$ 值呈现减小的趋势 ( $p<0.05$ ), 说明制备的明胶膜更接近白色。另一方面, 从表 3 还可以看到, 酸预处理 10 min 的鱼皮明胶膜其透明度值与塑料包装膜 OPP (1.67) 及 PE (1.51)<sup>[27]</sup>的透明度值接近。延长酸预处理时间制备的明胶膜的透明度值虽然出现了一定程度的增加, 但都低于塑料包装膜 PVDC

(4.58) 和 LDPE (3.05)<sup>[27]</sup>的透明度值, 表明了鲢鱼皮明胶膜外观透明, 具有作为包装材料的应用潜力。

## 2.7 明胶凝胶和明胶膜的 SDS-PAGE

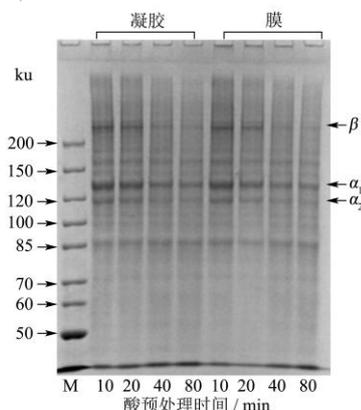


图 4 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶凝胶及明胶膜蛋白组成的影响

Fig.4 Effects of acid pretreatment time on the protein composition of gelatin gels and films from silver carp skins

注: M: 标准蛋白。

从图中可以看到, 酸预处理 10~20 min 的明胶凝胶含有  $\beta$ 、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  肽链, 以及分子量约为 160 ku 和 85 ku 的蛋白组分, 而酸预处理 40 min 后的明胶凝胶中几乎看不到  $\beta$  肽链, 且  $\alpha$  肽链的含量也相对较少, 小于  $\alpha_2$  肽链的小分子组分出现增加现象。这与不同酸预处理时间下鲢鱼皮明胶的蛋白组成类似 (图 2), 表明在凝胶形成过程中明胶的肽链没有发生聚合反应。同样的现象也出现在明胶成膜后蛋白组分的变化中 (图

4)。通常，明胶的凝胶强度及膜的机械性能与其分子量分布有关，凝胶强度主要取决于 $\alpha$ 组分的含量，而膜强度与膜中高分子组分的含量呈正相关关系<sup>[24,28]</sup>。因此，伴随着酸预处理时间的延长，明胶的凝胶强度和明胶膜的机械性能均出现下降的趋势（表2，表3）。

### 2.8 明胶溶液和明胶膜的圆二色（CD）光谱

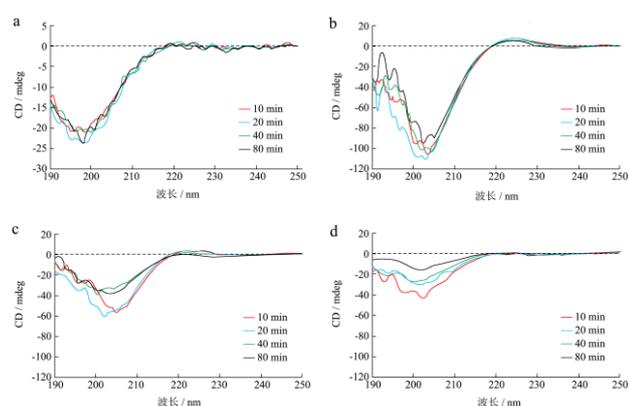


图5 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶及明胶膜圆二色光谱的影响

Fig.5 Effect of acid pretreatment time on CD spectra of gelatin from silver carp skins and the resulting films

from silver carp skins and the resulting films

注：a：明胶溶液；b：15℃制备的明胶膜；c：20℃制备的明胶膜；d：25℃制备的明胶膜。

表4 酸预处理时间对鲢鱼皮明胶及明胶膜二级结构含量的影响

Table 4 Effect of acid pretreatment time on secondary structure content (%) of gelatin from silver carp skins and the resulting films

		螺旋	$\beta$ -折叠	转角	无规则卷曲
明胶溶液	10 min	18.9	4.4	27.5	51.1
	20 min	18.1	4.2	29.8	51.8
	40 min	16.7	4.7	29.7	53.8
	80 min	19.5	5.2	27.9	51.0
15℃制备的明胶膜	10 min	27.0	15.0	23.8	33.9
	20 min	25.0	11.3	28.5	36.0
	40 min	21.1	23.8	19.7	35.6
	80 min	24.4	21.3	21.8	32.0
20℃制备的明胶膜	10 min	20.6	22.8	24.4	33.1
	20 min	14.3	30.9	25.0	31.6
	40 min	13.5	30.4	22.6	33.0
	80 min	15.7	30.6	23.3	31.1
25℃制备的明胶膜	10 min	11.8	23.6	25.1	39.4
	20 min	9.1	29.6	24.9	35.9
	40 min	4.5	27.9	27.1	39.5
	80 min	2.2	40.6	28.0	26.8

通常，胶原的CD光谱图在220~230 nm和200 nm

附近分别存在代表三螺旋结构的正吸收峰和无规则卷曲的负吸收峰<sup>[29]</sup>。由图5a可知，不管酸预处理时间多长，明胶溶液均在224 nm和198 nm附近各存在一个微弱的正吸收峰和负吸收峰。利用曲线拟合软件CDPro对CD光谱图进行分析，发现酸预处理10 min明胶溶液的螺旋、 $\beta$ -折叠、转角和无规则卷曲的含量分别为18.8%、4.4%、27.5%和51.1%（表4）。当明胶溶液放在15℃下干燥成膜时（图5b），发现10~80 min酸预处理制备的明胶膜在224 nm附近和200 nm附近都具有明显的正吸收峰和负吸收峰，膜中螺旋结构的含量分布在21.1~27.0%（表4）。当干燥温度提高到20℃时（图5c），酸预处理10~20 min制备的明胶膜虽然在224 nm附近仍存在正吸收峰，但其强度明显减弱，而酸预处理40~80 min制备的明胶膜没有出现正吸收峰。然而，进一步提高干燥温度至25℃后（图5d），酸预处理10~80 min制备的明胶膜都只在200 nm附近存在负吸收峰，且其强度随着酸处理时间的延长还出现了一定程度的下降，二级结构分析的结果也表明膜中螺旋结构的含量呈下降的趋势（表4）。据报道，罗非鱼皮明胶 $\alpha$ 亚基在低于变性温度下干燥成膜时容易复性形成具有三螺旋结构<sup>[30]</sup>，而且螺旋结构的含量还将直接影响明胶膜的机械性能<sup>[31]</sup>。因此，图5的结果表明，酸预处理时间越长，由于提取制备的明胶亚基遭到破坏（图4），明胶溶液在干燥过程中不容易复性形成三股螺旋结构（表4），结果无法形成具有优越机械性能的明胶膜（表2）。

### 3 结论

酸预处理时间对热水浸提的鲢鱼皮明胶的黏度、凝胶性能和成膜性能产生显著的影响。伴随酸预处理时间的延长，热水浸提的鱼皮明胶的高分子组分容易发生降解，亚氨基酸含量尤其羟脯氨酸含量出现明显减少，结果导致明胶的黏度、凝胶强度和成膜性能都出现下降的趋势。然而，酸预处理时间对鲢鱼皮明胶的等电点没有产生明显的影响。圆二色光谱的分析结果显示，长时间酸预处理制备的鱼皮明胶溶液在干燥过程中不易复性形成三股螺旋结构，导致成膜性能下降。

### 参考文献

[1] Gómez-Guillén M C, Turnay J, Fernández-Díaz M D, et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study [J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(1): 25-34

[2] Karim A A, Bhat R. Fish gelatin: properties, challenges, and

- prospects as an alternative to mammalian gelatins [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 563-576
- [3] 农业部渔业局.中国渔业统计年鉴 2014[M].北京:中国农业出版社,2014
- Bureau of Fisheries of the Ministry of Agriculture. China fisheries yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2014
- [4] 韩凤杰,赵征,胡晓鹏.酶法制取鲮鱼皮胶原蛋白寡肽工艺的研究[J].现代食品科技,2006,22(2):135-137
- HAN Feng-jie, ZHAO Zheng, HU Xiao-peng. Study on enzymatic production of *Cirrhina Molitorella* skin collagen oligopeptide [J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(2): 135-137
- [5] Boran G, Regenstein J M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin [J]. Journal of Food Science, 2009, E432-E441
- [6] Hattrem M N, Molnes S, Haug I J, et al. Interfacial and rheological properties of gelatin based solid emulsions prepared with acid or alkali pretreated gelatins [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 700-707
- [7] Benjakul S, Oungbho K, Visessanguan W, et al. Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus* [J]. Food Chemistry, 2009, 116(2): 445-451
- [8] Montero, P, Border ás, J, Turnay, J, et al. Characterization of hake (*Merluccius merluccius L.*) and trout (*Salmo irideus Gibb*) collagen [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38(3): 604-609
- [9] Ahmad M, Benjakul S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 381-388
- [10] Wang Y, Regenstein J M. Effect of EDTA, HCl, and citric acid on Ca salt removal from Asian (silver) carp scales prior to gelatin extraction [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(6): C426-C431
- [11] Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(4): 492-501
- [12] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227(5259): 680-685
- [13] 黄玉平,翁武银,张希春,等.鱼皮明胶蛋白对淡水鱼糜凝胶特性的影响[J].中国食品学报,2013,12(11):51-58
- HUANG Yu-ping, WENG Wu-yin, ZHANG Xi-chun, et al. Effect of fish skin gelatin on gel property of surimi from freshwater fish [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 12(11): 51-58
- [14] 翁武银,刘光明,苏文金,等.鱼皮明胶蛋白膜的制备及其热稳定性[J].水产学报,2011,35(12):1890-1896
- WENG Wu-yin, LIU Guang-ming, SU Wen-jin, et al. Preparation and thermal stability of gelatin edible films from shark skins [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(12): 1890-1896
- [15] Hoque M S, Benjakul S, Prodpran T. Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(1): 66-73
- [16] Rawdkuen S, Thitipramote N, Benjakul S. Preparation and functional characterisation of fish skin gelatin and comparison with commercial gelatin [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2013, 48(5): 1093-1102
- [17] Giménez B, Turnay J, Lizarbe M A, et al. Use of lactic acid for extraction of fish skin gelatin [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(6): 941-950.
- [18] 郑惠彬,翁武银,苏文金,等.提取pH和温度对罗非鱼(*Tilapia zillii*)鱼鳞明胶特性的影响[J].海洋与湖沼,2013, 44(5): 1403-1408
- ZHENG Hui-bin, WENG Wu-yin, SU Wen-jin, et al. Effect of pH and temperature on gelatin extraction from tilapia (*Tilapia zillii*) scales [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(5): 1403-1408
- [19] Gudmundsson M, Hafsteinnsson H. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments [J]. Journal of Food Science, 1997, 62(1): 37-39
- [20] Tang L, Chen S, Su W, et al. Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species [J]. Process Biochemistry, 2015, 50(1): 148-155
- [21] 张兵,史京京,王颖,等.酸预处理对酶法骨明胶功能性质和分子量分布的影响[J].影像科学与光化学,2012,30(2): 102-109
- ZHANG Bing, SHI Jing-jing, Wang Ying, et al. Effect of acid pretreatment on IEP and protein pattern of gelatin from bovine bones by protease-conditioned process [J]. Imaging Science and Photochemistry, 2012, 30(2): 102-109
- [22] Uriarte-Montoya M H, Santacruz-Ortega H, Cinco-Moroyoqui F J, et al. Giant squid skin gelatin: chemical composition and biophysical characterization [J].

- Food Research International, 2011, 44(10): 3243-3249
- [23] Hao S, Li L, Yang X, et al. The characteristics of gelatin extracted from sturgeon (*Acipenser baeri*) skin using various pretreatments [J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 124-128
- [24] Liu H, Li D, Guo S. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(8): 1425-1430
- [25] Wu J, Chen S, Ge S, et al. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32(1): 42-51
- [26] Gómez-Guillén M, Pérez-Mateos M, Gómez-Estaca J, et al. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films [J]. Trends in Food Science & Technology, 2009, 20(1): 3-16
- [27] Shiku Y, Hamaguchi P Y, Tanaka M. Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins [J]. Fisheries Science, 2003, 69(5): 1026-1032
- [28] Gómez-Guillén MC, Giménez B, López-Caballero ME, et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review [J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(3): 281-286
- [29] Aewsiri T, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Improvement of foaming properties of cuttlefish skin gelatin by modification with N-hydroxysuccinimide esters of fatty acid [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1277-1284
- [30] Chen S, Tang L, Hao G, et al. Effects of  $\alpha_1/\alpha_2$  ratios and drying temperatures on the properties of gelatin films prepared from tilapia (*Tilapia zillii*) skins [J]. Food Hydrocolloids, 2015, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.07.026
- [31] Weng W, Zheng H, Su W. Characterization of edible films based on tilapia (*Tilapia zillii*) scale gelatin with different extraction pH [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 41: 19-26