

超高压作用时间影响胶原蛋白明胶化的分子机制

于玮¹, 王雪蒙¹, 马良^{1,2}, 郭雪霞³, 周梦柔¹, 张宇昊^{1,2}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716) (2. 西南大学国家食品科学与工程实验教学中心, 重庆 400716)

(3. 农业部规划设计研究院, 北京 100125)

摘要: 本文以猪皮胶原蛋白为原料, 采用超高压协同稀盐酸诱导胶原明胶化。重点研究了不同诱导时间对胶原蛋白明胶化的分子机制的影响。处理时间 5 min 至 30 min 范围内, 胶原的热变性温度 T_m 和热焓值 ρH 均呈先下降后升高趋势, 与明胶得率变化趋势一致。红外光谱 (FT-IR) 结果表明:超高压协同酸处理后大部分三螺旋结构被破坏, 15 min 处理对二级结构破坏最为严重, 与得率变化趋势一致, 说明胶原二级结构破坏程度与明胶得率相关。SDS-PAGE 分析表明:超高压协同酸处理过程会降解胶原的亚基组分, 不同处理时间对亚基组分破坏程度差别不明显, 比较明胶化胶原和对应明胶的亚基组分含量, 发现后期热处理后亚基组分降解程度很低, 说明超高压协同酸处理抑制了热处理过程中亚基组分的过度降解。

关键词: 猪皮; 胶原蛋白; 明胶化; 分子机制

文章编号: 1673-9078(2015)12-250-255

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.037

Molecular Mechanism of Ultra-high Pressure Processing

Duration-induced Collagen Gelatinization

YU Wei¹, WANF Xue-meng¹, MA Liang^{1,2}, GUO Xue-xia³, ZHOU Meng-rou¹, ZHANG Yu-hao^{1,2}

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

(2.National Food Science and Engineering Experimental Teaching Center, Southwest University, Chongqing 400716, China)

(3.Chinese Academy of Agricultural Engineering, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

Abstract: Ultra-high pressure (UHP) with dilute hydrochloric acid (HCl) was used to induce the gelatinization of collagen derived from porcine skin. The effects of various processing times on the molecular mechanism of collagen gelatinization were investigated. The denaturation temperature (T_m) and enthalpy (ρH) of gelatinized collagen initially decreased followed by an increase as the processing time increased from 5 to 30 min, which also corresponded with the increased gelatin yield. FT-IR showed that the triple helix in the gelatinized collagen was almost completely damaged. The secondary structures were partly retained and the highest amount of damage was observed after 15 min of treatment. This was also consistent with the gelatin yield, which possibly imply that the secondary structures of collagen are correlated with the gelatin yield. SDS-PAGE analysis indicated that the subunit compositions of collagen were degraded during the UHP in presence of dilute HCl, but the extent of damage was similar in treatments that were conducted for 5 to 30 min. Compared with the gelatinized collagen, less subunit compositions were damaged during the heating treatment, which indicated that the treatment via a combination of UHP and HCl could inhibit the degradation of subunits during subsequent heating treatment.

Key word: porcine skin; collagen; gelatinization; molecular mechanism

明胶是由动物皮肤、骨、肌膜、肌腱等结缔组织中的胶原部分降解而成的天然生物高分子材料之一,

收稿日期: 2015-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301425); 重庆市高等学校优秀人才计划; 中国博士后科学基金面上项目 (2014M62267); 中央高校基本科研业务费重点项 (2362014xk11); 重庆市特色食品工程技术研究中心能力提升项目 (cstc2014pt-gc8001)

作者简介: 于玮 (1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学与营养学
通讯作者: 张宇昊 (1978-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事蛋白和生物活性肽研究

被广泛应用于食品工业^[1]。常作为食品的胶凝剂、稳定剂、乳化剂、增稠剂、发泡剂、澄清剂等, 广泛应用于甜点、低脂糊状食品、奶制品、烘烤食品和肉类产品等各类食品中^[2]。

明胶的制备主要包括胶原明胶化和热处理两个步骤。胶原明胶化是指采用一定方法破坏稳定胶原高级结构的共价交联和非共价键, 进而松散胶原的三螺旋结构、破坏非螺旋结晶区, 得到明胶化的胶原。胶原明胶化程度对明胶的凝胶强度、胶凝/熔化温度等理化特性有重要的影响^[3-5]。

目前常用的诱导胶原蛋白明胶化的方法是酸碱法,该法生产周期长、效率低、资源耗费大、污染环境严重^[6],并且易破坏胶原亚基的完整性,影响成品明胶的品质。

超高压技术近年已被证明可用于胶原蛋白明胶化的诱导。Gómez-Guillén MC 等^[7]研究表明不同程度的超高压处理可增加明胶得率或提高其凝胶特性。张宇昊等^[8-9]曾对超高压诱导鱼皮胶原明胶化技术进行研究,结果显示,超高压处理所得明胶品质明显优于传统工艺明胶。在此基础上,陈丽清等^[6]采用超高压协同稀酸诱导猪皮胶原明胶化,结果显示在处理压力 250 MPa、超高压时间 10 min、酸质量分数 0.75% 的条件下诱导后,明胶提取率可达 88.62%,凝胶强度可达 384.43 g。基于前期研究,刘轶等^[10]探究超高压明胶的理化性质,结果表明超高压明胶具有较好的凝胶性能。黄丹丹等^[11]以猪皮为原料研究了不同超高压协同稀酸作用时间(0~45 min)对明胶化程度的影响,结果表明 30 min 以内的超高压处理即可获得较好的胶原明胶化效果,高分子量组分得到很好地保留,具有较好的胶凝特性和粘弹性能。但随着诱导时间进一步延长,明胶亚基组分相对含量降低,导致其凝胶特性降低。以上研究以猪皮为原料,其中所含杂质较多,无法有效明确超高压处理时间影响胶原蛋白明胶化的分子机制。

本试验以猪皮胶原为原料,采用超高压协同稀酸诱导其明胶化,通过红外光谱、SDS-PAGE 电泳、示差扫描量热法对不同作用时间后明胶化胶原的分子结构进行研究,并结合明胶得率分析超高压作用时间影响胶原明胶化的分子机制。旨在进一步明确胶原在超高压协同稀酸诱导明胶化过程中的微观结构变化规律,为改善明胶产业高污染现状提供理论依据。

1 材料及仪器

1.1 原料与试剂

猪皮,购于重庆市北碚区天生丽街永辉超市,原料获取后洗净,刮去表层脂肪后,切成约 3 mm×3 mm 的小块,真空包装冻藏于冰箱中备用。

盐酸、氢氧化钠、溴化钾、冰醋酸、氯化钠、硫酸、一水柠檬酸、无水乙酸钠、(成都市科龙化工试剂厂);三水 N-对甲苯磺酰胺钠盐(氯胺 T)、过硫酸铵(APS)、十二烷基硫酸钠(SDS)、Tris、β-巯基乙醇(2-ME)、四甲基乙二胺(TEMED)、考马斯亮蓝 R-250(BIO BASIC 公司);质量分数为 30% 丙烯酰胺(丙烯酰胺与甲叉双丙烯酰胺质量比为 29:1,北京索莱宝

科技有限公司);甘氨酸(Glycine)、溴酚蓝(BPB)(生工生物工程(上海)有限公司);胃蛋白酶(1:10000,北京 Solarbio);标准蛋白(分子量 10~200 kDa,加拿大 Fermentas 公司)。其中 Tris、考马斯亮蓝 R-250、30% 丙烯酰胺为优级纯,其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HPL.L3 超高压处理设备,天津市华泰森淼生物工程技术有限公司;JA3003B 电子天平,上海精天电子仪器有限公司;PHS-25 型数显酸度计,杭州雷磁分析仪器厂;CJ-78-1 磁力搅拌器,上海将任实验设备有限公司;DZ600/2S 真空包装机,上海人民包装股份有限公司(原上海人民仪表厂);5810 型台式高速离心机,德国 Eppendorf 公司;101-4-S 电热恒温鼓风干燥箱,上海跃进医疗器械厂;8002 型温控水浴锅,北京永光明医疗仪器厂;FD-1-50 真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;Pyris4000 差示量热扫描仪,美国 PerkinElmer 公司;Spectrun100 红外光谱仪,美国 PerkinElmer;Power PacTM 基础电泳仪,美国 Bio-Rad 公司;G:BOX EF 型凝胶成像系统,英国 Syngene 公司。

2 实验方法

2.1 猪皮前处理

将新鲜猪皮去毛、刮除皮下脂肪后,洗净并切成约 1 mm×3 mm×3 mm 的小块,按照陈丽清等^[12]的方法对猪皮进行脱脂处理;再按 1:5 的比例加入 1% (*m/V*) 的 NaCl 溶液浸泡以去除杂蛋白(浸泡搅拌 6 h,每 2 h 换一次液),浸泡完后用 30 °C 蒸馏水洗涤 3~4 次,真空包装-20 °C 冻藏备用。

2.2 胶原样品的制备

取一定量处理后的猪皮,按 1:15 倍 (*m/V*) 比例加入 pH 2.2 的醋酸溶液,在 4 °C 下浸泡 8~10 h(每隔 1 h 搅拌 1 min),待皮块膨胀均匀后打碎成糊状。向打碎的猪皮中继续添加 15 倍体积的醋酸(即加入的醋酸总体积为猪皮质量的 30 倍),搅拌成均匀的浆液,并使浆液 pH 控制在 2.2 附近。向猪皮浆液中加入皮块质量 1% (*m/m*) 的胃蛋白酶,于 4 °C 下酶解 18 h,每 1 h 搅拌 5 min。酶解液用纱布抽滤,取滤液。向滤液中缓慢滴加浓 NaOH,调节 pH 至 7~8,再边搅拌边缓慢加入一定量 NaCl(使 NaCl 最终浓度为 4~5 mol/L),盐析 12 h,待出现白色絮状沉淀后离心(8000 r/min,

15 min), 取沉淀, 即得到胶原粗提物。

将胶原粗提物以 pH 2.7 的醋酸溶解, 离心 (6000 r/min, 10 min) 除去杂质后灌入透析袋 (分子截留量 8000~14000 Mw) 中, 先以 pH 3.0 的醋酸为透析液透析 3~4 d, 再以纯水为透析液透析 2 d, 最后冻干得到纯化的胶原样品。

2.3 超高压诱导胶原蛋白明胶化及明胶的提取

采用超高压法协同酸处理制备明胶化胶原。分别取一定量胶原样品, 撕成薄片, 按固液比 1:200 (g/mL) 加入质量分数 1% (m/V) 的盐酸溶液后真空包装进行不同时间的超高压 (300 MPa) 处理^[13], 保压时间表 1。然向溶液中滴加 10 mol/L 的氢氧化钠调节 pH 至 6.5~8.5。中和液在 6000 r/min 下离心 5 min, 弃去上清液, 向沉淀物中加入适量纯水重复离心 1 次以洗去其表面的盐分, 收集沉淀物冻干即为明胶化胶原。以上试验重复 3 次。

表 1 超高压处理时间表

样品 编号	压力 /MPa	保压时间 /min	传压 介质	介质浓度 /(% (m/V))
U1	300	5	HCl	1
U2	300	15	HCl	1
U3	300	30	HCl	1

取一定量的明胶化胶原, 按料液比 1:3 的比例加入纯水置于摇床上旋转 1.5 h, 温度 45 °C, 转速 200 r/min。胶液在 8500 r/min 下离心 10 min, 上清液倒入胶盘内于 45 °C 下真空干燥, 沉淀物干燥后称重。

明胶得率 T 按以下公式计算:

$$T = \frac{\text{明胶质量 g}}{\text{胶原用量 g} \times 82.5\%} \times 100\%$$

其中 82.5% 为胶原样品的纯度。

2.4 超高压处理组胶原的热稳定性分析

不同保压时间对明胶化胶原热稳定性的影响采用 S-300N DSC 分析仪测定。测定方法如下: 称取样品约 3~5 mg, 用铝坩锅封存, 放入 DSC 仪, 在氮气氛围下, 以 5 °C/min 的速率从 -5 °C 升温至 180 °C, 记录吸热曲线。计算热变性温度和热焓值, 每个样品重复 3 次试验, 结果取平均值。

2.5 超高压处理组胶原的红外光谱分析

红外光谱是分析胶原中特殊基团的一种重要手段^[14]。称取 1 mg 样品与 1 g 溴化钾 (KBr) 混合研磨,

于 40 °C 下烘干后压片, 用 Spectrun100 红外光谱仪进行检测。室内温度为 25 °C, 扫描范围: 450~4000 cm⁻¹, 扫描次数: 32, 分辨率 4 cm⁻¹。曲线拟合采用 Origin 8.0, 酰胺 I 带峰面积采用 Perkin Elmer 进行分析。

2.6 超高压处理组胶原及明胶的亚基组成及高分子亚基组分含量

采用 SDS-PAGE 垂直电泳分析胶原及明胶的亚基组成, 相关溶液配制及具体操作参照陈丽清等^[15~16]的方法进行。以 0.25 M Tris-HCl 为溶剂, 配制 2.0 mg/mL 的胶原溶液, 以水为溶剂配制浓度为 2.0 mg/mL 的明胶溶液, 按体积比 4:1 添加 5× 样品缓冲液, 沸水浴 5 min, 冷却后上样, 上样量为 15 μL (Marker 上样量为 10 μL), 分离胶为质量分数 6%, 浓缩胶质量分数为 5%。15 mA 恒流电泳, 待溴酚蓝跑到分离胶中后, 电流调至 25 mA, 电泳时间约 1 h。考马斯亮蓝染色 2 h 后用脱色液脱色, 直至背景蓝色被脱净, 随后用凝胶成像系统拍摄电泳图谱并分析样品的亚基组成。亚基组分含量采用 Gene tools (Syngene, Cambridge, UK) 软件进行分析, 将胶原的高分子亚基含量设为 1, 再分别计算出同块胶中其它样品所含的亚基组分含量。

2.7 数据分析

数据分析处理采用 Microsoft excel 2010 和 SPSS 17.0 软件。每次试验设置三个平行实验, 数据以平均值 ± 标准偏差表示。

3 结果与分析

3.1 不同时间的超高压处理对明胶得率的影响

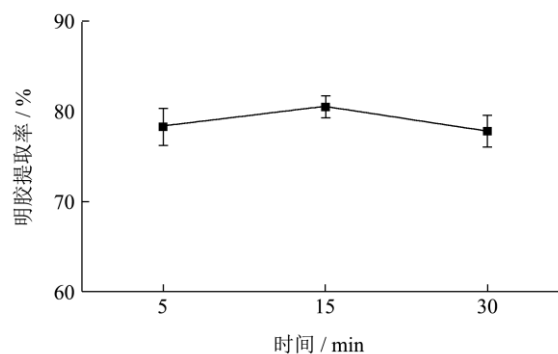


图 1 不同超高压处理时间对明胶提取率的影响

Fig.1 Effect of different UHP treatment time on the gelatin yield

从图 1 可知, 随超高压处理时间的增加, 明胶提

取率呈先上升后下降的趋势, 其中 U2 的提取率最大为 80.50%, 明显高于 U1 和 U3, 与陈丽清^[16]等研究结果一致。

3.2 明胶化胶原的热稳定性影响分析

表 2 不同超高压处理时间的胶原热变性温度及热焓值

Table 2 The Tm and pH of collagen subjected to different UHP processing times

样品编号	热变性温度 T _m /°C	焓值pH/(J/g)
未处理胶原	78.51±1.52	594.00±31.27
U1	58.23±7.81	179.45±34.93
U2	53.52±2.63	124.46±6.39
U3	55.14±5.91	154.64±29.83

研究表明(表 2), 超高压协同稀盐酸处理后胶原的热稳定性明显降低。可能是由于超高压作用破坏了胶原三螺旋间的疏水键、离子键和氢键等非共价键, 同时促进了酸向胶原三螺旋内部结构渗透, 加速酸对共价交联的破坏。因此可在短时间内充分破坏胶原天然三螺旋结构, 降低胶原热稳定性, 提高明胶得率^[15,17]。

HCl/UHP 处理时间由 5 min 增至 30 min, 胶原热稳定性先下降后升高的变化趋势, 同明胶得率变化规律一致, 说明 15 min 处理对胶原结构破坏更明显。一方面可能 15 min 的处理可能更利于稀酸对共价交联的破坏; 另一方面可能 15 min 处理可能导致更多新的非共价键形成, 因为超高压影响胶原的非共价键平衡, 可破坏胶原分子内的疏水键及氢键, 同时也会形成一些非共价键如水合氢键^[18]。

3.3 明胶化胶原红外光谱分析

采用红外光谱分析不同超高压处理时间对胶原三螺旋结构完整性的影响, 结果如图 3 所示。

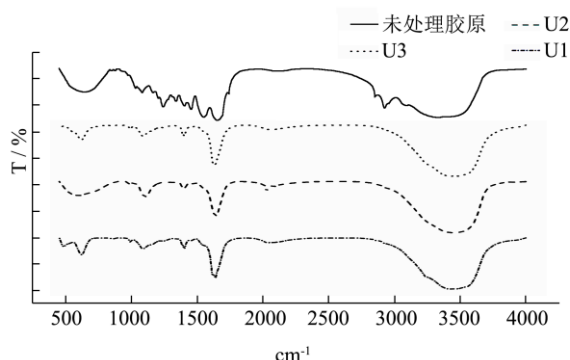


图 3 不同超高压处理时间的胶原红外光谱图谱

Fig.3 Infrared spectra of collagen subjected to different UHP processing times

波长 1200~1300 cm⁻¹ 处为酰胺 III 带, 其强度与三

螺旋结构密切相关^[19-20]。从图 3 可以看出明胶化处理后的胶原酰胺 III 带消失, 这表明超高压协同酸处理后大部分三螺旋结构被破坏。超高压协同稀酸处理后酰胺 I 带(1600~1700 cm⁻¹)波长由 1658 cm⁻¹ 移至 1637 cm⁻¹ 左右, 当酰胺 I 带向低波数迁移时, 表明胶原三螺旋内部氢键有所破坏^[21]。在超高压协同稀酸处理时间 5-30 min 范围内, 酰胺 I 带波长极为接近, 说明处理时间范围内三螺旋内部氢键可能大都破坏, 与酰胺 III 带分析结果一致。

表 3 各超高压处理胶原的酰胺 A、I 带吸收峰位置及 I 带吸收面积表

Table 3 Absorbance positions of amide A I band and areas of I band of collagen subjected to different UHP processing times

样品编号	酰胺 I 带吸收峰位置/cm ⁻¹	酰胺 I 带吸收峰面积/(A*cm ²)
未处理胶原	1658.80	110.2141
U1	1637.83	47.7484
U2	1637.77	38.2455
U3	1637.87	44.7390

酰胺 I 带是形成三股螺旋内氢键的 C=O 基团的伸缩振动吸收峰, 主要表征构成胶原三螺旋结构的二级结构, 尤其是 α 螺旋和 β-折叠^[22-23]。酰胺 I 带吸收峰面积变化趋势表明(表 3), 5~30 min 保压时间内, 酰胺 I 带吸收峰面积降低, 结合酰胺 III 带的分析, 说明此时的三螺旋结构可能被完全破坏, 但还有部分 α 螺旋和 β-折叠存在。不同处理时间对酰胺 I 带吸收峰面积影响结果表明, 15 min 处理对二级结构破坏最为严重, 与得率变化趋势一致, 说明胶原二级结构破坏程度与明胶得率相关。15 min 后继续延长处理时间, 超高压作用可能导致新的氢键形成进而形成了一些新的二级结构, 造成了明胶得率降低。

3.4 明胶化胶原及明胶亚基组分分析

亚基组分的保留程度是胶原明胶化的重要指标之一, 同明胶的凝胶强度密切相关^[11]。研究表明超高压明胶通常具有良好的凝胶特性, 原因是与传统方法制备的明胶相比, 超高压明胶中含有更多的亚基组分^[11,15]。对不同时间超高压处理的明胶化胶原和对应明胶的亚基组成及含量研究表明(图 4a), 明胶化胶原的亚基组分均以 α (α1 和 α2) 和 β 为主, γ 亚基基本消失。经软件分析表明, 明胶化胶原 U1~U3 及未处理胶原的高分子亚基组分含量总和之比为 0.73:0.67:0.70:1.00, 说明超高压协同稀酸作用在一定程度上降解了胶原的亚基组分。但随超高压处理时间的延长, 高分子亚基含量差异不大。

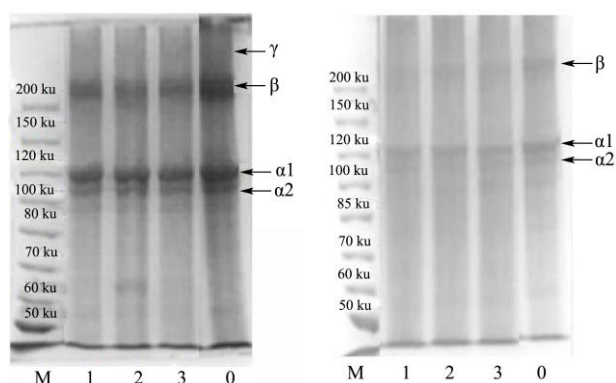


图4 不同超高压处理时间胶原和明胶的电泳图谱

Fig.4 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of collagen or gelatin subjected to different UHP processing times

注: a.胶原, b.明胶; M:标准蛋白, a: 0~3.U0(未处理胶原)、U1、U2、U3; b: 1~3.U1、U2、U3; 0:U0(未处理胶原)。

图4b分析表明明胶U1~U3及未处理胶原的高分子亚基含量总和之比分别为0.66:0.69:0.71:1.00,随着超高压协同稀酸作用时间的延长,相应明胶亚基组分差异同样不大,与陈丽清等^[15]研究一致,其证明以猪皮为原料时,5~30 min的超高压协同酸处理对胶凝胶强度影响不显著。

比较明胶化胶原和对应明胶的亚基组分含量,发现热处理过程对亚基组分的降解程度很低,这说明该工艺过程中胶原亚基组分降解主要出现在超高压协同稀酸处理过程中,在后期热提取过程中降解轻微,这可能是因为超高压破坏胶原的氢键平衡,诱导了新的氢键形成,导致胶原聚集,抑制了热处理过程中亚基组分的过度降解,保持了明胶中亚基结构的完整性,赋予了其突出的凝胶特性^[15,21]。

4 结论

4.1 HCl/UHP处理后胶原的热稳定性明显降低,处理时间由5 min增至30 min,胶原的Tm和pH均先下降后升高,明胶得率变化规律与其一致。

4.2 FT-IR光谱的分析结果表明超高压协同酸处理后三螺旋结构基本被破坏,酰胺I带吸收峰面积结果表明,15 min处理对二级结构破坏最为严重,与得率变化趋势一致,说明胶原二级结构破坏程度与明胶得率相关。

4.3 SDS-PAGE分析表明:超高压协同酸处理过程会降解胶原的亚基组分,5~30 min处理对亚基组分破坏程度差别不明显,比较明胶化胶原和对应明胶的亚基组分含量,发现后期热处理对亚基组分的降解程度很低,说明超高压协同酸处理抑制了热处理过程中亚基组分的过度降解。

参考文献

- [1] 周梦柔,张雨浩,陈丽清,等.基于微观结构的明胶凝胶强度改善研究进展[J].食品工业科技,2013,34(13): 395-399
ZHOU Meng-rou, ZHANG Yu-hao, CHEN Li-qing, et al. Research progress in improvement of gel strength of gelatin based on microstructure [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(13): 395-399
- [2] Karim A, Bhat R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 563-576
- [3] 周梦柔,马良,张宇昊.超高压诱导胶原蛋白明胶化机制研究进展[J].食品安全质量检测学报,2013,(5):1313-1317
ZHOU Meng-rou, MA Liang, ZHANG Yu-hao. Progress of research on mechanism of gelatinization of collagen induced by ultra-high pressure [J] Journal of Food Safety & Quality, 2013, 5: 1313-1317
- [4] 刘安军,石清,朱振元,等.猪骨明胶的提取工艺研究[J].现代食品科技,2010, 26(5): 519-522
LIU An-jun, SHI Qing, ZHU Zhen-yuan, et al. Optimization of extraction conditions for pig bone gelatin [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(5): 519-522
- [5] Gámez-Guillán, Turnay M J, Fernández-Díaz M, et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study [J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(1): 25-34
- [6] 陈丽清,马良,张宇昊.现代加工技术在明胶制备中的应用展望[J].食品科学,2010,31(19):418-418
CHEN Li-qing, MA Liang, ZHANG Yu-hao. Prospects for the application of modern processing technology in gelatin preparation [J]. Food Science, 2010, 31(19): 418-418
- [7] Gámez-Guillán, Giménez B, Montero P, et al. Extraction of gelatin from fish skins by high pressure treatment [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(5): 923-928
- [8] 张宇昊,马良,谢祥.巴沙鱼皮明胶提取工艺及性质研究[J].食品科学,2009(24): 88-92
ZHANG Yu-hao, MA Liang, XIE Xiang. Extraction and property of gelatin from basa skin [J]. Food Hydrocolloids, 2009(24): 88-92
- [9] 张宇昊,马良,师萱.鱼皮明胶的超高压辅助提取工艺[J].食品科学,2011,32(6):99-103
ZHANG Yu-hao, MA Liang, SHI Xuan. Ultra-high Pressure-assisted extraction of gelatin from fish skin [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 32(6): 99-103
- [10] 刘轶,马良,陈丽清,等.超高压明胶理化性质分析[J].食品工

- 业科技,2014,35(13):137-140
- LIU Yi, MA Liang, CHEN Li-qing, et al. Physicochemical properties analysis of ultra-high pressure gelatin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(13): 137-140
- [11] 黄丹丹,马良,周梦柔,等.超高压时间对胶原明胶化及成品明胶品质的影响[J].食品工业科技,2014,35(16):109-114
- HUANG Dan-dan, MA Liang, ZHOU Meng-rou, et al. Effects of pressure level on collagen gelatinizing and properties of extracted gelatins [J]. Science and Technology of Food Industry 2014, 35(16): 109-114
- [12] 陈丽清,陈清,韩佳冬,等.猪皮超声波乳化脱脂工艺的研究[J].食品工业科技,2012,33(16):265-267
- CHEN Li-qing, CHEN Qing, HAN Jia-dong, et al. Study on ultrasound degreasing of pigskin with emulsifying agents [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(16): 265-267
- [13] Chen L, Ma L, Zhou M, et al. Effects of pressure on gelatinization of collagen and properties of extracted gelatins [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 36: 316-322
- [14] 刘苏锐,王坤余,据海燕.猪皮 I 型胶原蛋白的提取及其结构表征[J].中国皮革,2007,36(7):43-46
- LIU Su-rui, WANG Kun-yu, JU Hai-yan. Isolation and characterization of type I collagen from pigskins [J]. China Leather, 2007, 36(7): 43-46
- [15] 陈丽清.超高压技术制备高品质明胶及其机理研究[D].重庆:西南大学,2013
- CHEN Li-qing, Ultra-high Pressure-assisted extraction of high quality gelatin from pig skin and its mechanism study [D]. Chongqing: Southwest University, 2013
- [16] 陈丽清,张宇昊,周梦柔,等.猪皮明胶提取过程中的超高压预处理工艺优化[J].农业工程学报,2012,28(19):262-269
- CHEN Li-qing, ZHANG Yu-hao, ZHOU Meng-rou, et al. Optimization of pretreatment by ultra-high pressure during production of gelatin from pig-skin [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(19): 262-269
- [17] 钟朝辉,李春美,顾海峰,等.温度对鱼鳞胶原蛋白二级结构的影响[J].光谱学与光谱分析,2007,27(10):1970-1976
- ZHONG Zhao-hui, LI Mei, GU Hai-feng, et al. The influence of temperature on the scales of collagen protein secondary structure [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(10): 1970-1976
- [18] Potekhin S, Senin A, Abdurakhmanov N, et al. High pressure stabilization of collagen structure [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 2009, 1794(8): 1151-1158
- [19] Friess W, Lee G Basic thermoanalytical studies of insoluble collagen matrices [J]. Biomaterials, 1996, 17(23): 2289-2294
- [20] Muyonga J H, Cole C G B, Duodu K G Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*) [J]. Food Chemistry, 2004, 86(3): 325-332
- [21] KWIAKOWSKA A, JANKOWSKA B, KORZENIOWSKI W. Changes in solubility of the bovine semitendinosus muscle collagen under the influence of high pressure [J]. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2001, 10(4): 35-39
- [22] Wang L, An X, Yang F, et al. Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (*Sebastes mentella*) [J]. Food Chemistry, 2008, 108(2): 616-623
- [23] Prystupa D A, Donald A M. Infrared study of gelatin conformations in the gel and sol states [J]. Polymer Gels and Networks, 1996, 4(2): 87-110