

# 采用“梯度升温法”提取鱼鳞明胶及其理化特性的研究

吴潇扬<sup>1,2,3</sup>, 熊善柏<sup>1,2,3</sup>, 尤娟<sup>1,2,3</sup>, 刘茹<sup>1,2,3</sup>, 陈加平<sup>1,3</sup>, 胡杨<sup>1,2,3</sup>

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070) (2. 水产高校健康生产湖南省协同创新中心, 湖南常德 415000) (3. 环境食品学教育部重点实验室, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 以草鱼鳞为原料提取明胶, 首先采用单因素试验明确了明胶提取温度为 60 °C~80 °C, 时间为 6 h。在此基础上采用 60 °C~70 °C~80 °C 三段式加热的梯度升温法提取草鱼鳞明胶, 并以恒温提取法 (60 °C、70 °C 和 80 °C) 为对照组, 对所制备的明胶理化特性进行了比较研究。实验表明, 梯度升温法所得明胶相比市售明胶和对照组, 含有更多的高分子量组分 (130~250 ku), 使其具有更高的凝胶强度, 傅里叶变换红外光谱显示梯度升温法所得明胶具有明胶特有的典型酰胺带, 其溶胶-凝胶点和热变性温度居于恒温提取法 60 °C 组和 80 °C 组之间, 但提取率和凝胶强度均相对较高, 且灰分含量低于 0.20%, 脂肪含量低于 0.60%。综上所述, 采用梯度升温法提取明胶兼顾了提取率和明胶品质, 具有较好的应用前景。

**关键词:** 鱼鳞; 梯度升温法; 明胶; 凝胶强度; 理化特性

文章编号: 1673-9078(2019)02-118-125

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.017

## Study on Fish Scale Gelatin Extracted by Gradient Increasing Temperature and Its Physicochemical Properties

WU Xiao-yang<sup>1,2,3</sup>, XIONG Shan-bai<sup>1,2,3</sup>, YOU Juan<sup>1,2,3</sup>, LIU Ru<sup>1,2,3</sup>, CHEN Jia-ping<sup>1,3</sup>, HU Yang<sup>1,2,3</sup>

(1. College of Food Science and Technology Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

(2. Collaborative Innovation Center for Efficient and Fish Production of Fisheries in Hunan Province, Changde 415000, China) (3. College of Food Science and Technology and MOE Key Laboratory of Environment Correlative Dietology,

Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Gelatin was extracted from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) scales under the conditions (60 °C~80 °C, 6 h) determined by single-factor tests. The physicochemical properties of gelatin extracted by the methods of gradient increasing temperatures (60 °C~70 °C~80 °C) were studied, with gelatin extracted by constant temperature extraction method (60 °C, 70 °C and 80 °C) and commercial gelatin as control. SDS-PAGE showed that the gelatin obtained by gradient increasing temperature had a higher molecular weight (130~250 ku) and a higher gel strength than the commercial gelatin and the control group. FT-IR spectra showed that the gelatin obtained by the gradient increasing temperature had a typical amide band of gelatin. The sol-gel point and thermal denaturation temperature for the gelatin extracted by gradient increasing temperature were between 60 °C and 80 °C, but the extraction rate and gel strength were relatively high, the ash content was less than 0.20%, and the fat content was less than 0.60%. In summary, the method of gradient increasing temperature can be used to extract gelatin with high extraction rate and good quality, and has a good application prospects.

**Key words:** fish scale; gradient increasing temperature; gelatin; gel strength; physical and chemical properties

明胶是由动物结缔组织中的胶原部分降解而成,

收稿日期: 2018-10-19

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (21506070); 中央高校基本科研业务费专项基金 (2662018JC019); 现代农业产业技术体系专项资金 (CARS-45-27)

作者简介: 吴潇扬 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工及贮藏

通讯作者: 胡杨 (1987-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品加工及副产物综合利用

以其良好的持水性、成膜性、乳化性、起泡性及凝胶性等功能特性被广泛应用于食品、照相、医药和感光材料工业等领域。长期以来, 科研和生产上多采用猪、牛和家禽等的组织进行明胶提取, 但是畜禽来源的明胶存在潜在的口蹄疫、疯牛病、禽流感等传染性病原, 同时有些国家和地区由于风俗习惯等原因, 对使用畜禽来源的明胶有很大限制。

中国是淡水鱼产量大国, 2016 年我国淡水鱼产量

达到 2715.01 万 t<sup>[1]</sup>, 在淡水鱼加工过程中会产生大量的鱼鳞副产物, 可达鱼体总重的 2%~3%。鱼鳞中富含胶原, 占鱼鳞总重的 20%~50%, 是数量庞大的可再生动物生物质资源, 可用于制备高品质的鱼鳞明胶<sup>[2]</sup>, 而且在一定程度上规避了传染性病原和风俗习惯问题。目前鱼鳞除部分以原料形式出口外, 多数未得到有效利用, 如果从中提取明胶用于高附加值产品的生产, 对于鱼鳞副产物的资源化与高值化利用大有好处。

热力法提取鱼鳞明胶是当前工业化生产明胶最常用的提取方法之一, 采用常规恒温提取法所得明胶, 如果温度过低, 明胶分子量较高, 凝胶性能较好, 但提取效率偏低, 而温度过高则会导致明胶分子量偏低, 凝胶性能不理想。目前已有部分研究表明, 梯度升温法在制备氨基葡萄糖盐酸盐<sup>[3]</sup>、蜂胶<sup>[4]</sup>、花青素<sup>[5]</sup>时, 有助于提高产品得率。然而, 对于草鱼鳞明胶的梯度升温法制备技术研究仍较少, 且梯度升温法与恒温提取法所得明胶理化性质的系统比较研究仍未见报道。因此, 本研究拟以草鱼鳞为原料, 采用“梯度升温法”提取鱼鳞明胶, 以“恒温提取法”所得鱼鳞明胶为对照, 系统研究了其理化特性(提取率、凝胶强度、相对分子量、热特性和流变特性等)的变化情况, 以期为高品质、高得率鱼鳞明胶的规模化制备提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

新鲜草鱼, 购于华中农业大学菜市场, 产自湖北武汉, 鱼体平均长约 380 mm, 平均质量 2300 g 左右, 为 1~2 龄草鱼。取鱼鳞用清水冲洗干净后 25 °C 烘箱烘干, 室温保存备用。牛血清蛋白, 分析纯, 武汉科瑞生物技术有限公司; 市售明胶, Sigma-Alorich, 冷水鱼源; 其他试剂均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

722 型可见分光光度计, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; HH-2 数显恒温水浴锅, 常州澳华仪器有限公司; Bio-Rad 电泳仪, 美国伯乐公司; 电子天平, 日本岛津公司; X DHG-920 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; 蛋白质凝胶成像色谱, 美国伯乐公司; Nicolet470 傅里叶变换红外光谱仪, NICOLET 公司; DSC204F1 差式扫描量热仪, 德国耐驰公司; AR2000ex 流变仪, 美国 TA 仪器公司; SD-700 质构仪, 日本 SUN SCIENTIFIC 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 鱼鳞预处理工艺

准确称取干草鱼鳞 200 g, 加入料液比为  $W/V=1:10$  的 0.1 M 氢氧化钠溶液, 于室温下搅拌 4 h, 随后用蒸馏水洗至中性, 再加入料液比为  $W/V=1:10$  的 0.5 M 盐酸溶液, 于室温下搅拌 1.5 h 进行脱钙, 最后用蒸馏水冲洗至中性, 备用。

#### 1.2.2 明胶提取单因素试验

##### 1.2.2.1 提取温度单因素实验

称取料液比为  $W/V=1:3$  的预处理后鱼鳞与蒸馏水混合, 在提取次数 1 次、提取时间 6 h 条件下, 分别于 40 °C、60 °C、80 °C、100 °C 水浴中加热, 用四层纱布过滤得到明胶溶液, 测定其体积  $V(\text{mL})$ , 质量  $m(\text{g})$ 。

##### 1.2.2.2 提取时间单因素试验

称取料液比为  $W/V=1:3$  的预处理后鱼鳞与蒸馏水混合, 在提取次数 1 次、提取温度 60 °C 条件下, 分别水浴加热 2 h、4 h、6 h、8 h、10 h, 用四层纱布过滤得到明胶溶液, 测定其体积  $V(\text{mL})$ , 质量  $m(\text{g})$ 。

#### 1.2.3 采用梯度升温法提取明胶试验

梯度升温提取法工艺流程: 在单因素试验基础上, 称取料液比  $W/V=1:3$  的预处理后鱼鳞与蒸馏水混合, 于 60 °C 水浴中加热 6 h 后, 用四层纱布过滤得第一次提取明胶溶液; 取料液比  $W/V=1:3$  的滤渣与蒸馏水混合, 于 70 °C 水浴中加热 6 h 后, 用四层纱布过滤得第二次提取明胶溶液; 再次取料液比  $W/V=1:3$  的滤渣与蒸馏水混合, 于 80 °C 水浴中加热 6 h 后, 用四层纱布过滤得第三次提取明胶溶液。合并三次提取得到的明胶溶液, 即为梯度升温提取法所得明胶样品, 测定其体积  $V(\text{mL})$ , 质量  $m(\text{g})$ , 同时以如下恒温提取法工艺为对照组。

恒温提取法工艺流程: 在提取次数 3 次、单次提取时间均为 6 h 条件下, 每次提取的温度均为 60 °C, 即得 60 °C 恒温提取法所得明胶样品; 在提取次数 3 次、单次提取时间均为 6 h 条件下, 每次提取的温度均为 70 °C, 即得 70 °C 恒温提取法所得明胶样品; 在提取次数 3 次、单次提取时间均为 6 h 条件下, 每次提取温度均为 80 °C, 即得 80 °C 恒温提取法所得明胶样品。

#### 1.2.4 明胶基本成分测定

##### 1.2.4.1 明胶固形物含量计算

参考国标 GB 5009.3-2016, 采用直接干燥法测定样品的水分含量  $W\%$ 。明胶提取液的固形物含量, 按式 (1) 进行计算。

$$S=100-W \quad (1)$$

式中:  $S$  为明胶提取液固形物含量 (%);  $W$  为明胶水分含量 (%)。

### 1.2.4.2 胶原蛋白含量测定

参考国标 GB/T 9695.23-2008, 测定明胶冻干样品的羟脯氨酸含量  $H\%$ 。根据 Woessner J 法计算明胶中胶原蛋白的含量, 即由测定的羟脯氨酸含量  $H\%$  乘以 9.75 即为胶原蛋白的含量  $C\%$ , 以百分比计。

### 1.2.4.3 脂肪含量测定

参考国标 GB 5009.6-2016, 采用索氏抽提法测定明胶冻干样品的脂肪含量  $F\%$ 。

### 1.2.4.4 灰分含量测定

参考国标 GB 5009.4-2016, 测定明胶冻干样品的灰分含量  $A\%$ 。

### 1.2.5 明胶提取率计算

$$E(\%) = \frac{S \times m}{M} \quad (2)$$

式中:  $E$  为鱼鳞明胶提取率 (%);  $S$  为鱼鳞明胶提取液固形物含量 (%);  $m$  为明胶提取液质量 (g);  $M$  为干鱼鳞质量 (g)。

### 1.2.6 明胶凝胶强度测定

参照 GB 6783-2013 中凝胶强度的测定方法, 配制质量分数为 6.67% 的明胶溶液, 在 4 °C 条件下放置 16 h, 采用质构仪进行明胶凝胶强度测定。测定参数为: NO-P/0.5 探头, 下压距离为 4 mm, 下压速率 1 mm/s, 明胶被压缩 4 mm 所需的最大应力即为测定的凝胶强度 (Bloom g), 每组样品测 3 个平行<sup>[3]</sup>。

### 1.2.7 SDS-PAGE 电泳

参考汲聪玲<sup>[6]</sup>的方法, 用 12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶, 样品上样量为 15  $\mu\text{L}$ 。样品的处理: 样品为 5 mg/mL 的明胶溶液, 在 10000 r/min 下离心 10 min 除去不溶物, 取上清液与十二烷基硫酸钠 (SDS) 上样缓冲液按照体积比 1:4 混合, 使明胶的最终浓度为 1 mg/mL。电泳条件: 初始电压 60 V, 电泳时间 30 min, 之后电压调至 120 V, 电泳时间约为 50 min, 直至样品中的染料迁移至离下端 3~5 cm 时停止电泳。电泳结束后, 凝胶用考马斯亮蓝 R-250 染色 30 min, 再用甲醇:乙酸:蒸馏水=5:1:4 的混合溶液脱色 15 min, 最后在蒸馏水中浸泡过夜, 使用凝胶成像系统对脱色的凝胶进行成像拍照。

### 1.2.8 流变学特性的测定

动态黏弹性温度扫描的方法参照蔡路昀<sup>[7]</sup>的方法, 并略作修改。将液体样品加到流变仪的样品台上, 盖上密封盖板, 为避免在测试过程中凝胶样品发生脱水的现象, 用低粘度的硅油液封盖板。采用直径为 40 mm 的平行板测量系统, 在设定应变为 3%, 频率为 1 Hz 的条件下, 扫描温度程序分为三个阶段, 分别为: a、降温过程, 降温范围 40 °C~10 °C, 降温速率 2 °C/min; b、低温维持过程, 10 °C 保持 10 min; c、升温过程,

升温范围 10 °C~40 °C, 升温速率 2 °C/min, 对各溶液样品进行温度扫描。

### 1.2.9 明胶热稳定性分析

采用耐驰 DSC 204F1 型差式扫描量热仪测定明胶的热稳定性<sup>[8]</sup>。测定方法如下: 称取样品约 3~5 mg, 用铝坩锅密封后放入微量差示扫描量热仪中, 在氮气氛围下, 以 10 °C/min 的速率从 10 °C 升温至 100 °C。

### 1.2.10 傅里叶变换红外光谱测定

称取 1 mg 冻干样品与 100 mg 溴化钾混合研磨压片, 用傅里叶变换红外光谱仪进行检测。检测条件为: 室温 25 °C, 扫描范围: 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ , 扫描次数 32 次, 分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ 。

## 1.3 数据处理

试验重复 3 次, 每次试验做 3 个平行。运用 Origin 8.0 软件作图, 采用 SAS 8.0 软件对试验数据进行相关性分析和方差分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素条件下鱼鳞明胶提取率及凝胶强度变化研究

#### 2.1.1 提取温度对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响

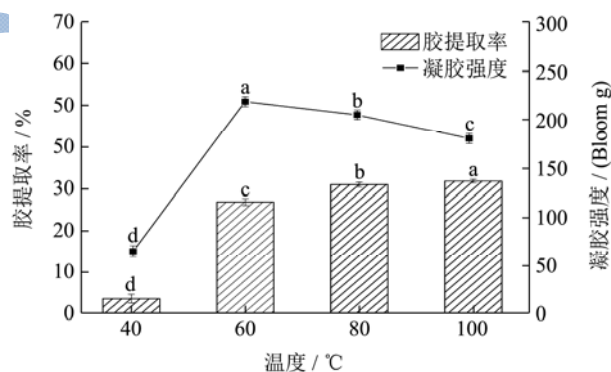


图1 不同提取温度对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响

Fig.1 Effects of different extraction temperatures on gelatin extraction rate and gel strength of fish scales

注: 不同字母表示样品间存在显著差异 ( $p < 0.05$ )。

提取率和凝胶强度是明胶制备过程中的一个重要指标, 温度对明胶提取率和凝胶强度有显著影响。在提取时间 6 h、提取次数为 1 次的条件下, 不同提取温度对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响如图 1 所示。经单因素方差分析可知, 温度对提取率和凝胶强度有显著影响 ( $p < 0.05$ )。随着温度升高, 明胶提取率和凝胶强度逐渐升高, 当达到 100 °C 时, 提取率趋于稳定



(31.85%)，而凝胶强度显著降低 ( $p<0.05$ )。因为随着温度升高，氢键逐渐断裂，三螺旋解旋，胶原发生变性，形成的明胶分子更容易溶解在水溶液中，使提取率逐渐升高。但过高的提取温度会使明胶在高温作用下进一步降解为分子量较小的胶原小肽，明胶溶液形成的凝胶内部作用力变小，导致明胶的凝胶强度降低<sup>[9]</sup>。从实际生产出发，为降低能耗，获得较高凝胶强度的明胶，故提取温度范围选择 60~80 °C 为宜。

### 2.1.2 提取时间对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响

在提取温度为 60 °C、提取次数为 1 次的条件下，不同提取时间对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响如图 2 所示。随着时间延长，明胶提取率逐渐升高，凝胶强度先增大后减小。因为提取时间过短，溶出的明胶分子过少，明胶提取率和凝胶强度都较低；提取时间过长，明胶分子长期处于热水环境中，导致明胶水解为更短分子链，分子量的降低导致明胶溶液形成的凝胶体维持稳定性的能力下降，凝胶强度降低。因此需要选择合适的提取时间，较优的提取时间为 6 h。

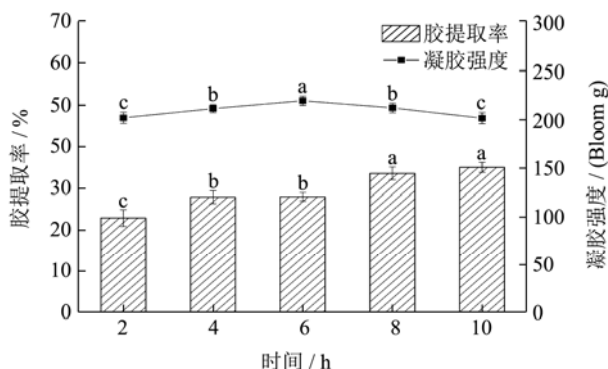


图 2 不同提取时间对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响

Fig.2 Effects of different extraction time on gelatin extraction rate and gel strength of fish scale

注：不同字母表示样品间存在显著差异 ( $p<0.05$ )。

### 2.2 “梯度升温法”对鱼鳞明胶提取率及凝胶强度的影响

从图 3 可知，梯度升温法和恒温提取法所得鱼鳞明胶与市售明胶相同，在 4 °C 下放置 16 h 后，流动性降低，凝胶性能增强，形成凝胶。由图 4a 可知，梯度升温法所得鱼鳞明胶的提取率 (41.29%) 高于恒温提取法 (60 °C 和 70 °C 组)，与恒温提取法 (80 °C 组) 相比无显著性差异 ( $p<0.05$ )。由图 4b 可知，梯度升温法所得鱼鳞明胶的凝胶强度 (229.15 Bloom g) 介于恒温提取法 60 °C 组和 70 °C 组之间，高于恒温提取法 80 °C 组所得鱼鳞明胶 (183.08 Bloom g)，且有显著性

差异 ( $p<0.05$ )。综上所述，梯度升温法所得鱼鳞明胶具有高提取率和高凝胶强度，梯度升温有助于获得高产量、高品质的鱼鳞明胶，具有潜在的应用价值。

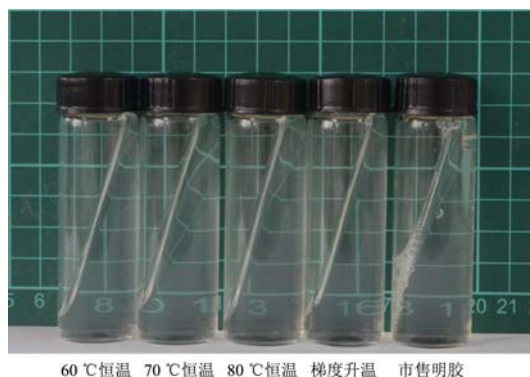


图 3 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶样品图

Fig.3 Samples of fish scale gelatin obtained by gradient increasing temperature

注：以恒温提取法和市售明胶为对照。

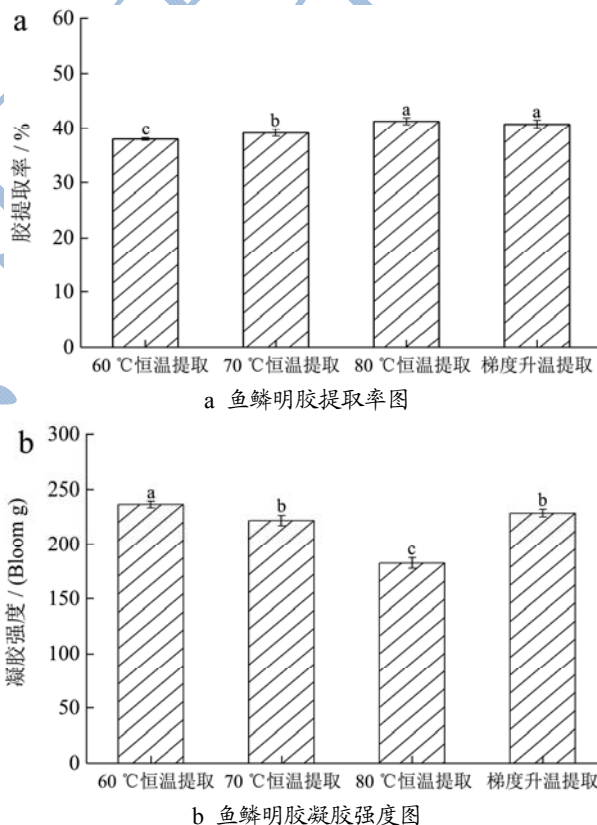


图 4 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶提取率及凝胶强度图

Fig.4 Extracting rate and gel strength of fish scale gelatin obtained by gradient increasing temperature

注：以恒温提取法所得明胶为对照，不同字母表示样品间存在显著差异 ( $p<0.05$ )。

### 2.3 “梯度升温法”对所提取鱼鳞明胶基本成分的影响

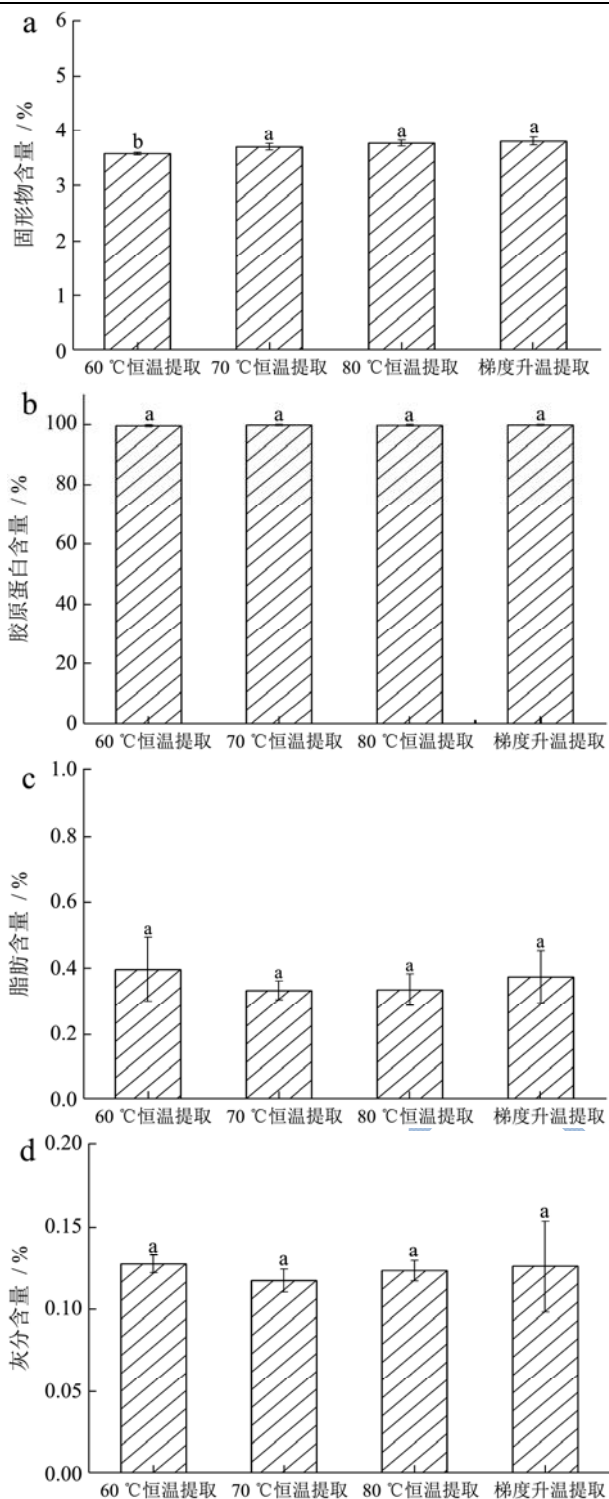


图5 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶基本成分图

Fig.5 The basic composition of fish scale gelatin obtained by gradient increasing temperature

注：以恒温提取法所得明胶为对照，不同字母表示样品间存在显著差异 ( $p < 0.05$ )；a：鱼鳞明胶固形物含量图；b：鱼鳞明胶胶原蛋白含量图；c：鱼鳞明胶脂肪含量图；d：鱼鳞明胶灰分含量图。

由图5可知，不同工艺条件下鱼鳞明胶的固形物含量、胶原蛋白含量、脂肪含量和灰分含量基本无显

著差异 ( $p < 0.05$ )。与恒温提取法 60 °C、70 °C 和 80 °C 组相比较，采用梯度升温法所得鱼鳞明胶的固形物含量 (3.80%) 和脂肪含量 (0.37%) 均无显著差异 ( $p < 0.05$ )，表明草鱼鳞明胶无需经过复杂的除脂工艺，即可获得低脂肪含量的明胶；相比于恒温提取法 (60 °C、70 °C 和 80 °C 组)，梯度升温法所得鱼鳞明胶的胶原蛋白含量和灰分含量均无显著性差异 ( $p < 0.05$ )，分别为 99.97% 和 0.13%，灰分含量远低于《GB 6783-2013 食品安全国家标准-食品添加剂-明胶》所规定的 2.0% 限值，表明草鱼鳞明胶矿物质含量低，明胶品质较高，有潜在的应用价值。

#### 2.4 “梯度升温法”对所提取鱼鳞明胶相对分子量分布的影响

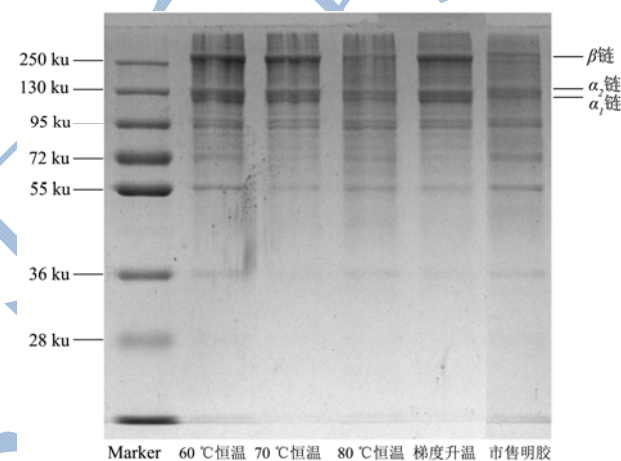


图6 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶电泳图

Fig.6 SDS-PAGE pattern of fish scale gelatin obtained by gradient increasing temperature

注：以恒温提取法和市售明胶为对照。

从图6可知，采用“梯度升温法”所提鱼鳞明胶的高分子量条带光密度比恒温提取法 (70 °C 和 80 °C 组) 更深，说明“梯度升温法”在兼顾明胶提取率 (41.29%) 的同时，能够有效维持所提明胶的分子量处于相对较高的水平。与市售明胶相比，采用“梯度升温法”所提鱼鳞明胶的分子量分布相对集中，含有较多的高分子量组分 ( $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  三条分子链，分子质量在 130~250 ku 之间)；当提取温度较低时，明胶分子的结构保持比较完整，随着提取温度的升高，明胶分子断裂为更小的片段<sup>[10]</sup>。在 80 °C 条件下提取的明胶的  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  这三条链受热降解，含量变少，而低分子量含量增加。因此，提取温度对明胶的分子质量和肽链组成有较大影响。此外，明胶的凝胶强度主要取决于明胶中分子量在 100 ku 组分的含量<sup>[11]</sup>，而  $\alpha$  链的分子量大小恰好在 100 ku 左右， $\alpha$  链含量的高低与凝胶强度的大小正

相关,草鱼鳞明胶比市售明胶有更多的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链,使其凝胶强度(229.15 Bloom g)显著高于市售明胶(199.62 Bloom g)。

### 2.5 “梯度升温法”对所提取鱼鳞明胶流变学性能的影响

明胶在凝胶和溶胶过程中的粘弹性变化可由动态流变仪测得,结果如图7所示。黑色曲线是鱼鳞明胶的储能模量 $G'$ ,代表其弹性变化,红色曲线是鱼鳞明胶的损耗模量 $G''$ ,代表其粘性变化。当温度较高时,鱼鳞明胶的 $G''$ 高于 $G'$ ,此时明胶溶液为液态,粘性为主要物性参数。随着温度的降低,明胶溶液的 $G'$ 和 $G''$ 均不断升高,尤其在某一温度超过 $G''$ ,该点为明胶的凝胶点(60℃恒温组的凝胶点为17.51℃;70℃恒温组的凝胶点为17.03℃;80℃恒温组的凝胶点为13.21℃;梯度升温组的凝胶点为16.63℃;市售明胶的凝胶点为16.35℃)。明胶的溶胶过程与凝胶过程呈相反变化趋势, $G'$ 和 $G''$ 均随着温度的升高而降低,且 $G'$ 在某一温度超过 $G''$ ,该点为明胶的溶胶点(60℃恒温组的溶胶点为27.82℃;70℃恒温组的溶胶点为27.14℃;80℃恒温组的溶胶点为24.82℃;梯度升温组的溶胶点为25.83℃;市售明胶的溶胶点为25.07℃)。与80℃组和市售明胶相比,梯度升温所得明胶的凝胶点和溶胶点均较高,且其提取率相对较高,有利于工业化生产及应用。

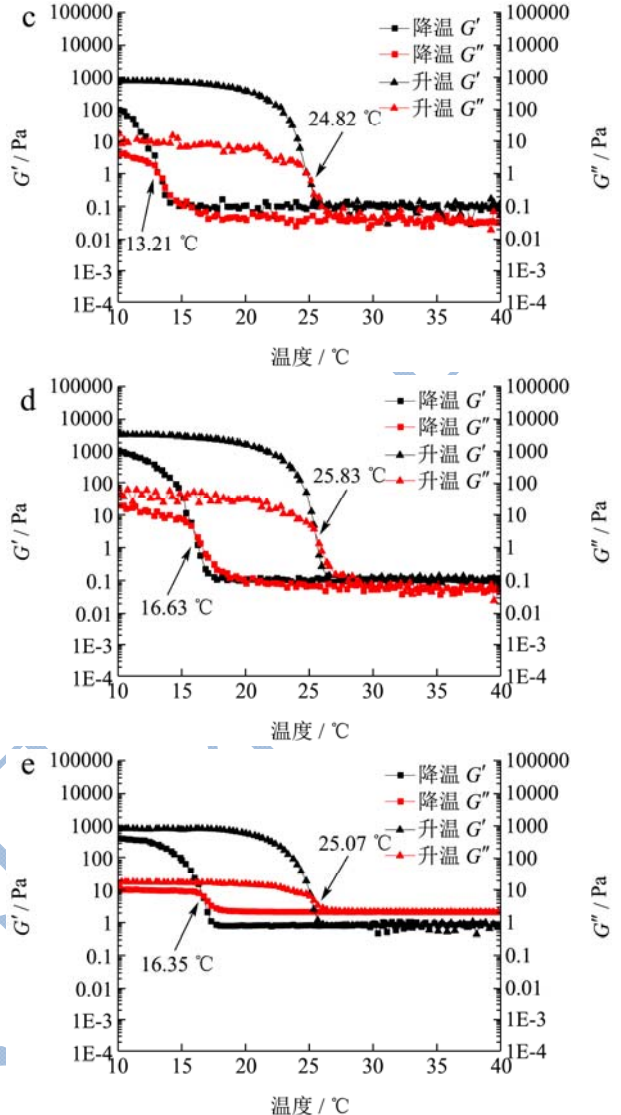
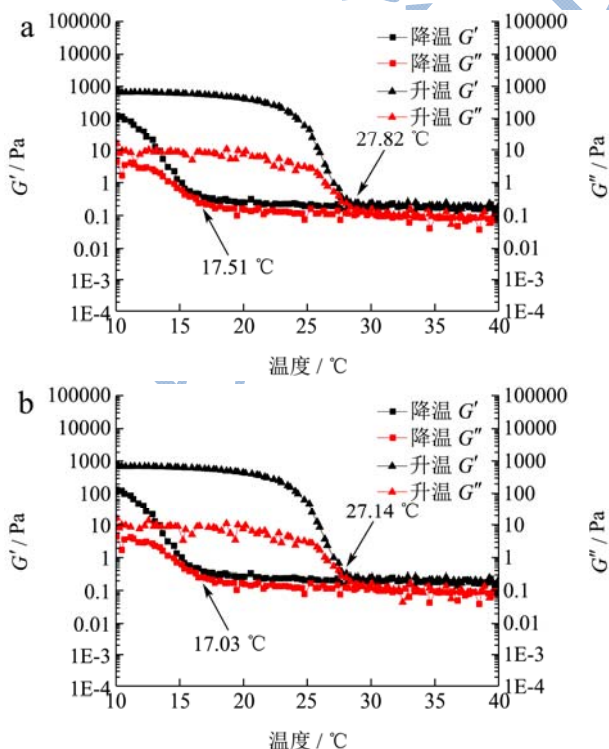


图7 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶温度扫描流变图

### Fig.7 Rheological properties of gelatin obtained by gradient increasing temperature using temperature-scanning model

注:以恒温提取法和市售明胶为对照。a:60℃恒温所得鱼鳞明胶温度扫描流变曲线;b:70℃恒温所得鱼鳞明胶温度扫描流变曲线;c:80℃恒温所得鱼鳞明胶温度扫描流变曲线;d:梯度升温所得鱼鳞明胶温度扫描流变曲线;e:市售明胶温度扫描流变曲线。

### 2.6 “梯度升温法”对所提取鱼鳞明胶热稳定性的影响

明胶的热变性温度 $T_m$ 是反映明胶热稳定性及其天然螺旋结构的重要指标之一。当体系的温度达到热变性温度( $T_m$ )时,明胶分子从螺旋态转变为无规卷曲状<sup>[12]</sup>。明胶分子的交联作用越少,其变性温度越低<sup>[13,14]</sup>。不同提胶温度组合所得鱼鳞明胶的差示扫描量热仪扫描曲线如图所示,60℃组、70℃组、80℃组



和梯度升温组的热变性温度分别为 72.56、72.41、71.00、71.60 °C，随着温度升高，热变性温度逐渐降低。因为随着温度的升高，明胶分子发生热降解作用，明胶溶液内部分子交联作用减小，导致热变性温度降低。梯度升温提胶对于明胶的三螺旋结构以及维系其稳定的价键破坏适度，更利于提高明胶的提取率。

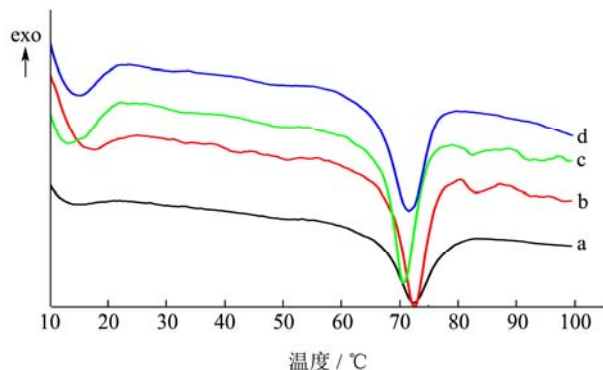


图8 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶 DSC 图谱

Fig.8 DSC spectra of fish scale gelatin obtained by gradient increasing temperature

注：以恒温提取法为对照。a、b、c 和 d 分别为 60 °C 恒温、70 °C 恒温、80 °C 恒温和梯度升温所得鱼鳞明胶 DSC 曲线。

## 2.7 傅里叶变换红外光谱图分析

不同提胶温度组合所得鱼鳞明胶的傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 图如图 9 所示。当肽键中的 N-H 基团参与氢键形成时， $3400\text{ cm}^{-1}$  附近的酰胺 A 带谱峰会变宽<sup>[15,16]</sup>。60 °C 恒温所提明胶酰胺 A 带出现在  $3419\text{ cm}^{-1}$  处，随着提取温度升高，酰胺 A 带发生蓝移，且与其他样品相比，60 °C 恒温所提明胶酰胺 A 处的谱峰最宽，说明温度提高会在一定程度上破坏明胶分子间的氢键。波数在  $1600\sim 1700\text{ cm}^{-1}$  的酰胺 I 带向低波数移动时，明胶分子的肽链结构伸展，螺旋度减少，整个蛋白的无序结构增加<sup>[17]</sup>。随着提取温度的升高，酰胺 I 带向低波数移动，说明明胶分子的无序结构增加。 $1335\sim 1560\text{ cm}^{-1}$  的酰胺 II 带主要由 N-H 的平面弯曲和 C-N 的伸缩振动形成<sup>[18]</sup>，其振动频率与蛋白分子有序度呈正相关<sup>[19]</sup>。随着提取温度升高，酰胺 II 带吸收峰发生蓝移，分子结构更加无序化。非常低强度的  $1200\sim 1300\text{ cm}^{-1}$  的酰胺 III 带与明胶高温抽提过程中三螺旋态的消失有关<sup>[20,21]</sup>。随着提取温度的升高，酰胺 III 带吸收峰向高波数移动，说明温度升高使得胶原蛋白三螺旋结构松散。而且酰胺 III 带的吸收峰强度总体较低，也说明了明胶在高温提取过程中三螺旋结构被破坏，这与预期的从胶原到明胶的变性所造成的变化相一致。综合看来，随着鱼鳞明胶提取温度升高，明胶肽链之间的氢键作用减弱，肽链结构伸展。

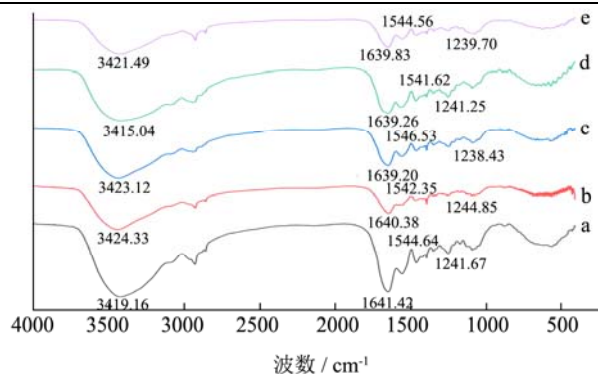


图9 采用梯度升温法所得鱼鳞明胶 FT-IR 图

Fig.9 The FT-IR spectra of fish scale gelatin obtained by gradient increasing temperature method

注：以恒温提取法和市售明胶为对照。a：60 °C 恒温所得鱼鳞明胶 FT-IR 图；b：70 °C 恒温所得鱼鳞明胶 FT-IR 图；c：80 °C 恒温所得鱼鳞明胶 FT-IR 图；d：梯度升温所得鱼鳞明胶 FT-IR 图；e：市售明胶 FT-IR 图。

## 3 结论

明胶提取过程中，温度是一个重要的参数，温度过低，提取效率低，而温度过高又会影响明胶的理化特性。本研究以草鱼鳞为原料，分别采用 60 °C 恒温提取法、70 °C 恒温提取法、80 °C 恒温提取法及梯度升温提取法提取草鱼鳞明胶，对不同提取温度组合所制备的明胶样品理化特性进行了系统研究。相比于市售明胶，草鱼鳞明胶含有较多的  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  三条分子链，使其具有较高的凝胶强度。草鱼鳞明胶的傅里叶红外光谱图呈现出低强度的酰胺 I 带和酰胺 II 带，具有典型的明胶红外图谱特征。总体而言，随着鱼鳞明胶提取温度升高，明胶肽链之间的氢键作用减弱，肽链结构伸展，螺旋结构被破坏，胶原蛋白结构发生变化，热变性温度逐渐降低，提取鱼鳞明胶的合适提取温度为 60 °C~80 °C，单次提取的最佳时间为 6 h，相比于其他三种提取温度组合，采取梯度升温提取法所得鱼鳞明胶提取率和凝胶强度均较高 ( $p < 0.05$ )，灰分含量低于 0.20%，脂肪含量低于 0.60%，草鱼鳞明胶品质较高，有潜在的应用价值。

## 参考文献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017  
Fisheries Bureau of the Ministry of Agriculture. China Fisheries Yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017
- [2] 胡杨, 朱士臣, 熊善柏, 等. 鱼类加工副产物中胶原提取技术与性质分析[J]. 渔业现代化, 2016, 43(4): 44-50

- HU Yang, ZHU Shi-chen, XIONG Shan-bai, et al. Extraction and characterization of collagen from different fish processing by-products [J]. *Fishery Modernization*, 2016, 43(4): 44-50
- [3] 陈世清,李金林,周易,等.甲壳素梯度升温水解制氨基葡萄糖盐酸盐[J].*精细与专用化学品*,2006,14(23):13-15  
CHEN Shi-qing, LI Jin-lin, ZHOU Yi, et al. Hydrolysis of chitin to prepare glucosamine hydrochloride via gradient temperature-elevating method [J]. *Fine and Specialty Chemicals*, 2006, 14(23): 13-15
- [4] 刘晶晶,张盛木,章晋武,等.梯度升温法对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取蜂胶的影响[J].*食品研究与开发*,2007,28(1):116-118  
LIU Jin-jin, ZHANG Sheng-mu, ZHANG Jin-wu, et al. Effects of gradient elevation of temperature on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of propolis [J]. *Food Research and Development*, 2007, 28(1): 116-118
- [5] WEI C B, ZHANG P. Extraction characteristics of anthocyanins from preliminarily-processed products of purple sweet potatoes during the gelatinization process [J]. *Agricultural Science & Technology*, 2015, 16(5): 1084-1087
- [6] 汲聪玲,陆剑锋,吕顺,等.不同提取温度对白鲢鱼皮明胶理化性质的影响[J].*食品科学*,2016,37(9):117-122  
JI Cong-ling, LU Jian-feng, LYU Shun, et al. Effect of extraction temperature on physical and chemical properties of gelatin from silver carp skin [J]. *Food Science*, 2016, 37(9): 117-122
- [7] 蔡路昀,冯建慧,聂小华,等.草鱼皮明胶-可得然胶共混体系流变特性及作用机理的研究[J].*食品工业科技*,2017,38(1): 49-53,64  
CAI Lu-yun, FENG Jian-hui, NIE Xiao-hua, et al. Rheological properties and interactional mechanism of grass carp skin gelatin and curdlan co-gels mixed systems [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(1): 49-53, 64
- [8] ZHU S, YUAN Q J, Yin T, et al. Self-assembly of collagen-based biomaterials: Preparation, characterizations and biomedical applications [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2018, 6: 2650-2676
- [9] Veis A. *The Macromolecular Chemistry of Gelatin* [M]. New York: Academic Press, 1964: 127-132
- [10] Nagarajan M, Benjakul S, Prodpran T. Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures [J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 29(2): 389-397
- [11] Schrieber R, Gareis H. *From Collagen to Gelatin* [M]. Gelatin handbook: Theory and Industrial Practice, 2007: 45-117
- [12] Norziah M H, Al-hassan A, Khairulnizam A B, et al. Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: Thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(6): 1610-1616
- [13] Pietrucha K. Changes in denaturation and rheological properties of collagen-hyaluronic acid scaffolds as a result of temperature dependencies [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2005, 36(5): 299-304
- [14] ZHANG Y, LIU W T, LI G Y, et al. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp [J]. *Food Chemistry*, 2007, 103(3): 906-912
- [15] 胡杨,王希搏,熊善柏,等.一种以鱼鳞为原料的多产物联产工艺的建立与优化[J].*食品工业科技*,2016,37(24):197-202  
HU Yang, WANG Xi-bo, XIONG Shan-bai, et al. Study on the joint production technology of multi-products from fish scale [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(24): 197-202
- [16] Muyonga J H, Cole C G B, Duodu K G. Fourier transform infrared (FT-IR) 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
- [17] 朱欣星,安然,李昌朋,等.胶原与明胶的结构研究:方法,结果与分析[J].*皮革科学与工程*,2012,22(5):9-14  
ZHU Xin-xing, AN Ran, LI Chang-peng, et al. Study on structures of collagen and gelatin: methods, results and analysis [J]. *Leather Science and Engineering*, 2012, 22(5): 9-14
- [18] Hu Y, Li Z, Gu Z, et al. Modification of collagen for biomedical applications: a review of physical and chemical methods [J]. *Current Organic Chemistry*, 2016, 20(17): 1797-1812
- [19] Muyonga J H, Cole C G B, Duodu, K G. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 2004, 85(1), 81-89
- [20] HU Y, LIU L, Gu Z, et al. Modification of collagen with a natural derived cross-linker, alginate dialdehyde [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 102(102): 324-332
- [21] Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Si-nthusamran S, et al. Gelatin from clown feather backskin: Extraction conditions [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 66: 186-192