

罗非鱼鱼鳞提取明胶的工艺研究

位绍红 许永安* 吴靖娜

(福建省水产研究所, 厦门 361012)

摘 要 以罗非鱼鱼鳞为原料, 采用正交试验法, 分别系统研究用碱法、酸法、酶法、酸盐法、盐碱法前处理提取鱼鳞明胶的优化工艺, 并通过对这几种方法的优化工艺进行比较和熬胶工艺的研究, 进而最终探讨出鱼鳞提取明胶的最佳方法为酶法。其工艺为: 前处理采用 0.2% 的酸性蛋白酶, 调 pH 至 3.5, 于 35 °C 水浴中酶解鱼鳞 1 h; 然后用 2% 盐酸浸渍约 4h, 之后用清水漂洗至 pH 5~6 左右; 熬胶 pH 值 5~6 为宜, 分 3 次熬胶, 即 65 °C 加热 3 h, 70、75 °C 各加热 3.5 h, 过滤后将 3 次胶液合并。

关键词 罗非鱼 鱼鳞 明胶 粘度 凝胶强度

中图分类号 S986 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2010)03-0066-11

Study on the extraction process of gelatin from tilapia fish scale

WEI Shao-hong XU Yong-an* WU Jing-na

(Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361012)

ABSTRACT The fish scale of tilapia taken as the raw material, the orthogonal test design was adopted to study the pretreatment of the fish scale of tilapia by using alkali method, acid method, enzyme method, acid and saline method, and saline and alkaline method. Then the five optimized processes were compared and the gelatin extraction process was studied. The results showed that the enzyme method was the optimum extraction process of gelatin from tilapia fish scale. The process was as the following: pretreatment with 0.2% acidic protease solution with pH adjusted to 3.5, enzymatic hydrolysis at 35 °C for 1h, then the fish scale was rinsed to pH 5~6 after being soaked for 4 h in 2% hydrochloric acid. The gelatin extraction process includes 3 heating steps, heating at 65 °C for 3 h, heating at 70 °C for 3.5 h and heating at 75 °C for 3.5 h, then the final product was filtrated and the filtrate was pooled.

KEY WORDS Tilapia Fish scale Gelatin Viscosity Gel strength

随着明胶在各个领域的广泛应用, 明胶的需求量将日益增多且价格也与日俱增, 开辟生产明胶的新原料已显得愈加重要。通常的明胶是从陆生动物的皮和骨等结缔组织中提取而成, 其原料有限, 工艺复杂, 成本高, 而且满足不了国内外市场的需求。近年来, 牛、猪等动物所携带传播的各种传染病如疯牛病、口蹄疫在全球范围肆虐, 先后已有 21 个国家发生了疯牛病疫情, 国外已经禁止使用牛源性原料生产食品和药物。我国国家药监

福建省海洋与渔业局项目(闽海渔 05128 号)资助

* 通讯作者。E-mail: ggs@fjscs.ac.cn

收稿日期: 2009-09-30; 接受日期: 2010-01-29

作者简介: 位绍红(1982-), 女, 实习研究员, 主要从事水产品加工研究和水产品检测。E-mail: weiwsh1026@126.com, Tel: 13400602803

局也于2002年7月10日颁布了《进一步加强牛源性及其相关药品监督管理的公告》,明确指出禁止使用进口牛源性材料制备的明胶用于药品生产的空心胶囊。另一方面,信仰伊斯兰教、回教等地区的人们出于宗教信仰,排斥和拒绝使用以猪皮或猪骨生产的明胶以及以猪明胶为配料制备的医药制品和食品(刘小玲等 2004)。随着罗非鱼加工出口业的快速发展,产生了大量的下脚料鱼鳞、鱼皮,这些下脚料含有丰富的胶原蛋白,目前大部分只作为鱼粉使用,浪费了资源,未能物尽其用。就2005年而言,中国罗非鱼出口10.7万t(吴湘生 2006),其鱼鳞、鱼皮下脚料就高达1.5万t左右。因此,近年来人们开始热衷于研究和开发鱼皮、鱼鳞等水产品加工下脚料的胶原蛋白,既可以解决环境污染问题,又能增加水产品加工的附加值,扩大明胶的来源。

鱼鳞是鱼皮真皮层的变形物,占鱼体重量的1%~5%,含有丰富的胶原蛋白,占20%~40%,据估计,我国每年废弃的鱼鳞达30万t(罗红宇 2003)。从20世纪50年代起,人们对鱼皮胶原蛋白进行了大量研究,国外对鱼皮胶原蛋白的研究较为深入,有关研究也有不少报道(Muyonga *et al.* 2004; Takeshi *et al.* 2000、2002; Jamilah *et al.* 2002; Rigo *et al.* 2002; Fernandez-Diaz *et al.* 2001; Gordon *et al.* 1960; Batista 1999)。明胶的提取工艺主要有碱法、酸法、酶法、酸盐法、盐碱法,目前国内外关于采用陆生动物的皮和骨为原料提取明胶的工艺已很成熟,从鱼皮和鱼鳞中提取明胶的文献也已有报道(赵海英等 2005; 钱曼等 2007; 王信苏等 2006; 张海彬等 2008; 钟朝辉等 2006、2007; 刘霞 2008; 王屹等 2007; 张俊杰等 2006a、2006b; 威海市宇王水产有限公司 2005; 海南莱顿生物技术有限公司 2006; 由守谊 2006; 潘杨等 2008; 韩军 2008; 陈小娥等 2006; Ladislaus *et al.* 2006; 杨忠丽等 2008; 周艳军等 2002; Lefebvre *et al.* 2002; Kasankala 2006; 李丁等 2006; 于洋 2002; 叶小燕等 2008),但各文献仅是对其中的某一种提取工艺进行具体的研究分析,而对各种提取工艺之间的比较研究还是空白。本文在之前各种鱼皮胶、鱼鳞胶提取工艺研究基础之上,以罗非鱼的鱼鳞为原料,采用正交试验法,分别系统研究用碱法、酸法、酶法、酸盐法、盐碱法前处理提取鱼鳞明胶的优化工艺,并通过对这几种优化工艺进行比较和熬胶工艺的研究,进而最终探讨出鱼鳞提取明胶的最佳工艺,以便于指导鱼鳞明胶的工业生产。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料

冷冻的罗非鱼鱼鳞:福建龙海格林水产食品有限公司提供。

1.1.2 试剂

石灰(AR)、盐酸(AR)、无水硫酸钠(AR)、氢氧化钠(AR)、酸性蛋白酶($\geq 50\ 000\ \mu/g$)。

1.1.3 仪器与设备

HH-6 数显恒温水浴锅、PHS-25 酸度计、KF3102 电子天平、101A-3 型电热鼓风干燥箱、TDL-40B 台式离心机、NDJ-5S 型数字式粘度计、凝胶强度测定仪。

1.2 鱼鳞提取明胶的工艺流程

冷冻罗非鱼鱼鳞→洗涤→切碎→前处理→漂洗→浸酸→漂洗至 pH 5~6 左右→熬胶→合并胶液→真空浓缩→60℃鼓风干燥箱干燥→粉碎→测定。

1.2.1 原材料的预处理

将购买的带鳞鱼皮解冻,人工刮鳞,将鱼鳞进行清洗、称重、分装、冷冻,以备实验使用。

1.2.2 前处理方法

分别进行碱法(石灰)、酸法(盐酸)、酸盐法(盐酸与硫酸钠)、盐碱法(氢氧化钠与硫酸钠)、酶法(酸性蛋白酶)处理的 $L_9(3^3)$ 正交试验,以得率、粘度及凝胶强度为指标,通过直观分析和综合平衡法得出各方法的优化工艺。

所用水量为鱼鳞的3倍。为了对前处理方法进行比较,前处理后的提胶工艺 pH 均为6,并按1.2.3.1 pH

单因素试验规定的提胶温度、时间和次数进行提胶。

1.2.3 蒸胶

1.2.3.1 pH单因素试验

以较优的前处理方法处理后,经浸酸漂洗后的鱼鳞分别放置在pH 4、5、6、7的热蒸馏水(水量以浸没原料为准)中提胶3次,并分别测定其胶的得率、粘度和凝胶强度。其提取温度、时间如下:

第1次提胶温度为60℃,时间为2h,过滤分离胶液;第2次提胶温度为65℃,时间为2h,过滤分离胶液;第3次提胶温度为70℃,时间为3h,过滤,合并3次提取所得胶液。

1.2.3.2 温度和时间组合优化试验

在pH 5~6热蒸馏水中提胶,其温度和时间组合分别如下:提胶时间共10h,水量2.5倍,分为5组。

1组:65℃加热10h,一次提胶;2组:75℃加热10h,一次提胶;3组:65、75℃各加热5h,共分两次提胶;4组:65℃加热3h,70、75℃各加热3.5h,共分3次提胶;5组:60、65、70、75℃各加热2.5h,共分4次提胶。

1.2.4 真空浓缩、干燥、粉碎

采用旋转蒸发器,在真空度不低于500mm汞柱,温度不超过60℃的情况下浓缩,将合并胶液浓缩至20%左右,然后在60℃的鼓风干燥箱干燥至明胶含水量14%以下,经粉碎机粉碎,即可得成品明胶。

1.3 明胶理化指标的测定

1.3.1 得率

取 w g鱼鳞,清洗,经过预处理浸酸漂洗后,在一定的温度、pH、时间下进行若干次水浴加热提胶,用双层纱布过滤胶液,弃滤渣,将滤液干燥至含水分14%以下,得明胶 w_1 g。

$$\text{明胶得率}(\%) = w_1/w \times 100$$

1.3.2 明胶测定溶液的配制

取一定量明胶,准确至0.1g,加入一定量的蒸馏水,在20℃左右下放置2h,使其吸水膨胀,然后置于 65 ± 1 ℃的水浴中,在15min之内溶成均匀的液体,最后使其达到规定的浓度。

1.3.3 粘度的测定

用烧杯配制6.67%的胶液200ml,将胶液冷却至60℃,放到NDJ-5S型数字式粘度计转盘之下,采用1号转子,调转速为60r/min,装好转子,调整转子的高度,使转子的液面标志刚好处于样品溶液的液面上,开动电机,待旋转平衡,读数显示稳定后,读取并记录数值,单位为mPa·s。

1.3.4 凝胶强度测定

将测定完粘度的胶液放置室温冷却,然后将其倒入冻力瓶内,在 10 ± 0.1 ℃的低温恒水槽中放置16~18h后,取出冻力瓶,用凝胶强度测定仪测定,读取并记录测定值,单位为g/cm²。

2 结果与讨论

2.1 鱼鳞提取明胶的工艺优化

2.1.1 鱼鳞各种前处理方法的工艺优化

2.1.1.1 碱法

经预试验后,碱法处理的正交试验设计及试验结果如表1所示。

从表1的正交试验结果可以看出,各因素对明胶得率的影响由主到次依次为 $A > C > B$,优方案为 $A_1 B_2 C_1$,即石灰量0.4%,温度20℃,时间4d;各因素对明胶粘度的影响由主到次依次为 $B > A > C$,优方案为 $A_3 B_1 C_1$,即石灰量1%,温度10℃,时间4d;各因素对明胶凝胶强度的影响由主到次依次为 $C > A > B$,优方案为 $A_3 B_1 C_1$,即石灰量1%,温度10℃,时间4d。通过直观分析和综合平衡法最终得到综合的优方案为 $A_3 B_1 C_1$,即石灰量1%,温度10℃,时间4d。

2.1.1.2 酸法

表 1 碱法处理正交试验结果及直观分析
Table 1 Results and analysis of orthogonal test of alkaline treatment

| 组别 Series | 石灰量 Concentration of calcium hydroxide (%) | 温度 Temperature (°C) | 时间 Time (d) | 得率 Yield (%) | 粘度 Viscosity (mPa · s) | 凝胶强度 Gel strength (g/cm ²) |
|--|---|---------------------------|-------------------|--|------------------------------|--|
| A ₁ B ₁ C ₁ | 1(0.4) | 1(10) | 1(4) | 12.86 | 10.2 | 831.5 |
| A ₁ B ₂ C ₂ | 1(0.4) | 2(20) | 2(5.5) | 11.86 | 10 | 697.3 |
| A ₁ B ₃ C ₃ | 1(0.4) | 3(30) | 3(7) | 11.1 | 10.8 | 769 |
| A ₂ B ₁ C ₂ | 2(0.7) | 1(10) | 2(5.5) | 10.57 | 10.9 | 884.3 |
| A ₂ B ₂ C ₃ | 2(0.7) | 2(20) | 3(7) | 10.28 | 6.6 | 477 |
| A ₂ B ₃ C ₁ | 2(0.7) | 3(30) | 1(4) | 9.72 | 10.2 | 1117 |
| A ₃ B ₁ C ₃ | 3(1) | 1(10) | 3(7) | 7.23 | 11.9 | 1178.7 |
| A ₃ B ₂ C ₁ | 3(1) | 2(20) | 1(4) | 9.83 | 10.7 | 1126.7 |
| A ₃ B ₃ C ₂ | 3(1) | 3(30) | 2(5.5) | 9.66 | 9.2 | 687.7 |
| 得率 Yield | K ₁ | 11.94 | 10.22 | 10.8 | | |
| | K ₂ | 10.19 | 10.66 | 10.7 | | |
| | K ₃ | 8.91 | 10.16 | 9.54 | | |
| | R ₁ | 3.03 | 0.5 | 1.26 | | |
| | 因素主次 Primary and secondary factors | | | ACB | | |
| | 优方案 Optimal craft | | | A ₁ B ₂ C ₁ | | |
| | K ₁ | 10.33 | 11 | 10.37 | | |
| | K ₂ | 9.23 | 9.1 | 10.03 | | |
| | K ₃ | 10.6 | 10.07 | 9.77 | | |
| | R ₂ | 1.37 | 1.9 | 0.6 | | |
| 粘度 Viscosity | 因素主次 Primary and secondary factors | | | BAC | | |
| | 优方案 Optimal craft | | | A ₃ B ₁ C ₁ | | |
| | K ₁ | 765.93 | 964.83 | 1025.07 | | |
| | K ₂ | 826.1 | 767 | 756.43 | | |
| | K ₃ | 997.7 | 857.9 | 808.23 | | |
| 凝胶强度 Gel strength | R ₃ | 231.77 | 197.83 | 268.64 | | |
| | 因素主次 Primary and secondary factors | | | CAB | | |
| | 优方案 Optimal craft | | | A ₃ B ₁ C ₁ | | |

经预试验后, 酸法处理的正交试验设计及试验结果如表 2 所示。

从表 2 的正交试验结果可以看出, 各因素对明胶得率的影响由主到次依次为 $C > A > B$, 优方案为 $A_3B_1C_2$, 即 HCl 浓度 4.5%, 时间 4 h, 温度 20 °C; 各因素对明胶粘度的影响由主到次依次为 $B > C > A$, 优方案为 $A_2B_2C_2$, 即 HCl 浓度 3.5%, 时间 8h, 温度 20 °C; 各因素对明胶凝胶强度的影响由主到次依次为 $B > A > C$,

表 2 酸法处理正交试验结果及直观分析
Table 2 Results and analysis of orthogonal test of acid treatment

| 组别 Series | HCl 浓度 Concentration of hydrochloric acid (%) | 时间 Time (h) | 温度 Temperature (°C) | 得率 Yield (%) | 粘度 Viscosity (mPa · s) | 凝胶强度 Gel strength (g/cm ²) |
|--|--|-------------------|--|--------------------|------------------------------|--|
| A ₁ B ₁ C ₁ | 1(2.5) | 1(4) | 1(10) | 11.30 | 9.20 | 507.7 |
| A ₁ B ₂ C ₂ | 1(2.5) | 2(8) | 2(20) | 13.99 | 11.50 | 591.3 |
| A ₁ B ₃ C ₃ | 1(2.5) | 3(12) | 3(30) | 11.72 | 8.20 | 461.7 |
| A ₂ B ₁ C ₂ | 2(3.5) | 1(4) | 2(20) | 15.31 | 9.70 | 702.0 |
| A ₂ B ₂ C ₃ | 2(3.5) | 2(8) | 3(30) | 12.05 | 11.00 | 937.0 |
| A ₂ B ₃ C ₁ | 2(3.5) | 3(12) | 1(10) | 11.85 | 9.20 | 431.0 |
| A ₃ B ₁ C ₃ | 3(4.5) | 1(4) | 3(30) | 13.45 | 9.10 | 574.7 |
| A ₃ B ₂ C ₁ | 3(4.5) | 2(8) | 1(10) | 13.10 | 10.00 | 651.0 |
| A ₃ B ₃ C ₂ | 3(4.5) | 3(12) | 2(20) | 14.70 | 10.20 | 613.3 |
| K ₁ | 12.34 | 13.35 | 12.09 | | | |
| K ₂ | 13.07 | 13.05 | 14.67 | | | |
| K ₃ | 13.75 | 12.76 | 12.40 | | | |
| R ₁ | 1.41 | 0.59 | 2.58 | | | |
| 得率 Yield | 因素主次 Primary and secondary factors | | CAB | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₃ B ₁ C ₂ | | | |
| | K ₁ | 9.63 | 9.33 | 9.47 | | |
| | K ₂ | 9.97 | 10.83 | 10.47 | | |
| | K ₃ | 9.77 | 9.20 | 9.43 | | |
| | R ₂ | 0.34 | 1.63 | 1.04 | | |
| 粘度 Viscosity | 因素主次 Primary and secondary factors | | BCA | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₂ B ₂ C ₂ | | | |
| | K ₁ | 520.23 | 594.80 | 529.90 | | |
| | K ₂ | 690.00 | 726.43 | 635.53 | | |
| | K ₃ | 613.00 | 502.00 | 657.80 | | |
| | R ₃ | 169.77 | 224.43 | 127.90 | | |
| 凝胶强度 Gel strength | 因素主次 Primary and secondary factors | | BAC | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₂ B ₂ C ₃ | | | |

优方案为 A₂B₂C₃, 即 HCl 浓度 3.5%, 时间 8 h, 温度 30 ℃。通过直观分析和综合平衡法最终得到综合的优方案为 A₂B₂C₂, 即 HCl 浓度 3.5%, 时间 8 h, 温度 20 ℃。

2.1.1.3 酸盐法

经预试验后, 在常温下(23 ℃左右)酸盐法处理的正交试验设计及试验结果如表 3 所示。

表 3 酸盐法处理正交试验结果及直观分析

Table 3 Results and analysis of orthogonal test of acid and saline treatment

| 组别 Series | HCl Concentration of hydrochloric acid (%) | 时间 Time (h) | Na ₂ SO ₄ Concentration of sodium sulfate(g/L) | 得率 Yield (%) | 粘度 Viscosity (mPa · s) | 凝胶强度 Gel strength (g/cm ²) |
|--|---|-------------------|--|--------------------|------------------------------|--|
| A ₁ B ₁ C ₁ | 1(2.5) | 1(4) | 1(0) | 12.30 | 9.10 | 762.3 |
| A ₁ B ₂ C ₂ | 1(2.5) | 2(8) | 2(5) | 15.75 | 10.80 | 1 093.0 |
| A ₁ B ₃ C ₃ | 1(2.5) | 3(12) | 3(10) | 16.27 | 11.40 | 1 051.3 |
| A ₂ B ₁ C ₂ | 2(3.5) | 1(4) | 2(5) | 15.73 | 11.20 | 723.0 |
| A ₂ B ₂ C ₃ | 2(3.5) | 2(8) | 3(10) | 16.79 | 11.00 | 806.0 |
| A ₂ B ₃ C ₁ | 2(3.5) | 3(12) | 1(0) | 10.29 | 9.85 | 1 091.0 |
| A ₃ B ₁ C ₃ | 3(4.5) | 1(4) | 3(10) | 16.70 | 10.40 | 721.7 |
| A ₃ B ₂ C ₁ | 3(4.5) | 2(8) | 1(0) | 9.76 | 9.25 | 1 159.3 |
| A ₃ B ₃ C ₂ | 3(4.5) | 3(12) | 2(5) | 13.91 | 11.40 | 1 014.7 |
| K ₁ | 14.77 | 14.91 | 10.78 | | | |
| K ₂ | 14.27 | 14.10 | 15.13 | | | |
| K ₃ | 13.46 | 13.49 | 16.59 | | | |
| R ₁ | 1.31 | 1.42 | 5.81 | | | |
| 得率 Yield | 因素主次 Primary and secondary factors | | CBA | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₁ B ₁ C ₃ | | | |
| | K ₁ | 10.43 | 10.23 | 9.40 | | |
| | K ₂ | 10.68 | 10.35 | 11.13 | | |
| | K ₃ | 10.35 | 10.88 | 10.93 | | |
| | R ₂ | 0.33 | 0.65 | 1.73 | | |
| 粘度 Viscosity | 因素主次 Primary and secondary factors | | CBA | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₂ B ₃ C ₂ | | | |
| | K ₁ | 968.87 | 735.67 | 1 004.20 | | |
| | K ₂ | 873.33 | 1 019.43 | 943.57 | | |
| | K ₃ | 965.23 | 1 052.33 | 859.67 | | |
| | R ₃ | 95.54 | 316.66 | 144.53 | | |
| 凝胶强度 Gel strength | 因素主次 Primary and secondary factors | | BCA | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₁ B ₃ C ₁ | | | |

从表3的正交试验结果可以看出,各因素对明胶得率的影响由主到次依次为 $C>B>A$,优方案为 $A_1B_1C_3$,即HCl浓度2.5%,时间4h, Na_2SO_4 浓度10 g/L;各因素对明胶粘度的影响由主到次依次为 $C>B>A$,优方案为 $A_2B_3C_2$,即HCl浓度3.5%,时间12h, Na_2SO_4 浓度5 g/L;各因素对明胶凝胶强度影响由主到次依次为 $B>C>A$,优方案为 $A_1B_3C_1$,即HCl浓度2.5%,时间12h, Na_2SO_4 浓度0 g/L。通过直观分析和综合平衡法最终得到综合的优方案为 $A_1B_3C_2$,即HCl浓度2.5%,时间12h, Na_2SO_4 浓度5 g/L。

2.1.1.4 盐碱法

采用氢氧化钠与硫酸钠的混合溶液进行浸渍处理,硫酸钠浓度100 g/L保持不变,经预试验后,正交试验设计及测定结果如表4所示。

表4 盐碱法处理正交试验结果及直观分析

Table 4 Results and analysis of orthogonal test of saline and alkaline treatment

| 组别 Series | NaOH+Na ₂ SO ₄ Concentration of sodium hydroxide and sodium sulfate(g/L) | 时间 Time (h) | 温度 Temperature (°C) | 得率 Yield (%) | 粘度 Viscosity (mPa·s) | 凝胶强度 Gel strength (g/cm ²) |
|--|---|-------------------|---|--------------------|----------------------------|--|
| A ₁ B ₁ C ₁ | 1(20+100) | 1(8) | 1(10) | 6.975 | 11.7 | 930.3 |
| A ₁ B ₂ C ₂ | 1(20+100) | 2(16) | 2(20) | 9.705 | 10.4 | 837 |
| A ₁ B ₃ C ₃ | 1(20+100) | 3(24) | 3(30) | 9.02 | 9.2 | 666 |
| A ₂ B ₁ C ₂ | 2(30+100) | 1(8) | 2(20) | 9.215 | 11.5 | 1 079.3 |
| A ₂ B ₂ C ₃ | 2(30+100) | 2(16) | 3(30) | 10.22 | 12.5 | 787.7 |
| A ₂ B ₃ C ₁ | 2(30+100) | 3(24) | 1(10) | 8.555 | 9.9 | 752.7 |
| A ₃ B ₁ C ₃ | 3(40+100) | 1(8) | 3(30) | 10.315 | 9.9 | 997.3 |
| A ₃ B ₂ C ₁ | 3(40+100) | 2(16) | 1(10) | 11.2 | 10.2 | 1 131.7 |
| A ₃ B ₃ C ₂ | 3(40+100) | 3(24) | 2(20) | 10.415 | 9.5 | 898.3 |
| K ₁ | 8.57 | 8.84 | 8.91 | | | |
| K ₂ | 9.33 | 10.38 | 9.78 | | | |
| K ₃ | 10.64 | 9.33 | 9.85 | | | |
| R ₁ | 2.07 | 1.54 | 0.94 | | | |
| 得率 Yield | 因素主次 Primary and secondary factors | | ABC | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₃ B ₂ C ₃ | | | |
| | K ₁ | 10.43 | 11.03 | 10.60 | | |
| | K ₂ | 11.30 | 11.03 | 10.47 | | |
| | K ₃ | 9.87 | 9.53 | 10.53 | | |
| | R ₂ | 1.43 | 1.5 | 0.13 | | |
| 粘度 Viscosity | 因素主次 Primary and secondary factors | | BAC | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₂ B ₁ C ₁ 或 A ₂ B ₂ C ₁ | | | |
| | K ₁ | 811.10 | 1 002.30 | 938.23 | | |
| | K ₂ | 873.23 | 918.80 | 938.20 | | |
| | K ₃ | 1 009.10 | 772.33 | 817.00 | | |
| | R ₃ | 198 | 229.97 | 121.23 | | |
| 凝胶强度 Gel strength | 因素主次 Primary and secondary factors | | BAC | | | |
| | 优方案 Optimal craft | | A ₃ B ₁ C ₁ | | | |

从表 4 的正交试验结果可以看出,各因素对明胶得率的影响由主到次依次为 $A > B > C$, 优方案为 $A_3B_2C_3$, 即 $(NaOH + Na_2SO_4)$ 浓度 $(40\text{ g} + 100\text{ g})/L$, 时间 16 h , 温度 $30\text{ }^\circ\text{C}$; 各因素对明胶粘度的影响由主到次依次为 $B > A > C$, 优方案为 $A_2B_1C_1$ 或 $A_2B_2C_1$, 即 $(NaOH + Na_2SO_4)$ 浓度 $(30\text{ g} + 100\text{ g})/L$, 时间 8 h 或 16 h , 温度 $10\text{ }^\circ\text{C}$; 各因素对明胶凝胶强度的影响由主到次依次为 $B > A > C$, 优方案为 $A_3B_1C_1$, 即 $(NaOH + Na_2SO_4)$ 浓度 $(40\text{ g} + 100\text{ g})/L$, 时间 8 h , 温度 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 。通过直观分析和综合平衡法最终得到综合的优方案为 $A_3B_1C_2$, 即 $(NaOH + Na_2SO_4)$ 浓度 $(40\text{ g} + 100\text{ g})/L$, 时间 8 h , 温度 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.1.1.5 酶法

经预试验后,酶法处理的 pH 调至 3.5,其正交试验设计及试验结果如表 5 所示。

表 5 酸性蛋白酶处理正交试验结果及直观分析
Table 5 Results and analysis of orthogonal test of acidic protease treatment

| 组别 Series | 酶量 Concentration of acidic protease (%) | 温度 Temperature ($^\circ\text{C}$) | 时间 Time (h) | 得率 Yield (%) | 粘度 Viscosity ($\text{mPa} \cdot \text{s}$) | 凝胶强度 Gel strength (g/cm^2) |
|----------------------|---|---|-------------------|--------------------|--|--|
| $A_1B_1C_1$ | 1(0.2) | 1(30) | 1(1) | 11.435 | 11.6 | 1120 |
| $A_1B_2C_2$ | 1(0.2) | 2(35) | 2(1.5) | 11.315 | 10.3 | 908.3 |
| $A_1B_3C_3$ | 1(0.2) | 3(40) | 3(2) | 10.97 | 10.0 | 1118.7 |
| $A_2B_1C_2$ | 2(0.35) | 1(30) | 2(1.5) | 11.65 | 10.2 | 814.7 |
| $A_2B_2C_3$ | 2(0.35) | 2(35) | 3(2) | 12.55 | 10.6 | 952.7 |
| $A_2B_3C_1$ | 2(0.35) | 3(40) | 1(1) | 11.255 | 10.0 | 911.7 |
| $A_3B_1C_3$ | 3(0.5) | 1(30) | 3(2) | 11.895 | 9.9 | 677.7 |
| $A_3B_2C_1$ | 3(0.5) | 2(35) | 1(1) | 11.235 | 10.4 | 799.3 |
| $A_3B_3C_2$ | 3(0.5) | 3(40) | 2(1.5) | 10.9 | 10.8 | 1070.7 |
| 得率 Yield | K_1 | 11.24 | 11.66 | 11.31 | | |
| | K_2 | 11.82 | 11.70 | 11.29 | | |
| | K_3 | 11.34 | 11.04 | 11.81 | | |
| | R_1 | 0.58 | 0.66 | 0.52 | | |
| | 因素主次 Primary and secondary factors | | | BAC | | |
| 优方案 Optimal craft | | | $A_2B_2C_3$ | | | |
| 粘度 Viscosity | K_1 | 10.63 | 10.57 | 10.67 | | |
| | K_2 | 10.27 | 10.43 | 10.43 | | |
| | K_3 | 10.37 | 10.27 | 10.17 | | |
| | R_2 | 0.36 | 0.3 | 0.5 | | |
| | 因素主次 Primary and secondary factors | | | CAB | | |
| 优方案 Optimal craft | | | $A_1B_1C_1$ | | | |
| 凝胶强度 Gel strength | K_1 | 1049.00 | 870.80 | 943.67 | | |
| | K_2 | 893.03 | 886.77 | 931.23 | | |
| | K_3 | 849.23 | 1033.70 | 916.37 | | |
| | R_3 | 199.77 | 162.9 | 27.3 | | |
| | 因素主次 Primary and secondary factors | | | ABC | | |
| 优方案 Optimal craft | | | $A_1B_3C_1$ | | | |

从表5所示的正交试验结果可以看出,各因素对明胶得率的影响由主到次依次为 $B > A > C$, 优方案为 $A_2 B_2 C_3$, 即酶量 0.35%, 温度 35 °C, 时间 2 h; 各因素对明胶粘度的影响由主到次依次为 $C > A > B$, 优方案为 $A_1 B_1 C_1$, 即酶量 0.2%, 温度 30 °C, 时间 1 h; 各因素对明胶凝胶强度的影响由主到次依次为 $A > B > C$, 优方案为 $A_1 B_3 C_1$, 即酶量 0.2%, 温度 40 °C, 时间 1 h。通过直观分析和综合平衡法最终得到综合的优方案为 $A_1 B_2 C_1$, 即酶量 0.2%, 温度 35 °C, 时间 1 h。

2.1.1.6 各种前处理方法的最优工艺

(1)碱法:用3倍1%的石灰溶液,在温度10 °C下浸渍鱼鳞4 d,其间在第2天时更换1次同含量的石灰溶液。(2)酸法:用3倍浓度为3.5%的HCl溶液,在温度20 °C下浸渍鱼鳞8 h。(3)酸盐法:用3倍2.5% HCl与5 g/L $Na_2 SO_4$ 的混合溶液在常温下(23 °C左右)浸渍鱼鳞12 h。(4)盐碱法:用3倍40 g/L NaOH与100 g/L $Na_2 SO_4$ 的混合溶液,在温度20 °C下,浸渍鱼鳞8 h。(5)酶法:用3倍0.2%的酸性蛋白酶溶液,调pH值至3.5,于35 °C水浴中酶解鱼鳞1 h。

2.1.2 鱼鳞最佳的前处理方法及工艺的优化

分别采用以上5种前处理的最优工艺参数对鱼鳞进行前处理,最后以明胶得率、粘度和凝胶强度为指标进行相对比较,选取最终的最佳工艺,其结果如表6所示。

表6 鱼鳞提胶五种前处理方法比较
Table 6 Comparison of five pre-treatment methods for fish scales

| 组别 | Series | 得率 Yield(%) | 粘度 Viscosity(mPa · s) | 凝胶强度 Gel strength(g/cm ²) |
|--------|---------------------|-------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 1(碱法) | Alkaline | 12.25 | 9.9 | 899.7 |
| 2(酸法) | Acid | 10.48 | 8.6 | 793.7 |
| 3(酸盐法) | Acid and saline | 11.61 | 8.7 | 845.3 |
| 4(酶法) | Enzyme | 12.22 | 10 | 987 |
| 5(盐碱法) | Saline and alkaline | 12.36 | 9.3 | 1 086 |

从表6可以看出,第1、4、5组明胶的得率和粘度较高,而且结果相似,分别在12%以上和9.3~10 mPa · s,而凝胶强度也是这3组较高,第5组 > 第4组 > 第1组。仅从所得明胶物性应以5组的盐碱法最好,但是从环保方面考虑应选用第4组的酶法为宜,即用0.2%的酶溶液,调pH值至3.5,于35 °C水浴中酶解1 h。

2.1.3 鱼鳞的熬胶工艺优化

2.1.3.1 熬胶 pH 值

本试验按酶法的优化工艺进行前处理,做了熬胶时不同pH值对明胶得率、粘度、凝胶强度的影响,其结果如表7所示。

表7 鱼鳞熬胶 pH 值单因素试验
Table 7 Single factor test of pH in extracting gelatin from fish scale

| 组别 | 得率 | 粘度 | 凝胶强度 | 组别 | 得率 | 粘度 | 凝胶强度 |
|--------|----------|--------------------|----------------------------------|--------|----------|--------------------|----------------------------------|
| Series | Yield(%) | Viscosity(mPa · s) | Gel strength(g/cm ²) | Series | Yield(%) | Viscosity(mPa · s) | Gel strength(g/cm ²) |
| pH 4 | 11.31 | 9.9 | 945.3 | pH 6 | 11.91 | 10.2 | 1 032 |
| pH 5 | 12.15 | 10.1 | 958.3 | pH 7 | 9.67 | 9.4 | 858.3 |

从表7及图1可以看出,明胶得率、粘度和凝胶强度随pH值变化的趋势一致,均随着pH值的增大呈先增大后减小的趋势,得率在pH 5时取得最大值,而粘度和凝胶强度均在pH 6时取得最大值,由实验结果可以看出,在pH 5和pH 6时,明胶得率、粘度和凝胶强度均相差不大。因此,综合考虑熬胶pH值对3个指标的影响,最终确定熬胶pH值控制在pH 5~6。

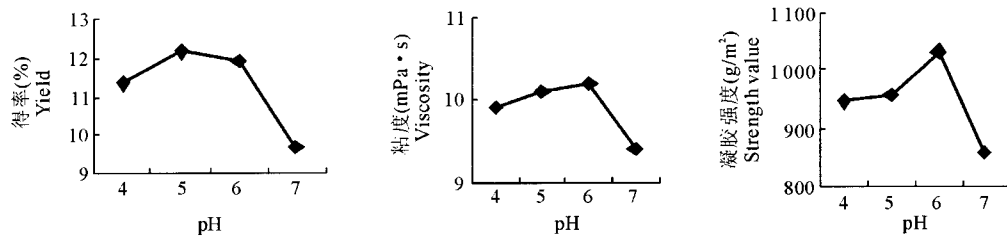


图 1 明胶得率、粘度、凝胶强度随提胶 pH 变化的趋势
Fig. 1 Impact of pH on the yield, viscosity and gel strength

2.1.3.2 熬胶温度、时间的组合优化

本试验以酶法的优化工艺对鱼鳞进行前处理,并在熬胶 pH 5~6 下做了熬胶时不同温度、时间组合对明胶得率、粘度、凝胶强度的影响,其结果如表 8 所示。

表 8 鱼鳞熬胶温度、时间的组合优化试验

Table 8 Temperature and time combination optimization experiment on extracting gelatin from fish scale

| 组别 Series | 得率 Yield(%) | 粘度 Viscosity(mPa·s) | 凝胶强度 Gel strength(g/cm²) |
|-----------|-------------|---------------------|--------------------------|
| 1 | 11.59 | 9.6 | 911 |
| 2 | 10.96 | 9.2 | 892.3 |
| 3 | 11.89 | 10.3 | 953.3 |
| 4 | 12.18 | 10.4 | 985.3 |
| 5 | 11.43 | 11.2 | 998 |

从表 8 及图 2 来看,明胶粘度和凝胶强度分别都是在第 5 组时取得最大值,得率却是在第 4 组时取得最大值,从趋势图可以看出第 5 组同第 4 组的得率、粘度和凝胶强度的结果相差不大,而第 4 组只要 3 个温度 3 次提胶,操作相对简单,所以熬胶温度、时间的优化组合以第 4 组为宜。即 65 °C 加热 3 h,70、75 °C 各加热 3.5 h,共分 3 次提胶。

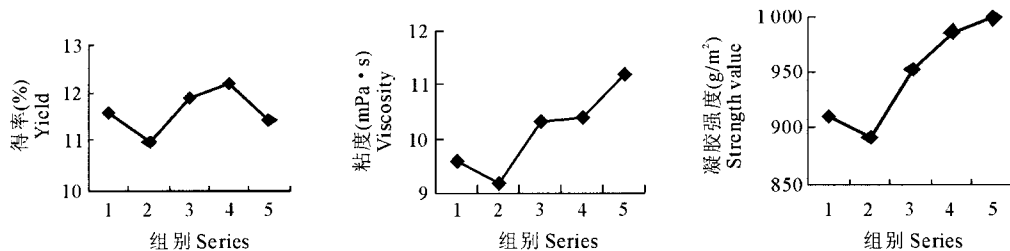


图 2 明胶得率、粘度、凝胶强度随提胶温度、时间变化的趋势
Fig. 2 Impact of temperature and time on yield, viscosity and gel strength

3 小结

鱼鳞提取明胶的最佳方法为酶法,其工艺如下:

(1)前处理:用 0.2% 的混合酶溶液,调 pH 至 3.5,于 35 °C 水浴中酶解鱼鳞 1 h。(2)浸胶:用 2% 盐酸浸渍约 4 h,之后用清水漂洗至 pH 5~6 左右。(3)熬胶:分 3 次熬胶,即 65 °C 加热 3 h,70、75 °C 各加热 3.5 h,过滤后将 3 次胶液合并。(4)浓缩干燥、粉碎:采用旋转蒸发器,在真空度不低于 500 mm 汞柱,温度不超过 60 °C 的情况下浓缩,将合并胶液浓缩至 20% 左右,然后在 60 °C 的鼓风干燥箱干燥至明胶含水量 14% 以下,经粉碎机粉碎,即可得成品明胶。

参 考 文 献

- 于洋,方旭波. 2009. 罗非鱼明胶的制备及性质研究. 中国食物及营养, 1: 26~29
- 王 屹,刘剑虹,李可伟. 2007. 胃蛋白酶法提取草鱼鳞胶原蛋白的工艺研究. 食品研究与开发, 28(4): 134~136
- 王信苏,汪之和. 2006. 草鱼鱼鳞胶原蛋白的提取. 现代食品科技, 22(4): 148~150
- 叶小燕,曾少葵,余文国,吴文龙,曾祥根. 2008. 罗非鱼皮营养成分分析及鱼皮明胶提取工艺的探讨. 南方水产, 4(5): 55~60
- 由守谊. 2006. 一种鱼鳞胶原蛋白生产工艺. 中国专利: 200510044916.05, 24
- 刘小玲,许时婴. 2004. 从鸡骨中制取明胶的加工工艺. 食品与发酵工业, 30(9): 48~53
- 刘 霞. 2008. 鱼鳍和鱼鳞中胶原蛋白的提取. 湖南农机, 2: 146~147
- 李 丁,刘海英,过世东. 2006. 斑点叉尾鲟鱼皮明胶制备工艺的优化. 食品工业科技, 12: 134~137
- 吴湘生. 2006. 2006年中国罗非鱼市场形势分析. 北京水产, 2: 21
- 张俊杰,段 蕊,陈 璐. 2006a. 鲤鱼鳞溶性胶原蛋白提取的研究. 水产科学, 25(12): 640~643
- 张俊杰,段 蕊,潘秀楼. 2006b. 鲤鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白提取工艺的应用. 淮海工学院学报, 15(4): 55~58
- 张海彬,王军玲. 2008. 鲢鱼鳞片胶原蛋白的提取. 水利渔业, 28(2): 43~45
- 杨忠丽,吴 波,陈云中. 2008. 鲟鱼皮明胶的提取工艺研究. 食品科技, 2: 213~215
- 陈小娥,方旭波,钟秋琴. 2006. 安康鱼皮明胶的制备及性质研究. 食品科技, 12: 173~176
- 周艳军,李培仁. 2002. 鱼明胶的制备及其性质. 明胶科学及技术, 22(2): 65~74
- 罗红宇. 2003. 海鱼鱼鳞营养成分的分析. 食品研究与开发, 24(3): 63~66
- 威海市宇王水产有限公司. 2005. 鱼鳞胶原蛋白的生产方法. 中国专利: 200310114500.06, 22
- 赵海英,梁程超,缪锦来,李光友. 2005. 鳕鱼皮胶原蛋白的制备及其成分分析. 中国海洋药物, 24(5): 30~32
- 钟朝辉,李春美,顾海峰,窦宏亮. 2007. 草鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白的提取及基本特性. 水产科学, 26(2): 91~94
- 钟朝辉,李春美,梁晋鄂,顾海峰,窦宏亮. 2006. 鱼鳞胶原蛋白提取工艺的优化. 食品科学, 27(7): 162~166
- 海南莱顿生物技术有限公司. 2006. 利用酶工程技术从鱼鳞中提取小分子胶原蛋白的方法. 中国专利: 200510126543.08, 09
- 钱 曼,武贤壮,邱承光,熊善柏. 2007. 热立法和酶解法提取鱼鳞胶原蛋白的工艺及性质研究. 食品工业科技, 28(10): 70~72
- 韩 军. 2008. 斑点叉尾鲟鱼头提取明胶的研究. 见: 中国优秀硕士学位论文全文数据库
- 潘 杨,许学勤. 2008. 酸碱法提取鱼鳞胶的工艺研究. 食品科技, (3): 183~186
- Batista, I. 1999. Recovery of proteins from fish waste products by alkaline extraction. Eur. Food Res. Technol. 210: 84~89
- Fernandez-Diaz, M. D., Montero, P., and Gomez-Guillen, M. C. 2001. Properties of collagens from skins cod (*Gadus morhua*) and hake (*Merluccius merluccius*) and their modification by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase. Food Chem. 74: 161~167
- Gordon, E., and Lorimer, J. W. 1960. The acid-soluble collagen of cod skin. Archives of Biochemistry and Biophysics, 88: 373~381
- Jamilah, B., and Harvinder, K. G. 2002. Properties of gelatins from skins of fishblack tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Food Chem. 77: 81~84
- Kasankala, M. L. 2006. 鱼皮、鱼骨中明胶的提取研究. 见: 江南大学硕士论文
- Ladislaus, M. K. 闫 雪,钱 和. 2006. 草鱼鱼皮明胶提取工艺优化. 海洋水产研究, 27(4): 82~89
- Lefebvre, G., Yrieix, S., Biarrotte, R. et al. 2002. Process for the preparation of fish gelatin. US 6,368,656 B1. United States Patent Lefebvre et al.
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., and Duodu, K. G. 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). Food Chem. 85: 81~89
- Rigo, C., Hartmann, D. J., and Bairati, A. 2002. Electrophoretic and immunochemical study of collagens from *Sepia officinalis* Cartilage. Biochimica et Biophysica Acta, 1572(1): 77~84
- Takeshi, N., and Nobutaka, S. 2000. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins. Food Chem. 68: 277~281
- Takeshi, N., Yoko, A., and Nobutaka, S. 2002. Collagen of the skin of ocellate puffer fish (*Taki fugu rubripes*). Food Chem. 78: 173~177