

提取 pH 和温度对罗非鱼(*Tilapia zillii*) 鱼鳞明胶特性的影响*

郑惠彬 翁武银 苏文金 郝更新

(集美大学生物工程学院 厦门 361021)

提要 以罗非鱼(*Tilapia zillii*)鱼鳞为原料, 考察提取 pH 和温度对明胶蛋白组分及其性质的影响。结果表明, 鱼鳞明胶蛋白在浸提 pH 大于 5 时容易发生酶解, pH 小于 3 时会发生热降解, 而在 pH 4 下酶解和热降解均被有效抑制。在 pH 4 下利用 40℃ 浸提明胶时, 蛋白的提取率只有 1.84%, 提取的明胶中亚氨基酸比例低而钙、磷、钠、镁等矿物质含量高, 因而无法形成凝胶和蛋白膜。当浸提温度提高到 50℃ 及以上时, 明胶提取率大幅增加, 明胶中亚氨基酸比例上升且矿物质含量比例下降。另外, 在 pH 4、70℃ 下浸提的明胶其凝胶强度可达 283g, 可形成机械强度为 50MPa 的蛋白膜, 表明该条件提取的鱼鳞明胶具有替代哺乳动物明胶的潜力。

关键词 鱼鳞明胶; pH; 温度; 凝胶性能; 成膜性能

中图分类号 TS254

明胶是一种具有良好凝胶性、成膜性和生物可降解性的天然高分子材料, 已被广泛应用于食品、医药等领域(Gómez-Guillén *et al.*, 2002; 黄玉平等, 2012)。目前市售明胶主要是利用猪、牛的皮和骨提取制备的哺乳动物明胶(Karim *et al.*, 2009), 但由于疯牛病、口蹄疫等的频繁爆发和宗教信仰等原因, 以及市场对明胶制品需求量的不断增加, 利用鱼类加工副产物制备明胶已经引起关注。另外, 罗非鱼是我国主要的淡水鱼种之一, 年产量已达 144 万 t, 其中有 60 万 t 左右用于加工(农业部渔业局, 2012), 将会产生 1.8 万 t 左右的鱼鳞, 可成为明胶提取原料的丰富资源。然而, 鱼类来源的明胶由于亚氨基酸(脯氨酸和羟脯氨酸)含量较低, 导致其形成的凝胶强度较低、热稳定性较差(陈丽等, 2009; Karim *et al.*, 2009; Limpisophon *et al.*, 2009)。而且, 鱼类明胶在提取过程中由于内源性蛋白酶的存在导致蛋白发生降解(Jongjareonrak *et al.*, 2006; Ahmad *et al.*, 2011), 进而影响明胶的性质。

Kittiphattanabawon 等(2010)利用竹鲨和黑鳍鲨的鱼皮提取明胶时发现由于蛋白降解导致凝胶强度低, 吴菲菲等(2013)发现 60℃ 热水提取的罗非鱼鱼鳞明胶制备的可食膜机械性能差的主要原因是蛋白发生了降解。这些结果表明, 鱼类明胶的凝胶性能和成膜性能不仅受原料来源的影响, 还与提取条件引起的明胶蛋白组分变化有关。但目前有关鱼类明胶尤其是鱼鳞明胶提取工艺的研究主要关注提取率和产品特性分析(Wangtueai *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011), 忽视了通过抑制明胶蛋白在提取过程的降解提高品质。因此, 本文以罗非鱼鱼鳞为原料, 深入考察提取 pH 和温度对鱼鳞明胶蛋白降解、凝胶性能和成膜性能的影响, 为扩大鱼类明胶的应用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

罗非鱼鱼鳞(福建厦门同安源水产食品有限公

* 国家自然科学基金项目, 31271984 号; 福建省高校新世纪优秀人才支持计划, JA11143 号。郑惠彬, 硕士研究生, E-mail: huibin315403047@163.com

通讯作者: 翁武银, 博士, 副教授, E-mail: wwymail@jmu.edu.cn

收稿日期: 2013-02-23, 收修改稿日期: 2013-04-26

司); EDTA、甘油、钼酸钠(国药集团化学试剂有限公司); 无水乙醇、氢氧化钠(广东光华化学厂有限公司); 盐酸、过氧化氢(西陇化工股份有限公司); DC 蛋白测定试剂盒(美国 Bio-Rad 公司); 羟脯氨酸试剂盒(南京建成生物工程研究所); 分子量标准物(美国 Fermentas 公司); 邻甲酚酞络合剂(天津市光复精细化工研究所)。

Avanti J-25 高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司); UV-2600 A 型紫外分光光度计(上海元析仪器有限公司); pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司); 7500a 型电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)(美国安捷伦科技有限公司); 日立 L-8900 全自动氨基酸分析仪(日本日立制造所); TMS-PRO 质构仪(美国 Food Technology 公司); UM113 型搅拌脱泡机(日本 Unix 有限公司); PSX 智能型恒温恒湿箱(浙江宁波莱福科技有限公司); 厚度仪(日本 Ozaki MFG 公司); G:Box 凝胶成像仪(英国 Syngene 公司)。

1.2 鱼鳞明胶的提取

鱼鳞明胶的提取参考 Jongjareonrak 等(2006)报道的方法并做些许改动。罗非鱼鱼鳞利用 3 倍原料重量的 0.05mol/L NaOH-25%酒精-1.5% H₂O₂ 溶液于 5℃ 下浸渍 24h 左右以除去脂肪和非胶原蛋白, 用清水漂洗至中性, 再加入 3 倍原料重量的 0.05mol/L HCl 溶液于室温下搅拌浸渍 1h 后, 用清水漂洗至溶液的 pH 接近中性, 沥干后加入一定量的蒸馏水并利用 0.50mol/L HCl 或 NaOH 溶液调整其 pH 值至 3—9, 利用 40—90℃ 的热水浴浸提一段时间, 迅速冷却至室温后通过离心(15000 × g, 20℃, 15min)获得明胶上清液, 冷冻干燥后保存在干燥器中备用。

1.3 鱼鳞明胶的提取率

提取的鱼鳞明胶中的蛋白含量和鱼鳞中的总蛋白含量根据 AOAC(2005)的方法进行测定。鱼鳞明胶固形物得率为鱼鳞明胶的干重(g)占鱼鳞干重(g)的比例, 蛋白提取率为鱼鳞明胶中的蛋白含量(g)与鱼鳞中总蛋白含量(g)的比值。

1.4 SDS-PAGE

SDS-PAGE 根据 Laemmli(1970)的方法进行测定, 其中浓缩胶和分离胶的浓度分别为 4%和 6%。将提取的鱼鳞明胶于 60℃ 下溶解后制备成浓度为 1mg/mL 的电泳样品, 在 10mA 恒定电流下进行电泳后利用考马斯亮蓝 R-250 染色液染色, 再用脱色液(甲醇:乙酸:水=3:1:6, V/V/V)脱色至背景完全透明为止, 最后利用凝胶成像仪进行拍照保存。

1.5 鱼鳞明胶的矿物质成分分析

明胶中的灰分含量根据 AOAC(2005)的方法进行

测定, 灰分用 HCl 溶解后利用 ICP-MS 测定其金属元素含量。其中, 钙含量参考 Ray Sarkar 等(1967)报道的方法进行测定, 在 HCl 溶解的灰分中加入邻甲酚酞络合剂显色液进行显色反应 10min, 然后于 570nm 处测定吸光值, 根据氯化钙溶液的标准曲线计算明胶中的钙含量。磷含量利用钼蓝比色法(Sugahara *et al*, 2000)进行测定, 在利用 HCl 溶解后的明胶灰分中加入钼酸-抗坏血酸试剂, 在沸水浴中反应 15min 后流水冷却至室温, 于 823nm 处测定吸光值, 根据磷酸二氢钾溶液的标准曲线计算明胶中的磷含量。

1.6 氨基酸组成分析

将鱼鳞明胶放在可密封的消化管中, 通过抽真空、充氮气密封, 于 110℃ 下利用 6mol/L HCl 水解 22h 后, 通过蒸馏除去盐酸, 稀释至一定浓度后过 0.22μm 水系滤膜, 利用全自动氨基酸分析仪进行分析, 其中羟脯氨酸的含量利用试剂盒进行测定。

1.7 明胶凝胶的制备和凝胶强度测定

明胶凝胶的制备参考 Jongjareonrak 等(2010)报道的方法。将 60℃ 下溶解的明胶蛋白浓度调整至 6.67%(W/V), 装在高 3cm、直径 3.5cm 的不锈钢罐中, 于 5℃ 冰箱中凝固 18h 制备成明胶凝胶。凝胶强度是利用 TMS-PRO 质构仪进行测定, 测定条件为穿透速率 30mm/min, 穿透距离 4mm。

1.8 明胶蛋白膜的制备和机械性能测定

明胶蛋白膜的制备和性能测定参考翁武银等(2011)报道的方法。将明胶蛋白溶液的浓度调制成 2%(W/V), 并添加蛋白质质量 20%(W/W)的甘油, 利用搅拌脱泡机对其脱泡后, 浇注在有机硅树脂上并于 (25 ± 1)℃、相对湿度(RH)(50 ± 5)%的恒温恒湿箱中干燥 24h 后制备成明胶蛋白膜, 揭膜后继续放在恒温恒湿箱中平衡 48h, 利用质构仪对膜的抗拉伸强度(TS)和断裂伸长率(EAB)进行测定, 测定条件为初始间隔为 30mm, 拉伸速率为 60mm/min。

1.9 数据统计与分析

采用 SPSS 17.0 软件(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)对所得数据进行方差分析(ANOVA), 显著性检验方法为 Duncan 多重检验, 显著水平为 0.05 (Steel *et al*, 1980)。

2 结果与分析

2.1 提取 pH 和温度对鱼鳞明胶蛋白组分的影响

图 1 显示了提取 pH 和温度对鱼鳞明胶蛋白组分的影响。当利用 pH 3 水溶液浸提鱼鳞明胶时, 在 40—

50℃下提取得到的鱼鳞明胶蛋白中除了 β 、 α_1 及 α_2 肽链外,还有少量的160kDa和80kDa的蛋白降解条带。随着浸提温度的升高,蛋白的降解明显受到抑制。但当提取温度升高至80—90℃时,观察到分离胶顶端的高分子蛋白条带浓度逐渐变淡,并出现分子量小于 α 肽链的蛋白降解条带,这可能是在酸性条件下过高的浸提温度导致鱼鳞明胶发生热降解。当利用pH 4水溶液进行提取时,鱼鳞明胶蛋白的降解程度明显下降。然而,当进一步提高浸提水溶液的pH时,40—

50℃提取的鱼鳞明胶蛋白的降解逐渐加剧,在pH 9下几乎观察不到 β 和 α 肽链,表明在pH 5下低温提取容易导致明胶蛋白发生降解。另外,随着浸提温度的升高,鱼鳞明胶蛋白的降解程度则逐渐下降,当温度升高至90℃时即使在pH 9下明胶中 β 和 α 肽链的降解也明显受到抑制。根据以上结果,推测罗非鱼鱼鳞中可能存在内源性碱性蛋白酶,这与其它文献(Zhou *et al*, 2005; Jongjareonrak *et al*, 2006; Ahmad *et al*, 2011)报道的结果类似。

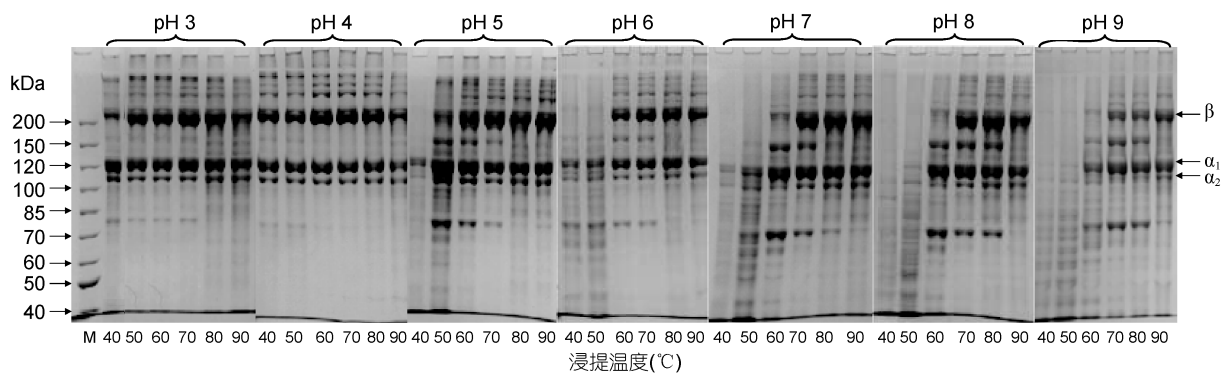


图1 提取 pH 和温度对罗非鱼鱼鳞明胶蛋白组分的影响(1h)

Fig.1 Effects of extraction pH and temperature on the protein patterns of gelatin from tilapia scales for 1h
M: 标准蛋白

由于在pH 4下任一温度提取的鱼鳞明胶蛋白均没有出现明显的酶解和热降解(图1),因此将该条件下提取的鱼鳞明胶置于明胶蛋白容易降解的条件(pH 9, 40℃)下保温1h,利用SDS-PAGE对明胶蛋白组分的稳定性进行深入分析,结果如图2所示。40—60℃浸提的明胶中160kDa和80kDa的蛋白组分降解条带浓度明显增加,当浸提温度达到70℃以上时,保温后的蛋白组分没有发生明显的变化,表明在pH 4下当浸提温度达到一定程度时可以使鱼鳞中残留的内源性蛋白酶失活,获得的鱼鳞明胶具有良好稳定性。

2.2 浸提温度对鱼鳞明胶的提取率和成分的影响

图3显示了浸提温度对罗非鱼鱼鳞明胶固形物得率和蛋白提取率的影响。由图3可以看出,鱼鳞明胶固形物得率在40℃时只有2.78%,但随着提取温度的升高迅速增加并在60℃之后逐渐趋于稳定,而且鱼鳞明胶蛋白提取率受温度的影响类似于固形物得率的变化趋势。通常,提取温度达到一定程度时,才能提供足够的能量破坏胶原三股螺旋中起稳定结构作用的氢键(Nagarajan *et al*, 2012),使胶原转变成明胶溶出,因此提高浸提温度可以使明胶的固形物得率及蛋白提取率增加(图3)。

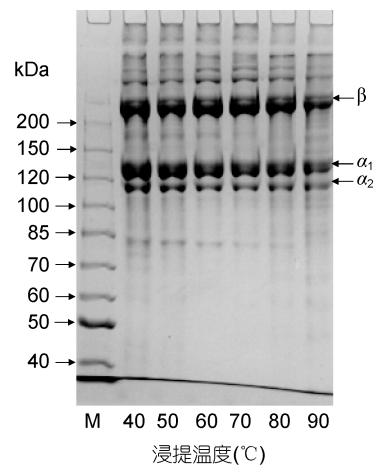


图2 浸提温度对罗非鱼鱼鳞明胶蛋白降解的影响(pH 4, 1h)

Fig.2 Effect of extraction temperature on the degradation of gelatin from tilapia scales at pH 4 for 1h
M: 标准蛋白

在pH 4下温度对提取的鱼鳞明胶的蛋白质、灰分以及重金属含量的影响如表1所示。当浸提温度为40℃时,提取的鱼鳞明胶中蛋白比例仅为40.25%,随着温度的升高明胶中蛋白比例逐渐增大,90℃时可达87.98%。另外,温度对明胶灰分的影响却出现了与蛋白比例相反的趋势。通过对灰分中的金属元素、

磷元素进行分析,发现提取的鱼鳞明胶中的主要矿物质元素为钙、磷、钠、镁、钾等(表 1,其它金属元素含量数据未显示),类似于 Benjakul 等(2009)提取的大眼鲷鱼皮明胶的结果。由表 1 还可以发现,不管是金属元素还是磷元素,其含量都随着提取温度的升高逐渐降低。鱼鳞主要由胶原蛋白和羟基磷灰石组成,其中组成羟基磷灰石的钙磷等矿物质在酸性条件下容易发生溶解,而鱼鳞胶原蛋白只有在 50℃ 以上才较易溶出(图 3),结果导致 40℃ 提取的鱼鳞明胶中灰分比例高而蛋白比例低(表 1)。此外,本研究提取的鱼鳞明胶中重金属(以 Pb 计)含量为 0.11—1.22mg/100g(表 1),符合食用明胶中重金属的限量标准(5mg/100g)(中华人民共和国工业和信息化部,2010)。

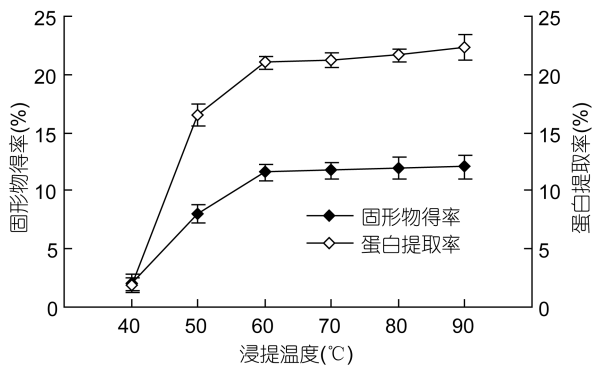


图 3 浸提温度对罗非鱼鱼鳞明胶固形物得率和蛋白提取率的影响(pH 4, 1h)

Fig.3 Effect of extraction temperature on the solids and protein yields of gelatin from tilapia scales at pH 4 for 1h

2.3 鱼鳞明胶氨基酸组成

表 2 显示了在 pH 4 下,浸提温度对罗非鱼鱼鳞

明胶氨基酸组成的影响。由表 2 可以看出,在任一浸提温度下得到的罗非鱼鱼鳞明胶中,含量最高的氨基酸均为甘氨酸,约占总氨基酸的 23%。胶原蛋白的一级结构拥有重复序列 Gly-X-Y,因此甘氨酸约占总氨基酸残基的 1/3。本研究提取的鱼鳞明胶的甘氨酸含量类似于 Benjakul 等(2009)报道的大眼鲷鱼皮明胶,都低于理论值,推测可能是热水浸提时鱼鳞中残留的非胶原蛋白溶出引起的。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。由表 2 可以发现,40℃ 提取的明胶中亚氨基酸的含量为 22.3%,当浸提温度为 50℃ 时,其含量显著提高,此后随浸提温度的升高进一步增大并逐渐趋于稳定。这个趋势类似于浸提温度对明胶蛋白提取率的影响(图 3),表明了利用热水提取罗非鱼鱼鳞明胶时其温度需要达到 50℃ 以上时才能破坏胶原的三股螺旋结构。此外,当浸提温度为 60—90℃ 时,提取的明胶中亚氨基酸在总氨基酸中的比例为 24% 左右,明显高于鳕鱼鱼皮、狗母鱼鱼鳞等海水鱼类明胶中亚氨基酸含量(15.6%—17.5%) (Gómez-Guillén *et al.*, 2002; Wangtueai *et al.*, 2009),表明该条件下提取的罗非鱼鱼鳞明胶可能具有良好的凝胶性能和成膜性能。

2.4 鱼鳞明胶的凝胶性能、成膜性能

表 3 显示了浸提温度对鱼鳞明胶的凝胶强度和明胶膜的机械性能的影响。40℃ 浸提的鱼鳞明胶可能由于灰分比例太高,无法形成凝胶和蛋白膜,因此在表 3 中没有显示数据。当浸提温度为 50—90℃ 时,随着提取温度的升高,明胶的凝胶强度呈现先上升后下降的趋势,在提取温度为 70℃ 时达到最大值 283g,高于鲨鱼鱼皮(200—220g) (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010)、狗母鱼鱼鳞(268g)(Wangtueai *et al.*, 2009)等海

表 1 浸提温度对罗非鱼鱼鳞明胶化学成分的影响(pH 4, 1h)

Tab.1 Effect of extraction temperature on the chemical composition of gelatin from tilapia scales at pH 4 for 1h

组分	浸提温度(°C)					
	40	50	60	70	80	90
水分*	13.90 ± 0.83 ^a	11.97 ± 0.23 ^b	11.18 ± 0.81 ^{bc}	10.18 ± 0.68 ^{dc}	9.71 ± 0.54 ^d	9.35 ± 0.39 ^d
蛋白质*	40.25 ± 0.87 ^a	68.09 ± 0.79 ^b	84.24 ± 0.54 ^c	84.93 ± 0.23 ^c	85.44 ± 0.79 ^c	87.98 ± 0.35 ^d
灰分*	20.64 ± 3.85 ^a	13.08 ± 0.43 ^b	2.86 ± 0.19 ^c	1.85 ± 0.63 ^c	1.08 ± 0.29 ^c	0.94 ± 0.45 ^c
Ca**	8100 ± 223 ^a	4350 ± 59 ^b	633 ± 76 ^c	500 ± 29 ^c	361 ± 7 ^d	351 ± 21 ^d
Na**	2500 ± 160 ^a	760 ± 34 ^b	684 ± 79 ^c	667 ± 26 ^c	518 ± 11 ^d	509 ± 22 ^d
Mg**	722 ± 88 ^a	251 ± 10 ^b	104 ± 14 ^c	87 ± 5 ^c	79 ± 1 ^d	78 ± 3 ^d
K**	191 ± 40 ^a	79 ± 12 ^b	48 ± 2 ^c	42 ± 5 ^c	31 ± 2 ^d	18 ± 1 ^d
P**	1734 ± 80 ^a	996 ± 15 ^b	142 ± 3 ^c	74 ± 12 ^d	79 ± 4 ^d	65 ± 6 ^d
Pb**	1.22 ± 0.14 ^a	0.28 ± 0.06 ^b	0.47 ± 0.02 ^c	0.14 ± 0.01 ^d	0.11 ± 0.02 ^d	0.13 ± 0.02 ^d

注: 同一行不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。*表示单位为 g/100g(相对明胶), **表示单位为 mg/100g(相对明胶)

水鱼类明胶, 接近于猪皮明胶(300g) (Choi *et al.*, 2000)。另外, 50℃提取的明胶制备可食膜其机械强度明显低于 60—90℃。利用 60—90℃提取的明胶制备的可食膜其机械强度和断裂延伸率都没有明显的差异, 但其机械强度比蓝鲸鱼鱼皮明胶膜(27MPa) (Limphisophon *et al.*, 2009)和猪皮明胶膜(40MPa) (Bergo *et al.*, 2007)的都高。这些结果表明利用 pH 4、70℃浸提的罗非鱼鱼鳞明胶具有良好的凝胶性能和成膜性能, 具有替代动物明胶的潜力。

表 2 浸提温度对罗非鱼鱼鳞明胶氨基酸组成的影响(pH 4, 1h)(氨基酸残基数/1000 个氨基酸残基)

Tab.2 Effect of extraction temperature on the amino acid composition of gelatin from tilapia scales at pH 4 for 1h (residue per 1000 total amino acid residues)

氨基酸	浸提温度(℃)					
	40	50	60	70	80	90
天冬氨酸 Asp	49	54	50	48	51	49
苏氨酸 Thr	20	23	22	20	21	21
丝氨酸 Ser	27	31	25	27	26	27
谷氨酸 Glu	96	95	92	92	91	93
甘氨酸 Gly	227	238	230	230	234	232
丙氨酸 Ala	124	95	121	120	122	119
半胱氨酸 Cys	0	0	0	0	0	0
缬氨酸 Val	20	21	27	26	20	26
蛋氨酸 Met	8	6	8	8	7	9
异亮氨酸 Ile	11	11	10	10	10	10
亮氨酸 Leu	15	28	10	15	16	13
苯丙氨酸 Phe	21	7	15	13	15	12
酪氨酸 Tyr	20	29	21	21	21	20
赖氨酸 Lys	36	34	32	32	32	31
组氨酸 His	8	8	7	8	7	8
精氨酸 Arg	96	86	90	88	91	87
脯氨酸 Pro	139	149	156	155	152	156
羟脯氨酸 Hyp	84	85	83	88	85	87

表 3 浸提温度对罗非鱼鱼鳞明胶凝胶强度及其可食膜的抗拉伸强度(TS)与断裂延伸率(EAB)的影响(pH 4, 1h)
Tab.3 Gel strength and tensile strength (TS), elongation at break (EAB) of edible films based the gelatin extracted from tilapia scale at pH 4 for 1h

温度(℃)	凝胶强度(g)	TS(MPa)	EAB(%)
50	227.21 ± 4.39 ^c	32.22 ± 3.06 ^b	33.49 ± 9.94 ^a
60	250.57 ± 8.66 ^b	45.16 ± 5.07 ^a	32.11 ± 8.52 ^a
70	283.17 ± 5.77 ^a	50.20 ± 4.27 ^a	29.44 ± 10.77 ^a
80	240.50 ± 3.82 ^b	45.36 ± 5.18 ^a	38.14 ± 15.40 ^a
90	239.47 ± 3.40 ^b	44.00 ± 2.73 ^a	42.43 ± 9.71 ^a

注: 同一列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

3 结论

罗非鱼鱼鳞在碱性低温条件下提取明胶时容易发生降解, 在 pH 4、70℃下浸提明胶时不仅可以抑制蛋白的酶解, 还可以防止蛋白的热降解, 有助于高分子鱼鳞明胶材料的制备。另外, 在 pH 4 下利用 40℃浸提鱼鳞明胶时, 由于温度过低无法有效破坏胶原的三股螺旋结构使蛋白溶出形成明胶, 因此不仅明胶蛋白提取率低, 而且提取的明胶中亚氨基酸占比低、矿物质成分含量高, 结果导致利用提取的明胶无法制备成凝胶。在 pH 4 下利用 60—90℃浸提明胶时, 虽然明胶的蛋白提取率、氨基酸组成及矿物质成分没有明显的差异, 但是 70℃提取的鱼鳞明胶其凝胶性能和成膜性能都最好。

参 考 文 献

- 中华人民共和国工业和信息化部, 2010. QB/T 4087-2010 食用明胶. 北京: 中国标准出版社, 1—12
- 农业部渔业局, 2012. 中国渔业年鉴. 北京: 中国农业出版社, 1—327
- 吴菲菲, 翁武银, 曹敏杰等, 2013. 罗非鱼鱼鳞明胶蛋白膜的制备及其特性. 食品工业科技, 34(11): 277—282
- 陈 丽, 李八方, 赵 雪等, 2009. 可食性狭鳊鱼皮明胶-壳聚糖复合膜的制备与性质. 水产学报, 33(4): 685—691
- 翁武银, 刘光明, 苏文金等, 2011. 鱼皮明胶蛋白膜的制备及其热稳定性. 水产学报, 35(12): 1890—1896
- 黄玉平, 翁武银, 张希春等, 2012. 鱼皮明胶蛋白对淡水鱼糜凝胶特性的影响. 中国食品学报, 12(11): 51—58
- Ahmad M, Benjakul S, Ovissipour M *et al.*, 2011. Indigenous proteases in the skin of unicorn leatherjacket (*Aluturus monoceros*) and their influence on characteristic and functional properties of gelatin. Food Chemistry, 127(2): 508—515
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2005. In: Williams S ed. Official Methods of Analysis. 18th edn. AOAC, Washington DC: USA, Part 4: 1—52
- Benjakul S, Oungbho K, Visessanguan W *et al.*, 2009. Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. Food Chemistry, 116(2): 445—451
- Bergo P, Sobral P J A, 2007. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. Food Hydrocolloids, 21(8): 1285—1289
- Choi S S, Regenstein J M, 2000. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. Journal of Food Science, 65(2): 194—199
- Gómez-Guillén M C, Turnay J, Fernandez-Diaz M D *et al.*, 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. Food Hydrocolloids, 16(1): 25—34

- Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W *et al*, 2006. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. *Food Hydrocolloids*, 20(4): 492—501
- Jongjareonrak A, Rawdkuen S, Chaijan M *et al*, 2010. Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*). *Food Science and Technology*, 43(1): 161—165
- Karim A A, Bhat R, 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3): 563—576
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W *et al*, 2010. Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions. *Food Hydrocolloids*, 24(2—3): 164—171
- Laemmli U K, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680—685
- Limpisophon K, Tanaka M, Weng W Y *et al*, 2009. Characterization of gelatin films prepared from under-utilized blue shark (*Prionace glauca*) skin. *Food Hydrocolloids*, 23(7): 1993—2000
- Nagarajan M, Benjakul S, Prodpran T *et al*, 2012. Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids*, 29(2): 389—397
- Ray Sarkar B C, Chauhan U P S, 1967. A new method for determining micro quantities of calcium in biological materials. *Analytical Biochemistry*, 20(1): 155—166
- Steel R G D, Torrie J H, 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. New York: McGraw-Hill, 16—33
- Sugahara T, Maekawa A, 2000. Handbook of Foods Analysis. Tokyo: Kenpakusha, 171—172 (in Japanese)
- Wangtueai S, Noomhorm A, 2009. Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida* spp.) scales. *LWT-Food Science and Technology*, 42(4): 825—834
- Zhang F X, Xu S Y, Wang Z, 2011. Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. *Food and Bioproducts Processing*, 89(3): 185—193
- Zhou P, Joe M, 2005. Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska Pollock skin gelatin extraction. *Journal of Food Science*, 70(6): 392—396

EFFECT OF pH AND TEMPERATURE ON GELATIN EXTRACTION FROM TILAPIA (*TILAPIA ZILLII*) SCALES

ZHENG Hui-Bin, WENG Wu-Yin, SU Wen-Jin, HAO Geng-Xin
(College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen, 361021)

Abstract The effects of pH and temperature on extraction of gelatin from tilapia (*Tilapia zillii*) scales were investigated. The results show that at pH>5, enzymatic degradation of gelatin took place, while at pH<3, acidic thermal hydrolysis would occur. At pH 4, both the enzymatic degradation and thermal acid hydrolysis could be prevented regardless of temperature. At 40°C, the gelatin yield was low (1.84%), along with low content of imino acid, high content of mineral components such as calcium, phosphorus, sodium and magnesium, which prevented gel or film from formation. At 50°C, the protein yield and imino acid content substantially increased, and mineral content decreased too. Texture profile analysis revealed optimal conditions for producing best gelatin: pH 4 at 70°C, under which the gel strength was 283g and film tensile strength was 50MPa, providing potential substitution for mammalian gelatin.

Key words scale gelatin; pH; temperature; gelling properties; film-forming properties