

正交试验优化鱼皮超声乳化法脱脂工艺

李 晔¹, 马 良^{1,2}, 张宇昊^{1,3,*}

(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示范中心, 重庆 400715;

3.农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(重庆), 重庆 400716)

摘 要: 以巴沙鱼皮为原料, 研究鱼皮超声乳化法脱脂工艺。对脱脂工艺过程中的脱脂剂种类、超声时间、脱脂剂浓度、料液比等因素进行系统性的研究。脱脂剂选择结果显示表面活性剂NP-10结合超声脱脂效果较优。在此基础上, 通过单因素试验和正交试验确定了较优工艺为选择体积分数1%的NP-10溶液, 在超声功率密度为 $2.22 \times 10^4 \text{ W/m}^3$ 条件下超声处理3h, 料液比为1:5.5(g/mL)。在此条件下, 鱼皮的脱脂率为82.59%, 胶原蛋白损失率为5.32%。

关键词: 巴沙鱼皮; 脱脂率; 胶原蛋白

Optimization of Ultrasonic Emulsification for the Degreasing of Fish Skin

LI Ye¹, MA Liang^{1,2}, ZHANG Yu-hao^{1,3,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. National Food Science and Engineering Experimental Teaching Center, Southwest University, Chongqing 400715, China; 3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products on Storage and Preservation (Chongqing), Ministry of Agriculture, Chongqing 400716, China)

Abstract: Ultrasonic emulsification was used to degrease Basa fish skin. In the degreasing process, the operating parameters degreasing agent type and concentration, ultrasonic treatment time and solid-to-liquid ratio were investigated. Surfactant NP-10 was found to be the most effective agent for degreasing fish skin. The optimum conditions for degreasing fish skin were established as follows: 1% NP-10 solution as a degreasing agent at a solid-to-solvent ratio of 1:5.5 (g/mL) and ultrasonic treatment at a power density of $2.22 \times 10^4 \text{ W/m}^3$ for 3 h. Under these conditions, the degreasing efficiency and collagen loss rate of fish skin were 2.59% and 5.32%, respectively.

Key words: Basa fish skin; degreasing rate; collagen

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)24-0127-05

巴沙鱼又名卡巴沙, 具有生长快、个体大、易饲养、食性广、肉质细嫩蛋白质丰富, 营养价值高等特点。目前对巴沙鱼的加工仅仅是利用其鱼肉进行饲料生产, 而鱼皮、鱼骨等下脚料被大量丢弃, 这不但污染了环境, 而且造成了物料浪费。研究显示^[1]巴沙鱼鱼皮中富含胶原蛋白, 非常适于开发胶原类产品^[2-4]。但巴沙鱼皮中还含有一定量的脂肪, 多数为容易氧化酸败、产生异味的不饱和脂肪酸。因此, 在鱼皮胶原类产品生产过程中, 脱脂成为一道必不可少的工序^[5]。传统的鱼皮脱脂方法包括^[6-9]: (1)碱法脱脂: 该方法成本低, 但只能脱去表层的脂肪, 很难除净鱼皮内部的脂类物质, 且会造成胶原蛋白的大量损失。(2)有机溶剂法: 根据相似相溶原理, 利用有机溶剂溶解皮中的脂类物质, 常用的有乙醇、异丙醇、丙酮、石油醚等^[10]。但是此法存在有机溶剂价格昂贵、有毒、易燃、设备费用投资高、操作麻

烦、环境污染等问题。(3)酶法脱脂: 酶法脱脂具有条件温和, 易于控制, 具有安全性和特异性等特点, 但此法同样也存在费用高、操作麻烦等问题。

近年来, 超声波技术在食品工业中的应用研究成为热点。超声波脱脂法的基本原理是超声波具有能量和波动的双重属性, 一是空化现象, 即在液体介质中表现为泡的形成、破裂以及伴随的能量的释放, 这可能是超声波产生化学效应的关键; 二是介质和容器也可以通过声的吸收产生共振性质的二级效应, 如乳化作用、宏观加热效应等, 也会促进化学反应的进行^[11-16]。预实验中, 采用超声波对巴沙鱼皮脱脂, 超声处理3h后脱脂率仅为50.44%, 相对于传统方法, 该法脱脂率较低, 通过调整介质种类, 可能提高脱脂率。

表面活性剂是具有亲水基和疏水基特殊结构的一类化学试剂, 它能够显著降低油脂与水之间的界面张力,

收稿日期: 2011-10-20

作者简介: 李晔(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: lyxndx@126.com

*通信作者: 张宇昊(1978—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为蛋白质与生物活性肽。E-mail: zyh1203@163.com

从而产生润湿、渗透、乳化、分散、增溶等多种作用,使憎水的脂肪转变为亲水的油料,脱离皮层而分散到液相(水相)中去^[17-23]。

本实验将低量乳化剂与超声波作用相结合,在较少的破坏鱼皮中胶原蛋白的同时提高脱脂率,为在鱼皮中提取胶原蛋白应用于工业化生产提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

巴沙鱼皮 重庆禾瑞康动物营养有限公司,原料获取后除去杂质,冷藏于冰箱中;化学试剂均为分析纯成都市科龙化工试剂厂。

1.2 仪器与设备

KQ-100B型超声波清洗器[超声频率40kHz,超声功率100W,清洗槽内尺寸:长300×宽150×高100(mm)]昆山市超声仪器有限公司;分光光度计;HH-2数显恒温水浴锅、78-1磁力加热搅拌器 常州澳华仪器有限公司;JA1003A电子天平 上海精天电子仪器有限公司;电热恒温鼓风干燥箱 重庆恒达仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 脂肪含量测定及脱脂率计算

依照GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》进行。

$$\text{脱脂率}/\% = \frac{\text{原料中脂肪总量} - \text{脱脂后脂肪总量}}{\text{原料中脂肪总量}} \times 100$$

1.3.2 胶原蛋白含量测定及胶原蛋白损失率

胶原蛋白测定(以羟脯氨酸计):按照ISO 3496:1978(E)《Meat and meat products: Determination of L(-)-hydroxyproline content》方法,测定羟脯氨酸含量。

$$\text{胶原蛋白含量} = \text{羟脯氨酸含量} \times 11.1^{[18]}$$

$$\text{胶原蛋白损失率}/\% = \frac{\text{原料中胶原蛋白总量} - \text{脱脂后胶原蛋白总量}}{\text{原料中胶原蛋白总量}} \times 100$$

1.3.3 巴沙鱼鱼皮脱脂的工艺流程

冷冻鱼皮→剪碎→称量→置于10mL锥形瓶中→加入一定体积的试剂溶液→恒温超声→漂洗过滤

1.3.4 脱脂剂的筛选

基于不同脱脂剂在其他脱脂研究中的应用条件^[12,17,19-21,24-30],分别选用3‰ NaOH溶液、3‰ Na₂CO₃溶液、10%十二烷基苯磺酸钠(SDBS)溶液、1% NP-10溶液、1% AEO-9溶液及蒸馏水为脱脂剂,在超声功率密度为 $2.22 \times 10^4 \text{ W/m}^3$ 条件下,对巴沙鱼皮进行超声乳化脱脂,脱脂条件为温度25℃、时间3h、料液比1:4,以鱼皮脱脂率及胶原蛋白损失率为评价指标,筛选适宜的脱脂剂。

1.3.5 单因素试验设计

在超声功率密度为 $2.22 \times 10^4 \text{ W/m}^3$ 条件下,对巴沙鱼皮进行超声乳化脱脂单因素试验,各因素的基本条件设

定为:脱脂剂体积分数1%、超声处理3h、料液比1:4。各因素梯度分别为:脱脂剂体积分数:0%、0.5%、1%、1.5%;超声时间:1、2、3、4h;料液比1:2、1:3、1:4、1:5。每次改变其中一个因素,进行单因素试验。以鱼皮的胶原蛋白损失率和脱脂率为评价指标,每个因素重复实验3次,测定结果取平均值。

1.3.6 正交试验设计

根据单因素试验结果,确定脱脂剂体积分数、超声时间、料液比三个因素的取值水平范围,以脱脂率为主要指标,胶原蛋白损失率为辅助指标,通过正交试验确定最佳的脱脂条件组合,正交试验因素水平见表1。

表1 正交试验因素水平设计
Table 1 Factors and levels for orthogonal array design

水平	时间/h	脱脂剂体积分数/%	料液比
1	3.0	0.75	1:4.5
2	3.5	1	1:5
3	4.0	1.25	1:5.5

2 结果与分析

2.1 脱脂剂的筛选

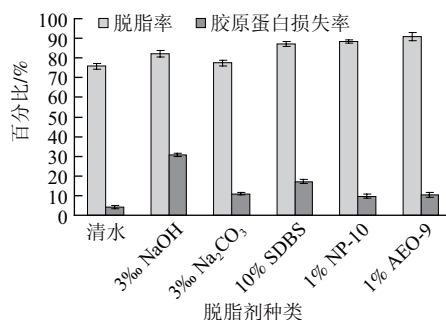


图1 不同脱脂剂的脱脂率和胶原蛋白损失率
Fig.1 Effect of degreasing agent type on degreasing efficiency and collagen loss rate

由图1可以看出,相对于碱性脱脂剂NaOH和Na₂CO₃,表面活性剂的脱脂效率相对较高。而相对于阴离子型表面活性剂十二烷基苯磺酸钠(10%),非离子型表面活性剂AEO-9(1%)、NP-10(1%)的脱脂效率较高,胶原蛋白损失率较低,其中1%的NP-10脱脂率达到88.31%,胶原蛋白损失率仅为9.69%,且使用量较小,在工业生产中更为节约试剂和环保,有利于提高经济效益。综合脱脂率及胶原蛋白损失率这两项指标,本实验最终选择NP-10为最优脱脂剂,确定以NP-10为脱脂剂进行巴沙鱼鱼皮的脱脂工艺的研究。

在脱脂剂的选择研究部分,采用手洗揉搓鱼皮的方法促进脂肪分子脱离鱼皮,结果表明脱脂率都在80%以上,但是揉搓会造成鱼皮胶原蛋白的损失及结构的破

坏。在后面的研究即单因素试验、正交试验及其验证实验中,改为把鱼皮放入磁力搅拌器中洗涤,从而测定的脱脂率均小于80%。但是因为在本步骤中鱼皮的洗涤方式相同,试验数据具有可比性,所以所选的试剂依然可靠。

2.2 鱼皮超声乳化脱脂单因素试验

2.2.1 超声时间的确定

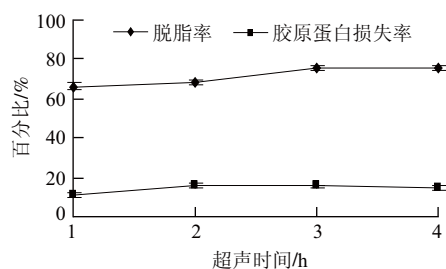


图2 超声时间对脱脂效果的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic treatment time on degreasing efficiency

由图2可知,随着超声时间的增长,巴沙鱼鱼皮的脱脂率随之增高,3h时达到75.33%,3h后随着时间进一步延长脱脂率没有明显的增长。这可能是因为超声波3h范围内,随着超声时间的增加,超声波的空化效应使脂肪细胞壁破碎,油脂外溢;同时由于超声波的乳化效应,促使油脂乳化溶解在溶液中。而当超声时间超过3h后鱼皮表面脂肪基本完全乳化,胞内脂肪的乳化也基本达到平衡,因此,脱脂率增长不再明显。

超声波的空化效应同样会造成胶原蛋白的溶解,研究结果表明,超声作用2h后,随着时间进一步延长,胶原损失率变化不明显。而2h时的损失率仅为15.85%,说明相对于对胶原组织的破坏,超声波对鱼皮脂肪组织的破坏更为明显。孙丹红等^[14]研究表明,超声波对猪皮中的脂肪组织受破坏程度明显大于对胶原纤维的破坏,与本实验结果一致。综合脱脂率和胶原蛋白损失率这两个指标,选择超声时间为3h作为优化试验的数据。

2.2.2 脱脂剂NP-10体积分数的确定

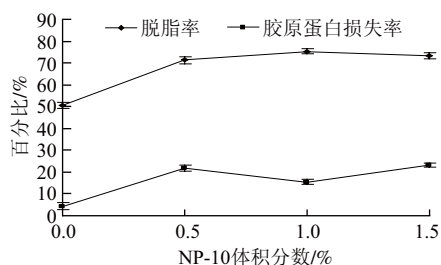


图3 脱脂剂NP-10的体积分数对脱脂效果的影响

Fig.3 Effect of NP-10 concentration on degreasing efficiency

取体积分数分别为0%、0.5%、1%、1.5%的脱脂剂,对巴沙鱼皮进行脱脂,脱脂率及胶原蛋白损失率如图3所示。NP-10的添加可有效增进巴沙鱼皮脱脂效果,

脱脂率随着NP-10体积分数的增加而增大,当NP-10体积分数为1%时脱脂率达到75.33%,随着体积分数的进一步增大脱脂率略有下降。说明在一定体积分数范围内,NP-10水溶液所产生的润湿、渗透、乳化、增溶、分散等作用都是随着其体积分数的增大而加强,达到或超过该体积分数范围以后,以上各种作用的强度变化不再明显。范金石等^[24]在表面活性剂脂肪醇醚羧酸盐对皮革脱脂性能的研究中,脱脂剂用量由0.5%增加到1.0%过程中脱脂率增长速度小于脱脂剂用量由0.25%增加到0.5%过程中的脱脂率增长速度。胡金杰^[25]在用非离子表面活性剂脱脂澳洲绵羊皮的研究中也发现,开始时脱脂效果随着表面活性剂体积分数的增加而急剧增加,当表面活性剂用量在1g/150mL以上时脱脂性能明显减少,说明表面活性剂脱脂能力是有一定限制的。这些研究与本试验所得结果相似。

表面活性剂在溶液体系中表现为两种性质:溶液的表面吸附和溶液内部胶束的形成。表面吸附导致体系的界面张力显著下降,使溶液能够接触脂肪,并渗入鱼皮内部;而胶束的形成则使得脂类物质能够发生乳化、增溶,分散于水中,脱离皮层,完成脱脂过程。当NP-10体积分数小于1%时,体系内表面活性剂的胶束随着其体积分数的增加而增加,其脱脂率也随之增加。而当NP-10体积分数大于1%时,体系内胶束体积分数可能已达饱和,不再随着NP-10体积分数的增加而增加,因此,脱脂率也不再有明显提高。

NP-10的添加同时造成了胶原损失率的增加,说明表面活性剂同样可以促进胶原的溶解。但试验结果显示体积分数为1%时胶原蛋白损失率为15.44%,明显低于体积分数为0.5%和1.5%时。有研究^[31-32]表明,表面活性剂的添加对于蛋白的溶解具有促进作用,但在表面活性剂达到临界胶束体积分数后,蛋白溶解性会随着胶束体积分数的增加而降低。在NP-10体积分数小于0.5%时,胶原蛋白损失率随NP-10体积分数的增加而增加,这是因为NP-10的胶束临界体积分数大于0.5%,而在NP-10体积分数达到1%时,胶束数量大大提高,因此胶原蛋白损失反而降低。随着NP-10体积分数的进一步提高,胶束数量已达饱和,更多的表面活性剂又可促进蛋白的溶解,因此,胶原蛋白损失率重新增加。

综合脱脂率和胶原蛋白损失率这两个指标,选择脱脂剂NP-10体积分数为1%作为优化试验的数据。

2.2.3 料液比的确定

分别取料液比为1:2、1:3、1:4、1:5进行鱼皮脱脂。各组脱脂率及胶原蛋白损失率情况如图4所示。随着水分比例的增加,脱脂率呈上升趋势,原因在于溶液体积的增加同时增加了其容纳脂肪的能力。由2.2.2节脱脂剂体积分数变化对脱脂率的试验结果可知,脱脂剂体积分数

达到一定程度范围后,脱脂能力受到限制,说明单纯依靠提高脱脂剂体积分数来增强脱脂效果在实际中不可行。但可以采用适当降低料液比比例,达到在不增加脱脂剂体积分数的前提下变相增大其体积分数,以提高脱脂程度的效果^[24]。考虑到上述原因和在工业生产中的环保性与经济性原则,本试验未再进行更大料液比的试验。

胶原蛋白损失率先随着水分比例增加而升高,当料液比达到1:3时,胶原蛋白损失率逐渐降低,有研究^[26-28]报道超声波的空化效应可以使水溶液中产生 H_2O_2 ,而低体积分数的 H_2O_2 能一定程度减少蛋白质的溶解^[29-30],随着水分含量的增加该效应的提高可能是造成胶原蛋白损失率降低的原因。因此,选取料液比1:5为优化试验的数据。

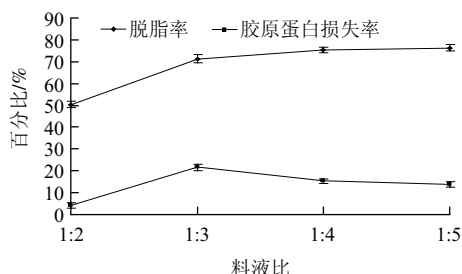


图4 料液比对脱脂效果的影响

Fig.4 Effect of solid-to-liquid ratio on degreasing efficiency

2.3 正交试验

表2 鱼皮脱脂工艺优化正交试验设计及结果
Table 2 Orthogonal array design and results

试验号	A	B	C	脱脂率/%
1	1	1	1	80.05
2	1	2	2	79.38
3	1	3	3	80.22
4	2	1	2	80.13
5	2	2	3	80.88
6	2	3	1	76.38
7	3	1	3	80.24
8	3	2	1	81.73
9	3	3	2	77.21
K_1	239.65	240.42	238.16	
K_2	237.39	241.99	236.72	
K_3	239.18	233.81	241.34	
k_1	79.88	80.14	79.39	
k_2	79.13	80.66	78.91	
k_3	79.73	77.94	80.45	
R	0.75	2.72	1.54	

由表2可以看出,在影响脱脂率的3个因素中, $B > C > A$,鱼皮脱脂的最优条件为 $A_1B_2C_3$,即超声时间3h、NP-10体积分数1%、料液比1:5.5。

在鱼皮最优脱脂条件下进行验证实验,3次脱脂率分别为82.61%、82.67%、82.49%,平均值为 $(82.59 \pm 0.07)\%$,证明最佳提取条件下脱脂效率较高;

同样的,3次的胶原蛋白损失率分别为5.34%、5.14%、5.48%,平均值为 $(5.32 \pm 0.1)\%$,证明最佳提取条件下胶原蛋白损失率较低。综合以上两个因素,表明依据正交试验得出的最佳提取工艺合理可行。

目前,国内和国外对鱼皮的脱脂技术研究都较少,对鱼肉的脱脂、猪皮的脱脂采用的一般方法是酶法脱脂或有机溶剂法脱脂等方法。酶法脱脂的脱脂率一般在70%~80%,个别方法能达到95%以上,但酶法脱脂的鱼蛋白损失量很大且成本较高,操作麻烦;用有机溶剂法脱脂,脱脂效果较好,脱脂率较高,能达到90%左右,但实验中使用的有机溶剂浓度一般较高,会造成环境污染和成本增加,不利于工业化大生产。本实验将低量乳化剂与超声波作用相结合处理鱼皮,能够达到较高的脱脂率和较低的胶原蛋白损失率,相比于单独使用超声波脱脂,脱脂效率提高了32.15%,同时低量的乳化剂不易造成环境污染,节约成本,适用于工业生产。此外,本实验采用超声乳化法,脱去了会对从鱼皮中提取胶原蛋白造成影响的脂肪,提高了鱼类副产物的利用能力和鱼皮胶原类产品的生产效率。

3 结论

本实验确定了NP-10为鱼皮脱脂时脱脂效果最好的脱脂剂。通过单因素试验和正交试验确定其交友脱脂工艺为:在超声功率密度 $2.22 \times 10^4 W/m^3$ 条件下,超声时间3h、NP-10体积分数1%、料液比1:5.5。在此条件下,脱脂率达到82.59%,胶原蛋白损失率仅为5.32%。

参考文献:

- [1] 谢详,王婷婷,马良,等.巴沙鱼皮明胶提取工艺研究[J].西南师范大学学报:自然科学版,2010,35(2):185-189.
- [2] 位绍红.罗非鱼鱼皮、鱼鳞提取明胶的工艺研究[D].福州:福建农林大学,2008.
- [3] 赵露.鱼皮胶原的提取、制模及单宁的吸附研究[D].无锡:江南大学,2009.
- [4] 管斌,林洪,王广策.食品蛋白质化学[M].北京:化学工业出版社,2005:297-302.
- [5] 李佳,许永安.罗非鱼鱼皮提取明胶的酶法脱脂工艺研究[J].福建水产,2010,26(3):26-30.
- [6] 马艳.鸡肉脱脂技术及脱脂处理对肉质影响的研究[D].合肥:安徽农业大学,2008.
- [7] 郝涤非.水产品加工技术[M].北京:中国农业科学技术出版社,2008:359-364.
- [8] 沈月薪.水产食品学[M].北京:中国农业出版社,2001:19-25.
- [9] 李乃胜,薛长湖.中国海洋水产品现代加工技术与质量安全[M].北京:海洋出版社,2010:74-99.
- [10] 张琦,王进美,王为.猪皮两步法有机溶剂脱脂的研究[J].陕西科技大学学报,2010,28(3):78-82.
- [11] 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):418-421.
- [12] 张玲,芮汉明.超声波介入鲜猪皮的脱脂工艺研究[J].现代食品科

- 技, 2006, 22(3): 99-101.
- [13] 张艳臻. 超声波的声纳原理和空化效应[J]. 广西物理, 1996, 17(4): 8-10.
- [14] 孙丹红, 韩劲, 曹明蓉, 等. 超声波对裸皮脱脂的影响[J]. 皮革科学与工程, 2003, 13(3): 17-20.
- [15] 赵淑英, 盛永丽, 李慧芝. 超声波强化有机溶剂萃取nimbin的研究[J]. 江苏农业科学, 2010(2): 303-304.
- [16] MASON T J, PANIWNKY L, LORIMER J P. The use of ultrasound in food technology[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 1996, 3(3): 253-256.
- [17] 马清河, 胡常英, 张欣杰, 等. 皮革脱脂技术应用进展[J]. 河北省科学院学报, 2005, 22(3): 59-62.
- [18] 日本食品工业学会《食品分析法》编辑委员会. 食品分析法: 下[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1986: 74-77.
- [19] 赵帅, 巩旭, 李国英. 猪皮的不同脱脂方法对胶原提取率的影响[J]. 中国皮革, 2007, 36(9): 33-36.
- [20] WU Hanmin, SANG Weigu, DONG Mingmin, et al. Studies on degreasing technology of chub mackerel. The fourth asian fisheries forum[M]. Beijing: China Ocean Press, 1995: 615-618.
- [21] 马艳, 李春保, 王志耕, 等. 鸡翅脱脂技术研究[J]. 肉类工业, 2007(2): 21-23.
- [22] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 14772—2008 中国标准书号[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [23] 范金石, 徐桂云. 皮革乳化脱脂[J]. 山东轻工业学院学报, 1998, 12(1): 23-25.
- [24] 范金石, 徐桂云, 张天秀. 脂肪醇醚羧酸盐对皮革脱脂性能的研究[J]. 皮革化工, 1998(3): 21-24.
- [25] 胡金杰. 非离子表面活性剂对澳洲绵羊皮湿脱脂的影响[J]. 中国皮革, 1993, 22(4): 45-47.
- [26] 张婵, 郑爽英. 超声空化效应及其应用[J]. 水资源与水工程学报, 2009, 20(1): 136-138.
- [27] 胡文荣, 裴海燕. 超声强化 O_3 氧化能力的机理探讨[J]. 工业用水与废水, 2001, 32(5): 1-3.
- [28] 葛建团, 曲久辉, 王国华. H_2O_2 超声过程中 H_2O_2 生成动力学[J]. 环境化学, 2004, 23(2): 140-144.
- [29] 卢行芳, 石碧, 黄雯, 等. 过氧化氢脱毛技术的研究(II): 过氧化氢对生皮蛋白质的作用[J]. 中国皮革, 2001, 30(21): 30-34.
- [30] 崔旭海, 孔保华, 熊幼翎. 自由基氧化引起乳清蛋白溶解、凝胶强度和乳化性变化的研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(2): 145-148.
- [31] 肖新敏. 醇法大豆浓缩蛋白的溶解性研究[D]. 西安: 西北大学, 2006.
- [32] 龚英, 陈武勇, 郭成兵, 等. 表面活性剂对制革浸酸工序的影响[J]. 皮革科学与工程, 2007, 17(6): 13-17.