

[文章编号] 1007-7405(2016)01-0021-08

TGase 对海地瓜胶原蛋白凝胶强度的影响

郭书谱, 吴光斌, 陈发河

(集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

[摘要] 为了研究海地瓜胶原蛋白的凝胶特性, 提高其凝胶强度, 探讨了谷氨酰胺转氨酶(TGase)对海地瓜胶原蛋白凝胶特性的影响, 在单因素的基础上采用响应面设计对影响凝胶特性的3个显著因素(TGase添加量、作用时间、作用温度)进行优化. 结果显示: 单因素实验时, 海地瓜胶原蛋白的凝胶强度在TGase添加量18.0 U/g、作用时间5.0 h、作用温度40.0 °C时达到最大; 通过响应面优化, 得到海地瓜胶原蛋白凝胶强度在TGase添加量18.00 U/g、作用时间5.13 h和作用温度40.30 °C时达到最大, 为6473.98 g·mm, 是未优化前凝胶强度5511.50 g·mm的1.17倍, 是未添加TGase前凝胶强度1118.88 g·mm的5.79倍, 即TGase能够促进蛋白质之间的交联作用, 显著提高海地瓜胶原蛋白凝胶强度. 经过验证性试验, 得到该条件下海地瓜胶原蛋白凝胶强度为6428.36 g·mm, 与理论值相比, 误差仅为0.70%.

[关键词] 谷氨酰胺转氨酶; 海地瓜; 胶原蛋白; 凝胶强度; 响应面试验

[中图分类号] TS 254.4

Effect of Transglutaminase on Gel Strength of

Acaudina molpadioides Collagen

GUO Shu-pu, WU Guang-bin, CHEN Fa-he

(College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: In order to improve the gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen, for better processing and utilization, the effect of transglutaminase (TGase) on its gel properties was evaluated in this paper. Effects of TGase addition amount, reaction time and reaction temperature on gel properties of *Acaudina molpadioides* collagen were analyzed. Results indicated that the best gel property was achieved under the conditions of TGase for 18.0 U/g, reaction time for 5.0 h at 40.0 °C. On the base of single factor tests, by means of response surface methodology using gel strength as an index, the extraction conditions including TGase addition amount, reaction time and temperature were optimized. Results showed that the concentration of TGase, reaction temperature and reaction time affected the formation of collagen gel significantly. When the concentration of TGase was 18.00 U/g, and incubated at 40.3 °C for 5.13 h, maximal gel strength (6473.98 g·mm) was obtained, which was 5.79 times higher than that without addition of TGase (1118.88 g·mm), and was 1.17 times higher than that have not been optimized (5511.50 g·mm), suggesting TGase could enhance protein interaction and increase the gel strength of the product. After proving trial, the gel strength of the final products was 6428.36 g·mm, which agreed well with the theoretical value with an error of 0.70%.

[收稿日期] 2015-04-09

[修回日期] 2015-06-02

[基金项目] 福建省科技计划项目(2013N0023); 厦门南方海洋研究中心项目(14GZP007NF07)

[作者简介] 郭书谱(1988—), 男, 硕士生, 从事海洋水产品加工及利用研究. 通信作者: 陈发河(1960—), 男, 教授, 从事食品保鲜与加工技术研究, E-mail: fhchen@jmu.edu.cn.

Keywords: transglutaminase; *Acaudina molpadioides*; collagen; gel strength; response surface methodology

0 引言

海地瓜 (*Acaudina molpadioides*) 是海参的一种, 又称白参、香参、海茄子, 在中国福建、山东、浙江、海南等省海域均有分布, 资源非常丰富. 海地瓜相对于其他食用海参而言, 虽然品质较差, 但价格低廉, 含有胶原蛋白、多糖、皂苷、矿物质元素等多种营养物质, 营养不亚于刺参. 胶原蛋白是海地瓜体壁的重要组成部分, 具有多种生物活性^[1]. 干品海地瓜中含有的体壁胶原蛋白有 56.56%, 其占总蛋白质的 77.18%^[2]. 目前, 海地瓜深加工利用产品比较少, 海地瓜胶原蛋白主要用于制备胶原蛋白膜^[3]、凝胶^[4]、饮料^[5]等. 动物胶原蛋白的提取方法主要有热水、酶解、碱、酸以及中性盐等提取法^[6], 热水提取法因步骤相对简单、得率更高、成本比较低、产品更安全而得到广泛使用^[7].

谷氨酰胺转氨酶 (Transglutaminase, TGase) 又称转谷氨酰胺酶, 是一种可催化蛋白质分子内、分子间以及促进蛋白质与氨基酸之间 Gln 残基 γ -羧基酰胺基与 Lys 残基 ϵ -氨基发生交联作用形成 ϵ -(γ -Gln) Lys 共价键而使蛋白质聚合的酶, 它促使蛋白质形成致密交叉的三维网状结构, 改变蛋白质的结构, 具有起泡性、乳化性、溶解性等功能特性, 从而改善蛋白质产品的质构和口感^[8-10]. 近年来, 随着凝胶工艺研究的深入, 胶原蛋白的凝胶特性成为人们研究和关注的热点: Gudmundsson 等^[11]对于鳕鱼皮胶原蛋白的凝胶特性及影响因素进行了研究; Sarabia 等^[12]研究了几种盐对罗非鱼鱼皮胶原的影响, 发现盐的加入可使溶液的凝胶强度增大. 但目前关于海地瓜胶原蛋白凝胶特性的研究还鲜有报道. 本文采用热水法制备海地瓜胶原蛋白, 研究 TGase 作用条件对海地瓜胶原蛋白凝胶特性的影响, 旨在为海地瓜胶原蛋白凝胶开发应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

海地瓜, 干品, 购于连云港市绿洋食品有限公司; TG 酶 (酶活力 119.2 U/g) 购于江苏欣瑞食品科技发展有限公司; 甲醛溶液、无水乙醇、二甲苯、石蜡购于国药集团化学试剂有限公司; Weight 铁木素、酸性分化液、VG 染色液购于北京雷根生物科技有限公司.

1.2 仪器与设备

TMS-PRO 质构仪 (Food Technology Corporation, 美国); 快速水分测定仪 (Sartorius, 德国); KDC-1044 低速离心机 (科大创新, 中国); 轮转切片机 (LEICA RM2235, 德国); 显微镜 (Nikon ECLIPSE50i, 日本).

1.3 实验方法

1.3.1 海地瓜胶原蛋白凝胶的制备 将海地瓜干品泡发 12 h 后, 清理泥沙、内脏以及表面的污垢, 切块粉碎后用热水提取法^[7]提取胶原蛋白, 喷雾干燥后待用. 设定进料量 6 mL/min, 进口温度 170 °C, 抽风量 3 m³/min, 出口温度 65~80 °C, 将喷雾干燥的粗胶原蛋白配成质量分数为 15% 的溶液, 配制时温度保持在 30 °C, 加入 TGase 并搅拌均匀, 分装, 一定温度下使酶作用一定时间, 90 °C 下保温 20 min 后冰水冷却, 并 4 °C 过夜后测定各凝胶特性指标.

1.3.2 TGase 的添加 将 TGase 预先溶解在 3 倍质量的蒸馏水中, 充分溶解, 然后放置在冰水中, 待用; 在添加时, 用移液枪准确量取算出的酶液, 和胶原蛋白液混合均匀即可.

1.3.3 凝胶强度的测定 在 7 °C 下采用 TMS-PRO 型物性分析仪对样品凝胶强度进行测量^[13], 得到破断强度和凹陷度, 两者的乘积就是凝胶强度. 测定参数为: 球状探头 5 mm, 下压速率和测试速率均为 30 mm/min, 回程速率为 100 mm/min, 刺入深度 15 mm, 感应力 0.05 N. 每组进行 6 个平行实验, 每个平行试验测 2 次数据, 取实验结果的平均值^[14].

1.3.4 凝胶石蜡组织切片 参照杨莉莉等人^[15]的方法, 略有改动, 具体如下: 鱼糜凝胶→10% (体积分数) 甲醛溶液 4 ℃下固定→用 50%、70%、80%、95%、100% (体积分数) 乙醇梯度脱水→二甲苯浸泡透明→分别用 52~54 ℃、54~56 ℃、58~60 ℃石蜡浸蜡 1 h→58~60 ℃石蜡进行包埋→4 ℃冷藏→切成 5 μm 的薄片→65 ℃烘箱熔化→二甲苯浸泡→100%、95%、80%、70% (体积分数) 乙醇浸泡→Weight 铁木素染色→酸性分化液分化→VG 染色液染色→95%、100% (体积分数) 乙醇快速脱水→二甲苯浸泡透明→中性树脂封片→光学显微镜观察。

1.3.5 单因素试验设计 配好的胶原蛋白液离心去气泡, 在 30 ℃水浴锅降温平衡, 称一定量数份, 经过以下处理: 1) TG 酶添加量分别为 0, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0, 18.0, 21.0 U/g, 作用温度为 40 ℃, 作用时间为 5.0 h; 2) TG 酶添加量为 18.0 U/g, 作用温度 40 ℃, 作用时间分别为 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 h; 3) TG 酶添加量为 18.0 U/g, 作用时间为 5.0 h, 作用温度分别为 30, 35, 40, 45, 50 ℃. 另取一份对照样不经过此步骤, 然后在 90 ℃下处理 20 min, 每组 6 个平行样品均冰水冷却后放置在 4 ℃恒温环境过夜, 取出后在 7 ℃下测定凝胶强度。

1.3.6 响应面试验 根据 Box - Behnken 中心组合实验设计原理, 在单因素试验结果基础上, 以 TGase 添加量 (X_1)、作用温度 (X_2)、作用时间 (X_3) 为影响因素, 海地瓜胶原蛋白的凝胶强度 (Y) 为响应值, 采用三因素三水平响应面分析法进行试验设计, 因素和编码水平见表 1. 结果运用 Design - Expert. V8.0.5 软件和 SAS 软件进行数据处理和响应曲面分析。

表 1 响应面试验因素与水平表

Tab. 1 Factors and levels of response surface methodology

因素 Factors	编码水平 Coding level		
	-1	0	1
TGase 添加量 TGase addition amount/(U · g ⁻¹)	11.0	15.0	19.0
TGase 作用时间 TGase reaction time/h	4.0	5.0	6.0
TGase 作用温度 TGase reaction temperature/℃	35.0	40.0	45.0

2 结果与分析

2.1 TGase 添加量对海地瓜胶原蛋白凝胶强度的影响

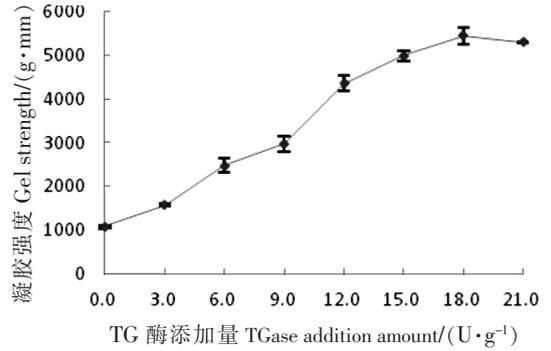
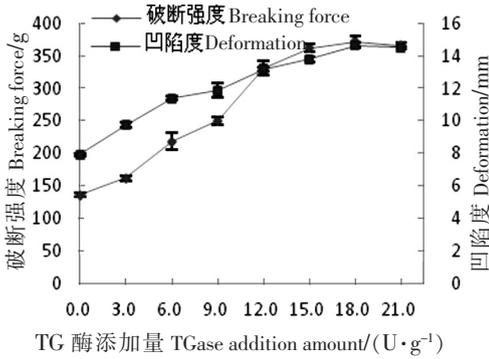
海地瓜胶原蛋白凝胶强度受 TGase 添加量的影响是显著的 ($P < 0.05$)。如图 1, 随 TGase 添加量的增加, 海地瓜胶原蛋白凝胶的破断强度、凹陷度以及凝胶强度均呈现先增加后降低的趋势。当 TGase 添加量是 18.0 U/g 时, 海地瓜胶原蛋白凝胶的破断强度、凹陷度以及凝胶强度值均达到最大, 分别为 372.10 g、14.64 mm 和 5447.38 g · mm, 分别是未添加 TGase 对照样品的 2.73 倍、1.85 倍和 5.05 倍。

2.2 TGase 作用时间对海地瓜胶原蛋白凝胶强度的影响

海地瓜胶原蛋白凝胶强度受 TGase 作用时间的影响是显著的 ($P < 0.05$)。如图 2, 在添加一定的 TGase 之后, 随着作用时间的延长, 样品的破断强度、凹陷度以及凝胶强度呈现先增加后降低的趋势。在 5.0 h 时, 海地瓜胶原蛋白凝胶的破断强度、凹陷度和凝胶强度达到最大, 分别是对照样品的 2.72 倍、1.82 倍和 4.93 倍。再继续延长作用时间, 凝胶特性反而降低。在 6.0 h 时, 破断强度、凹陷度以及凝胶强度分别是 5 h 时的 93.10%、96.78% 和 90.12%。

2.3 TGase 作用温度对海地瓜胶原蛋白凝胶强度的影响

海地瓜胶原蛋白凝胶强度受 TGase 作用温度的影响是显著的 ($P < 0.05$)。如图 3, 在添加一定的 TGase 之后, 当温度为 30~40 ℃时, 作用温度的升高使样品的破断强度、凹陷度和凝胶强度都呈现显著增加, 并均在 40 ℃时达到最大值。与对照相比, 在该温度下破断强度、凹陷度和凝胶强度都增加到了对照的 1.61 倍、1.25 倍和 2.03 倍; 当温度为 40~45 ℃时, 温度的增加会使样品的破断强度和凝胶强度明显降低, 而凹陷度却略微降低; 当温度为 45~50 ℃时, 温度的增加会使样品的破断强度、凹陷度以及凝胶强度都明显降低。

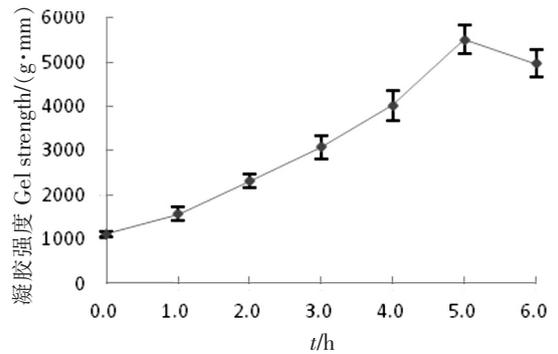
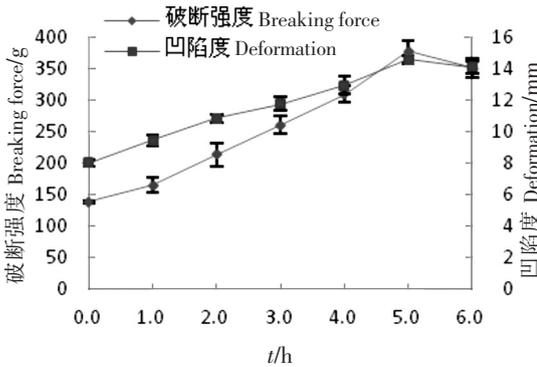


a 破断强度和凹陷度 Breaking force and deformation

b 凝胶强度 Gel strength

图 1 TGase 添加量对海地瓜胶原蛋白凝胶破断强度、凹陷度和凝胶强度的影响

Fig.1 Effect of TGase addition amount on breaking force and deformation, gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen

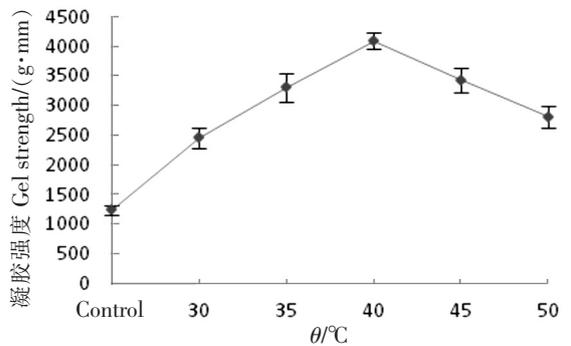
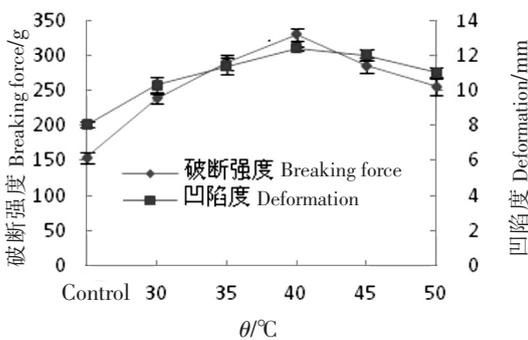


a 破断强度和凹陷度 Breaking force and deformation

b 凝胶强度 Gel strength

图 2 TGase 作用时间对海地瓜胶原蛋白凝胶破断强度、凹陷度和凝胶强度的影响

Fig.2 Effect of reaction time on breaking force and deformation, gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen



a 破断强度和凹陷度 Breaking force and deformation

b 凝胶强度 Gel strength

图 3 TGase 作用温度对海地瓜胶原蛋白凝胶破断强度、凹陷度和凝胶强度的影响

Fig.3 Effect of reaction temperature on breaking force and deformation, gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen

2.4 三因素二次通用旋转中心组合设计

2.4.1 回归分析及回归模型的建立

以凝胶强度 (Y) 为响应值, 以 TGase 添加量 (X_1)、作用温度 (X_2) 和作用时间 (X_3) 为自变量, 建立数学模型, 进行响应面分析优化, 实验设计及结果见表 2.

按照三因素三水平二次通用旋转中心组合设计进行试验, 对试验所得的结果采用 SAS 软件 RSREG 过程进行多元回归分析, 得出以 3 个试验因素的编码值为自变量的回归方程为: $Y = 6050.58 + 1115.06 X_1 + 182.56 X_2 + 140.61 X_3 - 42.16 X_1 X_2 + 35.65 X_1 X_3 + 154.04 X_2 X_3 - 758.75 X_{12} - 635.35 X_{22} - 1839.09 X_{32}$. 回归方程的方差分析见表 3, 回归系数的显著性检验见表 4.

由表 3 可知, 二次回归模型的 $P = 0.0002 < 0.01$, 说明该模型方程差异极显著, 即不同处理间的差异极显著; 失拟项的 $P = 0.2358 > 0.05$, 差异不显著, 该方程拟合效果较好; 回归方程的决定系数 $R^2 = 0.9663$, 校正后的 $R^2_{Adj} = 0.9229$, 说明该模型的拟合程度较好, 而且可信度很高. 因此, 该模型方程可以用于对海地瓜胶原蛋白的凝胶强度进行分析和预测. 另外, 回归方程的一次项、二次项差异均为极显著 ($P < 0.01$), 交互项差异不显著 ($P > 0.05$).

由表 4 可知, 在所选范围内, 对于该回归模型, 作用温度 ($P < 0.0001$) 对凝胶强度的影响最大, 而且对凝胶强度的影响都达到了极度显著水平 ($P < 0.01$); 酶添加量 ($P = 0.0232$) 次之; 作用时间 ($P = 0.0706 > 0.05$) 影响最小, 对凝胶强度的影响并不显著.

表 2 优化 TGase 添加量对海地瓜胶原蛋白凝胶强度影响的实验设计与结果

Tab. 2 Box-Behnken design and experimental results of optimizing the addition of TGase and its effect on gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen

实验号 Experimental number	X_1	X_2	X_3	$Y/(g \cdot mm)$
1	-1	-1	0	2984.14
2	-1	1	0	3992.26
3	1	-1	0	5405.02
4	1	1	0	6244.51
5	0	-1	-1	3653.84
6	0	-1	1	3692.01
7	0	1	-1	3152.18
8	0	1	1	3806.52
9	-1	0	-1	2318.47
10	-1	0	1	2463.36
11	1	0	-1	4370.83
12	1	0	1	4658.32
13	0	0	0	5855.00
14	0	0	0	5999.46
15	0	0	0	6605.95
16	0	0	0	5960.32
17	0	0	0	5832.19

表 3 优化 TGase 添加量对海地瓜胶原蛋白凝胶强度影响回归方程的方差分析

Tab. 3 Variance analysis of regression equation of optimizing the addition of TGase and its effect on the gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen

回归 Regression	自由度 Variance	平方和 Square sum	R^2	F	P
一次项 One term	3	10 371 594	0.3298	22.82	0.0005
二次项 Quadratic term	3	19 906 183	0.6330	43.80	<0.0001
交互项 Interaction term	3	107 109	0.0034	0.24	0.8688
模型 Model	9	30 384 886	0.9663	22.28	0.0002
失拟项 Lack of fit	3	655 392	218 464	2.16	0.2358
纯误差 Pure error	4	405 142	101 285		
总误差 Total error	7	1 060 533	151 505		

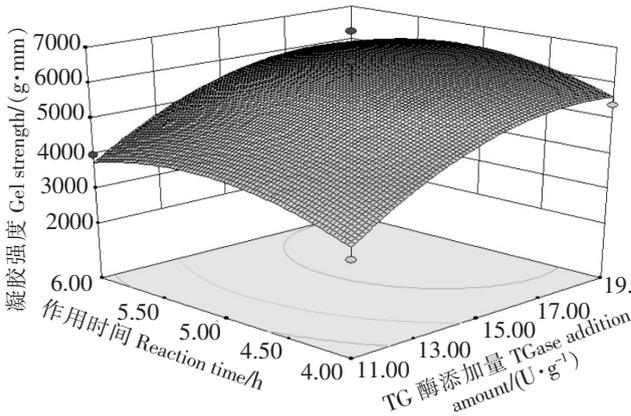
表 4 优化 TGase 添加量对海地瓜胶原蛋白凝胶强度影响回归系数的显著性检验

Tab. 4 Significance test of regression coefficient after optimizing the addition of TGase and its effect on the gel strength of *Acaudina molpadioides* collagen

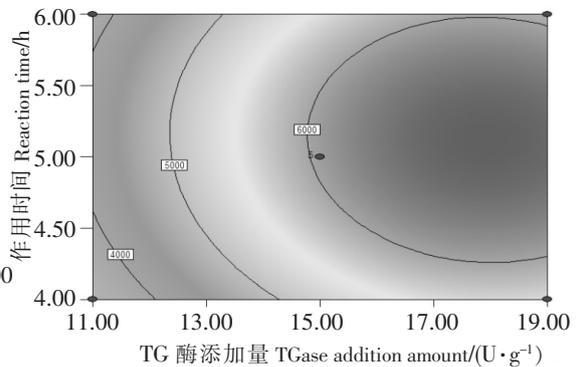
参数 Parameter	DF	回归参数 Regression parameters	标准差 Standard deviation	t	P
常数项 Parameter item	1	-137 983	16 524	-8.35	<0.0001
X_1	1	1 682.811 563	581.696 255	2.89	0.0232
X_2	1	5 461.853 125	2 563.959 239	2.13	0.0706
X_3	1	5 732.436 650	654.521 731	8.76	<0.0001
$X_1 * X_1$	1	654.521 731	11.855 640	-4.00	0.0052
$X_2 * X_1$	1	-10.539 375	48.654 518	-0.22	0.8347
$X_2 * X_2$	1	-635.354 500	189.690 233	-3.35	0.0123
$X_3 * X_1$	1	1.782 500	9.730 904	0.18	0.8599
$X_3 * X_2$	1	30.808 500	38.923 615	0.79	0.4546
$X_3 * X_3$	1	-73.563 680	7.587 609	-9.70	<0.0001

2.4.2 响应面分析直观图

由于 Design - Expert 软件作图更加方便, 因而由 Design - Expert 软件生成响应面立体分析图, 如图 4—图 6 所示.



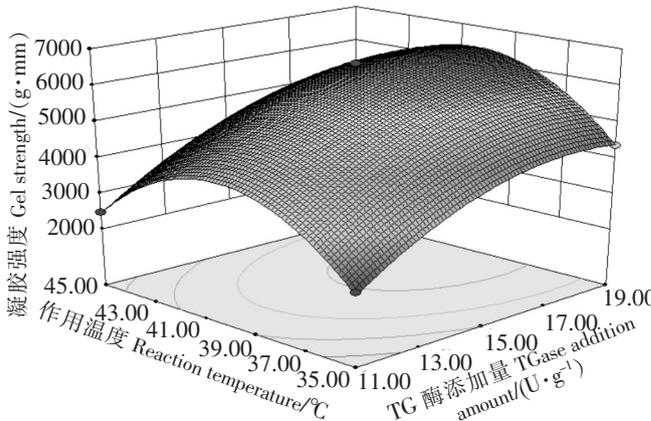
a 响应面图 Response surface plot



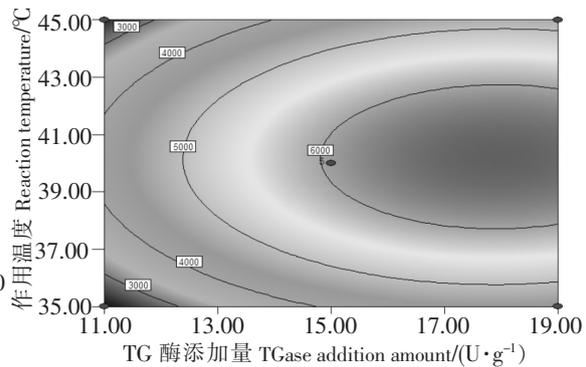
b 等高线图 Contour plot

图 4 TGase 添加量和作用时间对凝胶强度影响的响应面图

Fig.4 Response surface graph of TGase addition amount and reaction time on the gel strength of collagen



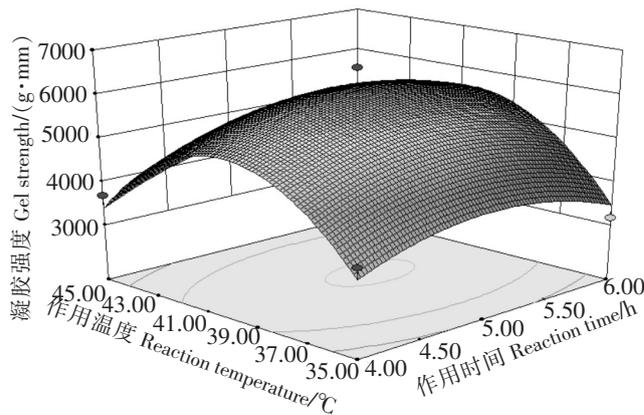
a 响应面图 Response surface plot



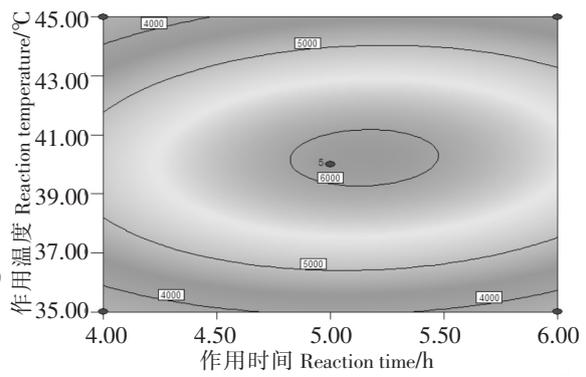
b 等高线图 Contour plot

图 5 TGase 添加量和作用温度对凝胶强度影响的响应面图

Fig.5 Response surface graph of TGase addition amount and reaction temperature on the gel strength of collagen



a 响应面图 Response surface plot



b 等高线图 Contour plot

图 6 作用时间和作用温度对凝胶强度影响的响应面图

Fig.6 Response surface graph of reaction time and reaction temperature on the gel strength of collagen

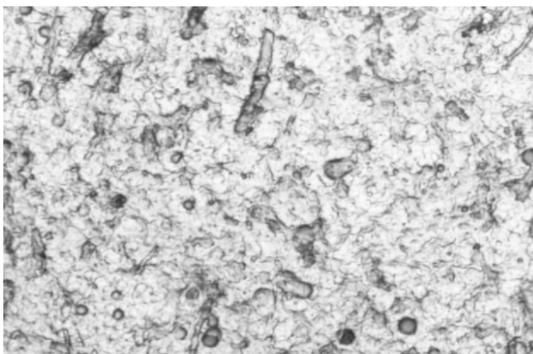
在图4—图6中, 等高线的形状反映了交互效应的强弱, 椭圆形状越显著表示两因素交互作用越明显^[16]. 从图4等高线可以直观看出, TGase 添加量和作用时间有较弱的交互作用. 当TGase 添加量固定时(比如15.0 U/g), 随着作用时间的延长, 凝胶强度先急剧增加再缓慢降低, 此结果和单因素相同. 而且等高线横向左密右疏, 说明凝胶强度在酶添加量为11.0~15.0 U/g范围时随着添加量的增加而大幅度增加, 而在酶添加量为15.0~19.0 U/g范围时随着添加量的增加凝胶强度变化较小, 也和单因素结果相同. 从图5可以看出, 等高线椭圆形状显著, 说明TGase 添加量和作用温度交互作用明显. 等高线纵向分布较密, 说明凝胶强度随着作用温度变化而变化显著. 而且当酶添加量固定时(比如15.0 U/g), 凝胶强度随着作用温度的升高先急剧增加再急剧降低; 当温度一定时, 凝胶强度随酶添加量的增加先急剧升高, 达到最大后又稍微降低, 和单因素结果相同. 而且从图4、图5可以看出, 当TGase 添加量固定时(比如15.0 U/g), 凝胶强度分别随着作用时间、作用温度的增加先显著增加, 再显著降低, 而且这种情况在TGase 添加量适量(比如15.0 U/g)时更加明显. 图6中的等高线相对于图4、图5椭圆形更加显著, 即作用时间与作用温度之间的交互作用更加显著, 而且当一个因素确定时, 凝胶强度随着另一个因素的升高先显著增加再显著降低. 而且由等高线的疏密程度可以看出各因素的贡献率. 综合图4—图6来看, 对凝胶强度影响的大小程度为: 作用温度最大, TGase 添加量次之, 作用时间最小, 这和表4中得到的结论相同.

2.4.3 最佳添加量的确定及验证试验

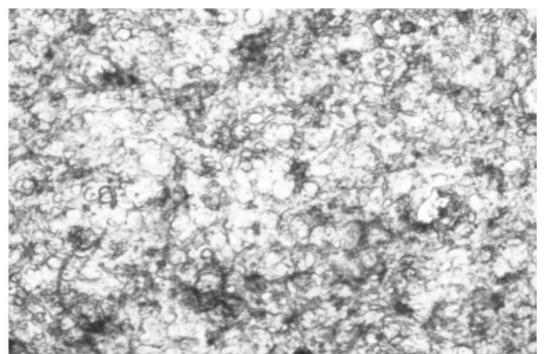
由2.4.1的回归方程可知, 该方程 X_{12} 、 X_{22} 、 X_{32} 系数值均为负, 表明方程的抛物线向下开口, 有极大值. 根据SAS软件对回归模型进行典型性分析, 得出优化结果: $X_1 = 0.732\ 503$, $X_2 = 0.125\ 495$, $X_3 = 0.050\ 584$, 经过换算, 各因素的取值分别为: TGase 添加量 $X_1 = 17.930\ 012$ U/g、作用时间 $X_2 = 5.125\ 495$ h、作用温度 $X_3 = 40.252\ 919$ °C. 此时海地瓜胶原蛋白凝胶强度的理论最大值为6473.99 g·mm. 考虑到实际情况的可操作性, 经过修正, 分别取TGase 添加量为18.00 U/g、作用时间5.13 h、作用温度40.30 °C, 此时海地瓜胶原蛋白凝胶强度的理论最大值为6473.98 g·mm. 根据优化后的条件进行验证性试验, 分别试验5组, 并取其平均值, 为6428.36 g·mm, 与理论值相比, 误差为0.70%.

2.4.4 TGase 对海地瓜胶原蛋白凝胶石蜡组织切片的影响

由图7可知, TGase 对海地瓜胶原蛋白凝胶的微观结构有显著的影响. 对照样品(图7a)的三维网络结构致密性较差, 且蛋白质颗粒凝聚程度较低且大小不一; 而优化后的样品(图7b)形成了较致密、均匀、有序的蛋白质网络结构. 这主要是因为在该条件下, TGase 能够充分反应, 促进了胶原蛋白之间形成更多的 ϵ -(γ -谷氨酰胺基)赖氨酸交联键, 使得蛋白质分子之间的交互增加, 进而形成致密、均匀的网络结构^[17].



a 对照 Control($\times 200$)



b TGase 优化后 TGase Optimized($\times 200$)

图7 TGase 对海地瓜胶原蛋白凝胶微观结构的影响(200倍)

Fig.7 Effect of TGase on microstructure of *Acaudina molpadioidea* collagen gel($\times 200$)

3 结论

1) 根据单因素结果, TGase 添加量、作用时间、作用温度分别在 18.0 U/g、5.0 h、40 °C 条件下达到最佳。

2) 根据响应面分析结果, 对于 TGase 优化海地瓜胶原蛋白凝胶, 各因素的最优水平组合为: TGase 添加量为 18.00 U/g, 作用温度为 40.30 °C, 作用时间为 5.13 h。经过验证试验得到该条件下海地瓜胶原蛋白凝胶强度与理论预测值相差小于 1%, 说明该回归模型用于优化海地瓜胶原蛋白凝胶加工工艺是可行且有效的。

3) 作用温度对海地瓜胶原蛋白凝胶强度的影响最大, TGase 添加量次之, 作用时间最小。TGase 添加量与作用温度、作用时间与作用温度之间交互作用明显, 而 TGase 添加量与作用时间之间交互作用不明显。

[参 考 文 献]

- [1] 朱燕芳. 地瓜参胶原蛋白产品的开发利用研究. 杭州: 浙江海洋学院, 2012: 2.
- [2] 陈超. 海参胶原肽的制备及抗氧化活性研究. 厦门: 集美大学, 2012: 15-20.
- [3] 卢黄华, 李雨哲, 刘友明, 等. 草鱼鱼鳞胶原蛋白膜的制备工艺. 华中农业大学学报, 2011, 32(2): 243-248.
- [4] 汪海波, 汪海婴, 梁艳萍, 等. 草鱼鱼鳞胶原蛋白的凝胶性能研究. 功能材料, 2012, 43(4): 433-437, 441.
- [5] 曾庆冉. 鸡皮胶原蛋白肽的制备及其富肽饮品的开发. 无锡: 江南大学, 2013: 43.
- [6] YANG H, SHU Z B. The extraction of collagen protein from pigskin. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2014, 6(2): 683-687.
- [7] 苏来金, 徐仰丽, 林胜利, 等. 海地瓜胶原蛋白水提工艺的优化. 食品发酵与工程, 2014, 40(9): 185-192.
- [8] CHANARAT S, BENJAKUL S. Effect of formaldehyde on protein cross-linking and gel forming ability of surimi from lizardfish induced by microbial transglutaminase. Food Hydrocolloids, 2013, 30: 704-711. DOI:10.1016/j.foodhyd.2012.09.001.
- [9] KAEWUDOM P, BENJAKUL S, KIJROONGROJANA K. Properties of surimi gel as influenced by fish gelatin and microbial transglutaminase. Food Bioscience, 2013(1): 39-47. DOI:10.1016/j.fbio.2013.03.001.
- [10] KAEWUDOM P, BENJAKUL S, KIJROONGROJANA K. Effect of bovine and fish gelatin in combination with microbial transglutaminase on gel properties of threadfin bream surimi. International Aquatic Research, 2012(4): 12-24. DOI:10.1186/2008-6970-4-12.
- [11] GUDMUNDSSON M, HAFSTEINSSON H. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. Journal of Food Science, 1997, 62: 37-39, 47. DOI:10.1111/j.1365-2621.1997.tb04363.x.
- [12] SARABIA A I, GOMEZ GUILLEN M C. The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. Food Chemistry, 2000, 70(1): 71-76. DOI:10.1016/s0308-8146(00)0073-x.
- [13] 董玉玉, 唐琳, 胡玉香, 等. 添加猪皮提取物对猪肉糜香肠品质的影响. 肉类研究, 2012, 26(6): 14-19.
- [14] MAQSOOD S, BENJAKUL S, BALANGE A K. Effect of tannic acid and kiam wood extract on lipid oxidation and textural properties of fish emulsion sausages during refrigerated storage. Food Chemistry, 2012, 130(2): 408-416. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.07.065.
- [15] 杨莉莉, 熊善柏, 孙建清. 制备条件对鱼肉-魔芋胶复合凝胶品质的影响. 食品科学, 2010, 31(3): 55-59.
- [16] 王允祥, 吕凤霞, 陆兆新. 杯伞发酵培养基的响应曲面法优化研究. 南京农业大学学报, 2004, 27(3): 89-94. DOI:10.7685/j.issn.1000-2030.2004.03.022.
- [17] LEFEVRE F, QUAIL A. Thermal gelation of brown trout myofibrils: effect of muscle type, heating rate and protein concentration. Journal of Food Science, 1998, 63(2): 296-302. DOI:10.1111/j.1365-2621.1998.tb15730.x.

(责任编辑 马建华 英文审校 曹敏杰)