

明胶 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌过程中的水分和氧气效应

耿胜荣, 鋈晓艳, 李 新, 廖 涛, 熊光权*

(湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北省农产品辐照加工中心, 湖北武汉 430064)

摘要:将含水量0%~80%的明胶分别采用透气和真空包装,并经 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射8kGy后,测定辐照前后特性粘度、凝胶强度、拉伸参数的变化,并采用扫描电镜(SEM)、差示扫描量热仪(DSC)表征了材料的结构,研究水分和氧气对明胶辐照交联的影响。结果表明,随着明胶辐照灭菌时水分含量的增加,特性黏度和凝胶强度持续下降;SEM图样品表面形貌由颗粒状转变为多层网络结构;DSC热流图中熔胶峰由28℃左右的单峰转变20℃和40℃左右的双峰,凝胶峰温升高;明胶膜的断裂伸长率随含水量的增加而下降,其变化范围为142.33%~343.5%;真空包装明胶辐照后交联程度比透气包装严重。结论:水分含量与明胶辐射交联呈正效应,而氧气与辐射交联呈负效应。控制水分含量和有氧辐照可减少辐照灭菌过程中的交联导致的明胶品质下降的问题。

关键词:辐照,明胶,水分,氧气,交联

Effect of water and oxygen on gelatin crosslinking during process of $^{60}\text{Co}-\gamma$ irradiation

GENG Sheng-rong, ZU Xiao-yan, LI Xin, LIAO Tao, XIONG Guang-quan*

(Institute for Farm Products Processing and Nuclear-Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Hubei Innovation Center of Agricultural Science and Technology, Wuhan 430064, China)

Abstract: Gelatin with 0%~80% water was packaged respectively by oxygen permeable and vacuum materials and irradiated for 8kGy by $^{60}\text{Co}-\gamma$. The relationship of moisture and oxygen content with gelatin irradiation crosslinking were analyzed by methods including intrinsic viscosity, texture analyzer, scanning electron microscope photographs technology (SEM) and differential scanning calorimetry (DSC). Results showed that with the increase of gelatin water content, the intrinsic viscosity and gel strength decreased. The irradiated gelatin appeared network structure in SEM spectrum and two melting peakes and the temperatures were 20℃ and 40℃ in DSC spectrum. The gelling temperature increased with the water content, but the crosslinking degree of irradiated gelatin by vacuum packaged had the stronger crosslinking reaction than the oxygen permeable packed one. It was suggested that there was a positive effect that existed between the crosslinking degree and water content, but negative effect with oxygen content. The gelatin quality would be ensured by controlling lower moisture and sufficient oxygen content in the gelatin before irradiating.

Key words: irradiation; gelatin; water; oxygen; crosslinking

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)12-0144-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.12.022

明胶是从动物皮、骨、肌腱等加工副产物中提取出来的一种水解胶原蛋白,理化性质优良,广泛应用在工业和食品^[1]方面。明胶具有生物相容性、生物降解性和低的抗原性,在外科手术上用作假肢的胶剂、粘接剂和吸液垫,在胶囊、微球和纳米粒子、组织修复上作为药物缓控系统^[2-3]。然而,明胶分子的氧化交联严重影响明胶制品的品质^[4],其中水分和氧气是明

胶品质重要的影响因素。

辐照是一种物理冷杀菌技术,目前在明胶原材料、明胶空心胶囊和药物胶囊的灭菌方面应用已十分广泛。据统计,我国药、食用明胶产量约20万吨,以5万元/吨计算,其产值为100亿元。但是辐照过程中常常产生负效应,如明胶粘度下降、胶囊脆性增加等,继而影响明胶制品的品质,而水分和氧气是影响辐射效应的重要因素。本研究以猪皮明胶为材料,采用常用灭菌剂量(8kGy)动态 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照不同含水量明胶,研究水分含量和氧气对明胶辐照后品质的影响,为建立明胶辐射杀菌更科学合理的工艺奠定理论基础。

收稿日期: 2013-10-11 * 通讯联系人

作者简介: 耿胜荣(1979-),女,硕士研究生,助理研究员,主要从事农产品辐照加工方面的研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(11105048)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

明胶 国药集团, 化学纯。

^{60}Co 辐照源 设计装源容量 $1.85 \times 10^{16}\text{Bq}$, 现有放射性活度 $5.84 \times 10^{15}\text{Bq}$; Quanta 200扫描电镜 荷兰FEI公司; DSC200F3示差扫描量热仪 德国Netzsch公司; TA-XTPlus质构仪 英国SMS公司; 实验机 深圳市瑞格尔仪器有限公司; 50mL稀释型乌氏粘度计等。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计 对照组: 共2个处理: 0%含水量透气包装和0%含水量真空包装, 分别作为辐照组的透气包装处理和真空包装处理的对照。对照组不进行辐照处理。辐照组: 共16个处理: 8种不同含水量的明胶分别采用真空包装和透气包装后, ^{60}Co 辐照8kGy。8种不同含水量分别为: 0%、4.64%、8.64%、18.22%、33%、50%、66%和80%。

1.2.2 不同含水量明胶样品的制备及辐照处理 明胶在 MgCl_2 、 NH_4NO_3 、 KNO_3 的过饱和溶液环境中平衡48h后, 相对含水量分别为4.64%、8.64%、18.22%。采取明胶与水不同比例直接快速混合的方式获得含水量为33%、50%、66%和80%的明胶。将明胶在50℃鼓风烘干至恒重, 得到了含水量0%的样品。所有水分含量的明胶均分成2份, 分别以透气和真空包装。辐照组采用动态辐照8kGy, 硫酸亚铁剂量计跟踪剂量。辐照后所有样品均干燥至恒重, 干燥器中保存待用。

1.2.3 指标测定 特性粘度: 参考文献[5]的方法。凝胶强度: 在文献[6]的方法。熔化温度及胶凝温度: 参考文献[7]的方法。断裂强度和断裂伸长率: 采用流延法制膜。表面形貌分析: 参考文献[8]方法。

1.3 数据处理

所有指标重复三次, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。结构分析取最好效果图表示。

2 结果与分析

2.1 水分和氧气对辐射明胶粘度和凝胶强度的影响

未辐照的透气和真空包装明胶的特性粘度分别为51.90、50.58mL/g, 而辐照的0%含水量的透气和真空包装明胶的特性粘度分别为47.12、56.80mL/g(图1a)。两种包装明胶的特性粘度均呈先升后降的趋势。真空包装明显高于透气包装。当含水量高于70%, 由于交联严重, 溶解部分很少, 无法测定真空包装的特性粘度。由图1b可知, 当含水量低于20%时, 二者相近, 当含水量在20%~80%时, 透气包装的凝胶强度明显高于真空包装的。未辐照0%含水量透气和真空包装明胶凝胶强度分别为593.5、596.9g, 而辐照的0%含水量两种包装的凝胶强度分别为550.5、548.2g。

蛋白质在辐照时会发生包括脱氨基、脱羧基、硫氢键断裂等降解反应, 当条件改变时, 又会以缩聚和交联反应为主^[9-11]。本文研究结果与文献报道一致。当含水量为0%时, 辐照分解带来明胶粘度和凝胶强度下降, 但交联反应极少。

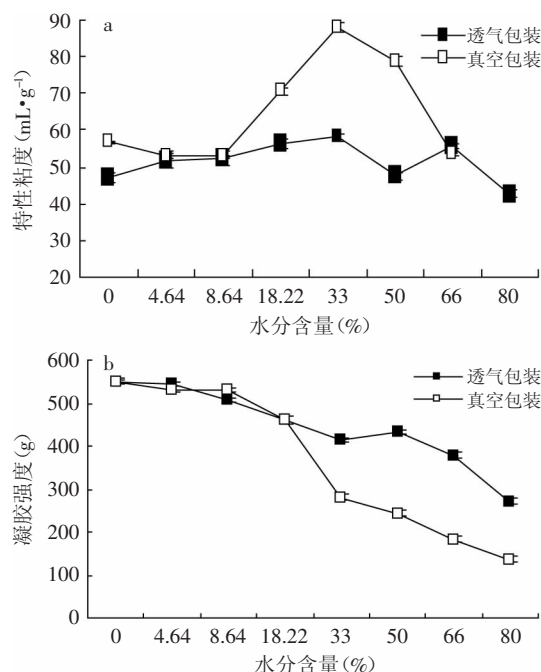


图1 不同水分含量对辐照明胶粘度(a)和凝胶强度(b)的影响

Fig.1 Effect of water content on intrinsic viscosity and gel strength of irradiation gelatin

2.2 水分和氧气对辐射明胶热学性能的影响

图2a、图2b为明胶DSC热流图。纵坐标表示热流速度(mW/mg)和温度, 横坐标为时间。红色曲线表示温度与时间的变化曲线, 反映仪器的温度程序。蓝色曲线表示热流速度与时间的变化曲线。蓝色曲线的向上峰为吸热熔融峰, 向下峰为放热凝胶峰。通过程序自带软件积分峰面积和峰温搜索, 得到相应的热焓值和熔化温度、凝胶温度, 见图2c。

图2a和图2b分别为含水量8.64%和66%真空包装明胶DSC热流图, 在横坐标5min处可见有向上峰。当辐照明胶的含水量从8.64%增加至66%时, 凝胶熔融峰会由单峰变为双峰, 熔化升温峰由原先的28℃左右的单峰, 转变为双峰, 峰温在27℃和35℃左右(图2c)。

相对含水量为0%时, 未辐照明胶胶凝温度为41.9℃, 辐照后透气和真空包装分别为41.8、43.3℃(图2d)。当含水量低于20%时, 透气包装和真空包装的凝胶温度相近, 当含水量在20%~50%时, 真空包装明显大于透气包装。当含水量在50%~80%之间, 真空包装低于透气包装, 二者差距减小。

2.3 水分和氧气对辐射明胶膜力学性能的影响

相对含水量为0%时, 未辐照明胶膜断裂伸长率为360.10%, 辐照后透气与真空包装明胶膜分别为327.95%和343.5%, 见图3a。辐照后明胶膜断裂伸长率随明胶含水量的增加呈下降趋势, 在含水量低于18.22%阶段的下降幅度较大, 此后变平缓。透气和真空包装曲线趋势一致, 在含水量8.64%~50%范围, 二者差距最大。当含水量达到80%时, 透气和真空包装明胶断裂伸长率分别为155.5%和142.33%。

相对含水量为0%时, 未辐照明胶膜断裂强度为3.47N, 辐照后透气与真空包装分别为6.37、6.41N, 见

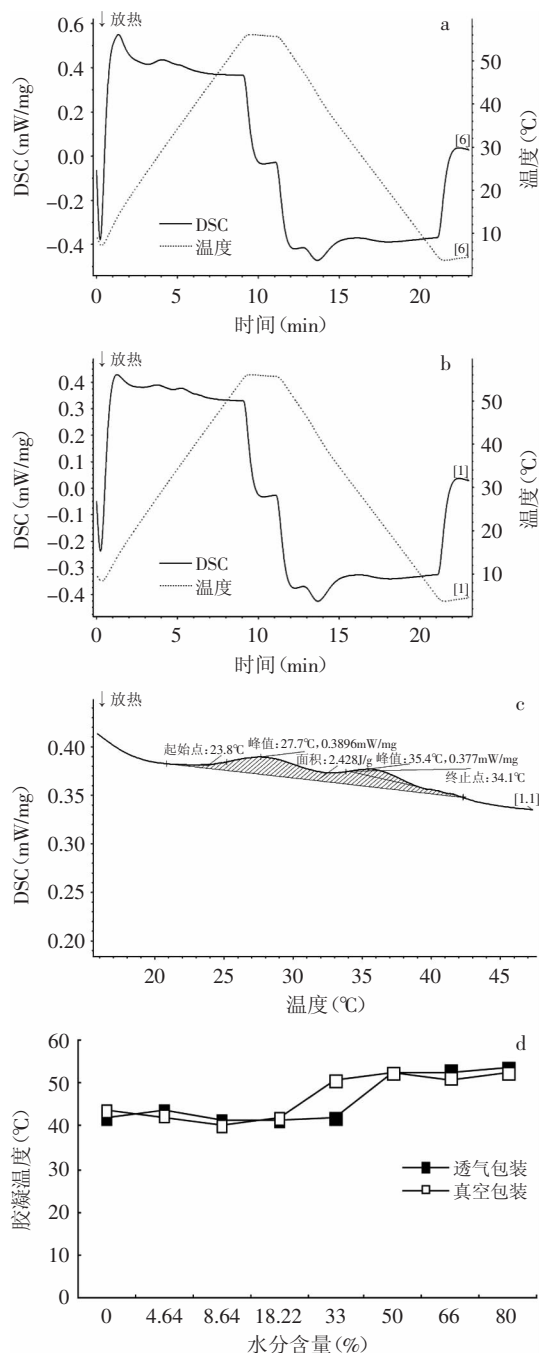


图2 不同水分含量对辐照明胶DSC图谱(a~c)及胶凝温度的影响(d)

Fig.2 Effect of water content on DSC spectrum(a~c) and gelling temperature(d) of irradiation gelatin

图3b. 透气包装在含水量低于8.64%时,断裂强度是下降的,此后呈缓慢上升趋势。真空包装在含水量低于18.22%时,断裂强度是上升的,此后呈下降趋势。在含水量4.64%~33%范围内,二者差距较大。

2.4 水分和氧气对辐射明胶结构的影响

图4a为未辐照明胶表面放大500倍的透射电镜图,可见颗粒状结构。图4b、图4c为含水量66%真空包装辐照明胶表面放大500倍图和2500倍图,可见网络状结构。这说明含水明胶经辐照后分子之间已发生了交联。

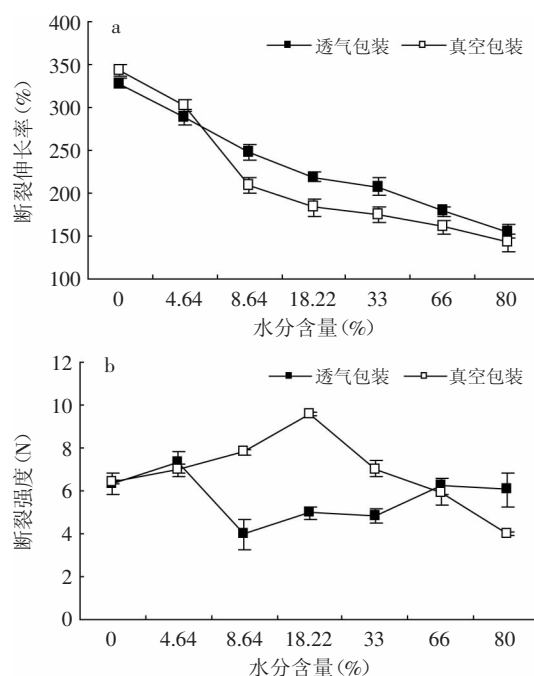


图3 水分和氧气对明胶断裂伸长率(a)和断裂强度(b)的影响
Fig.3 Effect of water and oxygen content on tensile strength(a) and elongation(b) of irradiation

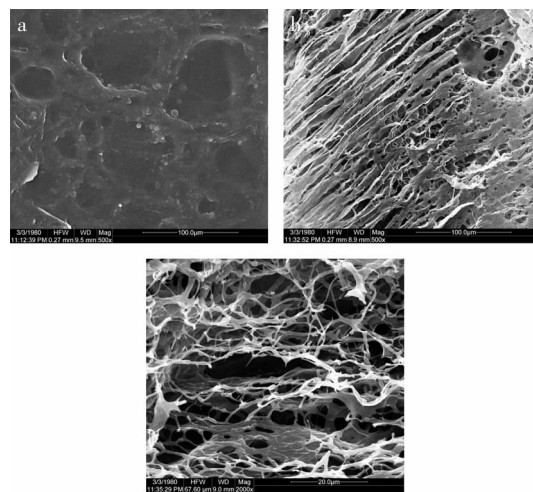


图4 未辐照明胶(a)和含水66%真空包装辐照明胶(b~c)SEM图
Fig.4 SEM spectrum of no irradiation gelatin(a) and irradiation vaccum packaged gelatin with 66%water content(b~c)

3 讨论

小分子交联为中等分子到不溶部分产生的过程,导致明胶粘度先升后降;可溶部分的减少,带来对凝胶强度有贡献的组分 α 组分的减少^[6],故而凝胶强度持续下降;可溶和不溶部分的同时存在,熔胶峰由原先的单峰28°C转变为20°C和40°C的两个峰,20°C对应可溶部分的熔胶峰温,而40°C对应不溶部分的熔胶峰温。从28°C降为20°C,是因为可溶部分减少,并且平均分子量下降,故熔胶温度下降。从28°C升为40°C,是因为不溶部分的分子量增加,网络结构致密,故熔胶温度升高。凝胶峰温先下降后升高,推测

(下转第161页)

- Applied microbiology and biotechnology, 2012, 93(2):525-531.
- [2] Li J, Zhu L, Zheng Z Y, *et al.* A new effective process for production of curdlan oligosaccharides based on alkali - neutralization treatment and acid hydrolysis of curdlan particles in water suspension[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(19):8495-8503.
- [3] Kondori N, Edebo L, Mattsby-Baltzer I. A novel monoclonal antibody recognizing $\beta(1-3)$ glucans in intact cells of *Candida* and *Cryptococcus*[J]. APMIS, 2008, 116(10):867-876.
- [4] Torosantucci A, Chiani P, Bromuro C, *et al.* Protection by anti- β -glucan antibodies is associated with restricted β -1,3 glucan binding specificity and inhibition of fungal growth and adherence[J]. PLoS One, 2009, 4(4):e5392.
- [5] Taylor P R, Tsoni S V, Willment J A, *et al.* Dectin-1 is required for β -glucan recognition and control of fungal infection[J]. Nature Immunology, 2006, 8(1):31-38.
- [6] Jamois F, Ferrières V, Guégan J P, *et al.* Glucan-like synthetic oligosaccharides: iterative synthesis of linear oligo- β -(1,3)-glucans and immunostimulatory effects[J]. Glycobiology, 2005, 15(4):393-407.
- [7] 唐治玉. 木霉 β -1,3-葡聚糖酶的分离纯化, 性质和部分结构研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [8] 杨勇. 黄蓝状菌 *Talaromyces flavus* 内切 β -1,3-葡聚糖酶的

- 纯化, 特性及抗菌活性[D]. 泰安: 山东农业大学, 2003.
- [9] De La Cruz J, Pintor-Toro J A, Benitez T, *et al.* A novel endo- β -1,3-glucanase, BGN13. 1, involved in the mycoparasitism of *Trichoderma harzianum*[J]. Journal of Bacteriology, 1995, 177(23):6937-6945.
- [10] Thrane C, Tronsmo A, Jensen D F. Endo- β -1,3-glucanase and cellulase from *Trichoderma harzianum*: purification and partial characterization, induction of and biological activity against plant pathogenic *Pythium* spp[J]. European Journal of Plant Pathology, 1997, 103(4):331-344.
- [11] Tangarone B, Royer J C, Nakas J P. Purification and Characterization of an Endo-(1,3)- β -D-Glucanase from *Trichoderma longibrachiatum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55(1):177-184.
- [12] Noronha E F, Ulhoa C J. Purification and characterization of an endo- β -1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1996, 42(10):1039-1044.
- [13] Grandpierre C, Janssen H G, Laroche C, *et al.* Enzymatic and chemical degradation of curdlan targeting the production of β -(1 $\rightarrow$ 3) oligoglucans[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71(2):277-286.
- [14] 刘芳, 杨瑞金, 张文斌, 等. 薄层色谱法快速分析乳果糖[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(1):119-123.

(上接第146页)

是由原先单峰转变为双峰后叠加的结果, 变化趋势应该与熔胶峰温相似; 明胶分子之间的降解和交联, 发生分子间合适的网络结构被破坏, 或者网络结构更为紧密, 膜的分子伸展能力差, 都会带来明胶膜断裂伸长率的下降。而断裂强度随交联度的增加而增加, 但随可溶部分的减少而下降, 这种变化在真空包装辐照明胶表现为加的效应, 因为真空包装是缺氧环境, 以交联为主。明胶的断裂强度和断裂伸长率的下降, 带给明胶刚性和韧性变差的品质。

4 结论

根据本实验结果, 明胶辐照灭菌的过程中, 水分的存在容易引起交联反应, 交联程度与水分含量呈正效应, 与氧气含量呈负效应。辐射剂量在8kGy时, 严格控制明胶含水量在10%以下, 采用透氧包装, 可减少交联带来的明胶品质下降的问题。

参考文献

- [1] 尹寿伟, 马雯, 徐航, 等. 均质条件对明胶乳液膜物理性能及控释性的影响[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2012, 40(8):128-132.
- [1] YIN Shou-wei, ZHOU Gang, XU Hang. Homogeneous acetylation of waxy maize starch in ionic liquid BMIMCL[J]. Journal of South China University of Technology(natural science edition), 2012, 40(8):128-132.
- [2] Seo Yong Chang, Choi Woon Yong, Lee Choon Geun, *et al.* Enhanced immunomodulatory activity of gelatin-encapsulated *Rubus coreanus* Miquel Nanoparticles[J]. International Journal of

Molecular Sciences, 2011, 12:9031-9056.

- [3] Van Vlierberghe S, Vanderleyden E, Boterberg V, *et al.* Gelatin functionalization of biomaterial surfaces: strategies for immobilization and visualization[J]. Polymers, 2011, 3(1):114-130.
- [4] Haydar U Z, Mubarak A K, Ruhul A K. Studies on the thermo-mechanical properties of gelatin based films using 2-hydroxyethyl methacrylate by gamma radiation[J]. Open Journal of Composite Materials, 2012(2):15-21.
- [5] 欧阳逊. 四种聚乙烯醇的特性粘度(浓度与比浓粘度)研究[J]. 化工技术与开发, 2012, 41(12):36-38.
- [6] 陈小雷, 吕顺, 陆剑锋, 等. 鲢鱼皮明胶浸酸提取工艺条件优化[J]. 食品科技, 2013(1):285-289.
- [7] 张丰香, 李志华, 邵丽军, 等. 鱼鳞明胶与哺乳动物明胶性质的比较[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(7):89-93.
- [8] 耿胜荣, 程齐来, 华跃进, 等. ^{60}Co - γ 辐照接枝魔芋-丙烯酸-尿素及产物结构分析[J]. 农业工程学报, 2010, 26(14):416-420.
- [9] 姜秀杰, 张德权, 张东杰, 等. 包装形式对辐照调理鸡肉理化特性的影响[J]. 核农学报, 2011, 25(2):276-280.
- [10] RN Kale, AN Bajaj. Ultraviolet Spectrophotometric Method for Determination of Gelatin Crosslinking in the Presence of Amino Groups[J]. Journal of Young Pharmacists, 2010, 2(1):90-94.
- [11] 刘建平, 马旭, 朱家璧. 评价软胶囊中明胶交联反应的相关指标间的相关性及影响因素[J]. 药学学报, 2005, 40(3):279-284.