

# 没食子酸和芦丁对鱼皮明胶凝胶的溶胀性及水的状态的影响

闫鸣艳, 秦松\*

(中国科学院烟台海岸带研究所, 山东烟台 264003)

**摘要:** 研究没食子酸和芦丁对鱼皮凝胶的溶胀性及水的状态的影响。结果表明, 没食子酸和芦丁均可使凝胶的平衡溶胀率降低, 以芦丁的影响较显著。在凝胶溶胀初期, 未交联凝胶和没食子酸添加量 20mg/g 凝胶以及芦丁添加量为 6 和 8mg/g 凝胶均表现非 Fick 扩散过程, 而 30mg/g 没食子酸交联的凝胶表现 Fick 扩散过程。同时发现, 无论是未交联凝胶还是多酚交联凝胶, 在溶胀过程中均是凝胶高分子链的松弛过程为速控步骤。通过差示扫描量热法 (DSC) 对多酚交联凝胶中水的状态分析发现, 没食子酸和芦丁对凝胶的平衡水分含量没有明显影响, 但可改变凝胶中可冻结水和非冻结结合水的分布。20 和 30mg/g 的没食子酸使凝胶中非冻结结合水含量降低, 而 6 和 8mg/g 的芦丁却使凝胶中非冻结结合水含量升高。

**关键词:** 没食子酸, 芦丁, 鱼皮, 明胶, 凝胶, 溶胀性

## Effect of gallic acid and rutin on the swelling behavior and state of water in gelatin from fish skin

YAN Ming-yan, QIN Song\*

(Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China)

**Abstract:** The effect of gallic acid and rutin on swelling behavior and state of water in gelatin from fish skin was investigated. The results showed that the equilibrium swelling ratio of gel decreased with the introduction of gallic acid and rutin, but it was evident in gelatin treated with rutin. In the primary swelling process, the swelling behavior of untreated gelatin and gel treated with 20mg/g dry gelatin gallic acid, and 6, 8mg/g dry gelatin rutin followed the Fick's law of diffusion, while that of gel containing 30mg/g dry gelatin gallic acid obeyed the non-Fick's law of diffusion. It was found that the relaxation of polypeptide chains was the rate-determining step in the whole swelling process of gelatin with and without cross-linking agents. Differential scanning calorimetry (DSC) was employed to analyse the state of water in the gels. The results indicated that gallic acid and rutin did not have obvious effect on equilibrium water content of gel, but showed marked effect on the distribution of frozen and non-frozen water. The non-frozen water was lower after addition of 20 or 30mg/g dry gelatin gallic acid, while it was higher after 6 or 8mg/g gelatin rutin was introduced.

**Key words:** gallic acid; rutin; fish skin; gelatin; gel; swelling behavior

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)07-0079-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.07.007

明胶为变性的胶原蛋白, 具有不同于胶原蛋白的结构和性质, 其在食品、医药和照相领域具有广泛的应用<sup>[1]</sup>。但是, 目前市售明胶主要来源于猪皮、牛皮和猪骨、牛骨, 近年来由于疯牛病、口蹄疫的频发以及宗教和文化的差异, 猪和牛中来源的明胶应用受到了限制, 而水产明胶(特别是水产品加工下脚料明胶)由于原料丰富、易于提取、低抗原性、低致敏性、高度可溶性而受到广泛的关注。人类利用鱼皮

制取明胶的历史比较悠久, 但是对鱼皮明胶的研究和利用远远不够。

吸水溶胀性是水凝胶最重要和最基本的性能之一, 在凝胶的研究中占有重要的地位。凝胶的溶胀过程实际上是两种相反趋势的平衡过程, 溶剂试图渗透到网络内部, 使体积溶胀导致三维分子网络的伸展, 交联点之间的分子链的伸展降低了它的构象熵值, 分子网络的弹性收缩力力图使网络收缩。当

收稿日期: 2014-04-08

作者简介: 闫鸣艳(1980-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 海洋活性物质及其功能特性研究。

\* 通讯作者: 秦松(1968-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 海岸带生物资源利用。

基金项目: 国家自然科学基金(31201455)。

两种相反的倾向互相抵消时,达到溶胀平衡<sup>[2]</sup>。但是,目前对于水产明胶凝胶吸水溶胀性的研究较少,而对水凝胶溶胀性的研究和认识对于指导其应用具有重要意义。因此本文以鱼皮为原料提取明胶,研究明胶水凝胶的溶胀性,并以自然界中广泛存在的多酚类物质—没食子酸和芦丁作为交联剂,通过化学交联法制备多酚交联明胶水凝胶,探讨所得水凝胶的吸水溶胀性,进而明确没食子酸和芦丁对鱼皮凝胶溶胀性的影响。此外,运用 DSC 方法分析明胶水凝胶中水的状态,以期对鱼皮明胶水凝胶的应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

BR4i 冷冻离心机 法国 Jouan 公司;LGJ0-5 冷冻干燥机 北京四环科技仪器厂;HHS-Ni 电热恒温水浴锅 北京长安科学仪器厂;DSC-200PC 差示扫描量热仪 德国 Netzsch 公司;AL204 电子天平 瑞士梅特勒-托利多仪器公司;Laborota 4001 旋转蒸发器 德国 Heidolph 公司。

鳕鱼皮 青岛水产品加工厂提供,-20℃ 保存实验时 4℃ 解冻。

氢氧化钠、浓硫酸、没食子酸、芦丁等 均为分析纯。

### 1.2 实验方法

1.2.1 明胶的提取 明胶的提取参照 Sabaria 的方法<sup>[3]</sup>。将鱼皮解冻,用自来水冲洗后剪成块状,用 0.05mol/L 的 NaOH 水溶液(w/w = 1:6)浸泡 30min,重复三次,每次需用自来水洗至中性,然后用 0.05mol/L 的硫酸溶液(w/w = 1:6)溶胀 3h,水洗至中性后绞碎,45℃ 热水抽取过夜,4000 × g 离心 30min,收集上清液,减压浓缩后冻干得鳕鱼皮明胶。

1.2.2 水凝胶的制备 配制 6.67% 的鱼皮明胶水溶液,在其中分别加入预先用 1mol/L 的 NaOH 溶液溶解的没食子酸(Gallic acid)或芦丁(Rutin)溶液,使没食子酸或芦丁含量分别为 20,30 或 6,8mg/g 明胶。将所得溶液置于 50℃ 水浴中恒温 30min,然后超声处理 20min 消泡,取出放入 4℃ 下陈化 24h 后冻干,得到干凝胶,用于进行溶胀性分析。

1.2.3 水凝胶的溶胀动力学 称取一定量( $W_0$ )的干凝胶,置于去离子水中在 4℃ 下浸泡 24h,每隔一定时间取出凝胶,用滤纸吸干表面水分,称重( $W_t$ ),以下列公式计算出溶胀率(SR)和水分含量(WC)。以溶胀率对时间作图,表征凝胶的溶胀动力学。

$$SR(\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

$$WC(\%) = \frac{W_t - W_0}{W_t} \times 100$$

1.2.4 DSC 分析水凝胶中水的状态 准确称取一定量溶胀平衡的水凝胶样品,用滤纸吸干表面水分后小心置于铝试样坩埚(BO 6.239.2-64.502)中,加盖密封,置于差示扫描量热仪中,以空坩埚作为参比,在  $N_2$  保护下,从 -50℃ 开始,以 5℃/min 的速度升温至 50℃,样品室的氮气流量为 20mL/min,得到水凝

胶的 DSC 谱图。

假设凝胶中水的热焓值  $\Delta H$  与纯水  $\Delta H_0$  相同,则从 DSC 图上 0℃ 附近热焓可计算出可冻结水( $W_m$ )(即自由水 + 中间水,以  $W_f$  和  $W_m$  来表示)的含量。

$$W_m(\%) = W_f + W_m = \frac{\Delta H}{\Delta H_0} \times 100$$

非冻结结合水由平衡时的水含量(EWC)减去可冻结水,即自由水 + 中间水含量之和而得:

$$W_m(\%) = EWC - W_m = EWC - (W_f + W_m) = EWC - \frac{\Delta H}{\Delta H_0} \times 100$$

$$EWC(\%) = \frac{W_s - W_0}{W_s} \times 100$$

$\Delta H$  为凝胶由 DSC 测出的吸热峰面积算出的单位质量的焓变(J/g); $\Delta H_0$  为纯水单位质量的焓变(J/g); $W_s$  为吸水平衡凝胶的质量(g)。

1.2.5 统计分析 采用 Origin 7.5 对数据进行方差分析。 $p < 0.05$ , 表示差异显著; $p < 0.01$ , 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 水凝胶的溶胀动力学

不同水凝胶的溶胀动力学曲线如图 1 所示。没食子酸和芦丁添加后,凝胶的溶胀率均降低了,这与添加了阿魏酸和单宁酸后牛骨明胶膜的溶胀率降低的结果是一致的<sup>[4]</sup>。但是二者的影响程度是不同的,没食子酸的加入使水凝胶的溶胀率略降低,当没食子酸添加量分别为 20 和 30mg/g 时,凝胶的平衡溶胀率分别降低了 8.59%、15.88%。而芦丁的加入明显降低了水凝胶的溶胀率,6 和 8mg/g 的芦丁使水凝胶的平衡溶胀率分别降低了 41.67% 和 45.44% ( $p < 0.01$ )。研究表明大的交联度不利于凝胶的大量吸水<sup>[4-6]</sup>。由此推断芦丁交联水凝胶的交联度要大于没食子酸交联水凝胶的,这也是两种多酚的加入使凝胶的溶胀率产生差异的主要原因。

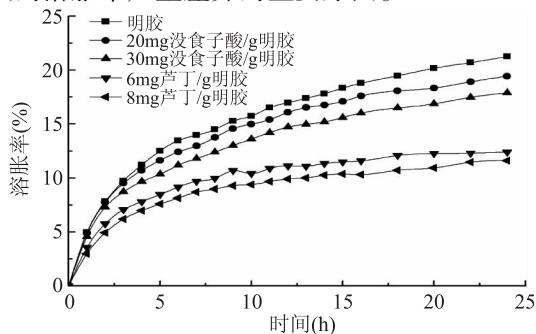


图 1 不同凝胶的溶胀动力学曲线

Fig.1 Swelling kinetics of various gels

一般来说,溶胀初期,水分子侵入凝胶内部并扩散,产生两种机理的动态溶胀:Fick 行为和非 Fick 行为。在溶胀初始阶段, $F = M_t/M_\infty = kt^n$ , $M_t$  和  $M_\infty$  分别是  $t$  时刻和平衡时的凝胶吸收水的质量, $k$  是凝胶的特性常数,指数  $n$  决定水在凝胶中的扩散特性, $n = 0.45 \sim 0.5$  对应水在凝胶中的 Fick 扩散过程, $0.5 < n < 1$  反映水在凝胶中的非 Fick 扩散过程。当  $M_t <$

表1 不同凝胶的溶胀动力学方程及参数  
Table 1 Swelling kinetics equations and parameters of various gels

多酚含量	溶胀阶段		n	$k_s (\times 10^{-3})$	$S_{\infty}$
	初始溶胀	扩展溶胀			
明胶	$\lg F = 0.573 \lg t - 0.621$ ( $R^2 = 0.9954$ )	$t/S = 0.205 + 0.040t$ ( $R^2 = 0.9931$ )	0.573	7.83	24.94
20mg 没食子酸/g 明胶	$\lg F = 0.542 \lg t - 0.584$ ( $R^2 = 0.986$ )	$t/S = 0.202 + 0.044t$ ( $R^2 = 0.9954$ )	0.542	9.74	22.52
30mg 没食子酸/g 明胶	$\lg F = 0.508 \lg t - 0.571$ ( $R^2 = 0.9752$ )	$t/S = 0.228 + 0.048t$ ( $R^2 = 0.9929$ )	0.508	10.16	20.79
6mg 芦丁/g 明胶	$\lg F = 0.632 \lg t - 0.538$ ( $R^2 = 0.9937$ )	$t/S = 0.222 + 0.072t$ ( $R^2 = 0.9992$ )	0.632	23.03	13.99
8mg 芦丁/g 明胶	$\lg F = 0.624 \lg t - 0.580$ ( $R^2 = 0.9887$ )	$t/S = 0.274 + 0.077t$ ( $R^2 = 0.9992$ )	0.624	21.59	12.99

0.6M<sub>∞</sub>时,lg(M<sub>t</sub>/M<sub>∞</sub>)~lgt 是线性关系,由直线的斜率可以得到水在凝胶中的扩散特性指数 n<sup>[7]</sup>。通过线性拟合发现(表1),未交联明胶以及没食子酸含量为20mg/g、芦丁含量为6和8mg/g的水凝胶的n值均明显大于0.5,说明在溶胀初期主要为非Fick扩散过程,而没食子酸含量为30mg/g的水凝胶的n值为0.508,在0.5附近,参照前人研究结果<sup>[7]</sup>,通常认为其为Fick扩散过程,这可能主要与凝胶的结构有关,通过对凝胶微观结构分析(结果未列出)发现没食子酸含量为30mg/g的水凝胶的组织形态明显不同于其它凝胶的交联结构。

上述公式只适用于凝胶溶胀的初始阶段,对整个溶胀过程而言,该方程不再适用。Schott<sup>[8]</sup>对聚合物溶胀建立了二级动力学模型如式(1)所示,根据初始条件t=0,S=0积分得式(2)。

$$\frac{dS}{dt} = k_s (S_{\infty} - S)^2 \quad \text{式(1)}$$

$$\frac{t}{S} = A + Bt \quad \text{式(2)}$$

式(1)中,k<sub>s</sub>为溶胀速率常数,S<sub>∞</sub>为聚合物的最大或平衡吸水量。式(2)中,A=1/k<sub>s</sub>S<sub>∞</sub><sup>2</sup>=1/(dS/dt)<sub>0</sub>,为水凝胶初始溶胀速率的倒数,B=1/S<sub>∞</sub>是聚合物最大吸水量(理论)的倒数。通过水凝胶样品的t/S~t关系图,得出凝胶的溶胀速率常数k<sub>s</sub>和理论最大吸水量S<sub>∞</sub>。由表1数据可知,没食子酸和芦丁的加入均使水凝胶的溶胀速率常数升高,表明水凝胶到达溶胀平衡的时间缩短了。但是没食子酸和芦丁的加入均使水凝胶的理论最大吸水量减少,而芦丁使最大吸水量降低更为明显,几乎为未交联鱼皮凝胶的50%,这可能主要与多酚使明胶交联度增大有关。

通常,当干凝胶放入水中开始吸水溶胀时,水分子首先与极性的亲水基团或能形成氢键的基团结合,这部分水称为初级结合水。之后,大分子链开始伸展,疏水基团通过疏水作用在基团周围形成一层“二级结合水”。当这些水分子与大分子上基团间的短程作用完成后,网络继续吸收水分,由于渗透压的作用,吸收的水充斥于网络的空隙和大孔中,直至凝胶的溶胀达到平衡<sup>[9]</sup>。因此可以认为,凝胶的溶胀包

括三个连续的过程:首先,水分子进入凝胶内部;然后凝胶中高分子链发生松弛;最后整个高分子链在水中伸展,凝胶网络溶胀。如果第一个过程占主导地位,凝胶的吸水量与吸水时间的平方根成正比关系。如果第二个过程占主导地位,其吸水量正比于吸水时间,吸水量与吸水时间平方根之间的关系曲线呈S型<sup>[10-11]</sup>。以图1中的溶胀率对时间的平方根作图,其结果如图2所示,凝胶的溶胀曲线均为S型。这说明未交联鱼皮明胶以及没食子酸和芦丁交联所得到的凝胶的溶胀速率均由第二步控制,即凝胶中高分子链的松弛过程为溶胀过程的速控步骤。因为水分子通过凝胶表面进入凝胶内部的速率较快,而网络中高分子链的松弛速率较慢,最终成为凝胶溶胀速率的控制过程<sup>[12]</sup>。

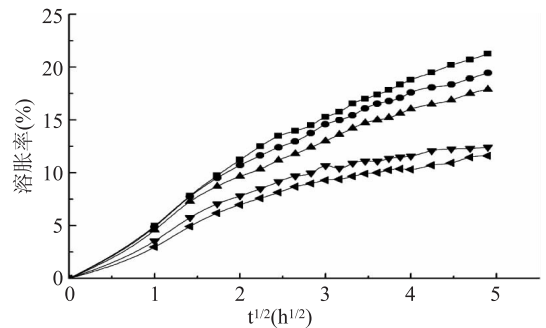


图2 不同凝胶的溶胀率与t<sup>1/2</sup>的关系

Fig.2 Swelling ratios of various gels versus t<sup>1/2</sup>

## 2.2 通过 DSC 分析凝胶中水的状态

水与高分子的相互作用在生物过程中起着至关重要的作用,水凝胶的性质不仅取决于聚合物的交联网链结构,而且取决于水在网络中的存在状态和特性<sup>[9]</sup>。通常,水在凝胶中以三种状态存在:a.融化、结晶温度和焓变等热力学行为与纯水相似的游离水,可在凝胶中自由扩散,亦称为可冻结自由水;b.相转变温度和转变焓低于纯水或游离水,为可冻结的水,亦称为中间态水或弱结合水;c.与高分子网络的极性亲水基团通过氢键的作用结合的水,在-100~-50℃温度范围内无相变发生,往往观察不到与高分子基体结合得很紧的水的结晶放热或熔化吸热,为非冻结的结合水,亦

称束缚水<sup>[13-14]</sup>。通常针对不同的用途,需要不同状态的水,游离水有利于药物的控制释放,而作为软性接触材料,则需要较稳定的结合水<sup>[15]</sup>。

图3为不同水凝胶中水的DSC谱图。可以发现,在0℃附近,未交联鱼皮明胶和添加了没食子酸和芦丁的水凝胶样品均有谱峰出现,即显示出热焓变化,并与纯水的谱峰相似,说明低温下有冰相形成,且各凝胶升温时在0℃附近的峰面积要小于纯水,这主要是由凝胶中中间态水的存在引起的。同时可以发现,水凝胶的初始熔融温度与纯水的很相近,说明在上述样品中中间水含量较少。

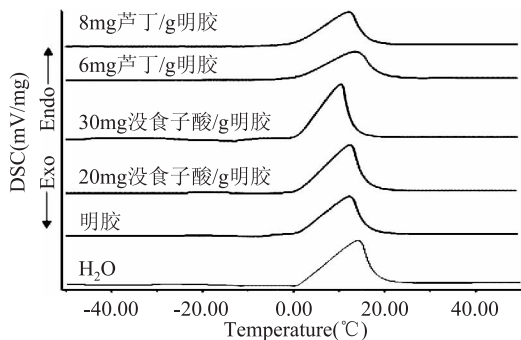


图3 不同凝胶中水的DSC谱图

Fig.3 DSC spectra of water in various gels

由于凝胶中水的状态与凝胶-水相互作用有关,凝胶的组成和性质对水的影响不可忽视。表2的数据显示,没食子酸和芦丁的加入对鱼皮凝胶中平衡水含量没有显著影响,但对凝胶中“三态水”的含量分布产生影响。一般地,在溶胀凝胶中,存在有高分子链与水的相互作用和水与水的相互作用<sup>[13]</sup>,没食子酸和芦丁的引入打破了上述两种作用力的平衡。在鱼皮凝胶中,非冻结结合水与肽链结合最紧密,这种作用与蛋白质分子的电荷密度密切相关。没食子酸的引入降低了蛋白质分子的电荷密度,使凝胶中非冻结结合水含量降低,因而分布在凝胶表面的可冻结水含量升高。随着没食子酸含量的进一步增加,由于其本身含有羟基,也能够结合少量的水,因而凝胶中非冻结结合水的含量略有升高。然而,芦丁的引入却使凝胶中非冻结结合水含量明显升高,这可能是由于芦丁的引入使凝胶网络更紧密规整,增强了凝胶网络与水分子间的氢键作用力,从而使非冻结水含量升高。

表2 不同凝胶中“三态水”的含量

Table 2 Content of “three types of water” in various gels

多酚含量	平衡水分含量 EWC (%)	可冻结水 $W_{fm}$ (%)	非冻结结合水 $W_{nf}$ (%)
明胶	95.51	86.40	9.11
20mg 没食子酸/g 明胶	95.10	93.10	2.00
30mg 没食子酸/g 明胶	94.70	91.39	3.31
6mg 芦丁/g 明胶	92.48	77.78	14.70
8mg 芦丁/g 明胶	92.06	76.76	15.30

### 3 结论

综上所述,无论是未交联凝胶还是多酚交联凝胶,在溶胀过程中均是凝胶高分子链的松弛过程为速控步骤。但是没食子酸和芦丁对鱼皮凝胶的溶胀性是有影响的,芦丁的影响尤为显著。芦丁可明显缩短凝胶到达平衡溶胀的时间,并使凝胶中非冻结结合水含量升高;没食子酸也可缩短凝胶到达平衡溶胀的时间,但却使凝胶中非冻结结合水含量降低。

### 参考文献

- [1] 刘琼,范晓东.快速溶胀 pH 敏感明胶水凝胶的研究[J].精细化工,2005,22(10):739-743.
- [2] 吉静,黄明智.明胶-异丙基丙烯酰胺水凝胶的溶胀性[J].石油化工,2002,31(7):523-526.
- [3] Sarabia A I, Gómez-Guillén M C, Montero P. The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin[J]. Food Chemistry, 2000, 70:71-76.
- [4] Cao N, Fu Y H, He J H. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21:575-584.
- [5] Saito H, Taguchi T, Kobayashi H, et al. Physicochemical properties of gelatin gels prepared using citric acid derivative[J]. Materials Science and Engineering C, 2004, 24:781-785.
- [6] Strauss G, Gibson S M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18:81-89.
- [7] 林智辉,吴文辉,王健全,等.高强度水凝胶 P(HEMA-co-NEVER) 溶胀特性的研究[J].精细化工,2007,24(11):1043-1046.
- [8] Schott H J. Swelling dynamics of polymers[J]. Journal of Macromolecular Science-Physics, 1992, 31B:1-9.
- [9] 谭帼馨,崔英德.N-乙烯吡咯烷酮/甲基丙烯酸-β-羟乙酯/甲基丙烯酸酯共聚物水凝胶中吸附水的状态[J].高分子材料科学与工程,2005,21(2):253-256.
- [10] Zhang X Z, Zhuo R X. Synthesis of temperature-sensitive poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel with improved surface property[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2000, 223:311-314.
- [11] Zhang X Z, Zhuo R, Yang Y. Using mixing solvent to synthesize temperature sensitive poly(N-isopropylacrylamide) with rapid dynamics properties[J]. Biomaterials, 2002, 23:1313-1318.
- [12] 张高奇,查刘生,周美华,等.海藻酸钠和聚N-异丙基丙烯酸胺半互穿网络水凝胶的溶胀动力学研究[J].高分子学报,2005,1:35-39.
- [13] 王飞镛,周智鹏,崔英德,等.DSC 研究大豆蛋白凝胶中水的状态[J].功能材料,2006(6):933-93.
- [14] Baba T, Shibukawa M, Heya T, et al. Liquid chromatography and differential scanning calorimetry studies on the states of water in polystyrene-divinylbenzene copolymer gels[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1010:177-184.
- [15] 易国斌,杨少华,康正,等.聚乙烯吡咯烷酮/壳聚糖共混水凝胶的制备与水的状态[J].化工学报,2006,57(11):2761-2765.