

TG酶-壳聚糖复合改性对鱼明胶凝胶特性的影响及初探

王成成, 孙婉怡, 湛胜楠, 楼乔明, 黄涛

Effects of TG Enzyme-Chitosan Composite Modification on the Characteristics of Fish Gelatin Gel and Its Preliminary Exploration

WANG Chengcheng, SUN Wanyi, ZHAN Shengnan, LOU Qiaoming, and HUANG Tao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023110200>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

鱼明胶特性及改性对其品质影响的研究进展

Research Progress on the Properties and Modification of Fish Gelatin

食品工业科技. 2021, 42(23): 385-393 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090047>

提取温度对乌鱼鱼鳞明胶功能性质和结构特性的影响

Effect of Extraction Temperature on the Functional and Structural Properties of Mullet Scale Gelatin

食品工业科技. 2024, 45(9): 83-90 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023060092>

超声预处理对亚麻籽胶-大豆分离蛋白复合凝胶凝胶特性及结构的影响

Effect of Ultrasonic Pretreatment on the Gel Properties and Structure of Flaxseed Gum-Soybean Protein Isolate Composite Gels

食品工业科技. 2024, 45(13): 83-90 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080044>

糖基化反应对鱼蛋白胶挥发性风味及凝胶性能的影响

Effect of Glycation Reaction on Volatile Flavor and Gel Properties of Fish Protein Gelatin

食品工业科技. 2024, 45(18): 103-111 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023110253>

酸/碱预处理对美洲鳗鲡 (*Anguilla rostrata*) 鱼骨明胶理化性质与凝胶特性的影响

Effects of Acidic/Alkali Pretreatment on Physicochemical Properties and Gelation Characteristics of Bone Gelatin from American Eel (*Anguilla rostrata*)

食品工业科技. 2022, 43(9): 71-78 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080130>

花椒水提物对鳊鱼鱼糜凝胶特性的影响

Effects of Aqueous Extract of *Zanthoxylum bungeanum* on Gel Properties of Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*) Surimi Gel

食品工业科技. 2023, 44(6): 113-120 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070077>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王成成, 孙婉怡, 湛胜楠, 等. TG 酶-壳聚糖复合改性对鱼明胶凝胶特性的影响及初探 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(23): 69–75.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110200

WANG Chengcheng, SUN Wanyi, ZHAN Shengnan, et al. Effects of TG Enzyme-Chitosan Composite Modification on the Characteristics of Fish Gelatin Gel and Its Preliminary Exploration[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(23): 69–75. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110200

· 研究与探讨 ·

TG 酶-壳聚糖复合改性对鱼明胶凝胶特性的影响及初探

王成成, 孙婉怡, 湛胜楠, 楼乔明*, 黄 涛*
(宁波大学食品科学与工程学院, 浙江宁波 315000)

摘要: 鱼明胶 (FG) 较差的凝胶特性限制了其在生产中的应用, 壳聚糖 (CS) 和谷氨酰胺转氨酶 (TG) 已被证明可以用于改善 FG 的凝胶特性。本研究采用 CS 和 TG 对 FG 进行改性, 制备了两种不同类型的改性明胶: FG-TG、FG-TG-CS。对比研究了两种改性方式对 FG 凝胶强度、质构特性、流变学性质、荧光强度、红外光谱和体外消化率的影响。结果表明: 单一 TG 改性和复合改性均能显著提高 FG 的凝胶强度和质构特性。CS 添加量为 0.7% 时, 复合改性的 FG 有最高的凝胶强度和硬度, 分别为 522.02 ± 0.07 g 和 11.79 ± 0.30 N。流变结果表明复合改性组有最高的粘度 ($\eta_{50} = 0.53 \pm 0.04$ mPa·s)、凝胶点 (23.04 ± 0.17 °C) 和融胶点 (31.30 ± 0.25 °C)。改性后样品荧光强度降低, 且复合修饰组有更高的荧光猝灭效率。傅里叶红外光谱红移表明复合修饰增加了体系中 α -螺旋含量, 有助于稳定胶体的形成。因此, TG-CS 复合修饰可以有效解决 FG 凝胶特性较弱的缺点。

关键词: 鱼明胶, 复合修饰, 凝胶特性, 结构特性

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)23-0069-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110200

本文网刊:



Effects of TG Enzyme-Chitosan Composite Modification on the Characteristics of Fish Gelatin Gel and Its Preliminary Exploration

WANG Chengcheng, SUN Wanyi, ZHAN Shengnan, LOU Qiaoming*, HUANG Tao*

(College of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315000, China)

Abstract: The poor gel properties of fish gelatin (FG) limit its application in production. Chitosan (CS) and glutamine transaminase (TG) have been proved to be able to improve the gel properties of FG. In this study, TG and CS were used to modify FG, producing two kinds of modified gelatin: FG-TG and FG-TG-CS. The effects of two modification methods on the strength, texture characteristics, rheological properties, fluorescence intensity, infrared spectrum and *in vitro* digestibility of FG gel were compared. The findings revealed that both single and complex modifications could greatly improve the gel strength and textural qualities of FG. As CS addition was 0.7%, the complex modified FG had the highest gel strength and hardness, which were 522.02 ± 0.07 g and 11.79 ± 0.30 N, respectively. Rheological results revealed that the complex modified gelatin had the maximum viscosity ($\eta_{50} = 0.53 \pm 0.04$ mPa·s), gelling points (23.04 ± 0.17 °C), and melting points (31.30 ± 0.25 °C). Modification decreased the fluorescence intensity of the samples and complex modification showed higher fluorescence quenching effectiveness. Fourier transform infrared spectroscopy redshift indicated that the complex modification boosted the α -helix content in the system, stabilize the formation of colloids. Thus, the TG-CS complex modification effectively solve the shortcomings of weak gelling properties.

收稿日期: 2023-11-21

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目 (LGN21C200008); 宁波市青年科技创新领军人才项目 (2023QL038); 宁波市青年博士创新项目 (2023J380)。

作者简介: 王成成 (1999-) (ORCID: 0009-0008-5496-3853), 女, 硕士, 研究方向: 水产品贮藏与加工, E-mail: 840186929@qq.com。

* 通信作者: 楼乔明 (1981-) (ORCID: 0000-0001-9812-0534), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品贮藏与加工, E-mail: louqiaoming@nbu.edu.cn。

黄涛 (1987-) (ORCID: 0000-0003-4384-7060), 男, 博士, 特聘研究员, 研究方向: 水产品贮藏与加工, E-mail: cdhuangtao@163.com。

Key words: fish gelatin; complex modification; gel properties; structural characteristics

鱼明胶(Fish gelatin, FG)由鱼类加工副产物如鱼皮、鱼骨、鱼鳞等制备而成。因其具有与哺乳动物明胶相似的功能特性,被认为是一种潜在、优良的哺乳动物明胶替代物^[1-3]。近年来随着鱼类加工业的快速发展,产生的大量鱼类加工副产物能够为鱼明胶的生产提供充足的原料。但由于原料的种类差异使得鱼明胶脯氨酸、羟脯氨酸含量比哺乳动物明胶低,导致了鱼明胶的凝胶特性和结构特性较哺乳动物明胶弱,使得鱼明胶在生产应用中受限^[4]。因此,如何改善鱼明胶的凝胶特性已经成为当下的研究热点之一。目前,鱼明胶的改性技术主要有酶法改性(微生物-转谷氨酰胺酶, Transglutaminase, TG)、酪氨酸酶和漆酶改性)、化学改性(磷酸化、醛、酚改性)、物理改性(添加电解质或非电解质物质)和复合改性(酶或化学法修饰明胶-多糖体系)^[2,5]。在这些修饰方法中,酶修饰、外源物质的添加和复合修饰的修饰效率远高于其他方法。然而,上述三种改性方法对 FG 的凝胶和结构性能的研究仍缺乏全面的研究^[6]。

壳聚糖(Chitosan, CS)又称脱乙酰甲壳素,是自然界中唯一的阳离子多糖,主要从甲壳类生物如虾、蟹的壳中提取,具有良好生物相容性、抗菌和成膜性^[7]。谷氨酰胺转氨酶(TG)是一种具有高生物安全性、高催化效率和温和条件(广泛的温度和 pH 适应性)的酰基转移酶,常被用于催化蛋白质的大分子接枝和交联^[2,7]。二者常被应用于蛋白质功能特性(凝胶性、成膜性)的改善。Rui 等^[8]研究发现,CS 能提升没食子酸/壳聚糖/明胶复合膜的力学性能,使复合膜具有更好的拉伸强度。胡亚云等^[9]研究发现随着 CS 浓度的增加,没食子酸/壳聚糖/明胶复合水凝胶的弹性和硬度也逐渐增大。Mao 等^[10]发现 TG 修饰后的 A 型明胶具有稳定的三螺旋状结构,凝胶网络结构更为紧密。Wang 等^[11]也发现了类似结果, TG 修饰的明胶-碳酸钙薄膜复合膜的力学性能、流变学性能、热稳定和微观结构均有显著改善。但是有关 TG 和 CS 复合修饰对 FG 凝胶特性和流变特性的影响依然研究较少。因此,本文主要研究 CS 和 TG 复合改性对 FG 凝胶特性和流变特性的影响,并结合结构特性分析其改性机制,以期为制备高品质(高凝胶特性、融胶温度和粘度)鱼明胶产品的研发提供技术支撑和理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鱼明胶 凝冻值 200 g, 分子量为 10~220 kDa, 蛋白含量 88.14%±1.57%, 灰分含量 4.78%±0.03%, 水分含量 7.93%±0.63%, 购自于源叶生物科技有限公司(中国上海);壳聚糖 捷瑞生物工程有限公司(中国上海);谷氨酰胺转氨酶(100 U/g) 一鸣生物技术公司(中国太湖);其余化学试剂均为分析纯。

TA.XT Plus 质构仪 英国 Stable Micro Systems 公司;DHR-2 流变仪 美国 TA Instrument Inc 公司;ML104/02 型电子天平 上海梅特勒-托利多仪器有限公司;DK-S22 型电热恒温水浴箱 上海精宏实验设备有限公司上海;TU-1810 UV-Vis 分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;F-4700 日立荧光分光光度计 日本日立高新技术公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 称取适量的壳聚糖(CS)粉末溶于 1wt% 的醋酸溶液中,得到 0、0.1%、0.3%、0.5% 和 0.7%(w/v)的 CS 溶液,并使用 1 mol/L 的氢氧化钠将 CS 溶液的 pH 调节至 5.6。称取适量 FG 颗粒加入 CS 溶液中,40 °C 下连续搅拌 2 h,得到 FG 溶液浓度为 6.67%(w/v)的 FG-CS 溶液^[12]。向复合溶液中加入 0 和 0.005%(w/v)的 TG 酶,40 °C 下催化交联 40 min,100 °C 下加热 5 min 灭酶,分别得到 FG-TG、FG-TG-CS_{0.1%}、FG-TG-CS_{0.3%}、FG-TG-CS_{0.5%}、FG-TG-CS_{0.7%} 复合凝胶。使用 pH 调节至 5.6 的 1wt% 的醋酸溶液配制浓度为 6.67%(w/v)的 FG,配制过程同上,不加 CS 与 TG,得到 FG 组明胶。

1.2.2 凝胶强度及 TPA 的测定 使用质构仪对样品的凝胶强度和质构特性进行测定。移取 15 mL 样品溶液至 25 mL 烧杯中,10 °C 孵育 16~18 h。选用 P/0.5 型号探头,选取穿刺距离为 4 mm 时的最大受力为样品的凝胶强度。测前、测试和测后速度均为 1 mm/s^[3]。

移取 45 mL 样品溶液至 50 mL 模具中,10 °C 下孵育 16~18 h。将凝胶从模具中取出,切成直径 2.2 cm、高 2 cm 的圆柱体。使用探头 P/50 测定凝胶的 TPA,形变量为 50%,测前、测试和测后速度均为 1 mm/s,测试循环 2 次^[13]。

1.2.3 色差测定 Huang 等^[13]的方法,使用色差计对凝胶的色泽进行测定,记录 L^* 、 a^* 和 b^* 值。其中, L^* 值代表白度,指样品的透明情况; a^* 值为正代表样品偏红,为负代表样品偏绿; b^* 值为正代表样品偏黄,为负代表样品偏蓝。

1.2.4 流变学性质测定 使用 DHR-2 流变仪测定明胶的流变学性质,夹具为 60 mm 的平板, gap 值为 1000 μm ,加入样品后以石蜡油密封。剪切速率范围为 0.01~1000 s^{-1} ,借助 Power law 和 Herschel-Bulkley 流体模型分析明胶溶液的流体特性^[14]。

$$\text{Power law: } \tau = \kappa \dot{\gamma}^n$$

$$\text{Herschel-Bulkley: } \tau = \tau_0 + \kappa \dot{\gamma}^n$$

式中: τ 是剪应力 (mPa); κ 是一致性系数 (mPa·s); $\dot{\gamma}$ 是剪切速率 (1/s); n 是流动行为指数; τ_0 是屈服应力 (mPa)。

记录明胶在降温(40~4 ℃)和升温(4~40 ℃)阶段下储能模量(G')和损耗模量(G'')的变化,测定其凝胶温度和融胶温度。变温速率: 0.5 ℃/min; 频率: 1 Hz, 应变力: 1%^[15]。

1.2.5 内源性荧光强度测定 明胶溶液浓度为 20 mg/mL, 采用荧光分光光度计测定明胶溶液的荧光光谱。激发波长为 280 nm, 发射波长为 290~350 nm, 速度为 1200 nm/min。激发狭缝宽度为 5 nm, 发射狭缝宽度为 5 nm, 电压为 650 V^[12]。

1.2.6 傅里叶红外光谱测定 将冻干后的样品与 KBr 混合并充分研磨均匀, 制得透明薄片。使用傅里叶红外光谱仪, 以溴化钾为背景对其扫描。扫描波数 4000~500 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描次数 32^[16]。

1.3 数据处理

数据测定均于 25 ℃ 下进行, 所有实验重复三次。用 Microsoft Office Excel 2020 处理数据, 计算得平均值和标准差。用 SPSS 软件进行单因素方差分析(ANOVA), $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 凝胶强度及质构分析

凝胶强度是评价凝胶品质的重要指标之一^[17]。不同修饰方法对 FG 凝胶强度的影响如表 1 所示。未经修饰的 FG 凝胶强度最低, 两种改性方式均可显著提高 FG 的凝胶强度($P<0.05$)。且 TG-CS 复合修饰对 FG 的凝胶强度具有更好提升效果, CS 浓度为 0.7% 时凝胶强度最高。对于 FG-TG 组, TG 催化 FG 分子链之间形成 ϵ -(γ -谷氨酰基)赖氨酸共价键, 这些共价键使得 FG 的凝胶网络趋于致密从而提高 FG 的凝胶强度^[18]。而在 FG-TG-CS 组, FG 分子上带负电荷的羧基(COO⁻)在酸性溶液中可与 CS 分子上带正电荷的胺基(NH₃⁺)发生静电相互作用, 形成稳定的复合体。TG 可以催化 FG、FG-CS 和 CS 形成分子内或分子间的共价键。此外, 明胶中大量的极性基团, 如-OH、-NH₂、-C=O, 能够与壳聚糖链上的-OH、-NH₂ 形成氢键^[19]。这些均有利于增强明胶分子的网络结构, 提高其凝胶强度^[20]。此外, CS 浓度增加至 0.7% 时复合修饰的明胶具有最大的凝胶强度, 但与 CS 浓度为 0.5% 时的凝胶强度差异不显著

($P>0.05$)。这可能是由于体系中 CS 浓度过高从而使得 FG 与 CS 分子不能均匀混合形成良好的复合体系。周至纯等^[21]也研究发现过高的 CS 浓度反而降低壳聚糖/明胶复合纤维的力学性能。

质构分析可以模拟食物在口中咀嚼过程中的状态变化^[22]。从表 1 可知, 两种改性方式对 FG 的质构特性均产生了显著影响($P<0.05$), 各组样品的硬度具有与凝胶强度一致的变化趋势, TG-CS 复合修饰显著提高 FG 的硬度, 且硬度随 CS 浓度的增加而增大, 并在 CS 浓度为 0.7% 时出现最大值(11.79±0.30 N)。FG 先与 CS 通过静电相互作用结合形成 FG-CS 复合体, TG 酶进一步催化该混合体系形成分子内或分子间的共价键, 形成更为致密的胶体网络结构, 提高了 FG 的机械性能^[23]。胡亚云等^[9]研究发现随着水凝胶中 CS 浓度的提高, 可以使多酚交联的壳聚糖/明胶复合水凝胶的凝胶网络更为致密。两种改性方式均可显著提高($P<0.05$)FG 的弹性、胶着度、咀嚼性且复合修饰的提升效果更好。修饰后 FG 的黏性和粘聚性未发生显著变化。

2.2 色差

如表 2 所示, 单一的 TG 酶修饰对鱼明胶 L^* 、 a^* 、 b^* 值均没有显著改变。而 TG-CS 复合修饰后 FG 的 L^* 和 a^* 值降低, b^* 值增大。凝胶色泽的变化与 FG 分子结构的改变有关^[24]。 L^* 值与凝胶体系中微观粒子的数量和分布有关, 凝胶中聚合物的生成会导致其 L^* 值降低^[24]。TG-CS-FG 组 L^* 值降低可归因于复合修饰后凝胶体系中聚合物的数量和体积的增加。且随着 CS 浓度的增大形成更多数量的聚合物, 从而

表 2 不同修饰方法对鱼明胶色泽的影响
Table 2 Effects of different modification methods on the color of fish gelatin

组别	L^*	a^*	b^*
FG	47.00±1.75 ^b	-0.05±0.10 ^d	0.99±0.14 ^a
FG-TG	45.35±1.30 ^{ab}	-0.06±0.03 ^d	0.89±0.06 ^a
FG-TG-CS _{0.1%}	43.81±1.20 ^a	-0.14±0.08 ^{cd}	1.30±0.40 ^a
FG-TG-CS _{0.3%}	44.42±1.12 ^{ab}	-0.18±0.10 ^{bc}	1.86±0.22 ^b
FG-TG-CS _{0.5%}	44.96±2.55 ^{ab}	-0.29±0.05 ^b	2.90±0.15 ^c
FG-TG-CS _{0.7%}	42.44±0.45 ^a	-0.43±0.03 ^a	3.61±0.40 ^c

注: 同列不同字母表示差异显著($P<0.05$); 表3同。

表 1 不同修饰方法对鱼明胶凝胶强度及质构特性影响

Table 1 Various modifications methods on the gel strength and textural profile of gelatin gels

指标	FG	FG-TG	FG-TG-CS _{0.1%}	FG-TG-CS _{0.3%}	FG-TG-CS _{0.5%}	FG-TG-CS _{0.7%}
凝胶强度(g)	409.98±9.54 ^a	421.56±3.45 ^b	483.48±4.08 ^c	496.57±3.60 ^d	514.73±2.14 ^e	522.02±0.07 ^e
硬度(N)	9.17±0.22 ^a	9.54±0.45 ^a	10.78±0.13 ^b	11.01±0.58 ^b	11.70±0.28 ^c	11.79±0.30 ^c
黏性(g.sec)	-155.74±36.75 ^a	-63.42±22.80 ^b	-145.76±39.36 ^a	-153.27±8.05 ^a	-146.40±25.51 ^a	-161.06±35.43 ^a
弹性	0.94±0.01 ^a	0.98±0.08 ^c	0.96±0.01 ^b	0.96±0.01 ^b	0.96±0.01 ^b	0.95±0.01 ^b
粘聚性	0.94±0.01 ^a	0.95±0.01 ^a	0.93±0.01 ^a	0.94±0.00 ^a	0.94±0.01 ^a	0.92±0.02 ^a
胶着度(N)	8.60±0.26 ^a	9.01±0.43 ^a	10.07±0.17 ^b	10.30±0.56 ^{bc}	10.96±0.34 ^d	10.89±0.07 ^{cd}
咀嚼性(N)	8.06±0.32 ^a	8.82±0.41 ^b	9.63±0.23 ^c	9.84±0.60 ^{cd}	10.53±0.39 ^d	10.37±0.11 ^d
回复性	0.83±0.01 ^c	0.82±0.01 ^c	0.79±0.01 ^b	0.76±0.01 ^a	0.76±0.02 ^a	0.73±0.02 ^a

注: 同行不同字母表示差异显著($P<0.05$); 表4同。

使得复合凝胶的亮度进一步降低。此外,随着 CS 浓度的增大,复合凝胶形成更为致密的网络空间,不利于光线透过,这也使复合凝胶的明亮指数下降。复合修饰中 CS 的浓度会对 FG 的 a^* 值、 b^* 值产生显著影响,随 CS 的浓度增加复合凝胶的颜色朝向更绿更黄方向变化。这是由于 CS 自身呈现透明淡黄色,当 FG 与 CS 结合后使得 FG 的 a^* 值减小、 b^* 值增大,且 CS 浓度增加影响幅度增大^[25]。这与 Rui 等^[8]报道的没食子酸/壳聚糖/明胶复合膜的颜色随着体系中 CS 浓度增加而颜色加深相类似。

2.3 流变学性质

2.3.1 表观粘度 如图 1 所示,各组样品的粘度均表现出随剪切速率增加而降低的变化趋势。表明所有明胶溶液均是假塑性流体^[10,14]。原样 FG 的表观粘度最低,改性后 FG 表观粘度均增大。复合修饰组表观粘度均高于单一 TG 修饰组,FG-TG-CS_{0.7%} 有最大表观粘度。 η_{50} 值与牛顿流体、乳液等各种食品产品的感知厚度和粘性具有较好的相关性^[15]。如表 3 所示,当复合修饰组 CS 浓度为 0.3% 及以上时 η_{50} 显著高于 ($P<0.05$) FG 及单一 TG 修饰的 FG。此外,复合修饰组中样品粘度及 η_{50} 值均随 CS 浓度增加而增大。蛋白质溶液中的表观粘度与分子间相互作用/分子量的大小呈正相关^[11]。对于单一的 TG 修饰的 FG 其表观粘度的增加可以归因于 TG 催化 FG 分子内或分子间通过形成共价键产生高分子量的聚合物^[10]。对于 FG-TG-CS 组,FG 先与 CS 形成 FG-CS 复合体而后在 TG 的催化下通过生成共价键

进一步形成更高分子量的聚合物从而使得 FG 的表观粘度进一步增大^[6]。

采用 Power law 和 Herschel-Bulkley 流体模型对明胶样品进行拟合,以探究 FG-TG 和 FG-TG-CS 复合溶液的最适流体模型。如表 3 所示,所有模型的 R^2 值均 >0.99 ,表明样品与各模型均有较高相关性。复合改性后 FG 溶液的一致性系数(κ)增大,表明复合改性增加溶液体系的粘稠度,而单一 TG 修饰不会影响 FG 的粘稠度。流动行为指数 n 反映了粘度随剪切速率变化的程度。复合修饰后样品的 n 值低于原始 FG,表明复合修饰后样品表观粘度随剪切速率的衰减相对较快并表现出更显著的非牛顿流体行为^[26]。均方根误差(RMSE)被认为是线性和非线性曲线拟合中最简单、信息量最大的参数^[27]。Herschel-Bulkley 模型具有最小的 RMSE 值,表明样品的流体性质更符合 Herschel-Bulkley 流体模型。

2.3.2 温度扫描 通过测量明胶样品在升温 and 降温过程中储能模量(G')和损耗模量(G'')的变化,可以测定明胶的凝胶温度和胶融温度^[15]。如图 2 所示,各组样品在凝胶化和融化过程中 G' 和 G'' 的变化趋势基本相同。在凝胶化过程(降温扫描)的初始阶段(40 °C),各组样品的 G' 均低于 G'' ,表明此时样品处于液体状态,明胶分子为单链形态。随着温度的降低, G' 和 G'' 曲线开始上升,且 G' 曲线有更大的上升幅度而后超越 G'' 曲线,当 G' 和 G'' 交叉时对应的温度为凝胶温度^[28]。此温度下单分子链的明胶链通过离子相互作用、氢键、范德华力和疏水相互作用向三螺旋结构转变,凝胶网络结构开始出现^[17]。反之,在融胶化过程(升温扫描) G' 和 G'' 两条曲线的交叉对应的温度是胶融温度^[15]。

如表 4 所示,改性后 FG 的凝胶温度和融胶温度都出现了显著提升。其中, TG-CS 复合修饰较单一 TG 修饰表现出更高的凝胶温度、融胶温度,且随 CS 浓度的增加而升高,在 TG-CS-CS_{0.7%} 时具有最高的凝胶温度和胶融温度。由此可知,两种修饰方法均可以显著提高 FG 的热稳定性且复合修饰法有更高的提升效率。TG 可以催化 FG 分子内或分子间共价键的形成,这使得 FG 凝胶形成更紧密的网络,从而增强了 FG 的热稳定性^[29]。FG 经 TG-CS 复合修饰后,FG 与 CS 之间的离子相互作用和氢键及 TG

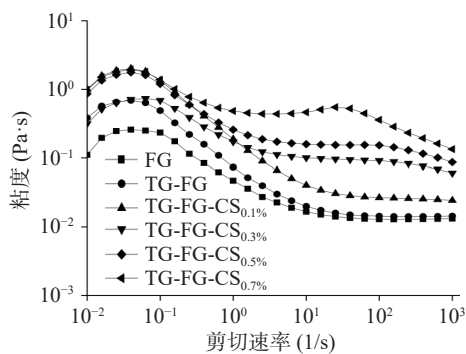


图 1 不同修饰方法修饰对 FG 表观粘度影响

Fig.1 Effect of different modification methods on the flow behaviors of FG

表 3 不同修饰方法对 FG 的 η_{50} 值的影响及与流体模型拟合结果

Table 3 Effects of different modification methods on the η_{50} value of FG and their fitting results with the fluid model

组别	$\eta_{50}(\text{mPa}\cdot\text{s})$	Power law				Herschel-Bulkley				
		RMSE	$\kappa(\text{mPa}\cdot\text{s})$	n	R^2	RMSE	$\tau_0(\text{mPa})$	$\kappa(\text{mPa}\cdot\text{s})$	n	R^2
FG	0.01 ± 0.00^a	0.03	0.01	1.01	0.99	0.01	0.03	0.01	1.02	0.99
FG-TG	0.02 ± 0.00^a	0.04	0.01	1.01	0.99	0.02	0.05	0.01	1.02	0.99
FG-TG-CS _{0.1%}	0.03 ± 0.00^a	0.10	0.03	0.95	0.99	0.08	0.10	0.03	0.97	0.99
FG-TG-CS _{0.3%}	0.09 ± 0.02^b	0.48	0.23	0.81	0.99	0.45	-0.23	0.25	0.80	0.99
FG-TG-CS _{0.5%}	0.15 ± 0.01^c	0.88	0.48	0.76	0.99	0.81	-0.48	0.53	0.74	0.99
FG-TG-CS _{0.7%}	0.53 ± 0.04^d	1.73	2.02	0.61	0.99	1.47	-1.36	2.34	0.59	0.99

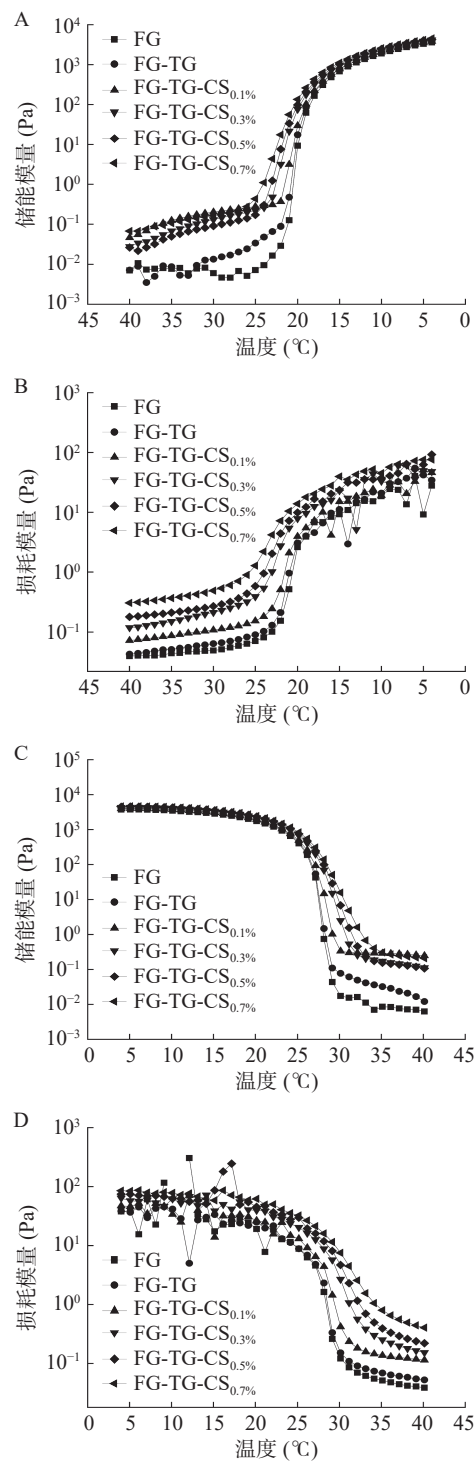


图 2 升温和降温过程中各组凝胶储能模量和损耗模量变化

Fig.2 Changes of energy storage modulus and loss modulus of each group of gel during temperature rise and fall
注: 图 A~D 分别为降温过程储能模量、降温过程损耗模量、升温过程储能模量、升温过程损耗模量。
催化形成的共价键, 使得复合凝胶具有更为致密的网

表 4 不同修饰方法对鱼明胶凝胶点及融胶点影响(℃)

Table 4 Effects of different modification methods on gelling and melting points of FG gels (°C)						
指标	FG	FG-TG	FG-TG-CS _{0.1%}	FG-TG-CS _{0.3%}	FG-TG-CS _{0.5%}	FG-TG-CS _{0.7%}
凝胶点	20.48±0.04 ^a	20.72±0.02 ^b	21.56±0.10 ^c	22.17±0.08 ^d	22.52±0.01 ^e	23.04±0.17 ^f
融胶点	27.89±0.01 ^a	28.00±0.01 ^a	28.92±0.01 ^b	30.07±0.01 ^c	30.62±0.03 ^d	31.30±0.25 ^e

络和更为紧密的分子间相互连结区。因此,在凝胶状态发生改变时,需要更多的能量来破坏/连结交联连接区,从而使得复合凝胶具有更高的凝胶温度及胶融温度^[30]。这与凝胶强度结果相一致。周志纯等^[21]和李海朝等^[31]的研究中也报道了 CS 的加入可以提升明胶的热稳定性。Chen 等^[16]和 Wang 等^[6]也在 TG-卡拉胶复合修饰鱼明胶的研究中发现相同结果,即复合修饰后 FG 热稳定性增强。

2.4 内源性荧光

如图 3 所示,未经修饰的 FG 具有最高的荧光强度,两种修饰方法均会降低 FG 的荧光强度且复合修饰有更高的荧光猝灭效率。TG 可以催化 FG 分子内和分子间交联形成的超分子结构,使得 FG 上部分酪氨酸和苯丙氨酸基团被遮蔽从而出现荧光猝灭^[32]。与 FG-TG 相比,FG-TG-CS 具有更低的荧光强度,且复合明胶荧光强度随体系中 CS 浓度增大而降低并在 FG-TG-CS_{0.7%} 处出现最低荧光强度。FG 先与 CS 之间通过离子相互作用和氢键与 CS 形成 FG-CS 络合物,而后在 TG 的催化下 FG 与 FG、FG 与 FG-CS、FG-CS 与 FG-CS 分子通过共价键进一步结合形成更大的聚合物。更高分子量聚合物的形成使得 FG 上更多荧光基团被遮蔽,因此表现出更低的荧光强度。此外,随着 CS 浓度的增大,形成更多数量 FG-CS 络合物遮蔽了更多的荧光氨基酸基团,进一步降低了复合明胶的荧光强度。

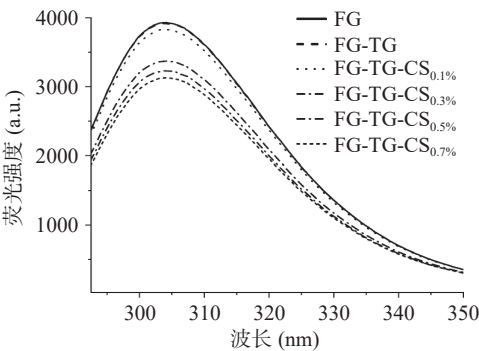


图 3 不同修饰方法修饰对鱼明胶内源性荧光强度影响
Fig.3 Effect of different modification methods on the fluorescence spectra of FG

2.5 傅里叶红外光谱

傅里叶红外光谱(FTIR)可以用于分析蛋白质分子内或分子间作用力(如氢键和疏水相互作用)的变化^[10]。酰胺 A 的峰值通常出现在 3100~3500 cm⁻¹ 的波数范围内,与分子内氢键耦合的-NH 拉伸振动有关^[15]。如图 4 所示,未经改性的 FG 酰胺 A 位于 3316.03 cm⁻¹ 处,而改性后 FG 的酰胺 A 带出显著红

移。相较单一 TG 酶改性,复合改性组出现更大红移并在 CS 浓度为 0.7% 时有最低波数。这主要是因为 FG-TG-CS 复合体之间形成了氢键。CS 上的极性基团(羟基和氨基)与 FG 的-NH 残基和-OH/-COO-基团之间可以形成较强的氢键,显著增强了凝胶网络的稳定性,使样品具有更高的凝胶强度。类似的结果也在壳聚糖/明胶/果胶和壳聚糖/明胶/苹果多酚复合物的研究中被报导^[33-34]。

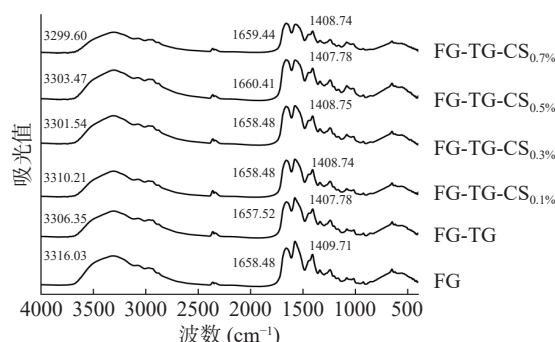


图4 不同修饰方法修饰对鱼明胶 FTIR 光谱的影响

Fig.4 Effect of different modification methods on the FTIR spectra of FG

1667 cm^{-1} 为酰胺 I 特征峰与肽键的 C=O 伸缩振动密切相关^[18]。蛋白质的二级结构可以通过相应酰胺 I 的波数(1600~170 cm^{-1})进行鉴定^[35]。1617~1642、1646~1652、1659~1662 cm^{-1} 分别对应蛋白二级结构中的 β -片段、无规卷曲和 α -螺旋^[36]。未改性 FG 的酰胺 I 峰位于 1658.48 cm^{-1} 处,改性后 FG 的酰胺 I 带出现偏移。表明改性显著改变 FG 的二级结构,这可能是由于共价键、离子间相互作用、氢键形成所导致的。复合凝胶的酰胺 I 带朝向 α -螺旋所在峰值区间移动,这可归因于 CS 与 FG 之间氢键的作用,有助于稳定水凝胶中 α -螺旋的结构,稳定胶体的凝胶网络^[3]。此外,通过拟合分析发现,单纯 FG 的无规则卷曲和 β -折叠含量分别为 23.92%±0.97%、19.43%±0.22%,复合修饰显著提高 FG 的 β -折叠含量(24.99%~30.16%),降低无规则卷曲的含量(14.02%~18.13%)。因此,复合修饰能通过增加凝胶中更有序的蛋白质的二级结构的数量来增强 FG 凝胶网络稳定性,且 TG 和 CS 对 FG 的二级结构的改善具有协同作用^[18],这与凝胶强度数据相一致。

3 结论

本研究采用 TG 和 CS 对 FG 进行改性,制备了 FG-TG、FG-TG-CS 两种复合凝胶,并对比不同改性方式对 FG 凝胶强度、质构特性、色泽、流变学性质及结构特性的影响。结果表明,单一的 TG 酶修饰与 TG-CS 复合修饰均可以显著改善 FG 的凝胶强度和质构特性,且复合改性对 FG 的凝胶强度增强效果最好,凝胶强度和硬度随 CS 浓度增加而增加,在 CS 为 0.7% 具有最高凝胶特性。流变学结果表明,改性后 FG 的表现粘度、凝胶温度及胶融温度均显著提高,表明两种改性技术均可以提升样品的粘度并

增强样品的热稳定性。这主要是因为两种改性方法均改变了 FG 的分子构象,掩埋了 FG 的荧光基团提高了凝胶中的氢键二级结构的含量,形成了更为稳定的凝胶网络结构。总之,与单纯的 TG 修饰相比, TG-CS 更能有效提高 FG 的凝胶特性、粘度和热稳定性。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] KARIM A A, BHAT R. Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(3): 563–576.
- [2] HUANG T, TU Z C, SHANGGUAN X, et al. Fish gelatin modifications: A comprehensive review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 86: 260–269.
- [3] HU Z Z, SHA X M, HUANG T, et al. Microbial transglutaminase (MTGase) modified fish gelatin-gamma-polyglutamic acid (γ -PGA): Rheological behavior, gelling properties, and structure[J]. *Food Chemistry*, 2021, 348: 129093.
- [4] HUANG T, TU Z C, WANG H, et al. Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: Rheological behavior, gel properties and nanostructure[J]. *Carbohydr Polymers*, 2017, 156: 294–302.
- [5] SHI X D, HUANG J J, WU J L, et al. Fabrication, interaction mechanism, functional properties, and applications of fish gelatin-polysaccharide composites: A review[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 122: 107106.
- [6] WANG C C, SU K Y, SUN W Y, et al. Comparative investigations of various modification methods on the gelling, rheological properties and mechanism of fish gelatin[J]. *Food Chemistry*, 2023, 426: 136632.
- [7] JIANG W, ZHOU Z, WANG D, et al. Transglutaminase catalyzed hydrolyzed wheat gliadin grafted with chitosan oligosaccharide and its characterization[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 153: 105–114.
- [8] RUI L, XIE M, HU B, et al. A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid[J]. *Carbohydr Polymers*, 2017, 173: 473–481.
- [9] 胡亚云, 张英萍, 陈琳. 多酚交联的壳聚糖水凝胶的制备及其性质研究[J]. *当代化工研究*, 2022(18): 64–66. [HU Y Y, ZHANG Y P, CHEN L. Preparation and properties of chitosan hydrogels cross-linked with polyphenols[J]. *Modern Chemical Research*, 2022(18): 64–66.]
- [10] MAO L, MA L, FU Y, et al. Transglutaminase modified type A gelatin gel: The influence of intra-molecular and inter-molecular cross-linking on structure-properties[J]. *Food Chemistry*, 2022, 395: 133578.
- [11] WANG Y, LIU A, YE R, et al. Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin-calcium carbonate composite films[J]. *Food Chemistry*, 2015, 166: 414–422.
- [12] REZAEI M, ASKARI G, EMAMDJOMEH Z, et al. Effect of organic additives on physicochemical properties and anti-oxidant release from chitosan-gelatin composite films to fatty food simulant[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 114: 844–850.

- [13] HUANG T, ZHAO H, FANG Y, et al. Comparison of gelling properties and flow behaviors of microbial transglutaminase (MT-Gase) and pectin modified fish gelatin[J]. *Journal of Texture Studies*, 2019, 50(5): 400–409.
- [14] CEN S, ZHANG L, LIU L, et al. Phosphorylation modification on functional and structural properties of fish gelatin: The effects of phosphate contents[J]. *Food Chemistry*, 2022, 380: 132209.
- [15] HUANG T, TU Z C, SHANGGUAN X, et al. Rheological behavior, emulsifying properties and structural characterization of phosphorylated fish gelatin[J]. *Food Chemistry*, 2018, 246: 428–436.
- [16] CHEN H, WU D, MA W, et al. Strong fish gelatin hydrogels enhanced by carrageenan and potassium sulfate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 119: 106841.
- [17] HU Z Z, SHA X M, YE Y H, et al. Effects of gamma-polyglutamic acid on the gelling properties and non-covalent interactions of fish gelatin[J]. *Journal of Texture Studies*, 2020, 51(3): 511–520.
- [18] CHEN H, WU D, MA W, et al. Strong fish gelatin hydrogels double crosslinked by transglutaminase and carrageenan[J]. *Food Chemistry*, 2022, 376: 131873.
- [19] QIAO C, MA X, ZHANG J, et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films[J]. *Food Chemistry*, 2017, 235: 45–50.
- [20] LIU Z, GE X, LU Y, et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 26(1): 311–317.
- [21] 周志纯, 王世伟, 孟繁亮, 等. 壳聚糖/明胶复合纤维的制备与性能[J]. 大连工业大学学报, 2020, 39(3): 198–202. [ZHOU Z C, WANG S W, MENG F L, et al. Preparation and properties of chitosan/gelatin composite fibers[J]. *Journal of Dalian Polytechnic University*, 2020, 39(3): 198–202.]
- [22] ISASCHAR-OVDAT S, DAVIDOVICH-PINHAS M, FISHMAN A. Modulating the gel properties of soy glycinin by crosslinking with tyrosinase[J]. *Food Research International*, 2016, 87: 42–49.
- [23] LIU Y, WENG R, WANG W, et al. Tunable physical and mechanical properties of gelatin hydrogel after transglutaminase crosslinking on two gelatin types[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 162: 405–413.
- [24] 刘凤华, 刘佳林, 陈浩, 等. 鱼明胶/海藻酸钠复合凝胶特性研究[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(4): 61–68. [LIU F H, LIU J L, CHEN H, et al. Research on properties of fish gelatin/sodium alginate composite gelation[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 36(4): 61–68.]
- [25] ESCÁRCEGA-GALAZ A A, SÁNCHEZ-MACHADO D I, LÓPEZ-CERVANTES J, et al. Mechanical, structural and physical aspects of chitosan-based films as antimicrobial dressings[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 472–481.
- [26] HUANG M, MAO Y, LI H, et al. Kappa-carrageenan enhances the gelation and structural changes of egg yolk via electrostatic interactions with yolk protein[J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 129972.
- [27] FANG Q, MA N, DING K, et al. Interaction between negatively charged fish gelatin and cyclodextrin in aqueous solution: Characteristics and formation mechanism[J]. *Gels*, 2021, 7(4): 260.
- [28] ZHAO H, KANG X, ZHOU X, et al. Glycosylation fish gelatin with gum arabic: Functional and structural properties[J]. *LWT- Food Science and Technology*, 2021, 139: 110634.
- [29] CHEN Y, WANG Y, LIU R, et al. Effects of microbial transglutaminase on the gelling property and *in vitro* digestibility of fish scale gelatin from grass carp[J]. *Food Bioscience*, 2023, 53: 102569.
- [30] XIN Y, CHAI M, CHEN F, et al. Comparative study on the gel properties and nanostructures of gelatins from chicken, porcine, and tilapia skin[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(5): 1936–1945.
- [31] 李海朝, 杨帅帅. 明胶/壳聚糖复合膜的制备与表征[J]. 化工新型材料, 2019, 47(2): 228–231. [LI H Z, YANG S S. Preparation and characterization of gelatin/chitosan composite film[J]. *New Chemical Materials*, 2019, 47(2): 228–231.]
- [32] HE C, HU Y, WOO M W, et al. Effect of microbial transglutaminase on the structural and rheological characteristics and *in vitro* digestion of rice glutelin-casein blends[J]. *Food Research International*, 2021, 139: 109832.
- [33] 张爱华. 壳聚糖/明胶/果胶复合材料的性能研究[D]. 天津: 天津大学, 2006. [ZHANG A H. Study on properties of chitosan/gelatin/pectin composite biomaterials[D]. Tianjin: Tianjin University, 2006.]
- [34] 石洁, 王雪嵘, 徐朝阳. 壳聚糖/明胶/苹果多酚复合膜的制备及性能研究[J]. 包装工程, 2023, 44(1): 1–6. [SHI J, WANG X R, XU Z Y. Preparation and properties of chitosan/gelatin/apple polyphenol composite films[J]. *Packaging Engineering*, 2023, 44(1): 1–6.]
- [35] ZHAO J, HE J, DANG Y, et al. Ultrasound treatment on the structure of goose liver proteins and antioxidant activities of its enzymatic hydrolysate[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(1): e13091.
- [36] SOW L C, NICOLE CHONG J M, LIAO Q X, et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin[J]. *Journal of Food Engineering*, 2018, 239: 92–103.