

超声协同 TG 酶处理乳清蛋白/马铃薯蛋白水解物复合凝胶的特性

张昊伟¹, 伍娟^{1,2}, 辛孟瑶², 石小龙², 程宇^{1,2*}

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 江苏大学食品物理加工研究院, 江苏镇江 212013)

摘要: 为开发乳清蛋白/马铃薯蛋白水解物复合凝胶, 采用质构仪、流变仪、低场核磁和扫描电镜表征超声与 TG 酶处理对凝胶性质的影响。结果表明: 超声协同 TG 酶处理凝胶的凝胶强度, 胶黏性, 回复性和咀嚼性低于对照组 ($P<0.05$), 但高于单独 TG 酶处理组 ($P<0.05$)。在超声协同 TG 酶处理凝胶样品中, 超声时间的增加, 温度循环终点时凝胶储能模量与损耗模量增加; 超声 15 和 30 min 协同 TG 酶处理样品的溶胀力相较于 TG 酶单独交联的样品提高了 11.55% 和 55.02%, 自由水含量相较 TG 酶单独交联样品分别提高了 62.22% 和 111.11%。SEM 微观结构表明, 超声处理使凝胶中蛋白分子聚集体变大, 蛋白网络致密但均一性不高; 超声协同 TG 酶处理凝胶的聚集体较小, 蛋白网络结构较为均一。研究表明超声协同 TG 酶交联会显著改变乳清蛋白/马铃薯蛋白水解物复合凝胶的性能及结构, 为复合蛋白凝胶性质的调控提供了参考。

关键词: 马铃薯蛋白水解物; 乳清蛋白; 超声; TG 酶; 复合凝胶

文章编号: 1673-9078(2023)08-148-155

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.8.0908

Gelation Properties of Whey Protein Isolate and Potato Protein Hydrolysate Composite Gel after Ultrasound and Transglutaminase Treatments

ZHANG Haowei¹, WU Juan^{1,2}, XIN Mengyao², SHI Xiaolong², CHENG Yu^{1,2*}

(1. School of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

(2. Institute of Food Physical Processing, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: To develop a novel composite gel with whey protein isolate (WPI) and potato protein hydrolysate (PPH), their mixtures were pretreated using ultrasound and transglutaminase (TGase) before gel formation. The effects of ultrasound and TGase pretreatments on the properties of the composite gel were assessed using a texture analyzer, rheometer, low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR), and scanning electron microscopy (SEM). The results show that the hardness, gumminess, resilience and chewiness of gel samples pretreated using ultrasound and TGase were lower than those of the control samples ($P<0.05$), but were higher than those of the gel samples treated with TGase only ($P<0.05$). For the ultrasound and TGase pretreated composite gel, increasing the ultrasonic pretreatment time enhanced the final storage and loss moduli of the gel at the end of the heating and cooling cycles in the rheometer. The swelling ratio of the gel samples that underwent 15- and 30-minute ultrasonic and TGase pretreatments increase by 11.55% and 55.02%, respectively, compared with that of the gel samples with only TGase pretreatments. Simultaneously, the free water content increased by 62.22% and 111.11%, respectively. The SEM images of gels with ultrasound pretreatments only demonstrate larger protein aggregates, and a dense network with low uniformity in its microstructure. Contrarily, the gels with ultrasound and TGase pretreatments exhibited small protein aggregates, and a compact and homogeneous microstructure network. In conclusion, the combination of ultrasound and TGase pretreatments significantly affects the microstructures and properties of WPI and PPH composite gels. The findings facilitate the development of novel protein gels and provide a reference for

引文格式:

张昊伟, 伍娟, 辛孟瑶, 等. 超声协同 TG 酶处理乳清蛋白/马铃薯蛋白水解物复合凝胶的特性[J]. 现代食品科技, 2023, 39(8): 148-155

ZHANG Haowei, WU Juan, XIN Mengyao, et al. Gelation properties of whey protein isolate and potato protein hydrolysate composite gel after ultrasound and transglutaminase treatments [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(8): 148-155

收稿日期: 2022-07-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32072349)

作者简介: 张昊伟 (1998-), 男, 硕士, 研究方向: 食品复合蛋白凝胶, 乳液, E-mail: zhang523796852@163.com

通讯作者: 程宇 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品蛋白质功能, E-mail: chengyu@ujs.edu.cn

adjusting the properties of composite gels.

Key words: potato protein hydrolysate; whey protein; ultrasound; TGase; composite gel

蛋白质的凝胶性可以给食品提供良好的质构,因而蛋白质凝胶的开发受到广泛关注。将动植物蛋白复合制备凝胶可以获得结构稳定、营养价值更高的新型凝胶食品^[1]。马铃薯蛋白中富含多种必需氨基酸,且含有较高比例的赖氨酸,而赖氨酸往往是其他植物蛋白所缺乏的^[2]。马铃薯蛋白质中限制氨基酸是色氨酸,而乳清蛋白是色氨酸的良好来源,所以将二者复合可以提高产品的营养价值。马铃薯蛋白难溶解于水,限制了马铃薯蛋白的应用^[3]。马铃薯蛋白水解物具有良好的溶解度,可以改善马铃薯蛋白水溶性低的缺点,且具有调节血压、抗衰老、抗氧化等生物活性^[4,5],将其与乳清蛋白结合开发蛋白复合凝胶有潜在的应用前景。

近年来,研究人员强化凝胶营养价值的同时也关注凝胶质地与感官的改善,部分研究人员选择通过物理场、化学试剂、生物酶的协同作用改变凝胶的物理特性以及微观结构^[6,7]。超声处理是常用的物理改性方法之一,其空化效应可以使蛋白质结构展开,增加表面疏水性,改变成胶过程中蛋白质的聚集状态^[8]。有研究表明超声可以显著改变凝胶的微观结构^[9]、凝胶强度、弹性和保水性等物理特性^[10],但超声的效果比较简单直接,过度超声会导致蛋白质过度聚集,不利于凝胶稳定结构的形成使凝胶质量下降^[11]。部分研究人员选择谷氨酰胺转氨酶(简称 TG,以下统称 TG 酶)作为交联剂,使蛋白分子上谷氨酰胺残基与赖氨酸残基发生交联形成高分子网络结构,改变凝胶特性^[12,13]。研究证实超声协同 TG 酶的交联相较于单一处理改变凝胶结构更显著,Ding 等^[14]发现二者的协同作用相较于单独 TG 酶交联和单独的超声作用,使植物蛋白凝胶的结构变得致密,凝胶强度和持水力变得更加稳定。Ahmadi 等^[15]发现超声协同 TG 较单独超声,乳清蛋白凝胶强度上升,持水性更加稳定。Ma 等^[16]通过超声协同 TG 酶处理得到了网状结构更加致密的蛋白凝胶。这可能是由于超声改性可以提高蛋白的溶解度^[17],有利于结构伸展并暴露基团,提高酶交联的效率^[18],从而显著影响蛋白凝胶性质^[19]。国内外较多学者对 TG 酶协同超声改善植物/动物复合蛋白凝胶性质进行了相关研究,表明超声协同酶交联可以影响蛋白聚集和凝胶结构,改善凝胶性质,但过于致密的结构会限制凝胶在消化过程中的分解和营养释放^[20],而蛋白经酶水解后的水解产物与蛋白复合可以提高复合物对热的稳定性且有助于人体吸收^[21,22],将动物蛋白与植物蛋白水解物复合可以有效弥补这一缺点。

本文以乳清蛋白和马铃薯蛋白水解物为原料,使用超声、TG 酶、超声协同 TG 酶交联手段处理复合蛋白,制备改性的复合蛋白凝胶。通过质构、溶胀和流变仪分析凝胶宏观特点,低场核磁以及扫描电镜等测试方法分析凝胶微观结构,探究不同处理方法对复合蛋白凝胶功能特性和微观结构的影响,为植物蛋白水解物在复合蛋白凝胶开发中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

马铃薯蛋白粉:陕西慈缘生物技术有限公司,蛋白含量 62.5%±1.53%、灰分 6.53%±0.19%、水分 6.82%±0.14%、淀粉 5.6%±0.08%、总糖 8.13%±0.09%;乳清分离蛋白粉:美国 Hilmar 公司,蛋白含量 90.9%;碱性蛋白酶:Alcalase 2.4L FG (2.4AU),诺维信生物技术有限公司;TG 酶:江苏一鸣生物股份有限公司;其他试剂均为分析纯,购于中国医药集团上海化学试剂公司。

1.2 主要设备与仪器

发散式三频超声设备,江苏江大五棵松生物科技有限公司;KW-1000DC 恒温水浴锅,江苏中大仪器厂;KMO-2B 磁力搅拌器,德国艾卡(IKA)仪器设备有限公司;FE-20 型 pH 计,瑞士 Mettler Toledo 公司;WCR-8 加热制冷循环器,大韩科学株式会社;TA.XTPlus 食品物性测试仪,英国 Stable Micro Systems 仪器公司;NMI20-030 V-I 核磁共振分析仪,苏州纽迈分析仪器股份有限公司;DHR-1 旋转流变仪,美国 TA 仪器公司;Avanti J-25 贝克曼冷冻离心机,美国贝克曼库尔特公司。

1.3 实验方法

1.3.1 马铃薯蛋白水解物的制备

马铃薯蛋白水解物的制备参考刘运^[23],使用碱性蛋白酶水解马铃薯蛋白,马铃薯蛋白浓度为 40 g/L,酶底比为 1:100,并维持 pH 值为 8.0 酶解 120 min,酶解结束后将酶解液 pH 值调至 7.0,于溶液沸水浴 10 min 灭酶离心取上清液,冷冻干燥后制得马铃薯蛋白水解物。水解物蛋白含量为 61.81%,其他常见组分含量如下:灰分 12.69%、水分 8.93%、淀粉 0.54%、总糖 4.09%。

1.3.2 不同处理条件复合凝胶的制备

本课题组前期实验为蛋白质量浓度 100 g/L 乳清蛋白与蛋白质量浓度为 0、10、20、30、40、50 g/L 的马铃薯蛋白水解物复合制备凝胶,通过质构仪测定得到复合蛋白凝胶强度最佳组合为:100 g/L 乳清蛋白与 30 g/L 的马铃薯蛋白水解物混合,凝胶强度为 174.39 g。

取一定量的乳清蛋白和马铃薯蛋白水解物,倒入蒸馏水制得蛋白质量浓度为 100 g/L 的乳清蛋白与 30 g/L 的马铃薯蛋白水解物复合溶液,制备好的溶液封装放入超声波反应釜中。超声条件参考王萌^[24],20/35 kHz 超声频率交替工作,每种频率工作 5 s,超声时间分别为 0、15、30 min。将超声后的样品分两部分,一部分不做处理,一部分加入 TG 酶 30 U/g,50 °C 环境下蛋白溶液与 TG 酶交联反应 1 h,将所有样品于模具中密封,90 °C 水浴加热 30 min,放于 4 °C 冰箱中过夜,制得复合蛋白凝胶。将超声 0 min,不加入 TG 酶交联的凝胶设置为对照组。

1.3.3 质构测定

样品质构分析方法参考毛超^[25]并加以修改,使用 TA.XTPlus 食品物性测试仪进行全质构测定,探头型号选择 P/0.5,探头下降和上升的速度均为 1 mm/s,样品形变程度为 30%,触发力为 3.0 g。参数与前期实验内容保持一致。

1.3.4 流变测定

方法参考 Cheng 等^[26],使用流变仪分析热诱导复合蛋白凝胶过程流变特性,模具选择同心圆筒模具,不加入 TG 酶的样品,温度循环具体程序参数为:初始温度 25 °C,以 5 °C/min 升温至 90 °C;保温时间 30 min,降温至 25 °C,保温 5 min。TG 酶交联的样品程序初始为 50 °C 保温 1 h,后续同上。所设应变值在蛋白凝胶的线性黏弹区内。

在温度循环程序结束后,使用旋转流变仪对凝胶进行频率扫描测试,方法参考 Min 等^[27],温度为 25 °C,频率 0.1~100 Hz,应变 0.5%。

1.3.5 溶胀性测定

将 5 g 凝胶放入自封袋(扎孔,让水分自由通过),浸没于 50 mL 体积的 10 mmol/L 磷酸缓冲液中,室温下膨胀。按时取出(0.5、1、2、3、4、5、6、24、25 h),用滤纸吸去多余水分称质量。测定溶胀率(Swelling Ratio, SR)公式如下:

$$SR = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

SR——溶胀率, %;

M_1 ——凝胶初始质量, g;

M_2 ——凝胶膨胀后的质量, g。

1.3.6 持水力测定

方法参考 Amiri 等^[28],选择尖底 50 mL 离心管,底部加入脱脂棉球(离心过程吸收水分),凝胶使用双层滤纸包好,2 000 r/min 离心 10 min。根据以下公式计算持水力(Water Holding Capacity, WHC):

$$WHC = \frac{m_2}{m_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

WHC——持水力, %;

m_1 ——凝胶初始的质量, g;

m_2 ——离心后凝胶的质量, g。

1.3.7 水分分布测定

方法参考 Yan 等^[29],参数设置:探头选择为 40 mm 探头,采样频率为 200 kHz,质子共振率为 21 MHz,等待时间 TW 为 6 000 ms,重复扫描 4 次,得到指数衰减图形,使用 MultiExpInv Analysis Software 分析进行反演得到弛豫图谱。

1.3.8 扫描电镜观察

参考 Cheng 等^[26],将凝胶切成 5 mm×5 mm×5 mm 大小, $\varphi=2.5\%$ 戊二醛溶液浸泡固定 6 h,使用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值为 7.0)洗涤三次,使用浓度梯度的乙醇进行脱水处理(30%、50%、70%、80%、90%、95%、98%)。脱水后于通风橱内风干,干燥后的样品放于贴有导电胶的导电台上,表面喷金,于扫描电子显微镜下观察凝胶微观结构(加速电压为 15 kV)。

1.4 数据分析

进行 3 次重复试验,每个重复实验在不同时间进行,应用 SPSS.26 对数据进行分析以及显著性进行对比($P<0.05$),绘图使用 Sigma Plot 14.0 软件。

2 结果与讨论

2.1 复合凝胶的质构特性

表 1 为复合凝胶的质构结果,可得超声时间对凝胶强度无显著性影响,加入 TG 酶交联得到的三组凝胶(超声 0、15、30 min)强度,胶黏度和咀嚼度显著下降。这一趋势与 Gharibzahedi 等^[30]归纳的研究现状相反,可能是本次研究对象部分为马铃薯蛋白水解物,与一般研究情况下的植物蛋白有较大差异。回复性指凝胶经过挤压后回复的能力,超声 15 min 协同 TG 酶较 TG 酶单独处理样品回复性提高了 22.63%;胶黏度和咀嚼性是凝胶强度的补充参数,其趋势大致

相似, 超声 15 min 协同 TG 酶交联较单独 TG 酶样品胶黏度提高了 31.82%, 其中胶黏度表示的是半固体的分解变化趋势, 在凝胶指标中更具代表性, 胶黏度低的样品更利于咀嚼吞咽^[31]。不同处理方法对凝胶内聚

性与弹性无显著影响。凝胶的质构特性直接影响食物的口感, 也是吞咽困难饮食划分的重要依据之一, 根据 Yoshika 等^[32]引用的食品吞咽等级划分, 本次实验 TG 酶交联后制备的凝胶属于易吞咽食品。

表 1 不同处理条件下复合凝胶的质构分析

Table 1 Texture profile analysis of composite gels with different process

处理方法	测试参数					
	强度/g	胶黏度/g	回复性/%	咀嚼性/g	内聚性/%	弹性/%
对照组	171.39±14.71 ^a	161.17±12.87 ^a	64.55±2.61 ^a	164.94±7.32 ^a	0.89±0.19 ^a	95.12±0.89 ^a
超声 15 min	174.43±10.48 ^a	151.78±15.21 ^a	61.85±2.35 ^a	154.27±8.19 ^a	0.87±0.19 ^a	84.87±3.09 ^a
超声 30 min	177.08±6.0 ^a	156.35±4.24 ^a	63.05±1.5 ^a	158.91±9.11 ^a	0.89±0.02 ^a	94.79±0.70 ^a
TG 酶	63.67±13.04 ^c	58.92±10.47 ^c	49.75±2.43 ^b	62.93±1.1 ^c	0.87±0.01 ^a	95.31±1.62 ^a
超声 15 min+TG 酶	88.85±11.89 ^b	77.67±10.77 ^b	61.01±2.43 ^a	74.49±13.6 ^b	0.87±0.01 ^a	97.46±1.96 ^a
超声 30 min+TG 酶	56.47±9.14 ^c	44.95±4.16 ^c	50.33±1.68 ^b	59.01±5.65 ^c	0.87±0.11 ^a	94.55±0.31 ^a

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 复合凝胶的流变分析

2.2.1 温度扫描

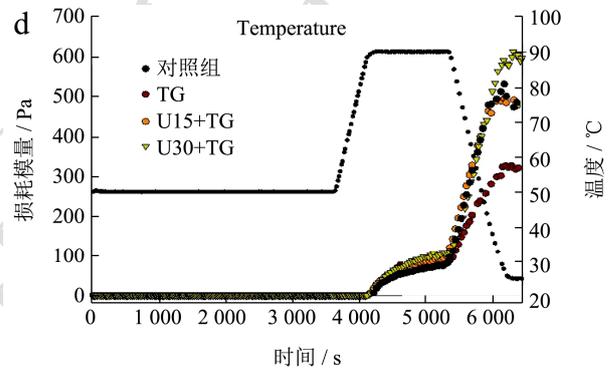
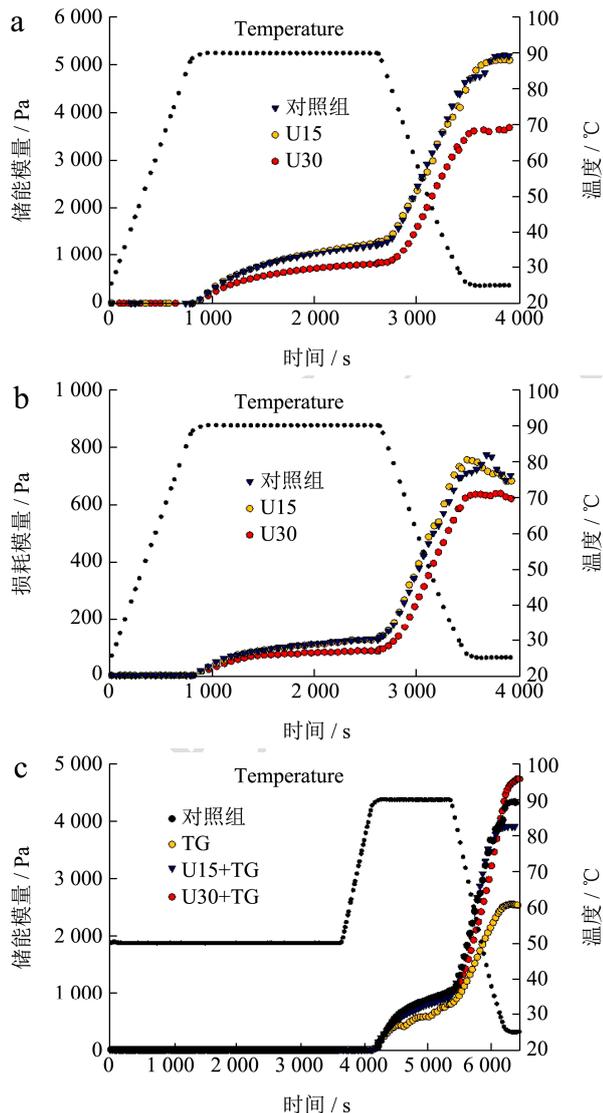


图 1 不同处理条件下复合凝胶的温度扫描

Fig.1 The temperature sweep of composite gels with different process

注: a 为超声时间对凝胶储能模量的影响; b 为超声时间对凝胶损耗模量的影响; c 为超声协同 TG 酶交联对凝胶储能模量的影响; d 为超声协同 TG 酶交联对凝胶损耗模量的影响。

质构测得的数据较为直观, 但是在凝胶成胶过程中的特性难以表现, 而流变数据中储能模量和损耗模量是表征食品强度、弹性和黏合特性的重要指标之一^[33], 可以在不同时间段反映凝胶特性的变化。图 1 为不同处理方式制备凝胶的温度扫描结果, 所有凝胶的模量在 90 °C 以下时均无显著性提高, 表明此阶段样品均保持溶液状态, 蛋白之间的相互作用较弱, 未形成凝胶。在 90 °C 高温加热阶段, 凝胶储能模量和损耗模量增长速度较快, 表明在高温条件下, 蛋白质分子结构被破坏, 疏水基团暴露, 疏水作用力增强, 凝胶网络开始形成。在降温阶段, 各个样品的储能模量和损耗模量均急剧增加, 凝胶强度显著性增强, 可能是在形成凝胶的过程中共价键和非共价键也逐渐形成, 二硫键和氢键等与蛋白分子侧链的静电排斥力相平衡, 凝胶的网络结构较为牢固^[25]。在 25 °C 保温阶段样品

模量均趋于稳定, 对比最终模量可得, 超声 30 min 条件下制备的凝胶模量显著性降低, 原因可能是长时间的超声产生了过量的空化效应, 破坏肽键, 破坏了非共价相互作用, 影响了凝胶性能^[34]。加入 TG 酶交联的凝胶, 模量发生了显著性降低, 这一研究结果与秦新生^[17]、张晴晴^[35]的研究结果相反, 但通过超声的协同作用, 样品模量显著性提高, 其中超声 30 协同 TG 酶交联的样品模量达到最高, 可能是长时间超声处理给予的空化效应使底物中蛋白粒径减小, 增加了蛋白-水的互相作用^[36]。

2.2.2 频率扫描

以储能模量和损耗模量的频率函数对复合蛋白凝胶进行频率扫描, 结果表明所有凝胶的模量随着剪切频率增加而增加, 过程中储能模量不为零且始终大于损耗模量, 所有凝胶具有一定的黏性特征, 模量变化的趋势与温度循环的结果大致一致, 与对照组相比, 超声与经过 TG 酶制备的凝胶模量均降低, 表明凝胶结构得到弱化^[37], 超声协同 TG 酶交联相较于 TG 酶单独交联样品, 储能模量显著提高, 此时凝胶结构增强。

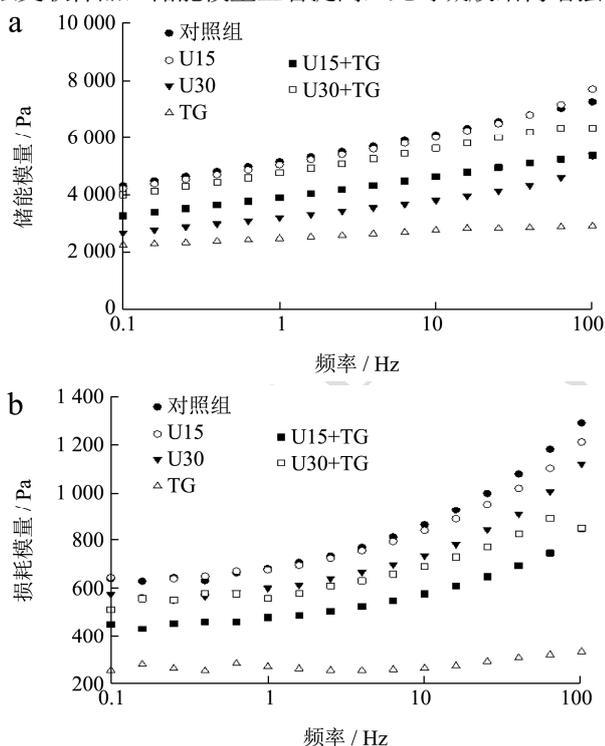


图2 不同处理条件下复合凝胶的频率扫描

Fig.2 The frequency sweep of composite gels with different process

注: a: 频率扫描下凝胶的储能模量; b: 频率扫描下凝胶的损耗模量。

2.3 复合凝胶的溶胀性分析

凝胶的溶胀动力学可以理解成溶剂分子扩被动扩

散到凝胶体系空隙中, 而凝胶的网络结构, 可以有效地吸收溶剂, 使得凝胶体积和质量大幅度增加^[38]。图3表明不同处理条件下复合凝胶的溶胀特性, 随着浸泡时间的增加凝胶溶胀率逐渐升高, 表明所有样品的凝胶结构都能吸收溶剂并保留一定水分子。对照组与超声的样品溶胀能力较好, 在超声 15 min 和 30 min 条件下, 凝胶的溶胀率分别提高了 8.92%和 15.79%。而加入 TG 酶凝胶样品溶胀力相较于对照降低了 58.77%, 但超声协同的作用会增加凝胶的溶胀力, 超声 15、30 min 协同 TG 酶交联的样品, 溶胀力相较于单独交联的样品提高了 11.55%、55.02%。可能是因为 TG 酶的结合会使得复合蛋白凝胶网络结构变得更加致密, 使得凝胶中间间隙变小^[39], 降低了其溶胀性; 超声协同的空化效应改变了凝胶的网络结构, 提高了凝胶的溶胀性^[40]。凝胶的溶胀性质与凝胶网络结构相关, 这与毛超等^[25]的研究结果相似, 强度越高的样品, 凝胶网络结构发生变化, 溶胀率变高。

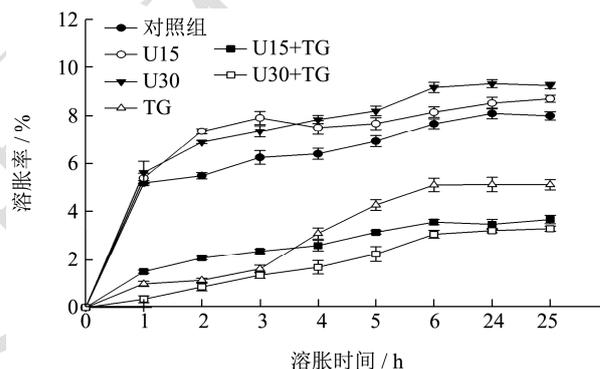


图3 不同处理条件下复合凝胶溶胀性分析

Fig.3 Swelling property analysis of composite gel with different process

2.4 复合凝胶的水分分布

从图4可得, 凝胶在弛豫时间内有4个峰, T21与T22(0~10 ms)为结合水, 此部分为乳清蛋白与马铃薯蛋白水解物紧密结合的水分; T23(10~1 000 ms)为不可移动水, 此部分以半结合状态存在凝胶网络中; T24(1 000~10 000 ms)为自由水^[41]。从表2可得, 六组样品97%以上为不可移动水, 表明复合凝胶中的水分主要以不可移动水存在。结合水数据分析得, 相比于对照组, 超声 15 和 30 min 使凝胶结合水含量分别提高了 45.56%和 17.15%, 表明超声使蛋白质相互作用变强, 凝胶网络结构改变, 导致凝胶中水分迁移, 部分不可移动水转换为结合水; 超声协同 TG 酶交联的时间越长, 自由水含量越高, 超声 15 和 30 min 协同 TG 酶较单独 TG 酶处理样品, 自由水含量分别提高了 62.22%和 111.11%, 与质构数据对比可得, 自由

水含量与质构特性呈负相关, 凝胶强度更低时, 对不可移动水分束缚力减弱。结果表明超声协同 TG 酶的交联作用使凝胶网络结构发生变化, 不可移动水部分析出, 自由水含量变高。

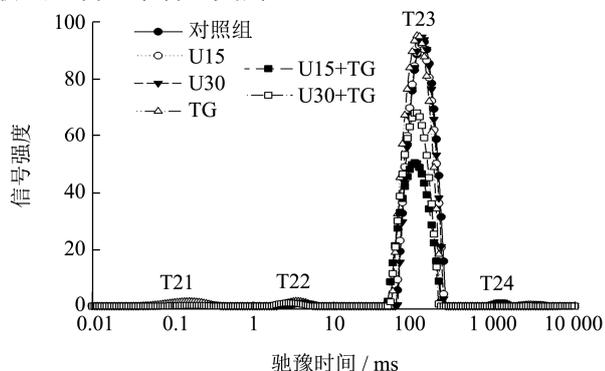


图 4 不同处理条件对复合蛋白凝胶的水分分布影响

Fig.4 Effect of conditions on water distribution of complex protein gel with different process

表 2 不同处理条件制得的复合凝胶的弛豫参数

Table 2 Relaxation parameters of complex protein gel with different process

组别	T21-T22/%	T23/%	T24/%
对照组	1.69±0.33 ^{bc}	98.15±0.43	0.159±0.12 ^c
超声 15 min	2.46±0.32 ^a	97.51±0.34	0.11±0.01 ^c
超声 30 min	2.04±0.36 ^a	97.61±0.35	0.32±0.06 ^c
TG 酶	1.38±0.37 ^c	98.17±0.33	0.45±0.31 ^{bc}
超声 15 min+TG 酶	1.67±0.09 ^{bc}	97.60±0.82	0.73±0.14 ^{ab}
超声 30 min+TG 酶	1.49±0.28 ^{bc}	97.56±0.46	0.95±0.32 ^a

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.5 复合凝胶的持水力分析

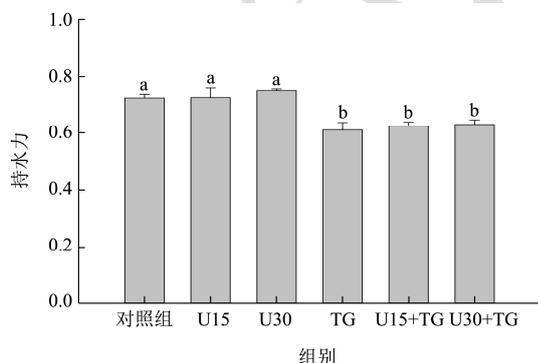


图 5 不同处理条件对复合蛋白凝胶持水性的影响

Fig.5 Effect of different process on water holding capacity of complex protein gel

持水性是反应蛋白质与水分子之间的相互作用的重要指标^[42], 可作为水分分布的补充数据, 不同处理方式制得的复合蛋白凝胶持水力分析如图 5 所示, 超声 15 min 与超声 30 min 与对照组比较, 可以得出超

声处理对凝胶的持水力并无显著性改变。而在加入 TG 酶交联后制备的样品持水力显著性下降, 相对于对照组, TG 酶交联, 超声 15 和 30 min 协同 TG 酶交联的样品持水力分别下降了 15.84%、13.89%、12.64%, 结合水分分布中数据分析得, 这三组样品自由水含量更高, 代表凝胶网络结构发生改变, 其不可移动水束缚力较弱, 使得持水力降低。

2.6 复合凝胶的微观结构

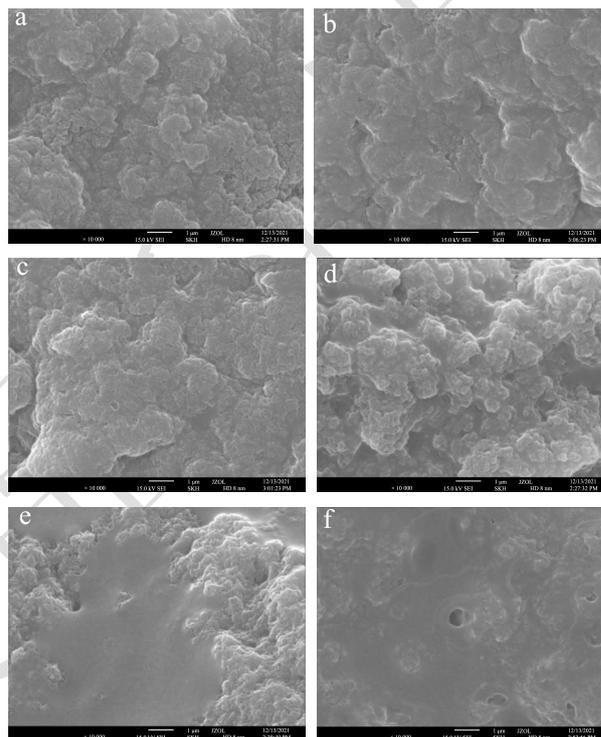


图 6 不同处理条件下复合凝胶的扫描电子显微镜图像

Fig.6 Scanning electron microscope images of protein gel with different process

注: a 对照组; b 超声 15 min; c 超声 30 min; d TG 酶交联; e 超声 15 min 协同 TG 酶交联; f 超声 30 min 协同 TG 酶交联。

不同处理条件对复合凝胶微观结构影响如图 6 所示, 对照组凝胶表面呈堆积紧凑的不规则小份聚集状, 超声 15 min 的凝胶样品表面部分聚集融为较大块状聚集, 超声 30 min 的凝胶样品聚集更大, 蛋白网络致密但均一性不高, 表明超声波的空化作用会影响复合蛋白间的聚集状态。经过 TG 酶交联, 分子聚集显得更加立体, 可能是 TG 酶的交联作用促进了分子间共价键和二硫键的形成, 使蛋白聚集变得更加复杂^[17]。超声 15 min 协同 TG 酶交联处理的凝胶表面聚集体变得更小, 出现部分较为光滑的面; 超声 30 min 协同 TG 酶交联的样品, 凝胶表面有均一的小分子蛋白聚集, 整体呈光滑平整, 且出现了一些不规则圆孔, 原

因可能是超声的空化作用使蛋白结构展开,降低了蛋白分子之间的相互作用,暴露出更多的赖氨酸残基等活性基团,更加利于谷氨酰胺转氨酶的交联作用^[43],形成致密的凝胶结构。

对比 6 组微观图可得,超声处理时间会对蛋白聚集体产生影响,TG 酶协同超声会产生更紧凑的蛋白聚集,延长超声时间,使乳清蛋白结构发生改变,这一结论与王莹^[44]、Ahmadi 等^[15]研究内容一致。微观结构的改变可以解释凝胶宏观性质的变化,经过超声协同 TG 酶交联的凝胶,蛋白聚集体变得更加复杂,聚集状态的变化改变了凝胶质构特性,如强度,胶粘度相较于单独超声样品显著性降低。超声协同 TG 酶的处理还使凝胶表面出现了一些光滑的面,这可能影响了凝胶的吸水特性,降低了凝胶溶胀率。凝胶网络结构与水分子间的关系则通过水分分布和持水力进行了表达,超声 15、30 min 协同 TG 酶产生的光滑面以及不规则圆孔的特殊结构影响了持水力,结合水和自由水含量。

3 结论

试验主要研究了超声与 TG 酶的交联对乳清蛋白/马铃薯蛋白水解物复合凝胶的影响,质构结果发现超声对乳清蛋白复合凝胶质构无显著影响,TG 酶会弱化凝胶,而超声 15 min 协同 TG 酶相较于单独 TG 酶处理,凝胶性能发生显著提高,强度、胶黏度和咀嚼性显著上升。流变仪数据表明,温度循环和频率扫描程序过程均为储能模量大于损耗模量,表明凝胶的弹性占主导;分析温度循环终点储能模量与损耗模量可得,通过改变超声协同 TG 酶的时间,可以控制复合凝胶的流变特性。低场核磁结果表明,随着超声协同 TG 酶时间的增加,自由水含量占比也显著提高,这表明超声协同 TG 酶处理时间会影响凝胶水分分布。微观形态观察表明,超声协同 TG 酶交联使凝胶表面蛋白聚集体变少,结构更加光滑,进一步证明了超声协同 TG 酶改变凝胶网络空间结构,影响凝胶的物理特性。本次研究为超声协同 TG 酶交联改性凝胶性质提供了新思路,在一定程度上对乳清蛋白/马铃薯蛋白水解物复合凝胶开发与应用提供了理论依据。

参考文献

- [1] Wu C, Wang T, Ren C, et al. Advancement of food-derived mixed protein systems: Interactions, aggregations, and functional properties [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 627-651.
- [2] Waglay A, Karboune S. Chapter 4-Potato Proteins: Functional Food Ingredients [M]// Singh J, Kaur L. *Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition)*. San Diego: Academic Press, 2016: 75-104.
- [3] Mao C, Wu J, Cheng Y, et al. Physicochemical properties and digestive kinetics of whey protein gels filled with potato and whey protein mixture emulsified oil droplets: Effect of protein ratios [J]. *Food & Function*, 2021, 12(13): 5927-5939.
- [4] Udenigwe C C, Udechukwu M C, Yiridoe C, et al. Antioxidant mechanism of potato protein hydrolysates against *in vitro* oxidation of reduced glutathione [J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 20: 195-203.
- [5] Akbari N, Milani J M, Biparva P. Functional and conformational properties of proteolytic enzyme-modified potato protein isolate [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(3): 1320-1327.
- [6] Liang X, Ma C, Yan X, et al. Structure, rheology and functionality of whey protein emulsion gels: Effects of double cross-linking with transglutaminase and calcium ions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105569.
- [7] Luo N, Ye A, Wolber F M, et al. Structure of whey protein emulsion gels containing capsaicinoids: Impact on in-mouth breakdown behaviour and sensory perception [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 92: 19-29.
- [8] Zhang T, Wang J, Feng J, et al. Ultrasonic pretreatment improves the gelation properties of low-salt penaeusvannamei (*Litopenaeus vannamei*) surimi [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 86: 106031.
- [9] 李杨,刘宝华,姜楠,等.超声处理对黑豆蛋白凝胶性能的影响[J].*中国食品学报*,2017,17(1):161-169.
- [10] 刘鑫硕.超声处理马铃薯蛋白和蛋清蛋白混合凝胶性质研究[D].北京:中国农业科学院,2021.
- [11] Sun Y, Ma L, Fu Y, et al. The improvement of gel and physicochemical properties of porcine myosin under low salt concentrations by pulsed ultrasound treatment and its mechanism [J]. *Food Research International*, 2021, 141: 110056.
- [12] Gaspar A L C, De Góes-Favoni S P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review [J]. *Food Chemistry*, 2015, 171: 315-322.
- [13] 王小花,章绍兵,娄丽丽.转谷氨酰胺酶交联对食物蛋白改性作用的研究进展[J].*粮食与油脂*,2018,31(3):9-11.
- [14] Ding X, Zeng N, Zhang G, et al. Influence of transglutaminase-assisted ultrasound treatment on the structure and functional properties of soy protein isolate [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019, 43(11): e14203.
- [15] Ahmadi Z, Razavi S M A, Varidi M. Sequential ultrasound and transglutaminase treatments improve functional,

- rheological, and textural properties of whey protein concentrate [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2017, 43: 207-215.
- [16] Ma Z, Li L, Wu C, et al. Effects of combined enzymatic and ultrasonic treatments on the structure and gel properties of soybean protein isolate [J]. *Lwt - Food Science and Technology*, 2022, 158: 113123.
- [17] 秦新生.物理预处理-TG 酶交联复合改性对大豆与小麦蛋白凝胶性质的影响研究[D].合肥:合肥工业大学,2017.
- [18] 邹晶.超声-TG 酶交联改性对小麦面筋蛋白及酵母协同酶解特性研究[D].广州:华南理工大学,2018.
- [19] Gao H, Xu J, Tan M, et al. Effect of high-intensity ultrasound soymilk pretreatment on the physicochemical properties of microbial transglutaminase-catalyzed tofu gel [J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(6): 2410-2420.
- [20] Hu H, Zhu X, Hu T, et al. Effect of ultrasound pre-treatment on formation of transglutaminase-catalysed soy protein hydrogel as a riboflavin vehicle for functional foods [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 182-193.
- [21] 吴胤鑫,王洋,郑贵中,等.NaCl、糖类和木瓜蛋白酶对碱诱导蛋清凝胶性的影响[J].*现代食品科技*,2022,38(1):256-263.
- [22] Jakubczyk A, Karaś M, Rybczyńska-Tkaczyk K, et al. Current trends of bioactive peptides - new sources and therapeutic effect [J]. *Foods*, 2020, 9(7): 846.
- [23] 刘运.超声预处理促进马铃薯蛋白酶解机理及影响其水解物模拟消化的研究[D].镇江:江苏大学,2017
- [24] 王萌.多模式超声对乳清蛋白功能及其消化产物抗氧化性质的影响[D].镇江:江苏大学,2019.
- [25] 毛超.马铃薯乳清复合蛋白制备乳液及其填充乳清蛋白凝胶物理化学性质及消化行为研究[D].镇江:江苏大学,2020.
- [26] Cheng Y, Ofori Donkor P, Yeboah G B, et al. Modulating the in vitro digestion of heat-set whey protein emulsion gels via gelling properties modification with sequential ultrasound pretreatment [J]. *LWT*, 2021, 149: 111856.
- [27] Min C, Ma W, Kuang J, et al. Textural properties, microstructure and digestibility of mungbean starch - flaxseed protein composite gels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 126: 107482.
- [28] Amiri A, Sharifian P, Soltanizadeh N. Application of ultrasound treatment for improving the physicochemical, functional and rheological properties of myofibrillar proteins [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 111: 139-147.
- [29] Yan J N, Zhang M, Zhao J, et al. Gel properties of protein hydrolysates from trypsin-treated male gonad of scallop (*Patinoptecten yessoensis*) [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90: 452-461.
- [30] Gharibzahedi S M T, Roohinejad S, George S, et al. Innovative food processing technologies on the transglutaminase functionality in protein-based food products: Trends, opportunities and drawbacks [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 75: 194-205.
- [31] Park H S, Kim D K, Lee S Y, et al. The effect of aging on mastication and swallowing parameters according to the hardness change of solid food [J]. *Journal of Texture Studies*, 2017, 48(5): 362-369.
- [32] Yoshioka K, Yamamoto A, Matsushima Y, et al. Effects of high pressure on the textural and sensory properties of minced fish meat gels for the dysphagia diet [J]. *Food and Nutrition Sciences*, 2016, 7(9): 732.
- [33] 刘鑫硕,刘倩楠,刘伟,等.马铃薯蛋白与蛋清蛋白混合凝胶特性分析[J].*食品科学*,2022,43(2):34-40.
- [34] Huang L, Ding X, Li Y, et al. The aggregation, structures and emulsifying properties of soybean protein isolate induced by ultrasound and acid [J]. *Food Chemistry*, 2019, 279: 114-119.
- [35] 张晴晴.谷氨酰胺转氨酶对乳清蛋白的结构及功能特性影响研究[D].呼和浩特:内蒙古工业大学,2021.
- [36] Malik M A, Sharma H K, Saini C S. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2017, 39: 511-519.
- [37] 朱建华,邹秀容.超声处理及添加蔗糖对明胶/变性淀粉共混体系溶胶-凝胶转变过程流变性质的影响[J].*现代食品科技*,2019,35(6):84-91.
- [38] Gunasekaran S, Xiao L, Ouldeleya M M. Whey protein concentrate hydrogels as bioactive carriers [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2006, 99(5): 2470-2476.
- [39] Cui Q, Wang X, Wang G, et al. Effects of ultrasonic treatment on the gel properties of microbial transglutaminase crosslinked soy, whey and soy-whey proteins [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2019, 28(5): 1455-1464.
- [40] Ringgenberg E, Alexander M, Corredig M. Effect of concentration and incubation temperature on the acid induced aggregation of soymilk [J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30(1): 463-469.
- [41] 龚维,吴磊燕.刺槐豆胶对冷冻面团水分分布及面包品质的影响[J].*现代食品科技*,2019,34(12):67-73.
- [42] 徐聪,栗俊广,张旭玥,等.不同木薯淀粉对冻融魔芋葡甘聚糖凝胶特性的比较分析[J].*现代食品科技*,2022,38(5):145-151.
- [43] 李杨,马召蕾,郑丽,等.超声联合酶处理下TG酶交联大豆分离蛋白凝胶特性研究[J].*农业机械学报*,2022,53(4):394-402.
- [44] 王莹.超声谷氨酰胺转氨酶制备核桃蛋白凝胶及其缓释效果研究[D].北京:北京林业大学,2020.