

王崑, 杨领, 李学鹏, 等. TG 酶对金线鱼鱼糜 3D 打印效果的影响[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(6): 74-81.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.06.011

TG 酶对金线鱼鱼糜 3D 打印效果的影响

王崑¹, 杨领², 李学鹏², 励建荣², 仪淑敏², 谢晶³, 王轰⁴, 劳敏军⁵

1. 渤海大学实验中心, 锦州 121013; 2. 渤海大学食品科学与工程学院/

辽宁省食品安全重点实验室/生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 锦州 121013;

3. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 4. 蓬莱京鲁渔业有限公司, 烟台 264010;

5. 浙江兴业集团有限公司, 舟山 316101

摘要 以金线鱼鱼糜为研究对象, 从表观粘度和流变特性(输送难易程度)、打印效果(外观形貌、定型性)、鱼糜制品特性三个方面研究了 TG 酶对金线鱼鱼糜 3D 打印效果的影响。结果表明, 随 TG 酶添加量的增加, 金线鱼鱼糜的凝胶强度、弹性、持水性呈先上升后下降的趋势, 当 TG 酶添加量为 0.2% 时均达到最高值, 分别较对照组提高了 70.88%、25.01%、9.72%。鱼糜内部的不易流动水相对含量在 TG 酶添加量为 0.2% 时达到最高, T_{23} 峰比例为 0.97。金线鱼鱼糜的表观粘度、屈服应力、稠度以及流变特性随着 TG 酶添加量的上升逐渐增强, 而流动性随之减弱, 其中 TG 酶添加量为 0.4% 时表观粘度达到最高, 损耗模量和损失正切的最大值出现在添加量为 0.2% 处。在 TG 酶添加量为 0.2% 时, 样品的表面较为完整和设定模型较为匹配, 鱼糜丝之间的连贯性和粘连程度较高。综上, 当 TG 酶添加量为 0.2% 时, 3D 打印金线鱼鱼糜凝胶制品效果最佳。

关键词 金线鱼; 鱼糜; 3D 打印; TG 酶; 凝胶性能; 流变特性

中图分类号 TS 254.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2020)06-0074-08

谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TG 酶)根据来源不同可分为组织谷氨酰胺转氨酶和微生物谷氨酰胺转氨酶, 被称为“21 世纪超级黏合剂”, 可通过催化蛋白多肽链上的酰基转移反应, 来促进蛋白质之间的交联形成一种致密的网状结构, 又称为凝胶结构^[1]。

目前, 关于利用 TG 酶来改善凝胶特性的研究有很多。郝凤霞等^[2]研究了不同添加量的 TG 酶对肉燕品质的影响, 研究表明分别在肉燕中添加 0、0.25%、0.50%、0.75% 的 TG 酶后, 随着 TG 酶添加量上升, 样品的感官评定和相关性质都得到改善; 程琳丽等^[3]以罗非鱼为原料, 通过添加不同含量的 TG 酶, 研究其保水性的变化, 研究表明经过 TG 酶处理过的罗非鱼在浸泡后增重率均大于 6.5%, 当 TG 酶的添加量为 0.6% 时增重率最高为 8.04%, 解冻率最低为 3.4%, 相比于其他组保水率最高。Dong 等^[4]研究了 TG 酶对马鲛鱼 3D 打印效果的影响, 表明当 TG 酶添加量为 0.2%、0.3% 时, 马鲛

鱼鱼糜的表观黏度较符合 3D 打印, 随着 TG 酶添加量的上升, 马鲛鱼鱼糜的硬度、黏附性逐渐升高。

本研究从表观黏度和流变特性(输送难易程度)、打印效果(外观形貌、定型性)、鱼糜制品特性 3 个方面分析了 TG 酶对金线鱼鱼糜 3D 打印特性的影响, 以为蛋白凝胶体系的 3D 打印提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金线鱼鱼糜(AA 级), 青岛锦灿食品有限公司; TG 酶(酶活 120 U/g), 泰兴市东盛食品科技有限公司; 尿素、 β -巯基乙醇, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 质量分数 25% 戊二醛, 分析纯, 天津市福晨化学试剂厂; 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠和无水乙醇, 分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司。

1.2 仪器与设备

UMC5 斩拌混合乳化多功能一体机, 德国 Stephan 机械有限公司; Biofuge Stratos 型高速冷冻离

收稿日期: 2020-09-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972107); 辽宁省“兴辽英才计划”青年拔尖人才项目(XLYC1907040; XLYC1807133)

王崑, 硕士, 实验师, 研究方向: 食品检测与分析, E-mail: wwll812002@163.com

通信作者: 仪淑敏, 博士, 教授, 研究方向: 水产品贮藏加工与食品安全, E-mail: yishumin@163.com

心机,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;MCR302 流变仪,奥地利 Anton Paar 公司;UV-2550 紫外可见分光光度计,岛津仪器(苏州)有限公司;TA.XT.Plus 型质构仪,英国 Stable Micro System 公司;FJ200-SH 数显高速分散均质机,上海标本模型厂;FSE23D 打印机,昆山博力迈 3D 打印科技有限公司;INMI20 型核磁共振成像,上海纽迈电子科技有限公司。

1.3 试验方法

1)鱼糜浆料的制备及 3D 打印参数。将鱼糜从 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出,静水解冻。解冻后将鱼糜切成长方体状(长约 10 cm,宽约 5 cm,高约 5 cm),放入斩拌混合乳化多功能一体机中,0.06 MPa 真空度条件下斩拌 3 min,加入质量分数 1.5% 的 NaCl 溶液继续在 0.06 MPa 真空度条件下斩拌 3 min,调节水分含量至 80%,并添加 TG 酶(0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%),在 0.06 MPa 真空度条件下斩拌 3 min;斩拌过程中温度始终低于 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$,将鱼糜取出存放至蒸煮袋中。3D 打印之后将样品放置在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 12 h 后备用。

设定打印参数为:喷嘴直径为 1.5 mm,层高值为 1.5 mm,打印高度为 5 mm,打印速率为 30 mm/s,打印温度在 $35\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$,出料速率在 $0.003\text{ cm}^3/\text{s}$ 。打印后不需加热。

2)凝胶强度的测定^[5]。样品前处理:将样品切为直径 2.5 cm、高 2.5 cm 的圆柱体,于室温下放置 30 min 后,于 TA-XT plus 型物性分析仪上利用凝胶强度分析模式进行测定。每组样品(TG 酶添加量分别为 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%),做 10 次平行试验。

参数:探头型号 P/5S(球形探头直径 5 mm),测定速率 1 mm/s,穿刺距离 15 mm,触发力 10 g。

3)质构的测定。样品前处理同本文“1.3 2)”。采用 TPA 模式测定参数设定:探头型号 P/50,测定速率 1 mm/s,形变程度 30%,压力为 5 g,以此来测得打印材料的质构特性。

4)表观黏度和静态剪切流变的测定。样品前处理同本文“1.3 2)”。表观黏度参数设定:时间设置为 60 s,温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,固定剪切速率为 1 s^{-1} ,平板直径为 20 mm,间隙为 1 mm;以此来测定打印材料的表观黏度,每个样品做 5 次平行,取平均值。静态剪切流变的测定:设定温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,采用直径为 20

mm 平板,在 1 mm 的间隙下和 $0.1\sim 150\text{ s}^{-1}$ 扫描范围的剪切速率对静态剪切流变曲线进行测定。通过 Herschel-Bulkley 的数学模型对数据进行整合计算,方程为:

$$\tau = \tau_0 + K\gamma^n \quad (1)$$

公式(1)中剪切应力(τ)、屈服应力(τ_0)、剪切速率(γ)、指流动指数(n)、稠度系数(K)是衡量材料非牛顿流体性质的重要条件。

5)动态剪切流变的测定。样品前处理同本文“1.3 2)”。将处理后的样品置于室温中稳定 30 min 后进行测定,设定温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,采用直径为 40 mm 的平板,间隙为 1 mm,应变设置为 0.2%,将扫描频率设置为 $0.1\sim 10\text{ Hz}$,在此参数下对样品进行动态流变曲线的测定。

6)持水性的测定^[5]。样品前处理同本文“1.3 2)”。将样品切成 5 mm 薄片,准确称量 m_1 ,用 3 层滤纸包好后将样品放入 50 mL 离心管中,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下 5 000 r/min 离心 15 min 后取出,精确称质量 m_2 。每组样品做 4 次平行试验。持水性的计算公式如下。

$$\text{持水性} = m_2/m_1 \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中, m_1 为样品离心前质量; m_2 为样品离心后质量。

7)凝胶水分分布状态分析^[5]。样品前处理同本文“1.3 2)”。样品放置于室温下 30 min 后,制成高 30 mm、直径 10 mm 的圆柱体放入核磁管,采用 Carr-Purcell-Meiboom-Gill(CPMG)脉冲序列进行自旋-自旋弛豫时间(T_2)的测定。

参数设定:SW = 100 kHz, SFI = 22 MHz, P90 = 14 μs , τ = 150 μs , TR = 2 000 ms, Echocnt = 4 000, NS = 8。

8)打印效果。将样品放入打印机料斗,利用 Host 软件进行参数设定并进行打印。

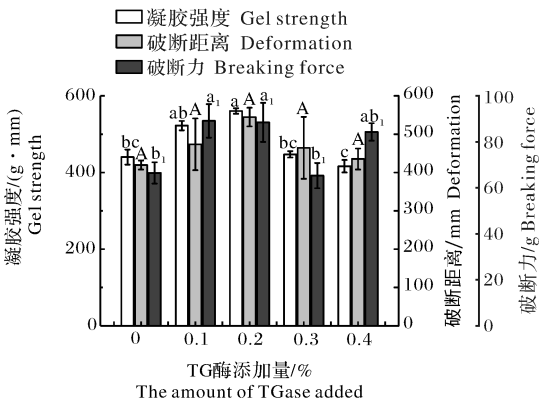
1.4 数据分析

每个指标进行 6 组平行试验,利用 SPSS 19.0 软件进行数据分析处理,利用 Origin 2018 软件作图。

2 结果与分析

2.1 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料凝胶强度的影响

由图 1 可知,随 TG 酶添加量的增加,样品的凝胶强度和破断力呈先上升后下降的趋势,对于鱼糜凝胶的破断距离无显著性影响($P > 0.05$);在 TG 酶添加量为 0.2% 时,凝胶强度最高为 $475.59\text{ g} \cdot \text{mm}$,较对照组凝胶强度($278.32\text{ g} \cdot \text{mm}$)提高了 70.88%。



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Different lowercases indicate significant differences ($P < 0.05$). The same as below.

图 1 不同 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜凝胶强度的影响
Fig.1 Effects of different additive of TGase on the gel strength of *Nemipterus virgatus* surimi

表 1 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜质构特性的影响

Table 1 Effects of different additive of TGase on the texture of *Nemipterus virgatus* surimi

TG 酶添加量 / % The amount of TGase added	硬度 / g Hardness	弹性 Springiness	胶着度 Adhesiveness	黏聚性 Cohesiveness	咀嚼度 / g Chewiness
0	340.58 ± 75.20c	0.72 ± 0.130b	252.03 ± 48.57a	0.74 ± 0.029bc	181.46 ± 25.44a
0.1	698.92 ± 49.36b	0.80 ± 0.120ab	523.50 ± 42.26a	0.75 ± 0.031bc	418.80 ± 34.20ab
0.2	742.72 ± 28.79b	0.90 ± 0.091a	594.18 ± 74.30b	0.80 ± 0.018b	534.76 ± 20.28bc
0.3	1 117.3 ± 40.87a	0.87 ± 0.085a	860.32 ± 89.29c	0.77 ± 0.019a	748.48 ± 85.01d
0.4	1 317.3 ± 89.41a	0.86 ± 0.110a	961.63 ± 90.03b	0.73 ± 0.028c	827.00 ± 90.70cd

2.3 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料持水性的影响

由图 2 可知,浆料的持水性随着 TG 酶添加量的增加,呈先上升再下降的趋势,在 TG 酶添加量为 0.2% 时达到最高,相比于对照组提高了 9.72%,表明添加一定量的 TG 酶可以改善浆料内部凝胶系统的持水性。

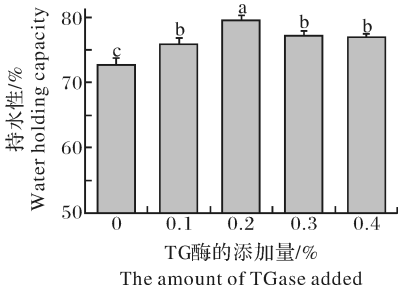


图 2 不同 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜持水性的影响
Fig.2 Effects of different additive of TGase on the WHC of *Nemipterus virgatus* surimi

2.4 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料内部水分分布的影响

由图 3 和表 2 可以看出,TG 酶对于浆料内部的 T_{21} 单分子层水并无显著性影响,浆料的 T_{22} 结

2.2 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料质构特性的影响

在 3D 打印中,材料本身的性质决定了样品的最终打印效果。如表 1 所示,随 TG 酶添加量的上升,鱼糜的硬度、胶着度、咀嚼度呈上升趋势;弹性、黏聚性随 TG 酶添加量的上升而逐渐增加,在 TG 酶添加量为 0.2% 时开始下降 ($P > 0.05$)。在 TG 酶添加量为 0.4% 时硬度最高,胶着度和咀嚼度在 TG 酶添加量为 0 时最低;弹性、黏聚性和浆料与凝胶强度的研究相符合(在 TG 酶添加量为 0.2% 时最高),因为 TG 酶催化了蛋白内酰基的转移,使浆料内部的共价交联增强,促进了分子的聚集,提高了浆料的凝胶强度。随着 TG 酶添加量逐渐上升,浆料的固体性质越强,其原因是 TG 酶促进了蛋白质之间的交联,在 TG 酶添加量过高时,鱼糜内部的共价键饱和形成,网状结构更加紧致。

合水含量均高于对照组,可能是由于 TG 酶促进浆料内部的大分子聚集体增多,与之结合的水分占比上升; T_{23} 不易流动水的占比呈先上升后下降的趋势,和本文“2.3”持水性的研究结果相符合,在 TG 酶添加量为 0.2% 时, T_{23} 不易流动水的占比为最高,相比于对照组提高了 3.19%。

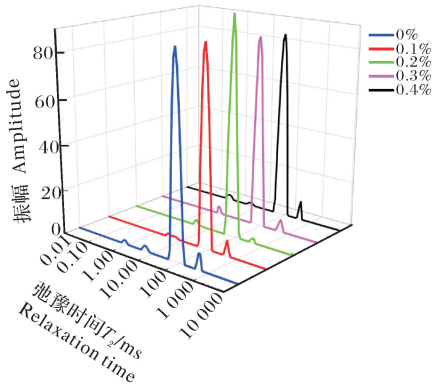


图 3 不同 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜弛豫时间的影响
Fig.3 Effects of different additive of TGase on the relaxation time of *Nemipterus virgatus* surimi

表 2 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜水分分布的影响

Table 2 Effects of different additive of TGase on the moisture distribution of *Nemipterus virgatus surimi*

TG 酶添加量/% The amount of TGase	T_{21} 峰比例 Peak ratio of T_{21}	T_{22} 峰比例 Peak ratio of T_{22}	T_{23} 峰比例 Peak ratio of T_{23}	T_{24} 峰比例 Peak ratio of T_{24}
0	$0.015\ 8\pm0.001\ 7a$	$0.004\ 0\pm0.000\ 4a$	$0.940\pm0.004b$	$0.031\ 0\pm0.003\ 3a$
0.1	$0.017\ 8\pm0.001\ 8a$	$0.014\ 6\pm0.000\ 4b$	$0.950\pm0.017ab$	$0.019\ 0\pm0.002\ 5ab$
0.2	$0.013\ 0\pm0.004\ 5a$	$0.011\ 0\pm0.000\ 8b$	$0.970\pm0.012a$	$0.010\ 0\pm0.001\ 3b$
0.3	$0.017\ 5\pm0.001\ 3a$	$0.010\ 3\pm0.000\ 4b$	$0.950\pm0.018ab$	$0.023\ 0\pm0.001\ 1ab$
0.4	$0.015\ 3\pm0.009\ 1a$	$0.094\ 0\pm0.000\ 5b$	$0.940\pm0.016b$	$0.029\ 0\pm0.002\ 9a$

2.5 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料表观黏度的影响

由图 4 可见,鱼糜浆料在恒定剪切速率的条件下,表观黏度随着 TG 酶添加量的上升而上升,在添加量为 0.4% 时达到最高。由表 3 可见,随着 TG 酶的添加量上升,鱼糜浆料的屈服应力显著增加。

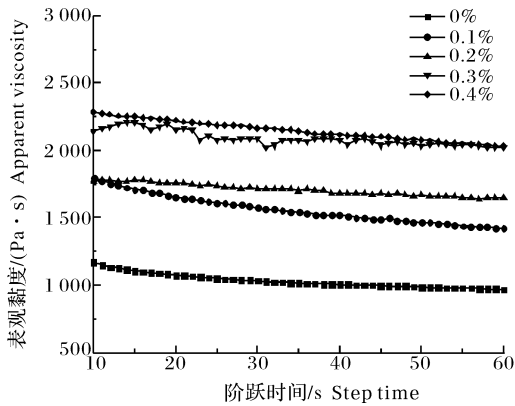


图 4 不同 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜表观黏度的影响

Fig.4 Effects of different additive of TGase on the viscosity of *Nemipterus virgatus surimi*

表 3 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜 Herschel-Bulkley 参数的影响

Table 3 Effects of different additive of TGase on the Herschel-Bulkley parameters of *Nemipterus virgatus surimi*

TG 酶添加量/% The amount of TGase added	τ_0	K	n	R^2
0	$319.46\pm4.48a$	$118.04\pm1.05a$	$0.54\pm0.02e$	0.997
0.1	$378.94\pm3.30b$	$146.99\pm2.10b$	$0.50\pm0.04d$	0.998
0.2	$441.36\pm1.67c$	$173.15\pm1.10c$	$0.48\pm0.02c$	0.995
0.3	$496.51\pm2.35d$	$203.69\pm2.02d$	$0.42\pm0.05b$	0.994
0.4	$507.19\pm3.87e$	$256.97\pm4.11e$	$0.36\pm0.06a$	0.996

于减小浆料内部的损耗模量,TG 酶催化蛋白疏水基团的交联,提高了浆料的黏度,其损失正切($\tan\delta$)较高说明浆料呈黏性特质且对浆料的流动性无不良影响。

2.7 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料打印效果的分析

如图 6 所示,在 TG 酶添加量为 0 时,可以看出鱼糜丝在打印过程中有较多的断裂,样品的表面有多处凹陷,层与层之间的结合度较低,阶梯化现象较

2.6 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料流变特性的影响

由图 5 可见,鱼糜浆料的弹性模量(G')均高于损耗模量(G''),表明样品被施加一定剪切力后,其稳定性不会遭到破坏,有利于 FDM3D 打印中的样品沉积成型。随着 TG 酶添加量的上升,金线鱼鱼糜凝胶系统的弹性模量(G')呈上升趋势,而损耗模量(G'')和损失正切($\tan\delta$)先上升至 TG 酶添加量为 0.2% 时达到最高再下降。弹性模量(G')表达了鱼糜浆料的弹性,如图 5A 所示,随着 TG 酶添加量的上升,鱼糜浆料的弹性越来越高;在 3D 打印过程中浆料的弹性越大,其流动性越差。而损耗模量(G'')表达了鱼糜浆料的黏性。如图 5B 所示,鱼糜浆料在添加 TG 酶后,损耗模量(G'')变大,且在 TG 酶添加量为 0.2% 时,样品的损耗模量(G'')最大。

如图 5C 所示,全部鱼糜浆料的损失正切($\tan\delta$)小于 1,表明浆料存在一定的刚性且具有类固体特征;而浆料损失正切($\tan\delta$)的变化趋势与损耗模量(G'')的变化趋势一致,表明添加 0.2% 的 TG 酶有助

为严重。随着 TG 酶添加量的上升,鱼糜浆料的表观黏度和凝胶强度有所改善。样品表面的塌陷情况基本消失,阶梯化现象在 TG 酶添加量为 0.3% 和 0.4% 的样品中较为严重,与 TG 酶添加量为 0.1% 的相比,添加量为 0.2% 时表面的鱼糜丝相互之间契合度较高,表面更加完整光滑,打印复原模型的程度较高。综上,在 TG 酶添加量为 0.2% 时,3D 打印效果最佳。

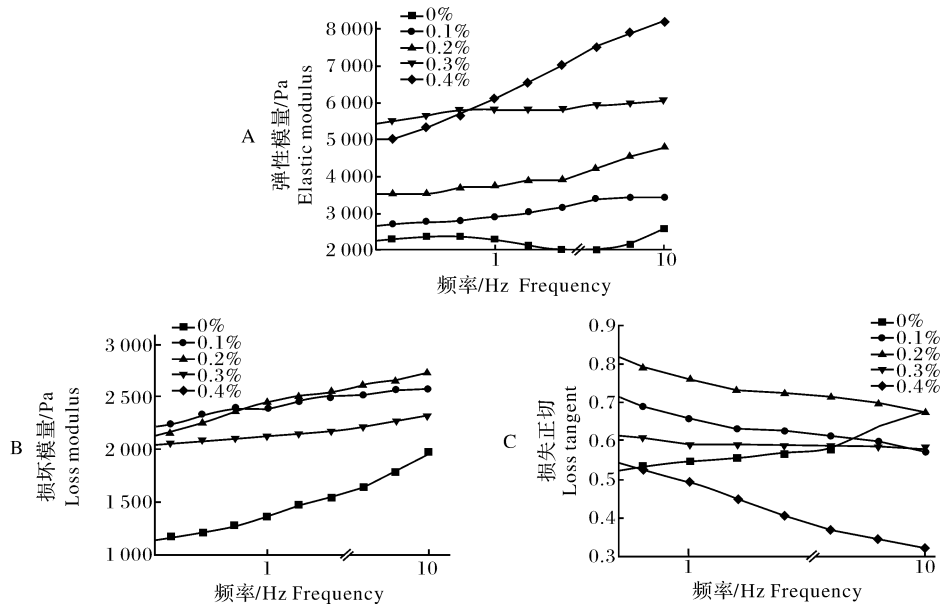


图 5 不同 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜流变特性的影响

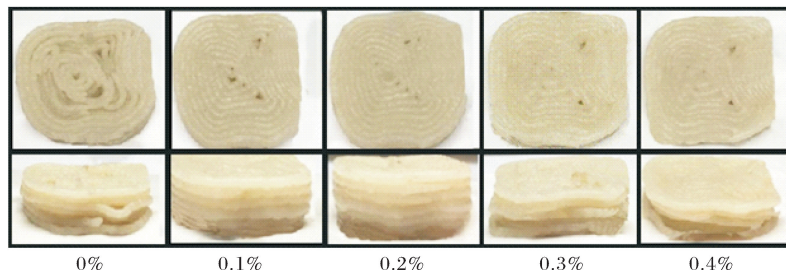
Fig.5 Effects of different additive of TGase on the dynamic rheological properties of *Nemipterus virgatus* surimi

图 6 不同 TG 酶添加量对金线鱼鱼糜 3D 打印效果的影响

Fig.6 Effects of different additive of TGase on the 3D printing of *Nemipterus virgatus* surimi

3 讨论

3.1 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料凝胶强度的影响

在鱼糜 3D 打印的过程中,螺旋杆不断地旋转将物料向外挤压,而物料在被挤压的同时会因为螺旋杆旋转时产生的一系列剪切力发生剪切稀化,这种现象是指随着螺杆剪应率的不断升高,浆料的黏度逐渐减小,在此过程中鱼糜抵抗其他应力作用的平衡应力降低^[6],在此过程中,温度有所升高,可能会导致蛋白质变性,使得鱼糜与螺旋杆以及喷嘴之间的阻力增大,导致了鱼糜的流动性减弱,降低了打印的精度和效果。凝胶强度是衡量鱼糜品质的重要指标^[7]。在 3D 打印过程中,鱼糜内部的肌球蛋白双螺旋解开,并发生交联形成一种网状结构(凝胶结构);网状结构增加了鱼糜的体积,减少了鱼糜和螺旋杆和喷嘴之间的一系列剪切力。物料分子的聚集

程度高可以减少剪切稀化对打印的影响^[8-9]。因为鱼糜丝是通过自身重力和流体力学的作用在成型板上进行沉积成型,鱼糜内部凝胶结构的形成减少了鱼糜丝在成型过程中损耗的势能,因此,样品在沉积过程中不易发生塌陷^[6]。样品凝胶强度随 TG 酶添加量变化的原因可能是由于鱼糜丝在打印过程中受热,蛋白质大分子热运动加剧,蛋白上的双螺旋结构延展开,并在 TG 酶的催化作用下蛋白质上的残基(如 Gln 残基和 Lys 残基)进行交联,从而提高了凝胶强度,这与 Sakamoto 等^[10]的研究相符;而随着 TG 酶添加量的增大,凝胶强度开始下降,这是因为蛋白基团交联时所需要的共价键数目具有饱和性,当 TG 酶的含量过大时,过度的交联在一定程度上破坏了凝胶结构的稳定性,导致凝胶强度下降。

3.2 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料质构特性的影响

硬度表示鱼糜浆料在受到外力发生形变时对外

力的抵抗能力^[11]。在 3D 打印的过程中,物料的硬度越大,与螺旋杆和喷嘴之间的剪切力就越大,样品挤出的流畅性减小,剪切稀化的现象越严重,物料的黏度就越低。在 TG 酶添加量为 0.4% 时硬度最高,表明 TG 酶对于样品的硬度有升高的作用,其原因可能是 TG 酶促进了鱼糜内部的蛋白质共价交联,使鱼糜内部的大分子数量上升,这种大分子一般是由共价键相连的网状结构,同时在 TG 酶添加量增大时,鱼糜内部的共价键数量上升,鱼糜浆料内部的共价键数目增加使内部的大分子聚集趋于稳定,因此,物料的硬度上升^[12]。在物料斗内鱼糜浆料被螺旋杆不断地施加剪切力,浆料的胶着度和咀嚼度越高,螺旋杆在螺旋挤压的过程中的阻力越大,造成机器的损耗和鱼糜浆料势能的损失也越大。样品的胶着度和咀嚼度在 TG 酶添加量为 0 时最低,其原因可能是鱼糜浆料内的蛋白质分子在进行斩拌后双螺旋被打开,使物料呈现出一种溶胶状态,在这种状态下的鱼糜浆料具有较好的流动性,其剪切应力和剪切应变率呈非线性关系^[13],而在添加 TG 酶后这些蛋白质残基被交联形成大的分子聚集体,浆料内的共价键增多增强了鱼糜的非牛顿流体特性,在斩拌机内剪切应力不断施加的过程中,浆料自身的势能损失下降,使胶着度和咀嚼性提高,浆料的黏性特质增强。如表 1 所示,弹性和黏聚性和浆料与凝胶强度的研究相符合(在 TG 酶添加量为 0.2% 时最高),因为 TG 酶催化了蛋白内酰基的转移,使浆料内部的共价交联增强,促进了分子的聚集,提高了浆料的凝胶强度。随着 TG 酶添加量逐渐增大,浆料的固体性质越强,其原因是 TG 酶促进了蛋白之间的交联,在 TG 酶添加量过高时,鱼糜内部的共价键饱和形成,网状结构更加紧致。

3.3 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料持水性和水分分布的影响

持水性是指鱼糜凝胶在受到一定外力影响时,凝胶网络结构对水分束缚能力的大小^[11],是衡量浆料内部凝胶特性品质的重要物理指标之一。在 3D 打印过程中,适当提高浆料的凝胶强度可以有效减缓剪切稀化的现象,而凝胶网状结构的稳定性决定了浆料的沉积成型效果。浆料在打印时,蛋白在剪切力的影响下开始延展,内部的蛋白疏水基团暴露,凝胶内部的部分水分会被释放出来,降低了持水性,提高了浆料的损耗模量,导致浆料的非牛顿流体特性被影响,改变了浆料的剪应率线性关系,使浆料的黏度大大降低,不利于样品的成型。样品持水性随

TG 酶添加量变化的原因可能 TG 酶与二硫键之间的相互作用,可以催化氨基与 γ -羧基酰胺之间的交联^[14],增强了凝胶结构对水的束缚力,同时使蛋白质网络结构更加紧凑,减少了被束缚的水分,提高了浆料的持水性。随着 TG 酶添加量的增大,在达到共价键饱和之后,蛋白网状结构更加致密紧凑,水分子不易进入凝胶系统,导致浆料的持水性开始下降。

样品内部水分分布随 TG 酶添加量变化的原因推测是,浆料内部有大量的肌原纤维蛋白,在蛋白表面有较多的极性亲水基团与水分相结合,在斩拌的过程中蛋白逐渐展开,更多的疏水基团暴露出来,一部分水分因为疏水基团的作用,逐渐在鱼糜内部游离,此时浆料呈现一种溶胶状态,伴随着 TG 酶添加量的上升,TG 酶上的 γ -酰胺基和肌原纤维蛋白上的赖氨酸残基(ϵ -氨基),形成一种赖氨酸异肽键,促进蛋白质分子的交联,使蛋白质分子发生交联^[15]。蛋白质分子交联后,一部分游离水被包裹住,使不易流动水的占比上升。而当 TG 酶的添加量大于 0.2% 时, T_{23} 的占比开始下降,分析其原因可能是,TG 酶的添加量越大,其催化作用也越强,浆料内部的共价键也越多,导致了凝胶网络结构变得更加紧凑,无法填充更多的水分,使不易流动水的占比下降。随着 TG 酶添加量增大, T_{24} 游离水呈先下降后上升的趋势,与 T_{23} 的变化趋势相反,这与 Ahmad 等^[16]的研究相符,说明鱼糜内部一部分的游离水转化为不易流动水,同时游离水的占比过高,导致浆料的黏度下降,不利于 3D 打印的成型。

3.4 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料流变特性的影响

在 3D 打印中,由于螺旋杆和喷嘴对鱼糜浆料不断地施加剪切力,鱼糜内部的蛋白质分子会趋于向流动的方向逐渐延展开,此时由于蛋白被拉伸和延展,在这过程中浆料势能不断损失,影响了共价键的形成,使残基之间不易发生交联,所以鱼糜浆料的流动性增加,凝胶强度和黏度降低,不利于样品成型。表观黏度随 TG 酶添加量变化的原因可能是蛋白质双链在解旋之后,在 TG 酶催化的作用下,相互交联形成一种较为稳定的网状结构,这种结构之间的共价键较为稳定,在非酶的作用下不易断裂,所以增强了鱼糜浆料的表观黏度^[17],使鱼糜浆料的剪切稀化现象得到缓解,在进行剪切鱼糜时所需要的剪切应力增大。

随着 TG 酶的添加量增大,鱼糜浆料的屈服应力显著增加,推测其原因是蛋白在被施加剪切应力斩拌的过程中,被拉伸的蛋白上的疏水基团充分暴

露,在 TG 酶的催化作用下促进了蛋白质分子之间的交联,使表观黏度上升,在恒定速率下剪切应力上升,浆料的固化性增强。随着 TG 酶添加量增大,浆料的流动性减弱,稠度上升,表明 TG 酶促进了浆料内部蛋白的交联共价键的数量上升,这种 TG 酶催化形成的共价键较为稳定,黏连性较强,降低了流动性,提高了黏度。

随着 TG 酶添加量的上升,鱼糜浆料的弹性性能越来越高,推测其原因是由于 TG 酶的催化作用使分子的聚集程度变强,使鱼糜浆料的共价键数量上升,提高了分子之间的稳定性,与 Folk^[18]的研究相符。

3.5 TG 酶对金线鱼鱼糜浆料打印效果的分析

TG 酶是一种特殊的酰基供体,通过自身的谷氨酰胺残基的 γ -酰胺基与蛋白质中的赖氨酸残基结合,形成一种赖氨酸异肽键,促进了蛋白质的交联^[4],浆料内部形成了更多的凝胶网状结构,使金线鱼鱼糜丝在打印中不易发生断条的现象,减少了样品在沉积成型过程中的塌陷,大大提高了样品的精度。TG 酶使浆料内部产生了更多的共价键,大分子聚集体之间的稳定性增强,浆料的黏度上升,使鱼糜丝的挤出更加舒畅。随着 TG 酶添加量增大,阶梯化现象在 TG 酶添加量为 0.3% 和 0.4% 的样品中较为严重,推测其原因可能是过高添加量的 TG 酶提高了鱼糜浆料的屈服应力,在屈服应力较大时不利于样品的挤出,导致样品沉积过程中阶梯化现象加剧^[19]。与 TG 酶添加量 0.1% 的相比,添加量为 0.2% 时表面的鱼糜丝相互之间契合度较高,表面更加完整光滑,打印复原模型的程度较高。综上,在 TG 酶添加量为 0.2% 时,打印效果最佳。

参考文献 References

- [1] ZHANG L, LI Q, HONG H, et al. Prevention of protein oxidation and enhancement of gel properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi by addition of protein hydrolysates derived from surimi processing by-products [J/OL]. Food chemistry, 2020, 316: 126343 [2020-09-15]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126343>.
- [2] 郝凤霞,付伟超,康壮丽,等. 谷氨酰胺转氨酶添加量对肉燕品质的影响[J]. 食品科技, 2018, 43(7): 274-278. HAO F X, FU W C, KANG Z L, et al. Effect of different transglutaminase addition on Luoyang Rouyan (pork and chicken paste) quality [J]. Food science and technology, 2018, 43(7): 274-278 (in Chinese with English abstract).
- [3] 程琳丽,李来好,马海霞. 谷氨酰胺转氨酶对鱼肉保水性的影

- 响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(9): 128-131. CHENG L L, LI L H, MA H X. Effects of transglutaminase on water holding capacity of fish muscle[J]. Science and technology of food industry, 2014, 35(9): 128-131 (in Chinese with English abstract).
- [4] DONG X, PAN Y, ZHAO W, et al. Impact of microbial transglutaminase on 3D printing quality of *Scomberomorus niphonius* surimi [J]. LWT-food science and technology, 2020, 124: 109-123.
- [5] 仪淑敏,杨领,赵珺泽,等. 不同鸡肉与金线鱼糜混合比例香肠的凝胶品质对比[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 207-213. YI S M, YANG L, ZHAO J Z, et al. Comparison of gelation properties on different proportions of chicken-*Nemipterus virgatus* surimi mixture sausage[J]. Modern food science and technology, 2020, 36(5): 207-213 (in Chinese with English abstract).
- [6] 王琳. 鲢鱼糜凝胶体系的挤压式三维打印研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017. WANG L. Research on extrusion-based 3D printing of silver carp surimi surimi gel system[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [7] YANG Z, WANG W, WANG H, et al. Effects of a highly resistant rice starch and pre-incubation temperatures on the physicochemical properties of surimi gel from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Food chemistry, 2014, 145: 212-219.
- [8] FENG C, ZHANG M, BHANDARI B. Materials properties of printable edible inks and printing parameters optimization during 3D printing: a review [J]. Critical reviews in food science and nutrition, 2019, 59(19): 3074-3081.
- [9] ZHANG M, WANG L, FAN D, et al. Control method for improving forming and 3D precise printing performance of thawed surimi system: U. S. Patent application 15/871, 908 [P]. 2018-07-19.
- [10] SAKAMOTO H, KUNAZAWAY Y, TOIGUCHI S, et al. Gel strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during on shore surimi manufacture [J]. Journal of food science, 1995, 60(2): 300-304.
- [11] ALAKHRASH F, ANYANWU U, TAHERGORABI R. Physicochemical properties of Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi gels with oat bran [J]. LWT-food science and technology, 2016, 66: 41-47.
- [12] KURTH L, ROGERS P J. Transglutaminase catalyzed cross-linking of myosin to soya protein, casein and gluten [J]. Journal of food science, 1984, 49(2): 573-576.
- [13] HUANG M, ZHANG M, BHANDARI B. Assessing the 3D printing precision and texture properties of brown rice induced by infill levels and printing variables[J]. Food and bioprocess technology, 2019, 12(7): 1185-1196.
- [14] LIU Q, ZHANG N, WEI W, et al. Assessing the dynamic extrusion-based 3D printing process for power-law fluid using numerical simulation[J/OL]. Journal of food engineering, 2020, 275: 109861 [2020-09-15]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109861>.

- [15] SEIGHALANI F Z B, BAKAR J, SAARI N, et al. Thermal and physicochemical properties of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) surimi gel as affected by microbial transglutaminase[J]. Animal production science, 2017, 57(5): 993-1000.
- [16] AHMAD M U, TASHIRO Y, MATSUKAWA S, et al. Gelation mechanism of surimi studied by ¹H NMR relaxation measurements[J]. Journal of food science, 2007, 72(6): E362-E367.
- [17] YANG F, GUO C, ZHANG M, et al. Improving 3D printing process of lemon juice gel based on fluid flow numerical simulation[J]. LWT-food science and technology, 2019, 102: 89-99.
- [18] FOLK J E. Mechanism and basis for specificity of transglutaminase catalyzed-lysine bond formation [M]//PURICH D. Advances in enzymology and related areas of molecular biology. [S.l.]: John Wiley & Sons, Inc., 1983.
- [19] GÓMEZ-GUILLÉN M C, BORDERÍAS A J, MONTERO P. Chemical interactions of nonmuscle proteins in the network of sardine (*Sardina pilchardus*) muscle gels[J]. LWT-food science and technology, 1997, 30(6): 602-608.

Effect of transglutaminase on 3D printing characteristics of *Nemipterus virgatus* surimi

WANG Wei¹, YANG Ling², LI Xuepeng², LI Jianrong²,
YI Shumin², XIE Jing³, WANG Hong⁴, LAO Minjun⁵

1. Experiment Center, Jinzhou 121013, China;

2. College of Food Science and Technology, Bohai University/Food Safety
Key Lab of Liaoning Province/National & Local Joint Engineering Research
Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural
and Aquatic Products, Jinzhou 121013, China;

3. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Penglai Jinglu Fishery Co., Ltd., Yantai 264010, China;

5. Zhejiang Industrial Group Co., Ltd., Zhoushan 316101, China

Abstract Taking *Nemipterus virgatus* surimi as the research object, the effect of transglutaminase on the 3D printing characteristics of *Nemipterus virgatus* surimi was studied from three aspects: apparent viscosity and rheological properties (difficulty or ease of conveying), printing effect (appearance, molding performance), and the properties of surimi product. As the transglutaminase addition increased, the gel strength, elasticity, and water holding capacity of *Nemipterus virgatus* surimi gel increased firstly and then decreased. When the transglutaminase addition was 0.2%, they reached the highest value, which were increased by 70.88%, 25.01%, and 9.72% compared with the control group, respectively. The relative content of immobilized water in the surimi reached the maximum when the transglutaminase was added at 0.2%, and the T_{23} peak ratio was 0.97. The apparent viscosity, yield stress, consistency and rheological properties of *Nemipterus virgatus* surimi gradually increased with increasing transglutaminase addition, while the fluidity decreased. The apparent viscosity reached the maximum at 0.4% transglutaminase, and loss modulus and loss tangent at 0.2% transglutaminase. The surface of the sample with 0.2% transglutaminase was relatively integral and matched the set model, and the continuity and adhesion between the surimi threads were relatively high. In summary, addition of 0.2% transglutaminase was the best for printing the *Nemipterus virgatus* surimi gel product.

Keywords *Nemipterus virgatus*; surimi; 3D printing; transglutaminase; gel properties; rheological properties

(责任编辑:赵琳琳)