

自组装胶原蛋白复合膜对鱿鱼冷藏品质的影响

赵丹丹, 胡俊, 陈文烜*
(浙江省农业科学院食品科学研究所 杭州 310021)

摘要 以草鱼鱼鳔为原料,酶法提取胶原蛋白后进行自组装反应,与壳聚糖、甘油制备复合涂膜,分析该涂膜性能,研究复合膜对鱿鱼冷藏保鲜效果的影响。结果表明:草鱼鱼鳔胶原蛋白属于 I 型胶原蛋白,具有三螺旋结构。胶原蛋白自组装后制备的复合膜拉伸强度增加,断裂伸长率降低,水蒸气透过率降低。未经涂膜处理的鱿鱼在冷藏第 8 天已腐败,而此时用自组装胶原蛋白复合膜处理的鱿鱼品质保持良好,其挥发性盐基氮、菌落总数、K 值和三甲胺含量分别为 21.53 mg/100 g, 5.67 lg(CFU/g), 14.33% 和 25.87 μg/g, 显著低于未处理组 ($P < 0.05$), 说明自组装胶原蛋白复合膜能有效延缓鱿鱼腐败, 延长其货架期。

关键词 胶原蛋白; 自组装; 复合膜; 鱿鱼; 品质

文章编号 1009-7848(2022)02-0263-08 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2022.02.028

鱿鱼是我国十分重要的海洋经济产物, 具有繁殖周期短、繁殖量大等特性, 其营养丰富, 口感鲜美, 深受广大消费者喜爱。鱿鱼捕捞后立即在船上快速冻结, 进入市场流通时一般以冷藏或冰温储藏方式进行保鲜。然而, 鱿鱼类水产品蛋白质含量丰富, 传统的低温贮藏方式不利于鱿鱼的运输或储藏, 其肌肉组织在嗜冷微生物的作用下很容易发生腐败变质。涂膜保鲜法具有防止水分损失, 阻止氧气进入, 抑制微生物生长等优点^[1-2], 是一种可有效延长水产品货架期的方法, 已成为目前水产品贮藏保鲜的研究热点。

蛋白涂膜可有效保持水产品储藏过程中的新鲜度。樊世芳等^[3]制备的鱼鳞蛋白肽涂膜剂对鲫鱼冷藏过程中挥发性盐基氮(TVB-N)的产生有一定的抑制作用, 能延长鱼片的保质期。徐萌^[4]制备的鲷鱼皮明胶-壳聚糖可食膜有效抑制梭子蟹 TVB-N 的产生和微生物的生长, 保持其感官品质。徐永霞等^[5]分析发现丁香酚-明胶复配涂膜能有效抑制草鱼片冷藏过程中细菌的生长繁殖、TVB-N 的产

生, 延缓质构特性及感官品质的下降, 其货架期比对照组延长 4~8 d。

胶原蛋白具有可降解、易成膜等特点, 被广泛应用于可食性包装领域。鱼鳔、鱼鳞、鱼骨等水产品加工副产物是胶原蛋白的良好来源。研究发现, 自组装是天然胶原蛋白的重要分子行为特征, 胶原分子单体通过大量非共价键弱相互作用力的协同效应进行有序排列, 形成具有交错条纹结构的胶原纤维和高度有序的网状结构^[6], 提高了其热稳定性、生物可降解性和力学性能等特性^[7]。目前, 自组装已成为深入开发胶原蛋白资源的重要技术手段。目前有关草鱼鱼鳔胶原蛋白自组装行为及其复合涂膜对水产品保鲜品质的影响未见研究报道。

本研究以草鱼鱼鳔为原料, 提取草鱼鱼鳔胶原蛋白后进行体外自组装反应, 通过与壳聚糖等具有抑菌、成膜性好的生物涂膜材料复合, 制备自组装胶原蛋白复合膜, 分析该复合膜对鱿鱼冷藏过程中品质的影响, 评价自组装胶原蛋白在水产品涂膜保鲜领域的应用价值。

收稿日期: 2021-02-05

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31901722, 31901662); 浙江省自然科学基金项目(LY21C200004); 浙江省农业科学院扶持学科项目(2018-2020)

作者简介: 赵丹丹(1990—), 女, 博士, 助理研究员

通信作者: 陈文烜 E-mail: hzcxw888@163.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

草鱼鱼鳔购于德胜菜市场。秘鲁鱿鱼 (*Dosidicus gigas*) 由宁波飞润有限公司提供。

氢氧化钠、盐酸、乙酸、甲醇、正丁醇、氯化钠, 国药集团化学试剂有限公司; 考马斯亮蓝 G-250、

胃蛋白酶、壳聚糖、甘油,生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 仪器与设备

SYKAM433D 氨基酸自动分析仪,德国卡姆公司;UV759 型紫外分光光度计,上海奥谱勒仪器有限公司;Nicolet 6700 傅里叶红外光谱分析仪,美国 Thermo 公司;K9840 自动凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;YXQ-LS-S II 立式压力蒸汽灭菌锅、SW-CT-4D 洁净工作台,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;DHP-9162 型电热恒温培养箱,上海恒科学仪器有限公司;CR21G II 高速离心机,日本 Hitachi 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 草鱼鳔胶原蛋白提取 将草鱼鱼鳔清洗后切成小块,用 0.1 mol/L NaOH 去除杂蛋白,料液比 1:10,冷水洗至中性。用体积分数 10%正丁醇脱脂,冷水冲洗。加入质量分数 0.1% 3 000 U/mg 胃蛋白酶,在 0.5 mol/L 乙酸中酶解 48 h。用 2.0 mol/L NaCl 盐析 2 h,0.5 mol/L 乙酸复溶沉淀,用 10 ku 透析袋透析,冻干后备用。

1.3.2 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE) 采用 SDS-PAGE 垂直电泳,在 7.5%分离胶和 4%浓缩胶组成的凝胶上进行分离测定。加样量为 10 μ L,起始电压为 80 V,进入分离胶后电压调至 120 V。经 0.1%考马斯亮蓝 R-250-甲醇水染色 2 h,乙酸-甲醇水脱色液脱色后拍照记录。

1.3.3 胶原蛋白紫外吸收特性 取 10 mg 胶原蛋白冻干品溶于 10 mL 0.5 mol/L 乙酸溶液,另取 0.5 mol/L 乙酸溶液做空白对照,蒸馏水做参比,于紫外光谱区全波长扫描。

1.3.4 胶原蛋白氨基酸组成的测定 取胶原蛋白样品(10~20 mg)置于 6 mol/L 盐酸溶液中,于 110 $^{\circ}$ C 真空条件下酸水解 24 h,然后采用氨基酸分析仪测定水解液中氨基酸组成。

1.3.5 胶原蛋白傅里叶红外吸收特性 取微量胶原蛋白冻干品,经溴化钾压片,全反射光谱测定法(ATR)进行测定。光谱测定范围为 4 000~400 cm^{-1} ,仪器分辨率为 0.5 cm^{-1} ,扫描次数为 64 次。

1.3.6 胶原蛋白自组装 配制 4.0 mg/mL 胶原蛋白醋酸溶液,在 40 $^{\circ}$ C、pH 7.0 下,加入 100 mmol/

mL 氯化钠溶液,进行草鱼鱼鳔胶原蛋白自组装反应,采用分光光度计实时监测胶原蛋白自组装体系在波长 313 nm 处的吸光度值。

1.3.7 复合涂膜液制备 配制质量分数 4%的自组装胶原蛋白溶液,50 $^{\circ}$ C 水浴溶解 30 min,添加 1.0%壳聚糖、0.5%甘油,混合后搅拌 20 min,于 60 $^{\circ}$ C 下交联 30 min,冷却至室温,真空脱气 5 min,在室温下自然晾干后揭膜,得到所述可食性涂膜。参照顾赛麒等^[9]的方法测定涂膜的机械性能及水蒸气透过率。

1.3.8 鱿鱼品质分析 将鱿鱼低温解冻后,置于涂膜液中浸泡 5 min,取出后低温晾干,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中冷藏。间隔 2 d 取样,测定鱿鱼的菌落总数、挥发性盐基氮(TVB-N)、K 值和三甲胺含量。其中细菌菌落总数参照 GB 4789.2-2016《食品微生物学检验 菌落总数测定》;TVB-N 值的测定参照 GB 5009.228-2016《食品中挥发性盐基氮的测定》;K 值参照 SC/T 3048-2014《鱼类鲜度指标 K 值的测定》;三甲胺含量测定参照 GB 5009.179-2016《食品安全国家标准 食品中三甲胺的测定》。

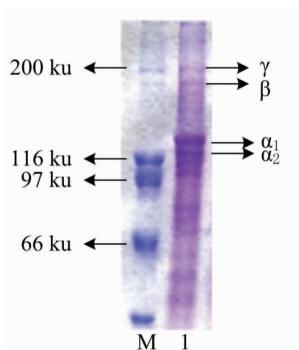
1.3.9 数据统计分析 运用 SPSS 21.0 软件和 Origin 8.5 软件进行数据分析。测定结果以均值 \pm 标准差($n \geq 3$)表示,采用最小显著差异法(LSD)进行显著性差异分析,显著性水平为 5%。

2 结果与分析

2.1 草鱼鱼鳔胶原蛋白基本特性

2.1.1 草鱼鱼鳔胶原蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱 采用 SDS-PAGE 凝胶电泳对草鱼鱼鳔胶原蛋白进行分析,其结果如图 1 所示。SDS-PAGE 凝胶电泳图显示草鱼鱼鳔胶原蛋白由 α 链、 β 链以及少量的 γ 链组成,且两种胶原蛋白至少含有两种不同的 α 链(α_1 和 α_2),其中 α_1 链的浓度高于 α_2 链,这些图谱特征说明草鱼鱼鳔胶原蛋白属于 I 型胶原蛋白。这与 Wu 等^[9]的研究结果一致。

2.1.2 草鱼鱼鳔胶原蛋白氨基酸组成 草鱼鱼鳔胶原蛋白的氨基酸组成如表 1 所示。甘氨酸是草鱼鱼鳔胶原蛋白中含量最多的氨基酸,脯氨酸、谷氨酸、丙氨酸含量也相对较高,酪氨酸、组氨酸等芳香族氨基酸相对含量较低,符合胶原蛋白的氨基酸组成特点^[10]。脯氨酸和赖氨酸的羟基化程度



注:条带 M 为标准蛋白;I 为草鱼鱼鳔胶原蛋白。

图 1 草鱼鱼鳔胶原蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱
Fig.1 SDS-PAGE of collagen from grass carp swim bladder

表 1 草鱼鱼鳔胶原蛋白氨基酸组成
Table 1 Amino acids composition of collagen from grass carp swim bladder

氨基酸	残基/1 000 残基
天冬氨酸 (ASP)	82.77
苏氨酸 (THR)	40.19
丝氨酸 (SER)	42.58
谷氨酸 (GLU)	122.16
脯氨酸 (PRO)	130.01
甘氨酸 (GLY)	185.23
丙氨酸 (ALA)	111.24
胱氨酸 (CYS)	0.00
缬氨酸 (VAL)	25.02
蛋氨酸 (MET)	16.37
异亮氨酸 (ILE)	19.43
亮氨酸 (LEU)	35.66
酪氨酸 (TYR)	6.12
苯丙氨酸 (PHE)	26.08
组氨酸 (HIS)	20.23
赖氨酸 (LYS)	46.31
精氨酸 (ARG)	90.62
羟脯氨酸 (HYP)	88.50
亚氨基酸 (PRO+HYP)	218.51
总计	1 000

与胶原蛋白的三螺旋结构相关,羟基化程度越高则三螺旋结构越复杂^[11]。

2.1.3 草鱼鱼鳔胶原蛋白紫外吸收特性 草鱼鱼鳔胶原蛋白紫外扫描光谱如图 2 所示。结果显示鱼鳔胶原蛋白特征吸收波长位于 236 nm 处,这与

I 型胶原蛋白的普遍吸收特性相符合^[12]。

2.1.4 草鱼鱼鳔胶原蛋白红外光谱吸收特性 通过红外光谱分析可以确定胶原蛋白的二级结构^[13]。草鱼鱼鳔胶原蛋白的傅里叶红外光谱吸收特性如图 3 所示。由图可知,胶原蛋白酰胺 A 出现于 3 286.36 cm⁻¹ 处,是 N-H 伸缩振动的吸收峰,表明了氢键的存在。酰胺 B 出现于 3 074.21 cm⁻¹ 处,表示 CH₂ 的不对称伸缩振动,出现在 2 956.56 cm⁻¹ 附近的吸收峰表示 CH₂ 的对称伸缩振动^[12]。胶原蛋白的酰胺 I 出现在 1 633.54 cm⁻¹ 处,与多肽主链上的 C=O 伸缩振动相关,是肽二级结构的特征标记;酰胺 II 和酰胺 III 分别出现在 1 546.75 cm⁻¹ 处和 1 452.25 cm⁻¹ 处,确定了胶原蛋白三螺旋结构的存在。

2.2 草鱼鱼鳔胶原蛋白的自组装

I 型胶原蛋白分子在中性溶液中和室温下可

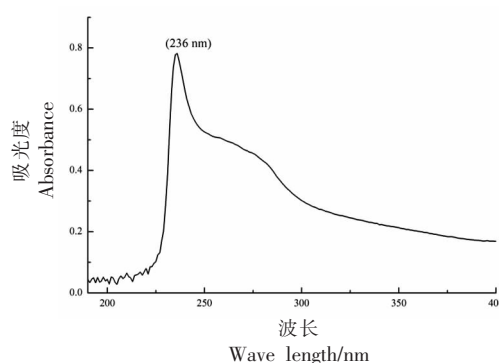


图 2 草鱼鱼鳔胶原蛋白紫外吸收特性
Fig.2 UV spectra of collagen from grass carp swim bladder

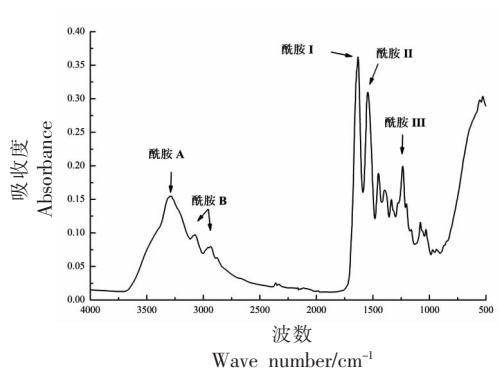


图 3 鱼鳔胶原蛋白的傅里叶红外光谱
Fig.3 Fourier transform infrared spectrum of collagen from grass carp swim bladder

以在体外自发聚集成原纤维,即发生自组装反应。通过自组装,胶原基材料比表面积增加,其热稳定性、耐酶降解性和生物力学性能等方面均显著提高。利用分光光度计实时监测草鱼鱼鳔胶原蛋白自组装体系在波长 313 nm 处的吸光度值,绘制自组装曲线,见图 4。胶原蛋白自组装过程中存在 3 个阶段:延滞期、快速上升期和平衡期^[14]。延滞期为胶原蛋白分子的成核阶段,快速上升期为胶原蛋白自聚集形成纤维状结构阶段,平衡期为胶原纤维的三维网状结构形成阶段^[15]。由图 4 所示,草鱼鱼鳔胶原蛋白分子大约在 60 min 处进入平衡期,其吸光度达到最大值且保持恒定,揭示胶原纤维的三维网状形成。研究表明,NaCl 浓度、pH 值和胶原蛋白浓度对胶原蛋白分子的自组装行为有显著影响^[16],且胶原蛋白分子中的端肽在能促进其自组装进程^[17]。

2.3 自组装胶原蛋白复合膜性能

研究发现,以胶原蛋白和壳聚糖为原料制备的复合膜具有较好的机械性能和保鲜效果^[18-19]。不同胶原蛋白分子结构和肽的组成不同,其形成胶原纤维的速度和成膜性能也不同^[20-21]。将自组装的

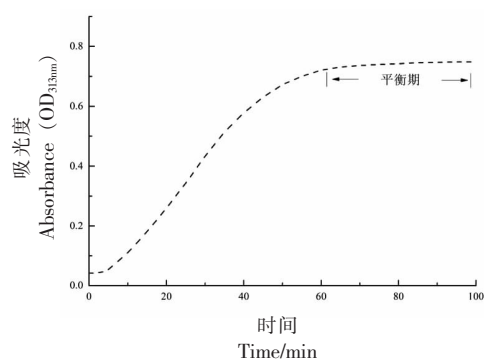


图 4 草鱼鱼鳔胶原蛋白的自组装反应
Fig.4 Self-assembly reaction of collagen from grass carp swim bladder

草鱼鱼鳔胶原蛋白分子溶液与壳聚糖、甘油复配,制备胶原蛋白复合膜,分析自组装对其机械性能和阻水性能的影响,结果见表 2。由表可知,胶原蛋白自组装后制备的复合膜的拉伸强度由 1.78 MPa 增加至 2.69 MPa,断裂伸长率由 40.12% 降低至 33.15%,水蒸气透过率由 1.53 g·mm/(kPa·h·m²) 降低至 1.08 g·mm/(kPa·h·m²),说明胶原蛋白自组装后制备的复合涂膜具有更强的机械性能和阻水性,促进胶原蛋白自组装可提高其成膜性能。

表 2 胶原蛋白自组装后复合膜的机械性能和阻水性能变化

Table 2 Changes in mechanical properties and waterblocking performance of the composite film made from self-assembled collagen

	抗拉强度/MPa	断裂伸长率/%	水蒸气透过率/g·mm·kPa ⁻¹ ·h ⁻¹ ·m ⁻²
未组装胶原蛋白复合膜	1.78 ± 0.05	40.12 ± 1.25	1.53 ± 0.19
自组装胶原蛋白复合膜	2.69 ± 0.04	33.15 ± 1.07	1.08 ± 0.14

2.4 自组装胶原蛋白复合膜处理对鱿鱼保鲜品质的影响

2.4.1 自组装胶原蛋白复合膜对鱿鱼产 TVB-N 值的影响 该试验分析了自组装胶原蛋白复合涂膜处理对鱿鱼在 4 °C 贮藏过程中 TVB-N 值变化的影响。水产品贮藏过程中在微生物酶或内源酶的作用下,因蛋白质降解产生一系列碱性挥发性含氮物质,统称 TVB-N。不同涂膜处理的鱿鱼胴体在 4 °C 贮藏条件下 TVB-N 值的变化见图 5。由图可知,处理前鱿鱼 TVB-N 值为 12.55 mg/100 g,未经处理的鱿鱼在 4 °C 贮藏 6 d 时 TVB-N 值达 28.02 mg/100 g,已处于新鲜临界值。新鲜海水产品的 TVB-N 值一般 ≤ 30 mg/100 g。经胶原蛋白复合

膜处理后鱿鱼的 TVB-N 值增加幅度减缓,其中未组装胶原蛋白复合膜处理的鱿鱼在第 8 天时 TVB-N 值为 27.92 mg/100 g;组装胶原蛋白复合膜处理组在第 12 天时 TVB-N 值为 29.87 mg/100 g,仍小于 30 mg/100 g。由此可见,胶原蛋白自组装后制备的复合膜可有效抑制鱿鱼 TVB-N 的产生,延缓腐败。

2.4.2 自组装胶原蛋白复合膜对鱿鱼菌落总数的影响 自组装胶原蛋白复合涂膜处理对鱿鱼在 4 °C 贮藏过程中菌落总数变化的影响见图 6。由图可知,不同条件处理下鱿鱼在 4 °C 条件下的细菌菌落总数随贮藏时间延长而不断增加,而胶原蛋白复合膜处理能延缓鱿鱼肌肉组织中的细菌生长。

未经涂膜处理的鱿鱼初始菌落总数为 2.45 lg(CFU/g), 在第 6 天临近腐败时达 7.11 lg(CFU/g)。经过组装或未组装胶原蛋白复合膜处理的鱿鱼在第 6 天时仅为 4~6 lg(CFU/g), 显著低于未经涂膜处理组的菌落总数, 胶原蛋白-壳聚糖复合涂

膜具有良好的抗菌性, 这与 Emna 等^[22]的研究结果一致。此外, 胶原蛋白经过自组装后制备的复合涂膜能更有效抑制鱿鱼细菌总数增加, 第 12 天时该处理条件下鱿鱼细菌菌落总数为 7.54 lg(CFU/g)。

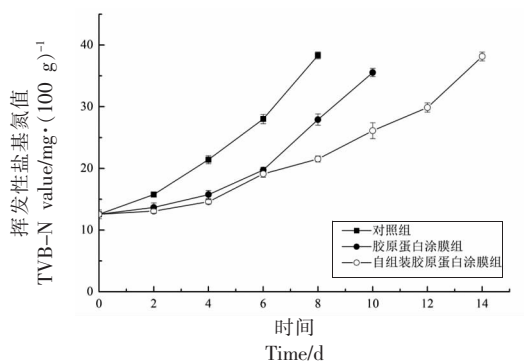


图 5 鱿鱼涂膜后在 4 °C 储藏过程中 TVB-N 值变化

Fig.5 Changes of TVB-N value of coated squid during storage at 4 °C

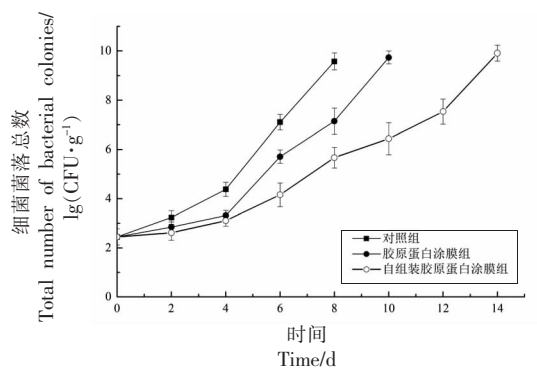


图 6 鱿鱼涂膜后在 4 °C 储藏过程中细菌菌落总数变化

Fig.6 Changes of bacterial colonies of coated squid during storage at 4 °C

2.4.3 自组装胶原蛋白复合膜对鱿鱼 K 值的影响

自组装胶原蛋白复合涂膜处理对鱿鱼在 4 °C 贮藏过程中 K 值变化的影响见图 7。K 值是 ATP 分解产物次黄嘌呤核苷(HxR)和次黄嘌呤(Hx)总量与 ATP 所有关联均总量的比值, 是代表水产品新鲜度的重要指标之一^[23]。随着贮存时间延长, 水产品肌肉组织中的 ATP 快速分解, HxR 和 Hx 含量逐渐增多, K 值增加, 水产品新鲜度下降, 当 K 值 ≤ 20% 时新鲜度较高。如图所示, 鱿鱼在储藏期初始值为 8.4%。随着冷藏时间延长, 未涂膜处理组、未组装胶原蛋白复合膜处理组和组装胶原蛋

白复合膜处理组的 K 值分别在第 8 天、第 10 天、第 14 天时大于 20%, 说明此时的鱿鱼开始腐败。由此可见, 自组装胶原蛋白复合膜处理能有效延缓鱿鱼冷藏过程中 ATP 分解。

2.4.4 自组装胶原蛋白复合膜对鱿鱼产三甲胺的影响

三甲胺是由氧化三甲胺经兼性厌氧酶还原产生的挥发性含氮物质, 随着水产品鲜度下降升高。鱿鱼在 4 °C 下三甲胺的变化见图 8。如图所示, 鱿鱼在储藏期初始值为 12.54 μg/g, 随着储藏时间的延长, 鱿鱼中三甲胺含量不断增加。在第 6 天时, 未处理的鱿鱼中三甲胺增加至 32.24 μg/g, 未

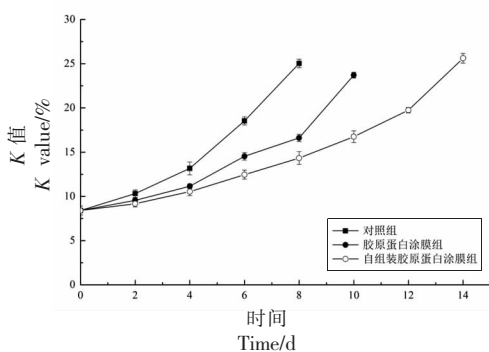


图 7 鱿鱼涂膜后在 4 °C 储藏过程中 K 值变化

Fig.7 Changes of K value of coated squid during storage at 4 °C

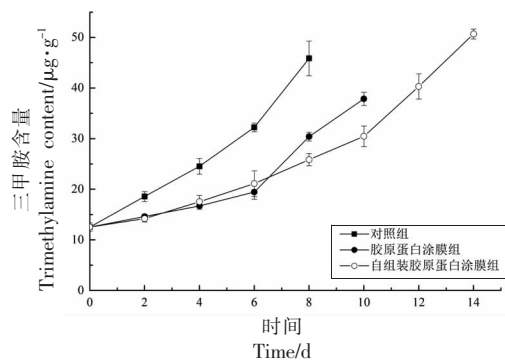


图 8 鱿鱼涂膜后在 4 °C 储藏过程中三甲胺含量的变化

Fig.8 Changes of trimethylamine content of coated squid during storage at 4 °C

组装胶原蛋白复合膜处理组鲑鱼三甲胺为 19.45 $\mu\text{g/g}$, 组装胶原蛋白复合膜处理组为 21.11 $\mu\text{g/g}$ 。新鲜海产品三甲胺 $<30\sim 40 \mu\text{g/g}$, 由此可知未涂膜处理的鲑鱼在第 6 天时三甲胺含量已达到临界值, 而组装胶原蛋白复合膜处理可有效延缓鲑鱼中三甲胺含量的增加, 将鲑鱼货架期延长至 12 d, 此时鲑鱼三甲胺含量为 40.31 $\mu\text{g/g}$ 。

3 结论

利用酶法从草鱼鱼鳔中提取的胶原蛋白具有稳定的三螺旋结构, 经过自组装后形成的网状结构更为致密, 与壳聚糖、甘油等涂膜材料制备的复合涂膜机械性能更强。将经过自组装的草鱼鱼鳔胶原蛋白制备复合涂膜液, 对鲑鱼进行涂膜处理, 并在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下进行贮藏分析其新鲜度指标变化, 发现与未涂膜处理组、未自组装的胶原蛋白复合膜处理组相比, 自组装胶原蛋白复合膜能有效延缓鲑鱼腐败, 延长其货架期。

参 考 文 献

- [1] 张伟清, 林媚, 王天玉, 等. 柠檬精油复合涂膜对椪柑采后品质的影响[J]. 核农学报, 2020, 34(12): 2725-2733.
ZHANG W Q, LIN M, WANG T Y, et al. Effects of compound coating of lemon essential oil composite coating on postharvest storage quality of ponkan[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2020, 34(12): 2725-2733.
- [2] 李秋莹, 张婧阳, 孙彤, 等. ϵ -聚赖氨酸及其复合保鲜技术在水产品保鲜中的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(22): 263-269.
LI Q Y, ZHANG J Y, SUN T, et al. Research progress of ϵ -polylysine and its complex preservation technology in aquatic products preservation[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(22): 263-269.
- [3] 樊世芳, 卢立新, 游柳青, 等. 鱼鳞明胶及蛋白肽涂膜对鲫鱼保鲜效果的影响[J]. 包装与食品机械, 2016, 34(4): 5-9, 31.
FAN S F, LU L X, YOU L Q, et al. The effects of coated gelatin and protein peptide from scales on fresh-keeping of crucian carp[J]. Packaging and Food Machinery, 2016, 34(4): 5-9, 31.
- [4] 徐萌. 斑点叉尾鲷鱼皮胶原蛋白的提取与制膜研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
XU M. Isolation of collagen and preparation of edible film from skin of channel catfish[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.
- [5] 徐永霞, 赵佳美, 呼芷晴, 等. 丁香酚-明胶涂膜对草鱼片的保鲜效果[J]. 中国食品学报, 2018, 18(11): 168-174.
XU Y X, ZHAO J M, HU Z Q, et al. Preservation effect of eugenol-gelation coating on grass carp filets[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(11): 168-174.
- [6] LIU X H, DAN N H, DAN W H. Insight into the collagen assembly in the presence of lysine and glutamic acid: An *in vitro* study[J]. Materials Science and Engineering C, 2017, 70(Pt 1): 689-700.
- [7] WINKLER M, SIMON M G, VU T, et al. A microfabricated, optically accessible device to study the effects of mechanical cues on collagen fiber organization[J]. Biomedical Microdevices, 2014, 16(2): 255-267.
- [8] 顾赛麒, 余晓梅, 蔡燕萍, 等. 单月桂酸甘油酯添加量对大豆分离蛋白复合膜成膜特性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 245-251.
GU S Q, YU X M, CAI Y P, et al. Effect of glycerol monolaurate addition on the properties of soy protein isolate composite film[J]. Food Science, 2017, 38(21): 245-251.
- [9] WU X S, CAI L Y, CAO A L, et al. Comparative study on acid-soluble and pepsin-soluble collagens from skin and swim bladder of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 96(3): 815-821.
- [10] 王园园, 张靓, 周鹏. 太湖白鱼中胶原蛋白的提取及其理化性质分析[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 45-49.
WANG Y Y, ZHANG L, ZHOU P. Extraction and physicochemical properties of collagen from white fish of Taihu Lake (*Erythroculter ilishaeformis*)[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(18): 45-49.
- [11] KIMURA S, ZHU X P, MATSUI R, et al. Characterization of fish muscle type I collagen[J]. Journal of Food Science, 1988, 53(5): 1315-1318.

- [12] 陈日春. 鲢鱼鱼鳞胶原蛋白肽的制备及其抗氧化活性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
CHEN R C. Research on the preparation and antioxidant of silver carp scale collagen peptide [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013.
- [13] SRIPRIYA R, KUMAR R. A novel enzymatic method for preparation and characterization of collagen film from swim bladder of fish rohu (*Labeo rohita*)[J]. Food & Nutrition Sciences, 2015, 6(15): 1468-1478.
- [14] 兰文婷, 金若芸, 刘耀文, 等. 草鱼鳞和草鱼皮胶原蛋白性质及自聚集行为对比研究[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(2): 92-97.
LAN W T, JIN R Y, LIU Y W, et al. Comparative study on characteristics and self-assembly behavior of collagens extracted from skins and scales of grass carp[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(2): 92-97.
- [15] 陈元昊, 李冰清, 缪楠, 等. 草鱼皮胶原蛋白的理化性质及其自组装的影响因素分析[J]. 食品科技, 2018, 43(9): 192-196.
CHEN Y H, LI B Q, MIU N, et al. Physicochemical properties of collagen from grass carp skin and influencing factors on its self-assembly[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(9): 192-196.
- [16] NOITUP P, MORRISSEYORRISSE M T, GARN-JANAGOONCHORN W. *In vitro* self-assembly of silver-line grunt type I collagen: Effects of collagen concentrations, pH and temperatures on collagen self-assembly[J]. Journal of Food Biochemistry, 2006, 30(5): 547-555.
- [17] SHAYEGAN M, ALTINDAL T, KIEFLFL E, et al. Intact telopeptides enhance interactions between collagens[J]. Biophysical Journal, 2016, 111(11): 2404-2416.
- [18] 阮一凡, 朱静静, 潘道东, 等. 鹅皮胶原蛋白/壳聚糖复合膜理化性质和保鲜效果[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 263-269.
RUAN Y F, ZHU J J, PAN D D, et al. Physicochemical properties of goose skin collagen/chitosan composite membrane and its potential for food preservation[J]. Food Science, 2019, 40(1): 263-269.
- [19] 曲文娟, 宋雅婷, 张欣欣, 等. 胶原蛋白-壳聚糖膜的制备及其对猪肉的保鲜作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 89-98.
QU W J, SONG Y T, ZHANG X X, et al. Preparation of collagen-chitosan film and its preservation of pork[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 89-98.
- [20] WANG S S, SUN X Q, ZHOU D Q. Physicochemical characteristics and fibril-forming properties of collagen from paddlefish (*Polyodon spathula*) and globefish (*Fugu flavidus*) skin byproducts[J]. Food Science and Technology (Campinas), 2017, 37(2): 176-183.
- [21] TANG L L, CHEN S L, SU W J, et al. Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species[J]. Process Biochemistry, 2015, 50(1): 148-155.
- [22] EMNA B S, SALOUA S. Collagen from cartilaginous fish by-products for a potential application in bioactive film composite[J]. Marine Drugs, 2018, 16(6): 211-229.
- [23] 王亚会, 王锡昌, 王帅, 等. 水产品新鲜及腐败程度的评价指标[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(10): 240-246.
WANG Y H, WANG X C, WANG S, et al. Advances in freshness and corruption of aquatic product[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(10): 240-246.

Effect of Self-assembled Collagen Composite Membrane on the Quality of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) during Cold Storage

Zhao Dandan, Hu Jun, Chen Wenxuan*

(Food Science Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

Abstract In this article, the collagen is extracted from swim bladder of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by enzy-

molysis and its self-assembly is conducted. Composite film was made from self-assembled collagen, chitosan and glycerinum, and its properties were analyzed. Moreover, the effects of coating film on squid quality during cold storage were investigated. The results showed that collagen extracted from grass carp swim bladder belong to type I collagen and had a triple helix structure. The tensile strength of the film made from self-assembled collagen increases, and its elongation at break and water vapor transmission decrease. In addition, the spoilage of untreated squid was occurred on the eighth day, at the time the quality of squid treated with film made from self-assembled collagen was kept well. The values of TVB-N, microbial counts, *K* value and trimethylamine of squid treated after self-assembled collagen stored for 14 d at 4 °C were 21.53 mg/100 g, 5.67 lg (CFU/g), 14.33% and 25.87 μg/g, respectively, which meant that coating film made from self-assembled collagen could slow down the corruption of squid and prolong the shelf life.

Keywords collagen; self-assembly; composite film; squid; quality