

甜菜果胶酶促交联对蛋白质乳化液稳定性的影响^{*}

郇金龙¹ 刘欢² 赵文婷¹ 王盼¹ 程永强¹ 殷丽君¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中国水产科学研究院质量与标准研究中心, 北京 100141)

【摘要】 研究了辣根过氧化物酶(HRP)和漆酶(Laccase)催化甜菜果胶间交联的反应条件及其对蛋白质乳化液稳定特性的影响。紫外-可见分光光度法和傅里叶变换红外光谱结果均表明,HRP和Laccase在水相中可催化甜菜果胶间形成共价交联。HRP的反应体系为:5 mL反应体系中含6 mg甜菜果胶,20 U HRP,0.5% (质量分数) H_2O_2 ,35℃下反应2 h;Laccase的反应体系为:5 mL反应体系中含6 mg甜菜果胶,15 U Laccase,40℃下反应24 h。激光衍射粒度仪测定结果表明,不同酶反应体系下,蛋白质乳液特性不同。Laccase交联体系引起牛血清白蛋白(BSA)、乳清分离蛋白(WPI)乳状液发生分层现象,随反应时间延长,分层更加明显;而在HRP反应体系下,BSA乳状液的稳定性能明显提高。

关键词: 甜菜果胶 辣根过氧化物酶 漆酶 酶促交联 乳化液

中图分类号: TS201.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2011)02-0138-06

Effect of Enzymatically Cross-linked Beet Pectin on Stability of Emulsion Stabilized by Protein

Li Jinlong¹ Liu Huan² Zhao Wenting¹ Wang Pan¹ Cheng Yongqiang¹ Yin Lijun¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Quality and Standards Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China)

Abstract

Effects of reaction conditions of cross-linked beet pectin and stability of protein stabilized emulsions between horseradish peroxidase (HRP) and Laccase in the aqueous phase was analyzed. Both of the results from UV-VIS spectrophotometry and Fourier transform infrared spectrum indicated that the HRP and Laccase could catalyze the beets pectin to form covalent cross-linking. The HRP reaction system was as follows: 5 mL reaction system in total contained 6 mg beet pectin, 20 U HRP, 0.5% H_2O_2 (mass fraction) and could react 2 h under 35℃. The Laccase reaction system was as follows: 5 mL reaction system in total contained 6 mg beet pectin, 15 U Laccase and could react 24 h under 40℃. When controlled this reaction on the interface of emulsion, the results of laser diffraction granulometer showed that the character of emulsion was inconsistent under different reaction systems. Laccase system will cause layer between bovine serum albumin and whey protein isolated emulsions. The longer of reacting time, the more obvious of layers. While in HRP reaction system, it brought improvement to the stability of bovine serum albumin emulsion.

Key words Beet pectin, Horseradish peroxidase, Laccase, Cross-linked enzymatic, Emulsion

引言

甜菜果胶(beet pectin)是从甜菜榨糖后残余的

甜菜渣中提取而来的新型果胶。与其他果胶相比,甜菜果胶“毛发区”(hairy region)存在有阿魏酸基团^[1-4],约占中性糖残基含量的0.61%~2.5%^[5]。

收稿日期:2010-05-17 修回日期:2010-06-09

^{*} 国家自然科学基金资助项目(20976187)、2010年度北京市优秀人才培养计划资助项目(2010D009007000004)和教育部新世纪优秀人才计划资助项目(NCET-09-0741)

作者简介: 郇金龙,硕士生,主要从事食品乳化液的修饰改良研究,E-mail: shenlong1000@gmail.com

通讯作者: 殷丽君,教授,博士生导师,主要从事食品材料的微细化加工及相关评价技术研究,E-mail: ljiyin@cau.edu.cn

较多的研究已经表明,阿魏酸无论是以单体还是以残基形式存在时,都能被一些氧化还原酶氧化而发生交联。王鹏等^[6]发现,阿魏酸在漆酶的作用下能够与未漂浆中的残余木素聚合,在纤维表面产生抗水性的化学键,从而增强纸张的湿强度。马福敏等^[7]采用过氧化物酶(POX)/H₂O₂和漆酶(Laccase)/O₂体系研究了全麦粉中阿拉伯木聚糖的氧化交联性质,认为在有 Laccase 和 POX 存在时,阿拉伯木聚糖重均分子质量增加,阿魏酸含量降低。Rombouts 等^[3]研究了以 Laccase 为催化剂,甜菜果胶为底物,实现果胶分子间的交联,并评价了交联后凝胶的持水性。这些研究结果表明阿魏酸基团是 Laccase 和 POX 的良好底物。

蛋白质乳状液已经广泛应用于食品工业。单一的蛋白质作为乳化剂制得的乳状液容易脱稳,如分层、聚合、凝聚,最终导致油水分离、蛋白质沉淀等。导致这些不稳定现象的原因主要是由于蛋白自身对环境因素敏感、易凝聚造成的。另外,不同结构的蛋白质乳化性能差异也很大^[8]。目前,对于改善蛋白质乳状液稳定性的研究报道较多^[9-13],大多集中在以下方面:运用化学交联剂或酶引发乳化界面上的蛋白质分子间或分子内发生交联;通过静电吸附作用在乳化液界面上形成蛋白-多糖静电吸附层从而改善乳化液的稳定性;运用美拉德反应机理,使乳化液界面上的蛋白糖基化。

为了避免静电吸附作用在 pH 值变化时发生解吸,以及美拉德反应的不可控性和反应复杂性,本文探索一种新的蛋白质 O/W 型乳化液的稳定性改良方法。即首先通过改变乳化液 pH 值使乳液中蛋白质带正电,然后加入带负电的甜菜果胶使之吸附在乳化液界面上,再加入辣根过氧化物酶(HRP)或 Laccase,在蛋白质乳液表面催化甜菜果胶间共价交联并在乳液表面形成具有一定刚性的果胶“保护壳”,从而起到改善和稳定乳状液性能的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

阿魏酸(fumalic acid,简称 FA,西安小草植物科技有限责任公司,质量分数不小于 99% HPLC 级),甜菜果胶(德国,Herbstreith & Fox KG 公司,酯化度大于 50%),柑橘果胶(6 个品种,分别来自 Sigma、Fluka 以及 Herbstreith & Fox KG 公司),苹果果胶(2 个品种:分别来自 Sigma、Herbstreith & Fox KG 公司),牛血清白蛋白第五组分(bovine serum albumin V,简称 BSA,瑞士 Roche 公司),乳清分离蛋白(whey protein isolate,简称 WPI,美国 Glanbia 公司),

辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase,简称 HRP,250 U/mg,瑞士 Roche 公司),漆酶(Laccase,3 000 U/g,武汉远城科技发展有限公司,食品级),H₂O₂(国药集团化学试剂有限公司,质量分数 30%),大豆油(市售食用大豆油),其他试剂皆为分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外-可见分光光度仪(日本岛津公司,UVmini-1240 型),傅里叶变换红外光谱仪(美国尼高力公司,NEXUS 6700 型),高速均质仪(德国 IKA 公司,T25basic 型),高压均质机(意大利 GEA Niro Soavi 公司,NS1001L 型),激光衍射粒度仪(美国贝克曼库尔特公司,LS230 型),pH 计(德国赛多利斯,DS89723 型),恒温水浴振荡器(哈尔滨东联电子技术开发有限公司,HZS-H 型)。

1.3 实验方法

1.3.1 不同果胶阿魏酸含量测定

阿魏酸在波长 290 ~ 330 nm 附近有良好的紫外吸收^[14]。实验中,将一定量的阿魏酸标品溶于 50 mmol/L 磷酸缓冲液(PBS,pH 值 7.0)中,在波长 200 ~ 800 nm 范围内进行全波长扫描发现其在波长 310 nm 处存在最大吸收峰。然而对甜菜果胶溶液进行 200 ~ 800 nm 范围全波长扫描发现在波长 325 nm 处有一个最大吸收峰。甜菜果胶中的阿魏酸以残基形式存在,导致其最大吸收波长会有偏移。故后期实验皆以波长 325 nm 作为检测波长。

果胶阿魏酸标准曲线建立:称取 2mg 阿魏酸标品,溶于 50 mmol/L、pH 值 7.0 的 PBS 中溶解完全并定容至 100 mL,得到 20 μg/mL 的阿魏酸标准液。将此标准液分别配成 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 μg/mL 的梯度标准液,以 PBS 为空白,在波长 325 nm 处测得吸光值并建立标准曲线。

不同品种果胶配制成一定质量浓度的样品液,在波长 325 nm 处测定吸光值,并根据阿魏酸标准曲线计算阿魏酸含量。

1.3.2 酶促反应体系建立

称取 40 mg HRP 和 2.5 g Laccase,分别溶于 50 mmol/L、pH 值 7.0 的 PBS 中,定容至 100 mL,得到 100 U/mg 和 75 U/mg 的酶液。

配置一定量的 2 mg/mL 的果胶液。H₂O₂ 质量分数 5% (现配现用)。HRP/H₂O₂ 体系为:3 mL 甜菜果胶液,0.5 mL H₂O₂,0.2 ~ 1.0 mL HRP(总反应体积 5 mL,不足以 PBS 补足),35℃,pH 值 4.0,反应 2 ~ 24 h;Laccase 体系为:3 mL 甜菜果胶液,0.2 ~ 1.0 mL Laccase(总反应体积 5 mL,不足以 PBS 补足),敞口容器中 40℃ 反应,pH 值 4.0,反应 2 ~

24 h。在波长 325 nm 处测定吸光值变化。

1.3.3 傅里叶变换红外光谱表征酶促交联

将酶促反应体系同比例扩大反应量至 20 mL, 反应后将反应液进行适度浓缩, 用傅里叶变换红外光谱仪法在波数 400 ~ 4 000 cm⁻¹ 扫描测得红外图谱。

1.3.4 乳化液制备和粒径测定。

乳化液制备参照 Littoz 等^[15] 的方法, 油相与水相体积比为 1:9, 水相中蛋白质质量浓度为 5 mg/L, 油水两相混合后先用高速均质机以 13 000 r/min 均质 2 min, 然后在 60 MPa 下用高压均质机均质一次 (两级均质阀控制, 一级阀 60 MPa, 二级阀 6 MPa)。

粒径测定使用激光衍射粒度仪 (Small Volume Module, 测试范围: 0.04 ~ 2 000 μm), 实验中大豆油的折射率为 1.436, 蒸馏水的折射率为 1.333, 粒子的吸收值为 0.001。每个样品设置两个平行。以粒径-体积分数作图。

1.3.5 甜菜果胶交联“保护壳”的制备

将制备得到的乳化液按乳液与果胶液体积比为 2:3 的比例与 2 mg/mL 的甜菜果胶液均匀混合, 用 1 mol/L 的 HCl 调整乳液 pH 值至 4.0。按 1.3.2 节中确定的体系最适量比例及反应条件进行酶促反应。

1.3.6 甜菜果胶交联前后影响评价

按照 1.3.5 节所述, 反应结束后用 1 mol/L NaOH 将乳液 pH 值调回到 7.0, 比较 pH 值调节前后乳状液粒径以及稳定性变化趋势。

2 结果与分析

2.1 不同果胶阿魏酸含量

实验中首先在波长 325 nm 下获得了阿魏酸的标准曲线 ($R=0.999\ 65$), 据此测定了 9 种不同来源的果胶中阿魏酸的含量 (表 1)。结果表明, 由于果胶来源、提取方式等差异, 果胶中阿魏酸含量也有差异。例如, 同样是苹果果胶, 苹果果胶 a 中的阿魏酸含量仅为苹果果胶 b 的 1/3。本实验所选用的甜菜果胶中阿魏酸含量却明显高于其他所有种类的果胶。紫外-可见全波长扫描也证实这个研究结果 (图 1)。

表 1 不同果胶品种 的阿魏酸质量分数

Tab.1 Ferulic acid content in different kinds of pectins

甜菜果胶	柑橘果胶						苹果果胶	
	A	B	C	D	E	F	a	b
1.916	0.088	0.120	0.063	0.325	0.284	0.464	0.288	0.912

注: 编号 A ~ F, a、b 代表同种果胶不同的来源、提取方式、技术指标。

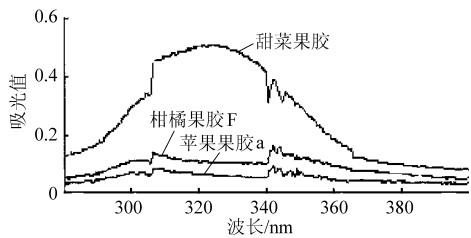


图 1 3 种果胶紫外可见分光光度法全波长扫描图
Fig.1 UV-visible spectrophotometry of three types of pectins

2.2 酶促交联反应体系

实验中采用 HRP/H₂O₂ 和 Laccase/O₂ 两种体系来实现甜菜果胶的交联。结果发现, HRP 催化反应速率较快, 2 h 后反应基本完全 (图 2), 而 Laccase 则大致在 24h 后才能反应完全 (图 3), 并且 HRP/H₂O₂ 体系引起的吸光值变化较大, 意味着 HRP/H₂O₂ 催化效率相对较高。同时, 柑橘果胶和苹果果胶的吸光值变化趋势也再次印证了这两种果胶中阿魏酸含量较低。就实验所设置的甜菜果胶量而言, 20 U 的 HRP 或者 15 U 的 Laccase 都能使反应完全, 因此后期实验按此比例添加酶用量。两种体系反应后期吸光值变化不是平稳不变而是略有上升, 这可能与两种酶同属于蛋白, 在波长 325 nm 处也有吸收有关。

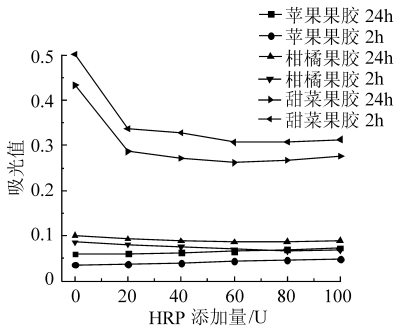


图 2 不同果胶 HRP/H₂O₂ 体系下的酶促反应
Fig.2 Enzymatic reactions of different pectins in HRP/H₂O₂ system

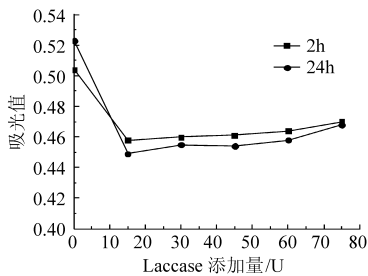


图 3 甜菜果胶 Laccase 体系下的酶促反应
Fig.3 Enzymatic reactions of beet pectins in Laccase system

需要说明的是, 实验结果 (图 2) 也表明同一样品、同一加酶量在不同时间段所测的吸光值不一致,

这是由于果胶属于大分子,其空间结构影响吸光值。另外,果胶长时间在水浴中加热也在一定程度上使果胶分子伸展,阿魏酸基团更加暴露在水相中,所以增加了吸光值。由于空白对照也存在着这种效应,所以不影响不同加酶剂量下的比较。

2.3 傅里叶变换红外光谱

由图 2 和图 3 可以认为,在两种酶促体系下甜菜果胶中的阿魏酸基团由于酶的作用而含量降低,但是这种含量的降低能否说明果胶已经通过阿魏酸基团发生交联还有待更直观的检测手段来证实,本文进一步采用傅里叶变换红外光谱法 (Fourier transform infrared spectrometry,简称 FTIR) 来进一步表征果胶交联。

实验中选取 HRP/H₂O₂ 体系下的空白对照 (0 U)、20 U、80 U, Laccase 体系下的 15 U 作为检测样品,实验结果如图 4 所示。从光谱图可以看出,与空白对照相比,加入酶后在波数为 2 074 cm⁻¹ 处出现新的波峰。该波峰位于红外的特征基团振动频率区 (4 000 ~ 1 330 cm⁻¹),属于苯环的特征振动频率,这可能和阿魏酸的结构主体属于苯环有关。阿魏酸残基的交联加强了苯环的振动效应,导致了在波数 2 074 cm⁻¹ 处出现新的波峰,这也与 Stephen^[16] 的总结相符,即交联发生在苯环之上或使苯环更接近 (图 5),从一个侧面证实了甜菜果胶发生了交联。

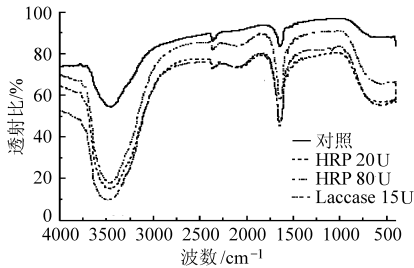


图 4 酶促甜菜果胶交联的傅里叶变换红外光谱图

Fig. 4 FTIR result of enzymatic cross-linking among beet pectin

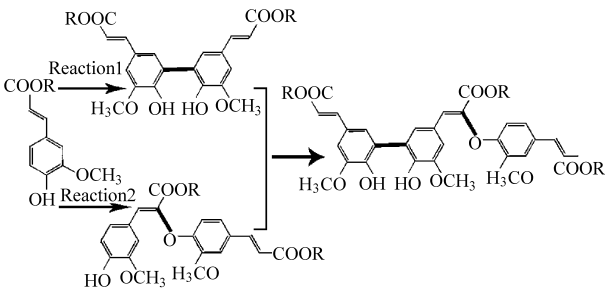


图 5 阿魏酸残基可能的酶促交联反应

Fig. 5 Enzymatic oxidation cross-linking reaction among ferulic acid residues

2.4 交联果胶对乳状液影响的初步评价

乳化液的评价指标较多,包括分层效应、流变特

性、粒径分布等。而粒径分布相对而言是表征乳化液状态的最直观的指标。

实验中以牛血清白蛋白 (BSA) 和乳清分离蛋白 (WPI) 作为乳化剂制备乳化液。并评价不同处理环节的乳液粒径变化趋势 (图 6、图 7)。图中,原乳液是指经高压均质以后未作任何处理, pH 值 4.0 → 7.0 是指 pH 值在 4.0 下反应一定时间后再将乳液 pH 值调回到 7.0。

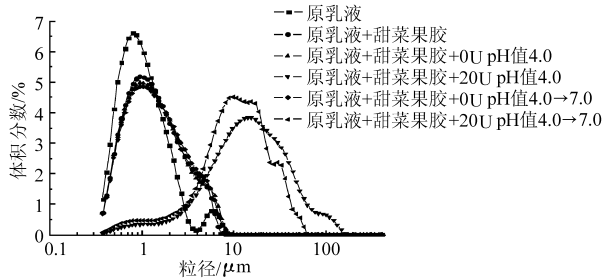


图 6 Laccase 催化甜菜果胶交联对于 WPI 乳液粒径的影响

Fig. 6 Effect of cross-linking of beet pectin catalysed by Laccase on particle size of WPI stabilized emulsions

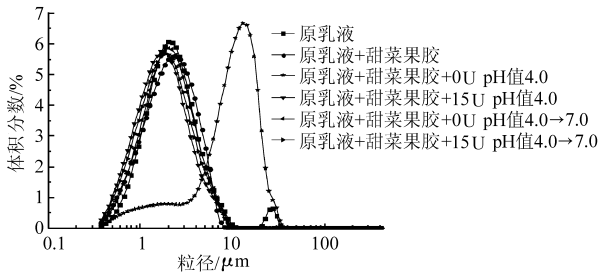


图 7 HRP 催化甜菜果胶交联对于 BSA 乳液粒径的影响

Fig. 7 Effect of cross-linking of beet pectin catalysed by HRP on particle size of BSA stabilized emulsions

从图 6、7 可以看出,经 Laccase 催化后, WPI 乳液粒径明显变大 (大于果胶自身吸附到乳液液滴上引起的粒径增大), pH 值调回到 7.0 后酶催化后乳液粒径基本保持在已经增大的状态,说明 Laccase 能够使乳液外覆盖一层交联甜菜果胶外壳,并且这种交联作用明显大于 WPI 与果胶本身在 pH 值 7.0 的静电排斥作用,从而交联外壳不发生断裂。HRP 体系下, BSA 乳液却没有因为酶催化作用使乳液粒径明显变大,基本保持在与原液一致的状态,可能是因为 HRP 能够引起更多的果胶发生交联 (图 2、3),进而使果胶空间结构发生较大变化,屏蔽了大部分的负电荷,导致交联后的果胶无法吸附到 BSA 乳液液滴上。

尽管如此,体系的粒径变化除了酶的影响外,还受到蛋白种类的影响。在 BSA 乳液中,无论加酶与否,体系 pH 值调回到 7.0 以后,都能保持在大粒径区域;而无论是否在 WPI 乳液中加酶,乳液都能够保持原有乳液粒径不发生变化 (结果未列出)。

实验中也发现,Laccase 体系会使 WPI 乳化液分层明显,而 HRP 体系却能基本消除 BSA-果胶吸附导致的分层现象。

虽然本实验对于酶促甜菜果胶交联后对蛋白质乳液的影响进行了考察,并得出了鉴于实验设置的结果与结论,然而交联果胶改良后的乳化液,由于蛋白自身种类的差异,酶促反应作用效果的不同以及果胶、蛋白作为高分子本身具有复杂的界面相互作用^[13]影响,使得实验所设置的体系非常复杂。对不同温度、离子强度以及 pH 值等环境因素的耐受程度也有待考察。因此,有必要对相关机理进行更系统、明确的探索研究。

3 结束语

运用辣根过氧化物酶和漆酶两种体系,实现了甜菜果胶的交联,并将这种交联反应与乳液中蛋白-多糖静电吸附作用相结合,初步探索了静电吸附前后,果胶交联作用对于以蛋白质为乳化剂的乳化液的影响。

实验结果表明,果胶交联前后,乳化液状态会发生一定的变化,主要表现为乳液粒径分布趋势发生变化。对于漆酶体系,乳液中发生的甜菜果胶交联反应会明显增大乳液平均粒径,并且乳液分层明显,而辣根过氧化物酶体系不仅没有粒径变大的现象,还能明显减轻 BSA 乳液的分层效应。

参 考 文 献

- 薛长湖,张永勤,李兆杰,等.果胶及果胶酶研究进展[J].食品与生物技术,2005,24(6):94~99.
Xue Changhu, Zhang Yongqin, Li Zhaojie, et al. Recent development of pectin and pectolytic enzyme[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2005, 24(6): 94~99. (in Chinese)
- 孙元琳,汤坚.果胶类多糖的研究进展[J].食品与机械,2004,20(6):60~63.
Sun Yuanlin, Tang Jian. Rsearch progress in pectic polysaccharides[J]. Food and Machinery, 2004, 20(6): 60~63. (in Chinese)
- Rombouts F M, Thibault J F. Feruloylated pectic substances from sugar beet pulp[J]. Carbohydrate Research, 1986, 154(1):177~187.
- Micard V, Thibault J F. Oxidative gelation of sugar-beet pectins: use of laccases and hydrationproperties of the cross-linked pectins[J]. Carbohydrate Polymers, 1999, 39(3):265~273.
- 李兆龙.甜菜果胶[J].食品工业,1991(3):35~37.
- 王鹏,谢益民,范建云.漆酶催化阿魏酸改善纸张湿强度及其机理的研究[J].造纸科学与技术,2008,27(5):6~10.
Wang Peng, Xie Yimin, Fan Jianyun. Study on mechanism of enhancement of wet strength of paper treated with laccase and ferulic acid[J]. Paper Science & Technology, 2008, 27(5): 6~10. (in Chinese)
- 马福敏,刘燕,王璋,等.全麦粉中阿拉伯木聚糖氧化交联性质的研究[J].食品与发酵工业,2008,34(9):20~26.
Ma Fumin, Liu Yan, Wang Zhang, et al. Studies on the oxidative cross-linking of arabinoxylans from whole wheat flour[J]. Food and Fermentation Industries, 2008, 34(9): 20~26. (in Chinese)
- 齐军茹,彭志英.蛋白乳化活性与分子结构的关系[J].中国食品添加剂,2004(2):52~55.
Qi Junru, Peng Zhiying. Relationship between the emulsifying activity of protein and it's molecular structure[J]. China Food Additives, 2004(2): 52~55. (in Chinese)
- 张红.蛋白质交联研究概况[J].粮食与油脂,2004(12):16~19.
Zhang Hong. Summarization of protein cross-linking[J]. Journal of Cereals & Oils, 2004(12): 16~19. (in Chinese)
- 赵喜红,罗志刚,何小维.蛋白-多糖复合物及其应用研究进展[J].安徽农业科学,2007,35(6):1582~1584.
Zhao Xihong, Luo Zhigang, He Xiaowei. Research advance in the conjugation of protein and polysaccharide and its application[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(6): 1582~1584. (in Chinese)
- 许朵霞,许洪高,毛立科,等.蛋白质多糖共价复合物的研究进展[J].食品研究与开发,2008,29(11):186~189.
Xu Duoxia, Xu Honggao, Mao Like, et al. Research advances in the conjugation of protein and polysaccharide through covalent iinteraction[J]. Food Research and Development, 2008, 29(11): 186~189. (in Chinese)
- 孙哲浩,赵谋明.蛋白质与果胶在界面上的交互作用[J].现代食品科技,2006,22(2):240~242.
Sun Zhehao, Zhao Mouming. Interaction of protein and pectin in interface[J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(2): 240~242. (in Chinese)
- 熊拯,郭兴凤,谈天.蛋白质-阴离子多糖相互作用研究进展[J].粮食与油脂,2006(10):15~17.
Xiong Zheng, Guo Xingfeng, Tan Tian. Research progress in the interactions of protein-anionic polysaccharide[J]. Journal of Cereals & Oils, 2006(10): 15~17. (in Chinese)
- 龚明贵,董娟娥,李进瞳,等.纸色谱分离-紫外分光光度法测定当归中阿魏酸含量[J].西北农林科技大学学报,2005,

33(5):49~52.

Gong Mingui, Dong Juane, Li Jintong, et al. Determination of ferulic acid in angelica sinensis root by pc-spectrophotometry method[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, 2005,33(5):49~52. (in Chinese)

- 15 Littoz F O, McClements D J. Bio-mimetic approach to improving emulsion stability: cross-linking adsorbed beet pectin layers using laccase[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(7):1 203~1 211.
- 16 Stephen C F. Oxidative coupling of tyrosine and ferulic acid residues: intra- and extra- protoplasmic occurrence, predominance of trimers and larger products, and possible role in inter-polymeric cross-linking[J]. Phytochemistry Reviews, 2004,3(1):97~111.
- 17 钟芳,麻建国,王璋,等. 蛋白质-多糖共价复合物[J]. 食品科技,2000(5):12~15.
Zhong Fang, Ma Jianguo, Wang Zhang, et al. Covalent conjugate of proteins and polysaccharides[J]. Food Science and Technology, 2000(5):12~15. (in Chinese)
- 18 申瑞玲,田广瑞. 食品中蛋白质-多糖混合体系研究进展[J]. 粮食与油脂,2009(7):1~3.
Shen Ruiling, Tian Guangrui. A review of recent developments in the mixed system of protein-polysaccharide of foods[J]. Journal of Cereals & Oils, 2009(7):1~3. (in Chinese)
- 19 宋江峰. 多糖对蛋白质乳液稳定性影响机理研究[J]. 粮食与油脂,2008(9):1~3.
Song Jiangfeng. Research in effects of polysaccharides on protein-stabilized emulsions[J]. Journal of Cereals & Oils, 2008(9):1~3. (in Chinese)
- 20 Steefensen C L. Cross-linking proteins by laccase-catalyzed oxidation: importance relative to other modifications[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2008,56(24):12 002~12 010.
- 21 Minussi R C. Potential applications of laccase in the food industry[J]. Trends in Food Science and Technology,2002,13(6~7):205~216.
- 22 Kuuva T, Lantto R, Reinikainen R, et al. Rheological properties of laccase-induced sugar beet pectin gels[J]. Food Hydrocolloids,2003,17(5):679~684.

(上接第 133 页)

- 10 刘成红,张平,李江阔,等. 真空包装对磨盘柿脱涩保脆效果的影响[J]. 食品工业科技,2008,29(11):244~247.
Liu Chenghong, ZhangPing, Li Jiangkuo, et al. Effect of de-astringent and crispness-keeping on Mopan persimmon of vacuum packing[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(11):244~247. (in Chinese)
- 11 李丽萍,韩涛,刘佳阳,等. 单果真空包装对冷藏涩柿品质和有关生化变化的影响[J]. 农业工程学报,1998,14(1):233~237.
Li Liping, Han Tao, Liu Jiayang, et al. Changes of quality and related enzymes activity of individual air-evacuated packaging astringency persimmon during cold storage [J]. Transactions of the CSAE, 1998, 14(1):233~237. (in Chinese)
- 12 赵斌,谢阳青. 真空包装技术在柿果脱涩保鲜中的应用[J]. 农产品加工,2003(4):39.
- 13 孙希生,王文辉,李志强,等. 1-MCP 对砀山酥梨保鲜效果的影响[J]. 保鲜与加工,2001,1(6):14~17.
Sun Xisheng, Wang Wenhui, Li Zhiqiang, et al. Effects of 1-MCP on cold storage of Dangshansuli pears[J]. Storage and Process, 2001,1(6):14~17. (in Chinese)
- 14 郑巧林. 柿果真空包装脱涩和保鲜技术的研究[D]. 上海:华中农业大学,2001:10~11.
- 15 李建华. 柿子的脱涩与贮藏保鲜[J]. 山西农业,2001(10):42~43.
- 16 郝再彬. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004:106~108.