

γ-聚谷氨酸对面筋蛋白冻藏稳定性的影响

谢新华^{1,2} 毋修远^{1,2} 张蓓^{1,2} 徐超^{1,2} 张艳杰^{1,2} 沈玥^{1,2}

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450002; 2. 农业部大宗粮食加工重点实验室, 郑州 450002)

摘要: 为提高面筋蛋白的冻藏稳定性,采用核磁共振仪、傅里叶红外光谱仪、差示扫描量热仪、热重分析仪、动态流变仪和扫描电子显微镜测定冻藏条件下添加 γ-聚谷氨酸的面筋蛋白体系中水分分布、二级结构、热力学特性、流变学特性及微观结构。结果表明,添加 1% γ-PGA 使冻藏期间面筋蛋白中弱结合水向自由水的转化量显著减少,抑制了面筋蛋白二级结构中 α-螺旋下降和无规则卷曲增大,提升了面筋蛋白的热力学稳定性,冻藏 49 d 时相比对照组面筋蛋白变性温度提高 4℃,失重率提升较小;随冻藏时间延长,添加 1% γ-PGA 的面筋蛋白储能模量及损耗模量的下降不明显,且面筋蛋白三维网络结构较均匀,孔径较小,连续性较好。γ-PGA 能有效减弱冻藏对面筋网络的破坏,提升面筋蛋白的冻藏稳定性。

关键词: γ-聚谷氨酸; 面筋蛋白; 冻藏; 蛋白质结构; 稳定性

中图分类号: TS213.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)07-0369-06

Effect of Poly-γ-glutamicacid on Freezing Stability of Gluten Protein

XIE Xinhua^{1,2} WU Xiuyuan^{1,2} ZHANG Bei^{1,2} XU Chao^{1,2} ZHANG Yanjie^{1,2} SHEN Yue^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

2. Key Laboratory of Staple Grain Processing, Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Nuclear magnetic resonance instruments (NMR), Fourier transform infrared spectrometer (FTR), differential scanning calorimetry (DSC), dynamic rheometers (DHR) and scanning electron microscopy (SEM) were used to study the effect of poly-γ-glutamicacid (γ-PGA) addition on the stability of gluten protein during frozen storage. Gluten protein was measured on days 0, 7, 21, 35 and 49, respectively. The thermal hysteresis activity of γ-PGA was measured by DSC. The results showed that γ-PGA had good antifreeze activity. The obtained results showed that supplementation with 1% γ-PGA lowered the conversion of immobilized water to free water in gluten during frozen storage. γ-PGA inhibited the decrease of α-helix and the increase of random coil during frozen storage, and the addition of γ-PGA significantly increased the α-helix content. The results of DSC and TGA showed that the addition of γ-PGA improved the thermodynamic stability of gluten protein. The denaturation temperature of gluten protein increased by 4℃, and the increase in weight loss caused by frozen storage was also smaller than that of the control group. With the extension of frozen storage time, the decrease of G' and G'' of gluten protein added with γ-PGA was lower than that of control group. The electron microscope results showed that the gluten network structure with γ-PGA added was more uniform, smaller in pore size and better in continuity after 49 d of frozen storage. The above results indicate that γ-PGA can effectively inhibit the growth and recrystallization of ice crystals, weaken the destruction of gluten network by frozen storage, and improve the frozen storage stability of gluten.

Key words: poly-γ-glutamicacid; gluten protein; frozen storage; protein structure; stability

0 引言

冷冻面制品具有安全、便捷的优点,但冷冻储藏

后产品品质劣变和稳定性下降的缺点也十分明显。作为面制品的重要影响因素,小麦面筋蛋白由醇溶蛋白和谷蛋白组成,能通过吸水形成三维网络结构

并对面团持水率以及流变学性能产生影响^[1]。在小麦面筋蛋白冻藏过程中,会出现冰晶生长及温度不稳定所产生的重结晶现象,其导致的面筋网络结构物理性破坏是面筋蛋白品质劣变的主要因素之一^[2],现阶段解决方法主要有对冷冻工艺的优化、添加改良剂如抗冻蛋白、食用胶等^[3-5],且对亲水胶体、抗冻蛋白等抗冻剂的研究报道大都集中在对冷冻面团品质的改善等方面。

γ -聚谷氨酸 (Poly- γ -glutamicacid, γ -PGA) 是一种多聚氨基酸类的环保型多功能生物可降解高分子材料^[6]。MITSUIKI 等^[7]研究发现 γ -PGA 是有效的冷冻保护剂,且添加对味道影响较小。SHIH 等^[8]研究发现 γ -聚谷氨酸抗冷冻能力随分子量下降而增加,并在食品、菌种以及酶的保存中得以应用。KUMIO 等^[9]研究发现,添加 γ -PGA 可提高冷冻面团中酵母细胞的存活率,增强酵母耐冻性能。本文旨在研究冻藏条件下 γ -聚谷氨酸对面筋蛋白抗冻性能的影响,采用核磁共振仪器(NMR)、傅里叶变换红外(FITR)、差示扫描量热仪(DSC)、热重分析仪(TGA)、动态流变仪(DHR)和扫描电子显微镜(SEM)对冻藏过程中冷冻面筋蛋白体系的水分分布、蛋白二级结构、热力学特性、流变学特性及微观结构进行测定,揭示 γ -PGA 对面筋蛋白冻藏稳定性影响的作用机制,为 γ -PGA 作为一种抗冻剂添加在冷冻面制品中提供基础研究依据。

1 材料与方法

1.1 材料

面筋蛋白购自一加一天然面粉有限公司,蛋白质质量分数 82%。 γ -聚谷氨酸购自西安四季生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

将小麦面筋蛋白与水按液料比 1.5 mL/g 混合(根据文献及预实验, γ -PGA 组加入占面筋蛋白质量 0.5% 和 1% 的 γ -PGA),混合采用漩涡振荡的方式避免面筋蛋白结块。将制得的湿面筋蛋白用保鲜膜包覆置于 4℃ 平衡 1 h,后放于 -40℃ 低温冷柜速冻 2 h,然后置于 -18℃ 冷藏 0、7、21、35、49 d,即为冷冻湿面筋蛋白。部分样品置于室温(20℃)解冻 2 h 后直接测定,部分样品采用美国 FTS 公司 Flexi-Dry 型冷冻干燥机干燥后,粉碎、研磨,过 120 目筛置于干燥器备用。

1.2.2 γ -PGA 热滞活性测定

参照文献[4]使用德国仪器制造有限公司的 DSC-214 型差示扫描量热仪对 γ -PGA 的热滞活性

(Thermal hysteresis activity, THA)进行测定,记录样品熔点 T_m 、熔融焓 ΔA_m 、保留温度 T_h 、冻结起始温度 T_0 和部分冻结时的熔融焓 ΔA_f 。样品体系的冰晶质量分数 Φ 和热滞活性 T_γ 计算公式为

$$\Phi = \left(1 - \frac{\Delta A_f}{\Delta A_m}\right) \times 100\%$$
$$T_\gamma = T_h - T_0$$

1.2.3 面筋蛋白中水分分布测定

采用上海纽迈电子科技有限公司 Micro MR 型核磁共振仪测定弛豫时间 T_2 。参数设置:共振频率为 22 MHz,磁体温度为 32℃,90°脉冲时间为 18 μ s,180°脉冲时间为 36 μ s,采样点数为 416 616,模拟增益 R_{G1} 为 20,模拟增益 R_{G2} 为 3,累加次数为 32,回波个数为 5 000,数字增益为 3^[10]。

1.2.4 面筋蛋白二级结构测定

蛋白二级结构由布鲁克科技有限公司 TENSOR II 型傅里叶红外光谱仪测定。参数设置:扫描范围 400 ~ 4 000 cm^{-1} ;扫描 256 次;分辨率 4 cm^{-1} ^[11]。对结果中酰胺 I 吸收峰(1 600 ~ 1 700 cm^{-1})位置基线校正、高斯去卷积和二阶求导后进行曲线拟合,各特征峰与面筋蛋白二级结构对应关系参照文献[12]。

1.2.5 面筋蛋白热力学特性测定

DSC(面筋蛋白变性温度 T_p)测定:从 20℃ 以 5℃/min 加热至 100℃;TGA(面筋蛋白热降解温度 T_d 及失重率)测定:从 50℃ 以 10℃/min 升温速率加热至 600℃^[10],TGA 测定采用美国 TA 仪器有限公司 Q500 型热重分析仪。

1.2.6 面筋蛋白流变学特性测定

采用美国 TA 仪器有限公司 DHR-2 型旋转流变仪测定动态流变学特性。参数设置:平板直径为 40 mm,夹具间隙为 1.2 mm,扫描频率为 0.01 ~ 100 Hz,应力为 1%,温度为 25℃^[4]。

1.2.7 面筋蛋白微观结构观察

所有样品冷冻干燥后表面喷金,用美国 FEI 公司 Quanta FEG 250 型场发射扫描电镜进行 1 000 倍观察^[13]。

1.2.8 数据分析

用 SPSS 22.0 对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 γ -PGA 热滞活性

THA 常用来表征抗冻活性的主要特异性指标^[14]。 γ -PGA 的 DSC 冻融曲线见图 1。由表 1 可看出,当保留温度从 -3.25℃ 增加至 -2.75℃ 时,样品冰晶含量最少,放热曲线面积最大。当保留温度

为 -2.75°C 时, T_{γ} 达到最大值为 1.65°C , 这表明 γ -PGA 具有抗冻活性。

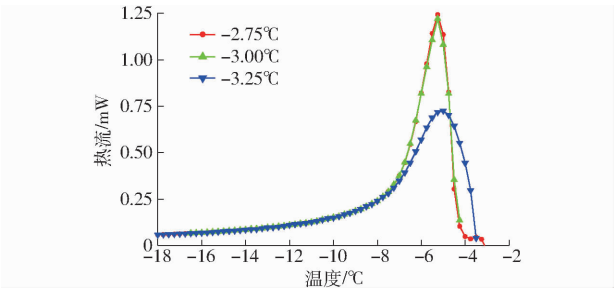


图 1 γ -PGA 在不同保留温度下的再次冻结 DSC 曲线
Fig. 1 DSC curves of re-freezing of γ -PGA at different retention temperatures

表 1 γ -PGA 在不同 T_h 下的 T_o 、 Φ 和 T_{γ}
Tab. 1 Onset temperature (T_o), ice fraction (Φ) and THA (T_{γ}) of γ -PGA at different hold temperatures (T_h)

$T_h/^{\circ}\text{C}$	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$\Phi/\%$	$T_{\gamma}/^{\circ}\text{C}$
- 3. 25	- 3. 27	30. 2	0. 02
- 3. 00	- 4. 40	24. 6	1. 40
- 2. 75	- 4. 40	18. 2	1. 65

2.2 γ -PGA 对面筋蛋白体系水分分布的影响

由图 2 可知,面筋蛋白中水分子主要以 3 种状态存在,与大分子结合紧密的结合水 (T_{21})、与大分子结合较弱的弱结合水 (T_{22}) 和游离的自由水 (T_{23})^[15]。由图 2、表 2 可知,随冻藏时间增加,对照组弱结合水含量显著下降,自由水含量显著增大,结合水含量无显著变化,这与 DING 等^[13] 结果相似。添加 1% 的 γ -PGA 使自由水增大趋势被遏制,冻藏 35 d 后只增加 1.5%,远小于对照组,同时优于 0.5% 添加组,弱结合水含量在冻藏期间无显著变

化,说明 γ -PGA 有效减弱了弱结合水向自由水的转化,这是因为 γ -PGA作为阴离子型亲水多肽,自身大量羧基能较好吸附自由水,同时面筋蛋白与 γ -PGA 阴离子基团间可能产生相互作用,形成面筋蛋白-多肽复合网络,限制水分的流动^[16-17],降低了冻藏导致的面筋蛋白中水分流动性增大。

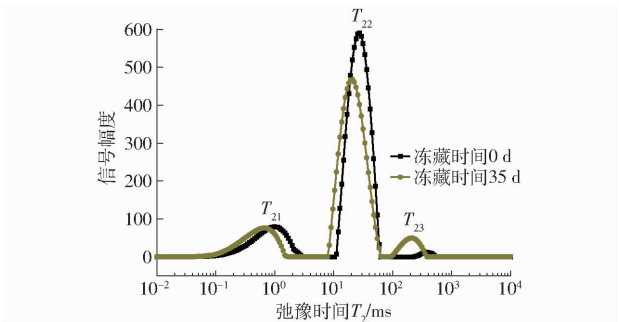


图 2 面筋蛋白中水分子弛豫时间分布
Fig. 2 Distribution of relaxation time (T_2) of water molecules in gluten proteins

2.3 γ -PGA 对面筋蛋白体系二级结构的影响

由表 3 可知,随冻藏时间的增加蛋白二级结构发生显著变化,这是因为冻藏破坏了面筋蛋白中起骨架作用的螺旋结构,使分子尺寸变小,延展性减弱^[18],同时冻藏导致蛋白分子内和分子间出现新的分子交联,改变了蛋白的二级结构。相比对照组,添加 1% 的 γ -PGA 削弱了 α -螺旋在冻藏期间的下降趋势,并使无规则卷曲相对含量的增加下降了 10%。这是因为 γ -PGA 有效束缚了冻藏期间面筋蛋白中水分流动,抑制了面筋蛋白中冰晶的生长和重结晶现象的发生,保护了面筋网络结构,减缓了大分子解聚速度,减弱了二级结构变

表 2 γ -PGA 对冷冻面筋蛋白体系水分子弛豫时间 T_{21} 、 T_{22} 、 T_{23} 对应峰面积占比
Tab. 2 Effect of γ -PGA on relaxation times (T_{21} , T_{22} and T_{23}) and corresponding peak area in frozen gluten protein system

γ -PGA 添加量/%	冻藏时间/d	$A_{21}/\%$	$A_{22}/\%$	$A_{23}/\%$
0 (对照组)	0 (对照组)	(10. 21 $\pm$ 0. 24) ^a	(87. 16 $\pm$ 0. 41) ^a	(2. 63 $\pm$ 0. 56) ^a
	7	(9. 88 $\pm$ 0. 70) ^a	(85. 79 $\pm$ 1. 23) ^a	(4. 33 $\pm$ 0. 40) ^b
	21	(10. 58 $\pm$ 0. 52) ^a	(82. 94 $\pm$ 0. 98) ^b	(6. 49 $\pm$ 0. 48) ^c
	35	(11. 51 $\pm$ 0. 31) ^a	(79. 31 $\pm$ 0. 73) ^c	(9. 51 $\pm$ 0. 35) ^d
	49	(10. 41 $\pm$ 0. 97) ^a	(83. 80 $\pm$ 0. 51) ^b	(6. 79 $\pm$ 0. 28) ^c
0. 5	0	(10. 21 $\pm$ 0. 24) ^a	(87. 16 $\pm$ 0. 41) ^a	(2. 63 $\pm$ 0. 06) ^a
	7	(9. 49 $\pm$ 0. 30) ^a	(88. 25 $\pm$ 0. 59) ^a	(2. 26 $\pm$ 0. 07) ^a
	21	(10. 64 $\pm$ 0. 48) ^a	(84. 73 $\pm$ 1. 38) ^b	(4. 62 $\pm$ 0. 25) ^b
	35	(11. 41 $\pm$ 1. 31) ^a	(82. 14 $\pm$ 0. 47) ^c	(6. 46 $\pm$ 0. 62) ^c
	49	(10. 95 $\pm$ 1. 14) ^a	(84. 05 $\pm$ 0. 81) ^b	(5. 00 $\pm$ 0. 33) ^b
1	0	(10. 81 $\pm$ 1. 06) ^a	(86. 51 $\pm$ 1. 41) ^a	(2. 68 $\pm$ 0. 25) ^{ab}
	7	(11. 12 $\pm$ 0. 93) ^a	(86. 73 $\pm$ 1. 33) ^a	(2. 14 $\pm$ 0. 16) ^a
	21	(10. 20 $\pm$ 0. 60) ^a	(85. 61 $\pm$ 0. 48) ^a	(4. 17 $\pm$ 0. 14) ^b
	35	(11. 38 $\pm$ 0. 45) ^a	(84. 62 $\pm$ 1. 83) ^a	(4. 00 $\pm$ 1. 38) ^b
	49	(10. 43 $\pm$ 0. 24) ^a	(86. 19 $\pm$ 0. 97) ^a	(3. 38 $\pm$ 0. 74) ^{ab}

注: A_{21} 、 A_{22} 、 A_{23} 分别代表 T_{21} 、 T_{22} 、 T_{23} 对应峰面积占比; 同列数字后不同字母表示水平间差异显著 ($P \leq 0. 05$), 下同。

化。对比可知 γ -PGA 增大了面筋蛋白二级结构中 α -螺旋的相对含量,而 α -螺旋作为多肽的稳定骨架支撑,其相对含量的增加也说明 γ -PGA 对蛋白稳定性起到有利影响。

表 3 γ -PGA 对冷冻面筋蛋白体系二级结构的影响
Tab.3 Effect of γ -PGA on the secondary structure of frozen gluten protein system

γ -PGA 添加量/%	冻藏时间/ d	二级结构相对含量/%			
		α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规则卷曲
0(对照组)	0(对照组)	(14.74 $\pm$ 0.50) ^a	(36.52 $\pm$ 0.23) ^a	(32.55 $\pm$ 0.09) ^a	(15.19 $\pm$ 0.64) ^a
	7	(14.35 $\pm$ 0.02) ^{ab}	(36.27 $\pm$ 0.31) ^a	(33.74 $\pm$ 0.36) ^a	(15.64 $\pm$ 0.07) ^a
	21	(13.55 $\pm$ 0.66) ^b	(35.10 $\pm$ 1.95) ^{ab}	(32.40 $\pm$ 0.56) ^a	(18.95 $\pm$ 2.29) ^b
	35	(13.57 $\pm$ 0.67) ^b	(35.08 $\pm$ 1.92) ^{ab}	(32.37 $\pm$ 1.36) ^a	(18.99 $\pm$ 0.55) ^b
	49	(11.85 $\pm$ 0.04) ^c	(32.72 $\pm$ 0.02) ^b	(30.25 $\pm$ 0.12) ^b	(25.18 $\pm$ 0.06) ^c
0.5	0	(23.94 $\pm$ 0.21) ^a	(32.69 $\pm$ 0.19) ^a	(29.54 $\pm$ 0.04) ^{ab}	(13.83 $\pm$ 0.97) ^a
	7	(23.50 $\pm$ 0.30) ^a	(32.42 $\pm$ 0.18) ^a	(29.25 $\pm$ 0.02) ^a	(14.83 $\pm$ 0.57) ^b
	21	(23.32 $\pm$ 0.13) ^b	(32.74 $\pm$ 0.18) ^a	(29.10 $\pm$ 0.10) ^a	(14.84 $\pm$ 0.29) ^b
	35	(22.22 $\pm$ 0.05) ^c	(32.39 $\pm$ 0.29) ^a	(29.98 $\pm$ 0.03) ^b	(15.41 $\pm$ 0.25) ^c
	49	(21.91 $\pm$ 0.06) ^c	(32.12 $\pm$ 0.14) ^a	(30.19 $\pm$ 0.65) ^b	(15.45 $\pm$ 0.25) ^c
1	0	(24.85 $\pm$ 1.45) ^a	(32.87 $\pm$ 0.75) ^a	(28.74 $\pm$ 1.92) ^a	(13.51 $\pm$ 0.13) ^a
	7	(24.00 $\pm$ 0.04) ^b	(32.65 $\pm$ 0.01) ^a	(29.71 $\pm$ 0.02) ^{ab}	(13.55 $\pm$ 0.02) ^a
	21	(23.76 $\pm$ 0.21) ^b	(32.88 $\pm$ 0.01) ^a	(29.73 $\pm$ 0.17) ^{ab}	(13.47 $\pm$ 0.06) ^a
	35	(23.82 $\pm$ 0.07) ^b	(32.68 $\pm$ 0.07) ^a	(29.80 $\pm$ 0.05) ^{ab}	(13.51 $\pm$ 0.11) ^a
	49	(23.61 $\pm$ 0.01) ^b	(33.53 $\pm$ 1.82) ^a	(31.54 $\pm$ 0.67) ^b	(14.23 $\pm$ 1.33) ^a

2.4 γ -PGA 对面筋蛋白体系热力学特性的影响

由表 4 可知,随冻藏时间延长,面筋蛋白的变性温度由 52℃ 显著增加至 57℃。冻藏 49 d 时,添加 1% γ -PGA 的面筋蛋白变性温度比同条件下对照组高 4℃ 左右,说明 γ -PGA 添加使其热变性温度得到提升。热重分析得知冻藏期间面筋蛋白降解温度无

显著变化,失重率显著升高,这是因为冻藏导致面筋蛋白分子间氢键和二硫键进一步断裂,面筋蛋白网络弱化^[19-20],降低了蛋白的高温稳定性。添加 1% γ -PGA 组面筋蛋白相比对照组和 0.5% 添加组失重率提升较小,说明 1% γ -PGA 添加有效保护了蛋白面筋网络,这也与水分迁移及二级结构的结果相对应。

表 4 γ -PGA 对冷冻面筋蛋白体系热力学特性的影响
Tab.4 Effect of γ -PGA on thermodynamic properties of frozen gluten protein system

γ -PGA 添加量/%	冻藏时间/d	T_p /℃	T_d /℃	失重率/%
0(对照组)	0(对照组)	(52.40 $\pm$ 0.11) ^a	(316.24 $\pm$ 0.19) ^a	(73.37 $\pm$ 0.29) ^a
	7	(52.20 $\pm$ 0.10) ^a	(316.20 $\pm$ 0.68) ^a	(74.64 $\pm$ 0.53) ^b
	21	(54.05 $\pm$ 0.85) ^a	(316.59 $\pm$ 0.09) ^a	(75.65 $\pm$ 0.27) ^c
	35	(57.50 $\pm$ 0.60) ^b	(316.20 $\pm$ 0.52) ^a	(75.87 $\pm$ 0.48) ^c
	49	(56.95 $\pm$ 1.45) ^b	(315.57 $\pm$ 0.07) ^a	(77.05 $\pm$ 0.36) ^d
0.5	0	(52.40 $\pm$ 0.10) ^a	(316.22 $\pm$ 0.19) ^a	(73.51 $\pm$ 0.34) ^a
	7	(52.70 $\pm$ 0.20) ^a	(315.88 $\pm$ 0.88) ^a	(74.88 $\pm$ 0.37) ^b
	21	(54.85 $\pm$ 0.97) ^b	(316.75 $\pm$ 0.29) ^a	(74.90 $\pm$ 0.56) ^b
	35	(56.37 $\pm$ 0.72) ^c	(316.23 $\pm$ 0.52) ^a	(75.44 $\pm$ 0.52) ^{bc}
	49	(57.75 $\pm$ 0.85) ^d	(316.18 $\pm$ 1.04) ^a	(76.06 $\pm$ 0.36) ^c
1	0	(54.65 $\pm$ 1.05) ^a	(316.52 $\pm$ 0.34) ^a	(73.52 $\pm$ 0.32) ^a
	7	(54.95 $\pm$ 0.35) ^a	(316.05 $\pm$ 0.82) ^a	(74.52 $\pm$ 0.24) ^b
	21	(61.05 $\pm$ 0.75) ^b	(316.78 $\pm$ 0.28) ^a	(75.01 $\pm$ 0.11) ^b
	35	(58.65 $\pm$ 1.45) ^b	(317.01 $\pm$ 0.71) ^a	(74.61 $\pm$ 0.29) ^b
	49	(61.25 $\pm$ 2.15) ^b	(317.04 $\pm$ 0.32) ^a	(74.66 $\pm$ 0.15) ^b

2.5 γ -PGA 对面筋蛋白体系流变学特性的影响

如图 3 所示,在频率 0.1 ~ 100 Hz 范围内,面筋蛋白 G' 和 G'' 均随频率增加逐渐增大,且是 G' 始终大

于 G'' 的粘弹性体系,显示面筋蛋白是类固体状态,HAYTA 等^[21] 研究也有相似结果。但随着冻藏时间的延长,面筋蛋白体系的 G' 和 G'' 均呈逐渐下降趋

势。这是因为冻藏破坏了谷蛋白空间网络结构,而谷蛋白大分子聚合体对面筋蛋白粘弹性起主要贡献,大分子聚合体解聚致使面筋蛋白粘弹性下降^[22],也可能是随冻藏时间延长,重结晶现象使面筋网络结构发生断裂,蛋白二级结构改变引起面筋蛋白粘弹性变化^[23]。添加 γ -PGA 的面筋蛋白的 G' 和 G'' 虽随冻藏时间增加也出现下降趋势,但下降幅度明显小于对照组,且添加 1% γ -PGA 显著优于 0.5% 的添加。这可能是因为 γ -PGA 包裹在冰晶表面,抑制了面筋蛋白中重结晶现象的发展,保护了面筋网络,抑制了蛋白大分子解聚和蛋白二级结构转化,减弱了冻藏对面筋蛋白体系的破坏^[11]。这说明 γ -PGA 引入有效减缓了冻藏引起的面筋蛋白流变特性的劣变。

2.6 γ -PGA 对面筋蛋白体系微观结构的影响

由图 4 可明显看出,冻藏初期面筋蛋白均保持高度三维网络结构,孔洞致密而均匀,孔径多在 8 ~ 20 μm (图 4a、4d、4g)。随冻藏时间增加,面筋蛋白致密的网络被破坏,出现网络结构开裂、不连续,且孔径增大至 100 μm 左右 (图 4b、4c),这是因冻藏期间蛋白脱水使得冰晶数增加及重结晶现象的发生,致使面筋网络受到不同程度的破坏^[10],而面筋网络劣变造成的蛋白分子量和分子链的变化,一

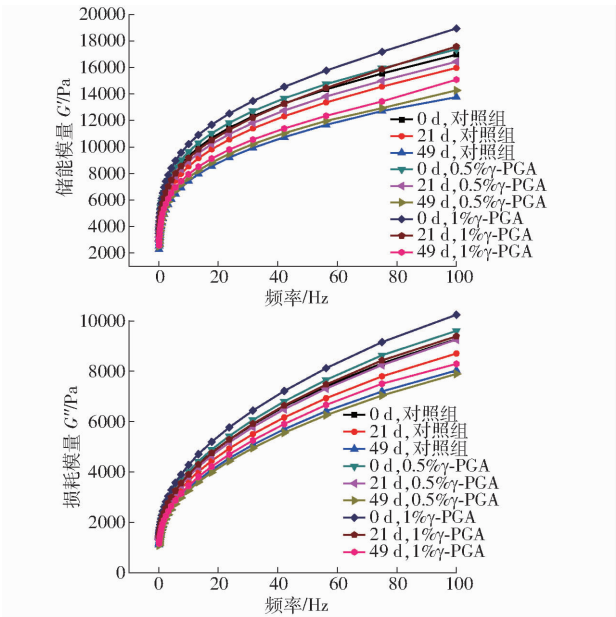


图 3 γ -PGA 对冷冻面筋蛋白体系流变学特性的影响
Fig. 3 Effect of γ -PGA on rheological properties of frozen gluten protein system

定程度上影响了面筋蛋白的流变特性、二级结构等性能^[24]。冻藏 49 d 后添加 1% γ -PGA 组面筋蛋白与对照组相比,其网络结构仍能保持均匀、连续,且孔径仍能维持在 50 μm 左右,且显著优于 0.5% 的添加。这可能是由于 γ -PGA 吸附在冰晶表面,修饰

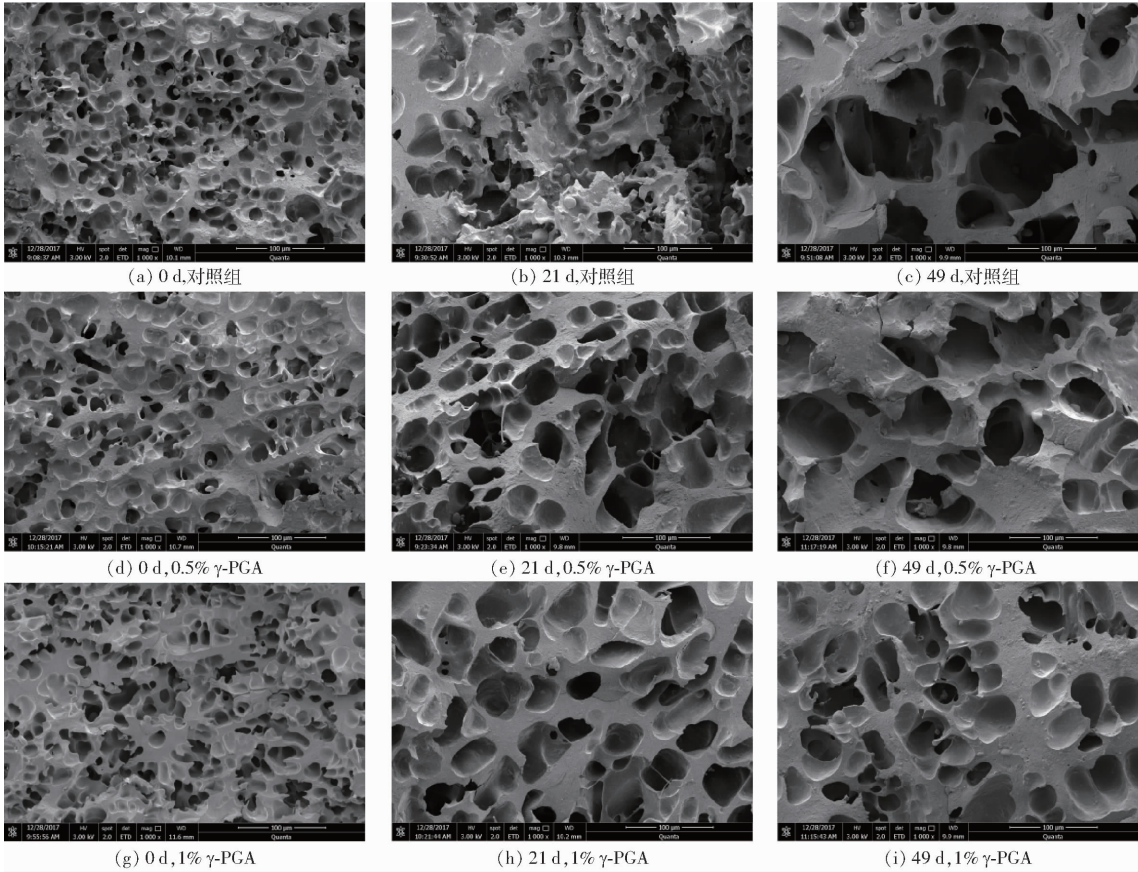


图 4 γ -PGA 对冷冻面筋蛋白体系微观结构的影响
Fig. 4 Effect of γ -PGA on microstructure of frozen gluten protein system

冰晶生长形状,抑制面筋蛋白中大冰晶的生成和重结晶现象,减少了面筋蛋白的机械损伤^[4]。这说明 γ -PGA 对冻藏引起的面筋蛋白网络劣变起到良好改善作用,而三维网络的保持有效束缚水分的迁移^[25],也印证了上述的实验结果。

3 结束语

随冻藏时间延长,面筋蛋白中自由水含量呈现增加趋势,面筋蛋白水分流动性增大。冻藏 49 d 后,面筋蛋白二级结构中 α -螺旋相对含量显著下

降,无规则卷曲显著增加。面筋蛋白失重率显著提升,表明面筋蛋白热力学稳定性下降。冻藏期间面筋蛋白网络结构产生断裂及大孔洞,面筋网络的劣变及二级结构的变化致使面筋蛋白粘性和弹性出现下降趋势。 γ -PGA 的添加有效抑制了冰晶生长和重结晶现象,保护了面筋蛋白网络,降低了水分流动性的增大趋势,抑制了蛋白二级结构向不稳定状态转化的程度,且添加 1% γ -PGA 明显优于添加 0.5% γ -PGA。 γ -PGA 抑制了冻藏导致的面筋蛋白劣变,提升了面筋蛋白的冻藏稳定性。

参 考 文 献

- 1 YAZAR G, DUVARCI O C, TAVMAN S, et al. LAOS behavior of the two main gluten fractions: gliadin and glutenin[J]. Journal of Cereal Science, 2017, 77:201–210.
- 2 SCHWARZLAFF S S, JOHNSON J M, BARBEAU W E, et al. Guar and locust bean gums as partial replacers of all-purpose flour in bread: an objective and sensory evaluation[J]. Journal of Food Quality, 1996, 19(3):217–229.
- 3 ZOUNIS S, QUAIL K J, WOOTTON M, et al. Effect of final dough temperature on the microstructure of frozen bread dough[J]. Journal of Cereal Science, 2002, 36(2):135–146.
- 4 ZHANG Yanjie, ZHANG Hui, WANG Li, et al. Extraction of oat (*Avena sativa*, L.) antifreeze proteins and evaluation of their effects on frozen dough and steamed bread[J]. Food & Bioprocess Technology, 2015, 8(10):2066–2075.
- 5 TOKTAM H, ZAHRA S, ALI M, et al. The properties of part baked frozen bread with guar and xanthan gums[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 71:252–257.
- 6 ASHIUCHI M. Occurrence and biosynthetic mechanism of poly-gamma-glutamic acid[J]. Microbiology Monographs, 2010, 15:77–93.
- 7 MITSUIKI M, MIZUNO A, HIROYUKI T, et al. Relationship between the antifreeze activities and the chemical structures of oligo- and poly(glutamic acid)s[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1998, 46(3):891–895.
- 8 SHIH I L, VAN Y T, SAU Y Y. Antifreeze activities of poly(gamma-glutamic acid) produced by *Bacillus licheniformis*[J]. Biotechnology Letters, 2003, 25(20):1709–1712.
- 9 KUMIO Y, MACHIKO S, KENJI S. Simple improvement in freeze-tolerance of bakers' yeast with poly-gamma-glutamate [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, 102(3):215–219.
- 10 WANG Pei, XU Lei, NIKOO M, et al. Effect of frozen storage on the conformational, thermal and microscopic properties of gluten: comparative studies on gluten-, glutenin- and gliadin-rich fractions[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35(3):238–246.
- 11 JIA Chunli, HUANG Weining, RAYAS-DUARTE P, et al. Hydration, polymerization and rheological properties of frozen gluten-water dough as influenced by thermostable ice structuring protein extract from Chinese privet (*Ligustrum vulgare*) leaves[J]. Journal of Cereal Science, 2014, 59(2):132–136.
- 12 BYLER D M, SUSI H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra[J]. Biopolymers, 1986, 25(3):469–487.
- 13 DING Xiangli, ZHANG Hui, WANG Li, et al. Effect of barley antifreeze protein on thermal properties and water state of dough during freezing and freeze-thaw cycles[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 47:32–40.
- 14 KUIPER M J, DAVIES P L, WALKER V K. A theoretical model of a plant antifreeze protein from *lolium perenne* [J]. Biophysical Journal, 2001, 81(6):3560–3565.
- 15 XIN Chen, NIE Linjie, CHEN Hongliang, et al. Effect of degree of substitution of carboxymethyl cellulose sodium on the state of water, rheological and baking performance of frozen bread dough[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 80:8–14.
- 16 LEE C Y, KUO M I. Effect of γ -polyglutamate on the rheological properties and microstructure of tofu[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5):1034–1040.
- 17 LIM S M, KIM J, SHIM J Y, et al. Effect of poly- γ -glutamic acids (PGA) on oil uptake and sensory quality in doughnuts[J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(1):250.
- 18 MEJRI M, ROGÉ B, BENSOUISSI A, et al. Effects of some additives on wheat gluten solubility: a structural approach[J]. Food Chemistry, 2005, 92(1):7–15.
- 19 ZHAO Lei, LI Lin, LIU Guoqin, et al. Effect of freeze-thaw cycles on the molecular weight and size distribution of gluten[J]. Food Research International, 2013, 53(1):409–416.
- 20 KHATKAR B S, BARAK S, MUDGIL D. Effects of gliadin addition on the rheological, microscopic and thermal characteristics of wheat gluten[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 53(2):38–41.
- 21 HAYTA M, SCHOFIELD J D. Dynamic rheological behavior of wheat gluteins during heating[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2005, 85(12):1992–1998.
- 22 WANG Jinshui, ZHAO Mouming, ZHAO Qiangzhong. Correlation of glutenin macropolymer with viscoelastic properties during dough mixing[J]. Journal of Cereal Science, 2007, 45(2):128–133.
- 23 WELLNER N, MILLS E N C, BROWNSEY G, et al. Changes in protein secondary structure during gluten deformation studied by dynamic fourier transform infrared spectroscopy[J]. Biomacromolecules, 2005, 6(1):255–267.
- 24 GUÉNAELLE L, BONASTRE O, SANDRA M, et al. Effects of freezing and frozen storage conditions on the rheological properties of different formulations of non-yeasted wheat and gluten-free bread dough[J]. Journal of Food Engineering, 2010, 99(1):70–76.
- 25 宋国胜, 胡松青, 李琳. 超声辅助冷冻对湿面筋蛋白中冰晶粒度分布及总水含量的影响[J]. 化工学报, 2009, 60(4):978–983.
- SONG Guosheng, HU Songqing, LI Lin. Effects of ultrasound-assisted freezing on total water content and ice crystals size distribution in frozen wet gluten[J]. Journal of Chemical Industry and Engineering(China), 2009, 60(4):978–983. (in Chinese)