

# 冻藏时间对冷冻面团馒头品质的影响

黄桂东, 黄伟志, 冯结铧, 唐素婷, 吴子蓥, 钟先锋

(佛山科学技术学院食品科学与工程学院, 广东省传统发酵食品工程技术研究中心, 广东省食品流通安全控制工程技术研究中心, 佛山市酿造工程技术研究中心, 佛山农业生物制造工程技术研究中心, 广东佛山 528200)

**摘要:**为探究冻藏时间对冷冻面团馒头品质的影响,本文通过采用酵母菌活性测定、馒头质构特性测定、面筋蛋白二级结构测定、扫描电镜观察等方法,从宏观和微观的角度上分析了冻藏时间的延长对冷冻面团馒头品质的影响。结果表明,随着冻藏时间的延长,酵母菌数量及存活率均呈下降趋势,其中冻藏1周后,表面和内芯的酵母菌数量均减少5.8 lg CFU/g;经过5周冻藏后,冷冻面团馒头的硬度、咀嚼性、胶着性分别增大74.6%、75.7%、75.6%;面筋蛋白二级结构中 $\alpha$ -螺旋也随着冻藏时间的延长呈下降趋势,蛋白二级结构稳定性逐渐下降;经过扫描电镜观察发现,面筋网络结构逐步减少,淀粉颗粒与面筋结构分离,部分淀粉颗粒完全裸露。因此表明冻藏时间的延长,会导致冷冻面团馒头品质下降。本研究结果为后续提高冷冻面团馒头品质应用研究提供理论依据。

**关键词:**冻藏时间;冷冻面团;馒头;品质

文章篇号:1673-9078(2018)08-44-51

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.8.007

## Effect of Refrigeration Time on the Quality of Frozen Dough Steamed Bread

HUANG Gui-dong, HUANG Wei-zhi, FENG Jie-hua, TANG Su-ting, WU Zi-ying, ZHONG Xian-feng

(College of Food Science and Engineering, Foshan University, Guangdong Engineering Research Center for Traditional Fermentational Food, Guangdong Engineering Research Center for Safety Control of Food Circulation, Foshan Engineering Research Center for Brewing Technology, Foshan Engineering Research Center for Agricultural Biological Manufacturing, Foshan 528200, China)

**Abstract:** In order to study the effect of refrigeration on the quality of frozen dough steamed bread, the growth activity of yeast, the texture profile analysis of steamed bread, the secondary structure of the gluten protein and the microstructure of the dough were analyzed to find the effects of the prolongation of refrigeration on the quality of the frozen dough steamed bread. The results showed the yeast activity decreased in the frozen dough with the increase of the cold storage time. After 1 week of refrigeration, the number of yeast in the surface and inner core decreased by 5.8 lg CFU/g. After 5 weeks of frozen storage, the hardness, chewiness and adhesion of the frozen dough steamed bread increased by 74.6%, 75.7%, 75.6%. In the secondary structure of protein, the alpha helix also decreased with the prolongation of refrigeration, and the stability of secondary structure of protein decreased gradually. Scanning electron microscope (SEM) analyses indicated that the structure of gluten network decreased gradually, the starch granules and the gluten structure were separated, and some starch granules were completely exposed. Therefore, the quality of frozen dough steamed bread will be reduced with the increase of the refrigeration time. The purpose of this study aims to provide a theoretical basis for improving the quality of frozen dough steamed bread.

**Key words:** refrigerated time; frozen dough; steamed bread; quality

冷冻面团技术应用在馒头上,不仅能延长馒头耐藏性能,而且较大幅度的保持馒头的原有风味、营养,

收稿日期: 2018-03-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501476、31660459); 江苏省自然科学基金项目(BK20150139); 佛山市科技局项目(2016AB000011、2016GA10155、2017AB004081)

作者简介: 黄桂东(1978-),女,博士,特聘教授,研究方向:发酵工程

通讯作者: 钟先锋(1981-),男,博士,副教授,研究方向:食品加工与安全控制

使得冷冻面团馒头产业得到迅速发展。虽然低温储存方式延长了馒头的货架期,但对馒头品质也产生了一定负面作用<sup>[1,2]</sup>。Meziani等<sup>[3]</sup>研究证实冻藏过程中会造成酵母活菌数减少,导致馒头品质下降;也有相关报道指出冻藏过程中会给面团品质带来伤害,例如酵母活力降低、面筋结构强度弱化和产品感官特性变差等<sup>[3,4]</sup>。从宏观角度上呈现出冻藏后馒头醒发时间延长、比容变小等问题<sup>[5,6]</sup>。

据研究发现,在冻藏过程中,由自由水形成的冰

晶及重结晶会较大程度地伤害酵母细胞，致使酵母细胞受到不可复原的机械损伤，酵母活性下降，甚至导致酵母细胞死亡；同时冰晶也会破坏面筋网络结构，使面团的结构牢固性和持气功能减弱，导致馒头品质下降<sup>[7,8]</sup>。因此冰晶是造成冷冻面团品质下降的主要原因，目前国内外尚无法较好地解决冷冻面团在冻藏过程中因冰晶导致的品质下降问题。鉴此，为了解决冷冻面团馒头品质问题，探究其品质劣变机理，石媛媛等<sup>[9]</sup>应用质构仪和核磁共振等技术，表明了冻藏时间的延长，冷冻面团的发酵力下降、馒头的比容和质构特性呈现下降趋势，冷冻面团失水率明显升高，驰豫时间也随冻藏时间的延长逐渐变大。姬成宇等<sup>[10]</sup>也通过傅里叶变换红外光谱技术以及核磁共振技术等技术表明，随着冻藏时间的延长，蛋白二级结构中分子间 $\beta$ -折叠含量增大， $\beta$ -转角含量减小，而冻融循环使得 $\alpha$ -螺旋结构含量下降。

因此本文采用酵母菌活性测定、质构特性测定、傅里叶变换红外光谱测定面筋蛋白二级结构、扫描电镜观察面团微观结构等方法进一步探讨冻藏时间对冷冻面团馒头品质的影响，从宏观和微观角度，全面客观地分析冷冻面团馒头品质变化，为后续提高冷冻面团馒头品质提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

金龙鱼多用途麦芯粉，益海嘉里食品营销有限公司；高活性干酵母，安琪酵母股份有限公司；白砂糖，佛山市昌大昌超级购物广场有限公司；光谱纯 KBr，天津市科密欧化学试剂有限公司；氯化钠、蛋白胨、葡萄糖、硫酸二氢钾、琼脂粉、硫酸镁、孟加拉红、氯霉素，广州创天生物科技有限公司；蒸馏水、自来水。

### 1.2 仪器与设备

HMJ-01 和面机，中山市雅乐思电器实业有限公司；LRHS-300F-II 恒温恒湿培养箱，上海龙跃仪器设备有限公司；DHG-9248A 鼓风干燥箱，上海一恒科技有限公司；GR60DA 全自动灭菌锅，致微（厦门）仪器有限公司；宁波新芝 Sei ents-30N 冷冻干燥机，广州倍立思仪器有限公司；TENSOR 27 傅里叶变换红外光谱仪，布鲁克（北京）科技有限公司；日立高新 S-4800 扫描电子显微镜，日本 Hitachi 公司；DW-40L188 低温冰箱，上海领德仪器有限公司；Thermo 超低温冰箱（-80 °C），济南博鑫生物技术有限公司；TXB622L

电子精密天平，上海冠唯仪器有限公司；DF-4 型红外压片机，天津港东科技发展股份有限公司；SW-CJ-1FD 洁净工作台，广州市深华生物技术有限公司；DHP-9162 型培养箱，上海晨析实验仪器有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 冷冻面团馒头的制作工艺要点

面团的基本配方(以面粉 100%计算)：面粉 100%，高活性干酵母 1%，自来水 50%，白砂糖 10%。

根据参考文献<sup>[11]</sup>方法进行操作并加以适当调整，其中在制作冷冻面团时的具体制作流程为：原辅料混合→和面→分切(称重)→成型→速冻(-40 °C, 30 min)→冷藏 (-20 °C)。

将上述制得的冷冻面团分别冻藏 1 周、2 周、3 周、4 周、5 周备用。

#### 1.3.2 冷冻面团中酵母菌的测定

根据文献<sup>[12]</sup>方法和结合实际情况进行改进测定面团酵母菌数。测定新鲜面团酵母菌数(以每克面团计算)：首先将新鲜面团用干净剪刀或者刀从面团表面、内芯共 2 不同部位剪切下 5 g，置于 45 mL 无菌生理盐水中摇动 3 min 左右以提取酵母菌；测定冷冻面团酵母菌数(以每克面团计算)：将冻藏的冷冻面团先在 4 °C 低温冰箱解冻至面团软化后从表面、内芯等不同部位剪切下 5 g，置于 45 mL 无菌生理盐水中摇动 3 min 左右以提取酵母菌。

用 1 mL 移液器吸取震荡后上清液，以 105 倍数稀释混匀后，吸取 1 mL 稀释液加入到孟加拉红琼脂培养基中，进行涂布，涂布结束将培养皿倒置移放在 37 °C 培养箱中，培养 48 h 后取出进行平板菌落计数。表面面团、内芯面团各计数两个平板，重复实验 3 次，结果取平均值，冷冻后酵母菌存活率的计算公式为：

$$P = \frac{A}{A_0} \times 100\%$$

式中：P-冷冻后酵母菌的存活率，%；A：冷冻面团酵母菌落数(以每克面团计算)，lg CFU/g；A<sub>0</sub>：新鲜面团酵母菌落数(以每克面团计算)，lg CFU/g。

#### 1.3.3 冷冻面团馒头的质构测定

表 1 质构仪程序参数

Table 1 The Program Parameters of the Texture Instrument

探头	感应力	测前速度	测中速度	侧后速度	目标模式	目标值
T100	5.0 g	3 mm/s	1.0 mm/s	1.0 mm/s	形变	50%

根据文献<sup>[13]</sup>方法，结合实际操作，将蒸制好的馒头冷却 30 min 后，使用 TA.new plus 物性测定仪进行

质构测试,选取3个样品重复试验,每个样品重复测3次,结果取均值。程序参数设定条件如表1。

## 1.4 冷冻面团面筋蛋白二级结构的测定

### 1.4.1 面筋蛋白的提取

在马丁法<sup>[14]</sup>基础上,稍作改进。如下:将冷藏相应天数的冷冻面团放置于4℃冰箱中解冻至面团软化,备用;将解冻后的面团放在2%NaCl溶液中静置15~20 min,接着对面团进行反复轻轻揉洗,尽可能确保面团完整性,一直揉洗至NaCl溶液无混浊、无乳白色及面筋上无白色面粉颗粒,揉洗结束后将面筋蛋白至于40℃恒温鼓风干燥箱中干燥,24 h。将干燥后面筋蛋白用研钵进行粉碎研磨,过100目筛,即得面筋蛋白,备用,同时将KBr用研钵研磨成粉末后,备用。

表2 酰胺I带特征频率和峰的归属

Table 2 Wavenumber and Band Assignment in Amide I Region

波数/cm <sup>-1</sup>	1609±2	1618±3	1624±4	1637±3	1645±4	1653±4	1663±4	1675±5	1683±2	1694±2
峰的归属	β-折叠	β-折叠	β-折叠	β-折叠	无规卷曲	α-螺旋	β-转角	β-折叠	β-转角	β-转角

## 1.5 冷冻面团微观结构的观察

根据文献<sup>[18]</sup>方法并结合实际条件,使用扫描电子显微镜观察、记录冻藏不同时间的冷冻面团微观结构。将冻藏后样品切成1 cm<sup>2</sup>大小的正方形进行冷冻干燥,冷冻干燥结束后用导电双面胶固定到样品台上进行样品表面喷金,喷金后置于SEM下观察(电压10 kV)。

## 1.6 数据处理方法

数据采用WPS Excel 2013统计分析、SPSS 19.0、Omnic 8.2、Peakfit 4.2软件分析及Origin 9.0作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 冻藏时间对冷冻面团中酵母菌的影响

由图1、2可知,随着冻藏时间延长,酵母菌数量及存活率呈递减趋势。实验结果与陈迪等<sup>[19]</sup>研究冷藏时间延长与冷冻酸面团中乳酸菌活力显著下降结论相一致。在新鲜面团中,表面酵母菌数量为11.9 lg CFU/g,内芯酵母菌数量为11.7 lg CFU/g;冻藏1周后,面团表面中酵母菌数量为6.1 lg CFU/g,内芯酵母菌数量为5.9 lg CFU/g;由以上数据可知,酵母菌经过冻藏后数量减少50%左右,这也客观、真实地验证了冻藏会对酵母菌造成损伤的这个理论。同时从图1、2中还可得出,冷冻面团中表面酵母菌数量及存活率要比内芯酵母菌数量及存活率要多。

### 1.4.2 面筋蛋白的FT-IR测定

样品混合前,先使用红外干燥机对面筋蛋白及KBr干燥20~30 min。干燥后,用精密天平称量2.0 mg面筋蛋白样品及0.2~0.4 g KBr,混合,用玛瑙研钵研磨均匀后,用红外配套压片机进行压片,使压片压力保持在15~20 kPa,1 min后将样品进行FT-IR扫描。背景采集使用KBr固体作为空白,扫描范围为400~4000 cm<sup>-1</sup>,扫描次数为32次,分辨率为4<sup>[15]</sup>。

### 1.4.3 面筋蛋白FT-IR图谱测定

实验图谱采用Omnic 8.2软件及PerkinElmer 4.2软件进行分析,对1600~1700 cm<sup>-1</sup>(酰胺I带)进行去卷积、平滑处理,求其二级导数获得特征峰进行曲线拟合,拟合后得到特征峰峰面积,即可计算面筋蛋白二级结构含量<sup>[16,17]</sup>。酰胺I带特征峰与面筋蛋白二级结构对应关系为(表2):

表2 酰胺I带特征频率和峰的归属

Table 2 Wavenumber and Band Assignment in Amide I Region

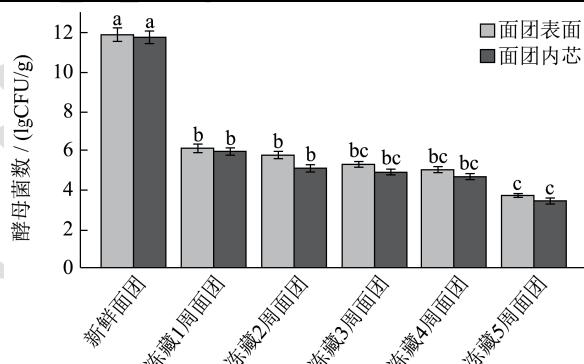


图1 不同冻藏时间对新鲜、冷冻面团酵母菌数的影响

Table 1 Effects of Different Refrigeration Time on the Number of Yeast in Fresh and Frozen Dough

注:同组间不同字母表示差异显著性( $p<0.05$ ),下同。

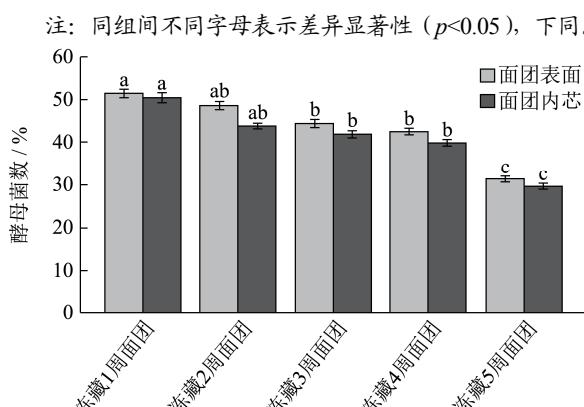


图2 不同冻藏时间对冷冻面团酵母菌存活率的影响

Table 2 Effect of Different Refrigerated Time on the Survival Rate of Yeast in Frozen Dough

这可能是在冻藏过程中面团中可冻结水分发生迁

移, 面团表面水分含量比内芯水分要少, 因此表面形成冰晶较内芯少, 从而冰晶对面团表面酵母菌伤害力相对较少, 表面酵母菌数量比内芯酵母菌数量高<sup>[20]</sup>。

## 2.2 冻藏时间对冷冻面团馒头中质构的影响

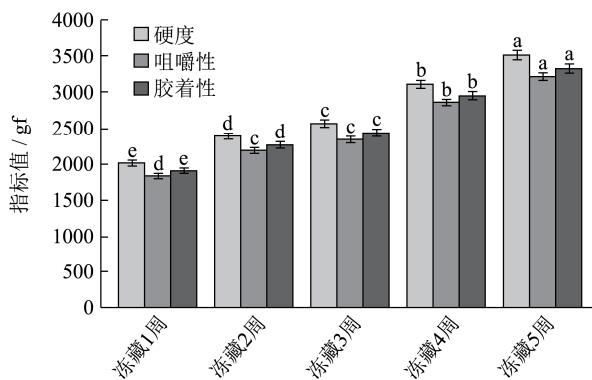


图3 不同冻藏时间对冷冻面团馒头质构的影响

**Fig.3 Effect of Different Refrigerated Time on Texture of Frozen Dough Steamed Bread**

从图3中可以看出, 冷冻面团馒头冻藏1周后, 硬度、咀嚼性、胶着性分别为2014 gf、1826.8 gf、1903.58 gf。

冻藏5周后硬度、咀嚼性、胶着性分别为3520 gf、3209.96 gf、3332.36 gf。由此可知, 经过5周冻藏, 冷冻面团馒头的硬度、咀嚼性、胶着性分别增大74.6%、75.7%、75.6%, 这说明了冻藏时间对冷冻面团馒头品质是有影响的。根据相关研究表明, 在冻藏期间, 温度的波动及水分迁移会造成冰晶重结晶, 重结晶成大冰晶能使酵母细胞和面筋网络受到机械损伤, 一方面导致醒发阶段酵母由于存活率低, 产气能力下降, 蒸制后馒头硬度变大; 另一方面长时间冻藏对面筋网络也造成不可逆的破坏, 不能较好地支撑整个面团, 使面团变得扁平、下塌, 致使馒头品质下降<sup>[21]</sup>。

## 2.3 冻藏时间对冷冻面团中面筋蛋白二级结构的影响

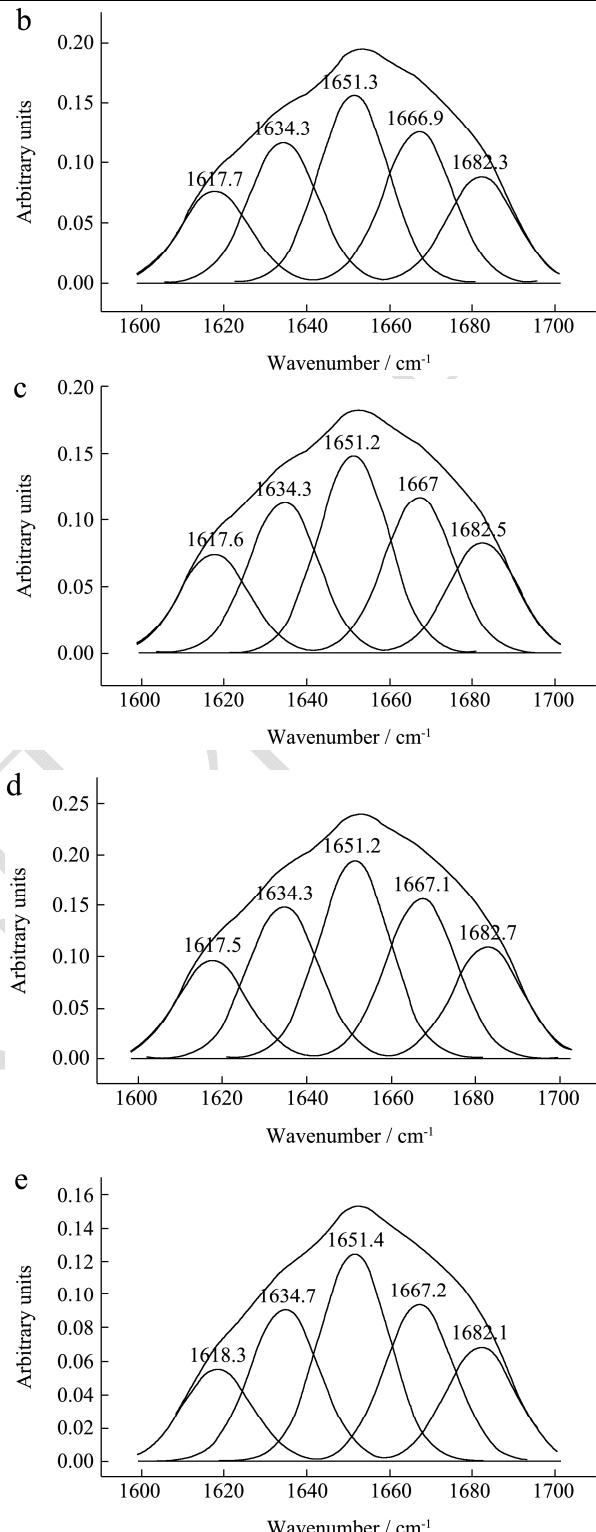
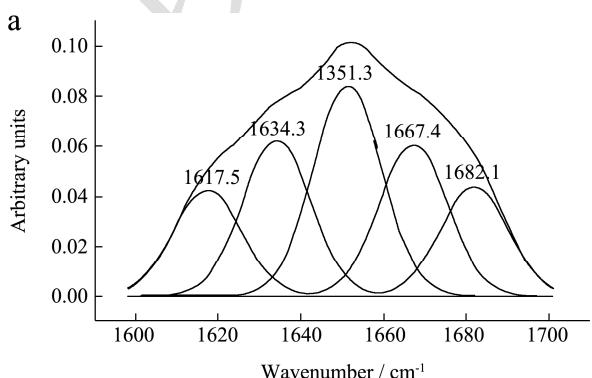


图4 不同冻藏时间的冷冻面团面筋蛋白酰胺I带去卷积示意  
图

**Fig.4 Schematic Diagram of Deconvolution of Frozen Dough Gluten Protein Bands at Different Refrigerating Time**

注: A1~E1 分别为冻藏1~5周的冷冻面团。

由表3可知, 冷冻面团峰属都位于3300 cm<sup>-1</sup>左右, 与3401 cm<sup>-1</sup> (蛋白质或氨基酸中N-H键的伸缩振动区, 当N-H键与O-H缔合后, 将向低波数位移) 相

比较,冷冻面团特征峰均向低波数位移,说明冷冻面团中有N-H键与氢键缔合。同时从表中可看出,冷冻面团在酰胺I、II、III和IV中均有特征峰属,表明冷冻面团含有淀粉、蛋白质特性<sup>[22]</sup>,其中在酰胺I中,冷冻面团的特征峰发生了较为明显地偏移,说明冻藏时间的延长可能造成了面筋蛋白结构改变<sup>[23]</sup>。在

990~1450 cm<sup>-1</sup>波段中,只有1024 cm<sup>-1</sup>处发生明显偏移,说明冻藏时间的延长会使冷冻面团中的氢键(淀粉与面筋结构蛋白分子之间的缔结键)发生改变,这可能是由于冻藏时间的延长,冰晶的形成及冰晶重结晶影响了淀粉与面筋蛋白的结合,特征基团含量发生改变,最终导致特征峰吸收强度的改变<sup>[23~26]</sup>。

表3 FT-IR特征峰以及样品吸收波数

Table 3 FT-IR Characteristic Peaks and Absorption Wavenumbers of Dough with Different Amounts of Added Water

吸收峰/cm <sup>-1</sup>	谱带归属 <sup>[27]</sup>	波数/cm <sup>-1</sup>				
		冷冻面团储存天数				
		1周	2周	3周	4周	5周
3600~3300	碳水化合物-OH伸缩振动	3309	3399	3309	3294	3285
2929	-CH <sub>2</sub> -伸缩振动	2928	2928	2928	2929	2930
1650	酰胺I带(H-O-H弯曲振动和肽键中的C=O伸缩弯曲)	1653	1654	1655	1656	1656
1540	酰胺II带(N-H弯曲振动)	1540	1540	1540	1540	1540
1450	-CH-弯曲振动;肽键中N-H伸缩振动	1455	1455	1455	1455	1456
1241	酰胺III带N-H键、C-H键的无规则缠绕	1241	1241	1241	1241	1241
1154	C-C骨架振动	1155	1155	1155	1155	1155
1081	C-O-H弯曲振动;酰胺IV带C-N伸缩振动或N-H伸缩振动	1079	1079	1079	1079	1079
1024	C-O-C不对称伸缩振动	1025	1045	1045	1045	1045

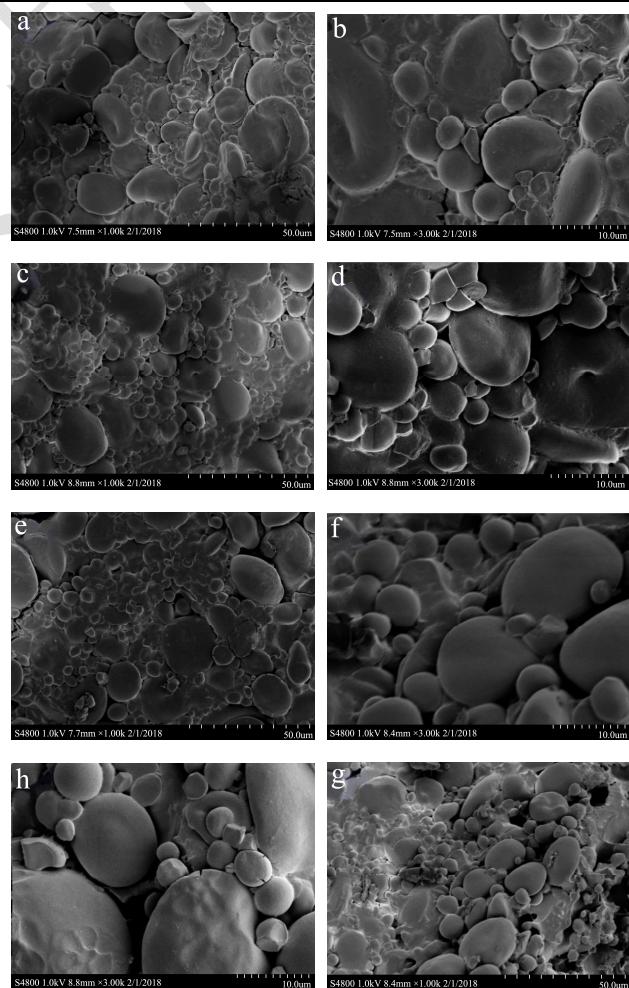
由图4、表1峰归属分析可知,冷冻面团峰位置波数集中在1618±3(β-折叠)、1637±3(β-折叠)、1653±3(α-螺旋)、1663±4(β-转角)、1683±2(β-转角)这5个区域内,且只有在这5个区域有其特征谱带,说明冷冻面团只包含α-螺旋、β-折叠及β-转角这3种结构,不存在无规卷曲结构。从表4中可知,随着冻藏时间增加,冷冻面团面筋蛋白中α-螺旋都呈下降趋势,β-转角和β-折叠比例则呈上升趋势。这与宋国胜等<sup>[28]</sup>研究得出的冻藏面筋蛋白α-螺旋结构含量呈下降趋势结论相一致。这可能是在冻藏过程,冰晶的形成及长大破坏面筋结构中的氢键,降低面筋结构致密性,蛋白分子发生构象重排,从而导致α-螺旋结构含量减少。

表4 冻藏期间面筋蛋白二级结构的变化

Table 4 Changes in the Secondary Structure of the Gluten Protein during Refrigerated Time

冻藏时间	冷冻面团		
	α-螺旋/%	β-折叠/%	β-转角/%
第1周	28.85	35.73	35.42
第2周	27.78	34.22	38
第3周	27.71	35.09	37.2
第4周	27.55	34.75	37.7
第5周	21.69	33.78	44.53

## 2.4 冻藏时间对冷冻面团微观结构的影响



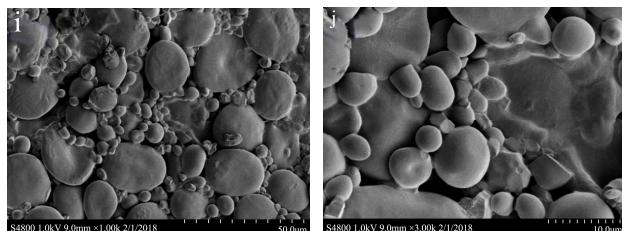


图5 不同冷藏时间对冷冻面团微观结构的影响

**Fig.5 Effect of Different Refrigeration Time on the Microstructure of Frozen Dough**

注: 以上图为冷藏1~5周的冷冻面团, 其中a、c、e、g、i: 为1000倍显微结构图; b、d、f、h、j: 3000倍显微结构图。

图5为冷冻面团样品的扫描电镜结果, 从图中可以清楚的看出, 图中圆球状的是淀粉颗粒, 淀粉颗粒被面筋蛋白包裹在网络结构内; 黑色孔洞可能是冰晶在冷冻干燥过程中升华留下的空间或者面团发酵产生CO<sub>2</sub>形成的气孔所致。由图a、c、e、g、i和b、d、f、h、j可知, 随着冷藏时间的增加, 面筋蛋白网络结构逐步减少, 淀粉颗粒与面筋结构分离出来, 部分淀粉颗粒完全裸露在外面, 尤其在冷藏5周后与第1周对比可知, 冷藏时间的延长会造成面筋蛋白网络结构破坏, 面筋结构表面变的粗糙而且松散, 导致更多的淀粉颗粒向外裸露出来, 这结果也与王金水、Baier-Schenk等<sup>[33,34]</sup>的研究结论相一致。柳小军<sup>[35]</sup>认为在冷藏延长过程中, 冷冻面团中的冰晶不断长大, 破坏了面筋蛋白网络结构, 同时冷藏温度的波动也会使一部分冰晶解冻成水分, 并发生迁移至新的位置重新结晶, 进一步加剧了对面筋蛋白结构的破坏。

### 3 结论

本文从宏观和微观角度, 探讨了冷藏时间对冷冻面团馒头品质变化的影响。结果表明, 随着冷藏时间的延长, 冷冻面团中的酵母菌数量及存活率呈递减趋势, 其中冷藏1周后, 表面和内芯的酵母菌数量均减少5.8 lg CFU/g; 经过5周冷藏后, 冷冻面团馒头的硬度、咀嚼性、胶着性分别增大74.6%、75.7%、75.6%; 面筋蛋白二级结构中α-螺旋也随着冷藏时间的延长呈下降趋势, 蛋白二级结构稳定性逐渐下降; 经过扫描电镜观察发现, 面筋网络结构逐步减少, 淀粉颗粒与面筋结构分离, 部分淀粉颗粒完全裸露, 说明过长的冷藏时间对冷冻面团馒头品质不利。本研究结果为后续研究改善冷冻面团馒头品质提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] Chen G, Öhgren C, Langton M, et al. Swenson. Impact of long-term frozen storage on the dynamics of water and ice in wheat bread [J]. Journal of Cereal Science, 2013, 57(1): 120-124
- [2] Phimolsiripol Y, Siripatrawan U, Tulyathan V, et al. Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 84: 48-56
- [3] Meziani S, Jasniewski J, Ribotta P, et al. Influence of yeast and frozen storage on rheological, structural and microbial quality offrozen sweet dough [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 109(3): 538-544
- [4] Selomulyo V O, Zhou W B. Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers [J]. Journal of Cereal Science, 2007, 45(1): 1-17
- [5] 叶晓枫, 韩永斌, 赵黎平, 等. 冻融循环下冷冻非发酵面团品质的变化及机理[J]. 农业工程学报, 2013, 29(21): 271-278  
YE Xiao-feng, HAN Yong-bin, ZHAO Li-ping, et al. Changes and mechanism of frozen non fermented dough quality under freeze-thaw cycles [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2013, 29(21): 271-278
- [6] 俞学锋, 杨子忠, 冷建新, 等. 冷冻面团加工技术与中国传统食品现代化[J]. 粮食加工, 2007, 32(1): 18-20  
YU Xue-feng, YANG Zi-zhong, LENG Jian-xin, et al. Frozen dough technology and the Chinese traditional food industrializing [J]. Gran Processing, 2007, 32(1): 18-20
- [7] Ribotta P D, León A E, Añón M C. Effects of yeast freezing in frozen dough [J]. Cereal Chemistry, 2003, 80(4): 454-458
- [8] Baier-Schenk A, Handschin S, Von Schönau M, et al. In situ observation of the freezing process in wheat dough by confocal laser scanning microscopy (CLSM): Formation of ice and changes in the gluten network [J]. Journal of Cereal Science, 2005, 42(2): 255-260
- [9] 石媛媛, 刘燕琪, 李梦琴, 等. 冷冻保护剂对冷冻面团馒头品质及水分状态的影响[J]. 河南农业大学学报, 2017, 51(6): 871-877, 883  
SHI Yuan-yuan, LIU Yan-qi, LI Meng-qin, et al. Effects of cryoprotectants on moisture status andquality of frozen dough [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2017, 51(6): 871-877, 883
- [10] 姬成宇, 石媛媛, 李梦琴, 等. 抗冻蛋白对预发酵冷冻面团中蛋白质特性及水分状态的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(12): 53-59  
JI Cheng-yu, SHI Yuan-yuan, LI Meng-qin, et al. Effect of antifreeze proteins on protein characteristics and moisture state in prefermented frozen dough [J]. Food Science, 2018,

- 39(12): 53-59
- [11] Wang P, Zheng H T, Jin Y, et al. Impact of water extractable arabinoxylan from rye bran on the frozen steamed bread dough quality [J]. Food Chemistry, 2016, 200: 117-124
- [12] Wang P, Yang R Q, Gu Z X, et al. Comparative study on the freeze stability of yeast and chemical leavened steamed bread dough [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 482-488
- [13] Luo D L, Liang X P, Xu B C, et al. Effect of inulin with different degree of polymerization on plain wheat dough rheology and the quality of steamed bread [J]. Journal of Cereal Science, 2017, 75: 205-212
- [14] 郭俊杰,吴宏,张楠,等.面筋蛋白的组成、分离方法及应用研究进展[J].食品工业科技,2013,34(19):383-390  
GUO Jun-jie, WU Hong, ZHANG Nan, et al. Research progress in composition, separation methods and application of wheat gluten [J]. Food Industry Science and Technology, 2013, 34(19): 383-390
- [15] 汪兰,吴文锦,乔宇,等.冻藏条件下魔芋葡甘聚糖降解产物对肌原纤维蛋白结构的影响[J].食品科学,2015,36(22): 244-249  
WANG Lan, WU Wen-jin, QIAO Yu, et al. Effect of degraded products of konjac glucomannan on the structure of myofibrillar protein from glass carp meat during frozen storage [J]. Food Science, 2015, 36(22): 244-249
- [16] Gao X, Liu T H, Yu J, et al. Influence of high-molecular-weight glutenin subunit composition at Glu-B1 locus on secondary and micro structures of gluten in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Food Chemistry, 2016, 197(15): 1184-1190
- [17] Georget D M, Belton P S. Effects of temperature and water content on the secondary structure of wheat gluten studied by FTIR spectroscopy [J]. Biomacromolecules, 2006, 7(2): 469-475
- [18] Zhang Y J, Zhang H, Wang L, et al. Extraction of oat (*Avena sativa* L.) antifreeze proteins and evaluation of their effects on frozen dough and steamed bread [J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(10): 2066-2075
- [19] 陈迪,张滨,王金水.速冻和缓冻处理对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版),2018, 1:21-25  
CHEN Di, ZHANG Bin, WANG Jin-shui. Effect of quick-freeze and slow-freezing on the activity of lactic acid bacteria in frozen sourdough [J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2018, 1: 21-25
- [20] 李玲玲.冰结构蛋白对面团体系三种组分冷冻保护作用的研究[D].无锡:江南大学,2010  
LI Ling-ling. Study on freeze protection of three components of dough system by ice structure protein [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010
- [21] Selomulyo V O, Zhou W B, et al. Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers [J]. Journal of Cereal Science, 2007, 45(1): 1-17
- [22] 卢雁,张玮玮,王公轲,等.FTIR 用于变性蛋白质二级结构的研究进展[J].光谱学与光谱分析,2008,28(1):88-93  
LU Yan, ZHANG Wei-wei, WANG Gong-ke, et al. Research progress of FTIR for denatured protein secondary structure [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(1): 88-93
- [23] 宋国胜.超声辅助冷冻对面筋蛋白二级结构影响的红外光谱研究[J].陕西科技大学学报(自然科学版),2008,26(3):132-137  
SONG Guo-sheng. Infrared spectroscopic study of the effect of ultrasound-assisted freezing on the secondary structure of gluten protein [J]. Journal of Shaanxi University of Science and Technology(Natural Science Edition), 2008, 26(3): 132-137
- [24] 安志丛,周惠明,朱科学.预处理对小麦面筋蛋白二级结构及其酶解产物螯合亚铁离子能力的影响[J].粮食与饲料工业,2009,8:18-20  
AN Zhi-cong, ZHOU Hui-ming, ZHU Ke-xue. Effects of pretreatment on secondary structure of wheat gluten and Fe<sup>2+</sup>chelation ability of enzymolysis resultants [J]. Cereals and Feed Industry, 2009, 8: 18-20
- [25] 刘斌,马海乐,李树君,等.应用 FTIR 研究超声对牛血清白蛋白二级结构的影响[J].光谱学与光谱分析,2010,30(8):2073-2076  
LIU Bin, MA Hai-le, LI Shu-jun, et al. Study on the effect of ultrasound on the secondary structure of BSA by FTIR [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(8): 2073-2076
- [26] Keiderling T A. Protein and peptide secondary structure and conformational determination with vibrational circular dichroism [J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2002, 6(5): 682-688
- [27] 王世新,杨强,李新华.水分对冷冻小麦面团质构及面筋蛋白二级结构的影响[J].食品科学,2017,38(9):149-155  
WANG Shi-xin, YANG Qiang, LI Xin-hua. Effect of moisture on texture and gluten protein secondary structure in frozen wheat dough [J]. Food Science, 2017, 38(9): 149-155
- [28] 宋国胜,胡娟,沈兴,等.超声辅助冷冻对面筋蛋白二级结构的影响[J].现代食品科技,2009,25(8):860-864  
SONG Guo-sheng, HU Juan, SHEN Xing, et al. Effects of

- ultrasound-assisted freeze on secondary structure of gluten protein [J]. Modern Food Science & Technology, 2009, 25(8): 860-864
- [29] Meziani S, Jasniewski J, Gaiani C, et al. Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural behavior of frozen sweet dough [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 107(3-4): 358-365
- [30] Song G, Hu S, Li L, et al. Structural and physical changes in ultrasound-assisted frozen wet gluten [J]. Cereal Chemistry, 2009, 86(3): 333-338
- [31] 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
- [32] Wang P, Xu L, 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: 238-246
- [33] 王金水, 张丽萍, 况伟, 等. 面团搅拌过程中蛋白质的变化研究III. 麦谷蛋白大聚体的变化规律[J]. 郑州工程学院学报, 2003, 24(2): 5-8  
WANG Jin-shui, ZHANG Li-ping, KUANG Wei, et al. Study on the changes in gluten protein during dough mixing III. the change pattern of gluten protein [J]. Journal of Zhengzhou Institute of Technology, 2003, 24(2): 5-8
- [34] Baier-Schenk A. Ice in prefermented frozen bread dough: an investigation based on calorimetry and microscopy [J]. Cereal Chemistry, 2005, 82(3): 251-255
- [35] 柳小军. 冻藏对面筋蛋白性能的影响及脱水机理研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2011  
LIU Xiao-jun. Effect of frozen storage on gluten performance and dehydration mechanism [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2011