

# 冻融冻藏过程中 $\kappa$ -卡拉胶对面筋蛋白流变学特性及微观结构的影响

王婷, 王凯, 胡卓炎, 赵雷

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

**摘要:** 利用流变仪、傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)、激光共聚焦显微镜 (CLSM) 探讨添加卡拉胶后对面筋蛋白在冻融过程中流变特性、和结构的影响。结果表明在冻融过程中, 面筋蛋白的储能模量 ( $G'$ )、损耗模量 ( $G''$ ) 和二级结构随冻融时间的延长其变化分为三个阶段: 从冻融开始到 30 d 为第一个阶段, 面筋蛋白的  $G'$ 、 $G''$  随着时间的延长明显下降, 二级结构中  $1629\text{ cm}^{-1}$  处  $\beta$  折叠含量上升%, 同时  $1656\text{ cm}^{-1}$  处  $\alpha$  螺旋含量相对下降; 冻融 30 d 到 90 d 为第二个阶段, 面筋蛋白的流变特性和结构变化相对不太明显; 冻融 90 d 到 120 d 为第三个阶段,  $G'$ 、 $G''$  进一步下降, 而  $1613\text{ cm}^{-1}$  处  $\beta$  折叠含量上升, 对应的  $1656\text{ cm}^{-1}$  处  $\alpha$  螺旋含量相应下降。CLSM 显示冻融 0 d 时卡拉胶的分布主要集中在面筋蛋白网络结构的边缘, 随着冻融时间的延长卡拉胶与面筋蛋白充分混合, 形成蛋白多糖络合物增强面筋蛋白的凝胶特性, 而当冻融时间达 90 d 后, 面筋蛋白网络结构进一步破坏, 出现了大量不规则的孔洞。

**关键词:** 冻融冻藏;  $\kappa$ -卡拉胶; 面筋蛋白; 流变学特性; 微观结构

文章编号: 1673-9078(2017)11-31-36

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.11.005

## Effects of $\kappa$ -Carrageenan on the Rheological Characteristics and Structure of Gluten during the Frozen-thaw Storage

WANG Ting, WANG Kai, HU Zhuo-yan, ZHAO Lei

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** In this paper, the effects of  $\kappa$ -carrageenan on the rheological properties, secondary structure and microscopic property of gluten during the frozen-thaw storage were studied by Rheometer, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM). The results showed that the changes of the storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ) and the secondary structure of the gluten were divided into three stages during the frozen-thaw storage. The first stage was from 0 d to 30 d, where the  $G'$  and  $G''$  of the gluten decreased dramatically, and the content of  $\beta$ -sheet ( $1629\text{ cm}^{-1}$ ) increased significantly with decreasing the content of  $\alpha$ -helix ( $1656\text{ cm}^{-1}$ ) simultaneously. The second stage was from 30 d to 90 d, where the changes of rheometer parameters and secondary structure were not significant. During the third stage from 90 d to 120 d, the  $G'$  and  $G''$  of the gluten dropt again, while the content of  $\beta$ -sheet ( $1613\text{ cm}^{-1}$ ) increased significantly with the decrease of  $\alpha$ -helix content simultaneously ( $1656\text{ cm}^{-1}$ ). CLSM photographs showed that the distribution of carrageenan mainly concentrated on the edge of gluten network on the frozen-thaw 0 d, and then the carrageenan fully mixed with wheat gluten during the storage, which led to enhance gel properties of gluten. However, the gluten network structure was further damaged and a large number of irregular hole emerged up to 90 d.

**Key words:** frozen-thaw storage;  $\kappa$ -Carrageenan; gluten; rheological characteristics; microscopic property

卡拉胶 (*Carrageenan*) 又称为麒麟菜胶、石花菜胶、鹿角菜胶和角叉菜胶, 是从麒麟菜和石花菜等红藻类 (*Red algae, Rhodophyta*) 中提取出的一种水溶

收稿日期: 2017-06-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301412); 广东省自然科学基金项目 (S2013040014403); 广东省科技计划项目 (2015A020209143)

作者简介: 王婷 (1992-), 女, 硕士, 研究方向: 农产品加工与贮藏

通讯作者: 赵雷 (1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物及高附加值修饰

性胶体, 由于其中硫酸酯结合形态的不同, 可分为  $\iota$  (*Iota*),  $\kappa$  (*Kappa*),  $\lambda$  (*Lambda*),  $\mu$  (*mu*) 四种。卡拉胶具备形成亲水胶体、乳化、成膜、凝胶、增稠和稳定分散等特性, 同时根据其安全、无副作用的性能, 作为优良的食品添加剂用于面制品行业, 尤其是在冷冻面制品行业。Ahmed 等人探讨了不同种类的食品胶 (卡拉胶、羧甲基纤维素和瓜尔豆胶等) 添加到冷冻薄饼中, 结果发现薄饼的流变学特性和保水性都得到相对的改善。根据其薄饼的品质得出添加卡拉胶和羟

丙甲基纤维素后最佳,其次是羧甲基纤维素,相对较差的是瓜尔豆胶<sup>[1]</sup>。Lipi等人发现在冷冻面团中添加不同比例的卡拉胶后可以提升面包的体积,同时减小了面包空隙的表面积<sup>[2]</sup>。李绍虹研究了卡拉胶、黄原胶和瓜尔豆胶等4种亲水性胶体对冷冻面团及其成品品质的影响,发现亲水性胶体对冷冻面团的湿面筋含量和色泽影响较大<sup>[3]</sup>。Dodic发现将卡拉胶、黄原胶和羧甲基纤维素添加在面粉中,和面后可以明显改善面团及其制品品质,但是由于这些胶体的加入导致酵母活性发生了下降,延长了发酵的时间<sup>[4]</sup>。综上所述,Ferrero总结出卡拉胶等胶体提升冷冻面制品品质的根本原因在于改善了冻藏过程中面筋蛋白的特性<sup>[5]</sup>,而众所周知影响面制品品质的主要因素是由麦醇溶蛋白和麦谷蛋白组成的小麦面筋蛋白<sup>[6]</sup>。因此,模拟在冻融冻藏过程中卡拉胶的添加对面筋蛋白流变学特性和结构的影响有助于对冷冻面制品品质的更深一步研究。为此,探讨在冻融冻藏过程中 $\kappa$ -卡拉胶的加入对面筋蛋白流变特性和结构的影响,以期在冻藏过程中改善冷冻面团品质提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

高筋面粉,深圳市泰东源实业有限公司;卡拉胶( $\kappa$ -) Sigma公司;氯化钠等试剂均为分析纯。

JJM54S 面筋洗涤仪:上海嘉定粮油仪器有限公司; Wizard 2.0 冷冻干燥机:德国 ZEISS 公司; MCR 102 流变仪:奥地利安东帕有限公司; Tensor 37 傅里叶变换红外光谱仪:德国 Bruker 公司; LSM 7 DUO 激光共聚焦显微镜。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 面筋蛋白的制备

称取 10.0 g 小麦面粉于面筋洗涤仪洗涤杯中,和面 1 min, NaCl 溶液(5%)去除淀粉和球蛋白,250 mL 蒸馏水去除 NaCl 和清蛋白。用碘-碘化钾溶液检验确定淀粉被完全去除。小心取出面筋预冻,冷冻干燥,粉碎,过 120 目筛。测定蛋白质含量 88%。

#### 1.2.2 面筋蛋白与食品胶的混合及冻融方式

混合方式:称取 10 g ( $\pm 10$  mg) 的面筋蛋白,缓慢搅拌溶于 100 mL 蒸馏水中,然后加入胶体(空白组:不添加食品胶;添加量:0.3%)继续搅拌 120 min,于 4 °C 静置 8 h 后取出,离心去除多余的水分。小心取出面筋蛋白分别放至铝盒中,置于-80 °C 冰箱预冻 2 h,放入-18 °C 冰箱进行冷冻储藏。

冻融方式:为了模拟冷冻面团在运输过程和冷链技术无法精确控制温度恒定的情况下所导致的温度波动。以 10 d 作为一个冻融周期,在每个冻融周期的第 5 d,将放置在-18 °C 的样品取出放入 0 °C 中冰箱中保持 12 h 后继续放入-18 °C 冻藏,如此往复。分别在第 0、30、60、90 和 120 d 取样,将取出样品冷冻干燥,粉碎,过 120 目筛,装袋,置于干燥器皿中备用,得到不同冻融时间的样品。

#### 1.2.3 面筋蛋白流变学特性的测定

频率扫描:25 mm 圆形平板检测探头,1 mm 平行板间距,在 25 °C 下分别对样品进行了小振幅震荡测试(即频率扫描),频率范围设定为 0.1~100.0 rad/s;应变振幅设置为 1%,该值在所测样品的线性粘弹性区域范围内。该测试能够得到储能模量( $G'$ )、损耗模量( $G''$ )随频率的变化曲线。

温度扫描:夹具边缘涂一层硅油,在 25 °C 条件下平衡 2 min,从 25 °C 升到 90 °C,升温速率为 2 °C/min。测试频率固定为 1 Hz,应变振幅值设置为 1%。

#### 1.2.4 傅里叶变换红外(FT-IR)的测定

收集方式为水平衰减全反射(ATR)模式,ATR 晶体材料为 ZnSe。红外光谱采用 OPUS 6.5 软件进行扫描,测定参数为:扫描范围:4000~400  $\text{cm}^{-1}$ ;扫描次数:256 次;分辨率:4  $\text{cm}^{-1}$ 。本实验以空 ATR 晶体的红外谱图为背景,并扣除  $\text{CO}_2$  和空气中的水蒸气。每个样品的光谱基线校正采用 Wellner 的方法<sup>[7]</sup>,确保在 1800  $\text{cm}^{-1}$  处为吸收值为 0,基线相对比较平整。

#### 1.2.5 谱图处理

所有样品的图谱采用软件 PeakFit v4.12 进行分析。傅里叶反卷积参数的选定要确保足够多的谱带变窄,从而能在酰胺 I 中完全显示出来,并且使得在 1720~1690  $\text{cm}^{-1}$  处没有蛋白谱带。去卷积过滤常数(deconvolution filter constant)和平滑常数(smoothing filter)分别取值为 49.6% 和 11%。酰胺 I 中各个吸收峰的位置采用二级倒数计算得到。

#### 1.2.6 激光扫描共聚焦显微镜实验

将冻融后的面筋蛋白样品冷冻切片(厚度 1 mm),用混合染料将其染色。染料为 1 mg/mL 的 Alexa488 和 2 mg/mL 的罗丹明 B 以 1:1 的比例混合。Alexa488 激发波长为 488 nm,罗丹明 B 激发波长为 543 nm,观察范围 580~620 nm。样品在 20 倍物镜下观察,高速激光共聚焦 LSM 7 Live 系统以线形激光扫描标本,两个激光通道同时使用。线扫描速度为 60000 线/秒,面扫描速度为 120 幅/秒,图像分辨率为 1024×1024。

#### 1.2.7 数据统计分析

实验中所有数据都是三次测定的平均值,利用

Duncan's 新复极差检验 ( $p < 0.05$ ), 评价样品平均值之间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 冻融过程中卡拉胶对面筋蛋白流变学特性的影响

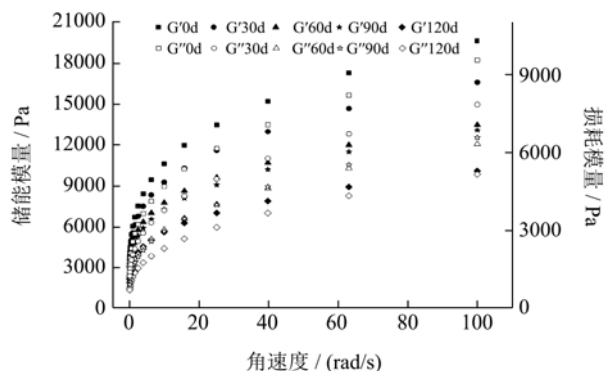


图1 不同冻融时间后频率扫描添加卡拉胶后面筋蛋白黏弹性模量的变化

Fig.1 Changes of viscoelastic modulus of gluten with adding carrageenan by frequency scanning at different frozen time

图1 为不同冻融时间下添加卡拉胶后面筋蛋白黏弹性模量与频率之间的关系图谱。如图所示, 在 0.1~100 rad/s 的频率范围内进行扫描时, 面筋蛋白的  $G'$  和  $G''$  均随着角频率的增大而线性增加, 且其中前者较后者更为明显, 同时发现  $G' > G''$  表明卡拉胶和面筋蛋白形成的混合体系仍属于介于弹性固体和黏性液体之间的类似固体的黏弹性体系。但是随着冻融时间的延长, 该体系中  $G'$ 、 $G''$  都下降, 意味着在冻融冻藏的环境中, 水分的迁移和重结晶作用对于该体系的破坏较为显著, 据前期的研究, 冻融冻藏过程中会造成面筋蛋白高分子聚合物发生解聚, 分子量降低, 分子构象改变, 从而导致面筋蛋白流变学性能的下降<sup>[8]</sup>, 即使添加卡拉胶后, 仍不能改变这种变化。但是从下降的趋势上, 在添加卡拉胶后的体系中, 冻融 60 d 时, 其  $G'$  和  $G''$  下降了约为 50% 左右, 根据报道显示, 在不添加卡拉胶时, 面筋蛋白水合体系, 恒温冻藏 9 周后, 其  $G'$  和  $G''$  下降了 60%~65% 左右<sup>[9]</sup>, 这表明添加卡拉胶能够一定程度增强该混合体系的稳定性, 延缓黏弹性的降低。卡拉胶的添加, 一方面可以通过硫酸酯基团与面筋蛋白中的谷氨酸盐氨基发生相互作用, 形成蛋白多糖络合物以改变面筋蛋白的凝胶特性<sup>[10]</sup>, 另一方面卡拉胶会通过自身的交联缠结形成弱凝胶结构, 提高体系的稳定性, 从而减少冻融过程中水分的迁移和重结晶现象的发生。

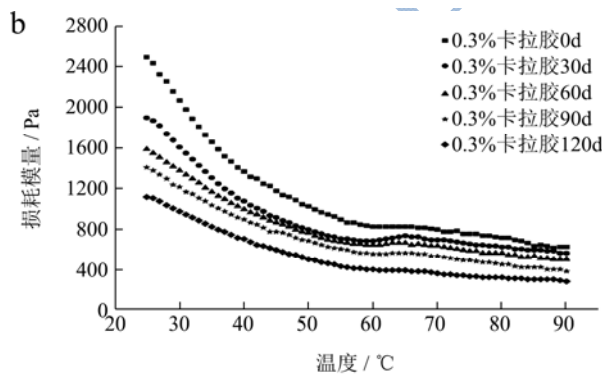
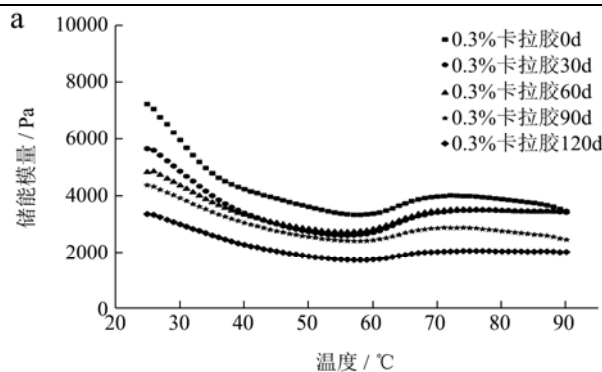


图2 不同冻融时间后温度扫描下添加卡拉胶后面筋蛋白黏弹性模量的变化

Fig.2 Changes of viscoelastic modulus of gluten with adding carrageenan by temperature scanning at different frozen time

图2 显示在 25~90 °C 温度扫描下, 在不同冻融时间下, 添加卡拉胶后的面筋蛋白的黏弹性模量的变化。如图所示, 升温过程中,  $G'$  和  $G''$  都呈现了先下降而后有不变或升高的趋势, 这与面筋蛋白的热变性温度有关, 报道显示面筋蛋白的热变性温度在 55 °C 左右<sup>[11]</sup>, 因此蛋白质的热变性后导致其  $G'$  和  $G''$  的变化。而随着冻融时间的延长, 样品的  $G'$  和  $G''$  亦呈现下降趋势, 但下降程度低于未添加卡拉胶的面筋蛋白的黏弹性模量。同时发现, 在冻融 30 d 到 90 d 的过程中,  $G'$  和  $G''$  的改变不是很明显, 但是当冻融时间达到 120 d 时其  $G'$  和  $G''$  有一个显著的下降。说明混合体系的流变学特性除了与卡拉胶、蛋白质各自的凝胶有关之外, 还与卡拉胶-蛋白质之间的相互作用有关, 两者之间通过非共价键形成的络合物在一定程度上增强体系的稳定性, 但是当冻融时间延长到一定程度时候, 面筋蛋白的网络结构仍然遭到了破坏, 黏弹性下降。

### 2.2 冻融过程中卡拉胶对面筋蛋白二级结构的影响

本节采用 ATR-FTIR 法研究冻融过程中面筋蛋白二级结构的变化, 蛋白质二级结构的指纹信息主要集中在酰胺 I 带。目前针对于采用红外光谱法研究酰胺 I

带中蛋白质二级结构指纹图谱进行研究并对酰胺I带中吸收峰的二级结构进行指认：低频率 1611~1613  $\text{cm}^{-1}$  波长范围内的吸收峰的指纹信息主要是由强氢键所形成 $\beta$ 折叠的构象所引起的<sup>[12]</sup>，而 1629~1632  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰则被认为是弱氢键形成的反平行的 $\beta$ 折叠<sup>[13]</sup>，1641~1643  $\text{cm}^{-1}$  和 1665~1670  $\text{cm}^{-1}$  处的指纹信息主要是 $\beta$ 转角所引起的，1665~1670  $\text{cm}^{-1}$  处为 $\beta$ 转角，1681~1684  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰的指纹图谱也是由于 $\beta$ 折叠所造成的<sup>[14]</sup>。本实验采用的红外光谱法是基于清楚的区分强极性氢键和水合转角延长的基础上对蛋白质红外光谱图中酰胺I带中吸收峰的指认。

蛋白质的二级结构决定了其功能特性。图3为不同冻融时间下添加卡拉胶后面筋蛋白酰胺I带经过去卷积处理后的峰位置与面积的变化。从图中可明显看出，随着冻融时间延长，面筋蛋白的二级结构也随之发生了一定的变化。在此基础上根据红外光谱中酰胺I带指纹信息的指认，同时对其去卷积后的峰面积进行积分，具体可见表1。

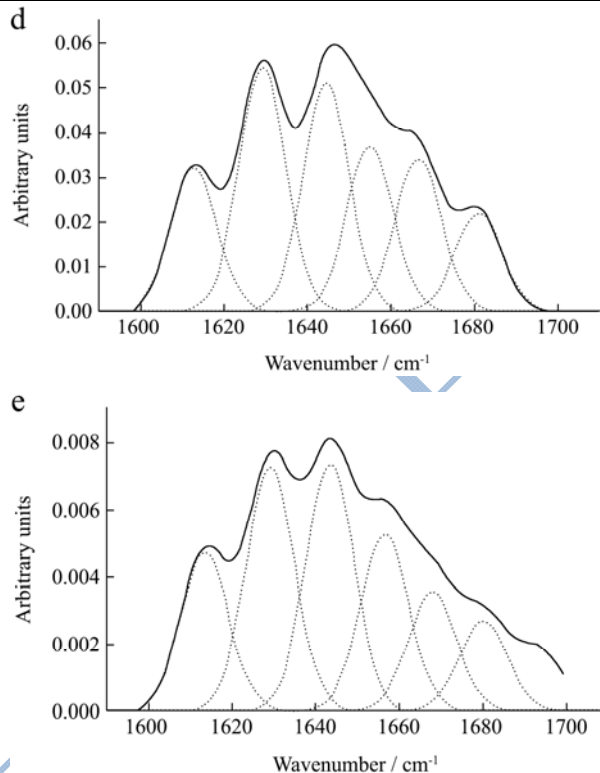
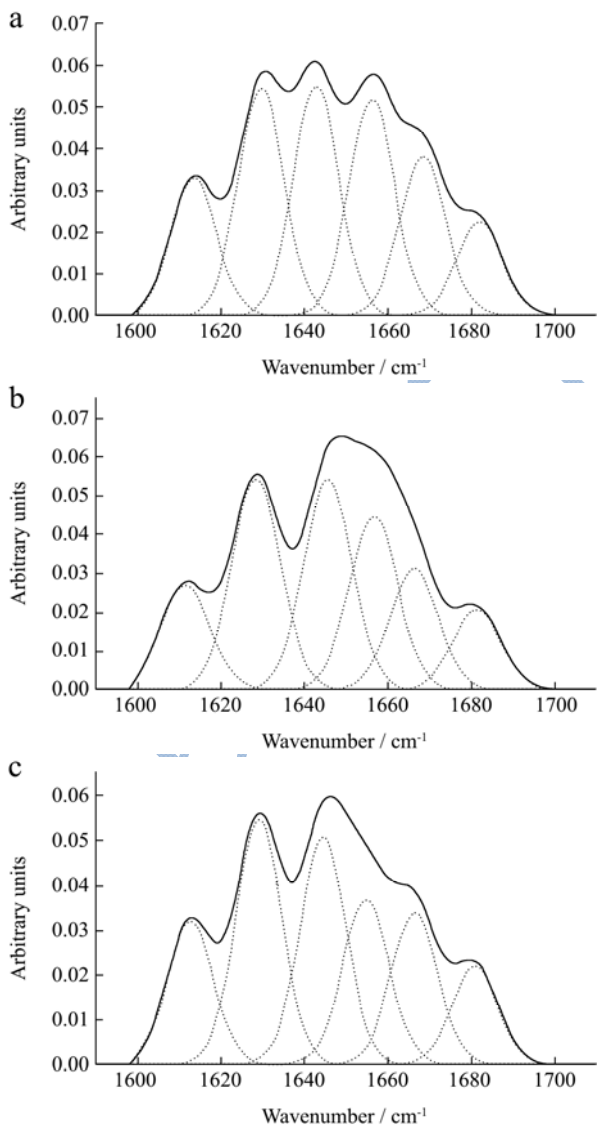


图3 不同冻融时间下添加卡拉胶后面筋蛋白酰胺I带傅里叶去卷积后高斯拟合的谱图

Fig.3 Fourier-deconvoluted amide I band of gluten fitted with sums of Gaussian bands after curve fitting at different frozen time

注： $r^2=0.951$ ，standard error=0.00005785。

由表1可知，在未经冻藏前，添加卡拉胶后，面筋蛋白的二级结构仍以 $\beta$ 折叠为主（达到43%左右），与未添加卡拉胶的面筋蛋白相差不大，这与前期研究的结果类似<sup>[10]</sup>。但随着冻融时间延长，其结构的变化可分为三个阶段，从冻融开始到冻融30d为第一个阶段，在这个过程中明显发现，1629  $\text{cm}^{-1}$  处的反平行 $\beta$ 折叠从21.43%上升至23.51%，于此同时1656  $\text{cm}^{-1}$  处的 $\alpha$ 螺旋却从20.41%下降到18.35%，而1642  $\text{cm}^{-1}$  和1668  $\text{cm}^{-1}$  两处的 $\beta$ 转角虽然都有变化，但是从 $\beta$ 转角的峰面积积分总量上来看并无明显的变化，因此在第一个阶段中二级结构的变化主要集中表现在 $\alpha$ 螺旋向 $\beta$ 折叠的转移；从冻融30d到90d为第二个阶段，在这个阶段中面筋蛋白的二级结构变化并不很明显，说明添加了卡拉胶后面筋蛋白在此阶段中其二级结构相对较为稳定；从冻融90d到120d为第三个阶段，在这个阶段，1613  $\text{cm}^{-1}$  处强氢键形成 $\beta$ 折叠从90d的13.31%上升至15.36%，与此同时1656  $\text{cm}^{-1}$  处的 $\alpha$ 螺旋却从17.79%下降到15.27%，同样的对于而1642  $\text{cm}^{-1}$  和1668  $\text{cm}^{-1}$  两处的 $\beta$ 转角也分别发生变化，但是从 $\beta$ 转角的峰面积积分总量上来看并无显著差异。

表1 添加卡拉胶组面筋蛋白二级结构的变化

Table 1 Changes of secondary structure of gluten with adding carrageenan at different frozen time

结构	频率( $\text{cm}^{-1}$ )峰面积比例(%)				
	0 d	30 d	60 d	90 d	120 d
强氢键形成 $\beta$ 折叠	1613 (12.82)	1611 (12.53)	1612 (13.11)	1612 (13.31)	1613 (15.36)
反平行的 $\beta$ 折叠	1629 (21.43)	1628 (23.51)	1628 (23.11)	1629 (23.48)	1629 (23.50)
$\beta$ 转角	1642 (21.61)	1645 (23.38)	1644 (22.56)	1644 (22.17)	1649 (23.90)
$\alpha$ 螺旋	1656 (20.41)	1656 (18.35)	1656 (18.10)	1654 (17.79)	1656 (15.27)
$\beta$ 转角	1668 (14.93)	1666 (13.33)	1666 (13.63)	1666 (13.74)	1667 (11.98)
$\beta$ 折叠	1682 (8.77)	1681 (8.88)	1680 (9.49)	1680 (9.70)	1680 (9.72)

因此,从总体上来讲,随着冻融时间延长,导致了面筋蛋白的二级结构中 $\alpha$ 螺旋向 $\beta$ 折叠的转变,表明冻融过程中,由温度的波动导致水分的迁移和冰晶重结晶,破坏了蛋白质结构中氢键, $\alpha$ 螺旋氢键弯曲,多肽链趋于伸展,使得蛋白质的亲水和疏水区域逐渐暴露在新的环境中,蛋白质分子内和分子间出现新的分子交联,进而改变了蛋白质的二级结构,使面筋蛋白中强氢键形成的 $\beta$ 折叠含量升高。而在冻融过程中出现的三个阶段也意味着卡拉胶在体系中起到一定的作用。卡拉胶添加到面筋蛋白中后,与蛋白质的结合需要经过一个过程,作为胶体卡拉胶通过自身的交联形成凝胶结构,也会维持体系的稳定性。在第一个阶段中,由于温度的波动,水分的迁移,导致面筋蛋白和卡拉胶的凝胶体系遭到较大的破坏,改变了蛋白质的二级结构,但是水分的迁移也有可能使卡拉胶随着水分的迁移更加充分地分散在面筋蛋白中,从而可以通过硫酸酯基团与面筋蛋白中的谷氨酸盐氨基发生相互作用,形成蛋白多糖络合物增强面筋蛋白的凝胶特性。这样的结果致使面筋蛋白在第二个阶段过程中结构较为稳定,而进一步延长冻融时间至120 d后,水分重结晶对结构的破坏才会进一步显现,导致蛋白质的二级结构在第三个阶段被进一步的破坏,而在冻融过程中面筋蛋白二级结构的变化和流变学特性的变化相类似。

### 2.3 冻融过程中卡拉胶对面筋蛋白微观结构的影响

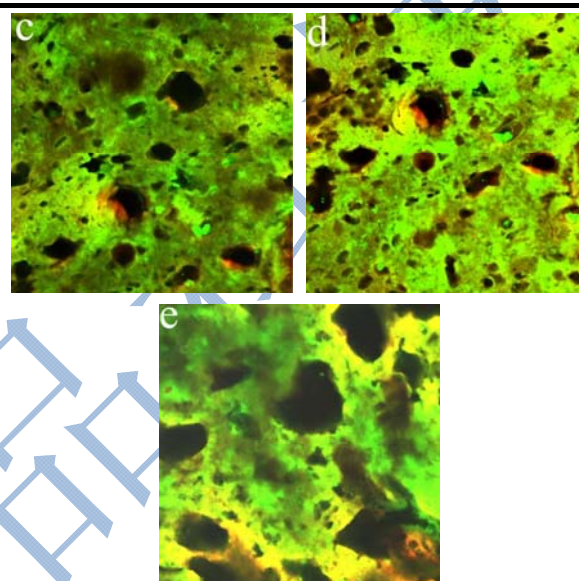
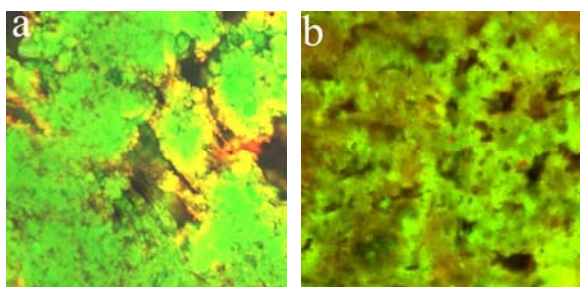


图4 添加卡拉胶组面筋蛋白经不同冻融时间后(a、b、c、d、e分别冻融0、30、60、90、120 d)在激光共聚焦显微镜下的观察结果

Fig.4 The confocal laser scanning microscope observation of gluten with adding carrageenan at different frozen time (a, b, c, d, e for freeze-thawed at 0, 30, 60, 90, 120 d respectively)

采用Alexa488和罗丹明B对卡拉胶-面筋蛋白混合体系进行染色。其中罗丹明B对卡拉胶进行染色,呈红色<sup>[15]</sup>,Alexa488对面筋蛋白进行染色,呈绿色<sup>[16]</sup>,而当卡拉胶和面筋蛋白混合处在Alexa488和罗丹明B的共同染色下呈黄色。图4是在不同冻融时间后添加卡拉胶的面筋蛋白的激光共聚焦图片,绿色部分的是面筋蛋白,黑色部分是蛋白质网络结构形成的网孔,填充物是水分,红色是卡拉胶,黄色即卡拉胶与面筋蛋白的混合物。从图4a中明显看出,在冻融0 d时,呈现红色卡拉胶的分布主要集中在面筋蛋白网络结构的边缘,水分的周围,没有渗入面筋蛋白的内部,这时卡拉胶的主要通过自身的交联缠结形成弱凝胶结构,在一定程度上可以提高体系的稳定性,但是从流变和二级结构的变化反映出冻融30 d后体系仍然会遭到破坏,说明由卡拉胶本身所形成的弱凝胶结构并不能

抵御冻融的破坏;当冻融时间达到 30 d时,图 4b中显示红色向绿色部分延伸,表明冻融时间的延长,随着水分的迁移,卡拉胶逐渐与面筋蛋白充分混合,并通过硫酸酯基团与面筋蛋白中的谷氨酸盐氨基的相互作用,形成蛋白多糖络合物增强面筋蛋白的凝胶特性,因此可以发现在冻融 30 d到 90 d的过程中,即图 4b到图 4d,面筋蛋白上空洞较小,冰晶体的重结晶对其网络结构的破坏较小,从而使得流变学特性和二级结构的变化也不为明显。但当冻融时间达到 120 d时,从图 4e上可以明显看出面筋蛋白中出现了不规则的空洞,并且其面积要远大于 90 d的,结合流变特性和蛋白质二级结构的变化,说明较长时间的冻融处理后对面筋蛋白的破坏作用增大,导致了面筋蛋白结构的破坏,流变学特性的下降。

### 3 结论

当面筋蛋白中添加卡拉胶后,在冻融冻藏过程中,面筋蛋白流变学特性和结构都得到一定的改善,其变化随冻融时间的延长分为三个阶段:从冻融开始到 30 d为第一个阶段,面筋蛋白的  $G'$ 、 $G''$ 下降明显,二级结构中  $1629\text{ cm}^{-1}$ 处  $\beta$  折叠从 21.43%上升至 23.51%,对应  $1656\text{ cm}^{-1}$ 处  $\alpha$  螺旋却从 20.41%下降到 18.35%;从冻融 30 d到 90 d为第二个阶段,面筋蛋白的  $G'$ 、 $G''$ 和二级结构变化相对不太明显;第三个阶段从冻融 90 d到 120 d, $G'$ 、 $G''$ 进一步下降,而面筋蛋白  $1613\text{ cm}^{-1}$ 处  $\beta$  折叠从 13.31%上升至 15.36%,而  $1656\text{ cm}^{-1}$ 处  $\alpha$  螺旋却从 17.79%下降到 15.27%。CLSM显示冻融 0 d时卡拉胶的分布主要集中在面筋蛋白网络结构的边缘,而卡拉胶自身的交联缠结形成弱凝胶结构并不能抵御冻融的破坏,导致了面筋蛋白流变特性的下降和结构的改变;但随着冻融时间延长以及体系中的水分迁移,卡拉胶与面筋蛋白充分混合,形成蛋白多糖络合物增强面筋蛋白的凝胶特性;当冻融时间达到 120 d时,面筋蛋白网络结构遭到进一步破坏,出现了大量不规则的孔洞。

### 参考文献

- [1] Ahmed A, Anjum M, Ahmad A, et al. Effects of hydrocolloids on partial baking and frozen storage of wheat flour chapatti [J]. Food Science and Technology Research, 2013, 19(1): 97-103
- [2] Das L, Raychaudhuri U, Chakraborty R. Effects of hydrocolloids as texture improver in coriander bread [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(6): 3671-3680
- [3] 李绍红.冷冻面团品质改良技术研究[D].郑州:河南工业大学,2010  
LI Shao-hong. Study on the quality improvement of frozen dough [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2010
- [4] Dodić J, Pejin D, Dodić S, et al. Effects of hydrophilic hydrocolloids on dough and bread performance of samples made from frozen doughs [J]. Journal of Food Science, 2007, 72(4): S235-S241
- [5] Ferrero C. Hydrocolloids in wheat breadmaking: A concise review [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 68: 15-22
- [6] Wrigley C W. Giant proteins with flour power [J]. Nature, 1996, 381(6585): 738-739
- [7] 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): 255-261
- [8] Zhao L, Li L, Liu G, 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
- [9] 李玲玲,贾春利,黄卫宁,等.冰结构蛋白对湿面筋蛋白冻藏稳定性的影响[J].食品科学,2010,31(19):25-28  
LI Ling-ling, JIA Chun-li, HUANG Wei-ning, et al. Effect of ice-structuring protein on the stability of frozen hydrated gluten [J]. Food Science, 2010, 31(19): 25-28
- [10] 赵雷,张小梅,余小林,等. $\kappa$ -卡拉胶对面筋蛋白功能特性及结构的影响[J].食品科技,2016,8:153-158  
ZHAO Lei, ZHANG Xiao-mei, YU Xiao-lin, et al. Effects of  $\kappa$ -carrageenan on the functional characteristics and structure of gluten [J]. Food Science and Technology, 2016, 8: 153-158
- [11] Homer S, Kelly M, Day L. Determination of the thermo-mechanical properties in starch and starch/gluten systems at low moisture content-A comparison of DSC and TMA [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 108(1): 1-9
- [12] 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(3): 238-246
- [13] Zhao L, Liu X, Hu Z, et al. Molecular structure evaluation of wheat gluten during frozen storage [J]. Food Biophysics, 2017, 12(1): 60-68
- [14] Georget D M, Belton P S. Effects of temperature and water content on the secondary structure of wheat gluten studied by FT-IR spectroscopy [J]. Biomacromolecules, 2006, 7(2): 469-475

[15] Li Q, Liu R, Wu T, et al. Interactions between soluble dietary fibers and wheat gluten in dough studied by confocal laser scanning microscopy [J]. Food Research International, 2017, 95: 19-27

[16] Bernklau I, Lucas L, Jekle M, et al. Protein network analysis-A new approach for quantifying wheat dough microstructure [J]. Food Research International, 2016, 89: 812-819

