

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.02.036

W/O 乳液凝固剂对 SPI 冷凝胶流变特性与微观结构的影响*

朱巧梅 郇金龙 范鑫 殷丽君

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 采用扫描电镜(SEM)、质地剖面分析(TPA)及动态流变技术研究卤水及不同油包水(W/O)乳液凝固剂对大豆分离蛋白(SPI)冷凝胶微观结构及流变特性的影响。流变结果表明,弹性模量(G')的变化高度依赖W/O乳液中的镁盐释放速度。随着反应时间的延长, G' 值不断增大,与传统卤水相比,新型W/O乳液凝固剂延长了冷凝胶的凝固时间,在凝胶形成过程中,W/O乳液对镁盐起到了缓释作用。对比不同W/O乳液凝固剂发现,含有乳清分离蛋白(WPI)的乳液形成SPI冷凝胶的时间更长,而且弹性模量值更小。此外,电镜结果表明W/O乳液凝固剂能显著降低冷凝胶的硬度并改善蛋白凝胶的网络结构,使SPI冷凝胶具有更小的网孔孔隙和更加均匀的网状结构。

关键词: 冷凝胶 油包水乳液 凝固剂 流变特性 微观结构 质构分析

中图分类号: TS201.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2015)02-0240-07

Effect of W/O Emulsion Coagulants on Rheological Properties and Microstructure of Cold-set SPI Gels

Zhu Qiaomei Li Jinlong Fan Xin Yin Lijun

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

Abstract: Scanning electron microscopy (SEM), texture profile analysis (TPA) and dynamic rheology technique were applied to investigate the effect of traditional bittern and different water in oil (W/O) emulsion coagulants on the rheological properties and microstructure of cold-set SPI gels. Rheological tests suggested that the development of the mechanical moduli (G') of these SPI gels was highly dependent on the release rate of magnesium salts from W/O emulsions. The values of G' in all cold-set SPI gels gradually increased with the extension of time and W/O emulsion coagulants prolonged the solidification time of cold-set SPI gels in comparison with traditional bittern coagulant. This could be attributed to the controlled-release properties of W/O emulsion coagulants. In addition, cold-set SPI gel prepared with W/O emulsion coagulant containing WPI exhibited a longer solidification time and a lower value of G' than W/O emulsions without WPI. Cold-set SPI gels induced by W/O emulsion coagulants had better microstructure than that of traditional bittern coagulant as shown by SEM results, which elucidated that W/O emulsion coagulants could obviously decrease the strength of cold-set SPI gels and produce protein gels with smaller pores and more homogeneous network structure.

Key words: Cold-set gel W/O emulsions Coagulants Rheological properties Microstructure Texture analysis

引言

大豆分离蛋白因具有较高的营养价值和理想的

功能特性而被广泛地应用在食品体系中。其中,凝胶特性是大豆分离蛋白的重要功能特性之一,它能够改善食品的外观、持水性以及赋予食品很好的组

收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-04-11

* 国家自然科学基金资助项目(31171648)和“十二五”国家科技支撑计划资助项目(2012BAD34B03)

作者简介: 朱巧梅,博士生,主要从事食品乳液加工及应用研究, E-mail: zhuqiaomei1010@163.com

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

织结构^[1]。蛋白质形成凝胶的方法有很多,主要分为热凝胶和冷凝胶。将含有盐离子的蛋白溶液在高温下加热一段时间,经过冷却即可形成热凝胶。在热凝胶形成过程中,蛋白质的变性、聚集以及交联是同时发生的^[2]。将一定量的蛋白溶液加热前处理,然后在冷却的蛋白溶液中通过添加盐离子、酶或者降低 pH 值来诱导蛋白之间发生交联,则形成冷凝胶^[3]。对于冷凝胶而言,蛋白的变性、聚集和交联是分开进行的。由于蛋白之间的交联过程没有经过热处理,因此,具有挥发性和生物活性的物质能够通过蛋白冷凝胶的包埋而避免风味成分和营养成分损失^[4]。

目前,冷凝胶是国内外凝胶领域的研究新方向,主要形成了盐、酸和酶 3 种诱导方式的冷凝胶类型^[5]。盐诱导的蛋白冷凝胶是通过添加单价的钠盐和二价的钙盐、镁盐来制备。大部分研究采用钙盐和钠盐以及二者的混合来研究冷凝胶的微观结构^[6-8],而对于镁盐诱导的大豆蛋白冷凝胶的研究较少。主要原因在于镁盐与蛋白的快速反应使得蛋白网状结构粗糙,持水性差。在之前的研究中^[9],笔者利用 W/O 乳液凝固剂制备豆腐并研究大豆蛋白网络结构中水分的变化,发现 W/O 乳液影响豆腐凝固过程中的水分迁移并且最终提高豆腐的保水性,使豆腐质地更加细嫩。因此,为了改善由于镁盐快速反应而产生粗糙的 SPI 冷凝胶结构,本文也将采用 W/O 乳液作为凝固剂并分析 W/O 乳液凝固剂对 SPI 冷凝胶微观结构和流变特性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆(中国农业科学院,中黄 13 号),卤片(天津市塘沽金轮盐化有限公司, $MgCl_2$ 质量分数 47%),卤水按照卤片与水的质量比例 2:1 进行配置。聚甘油缩合蓖麻醇酸酯(PGPR,商品名 ADMUL WOL 1403),大豆油(市售食用大豆油),乳清分离蛋白(Whey protein isolate, WPI,美国 Glanbia 公司),镁元素标准溶液(国家标准物质研究中心),戊二醛(电镜级分析纯),硝酸、高氯酸、醋酸异戊酯、硅油皆为分析纯,实验用水为超纯水。

1.2 主要仪器和设备

NS1001L Panda2K 型高压均质机(意大利 GEA Niro So-avi 公司),T25 型均质机(德国 IKA 公司),长风水浴锅(北京市长风仪器仪表公司),AA-7000F 型原子火焰分光光度计(日本岛津公司),Orion5-star 型电导率仪(美国 Thermo Scientific 公司),RS600 型流变仪(德国哈克公司),Qunta200 型扫描

电镜(美国 FEI 公司),TMS-Pro 型质构仪(美国 FTC 公司),L-129A 型离心管加热器(中国来亨仪器公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 W/O 乳液凝固剂的制作

W/O 乳液凝固剂的制备采用两步均质法^[10]。首先以分别溶解 0.1、0.3、0.5 g WPI 的卤水为分散相,溶解有 PGPR 的大豆油为连续相,按照分散相与连续相质量比例 2:3 在 65℃ 水浴槽中搅拌 15 min,其中 PGPR 占总体系质量分数为 2.0%。水浴后的混合液先用高速均质机在 13 000 r/min 下均质 2 min,将获得的初级乳液在 60 MPa 压力下进行高压均质,最终获得 W/O 乳状液,4℃ 保存。

1.3.2 大豆分离蛋白的制备

参照 Tang 的方法制备大豆分离蛋白^[11],将低温变性大豆饼粕按照料液比 0.1 g/mL 加入蒸馏水,使用 2 mol/L 的 NaOH 将体系调整到 pH 值 8.0,在室温下搅拌 2 h。随后将提取物通过 80 目的网筛过滤取滤液,采用 8 000 r/min 将滤液离心 30 min。倒出上清液,使用 2 mol/L HCl 调节 pH 值至 4.5,4℃ 放置 2 h,随后使用 3 000 r/min 在 4℃ 下离心 20 min。蛋白沉淀物在 2 000 r/min 下水洗 20 min。然后用 2 mol/L 的 NaOH 将体系中和到 pH 值 7.0,随后将蛋白液冷冻干燥得到最终的大豆分离蛋白。蛋白质量分数为 $(90.88 \pm 0.58)\%$ (凯氏定氮法测定,换算系数 6.25)。

1.3.3 原子火焰吸收分光光度计测定镁含量

卤水和 W/O 乳液中的镁含量采用原子火焰吸收分光光度法来测定。准确称取 1 g 样品(卤水及不同 W/O 乳液)置于玻璃消化管中,加入浓硝酸和高氯酸按体积比例 4:1 组成的混合酸 15 mL,放置 2 h 后,从 100℃ 逐渐加热到 180℃,完全消化后,得到无色透明或者略带黄色的消化液。冷却后定容至 10 mL。同时做好空白样品。每一个样品在 285.2 nm 波长下测量 2 次。具体参数为:乙炔流量为 1.8 L/min;光谱带 0.7 nm,灯电流为 8 mA。

1.3.4 电导率测定

测定电导率来模拟 W/O 乳液中镁离子的缓释速度。取 8 g W/O 乳液加入装有 400 g 蒸馏水的烧杯中。然后在 13 000 r/min 均质搅拌乳液,每 20 s 从烧杯取 1 mL 液体,加入蒸馏水至 8 mL 后用电导常数为 0.55 cm^{-1} 的电导率仪测电导率变化值。

1.3.5 制备冷凝胶

冷凝胶的制备方法参照 Maltais 的方法并做适当的调整^[12],将大豆分离蛋白加入双蒸水配成质量分数 6.0% 的大豆分离蛋白溶液,在 25℃ 下磁力搅

拌2 h。用2 mol/L NaOH 溶液调节 SPI 溶液体系至 pH 值 7.0。取 40 mL SPI 溶液放入 50 mL 离心管,在 105℃ 的离心管加热器中加热 15 min。移出样品,在冷水中冷却至室温,随后加入卤水及 W/O 盐卤凝固剂。为了使 W/O 乳液充分分散到 SPI 溶液中,采用 11 000 r/min、均质 1 min 的均质搅拌条件。混匀后的样品倒入烧杯,室温放置一段时间使其凝固。

1.3.6 动态流变仪测定

本实验采用 RS600 型哈克流变仪,所带配件为直径 60 mm 的平行铝板,间隙为 1 mm。测量前,将卤水及 W/O 盐卤凝固剂充分分散到 40 mL SPI 溶液,然后取适量的蛋白溶液置于平板之间,在样品周围涂上一层薄薄的硅油,从而防止样品水分的蒸发。在 25℃ 下使 SPI 溶液在原地形成凝胶,每 120 s 记录一次模量的变化,设置频率为 1 Hz,应力为 0.01 Pa。同时采用应力扫描测试得到样品的线性粘弹区。

1.3.7 TPA 测定

将待测凝胶样品(2 cm × 2 cm × 1.5 cm)压缩变形为样品高度的 30%,探头直径为 36 mm,下降速度为 20 mm/min,检测温度为室温(25℃),测定结果为 3 次测试的平均值。可得到以下质构参数:硬度、弹性、咀嚼性、凝聚性。这些参数值的计算依据 Bourne 法^[13]。

凝胶的质构特性评价采用 TPA 分析模型。切取待测凝胶样品(2 cm × 2 cm × 1.5 cm)并置于质构分析平台,测试参数为:压头直径 36 mm,压缩形变率 30%,压缩速度 20 mm/min。仪器自动获得样品硬度(N),弹性(mm),咀嚼性(mJ)等指标^[13]。取同一批次相同样品不同区域的凝胶块,测定 3 次取平均值。

1.3.8 冷凝胶的微观结构

利用电镜来观察 SPI 冷凝胶的微观结构。SPI 冷凝胶样品切成小方块(3 mm × 3 mm × 3 mm),用 2.5% 戊二醛(以 pH 值 7.4、0.1 mol/L 的磷酸缓冲液为基液)在 4℃ 下固定 12 h,然后用 pH 值 7.4、浓度 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液冲洗 3 次,每次清洗 15 min。随后用不同体积分数(60% ~ 100%)的乙醇进行梯度脱水,每次洗脱 15 min。最后用醋酸异戊酯置换出乙醇。对样品进行临界点干燥,然后在干燥的样品表面经离子溅射仪喷金后,置于扫描电子显微镜下观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 凝固剂添加量的确定

在制备 SPI 冷凝胶之前先确定盐卤以及新型

W/O 乳液凝固剂中的镁离子含量。1.0 g 样品中,盐卤中的镁离子含量约为 W/O 乳液盐卤凝固剂的 10 倍,而不同 W/O 乳液凝固剂包埋的镁离子含量没有明显差异。经过多次实验发现,当加热变性后的 SPI 溶液中的卤水添加量大于 0.2 g 时,蛋白溶液无法形成凝胶状,而是呈松散的凝聚状。为了保证在相同的镁离子含量下制备出的 SPI 冷凝胶达到最佳的质地效果,对照组采用 0.2 g 卤水,实验组采用 2.0 g W/O 乳液作为凝固剂。

2.2 W/O 乳液凝固剂的缓释特性

在本实验中,通过测定水溶液中电导率的变化来模拟 W/O 乳液的缓释特性。从图 1 可以看出,随着时间的延长,电导率在不断增大,说明 W/O 乳液在均质搅拌下,油水界面膜逐渐破裂,不断释放出内水相的镁离子。此外,含有 WPI 的 W/O 乳液在最开始的 60 s 内,电导率上升趋势较小,经过 100 s 的均质搅拌后才开始缓慢上升,而对于不含 WPI 的 W/O 乳液从一开始就在不断上升,说明 WPI 有利于改善 W/O 乳液的稳定,从而延缓了内水相中镁盐的释放。经过 480 s 的均质后,除了含有 0.5% WPI 的 W/O 乳液,其他乳液的电导率基本达到相同值。

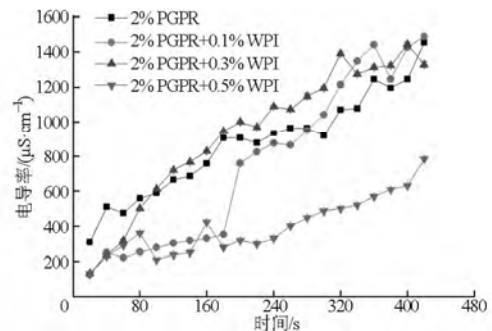


图 1 不同 W/O 乳液凝固剂的电导率变化
Fig. 1 Conductivity change of different W/O emulsion coagulants

有研究表明,在油包水乳液中的内水相中添加蛋白(如 β -乳球蛋白、牛血清蛋白以及酪蛋白酸钠等)有助于改善油包水乳液的稳定性。主要原因在于:一方面,蛋白降低了平衡界面张力并增加了界面粘弹特性^[14-15]。另一方面,乳化剂与蛋白分子同时在油水界面吸附,由于氢键和疏水交联的相互作用形成了一个复合体,从而防止乳液中液滴的破裂^[16-17]。

2.3 SPI 冷凝胶的流变特性

为了探究凝固剂对凝胶弹性模量 G' 的影响,对不同盐卤凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶进行应力扫描实验。图 2 表明,对于盐卤和 W/O 乳液诱导的 SPI 冷凝胶,在一定范围内,随着应力的增加, G' 值几乎保

持不变。当应力大于 0.02 时, G' 呈现下降的趋势, 表明此时蛋白凝胶网状结构中发生了键断裂, 蛋白网状结构由线性行为转变成非线性^[18]。对于盐卤和 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶, 当应力小于 0.02 时, G' 不依赖于应力的变化, 此时为其线性粘弹区。对比发现, 盐卤凝固的 SPI 冷凝胶 G' 值高于 W/O 乳液诱导的 SPI 冷凝胶, 而且不同 W/O 乳液诱导的 SPI 冷凝胶 G' 值不同, 主要原因在于卤水中的镁离子与大豆分离蛋白的反应速度不同。在油包水乳液中, 镁离子包埋在内相, 只有在机械均质条件下才能缓慢地释放出来, 与卤水相比, 镁离子浓度较低。因此, 在较低的镁离子浓度下, 镁离子与蛋白反应形成的“镁桥”较弱, 蛋白分子之间聚集的强度下降^[19]。为了更好地理解盐卤和 W/O 乳液凝固剂诱导形成 SPI 冷凝胶过程中的流变特性, 在线性粘弹区内, 对添加凝固剂后的 SPI 溶液进行时间扫描振荡实验。在蛋白凝胶形成过程中, 能得到 3 个参数值: 弹性模量 (G')、粘性模量 (G'') 和损失角 ($\tan\delta$)。但是 G' 值的变化幅度大于 G'' , 并且 G' 值最能表征蛋白凝胶形成的过程。因此, 在本实验中只记录并讨论 G' 值。 G' 表示每个变形周期内储存的能量并反映测试材料类似于固态或者弹性的行为。从图 3 中可看出, 在反应 50 min 后, 含 2% PGPR 乳化剂及低浓度 WPI 下 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶 G' 值有小幅度上升, 而对于含有质量分数 0.3% 和 0.5% WPI 下乳液诱导凝固形成的 SPI 冷凝胶 G' 值几乎没有变化。当反应时间大于 50 min 后, 所有的 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶的 G' 值都在增加。但是可以明显看出低浓度 WPI 下乳液诱导形成的冷凝胶 G' 值上升的速度要高于含有较高浓度 WPI 乳液的 G' 值。盐卤诱导的 SPI 冷凝胶 G' 值, 在反应开始时就达到 520 Pa, 而此时 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶还没有反应, G' 值为 0 Pa。在随后的时间里, 盐卤诱导的 SPI 冷凝胶 G' 值几乎不再增加, 最终 G' 值低于 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶 G' 值。对于 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶, 其 G' 值随着时间的延长而逐渐增加, 表明 W/O 乳液在缓慢地释放镁盐, 通过“镁桥”从而使得蛋白-蛋白之间的交联逐渐加强, 进而加强了蛋白的网状结构。由于 W/O 乳液的缓释特性, 使得镁盐有充分的时间和周边的蛋白反应, 延长了凝胶形成的时间。而对于盐卤诱导的 SPI 冷凝胶, 由于卤水中的镁盐与蛋白快速反应使得蛋白-蛋白之间的聚集强度在短时间内达到最大值。此外, W/O 乳液中的 WPI 对 SPI 冷凝胶的流变特性也有影响。总体来说, 低浓度 WPI 下的 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶 G' 值要高于

高浓度 WPI 下的 SPI 冷凝胶。主要原因在于, WPI 能够增强 W/O 乳液的稳定性, 使 W/O 乳液更难破裂, 镁盐从 W/O 乳液的内相中释放速度更加缓慢, 从而降低了蛋白和镁盐的反应强度。

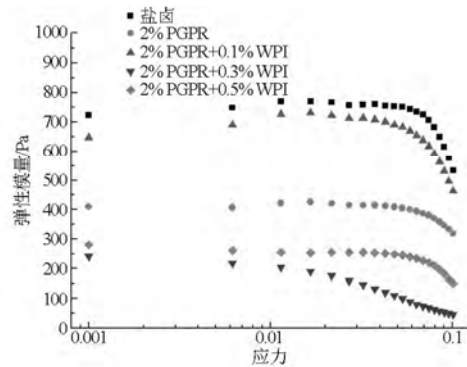


图 2 不同凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶的弹性模量-应力曲线

Fig. 2 G' -strain curve of different coagulated cold-set SPI gels

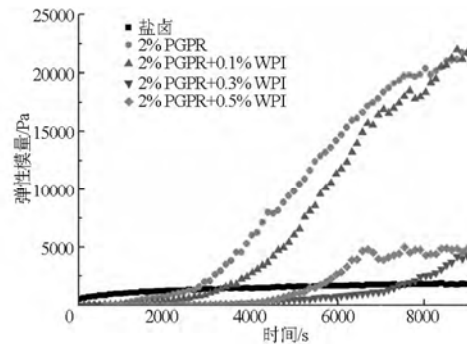


图 3 不同盐卤凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶的流变学变化

Fig. 3 Rheology evolution of different coagulated cold-set SPI gels

2.4 不同凝固剂诱导 SPI 冷凝胶的微观结构特性

为了探究不同凝固剂对 SPI 冷凝胶微观结构的影响, 采用扫描电镜在 500 倍和 5 000 倍下观察蛋白凝胶的网状结构 (图 4)。从这些 SEM 图中可以看出凝胶网状结构的粗糙度, 即凝胶结构的不均匀性。在放大 500 倍数下, W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶表层光滑, 网孔较小且均匀, 然而卤水制备的 SPI 冷凝胶结构十分粗糙, 在 5 000 倍下可以看到盐卤诱导的 SPI 冷凝胶网状结构孔洞较大, 蛋白凝聚物的尺寸较小。由此可见, W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶形成了均匀有序的凝胶, 而卤水制备的 SPI 冷凝胶则形成了无序松散块状凝胶。蛋白凝胶持水能力会随着形成的凝胶内部结构网孔大小发生改变, 具有较大、不均匀网孔结构的凝胶会由于较低的毛细作用力而减少对水的吸附^[20]。W/O 乳液诱导的 SPI 冷凝胶网状结构孔隙小, 尺寸均一, 因而能够提高凝胶的持水能力。造成卤水和 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶结构不同的主要原因是镁盐和大豆蛋白的反应时间和速度, W/O 乳液包埋卤水, 保证了镁盐有充分的时间以适当的速度和蛋

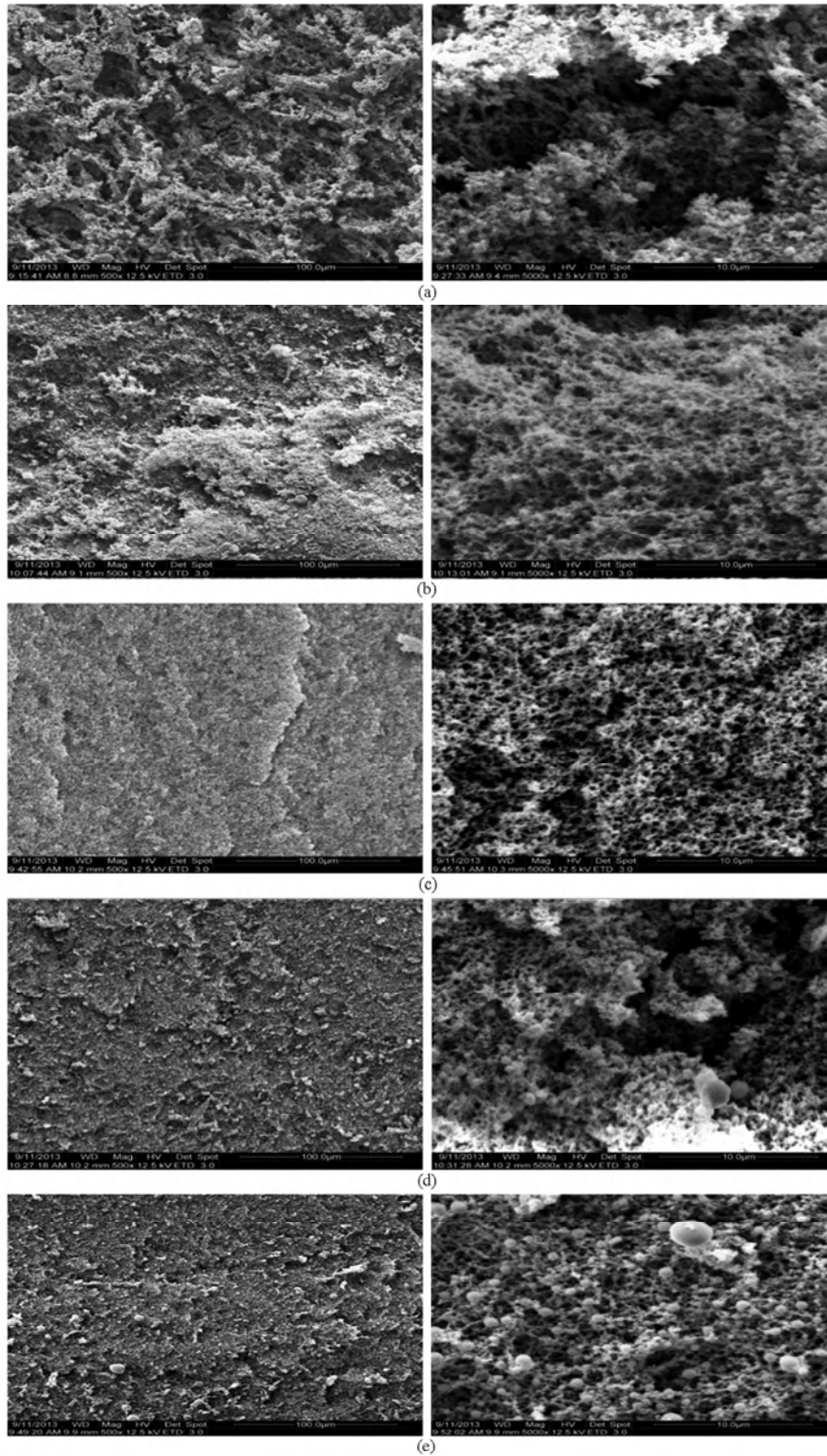


图4 不同凝固剂诱导的SPI凝胶微观结构

Fig.4 Microstructure of different solidified cold-set SPI gels

(a) 盐卤 (b) 2% PGPR (c) 2% PGPR+0.1% WPI (d) 2% PGPR+0.3% WPI (e) 2% PGPR+0.5% WPI

白形成“镁桥”，从而降低了蛋白交联强度，最终形成了有序均一的凝胶网络结构。此外，值得注意的是，当W/O乳液中的WPI含量增加时，其诱导的SPI凝胶表层有一些完整的油包水乳球。原因可归于两方面：一方面，在制备乳液时，WPI降低了油水两相界面张力^[14]，从而改善了乳液的稳定性，使

得乳液在SPI溶液中不能完全分散开，因而没有完全释放出镁盐和蛋白反应；另一方面，在较低的镁盐浓度下，蛋白-蛋白交联形成了具有较小孔隙的网状结构，从而排出内部结构中多余的油包水乳滴球。

2.5 不同凝固剂对SPI凝胶质构特性的影响
 蛋白凝胶的质构特性对产品的品质和消费者的

喜好程度起到非常重要的作用。从以上的流变和电镜实验中,可以明显看出盐卤与 W/O 乳液凝固剂,甚至不同 W/O 乳液凝固剂之间对凝胶的形成时间和胶体交联强度都有明显的差别,因此在实验中进行质构测试来分析 SPI 冷凝胶的机械特性。从表 1 中可以看出,卤水诱导的 SPI 冷凝胶的硬度、弹性和咀嚼性均要高于 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶。蛋白凝胶的含水率直接关系到蛋白凝胶的软硬度,当蛋白凝胶的含水率较高时,蛋白凝胶网络结构

之间的孔隙充满了水分,从而降低了蛋白凝胶的硬度,使凝胶更加细嫩。此外,由于盐卤中的镁离子能够很好地溶解,所以与蛋白反应的瞬间,镁离子浓度很高,导致蛋白之间的斥力下降,从而使蛋白凝胶网络结合增强,使得硬度、弹性和咀嚼性等指标都有所增加。而对比不同 W/O 乳液凝固剂可发现,在高含量 WPI 的乳液诱导的 SPI 冷凝胶的硬度、咀嚼性较小,以上结果可从 SEM 上得到印证。

表 1 不同凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶的质构特性

Tab. 1 Texture properties of different solidified SPI cold-set gels

样品	硬度/N	弹性/mm	凝聚性	咀嚼性/mJ
盐卤	2.36 ± 0.50	0.34 ± 0.09	0.32 ± 0.02	0.50 ± 0.08
2% PGPR	1.04 ± 0.09	0.23 ± 0.04	0.35 ± 0.03	0.12 ± 0.03
2% PGPR + 0.1% WPI	1.09	0.23 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.09 ± 0.01
2% PGPR + 0.3% WPI	0.89 ± 0.10	0.22 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.06 ± 0.01
2% PGPR + 0.5% WPI	0.88 ± 0.08	0.19 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.07 ± 0.01

3 结束语

利用动态流变学技术和 SEM 分析了不同类型盐卤凝固剂对 SPI 冷凝胶流变特性及微观结构的影响。流变实验中不同凝固剂诱导的 SPI 冷凝胶弹性模量 G' 值随时间的变化趋势说明盐卤和 W/O 乳液凝固剂形成了不同的凝胶网络结构。通过电镜可以更加直观地看到 W/O 乳液凝固剂诱导的 SPI 冷凝

胶表层光滑,内部网状孔隙小而均匀,而盐卤诱导的 SPI 冷凝胶网络结构粗糙,蛋白聚集不均匀。说明 W/O 乳液凝固剂对包埋的镁盐有很好的控释效果,从而改善了 SPI 冷凝胶的品质。SPI 冷凝胶模型对豆腐生产具有指导意义,因此通过 W/O 乳液凝固剂改善 SPI 冷凝胶的品质,对进一步改善豆腐的产量和品质提供了理论依据。

参 考 文 献

- Tang C H, Wu H, Chen Z, et al. Coagulation and gelation of soy protein isolates induced by microbial transglutaminase [J]. Journal of Food Biochemistry, 2006, 30 (1) : 35 - 55.
- Renkema J M S, Van Vliet T. Concentration dependence of dynamic moduli of heat-induced soy protein gels [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18 (3) : 483 - 487.
- Totosaus A, Montejano J G, Salazar J A, et al. A review of physical and chemical protein-gel induction [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2002, 37 (6) : 589 - 601.
- Maltais A, Remondetto G E, Subirade M. Tableted soy protein cold-set hydrogels as carriers of nutraceutical substances [J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24 (5) : 518 - 524.
- Tang C H, Li L, Wang J L, et al. Formation and rheological properties of 'cold-set' tofu induced by microbial transglutaminase [J]. Food Science and Technology, 2007, 40 (4) : 579 - 586.
- Lu X, Lu Z, Yin L, et al. Effect of preheating temperature and calcium ions on the properties of cold-set soybean protein gel [J]. Food Research International, 2010, 43 (6) : 1673 - 1683.
- Hongsprabhas P, Barbut S. Protein and salt effect on Ca^{2+} -induced whey protein isolate cold gelation [J]. Journal of Food Science, 1997, 62 (2) : 382 - 385.
- Bryant C M, McClements D J. Influence of NaCl and $CaCl_2$ on cold-set gelation of heat-denatured whey protein [J]. Journal of Food Science, 2000, 65 (5) : 801 - 804.
- 朱巧梅, 酈金龙, 刘妍, 等. 新型 W/O 盐卤凝固剂对大豆蛋白凝胶中水分变化的影响 [J]. 中国粮油学报, 2014, 29 (5) : 100 - 105.
Zhu Qiaomei, Li Jinlong, Liu Yan, et al. Effect of novel W/O bitterm coagulant on the change of water in soy protein gel [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2014, 29 (5) : 100 - 105. (in Chinese)
- 酈金龙, 程永强, 焦翔, 等. W/O 及 W/O/W 乳液型缓释凝固剂对卤水豆腐品质的影响 [J]. 农业机械学报, 2013, 44 (9) : 162 - 168.
Li Jinlong, Cheng Yongqiang, Jiao Xiang, et al. Effect of W/O and W/O/W controlled-release emulsion coagulants on the

- character of bittern-solidified Tofu [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(9): 162-168. (in Chinese)
- 11 Tang C H, Chen L, Foegeding E A. Mechanical and water-holding properties and microstructures of soy protein isolate emulsion gels induced by CaCl_2 , Glucono- δ -lactone (GDL), and transglutaminase: influence of thermal treatments before and/or after emulsification [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(8): 4071-4077.
 - 12 Maltais A, Remondetto G E, Gonzalez R, et al. Formation of soy protein isolate cold-set gels: protein and salt effects [J]. Journal of Food Science, 2005, 70(1): C67-C73.
 - 13 Bourne M. Food texture and viscosity: concept and measurement [M]. San Diego: Academic Press, 2002.
 - 14 Gülsiren İ, Corredig M. Interactions at the interface between hydrophobic and hydrophilic emulsifiers: polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and milk proteins, studied by drop shape tensiometry [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 29(1): 193-198.
 - 15 Knoth A, Scherze I, Muschiolik G. Stability of water-in-oil-emulsions containing phosphatidylcholine-deleted lecithin [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(3): 635-640.
 - 16 Garti N, Aserin A, Cohen Y. Mechanistic consideration on the release of electrolytes from multiple emulsions stabilized by BSA and nonionic surfactants [J]. Journal of Controlled Release, 1994, 29(1-2): 41-51.
 - 17 Omotosho J A, Law T K, Whateley T L, et al. The stabilization of W/O/W emulsions by interfacial interaction between albumin and nonionic surfactants [J]. Colloids and Surfaces, 1986, 20(1-2): 133-144.
 - 18 Ould Eleya M M, Ko S, Gunasekaran S. Scaling and fractal analysis of viscoelastic properties of heat-induced protein gels [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(2): 315-323.
 - 19 Nagano T, Tokita M. Viscoelastic properties and microstructures of 11S globulin and soybean protein isolate gels: magnesium chloride-induced gels [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(7): 1647-1654.
 - 20 Hermansson A M. Soy protein gelation [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1986, 63(5): 658-666.

~~~~~

(上接第 197 页)

- 6 Li G, Ying M, Shi J, et al. The purification and characterisation of polyphenol oxidase from green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Food Chemistry, 2009, 117(1): 143-151.
- 7 Sener A, Ümit Ünal M. Purification and characterization of polyphenol oxidase from Akko XIII Loquat (*Eriobotrya japonica* cv Akko XIII) [J]. Food Biotechnology, 2011, 25(1): 30-42.
- 8 García-García M I, Hernández-García S, Sánchez-Ferrer Á, et al. Kinetic study of hydroxytyrosol oxidation and its related compounds by red globe grape polyphenol oxidase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(25): 6050-6055.
- 9 Ni Eidhin D M, Murphy E, O'Beirne D. Polyphenol oxidase from apple (*Malus domestica* Borkh. cv Bramley's Seedling): purification strategies and characterization [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(1): 51-58.
- 10 Rahman A N, Ohta M, Nakatani K, et al. Purification and characterization of polyphenol oxidase from cauliflower (*Brassica oleracea* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(14): 3673-3678.
- 11 Navarro J L, Tárrega A, Sentandreu M A, et al. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from persimmon [J]. Food Chemistry, 2014, 157: 283-289.
- 12 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2): 248-254.
- 13 王建晖. 涂膜对芒果常温贮藏品质、生理生化的影响及果实 PPO 酶学特性、分离纯化的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2006.
- 14 Zaini N A M, Osman A, Hamid A A, et al. Purification and characterization of membrane-bound polyphenoloxidase (mPPO) from snake fruit [*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss] [J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 407-414.
- 15 Sellés-Marchart S, Casado-Vela J, Bru-Martí R. Isolation of a latent polyphenol oxidase from loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.): kinetic characterization and comparison with the active form [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2006, 446(2): 175-185.
- 16 Navarro J L, Tárrega A, Sentandreu M A, et al. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from persimmon [J]. Food Chemistry, 2014, 157: 283-289.
- 17 Cabanes J, Escribano J, Gandía-Herrero F, et al. Partial purification of latent polyphenol oxidase from peach (*Prunus persica* L. cv. Catherina). Molecular properties and kinetic characterization of soluble and membrane-bound forms [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2007, 55(25): 10446-10451.
- 18 罗磊, 周燕燕, 朱文学, 等. 金银花多酚氧化酶特异性与抑制剂动力学研究 [J]. 农业机械学报, 2014, 45(7): 202-208.  
Luo Lei, Zhou Yanyan, Zhu Wenxue, et al. Specificity and inhibition kinetics of polyphenol oxidase from honeysuckle [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(7): 202-208. (in Chinese)