

文章编号:1673-1689(2009)01-0063-05

工艺条件对酶法改性大豆蛋白膜性能的影响(I)

姜燕¹, 唐传核², 温其标²

(1. 广东工业大学 轻工化工学院, 广东 广州 510006; 2. 华南理工大学 轻工与食品学院, 广东省 广州 510641)

摘要:研究了酶浓度、成膜溶液的pH值、干燥温度等工艺参数对谷氨酰胺转移酶(TGase)改性大豆分离蛋白(SPI)膜性能的影响。SPI膜制好后裁切成所需要的样品形状,放在相对湿度为50%的环境中平衡48 h,测定抗拉强度(TS)、断裂伸长率(EB)、水分含量(MC)、总可溶性物质量(TSM)、表面疏水性(S_0)及透光率等各项指标。研究表明低浓度的酶浓度改性可显著($p \leq 0.05$)增加SPI膜的TS值和 S_0 值,而降低TSM值。TGase改性使EB值下降,酶浓度越高,EB值下降得越多。TGase改性膜的 S_0 值和TSM值随着酶浓度的增加而增加。成膜溶液的pH值显著影响TGase改性SPI膜的TS值和 S_0 值。TGase改性SPI膜的TS值、EB值和 S_0 值随着干燥温度从18℃增加到50℃而逐渐下降。

关键词: 谷氨酰胺转移酶; 蛋白膜; 改性

中图分类号: TS 201.2

文献标识码: A

Effect of Processing Parameters on the Properties of Transglutaminase-Treated Soy Protein Isolate Films

JIANG Yan¹, TANG Chuan-He², WEN Qi-Biao²

(1. College of Light and Chemical Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China; 2. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Effects of processing parameters such as transglutaminase (TGase) concentration, pH value of film-forming solution and air-drying temperature on the properties of TGase-modified soy protein isolate (SPI) films were studied in this manuscript. Tensile strength (TS), elongation at break (EB), moisture content (MC), total soluble matter (TSM), surface hydrophobicity (S_0) as well as transparency of TGase-treated films and control films were evaluated after conditioning film specimens at 25℃ and 50% relative humidity (RH) for 48 h. It was found that (1) low concentration of enzyme significantly increased the TS values and S_0 values, but decreased the total TSM values, (2) TGase modification made the EB values decrease, and the higher TGase concentration, the lower EB values, (3) The S_0 values and TSM values of TGase-modified films increased with TGase concentration increasing, (3) The pH value of film-forming solution significantly affected the TS values and S_0 values of TGase-modified SPI films, (5) The TS values, EB values and S_0 values of TGase-modified SPI films decreases with air-drying temperature increasing from 18℃ to 50℃.

Key words: transglutaminase, protein film, modification

收稿日期: 2007-09-21

作者简介: 姜燕(1973-),女,四川南充人,工学博士,讲师,主要从事食品科学方面的研究。Email: cljy@163.com

蛋白质膜具有营养价值高、口感好、隔油隔气性能好等特点,在可食膜的开发上吸引了国内外科研工作者越来越多的关注。然而,与合成高分子膜相比蛋白质膜的机械强度低、透水性高是限制其工业化生产和实际商业应用的原因。

谷氨酰胺转移酶(TGase)可以催化蛋白质之间产生共价交联反应,形成高分子量的聚合物^[1]。该酶已被证实可以有选择性地改进许多蛋白质的某些特性,如 α_1 -酪蛋白、乳清蛋白、大豆分离蛋白^[2]或11S球蛋白、卵白蛋白、去酰胺面筋蛋白等。在蛋白膜改性方面的研究表明,TGase的交联增加了蛋白膜的抗拉强度和应变,降低了膜中蛋白的溶解度,显示了它在改善蛋白膜性能上的潜力。然而,在这项酶改性技术商业化地应用于膜工业之前,仍然有许多的问题需要解决。作者主要研究了酶浓度、成膜溶液的pH值、干燥温度等工艺参数对TGase改性大豆分离蛋白(SPI)膜性能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

谷氨酰胺转移酶(TG-B):泰兴市一鸣精细化工有限公司产品;CBZ-l-glutaminylglycine 和 L-Gluamic acid r-monohydroxamate: Sigma 公司产品;大豆分离蛋白(蛋白质量分数85.2%):山东万得福科技公司产品;甘油为分析级。

1.2 实验方法

1.2.1 TGase 酶活性的测定 TGase 酶活性采用 Folk 和 Cole(1965)^[3]报道的分光 Hydroxamate 分析法测量。反应物(0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液,pH 值为6.0,30 mmol/L CBZ-l-glutaminylglycine,0.1 mol/L hydroxylmine)于37℃与酶溶液反应10 min后,添加氯化铁/三氯醋酸试剂(0.7 g/dL)中止酶反应,离心(8 000 r/min,15 min)去除沉淀后,所形成的红色上清液于525 nm测定其吸光度,用 L-Glutamic acid r-monohydroxamic acid 作标准曲线。1活力单位 TGase 活性(U)定义为在37℃,pH 6.0的条件下每分钟产生1 μ mol hydroxamic acid 所需要的酶量。

1.2.2 膜的制备 将蛋白质和甘油溶于0.05 mol/L Tris-HCl(pH 值8.0)缓冲溶液中,于70℃水浴加热30 min。待成膜溶液冷却至室温后,加入TGase(4 U/g),搅拌均匀。脱气后迅速薄摊在内衬有聚乙烯薄膜的玻璃器皿(37 cm×21 cm)中,然后放在室温(25℃)下干燥24 h,揭膜。以不加TGase的膜作为对照。

不同条件下制备蛋白膜具体操作如下:

1) 不同酶浓度时:在注模之前,将TGase加入到已经冷却到室温(25±1℃)的成膜溶液中将TGase浓度分别达到4、10、20、30、40和60 U/g,混合均匀。其它操作如上段所述。

2) 不同pH值条件:将蛋白质和甘油溶于不同pH的0.05 mol/L Tris-HCl(分别是pH 6.0、7.0、8.0、9.0和10.0)缓冲溶液中,制备成膜溶液。其它操作如上段所述。

3) 不同干燥温度:注模后的成膜溶液分别在18、25、37和40℃干燥24 h,其它操作如上段所述。

4) 注模前酶作用的时间不同:在注模之前,将TGase(8 U/g)加入到已经冷却到室温(25±1℃)的成膜溶液中,混合均匀,分别在磁力搅拌下作用0、30、60和120 min。其它操作如上段所述。

膜制好后裁切成所需要的样品形状,立即放在相对湿度为50%的环境中平衡48 h备用。

1.2.3 膜性能指标测定

1) 厚度测定:用螺旋测微器(精确到0.001 mm)在裁切好的膜上均匀取5个点,测厚度,取平均值。

2) 机械性能测定:按 Rhim (1998)^[4]的方法,采用质构分析仪 TA-XT2i 测定各膜的抗拉强度(TS)和断裂伸长率(EB)。每种膜测定6个样,每个样品大小为2.54 cm×10 cm。

3) 水蒸气透过率测定:取直径3 cm、深4 cm的圆形敞口塑料杯,加入3 g干燥的CaCl₂,将裁切成直径7 cm的膜样品,盖住杯口,膜与杯之间的接口用石蜡封住。而后将各杯置于底部加入1 000 mL的蒸馏水的干燥器中(25℃,相对湿度100%)。每12 h称量1次,持续1周。通过杯重的增加量确定水蒸气的透过量。按 ASTM 方法(E96-93,1993)^[5]计算水蒸气转移速率(WVTR)和水蒸气透过率(WVP)。纯水在25℃时的饱和水蒸气压为3.1671 kPa。

4) 水分含量(MC)和总可溶性物质质量(TSM)测定:将膜样(2 cm×2 cm)在105℃条件下干燥至恒重,称重后根据干重湿重之差计算水分含量。然后将其放入盛有30 mL水的烧杯中,在室温下溶解24 h,再将膜在105℃条件下干燥至恒重,称重,根据两次干重之差计算水溶性。另一测定总可溶性物质质量的方法是取未经干燥的膜样直接放入盛有30 mL水的烧杯中,在室温下溶解24 h,再将膜在105℃条件下干燥至恒重,称重,以测定水分含量时测得的平均干重为样品初始干重计算水溶性。

5) 透光率测定:将膜裁成条状(1.2 cm×4 cm),紧贴于比色皿的一侧,在 500 nm 波长下测定其透光率,以空白比色皿作为对照。

6) 表面疏水性(S_0)测定:表面疏水性以水滴与膜的接触角表示。接触角是采用悬滴振荡流变仪 ODG 20 AMP 根据 Larré(2000)^[6]方法测定。

1.2.4 数据分析 采用 Microcal Origin V. 6. 1 software 进行方差分析和显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 酶浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

不同浓度 TGase 与 SPI 作用所形成的蛋白膜的机械特性和其它特性如表 1 所示。TGase 改性的 SPI 膜的抗拉强度(TS)在很大程度上依赖于所

使用的酶浓度。与对照膜相比(即未经 TGase 改性膜),低浓度 TGase(4~10 U/g)改性显著增加了 SPI 膜的 TS 值($p\leq 0.05$),而高浓度 TGase(≥ 20 U/g)改性则显著降低了 TS 值($p\leq 0.05$)(见表 1)。这个结果表明只有在低酶浓度的条件下,TGase 诱导产生的交联才能提高 SPI 膜的机械特性。

随着酶浓度(0~60 U/g)的增加,TGase 改性逐渐降低了 SPI 膜的断裂伸长率(E^b)($p\leq 0.05$,见表 1)。

表面疏水性(S_0)以水滴与膜的接触角表示,接触角越大表明膜的表面疏水性越强。随着酶浓度由 4 U/g 增加至 60 U/g,TGase 改性逐渐使 SPI 膜的接触角比对照膜增加了 64.5%~134.5%($p\leq 0.05$,见表 1)。

表 1 酶浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响*

Tab. 1 Effect of enzyme concentration of TGase on the properties of cast SPI films

每克蛋白酶 活力/U	膜厚/ mm	抗拉强度/ MPa	断裂伸长 率/%	水分 含量/%	可溶性物 质量分数/%	接触角/°
0	(0.082±0.004)	(3.12±0.25) ^A	(167.1±22.8) ^A	(23.5±0.4) ^A	(39.7±1.8) ^A	(30.4±4.6) ^D
4	(0.088±0.002)	(3.75±0.30) ^A	(124.5±11.8) ^B	(21.3±0.2) ^B	(31.3±0.4) ^E	(50.0±5.7) ^C
10	(0.092±0.002)	(3.98±0.20) ^A	(108.1±9.1) ^B	(21.6±0.5) ^b	(33.6±1.2) ^D	(59.5±4.3) ^B
20	(0.106±0.004)	(2.29±0.30) ^C	(84.4±15.6) ^C	(21.2±0.7) ^B	(38.0±0.6) ^C	(61.9±4.1) ^B
30	(0.113±0.003)	(1.95±0.25) ^{CD}	(82.0±8.8) ^C	(19.7±0.6) ^C	(42.6±0.7) ^B	(67.3±3.1) ^{AB}
40	(0.119±0.003)	(1.75±0.27) ^D	(83.3±12.1) ^C	(20.1±0.2) ^C	(44.5±1.4) ^B	(71.3±4.8) ^A
60	(0.129±0.002)	(0.95±0.18) ^E	(57.4±7.8) ^D	(19.1±0.4) ^D	(53.8±1.1) ^A	(70.3±2.7) ^A

注:A-E 表示同一列的数值之间存在显著性差异($p\leq 0.05$)。* 膜制备条件:SPI 质量分数 5%;甘油含量 0.4 g/g;pH 8.0;干燥温度 25℃。每一个数值都是多次重复(3~10)的平均值加上标准偏差。

这个结果表明 TGase 酶促交联显著提高了 SPI 膜的表面疏水性,且增加的程度直接与 TGase 的交联反应相关。这可能是由于 TGase 改性使蛋白质中更多的疏水核心或基团暴露出来的缘故。

由表 1 可见,TGase 改性的 SPI 膜的水分含量(MC)随着酶浓度的增加而逐渐下降($p\leq 0.05$)。这个现象与 TGase 改性的 SPI 膜的表面疏水性随着酶浓度的增加而逐渐上升相一致,可能是由于 TGase 诱导 SPI 聚沉导致原先埋藏在蛋白质内部的疏水基团暴露出来所致。相对来说,酶浓度对 SPI 膜的总可溶性物质质量(TSM)的影响则较为复杂。低酶浓度水平(4~10 U/g)时,随着酶浓度的增加 TGase 诱导的 SPI 膜的 TSM 值比照膜降低了 21.1%~15.4%;而高酶浓度水平(≥ 30 U/g)时,TSM 值反而有所增长。这个结果与酶浓度对 SPI 膜 TS 值的影响相一致,暗示了不同浓度 TGase 改性,SPI 膜的网络结构可能明显不同,这可能是由于蛋白质聚沉所致。低酶浓度的条件下,TGase 诱导 SPI 共价交联产生比对照膜致密的结构;而高酶浓度则使蛋白质聚沉,从而导致形成不紧密和不一

的结构,因此可溶性物质会在高酶浓度改性的蛋白膜中露出。

2.2 成膜溶液的 pH 值对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

成膜溶液的 pH 值对 SPI 成膜性能的影响如表 2 所示。在 pH 6.0 时,无论是否添加 TGase,都不能形成蛋白膜。这是因为 pH 6.0 接近蛋白质的等电点(pH 4.5~4.8),大量蛋白质沉淀而无法成膜。在不同 pH 值下,TGase 的活力是不同的,据报道 MTGase 的最佳 pH 范围是 pH 6.0~7.5,稳定 pH 范围是 pH 5.0~7.0,低于 pH 4.0 和高于 pH 9.0 时极不稳定^[7-8]。由此看来,成膜溶液的 pH 值可能会显著影响 TGase 改性 SPI 膜的成膜特性。

未添加 TGase 时,在碱性条件下(pH 8.0~10.0)形成的 SPI 膜的 TS 值和 EB 值显著高于中性条件下形成的膜(见表 2)。在碱性 pH 时,由于蛋白质带电基团之间较高的相互排斥作用,使蛋白质中的各种组分易于解聚,均匀溶解和分散在成膜溶液中。

表2 不同 pH 条件对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响^{*}

Tab. 2 The properties of control and TGase-modified SPI films formed at various pH values

	对照膜				TGase 改性膜			
	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0	pH 10.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0	pH 10.0
TS (MPa)	(1.54±0.27) ^A	(3.12±0.25) ^B	(3.19±0.28) ^B	(3.51±0.28) ^C	(0.59±0.06) ^A ↓	(3.75±0.3) ^B ↑	(3.81±0.26) ^B ↑	(4.46±0.21) ^C ↑
EB (%)	(86.6±16.6) ^A	(167.1±22.8) ^B	(178.5±61) ^B	(175.8±17.1) ^B	(19.5±3.0) ^A ↓	(124.5±11.8) ^B ↓	(134.9±20.3) ^B ↓	(154.0±12.9) ^B ↓
接触角 (°)	(20.0±5.0) ^A	(30.4±4.6) ^B	(28.0±1.3) ^B	(30.3±2.0) ^B	(68.3±4.1) ^C ↑	(50.0±5.7) ^B ↑	(32.1±1.4) ^A ↑	(28.4±4.0) ^A —
MC (%)	(24.8±0.8) ^A ^B	(23.5±0.4) ^A	(25.6±0.6) ^B	(24.1±0.8) ^A ^B	(23.2±1.0) ^B —	(21.3±0.3) ^A ↓	(21.3±0.6) ^A ↓	(21.3±0.4) ^A ↓
TSM (%)	(36.0±1.2) ^A	(39.7±1.8) ^B	(38.1±1.5) ^A ^B	(41.0±1.9) ^B	(36.4±0.9) ^B —	(31.3±0.4) ^B ↓	(31.1±0.5) ^B ↓	(30.3±0.1) ^A ↓

注:A-C表示同一行中不同 pH 条件下对照膜或 TGase 改性膜的特性之间存在显著性差异($p \leq 0.05$)。“↑”和“↓”表示同一行中相同 pH 条件下对照膜和 TGase 改性膜的特性之间存在显著性差异($p \leq 0.05$)，“—”则表示无显著性差异。^{*}膜制备条件:SPI 质量分数 5%;甘油含量 0.4 g/g;酶浓度 4 U/g;干燥温度 25 °C。每一个数值都是多次重复(3~10)的平均值加上标准偏差。

在碱性 pH 条件(pH 8.0~10.0)下,TGase 的改性显著提高了 SPI 膜的 TS 值,而降低了 EB 值($p \leq 0.05$)。其中,TS 值比对照膜升高了 20%~27%,EB 值比对照膜降低了 12%~25%(见表 2)。然而,在 pH 值为 7.0 时,TGase 的改性显著降低了 SPI 膜的 TS 值($p \leq 0.05$,见表 2)。而且,在 pH 值为 7.0 时 TGase 的改性使 EB 值降低的程度(大约是 75%)远远高于在其它碱性 pH 值条件下的。这个结果也反应了在 SPI 膜形成的过程中抑制聚沉现象的出现具有重要的意义。在 pH 值为 7.0 时,TGase 的改性增加了 SPI 聚沉的程度,使 SPI 形成了许多较大的聚合体,从而导致了 TS 值和 EB 值比在碱性 pH 值的条件一些更显著的变化。有趣的是 pH 值为 10.0 时,TGase 的改性后 SPI 膜的 TS 值(4.46 MPa)显著高于 pH 8.0(3.75 MPa)和 pH 值 9.0 时(3.81 MPa)的 TGase 改性膜,远远高于 pH 值 7.0 时(0.59 MPa)的。然而在 pH 值 10.0 时,MTGase 的活性是上述所研究 pH 值中最低的^[7-8]。这个结果在某种程度上说明 TGase 持续而缓慢地交联可以有助于 SPI 在成膜过程中形成致密的网络结构。

未添加 TGase 时,在碱性条件下(pH 8.0~10.0)形成的 SPI 膜的接触角显著高于中性条件下形成的膜($p \leq 0.05$,见表 2),说明碱性 pH 值时,成膜过程中 SPI 中有更多的疏水性基团暴露出来。有趣的是 TGase 改性对 SPI 膜表面疏水性的影响与成膜溶液的 pH 紧密相关。pH 值为 7.0、8.0、9.0 和 10.0 时 TGase 改性使 SPI 膜的接触角分别比对照膜增加了 240%、67%、5.4% 和 0%(见表 2)。另外,随着 pH 从 7.0 增至 10.0,TGase 改性的 SPI 膜表面疏水性逐渐下降($p \leq 0.05$,见表 2),这说明 TGase 改性用于改善 SPI 膜表面疏水性时,最好在中性或微碱的环境下进行。实际上,不同 pH 值条件下,TGase 改性对于 SPI 膜表面疏水性

改善程度的不同可能是因为不同 pH 值下的 TGase 诱导的交联反应有所不同,或者说 TGase 诱导的聚沉反应有所不同而造成的。

未添加 TGase 时,成膜溶液 pH 值的不同对 SPI 膜的水分含量(MC)几乎没有影响(见表 2)。然而,TGase 改性之后,碱性 pH 条件下(pH 8.0~10.0)形成的 SPI 膜的 MC 值显著低于中性条件(pH 7.0)下形成的膜($p \leq 0.05$,见表 2)。相比之下,在碱性条件下,TGase 改性显著降低了 SPI 膜的 MC 值($p \leq 0.05$)。这个结果与 TGase 改性增加了 SPI 膜的表面疏水性相一致(pH 7.0 例外)。如同 MC 值一样,TGase 改性显著降低了 SPI 膜的可溶性物质质量(TSM)(pH 7.0 例外, $p \leq 0.05$,见表 2)。碱性条件下 TGase 改性使 SPI 膜的网络结构更加致密,从而降低了膜的 TSM 值。

2.3 干燥温度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

通常,温度越高,酶催化反应的速率越快,然而酶失活率也越高。因此,在 TGase 存在下,成膜溶液由于水分蒸发而形成膜时的干燥温度可能会影响 SPI 膜的特性。

表 3 显示了不同干燥温度对 TGase 诱导的 SPI 膜机械特性及其它特性的影响。总之,在 TGase 存在时,SPI 膜的 TS 值和 EB 值随着干燥温度从 18 °C 增加到 50 °C 而逐渐下降。在 18 °C 干燥所得 SPI 膜的 TS 值和 EB 值明显高于其它较高温度干燥所得膜($p \leq 0.05$)的。这一结果说明了 TGase 在低活力下长时间改性可以显著提高 SPI 膜的机械性能。它也说明了较低的干燥温度有利于 TGase 改性的 SPI 膜形成比较致密的网络结构。

随着干燥温度从 18 °C 增加到 50 °C,酶改性 SPI 膜的表面疏水性(或接触角)也逐渐降低(见表 3)。在这种情形下,酶改性 SPI 膜表面疏水性的提高似乎与 TGase 酶稳定性的增加呈正相关。在最低温度时(即 18 °C),TGase 具有最高的稳定性,因

此能够在蛋白膜中催化持久而有效的交联反应。另外,18 ℃干燥所得的 SPI 膜的 MC 值和 TSM 值在所有干燥温度所得膜中是最低的,进一步证实了 TGase 改性对 SPI 膜的机械性能和表面疏水性的改性效果。

酶浓度、成膜溶液的 pH 值及干燥温度都会在不同程度上影响 TGase 改性 SPI 膜的各项特性。它们的影响程度与 TGase 诱导的聚沉反应紧密相关。这有待于进一步的研究。

表 3 不同干燥温度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响
Tab. 3 Properties of TGase-modified SPI films, obtained by air-drying at various temperatures

温度/ (℃)	膜厚/ (mm)	抗拉强度/ MPa	断裂伸长率/ %	水分含量/ %	可溶性物质质量/ %	接触角/ °
1	(80.088±0.004)	(4.25±0.50) ^A	(133.5±16.5) ^A	(20.2±1.8) ^B	(27.7±3.8) ^A	(53.1±4.0) ^A
25	(0.088±0.002)	(3.75±0.30) ^{AB}	(124.5±19.2) ^{AB}	(21.3±0.2) ^B	(31.3±0.4) ^A	(50.0±5.7) ^A
37	(0.090±0.003)	(3.40±0.25) ^B	(105.5±15.0) ^B	(22.5±0.1) ^A	(30.0±1.6) ^A	(45.0±10.6) ^{AB}
50	(0.093±0.004)	(3.27±0.40) ^B	(100.5±9.4) ^B	(21.3±1.6) ^B	(30.2±1.0) ^A	(35.0±5.4) ^B

注:A-B 表示同一列的数值之间存在显著性差异($p\leq 0.05$)。*膜制备条件:SPI 质量分数为 5%;甘油含量为 0.4 g/g;酶浓度为 4 U/g;pH 值为 8.0。每一个数值都是多次重复(3~10)的平均值加上标准偏差。

3 结 语

1) 酶浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能有显著影响。低浓度的酶浓度改性可显著($p\leq 0.05$)增加 SPI 膜的 TS 值和 S_0 值,而降低 TSM 值。但是,当酶浓度 ≥ 20 U/g 时,TGase 改性膜的 TS 值开始下降,甚至会低于对照膜;而且,随着酶浓度的进一步增加而继续降低。TGase 改性使 EB 值下降,酶浓度越高,EB 值下降得越多。TGase 改性膜的 S_0 值和 TSM 值随着酶浓度的增加而增加,当酶浓度 $\geq$

30 U/g 时,TSM 值甚至高于对照膜的。
2) 成膜溶液的 pH 值显著影响 TGase 改性 SPI 膜的成膜特性。在 pH 值为 6.0 时由于大量蛋白质沉淀,无论是否添加 TGase,都无法成膜。当 pH 值为 8.0、9.0 和 10.0 时,TGase 改性膜的 TS 值分别比对照膜(未经酶改性)增加了 20.2%、19.4%和 27.1%($p\leq 0.05$)。当 pH 为 8.0 和 9.0 时,TGase 改性明显增加了 SPI 膜的 S_0 值,两者分别比对照膜增加了 64.5%和 14.6%。
3) TGase 改性 SPI 膜的 TS 值、EB 值和 S_0 值随着干燥温度从 18 ℃增加到 50 ℃而逐渐下降。

参考文献(References):

[1] Cuq B, Aymard C, Cuq J L, et al. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: Formulation and functional properties[J]. *J Food Sci*, 1995, 60: 1369—1374.

[2] 姜燕,唐传核,温其标,等. 谷氨酰胺转移酶对大豆分离蛋白成膜性能的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(4): 24—28.

Jiang Yan, Tang Chuan-he, Wen Qi-biao, et al. Effects of transglutaminase on properties of soy protein isolates cast films [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(4): 24—28. (in Chinese)

[3] Folk J E, Cole P W. Structural requirements of specific substrates for guinea pig liver transglutaminase[J]. *J Biol Chem*, 1965, 240(7): 2591—2960.

[4] Rhim J W, Gennadios A, Weller C L, et al. Soy protein isolate-dialdehyde starch films[J]. *Ind Crops Prod*, 1998(8): 195—203.

[5] ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96-93)[S]. 美国:材料试验协会,1993. 701—708.

[6] Larr C, Desserre C, Barbot J, et al. Properties of deamidated gluten films enzymatically cross-linked [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 5444—5449.

[7] Tsai G J, Lin S M, Jiang S T. Transglutaminase from *Streptovorticillium ladakanum* and application to minced fish product [J]. *J Food Sci*, 1996, 61: 1234—1238.

[8] Ho M L, Leu S Z, Hsieh J F, et al. Technical approach to simplify the purification method and characterization of microbial transglutaminase produced from *Streptovorticillium ladakanum*[J]. *J Food Sci*, 2000, 65: 76—80.

(责任编辑:杨 萌)