

食源性蛋白质自组装纤维的研究进展

冯金凤¹,刘春红²,冯志彪^{2,*}

(1.东北农业大学食品学院,黑龙江哈尔滨 150030;
2.东北农业大学理学院应用化学系,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:蛋白质自组装形成的纤维具有优异的尺寸效应和生物相容性,有望成为新一代功能性材料应用于食品工业。本文对食源性蛋白质自组装形成的纤维结构、形成机制、形成过程的监测方法及其构建的纳米纤维应用前景进行了综述,重点讨论了纤维的形成机制和形成过程的监测方法,为调控食源性蛋白质自组装纤维在食品中的应用及其在复杂食品蛋白质体系中的行为提供理论参考。

关键词:蛋白质,自组装,纤维,形成机制

Advance on self-assembly of food proteins into fibrils

FENG Jin-feng¹, LIU Chun-hong², FENG Zhi-biao^{2,*}

(1.College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
2.Department of Chemistry, College of Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Self-assembly of food proteins into fibrils with meso-scale structure and biocompatibility have provided a possibility of utilization as novel functional ingredients in food. This review described the fibrillar structures, formation mechanism, the characterization process of fibril formation from food protein and applications for the fibrils. In this paper, the mechanism and analysis method of fibril formation was discussed so as to provide some scientific bases for control behavior in complex food protein and application in food industry.

Key words: protein; self-assembly; fibril; formation mechanism

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)23-0424-05

近年来,食品科学家利用自组装技术开始构建各种纳米(微米)级尺度的功能性结构,如纳米纤维、纳米管及纳米水凝胶等,并开始应用于稳定食品体系、输送载体及风味控释等方向^[1]。食源性蛋白质具有良好的生物相容性,可在消化系统内被降解,同时具有独特的自组装特性,可在特定条件下形成纤维状结构,有望成为新一代的功能性材料应用于食品工业。自组装是一种普遍存在于生命科学体系中的现象,所谓自组装是指分子、纳米、微米或更大尺度的物质等基本构建单元自发形成有序结构的过程。1981年美国麻省理工学院的 Eric Drexler 最早提出采用自下而上式(bottom-up)构建纳米材料的方法,且指出以蛋白质为构建单元通过自组装能形成高度有序的结构^[2]。Pallarès I 等^[3]研究发现,蛋白质自组装纤维并不为少数病理性蛋白质所特有,与淀粉样纤维无关的蛋白质同样能聚集形成纤维状结构。一些食源性蛋白质如 β -乳球蛋白^[4-7]、牛血清白蛋白^[8]、鸡蛋清溶菌酶^[9]、大豆蛋白^[10-11]、芸豆蛋白^[12-13]等均可在低 pH 和低离子强度条件下,在变性温度以

上通过加热自组装形成纤维结构。本文主要阐述了食源性蛋白质自组装纤维的形成机制和自组装纤维过程的表征方法,以期为新型纳米材料在食品工业中的具体应用提供理论支持。

1 自组装纤维的结构特点

蛋白质在加热条件下可以形成纤维状结构,纤维的结构决定其功能。如图 1 为 β -乳球蛋白溶液在 pH2、80℃ 下加热数小时后形成的纤维透射电子显微镜(TEM)负染照片^[14]。纤维的长度通常在 1~10 μm 之间,宽度约 10nm,其线性的长宽比甚至可达 500:1。较大的长宽比例是纤维状结构的最大特点,一方面,可使纤维在较低的浓度下形成充满空间的网络结构,使其成为一种有效的填充剂;另一方面,较大的长宽比例有效地改善了溶液黏性,使得纤维在较低浓度下具有高的储能模量,这使其成为一种良好的食品添加剂,如在溶液中添加少量的原料蛋白就可达到好的胶凝和增稠效果。最近的研究表明,纤维的机械强度取决于组成纤维的股数,在特定条件下,多股纤维的直径可达 180nm^[15-16]。

2 自组装纤维的形成条件及作用机制

在食品体系中,球状蛋白的自组装通常是在强酸环境中进行的,此时的 pH 远离蛋白质的等电点,球状蛋白质之间的静电排斥作用很强。当溶液的温度高于变性温度时,加热使球蛋白变性,更多的疏水

收稿日期:2012-07-05 *通讯联系人

作者简介:冯金凤(1987-),女,硕士研究生,研究方向:农产品加工及贮藏。

基金项目:黑龙江省青年基金(QC2010029)。

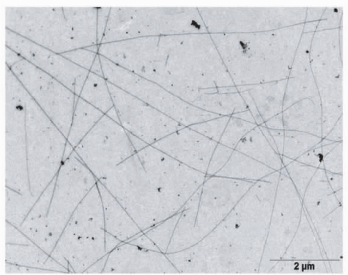


图1 β -乳球蛋白构建纤维的 TEM 照片
Fig.1 TEM micrograph of protein fibrils derived from β -Lactoglobulin

基团暴露,蛋白质分子间的疏水相互作用增强,疏水相互作用与静电排斥作用达到平衡,促使了纤维的形成^[17]。

目前,普遍认为蛋白质自组装纤维化的形成机制为成核过程^[18-20]。具体机制如图2所示^[21],蛋白质浓度达到一定的临界浓度是自组装过程发生的前提条件,否则加热时间再长蛋白质自组装纤维化反应也不会发生。蛋白质的自组装纤维化需要一定的“滞后时间”,称为迟滞期,对应图中A,在此期间缓慢形成一个有序的核心,成核是纤维形成的限速步骤;晶核形成后由于连接位点的增多,蛋白质单体很容易连接到晶核上,呈现快速生长或聚集过程,如果在超过蛋白质的临界聚集浓度的溶液中加入一些晶核(或“种子”),加速蛋白质的纤维化进程,对应图中B;C表示自组装形成了纤维。Bolder^[22]研究了搅拌与加入晶种对乳清分离蛋白形成纤维的影响,结果表明:添加晶种对纤维的形成影响效果不如搅拌作用明显,且提出纤维的形成有以下四个过程:活化、成核、生长、终止。活化与成核是纤维形成的限速步骤,纤维快速生长,经长时间加热,蛋白质单体钝化结果导致纤维形成终止。

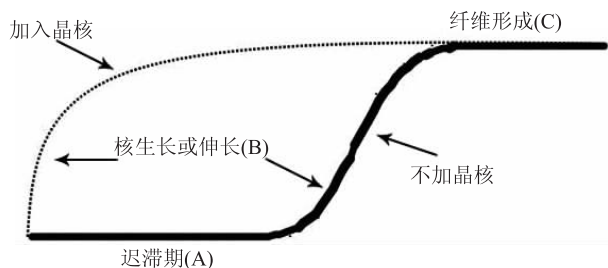


图2 蛋白质自组装纤维形成的动力学曲线
Fig.2 Kinetic curves of self-assembly of proteins into fibrils

Ardy 和 Loveday 等人研究了 β -乳球蛋白在 pH2 时不同温度下 (353~383K) 加热不同时间荧光强度的变化,结果显示,在所有的温度条件下,硫黄素 T (ThioflavinT, ThT) 荧光光谱均呈“S”型曲线,较长的初始时间内 ThT 荧光强度几乎没有变化,为淀粉样自组装纤维化的迟滞期,即成核阶段所需时间较长。随后荧光强度突然增大,为淀粉样纤维化的生长期,即成核阶段,后期荧光强度出现稳定的波动,即稳定阶段,这证实了蛋白质自组装纤维化的成核机制^[5,23]。

反应时间影响反应的可逆性与不可逆性,进而影响蛋白质自组装纤维的形成。蛋白质自组装纤维化有两种途径(图3所示)。一种途径是蛋白质加热先变性随即自组装形成纤维;另一种途径是加热变性后的蛋白质继续进行酸水解反应,部分水解多肽自组装形成纤维。Bolder^[22] 和 Akkermans^[15] 等人在 pH2 条件下加热乳清分离蛋白,利用高效液相色谱法(HPLC)和十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析了加热过程中蛋白质分子量的变化,结果表明,纤维由蛋白质酸水解的多肽组成,而不是由完整的蛋白质分子组成。

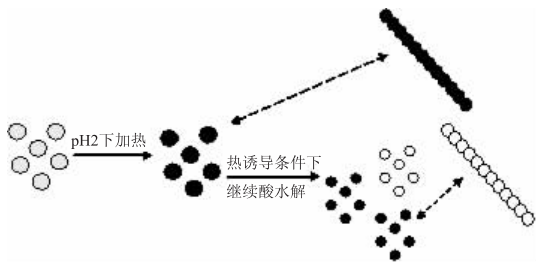


图3 蛋白质自组装纤维化的两种途径
Fig.3 Two possible routes for fibrillation of proteins self-assembly

Akkermans^[24]研究了在 pH8, 37℃ 条件下, β -乳球蛋白经天冬酰胺肽链内切蛋白酶处理,再将水解液的 pH 调到 2,用透射电子显微镜(TEM)和 ThT 荧光测定观察到长的纤维状聚集物,进一步证实了形成纤维状聚集物的构建单元是肽而不是完整的蛋白质分子。此外,只有将水解液的 pH 调整为 2 左右时,多肽才能聚集形成纤维,而 pH 为 8 时却不能形成纤维,这说明肽的正电荷是形成纤维状聚集物的重要原因。综合以上研究结果推测:纤维形成的共同特点可能是蛋白质水解,部分水解多肽片段自组装形成纤维。目前为止,完整的蛋白质能否形成纤维,以及如果能形成纤维所需要的具体环境条件,还没有明确的答案。

2010 年 Tang 等^[13]在 pH2、离子强度 20mmol/L、85℃ 下,将芸豆球蛋白加热 15~720min,发现自组装形成纤维至少经历三个步骤(图4所示)。首先,芸豆球蛋白的热诱导变性和聚集(包括无定形聚集和纤维化聚集),此过程较短(约 15min),原因是加热温度高于 pH2 下芸豆球蛋白的变性温度,且变性和聚集的过程中蛋白质的二级、三级、四级结构均发生明显变化;然后,可能由于疏水作用与静电斥力的平衡作用,酸水解释放的多肽片段聚集形成纤维,为多肽水解或自组装纤维形成的初期,此步骤中,由于 β -折叠含量的逐渐增加使得有序的二级结构重新排列,使得释放的多肽片段更多地参与到纤维的形成过程中;最后,形成的纤维在加热时间超过 360min 时发生团聚。

3 自组装纤维化过程的表征

3.1 自组装纤维的生长检测

硫黄素 T 是一种能和蛋白质淀粉样纤维特异性结合的阳离子苯并噻唑荧光染料。Biancalana 等^[25]

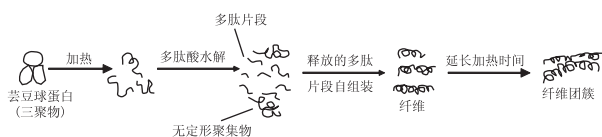


图4 芸豆蛋白自组装纤维形成的机理示意图

Fig.4 Schematic illustration for the formation of fibrils from kidney bean proteins self-assemble

研究表明,ThT 通过与淀粉样纤维的 β -折叠结构特异性结合,在 440nm 的激发波长条件下产生 480nm 的特征荧光发射峰,且结合后的荧光强度随着 β -折叠结构数量的增多而增强,荧光强度的增强说明蛋白质内部结构发生变化,分子 β -折叠结构数量增加,分子内部交联形成蛋白质的纤维化结构。因此,可以通过 ThT 荧光强度的变化情况,判断淀粉样纤维的成熟情况,这是检测淀粉样纤维形成过程的一种典型方法。

Wang 等^[10]研究了大豆 7S 球蛋白(也称 β -伴大豆球蛋白)的三个主要亚基 α' -亚基、 α -亚基、 β -亚基在 85℃、pH2 条件下加热 0~20h 的荧光光谱图,结果表明,三个亚基的荧光强度均随加热时间的延长不断增强,表明加热过程中形成了成熟的纤维结构,但不同的大豆 7S 球蛋白的 3 个亚基荧光强度变化的峰值不同。加热相同时间, α' -亚基的峰值最高,其次依次为 β -亚基、 α -亚基,这表明在相同加热条件下, α' -亚基比 β -亚基和 α -亚基更容易形成自组装纤维化聚集。

3.2 自组装纤维形态的表征

原子力显微镜是在分子水平上探测表面形貌最先进的测试工具之一,它能提供蛋白质纤维化聚集的结构变化信息,包括长度、宽度以及螺距等,且能充分说明自组装纤维的形成和结构特征。透射电子显微镜与原子力显微镜相比,更容易得到同一个样品中较好的代表样品高度与特征形貌等信息的图片。因此,常利用原子力显微镜和透射电子显微镜相结合来研究蛋白质自组装纤维的长度与微观形态。

Oborocanu 等^[7]采用原子力显微镜(AFM)研究了 β -乳球蛋白在 80℃ 下加热 0~20h 的过程中自组装形成纤维的情况,结果表明:0~85min 内, β -乳球蛋白单体变形、伸展形成聚集物;85min 后,形成具有双螺旋结构的纤维,伸直长度大于 10 μ m。Oborocanu 等又采用 TEM 进一步确认了 β -乳球蛋白的纤维形貌。

Tang 等^[11]也采用 AFM 研究了大豆 7S、11S 球蛋白以及两者 1:1 的混合蛋白在 pH2、80℃ 下加热不同时间自组装形成纤维的结构特点,研究表明,所有的大豆球蛋白形成的纤维均为类似的扭曲螺旋结构,但结构特性及纤维的形貌相差很大:7S 球蛋白形成高度约为 1.4~1.8nm 的“蠕虫状”纤维;11S 球蛋白则形成高度约为 1.6~2.2nm 的“辐射状”纤维,甚至聚集成束;且 7S 球蛋白形成的纤维半峰宽低于 11S 球蛋白,而混合蛋白的螺旋周期明显高于 7S 球蛋白。蛋白形成的纤维结构及形貌的差异可能由于蛋白质

自身的结构不同造成的。

3.3 自组装纤维化过程中二级结构的变化

圆二色谱法(CD)是研究溶液中蛋白质结构的一种有效技术,它的优势是能够从一系列的光谱区域内获得蛋白质的结构信息^[26]。傅利叶变换红外光谱技术(FTIR)属于振动光谱,酰胺 I 带和 II 带构象中 α -螺旋和 β -折叠分别对应特定的吸收峰,峰值随着构象变化而发生改变,能动态地跟踪蛋白质结构变化的过程^[27]。因此,可以将 CD 和 FTIR 光谱结合起来研究蛋白质自组装纤维化过程中二级结构的变化。

Tang 等^[11]利用 CD 法研究了大豆 7S、11S 球蛋白以及二者 1:1 的混合蛋白在 pH2、80℃ 下加热过程中二级结构的变化,结果表明,在加热的最初 4h 内,它们的二级结构变化很大,继续加热至 12h,变化缓慢,此时可能形成 β -折叠。结果还表明,大豆 7S 球蛋白比 11S 球蛋白更容易引起二级结构的改变。

Oborocanu 等^[7]研究了 β -乳球蛋白在 pH2、80℃ 下加热 0~20h,利用红外光谱技术监测形成的纤维的二级结构的变化,结果表明,随加热时间的延长, α -螺旋含量下降, β -折叠含量增加。

3.4 自组装纤维化过程中粒径分布变化

动态光散射法(DLS)是一种可以对蛋白质聚集程度做定性分析的方法,对溶液中的微小聚集颗粒反应非常灵敏,当溶液中存在大于单体分子的颗粒时,扫描波长发生变化,散射的光密度与聚集颗粒的质量和数量成正比例关系,且聚集颗粒比单体颗粒散射更多的光^[28]。与透射电子显微镜和原子力显微镜相比,动态光散射法是从整体角度表征溶液中蛋白质粒径尺寸及平均分布等信息。因此,可以根据动态光散射法测量的溶液中平均粒径分布的变化来表征蛋白质自组装纤维化的动态过程。

Wang 等^[10]利用 DLS 监测了 7S 球蛋白以及其三个主要亚基 α' -亚基、 α -亚基、 β -亚基在 pH2、85℃ 条件下加热的聚集过程,结果表明,随加热时间的延长,它们的散射强度变化趋势一致。在反应初期,加热均导致散射强度降低,这可能是由于此时 7S 球蛋白以及它的三个亚基多肽酸水解转化为片段,继续加热,散射强度明显增大。

Bolisetty 等^[29]利用 DLS 研究了 pH2、80℃ 加热 β -乳球蛋白,发现随着加热时间的延长,蛋白质单体颗粒的数量减少,平均粒径较大的颗粒数量逐渐增多。这进一步证实了蛋白纤维聚集体的形成过程。

3.5 自组装纤维化过程中蛋白质分子量的变化

十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和分子排阻色谱法(SEC)是两种常规测定分子量的方法,可以分别测定蛋白质亚基的分子量及完整蛋白质分子的分子量,而质谱分析法(MS)是目前测定蛋白质分子量最新的方法之一。因此,可以将三种方法结合起来测定自组装纤维化过程中蛋白质分子量的变化。

Akkermans 等^[15]在 pH2、85℃ 条件下加热 β -乳球蛋白,利用高效分子排阻色谱(HP-SEC)、MS、SDS

-PAGE 分析了加热过程中蛋白质分子量的变化。研究发现,当 β -乳球蛋白加热至 20h 时,多肽分子量分布在 2000u 到 8000u 之间,纤维由此分子量的多肽组成,而不是完整的蛋白质分子。Bolder 等^[14]利用 SDS-PAGE 分析了乳清分离蛋白在 pH2、80℃ 加热过程中蛋白分子量的变化,也得到类似的结论。

4 自组装纤维在食品中的潜在应用

食源性蛋白质自组装形成的纤维呈细长状且纤维的长度与直径的比例很大,在食品中有许多潜在的应用价值。Akkermans 等^[30]添加纤维到乳清分离蛋白中,发现溶液的黏度和胶凝性均增强,表明纤维适合作为良好的增稠剂和胶凝剂应用在食品中。由于纤维增加了溶液的黏度,减缓了液体的流动性,且能在气泡周围覆盖一层膜,因此可用作泡沫稳定剂。在合适的浓度范围内,纤维还可作为有效的絮凝剂使用。在乳状液中,纤维可以在水与油的界面形成膜。纤维的这种特性也可用于微胶囊的生产,多层纤维通过沉积在水包油乳状液油滴的表面,可在透气性与机械强度方面具有特殊的包埋功能^[31-34]。

乳清蛋白中的主要成分 β -乳球蛋白的致敏性问题是婴幼儿奶粉生产中亟需解决的问题。最近研究发现, β -乳球蛋白纤维可作为 β -乳球蛋白的替代物应用在食品中,降低由于 β -乳球蛋白胃肠道消化产生的致敏性所致的营养成分的损失。Astwood 指出酶处理的蛋白质在胃环境中越稳定,食物到达肠粘膜后引起致敏性的可能性就越大^[35]。最近的研究显示经胃蛋白酶处理的 β -乳球蛋白纤维在胃中仅需要 2min 的时间即可消化,大大降低了乳类制品中 β -乳球蛋白产生的致敏性,提高了食品的营养价值^[36]。

5 结语

食源性蛋白质在特定的变性条件下自组装能形成纳米纤维状结构,掌握纤维的形成条件、形成机理并选择恰当的表征方法监测蛋白质自组装纤维化聚集的过程,为纤维以一种新型纳米材料应用于食品工业中做铺垫。但其自组装技术在研究与应用方面还存在很多问题与挑战,自组装机理方面的研究有待于进一步探讨,此外,该方向的研究还处于实验室阶段,成本昂贵及耗时限制了纳米材料的大规模合成与应用。因此,随着实验技术及基础理论研究的深入,蛋白质自组组合成的纳米材料将进一步推动食品科学、生物医学及生物纳米技术的发展。

参考文献

- [1] Benshitrit R C, Shimon S, Lesmes U. Development of oral food - grade delivery systems current knowledge and future challenges [J]. Food Funct, 2012(3): 10-21.
- [2] Drexler K E. Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation [J]. Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA, 1981, 78(9): 5275-5278.
- [3] Pallarès I, Vendrell J, Avilès F X, et al. Amyloid fibril formation by a partially structured intermediate state of α -chymotrypsin [J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 342(1): 321-331.
- [4] Mudgal P, Daubert C R, Foegeding E A. Kinetic study of β -Lactoglobulin thermal aggregation at low pH [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 106(2): 159-165.
- [5] Loveday S M, Wang X L, Rao M A, et al. β -Lactoglobulin nanofibrils: Effect of temperature on fibril formation kinetics, fibril morphology and the rheological properties of fibril dispersions [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 27(1): 242-249.
- [6] Loveday S M, Wang X L, Rao M A, et al. Effect of pH, NaCl, CaCl_2 and temperature on self-assembly of β -Lactoglobulin into nanofibrils: A central composite design study [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(15): 8467-8474.
- [7] Oboroceanu D, Brodkorb A, Wang L, et al. Characterization of beta - Lactoglobulin fibrillar assembly using atomic force microscopy, polyacrylamide gel electrophoresis, and in situ fourier transform infrared spectroscopy [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(6): 3667-3673.
- [8] Holm N K, Jespersen S K, Thomassen L V, et al. Aggregation and fibrillation of bovine serum albumin [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins & Proteomics, 2007, 1774(9): 1128-1138.
- [9] Reinke A A, Seh H Y, Gestwicki J E. A chemical screening approach reveals that indole fluorescence is quenched by pre-fibrillar but not fibrillar amyloid- β [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, 19(17): 4952-4957.
- [10] Wang Jinmei, Yang Xiaoquan, Yin Shouwei, et al. Growth kinetics of amyloid-like fibrils derived from individual subunits of soy β -Conglycinin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(20): 11270-11277.
- [11] Tang Chuanhe, Wang Changsheng. Formation and characterization of amyloid-like fibrils from soy β -Conglycinin and glycinin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(20): 11058-11066.
- [12] Zhang Yehui, Tang Chuanhe, Wen Qibiao, et al. Thermal aggregation and gelation of kidney bean (Phaseolus vulgaris L) protein isolate at pH 2.0: Influence of ionic strength [J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24(4): 266-274.
- [13] Tang Chuanhe, Zhang Yehui, Wen Qibiao, et al. Formation of amyloid fibrils from kidney bean 7S globulin (Phaseolin) at pH 2.0 [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 8061-8068.
- [14] Ardy K N. Formation and properties of whey protein fibrils [D]. Wageningen: Wageningen University, 2011.
- [15] Akkermans C, Venema P, Van Der Goot A J, et al. Peptides are building blocks of heat-induced fibrillar protein aggregates of β -lactoglobulin formed at pH 2 [J]. Biomacromolecules, 2008, 9(5): 1474-1479.
- [16] Mudgal P, Daubert C R, Foegeding E A. Kinetic study of β -lactoglobulin thermal aggregation at low pH [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 106(2): 159-165.
- [17] Van Der Linden E, Venema P. Self-assembly and aggregation

(下转第 432 页)

medicament having oestrogenic properties, patent: FR 2 823 672 A1.

[44] Kondo K. Beer and health: Preventive effects of beer components on lifestyle-related diseases [J]. BioFactors, 2004, 22:303-310.

[45] Yajima H, Ikeshima E, Shiraki M, et al. Bitter acids derived from hops, activate both peroxisome proliferator-activated receptor α and γ and reduce insulin resistance [J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279 (32): 33456-33462.

[46] Shindo S, Tomatsu M, Nakda T, et al. Inhibition of aldose reductase activity by extracts from hops [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2002, 108 (3): 344-347.

[47] 张肇富. 啤酒花具有药用价值 [J]. 酿酒科技, 2000 (1): 94.

[48] 宋振玉. 中草药现代研究 [M]. 北京: 北京医科大学出版社, 1997.

[49] Anton P. The physiological effects of hops [J]. Hopfenrund Schau International, 2001/2002: 1-2.

[50] 苏德利. 啤酒花在兽医临床上的应用 [J]. 吉林畜牧兽医, 1994, 16 (6): 31-32.

[51] Green M R, Richards M, Tasker M C. Use of hop components in foods [P]. WO 03/090555 A1.

[52] 董海州, 许志祥, 刘传富. 改善馒头风味品质的最佳生产工艺 [J]. 食品与发酵工业, 2003, 29 (4): 95-98.

[53] Hein W, Pollach G, Roesner G. Studies of microbiological activities during thick juice storage [J]. Zuckerindustrie, 2002, 127 (4): 243-257.

[54] Hein W, Pollach G. New findings with the use of hop products in the sugar industry [J]. Zuckerindustrie, 1997, 122 (12): 940-949.

[55] Pollach G, Hein W, Leitner A, et al. Detection and control of strictly anaerobic, spore-forming bacteria in sugarbeet tower extractors [J]. Zuckerindustrie, 2002, 127 (7): 530-537.

[56] Pollach G, Hein W, Beddie D. Application of hop beta-acids and rosin acids in the sugar industry [J]. Zuckerindustrie, 2002, 127 (12): 921-930.

[57] Beddie D, Isles N, Wirth T, et al. Successful application points to control bacterial infections throughout sugar factories using beta acids/betaStab® 10A [C]. Poster-Presentation on the Occasion of the SPRI Conference in Atlanta Georgia USA, 2004: 4-7.

[58] Rückle L, Senn T. Hop acids can efficiently replace antibiotics in ethanol production [J]. International Sugar Journal, 2006, 108 (1287): 139-147.

(上接第 427 页)

of proteins [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2007, 12 (4/5): 158-165.

[18] Loveday S M, Wang X L, Rao M A, et al. Tuning the properties of β -lactoglobulin nanofibrils with pH, NaCl and CaCl_2 [J]. International Dairy Journal, 2010, 20 (9): 571-579.

[19] Bromley E H C, Krebs M R H, Donald A M. Aggregation across the length-scales in β -lactoglobulin [J]. Faraday Discussions, 2005, 128: 13-27.

[20] Jarrett J T, Lansbury P T. Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: A pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? [J]. Cell, 1993, 73 (6): 1055-1058.

[21] Nilsson M R. Techniques to study amyloid fibril formation in vitro [J]. Methods, 2004, 34 (1): 151-160.

[22] Bolder S G, Sagis L M C, Venema P, et al. Effect of stirring and seeding on whey protein fibril formation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55 (14): 5661-5669.

[23] Ardy K N, Venema P, Bouman J, et al. Influence of protein hydrolysis on the growth kinetics of β -lg fibrils [J]. Langmuir, 2011, 27 (10): 5753-5761.

[24] Akkermans C, Venema P, Van Der Goot A J, et al. Enzyme-induced formation of β -Lactoglobulin fibrils by AspN endoproteinase [J]. Food Biophysics, 2008, 3 (4): 390-394.

[25] Biancalana M, Makabe K, Koide A, et al. Molecular mechanism of Thioflavin-T binding to the surface of β -rich peptide self-assemblies [J]. Journal of Molecular Biology, 2009, 385 (4): 1052-1063.

[26] 洪法水. Pb^{2+} 对 α -淀粉酶活性的影响及其光谱学的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23 (3): 583-586.

[27] 谢孟峡, 刘媛. 红外光谱酰胺 III 带用于蛋白质二级结构的测定研究 [J]. 高等学校化学学报, 2003, 24: 226-231.

[28] Lomakin A, Benedek G B, Teplow D B. Monitoring protein

assembly using quasielastic light scattering microscopy [J]. Methods in Enzymology, 1999, 309: 429-459.

[29] Bolisetty S, Adamcik J, Mezzeng R. Snapshots of fibrillation and aggregation kinetics in multistranded amyloid β -lactoglobulin fibrils [J]. Soft Matter, 2011, 7 (2): 493-499.

[30] Akkermans C, Van Der Goot A J, Venema P, et al. Properties of protein fibrils in whey protein isolate solutions: Microstructure, flow behaviour and gelation [J]. International Dairy Journal, 2008, 18 (10/11): 1034-1042.

[31] Humblet K N P. 5th International symposium on food rheology and structure [C]. Encapsulation systems based on proteins, polysaccharides, and protein-polysaccharide complexes, Switzerland, 2009: 180-183.

[32] Sagis L M C, De Ruiter R, Mirand F J R, et al. Polymer microcapsules with a fiber-reinforced nanocomposite shell [J]. Langmuir, 2008, 24 (5): 1608-1612.

[33] Rossier Miranda F J, Schroen K, Boom R. Mechanical characterization and pH response of fibril-reinforced microcapsules prepared by layer-by-layer adsorption [J]. Langmuir, 2010, 26 (24): 19106-19113.

[34] Jung J M, Gunes D Z, Mezzenga R. Interfacial activity and interfacial shear rheology of native β -Lactoglobulin monomers and their heat-induced fibers [J]. Langmuir, 2010, 26 (19): 15366-15375.

[35] Astwood J D, Leach J N, Fuchs R L. Stability of food allergens to digestion in vitro [J]. Nature Biotechnology, 1996, 14: 1269-1273.

[36] Bateman L, Ye A, Singh H. In vitro digestion of β -Lactoglobulin fibrils formed by heat treatment at low pH [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58 (17): 9800-9808.