

食品蛋白增维结构精密构筑研究进展

李煦源, 陈正行, 王涛*

(江南大学 粮食发酵与食品生物制造国家工程研究中心 江苏无锡 214122)

摘要 增维结构为短程有序性单元结构在多维空间限域堆积,进而形成长程可控性高级结构,其特征为各单元结构定向排布且在尺度、维度上均具高度可编程性。鉴于动态化设计逻辑及标准化构筑机制,这种基于类似单元结构所形成的空间多样化高级组织架构,在功能食品的开发中具有重要应用。目前,增维结构的设计开发大多基于人工高分子或工程化蛋白,而在天然蛋白结构中鲜有报道,缺乏对蛋白折叠的过程控制是其首要原因。本文基于蛋白质共架技术,从介观重构、纳米雕刻及增维定制 3 个方面综述食品蛋白增维结构精密构筑研究进展。探讨构建食品蛋白高值化利用关键技术体系的思路和方法,以期为我国食品蛋白产业的发展提供理论和实践支持。

关键词 增维结构; 限域堆积; 蛋白改性; 精密构筑

文章编号 1009-7848(2024)04-0420-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.040

“众物必有表里精粗,一草一木,皆涵至理”,经过亿万年的进化积累,大自然早已熟练掌握了各种高性能材料的制造方式。这些天然材料不仅在性能上远超人工合成材料,更具有“矛”和“盾”双重特性,为开发新型仿生材料提供了庞大的素材库。受天然材料启发,新型材料的研究逻辑可描述为“格物+致知”,即:首先是对天然材料结构探究后的简单模仿,进而是基于“结构-性能”关系对天然材料探究后的策略设计。

1 天然增维结构

具有优良性能的天然材料不计其数,各类材料的精细结构和构筑机制也不尽相同,然而其底层结构的设计逻辑却是一致的:即短程有序性单元结构在多维空间限域堆积,进而形成长程可控性高级结构。将符合上述制造逻辑的材料结构统称为增维结构,其特征为各单元结构定向排布且在尺度、维度上均具高度可编程性。鉴于动态化设计逻辑及标准化构筑机制,这种基于类似单元结构所形成的空间多样化高级组织架构在功能食品开发中具有重要的应用。

天然材料的卓越性能主要来源于其自身多尺度、多维度的精密结构^[1]。例如,珠母贝由约 95% 的文石(碳酸钙)组成,具有较高的结构强度和韧性^[2]。通常情况下,高强度与高韧性是两种相对立的力学性质,难以在同一种材料中同时体现。然而,珠母贝却具有高出纯文石(0.001 kJ/m²)近 3 个数量级的韧性(1.5 kJ/m²),这得益于其独特的由“砖块和水泥(Brick-and-mortar)”所组成的增维结构^[3]。其中,尺寸约为 30 nm 的文石颗粒作为砖块(即单元结构),并在由几丁质和蛋白质构成的生物水泥的作用下交错排列,形成跨尺度的增维结构(图 1a)。无机层为材料提供了足够的强度支持,而有机层则通过能量耗散增强了材料的韧性^[4]。

与珠母贝相似,虾壳是另一种兼具强度与韧性的天然材料(图 1b)。然而,同样是基于碳酸钙、几丁质和蛋白质的天然材料,虾壳却有着截然不同的精细结构和增韧机制。由矿化几丁质-蛋白质所形成的平行排列的纤维片层围绕法线螺旋堆叠,形成布利冈(Bouligand)结构。该结构在潮湿条件下进一步加捻胶合,形成韧性、强度极高的增维结构^[5]。

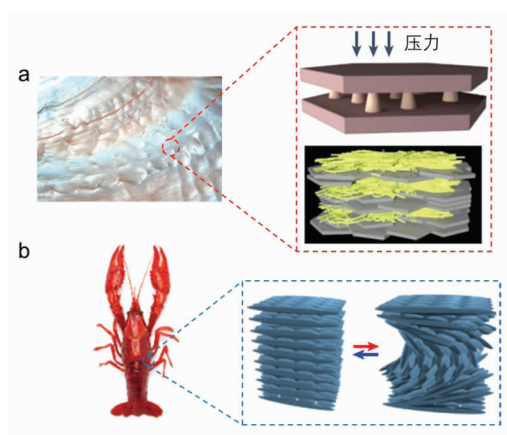
可见,天然材料中的增维结构具有较为完善的力学性能及材料特性。最近研究发现,这种在维度及尺度上具有高度可控特性的增维结构,在食品开发中也呈现出较强的应用前景,如可控释放^[7]、靶向递送^[8]、食品保鲜^[9]、功能涂层^[10]等。

收稿日期: 2023-08-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(32172138);江苏省优秀青年基金项目(BK20220154)

第一作者: 李煦源,男,硕士生

通信作者: 王涛 E-mail: twang3813@gmail.com

图 1 虾类甲壳增维结构^[6]Fig.1 Hierarchical structures of shrimp carapace^[6]

鉴于分子内、分子间复杂的交互作用,蛋白质是天然增维结构(如发丝、兽角等)构筑的物质基础。食品蛋白增维结构构筑研究是一门尚处于起步阶段的前沿研究。本文从介观重构、纳米雕刻及增维定制 3 个方面综述食品蛋白增维结构精密构筑的研究进展,为构建食品蛋白高值化利用关键技术体系提供了新思路与新方法,也为推动我国食品蛋白产业发展提供一定的理论和实践依据。

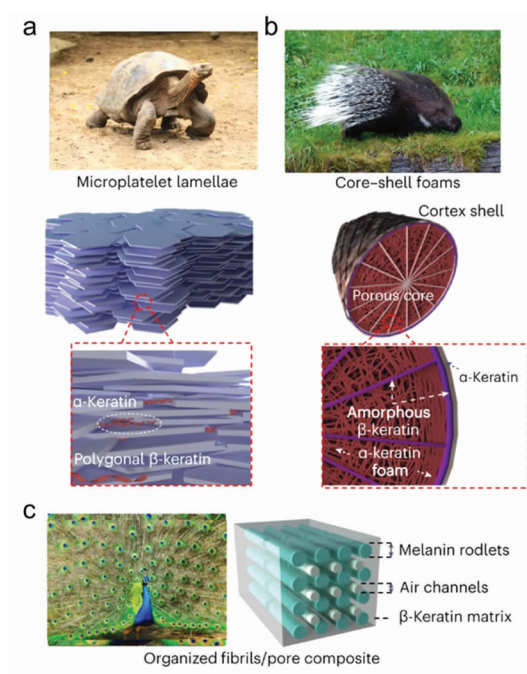
2 食品蛋白增维结构

2.1 应用现状

天然蛋白质虽然具有和工程化蛋白质相同的组成成分,但其基本构成与相互作用更为复杂,其自身折叠也难以进行过程控制。这种较低的结构可控性也是其进行增维制造的症结所在。然而,针对有限的食品蛋白质资源,精准设计其空间多维结构是实现动植物蛋白质功能化和标准化改造的关键,对于农产品精品化加工以及高值化利用都具有深远意义。由于缺乏对于蛋白质折叠过程的有效控制,现有的食品蛋白结构设计面临着精度低、可控性差等难题^[11]。鉴于未来食品对多功能蛋白结构的极大需求,以及后疫情时代对功能性成分的精准调控目标,定向设计功能导向性食品蛋白质结构迫在眉睫。

2.2 技术难度

拓扑多样性是天然蛋白功能性调节的内在结构基础^[12]。例如上文提及的由与角蛋白相同成分所组成的生物材料,从“结构-功能”角度来看,不

图 2 基于功能导向的多种角蛋白增维结构^[6]Fig.2 Multiple keratin hierarchical structures based on function guidance^[6]

同的生物微结构进化出差异化的材料性能(图 2)。

由此原理,食品研究人员想借助有限的动植物蛋白资源,定向设计其内在结构以满足食品生产过程中的差异化需求,如根据不同用途开发出大豆浓缩蛋白和拉丝蛋白^[13]。虽然蛋白结构的折叠过程主要受氨基酸编码序列决定,但鉴于 Levinthal 佯谬,任一组成蛋白结构的氨基酸序列,理论上具有高达 10^{300} 种的可能构型,却在实际环境中仅通过 ns 或 ps 即可形成某一特定构型^[14]。这种环境专一性结构则限制了蛋白结构的拓扑多样性,并导致大部分动植物蛋白在食品体系中的结构-功能特性都单一。而蛋白结构折叠的瞬发性无疑又增加了食品蛋白改造中结构标准化和功能定制化的难度。因此,如何在动态的供需环境下整合食品蛋白资源,优化其结构-功能特性是当今食品蛋白发展的当务之急。

2.3 理论基础

蛋白结构在折叠过程中,为了尽可能减少热力学不利情况(如反溶剂效应)的发生,通常将疏水性区域埋藏而将亲水性区域暴露。此过程也是

蛋白质在特定环境下具有单一性结构的本质原因。分子伴侣法是一项古老的蛋白错折叠(Mis-folding)纠正术,其原理在于增韧蛋白链,以规避其在不良溶剂化环境中误形成 β 样结构^[15]。受此启发,通过引入外源大/小分子扮演分子伴侣角色,以此对蛋白链的折叠行为进行过程控制,即蛋白质共架技术,从而规避其在特定溶剂环境中的单一性结构,有望对由限制性折叠终端所构建的单元结构进行短程有序性调控,并最终实现长程可控性增维结构的定制化设计。

3 食品蛋白增维结构研究进展

3.1 介观重构

基于分子层面的精细调控容易在表观结构层面产生离域效应,因此食品蛋白微结构的可控构筑需建立在合适的维度层面上。介观的特征尺度为1~100 nm,是存在于具有维度差异的体系之间,联系低维度与高维度的协调与竞争且能量稳定的中间态。在介观尺度下,蛋白结构具有重要的多尺度性质,如同时具有二级结构的稳定性及三级结构的多变性。以牛奶中的酪蛋白为例,酪蛋白含有大量的磷酸化丝氨酸-谷氨酸序列(-S_(P₃)E₂-),相互之间通过Ca²⁺桥联,形成具有胶束特征的介观结构^[16]。在介观层面上实施的结构调控能够有效避免由于微观设定上的微小偏差而引起的宏观失控,能够有效提高调控精度并扩大控程范围。同时,介观尺度作为低尺度与高尺度的桥梁,有助于研究人员探究不同尺度之间的相互作用,从而深入理解增维结构的理化特性及增维结构的形成过程。区别于基于分子层面、通过自下而上的结构构筑方式,基于介观层面的增维结构构筑过程并不改变食品蛋白的一级结构(氨基酸序列)。

介观重构一般分为解构、重构、变构3个阶段。大部分蛋白质生理条件下呈现几何球体,然而在高度带电或高浓度变性剂存在的情况下,蛋白结构的主链由于分子内斥力增加或引力下降而发生展开,从天然状态(N)转变为展开状的变变态(U)。当改变pH使其远离其天然态数值时,蛋白结构将经历快速的折叠-展开转变。此时,该蛋白虽具有明显的二级结构(α -螺旋 β -折叠 β -转角和无规卷曲),而没有或很少有明确的三级结构,

并呈现出“熔融态”(Molten globules)^[17],即解构作用。类似的解构现象在部分植物储藏蛋白上体现的更为突出,如麦谷蛋白^[18]、玉米醇溶蛋白^[19]和大米蛋白^[20]等。在食品环境下,这些蛋白结构通过疏水相互作用、氢键和二硫键以聚集体的形式存在,往往具有较低的水溶性,这使得单独蛋白分子的介观结构无法进行有效鉴定^[21]。然而,在高pH条件下,这些蛋白质超分子结构会发生去折叠过程,并解聚集以相对分散的结构存在,为后续的重构与变构提供了适宜的溶剂化环境。这一过程最为直观的表现是蛋白质水分散性的显著提升。

值得注意的是,通过控制pH引起的结构变化是部分或完全可逆的,且通常认为将沿着特定的逆向化展开途径发生重折叠^[22]。如上文提及的植物储藏蛋白,在较高pH下完成介观解构后,在pH重新调节至中性过程中,其结构发生部分或完全重折叠(去溶融化),即重构作用。利用此现象,可通过调节酪蛋白中-S_(P₃)E₂-序列与钙桥的作用强度,实现其介观结构由胶束状向网状的定向转变。其中,蛋白链的线性延展以及钙桥支化,诱导形成并排分子链,并以此构筑网络结构是其发生的典型分子机制^[23]。虽然部分食品蛋白,如大豆蛋白,在重折叠后可以自组装形成更加有序的聚集体或“核-壳”结构,但其重构后的有序度仍然难以调节^[24]。

然而,在分子伴侣存在的条件下,蛋白结构在经历展开、折叠过程中,其折叠记忆被打破。取而代之的是目标蛋白发生限制性折叠并形成结构可控的限制性折叠终端,即变构过程(图3a)。例如,大米蛋白可作为分子伴侣介导-S_(P₃)E₂-介观结构在点-面-网多维度上进行可控重构,进而通过介观变构开发了维度可控的共架结构,包括0D点状、2D面状及3D网状增维结构(图3b)。大米蛋白疏水效应驱动的低能化与酪蛋白分子线性延伸之间的协调-竞争互作机制,是形成可控介观结构的本质原因^[25]。

借助制备得到的增维结构对疏水活性物质装载,能够得到更加出色的抗肿瘤效果,且肿瘤的生长速度以及最终重量与增维结构间的差异性密切相关,如具有较低维度的纳米结构可获得较好的治疗效果^[25]。小于50 nm的增维结构可实现肿瘤

细胞内化,而在相同尺度下,棒状、纤维状或圆盘状的非球形颗粒表现出优于球状颗粒的内化效果^[25]。利用 α -乳白蛋白肽自组装形成增维结构,以此进行姜黄素负载,在体内实验中也发现相似的结论,即纳米管相较于纳米球更易于通过黏液层

达到上皮细胞,从而表现出更高的细胞吸收率和跨膜渗透性^[26]。这样的高渗透性有利于加速药物在体内的代谢。相较于游离姜黄素,经短纳米管装载后,其生物利用度提高 6.85 倍^[26]。

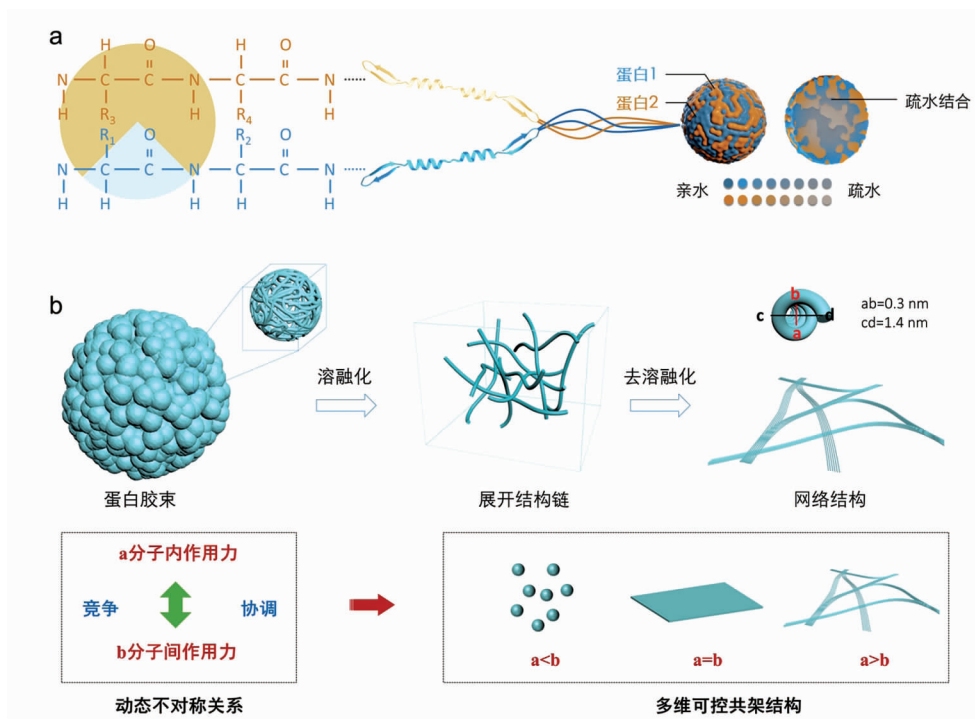


图 3 蛋白共架示意图及 pH 介导的介观重构机制^[23]

Fig.3 Schematic representation of protein co-folding and mechanism of pH-mediated mesoscopic reconstruction^[23]

介观重构与变构不仅可以调控所形成的增维结构的细胞内吞与营养代谢功能,还能大大增强其理化功能特性,为功能靶向性动植物蛋白的开发、利用提供可能。大米蛋白在与鳕鱼蛋白共架结合后,形成具有“核-壳”结构的增维结构,其中大米蛋白组分水分散性提高至 90%以上,而鳕鱼蛋白组分则维持较高的水分散性^[27]。大米蛋白与鳕鱼蛋白间的非共价反应驱动共架结构内部发生片层-螺旋转变,并变构成以大米蛋白为紧密核心、鳕鱼蛋白为松散外壳的增维结构。在疏水效应作用下,这种增维结构具有极高的水分散性,可应用于乳品饮料并开发乳液、气泡食品体系。

分子伴侣自身的分子状态和结构性质对共架体的介观结构转变起到关键作用,因此分子伴侣的选择对于介观重构意义重大。同样以大米蛋白

为主体的介观重构为例,当分子伴侣从鳕鱼蛋白替换为豌豆蛋白之后,由于豌豆蛋白结构柔性较高,经蛋白共架后形成的增维结构为松散螺旋球^[28]。此外,分子伴侣也可由多糖分子取代。例如,大米蛋白与羧甲基纤维素共架结合后,在静电作用的驱动下,大米蛋白纳米颗粒附着于多糖链上带电区域,变构为 3D 球链增维结构^[29]。该结构表现出优异的双相润湿性并具有降低油/水界面张力的能力,可以有效稳定油/水界面。类似的增维结构也在大米蛋白与核桃蛋白的共架组合中出现。不同之处在于,以往充当框架结构的大米蛋白,此时却以不完全折叠的线性链与由核桃蛋白形成的固化核心相结合,最终形成 3D 双蛋白球链网络,且随着增维结构中核桃蛋白相对含量的减少,其结构逐步转变为“核-壳”结构^[30]。

从介观结构的底层设计出发,依托蛋白共架技术,能够有效统筹分子内、分子间作用力竞争-协同的动态不对称关系,实现具有不同维度及尺度的增维结构的精密构筑,智能化定制其结构-功能特性,助力创新食品的开发与品质提升。

3.2 纳米雕刻

拥有可控拓扑微结构的中空增维结构具有低密度、高比表面积、高表面透过率等优良特性,在营养物质的稳态化、可控释放、靶向功能化等方面独具魅力。然而,目前尚未有食品蛋白结构腔化技术的系统报道。

柯肯达尔效应是一种常发生在无机材料之间的非对称交互扩散行为,基于两者之间扩散速率

差异而在扩散过程中形成结构缺陷,即空心结构^[31]。柯肯达尔效应是受到熵驱动的、自发的超分子雕刻行为,被誉为天然的纳米雕刻技术。该技术在制备无机中空或介孔纳米材料方面已经得到了较为广泛的应用,然而在天然有机材料中鲜有报道。

受疏水效应驱动,两种蛋白经共架结合后往往形成外亲水、内疏水且具有向心疏水梯度的介观结构,结构内、外的疏水性差距给予了外源疏水物质向内扩散动力,而稳定的内部结构阻碍介观结构向外扩散,进而形成具有差异化扩散速率的扩散偶,介导两者的非对称交互扩散并进行纳米雕刻,即柯肯达尔效应(图4a和4b)。

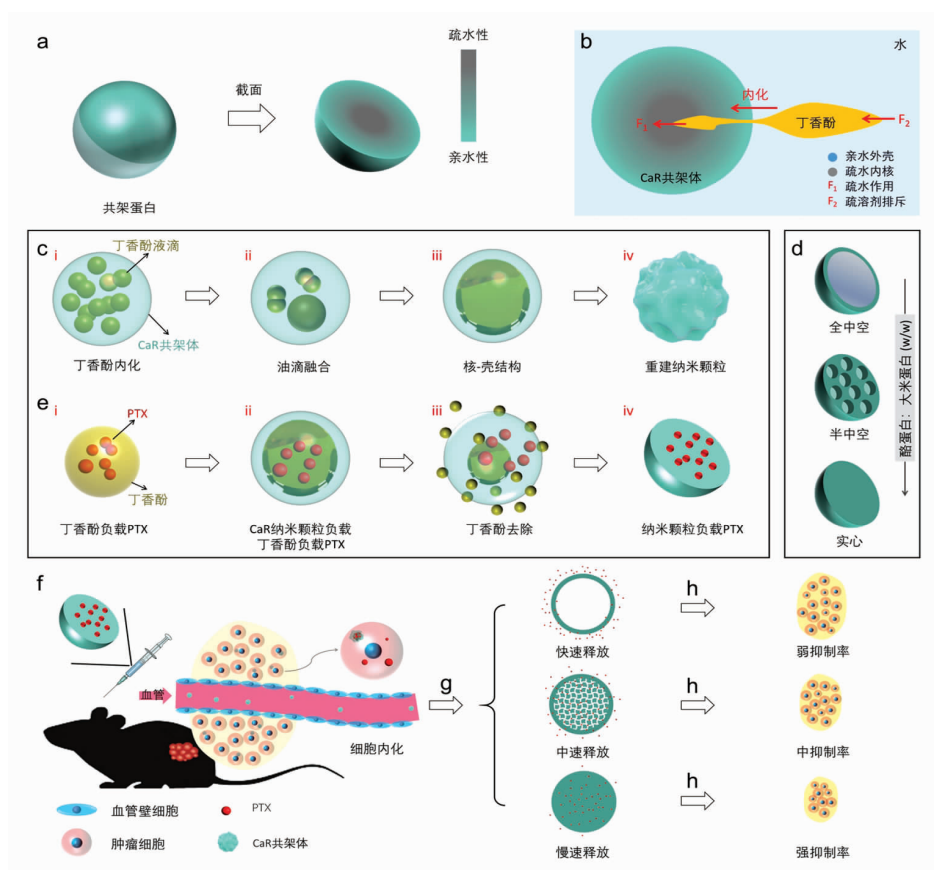


图4 基于柯肯达尔效应的中空结构纳米雕刻技术示意图^[32]

Fig.4 Schematic of nanosculpting for hollow structures based on the Kirkendall effect^[32]

大米蛋白与酪蛋白经过共架结合后形成单分散,且具有外亲水、内疏水的纳米颗粒,该纳米颗粒可作为微反应器实现与多种酚类精油(如丁香酚)的柯肯达尔效应^[32]。丁香酚在疏水作用和反溶

剂效应的驱动下,相对于纳米颗粒内部进行向心扩散,继而发生相分离并因此形成毛细流。毛细流在纳米颗粒内部渗透,导致结构缺陷产生。此后,毛细流在缺陷结构内聚集成簇,进而形成具有丁

香酚内核和蛋白外壳的增维结构。后续通过简单透析处理就可驱动丁香酚的被动反迁移,形成空心增维结构。因此,由蛋白-精油非对称交互扩散介导的空心增维结构构筑模式可概括为致缺-成簇-腔化动态过程(图 4c)。

通过调节两种蛋白间的比例,可实现增维结构内核疏水性的调节,进而控制内核与丁香酚的相互作用力^[33]。因此,丁香酚的被动反迁移动力学亦可通过共架结构疏水梯度实现精细调节。值得一提的是,通过调节酪蛋白与大米蛋白之间的配比,可调控纳米颗粒内、外疏水梯度,构建中空、半中空以及实心等差异化可控内部拓扑微结构(图 4d)。由于壁垒效应,具有差异化内部结构的纳米颗粒可满足不同情况下的释放需求,实现对荷载物的释放行为以及生物功能的有效调控(图 4f)。

此外,在内化之前将疏水活性物质(如紫杉醇)溶解于丁香酚,可制备得到负载有紫杉醇的中空增维结构(图 4e)。由于蛋白质的高生物相容性,该增维结构能有效提高紫杉醇的细胞内化作用,并大大提高其抗癌活性^[32]。此外,由于丁香酚的抗氧化特性,负载丁香酚的增维结构可以有效提高二价亚铁的稳定性,其亚铁还原性从数小时提升至 10 d 以上^[34]。

在蛋白质共架技术的基础上,结合天然生物材料间的柯肯达尔效应,创制了食品蛋白纳米雕刻术,可实现中空拓扑微结构的程序化设计,指导目标功能物质稳态化装载与定向调控。

3.3 增维定制

定制化食品蛋白的增维结构赋予其可控的理化功能特性,可满足其在不同条件下的应用需求。目前,增维定制可从定向设计单元结构的短程有序性及合理布局单元结构的长程可控性入手。

介观重构和纳米雕刻均是基于单元结构短程有序性的研究,是长程可控性增维结构性能调控的前提。例如,在反溶剂沉淀介导的疏水效应驱动下,大米蛋白纳米颗粒以多糖链状纤维中羧甲基簇为锚点进行表面补丁作用,并沿链的 1D 延长线方向生长,形成球-链 1D 单元结构,且具有可控球-链重复周期和间隔长度等短程有序性(图 5a)。鉴于亲水-疏水交替的各向异性特征,以及降低过剩的界面自由能倾向,该 1D 单元结构会在油

水界面自发形成亲水-疏水类皮肤双层 2D 结构(表皮-真皮)(图 5b~5d 和 5g)。借助油水界面间的立体接触面,2D 结构又可自发沿两相界面延展形成 3D 增维结构(图 5e)^[35]。

此外,羧甲基纤维素的取代度可作为表面补丁作用的关键控制点,调控 1D 单元结构中球-链周期以及 2D、3D 增维结构中表皮层的厚度。同时,由于羧甲基纤维素具有肠溶性,该增维结构可在荷载活性物质后发挥肠道递送功能,而通过调节增维结构的皮层厚度还可精准控制其在肠道内的滞留时间和释放行为(图 5d~5f)。

另外,基于维度、尺度均一的单元结构,直接对其长程可控性进行增维设计也是可行的。乳铁蛋白是机体天然防御系统的关键组成部分,可以响应多种生理和环境变化。在体系中添加三(2-羧基乙基)膦盐酸盐对二硫键还原并修饰巯基后,乳铁蛋白构象展开,再经亚基间氢键作用或疏水相互作用后,形成颗粒 0D 单元结构^[36]。在过剩表面自由能的驱动下,单元结构可自发迁移至固-液、气-液界面并自组装形成 2D 增维结构,且该 2D 增维结构具有可控的厚度、粗糙程度等(图 6a)。鉴于乳铁蛋白对多种细菌、真菌、病毒和寄生虫表现出强大的抑制活性^[37],还具有抗炎和促生长等生理功能^[38],上述研究所开发的 2D 增维结构可作为植入材料,在骨修复、生物矿化和组织再生等方面具有良好应用前景(图 6b~6e)^[36,39]。

3.4 增维结构在食品中的应用现状

单元结构的增维过程往往需要利用分子间相互作用,或基于界面诱导作用驱动自组装行为的发生。通过改变离子强度、pH、基质浓度等因素,可以实现分子间相互作用的调控或控制界面堆积的形成过程。由于具有高度均一的结构特点及高度定向的构筑机制,增维结构在产品品质保持、物性结构开发、稳态化装载等方面具有较高的开发优势及应用前景。

蛋白增维结构的研究初衷为进行疏水性植物蛋白的增溶改性。利用具有高水分散性的酪蛋白与大米蛋白形成共架结构,将疏水性基团包埋在二者共折叠所形成的共架结构内部,可将大米蛋白的水分散性提高至 90% 以上,且可通过改变酪蛋白添加比例实现增维结构界面性能的调控^[40]。

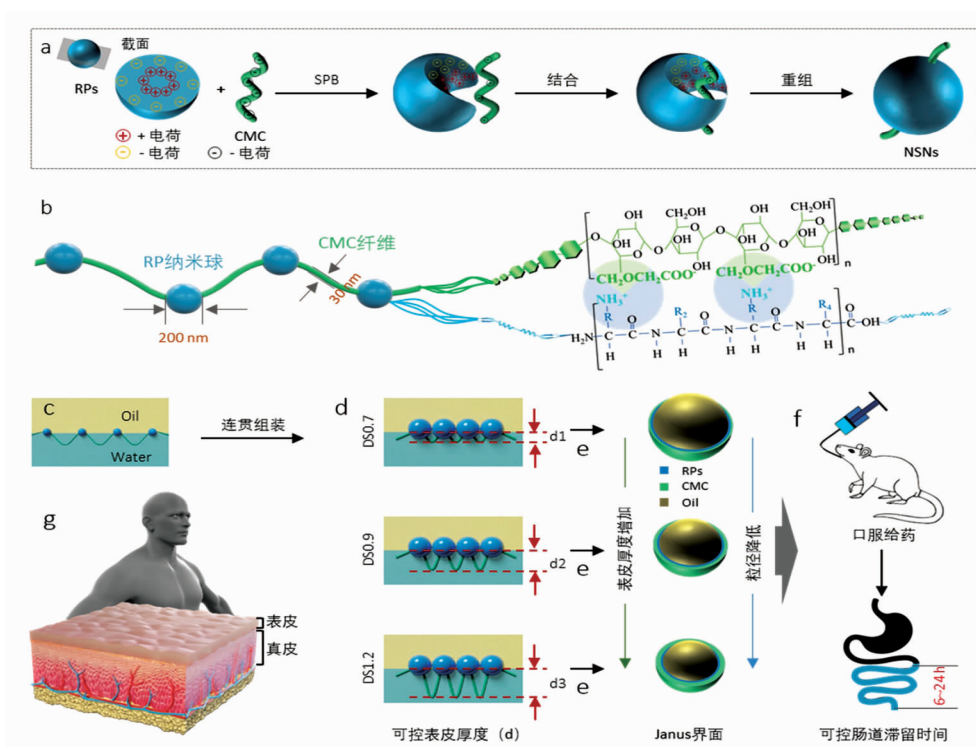


图5 基于表面补丁效应的1D单元结构构建和基于界面作用的2D、3D增维结构定制过程^[35]

Fig.5 Process of 1D unit structure construction based on surface patch binding and customization of 2D and 3D hierarchical structures based on interfacial interaction^[35]

相同的技术手段在玉米醇溶蛋白增溶方面也获得了同样的效果^[41]。而依托玉米醇溶蛋白自身出色的组装性能,通过改变外源物质的类型,可分别得到0D点状、1D线状、2D膜片和3D球状增维结构^[42]。

大米蛋白与虫胶在共架处理后会形成松散的颗粒0D单元结构。该结构在不同浓度 Ca^{2+} 的诱导下,逐步自组装增维形成2D带状结构或者3D空间网络结构^[43]。这些增维结构可以对芹菜素进行稳态装载和跨膜递送,从而改善其在HepG-2细胞模型中的细胞摄取情况^[43]。

基于核桃蛋白和大米蛋白的共架体制备的高内相乳液,其界面结构稳定性可通过添加氯化钠进行调控,从而获得响应盐浓度的可调流变性能,同时在长期贮藏、加热和冻融过程中均具有优异的结构稳定性^[28]。在大米淀粉与酪蛋白复合结构稳定的高内相体系中,加工温度通过控制淀粉糊化度决定了高内相乳液的性能。该体系在 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下处理1h后可得到最佳的流变性能,显示出理

想的3D打印特性^[44]。

受此启发,借助增维结构构筑和其界面自组装作用,可设计兼备空间位阻效应和Pickering作用的双重稳定分散体系,从而开发出兼具结构稳定性和环境稳定性的液体气泡和固化乳液^[45]。大米蛋白与豌豆蛋白形成双蛋白共架体后,在偶极-偶极相互作用和氢键相互作用的驱动下,自发与淀粉纳米晶结合。所形成的增维结构兼具动态柔性和机械强度,可将液体气泡的贮藏稳定性由数小时提升至数天^[46]。

相似的策略也同样适用于乳液开发。淀粉纳米晶可与大米蛋白-鳕鱼蛋白二元“核-壳”结构再次结合,在双相界面上稳定吸附,使得乳液兼具位阻稳定和Pickering稳定特性,最终将乳液的贮藏稳定期提升至数月^[47]。除了界面机械强度的提高,调节淀粉纳米晶的添加量可以控制脂肪酶和胆汁盐吸附至油滴表面的动态过程,从而降低脂质分解速率和分解程度^[48]。此外,益生菌可被包埋进由A型明胶-酪蛋白酸盐复合结构稳定的水包水乳

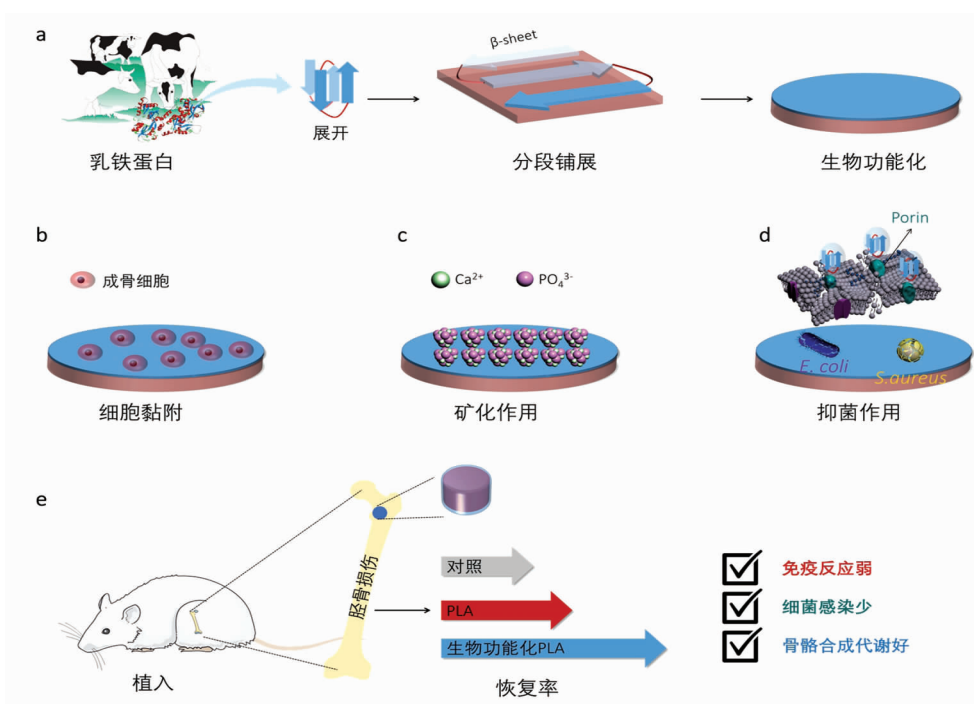


图 6 具有多种生物功能的乳铁蛋白增维结构构筑示意图^[36]

Fig.6 Schematic representation of lactoferrin biosurface with multiple biofunctions^[36]

液,以此实现适于室温贮藏的菌粉生产^[49]。

在大米蛋白和羧甲基纤维素共架体系中,通过调节 pH 可对单元结构进行短程有序性调控。而通过调节基质浓度和相比则可控制界面形成过程,不同条件下形成的增维结构在机械应力作用下表现出高度差异化的质构、流变性质,因而适用于不同食品的增材制造^[27,50]。

上述研究表明,通过增维定制成功构建了食品蛋白从低维到高维的结构控制体系,有效提高控制精度并扩大控程范围,这极大丰富了增维结构在食品开发中的应用。

4 结论与展望

增维结构的精密构筑是跨维度、跨尺度的逐

级堆积过程。目前,食品蛋白增维结构设计尚处于起步阶段,存在着设计精度低、定向性差等问题。笔者受天然增维结构的启发,同时借鉴已有的人工增维过程的研究进展,阐述基于蛋白共架技术的增维设计逻辑,重点从介观重构、纳米雕刻及增维定制 3 个方面论述了目前已有增维结构的典型构筑机制。通过调控单元结构的短程有序性,定向开发具有长程可控性的增维结构,具体包括 3 个方面:1)基于解构-重构-变构的 0D 点状、2D 面状及 3D 网状多维结构精密构筑;2)基于致缺-成簇-腔化(柯肯达尔效应)的中空、半中空及实心纳米颗粒结构精密构筑;3)基于 1D-2D-3D 增维定制的 1D 球链、2D 双层及 3D 类皮肤(皮层、真皮层)结构精密构筑(图 7)。



图 7 食品蛋白增维结构研究思路

Fig.7 Thoughts on the study of the hierarchical structure of food proteins

目前的研究主要集中在两种蛋白质的共架组装上,未来可以考虑多组分蛋白及其它生物大分子的系统构筑,如通过蛋白-蛋白相互作用和蛋白-配体协同作用,实现更加复杂的增维结构制造和功能设计。同时,食品加工技术的发展,如增材制造技术,为蛋白增维结构的精密构筑提供了更多的可能性。这些先进的制造技术可以实现更高精度和复杂度的增维结构设计,为食品产业提供高效、可持续和定制化的解决方案。未来的研究应着重于探索新的构筑方法和技术,深入理解增维结构的“结构-功能”关系,注重可持续性和安全性,加强国际合作与知识共享,为农产品精品化加工和高值化利用提供新的思路和方法。

参 考 文 献

- [1] PENG J, CHENG Q. High - performance nanocomposites inspired by nature[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(45): 1702959.
- [2] ESPINOSA H D, RIM J E, BARTHELAT F, et al. Merger of structure and material in nacre and bone— Perspectives on de novo biomimetic materials [J]. *Progress in Materials Science*, 2009, 54(8): 1059–1100.
- [3] WEGST U G K, ASHBY M F. The mechanical efficiency of natural materials[J]. *Philosophical Magazine*, 2004, 84(21): 2167–2186.
- [4] BARTHELAT F, ESPINOSA H D. An experimental investigation of deformation and fracture of nacre— mother of pearl[J]. *Experimental Mechanics*, 2007, 47: 311–324.
- [5] BOULIGAND Y. Twisted fibrous arrangements in biological materials and cholesteric mesophases[J]. *Tissue and Cell*, 1972, 4(2): 189–217.
- [6] NEPAL D, KANG S, ADSTEDT K M, et al. Hierarchically structured bioinspired nanocomposites[J]. *Nature Materials*, 2023, 22(1): 18–35.
- [7] VOLPATTI L R, SHIMANOVICH U, RUGGERI F S, et al. Micro—and nanoscale hierarchical structure of core - shell protein microgels[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(48): 7989–7999.
- [8] LIU Q Q, TIAN J W, LIU J J, et al. Modular assembly of tumor - penetrating and oligomeric nanozyme based on intrinsically self - assembling protein nanocages[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(39): 2103128.
- [9] ZHEN N, WANG X Y, LI X, et al. Protein - based natural antibacterial materials and their applications in food preservation[J]. *Microbial Biotechnology*, 2022, 15(5): 1324–1338.
- [10] KALLAS P, VALEN H, HULANDER M, et al. Protein-coated nanostructured surfaces affect the adhesion of *Escherichia coli*[J]. *Nanoscale*, 2022, 14(20): 7736–7746.
- [11] LI T, LU X M, ZHANG M R, et al. Peptide - based nanomaterials: Self-assembly, properties and applications[J]. *Bioactive Materials*, 2022, 11: 268–282.
- [12] EDER M, AMINI S, FRATZL P. Biological composites—complex structures for functional diversity[J]. *Science*, 2018, 362(6414): 543–547.
- [13] ZHANG T Y, DOU W, ZHANG X, et al. The development history and recent updates on soy protein-based meat alternatives[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109: 702–710.
- [14] ZWANZIG R, SZABO A, BAGCHI B. Levinthal's paradox[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1992, 89(1): 20–22.
- [15] LINDNER R A, KAPUR A, CARVER J A. The interaction of the molecular chaperone, α -crystallin, with molten globule states of bovine α -lactalbumin [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(44): 27722–27729.
- [16] CROSS K J, HUQ N L, REYNOLDS E C. Casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate nanocomplexes: A structural model[J]. *Biochemistry*, 2016, 55(31): 4316–4325.
- [17] KUMAR T K, SUBBIAH V, RAMAKRISHNA T, et al. Trichloroacetic acid -induced unfolding of bovine pancreatic ribonuclease. Existence of molten globule-like state[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(17): 12620–12625.
- [18] LI X Y, ZHANG S H, LUO X H, et al. Co-assemblies of carboxymethyl cellulose and wheat glutenins as colloidal carriers of vitamin D₃ with enhanced stability against long-term storage and ultraviolet radiation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 135: 108145.
- [19] PAN K, ZHONG Q X. Low energy, organic sol-

- vent-free co-assembly of zein and caseinate to prepare stable dispersions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 52: 600–606.
- [20] WAN Y, LIN C, LI Y N, et al. Tuning the electrostatic interaction between rice protein and carboxymethyl cellulose toward hydrophilic composites with enhanced functional properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 235: 123918.
- [21] HE C X, HU Y, WANG Y, et al. Complete waste recycling strategies for improving the accessibility of rice protein films[J]. *Green Chemistry*, 2020, 22(2): 490–503.
- [22] DOBSON C M. Unfolded proteins, compact states and molten globules[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 1992, 2(1): 6–12.
- [23] WANG T, CHEN X F, ZHONG Q X, et al. Facile and efficient construction of water-soluble biomaterials with tunable mesoscopic structures using all-natural edible proteins[J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 29(31): 1901830.
- [24] TANG C H. Nano-architectural assembly of soy proteins: A promising strategy to fabricate nutraceutical nanovehicles[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2021, 291: 102402.
- [25] SUN Q, OJHA T, KIESSLING F, et al. Enhancing tumor penetration of nanomedicines[J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(5): 1449–1459.
- [26] BAO C, LIU B, LI B, et al. Enhanced transport of shape and rigidity-tuned α -lactalbumin nanotubes across intestinal mucus and cellular barriers[J]. *Nano Letters*, 2020, 20(2): 1352–1361.
- [27] WANG R, WANG T, FENG W, et al. Rice proteins and cod proteins forming shared microstructures with enhanced functional and nutritional properties[J]. *Food Chemistry*, 2021, 354: 129520.
- [28] WANG R, LI L L, FENG W, et al. Fabrication of hydrophilic composites by bridging the secondary structures between rice proteins and pea proteins toward enhanced nutritional properties[J]. *Food & Function*, 2020, 11(9): 7446–7455.
- [29] WAN Y, WANG R, FENG W, et al. High internal phase Pickering emulsions stabilized by co-assembled rice proteins and carboxymethyl cellulose for food-grade 3D printing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 273: 118586.
- [30] WANG T, LI F S, ZHANG H, et al. Plant-based high internal phase emulsions stabilized by dual protein nanostructures with heat and freeze-thaw tolerance[J]. *Food Chemistry*, 2022, 373: 131458.
- [31] YIN Y, RIOUX R M, ERDONMEZ C K, et al. Formation of hollow nanocrystals through the nanoscale Kirkendall effect[J]. *Science*, 2004, 304(5671): 711–714.
- [32] ZHANG H, WANG R, WU C, et al. Diffusion-mediated carving of interior topologies of all-natural protein nanoparticles to tailor sustained drug release for effective breast cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2023, 295: 122027.
- [33] HE J, ZONG Y C, WANG R, et al. Simultaneous refolding of wheat proteins and soy proteins forming novel antibiotic superstructures by carrying eugenol[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(27): 7698–7708.
- [34] WANG R, XU P C, YUE M, et al. Coordination of Fe(II) to eugenol to engineer self-assembled emulsions by rice proteins for iron fortification[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(2): 276–283.
- [35] WAN Y, LIU H L, CHEN Z X, et al. Biomolecular 1D necklace-like nanostructures tailoring 2D Janus interfaces for controllable 3D enteric biomaterials[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(6): 5620–5631.
- [36] NA X K, CHEN X F, XU X B, et al. Fabrication of biofunctionalized surfaces for osteo-regeneration by directional seeding of lactoferrin at the solid-liquid interface[J]. *Materials Today Nano*, 2022, 20: 100250.
- [37] WU J J, ZANG M W, WANG S W, et al. Lactoferricin, an antimicrobial motif derived from lactoferrin with food preservation potential[J/OL]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (2023-05-09) [2023-08-16]. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2207650>.
- [38] WANG B, TIMILSENA Y P, BLANCH E, et al. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(4): 580–596.
- [39] NA X K, ZHANG L J, REN C, et al. Lactoferrin network with MC3T3-E1 cell proliferation, auxiliary mineralization, antibacterial functions: A multifunctional coating for biofunctionalization of implant surfaces[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,

- 2022, 216: 112598.
- [40] WANG T, YUE M, XU P C, et al. Toward water-solvation of rice proteins via backbone hybridization by casein[J]. *Food Chemistry*, 2018, 258: 278–283.
- [41] KASAAI M R. Zein and zein-based nano-materials for food and nutrition applications: A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 79: 184–197.
- [42] SUN Y J, WEI Z H, XUE C H. Development of zein-based nutraceutical delivery systems: A systematic overview based on recent researches[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 137: 108368.
- [43] WANG T, YANG Y, FENG W, et al. Co-folding of hydrophobic rice proteins and shellac in hydrophilic binary microstructures for cellular uptake of apigenin[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125695.
- [44] LIU Y, TAN Z F, XU X B, et al. The formation of rice starch/casein complex by hydrothermal and stabilizing high internal phase emulsions with 3D printing property[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 144: 108995.
- [45] CHANG S Q, CHEN X, LIU S W, et al. Novel gel-like Pickering emulsions stabilized solely by hydrophobic starch nanocrystals[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 703–708.
- [46] WANG T, ZHANG W Y, LI L L, et al. Protein networks and starch nanocrystals jointly stabilizing liquid foams via pickering-type coverages and steric hindrance[J]. *Food Chemistry*, 2022, 370: 131014.
- [47] WANG T, ZHANG W Y, WANG T T, et al. Enhancing the stability of oil-in-water emulsions by synergistic interplay between binary protein particles and starch nanocrystals[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 107164.
- [48] SARKAR A, LI H C, CRAY D, et al. Composite whey protein - cellulose nanocrystals at oil-water interface: Towards delaying lipid digestion [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 436–444.
- [49] ZHAO M, HUANG X, ZHANG H, et al. Probiotic encapsulation in water-in-water emulsion via hetero-protein complex coacervation of type-A gelatin/sodium caseinate [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105790.
- [50] LIU Z B, HA S Y, GUO C F, et al. 3D printing of curcumin enriched Pickering emulsion gel stabilized by pea protein-carrageenan complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 146: 109170.

Research Progress on the Precise Construction of Hierarchical Structures of Food Proteins

Li Xuyuan, Chen Zhengxing, Wang Tao*

(National Engineering Research Center for Cereal Fermentation and Food Biomanufacturing, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu)

Abstract Hierarchical structures are long-range controllable high-level structures that are assembled by confined assembly at the multidimensional spaces of unit structures with short-range orders. Hierarchical structures are characteristic of directional arrangement by unit structures and high programmability in their scales and dimensions. Due to dynamic design logic and normalized construction mechanism, such highly organized and spatially diverse structures assembly with similar unit structures may find critical applications in design of functional foods. However, current design and development of hierarchical structures are based on artificial polymers and engineered proteins, while it is yet to have studies focused on natural proteins. The primary reason is the lack of process control of protein folding. In this paper, the research progress on the precise construction of hierarchical structures of food proteins is reviewed, which is based on protein co-construction technology from three aspects: mesoscopic reconfiguration, nanoscale carving, and hierarchical customization. This work provides new ideas and methods for constructing the key technological system for value-added utilization of food proteins, trying to provide certain theoretical and practical support for promoting the development of food protein industry in China.

Keywords hierarchical structures; confined assembly; protein modification; precise construction