

植物源蛋白质纤维化自组装研究进展

唐紫薇, 明雨, 赵欣欣, 林昕卓, 吴满刚, 王庆玲*

(扬州大学食品科学与工程学院 江苏扬州 225127)

摘要 食源蛋白质自组装纤维因具有丰富的氨基酸, 中通外直的纤维形貌, 易于加工的多级多尺度结构, 有望作为新型功能性材料应用于食品工业中。它的开发和利用已成为近年来食品领域的研究热点, 尤其是针对符合绿色可持续发展需求的植物源蛋白质自组装纤维的相关研究更是备受关注。本文介绍植物源蛋白质纤维化自组装的形成机制、影响因素, 概述纤维化自组装对蛋白质结构和功能性质的影响以及蛋白质纤维在食品领域中的应用现状和发展前景, 以期对植物蛋白纤维在功能性食品等领域的开发利用提供理论依据。

关键词 植物蛋白; 纤维化; 自组装; 形成机制; 功能性质

文章编号 1009-7848(2024)06-0423-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.06.037

随着人们对功能性结构需求的日益增长, 促进了医药、材料和食品科学等领域对功能性生物大分子的不断研发和利用。蛋白质不仅具有丰富的营养价值, 而且具有独特的自组装特性, 在适当的外部条件下可通过氢键、静电、疏水等作用力自组装形成结构明确且具有某种特定功能的纤维化结构。与天然蛋白质相比, 这种纤维化蛋白质具有良好的生物相容性和无毒特性, 并具有中通外直的纤维形貌, 易于加工的多级多尺度结构, 为改善蛋白质的功能性质创造了新的机遇^[1]。大量研究表明, 纤维化自组装可以显著改善蛋白质的流变学特性、凝胶性、乳化性、起泡性、抗氧化性等^[2-5]。纤维化蛋白质有望成为新型的功能性食品成分, 在食品工业中具有极大的应用价值。此外, 纤维化蛋白质还具有良好的纳米级效应, 可以作为新型营养物或生物活性成分(如鱼油、姜黄素、 β -胡萝卜素等)的运输载体^[6-7], 在纳米材料领域表现出广阔的应用前景。目前研究发现, 许多类型的食源性蛋白能够在低 pH 值、加热等条件下自组装形成纤维状结构^[8], 研究范围主要集中在动物源蛋白领域(如乳清蛋白、蛋清蛋白、牛血清蛋白等), 而对植物源蛋白的研究较少。近年来, 在营养健康和绿色可持续的前提下, 植物源蛋白因节约环境资源的

属性和对人类健康的益处而受到越来越多的青睐。未来食品中如何充分开发利用优质植物蛋白资源也成为新的聚焦点。为了提升植物蛋白资源加工利用水平, 本文围绕植物蛋白自组装纤维, 介绍纤维化自组装行为、机制和影响因素, 阐述纤维化自组装对植物蛋白质结构和功能的影响, 植物源蛋白质自组装纤维的应用现状以及发展前景。

1 蛋白质纤维化自组装行为概述

蛋白质纤维化自组装是指一种无序体系在非人为介入的条件下, 依靠体系内的基本构建单元自发形成有序并具有某种特定功能和性能的纤维状聚集体的过程, 这些基本构建单元可以是原子、分子、纳米、微米或更大尺度的物质。长期以来, 在生命体内, 蛋白质纤维化自组装被认为是一种病理性行为, 且与多种人类神经退行性疾病有关, 包括阿尔茨海默病(AD)、帕金森病和朊病毒病^[9]。但源于食物蛋白的纤维聚集体却具有生物相容性和无毒性, 并具有优异的尺寸效应, 能够作为新型功能材料应用于食品工业中^[10]。近十几年, 关于食品源蛋白纤维化自组装的相关文献报道日益增多, 研究对象以乳蛋白、牛血清蛋白为主, 而对于植物蛋白纤维化自组装的报道相对较少, 主要集中在大豆蛋白、豌豆蛋白等豆类蛋白^[11]。但是近几年来, 针对其它种类植物蛋白纤维化自组装的研究也陆续展开, 表 1 总结了当前已被研究的植物蛋白种类, 包括大米蛋白、玉米蛋白、小麦蛋白、花生蛋白、燕麦蛋白等。从表 1 可以明显看出, 在低 pH

收稿日期: 2023-06-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(32302110, 32272335);
江苏省自然科学基金青年项目(BK20200928)

第一作者: 唐紫薇, 女, 硕士

通信作者: 王庆玲 E-mail: wangql891228@163.com

表1 不同来源植物蛋白纤维化自组装的形成条件

Table 1 Overview of the fibrillation conditions of plant proteins from various sources

蛋白质种类	纤维化自组装条件	参考文献
大豆分离蛋白	85 °C, pH 2.0, 300 r/min 搅拌, 20 h; 木瓜蛋白酶水解, 90 °C, pH 2.0, 8~10 h	[12], [13]
伴大豆球蛋白	80 °C, pH 2.0, 12 h	[14]
大豆球蛋白	80 °C, pH 2.0, 12 h	[14]
豌豆分离蛋白	85 °C, pH 2.0, 20 h	[15]
绿豆蛋白	85 °C, pH 2.0, 0~200 mmol/L NaCl, 12 h	[12]
红豆蛋白	85 °C, pH 2.0, 0~200 mmol/L NaCl, 12 h	[12]
鹰嘴豆	90 °C, pH 2.0, 0.5~24 h	[3]
蚕豆蛋白	85~90 °C, pH 2.0, 24~96 h	[16]
羽扇豆蛋白	85~90 °C, pH 2.0, 24~96 h	[16]
小扁豆蛋白	90 °C, pH 2.0, 24 h	[17]
大熊猫豆蛋白	90 °C, pH 2.0, 24 h	[18]
豇豆	90 °C, pH 2.0, 0.5~24 h	[3]
棉籽蛋白	90 °C, pH 2.0, 2~6 h	[19]
土豆蛋白	90 °C, pH 2.0, 6 h	[20]
燕麦蛋白	85~90 °C, pH 2.0, 24~96 h	[16]
米糠蛋白	90 °C, pH 2.0, 2 h	[21]
大米谷蛋白	85 °C, pH 2.0, 4 h	[22]
大米球蛋白	90 °C, pH 2.0, 0~500 mmol/L NaCl, 2 h	[21]
小麦面筋蛋白	胰蛋白酶水解; 37 °C, pH 7.0, 40 h	[23]
花生蛋白	85 °C, pH 2.0, 6 h	[24]
α -玉米醇溶蛋白	体积分数 70% 乙醇水溶液, 90 °C, pH 4.0, 8 h	[25]

值(通常在 2 左右)、低离子强度下加热到 70~90 °C 是多数植物蛋白纤维化自组装的有利条件。

2 蛋白质纤维化自组装机制

大量研究表明, 在溶解状态下拥有天然构象的蛋白质, 在远离等电点(特别是强酸条件下)、低

离子强度条件下加热至变性温度, 蛋白质结构展开、疏水基团暴露、蛋白质分子间的疏水相互作用加强; 与此同时, 蛋白质表面较高的电荷使分子间具有很强的静电排斥作用, 最终在疏水相互作用和静电相互作用的共同影响下有序聚集形成具有一定长度的蛋白纤维^[26]。

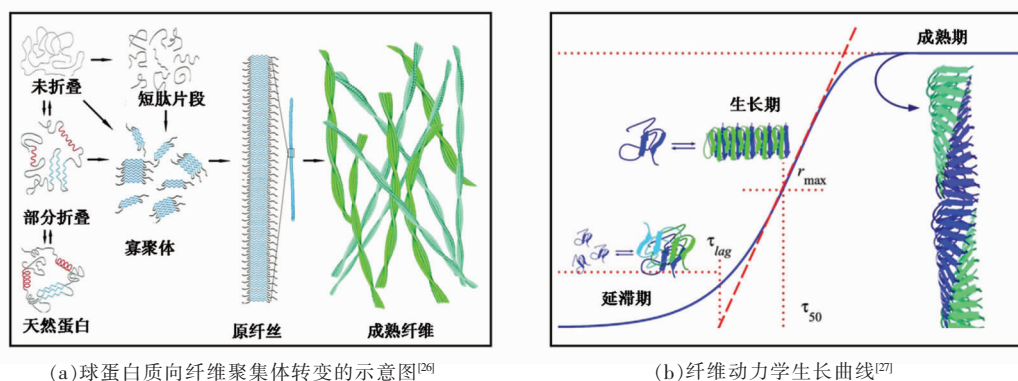


图1 蛋白质纤维聚集体的形成以及纤维动力学生长曲线

Fig.1 Formation of protein amyloid fibrils and dynamic growth curve of fibrils

目前,研究者对于蛋白质纤维化自组装提出了多种机制或模型,其中“成核生长模型”是最早被提出来的描述蛋白质纤维化自组装的模型(如图 1a 所示),也被称为“单体模型”,该模型将纤维化自组装过程大致分为 3 个主要阶段:成核期(滞后期)、生长期、成熟期(如图 1b 所示)^[27]。即起始阶段通常会经历一段滞后期,是单体聚集前所需的一段成核时间,在此期间,蛋白质单体结构展开,构象发生变化, β -折叠结构增加,单体疏水核心暴露形成寡聚体,寡聚体通常已经具有大量 β -折叠结构,并通过分子间相互作用逐渐成核,成核后的蛋白质进入生长期,单体在核上继续生长形

成原纤丝,原纤丝之间相互缠结形成纤维体,当溶液中形成大量成熟纤维体后,生长减缓进入稳定期。

之后,Akkermans 等^[28]发现,在 pH 8.0、37 °C 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 值调到 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,说明纤维的构建单元是水解产生的多肽而不是完整的蛋白质单体,并由此提出了“多肽模型”。在该模型中,蛋白质首先被酸或酶水解成多肽,随后,这些多肽通过非共价相互作用组装成纤维,如图 2 所示^[29]。

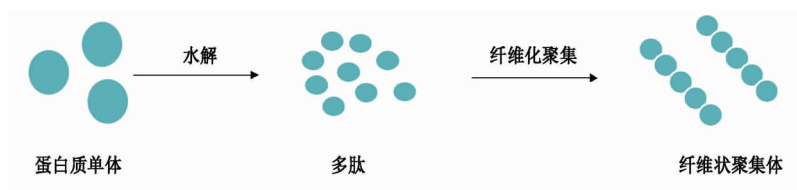


图 2 天然蛋白质向多肽及进一步向纤维转化的示意图

Fig.2 Schematic diagram of the transformation of natural proteins into polypeptide and further into fibrils

3 影响植物蛋白纤维化自组装的因素

不同来源的蛋白质由于其自身结构不同,诱导出的纤维也会具有不同的形态和功能,如扁豆和花生的纤维更长更直,而绿豆和豌豆的纤维卷曲而短^[30]。此外,蛋白质纤维化自组装还受温度、时间、蛋白质浓度、pH 值、离子强度等条件的影响,一些额外的物理化学处理(如超声、微波等)也会影响纤维化动力学以及纤维形态。根据影响因素的机制不同,大致可将其分为物理因素、化学因素、生物因素 3 种类型。

3.1 物理因素

3.1.1 加热温度 温度是影响蛋白质纤维化的重要因素,加热温度必须高于蛋白质的变性温度,蛋白质才有可能发生纤维化自组装;若加热温度太低,加热时间再长都不会形成纤维结构。诱导蛋白质纤维化自组装的条件通常是在强酸性条件下进行加热,当蛋白质被加热到变性温度以上时,分子内部的化学键断裂,并且水合作用随着温度的升高而显著增强,从而加速了纤维聚集体的形成。Robertson^[24]的研究表明,在其它条件相同的情况

下,热处理温度为 65 °C 时形成的纤维比热处理温度为 80 °C 时形成的纤维更长、更宽,这可能是由于过高的温度使纤维更大程度地分解。

3.1.2 加热时间 当加热蛋白质达到变性温度后,蛋白质纤维化过程通常需要一个诱导期,从几十分钟到几十个小时不等,这与蛋白质的类型和结构有关(如表 1 所示)。如 Sun 等^[25]将 α -玉米醇溶蛋白在 90 °C、pH 4.0 下加热 4、6、8 h,结果显示,加热 4、6 h 均无纤维聚集体出现,而加热 8 h 后检测到了纤维状聚集体。此外,值得注意的是,若持续过度加热,也有可能就会导致已形成的纤维被破坏,造成团簇甚至没有纤维聚集体的出现。例如,在 pH 2.0 和 95 °C 的加热条件下诱导大豆分离蛋白纤维化过程中发现,当加热到 60 min 时,大豆分离蛋白倾向于形成短的蠕虫状纤维;当加热时间延长到 360 min 时,形成的纤维呈现团簇状;而当加热到 720 min 时,没有纤维状聚集体出现^[31]。因此,在诱导蛋白质纤维化时,不仅要控制加热温度,也需要严格控制加热时间。

3.1.3 蛋白质浓度 为确保纤维生成,蛋白质浓

度通常需要达到纤维化临界浓度。此外,蛋白质浓度会影响纤维的形态和二级结构。在高浓度下,蛋白质倾向于形成短的蠕虫状纤维;而在低浓度下,倾向于形成长的半柔性纤维;这两种不同形态的纤维二级结构也有所不同,蠕虫状纤维的 β -折叠含量远低于半柔性纤维^[32]。Veerman等^[33]认为,在一定浓度范围内,浓度的增加意味着构建单元浓度的增加,从而增大了各构建单元之间形成化学键的几率,促进了晶核的形成,更多晶核的形成使得构建单元与晶核之间的碰撞频率增加。Liu等^[12]研究了不同蛋白浓度对3种不同来源球蛋白(芸豆、绿豆、红豆)纤维化的影响,结果显示,随着蛋白质浓度的增加,3种蛋白质形成的纤维的数量逐渐增加,但它们的大小不受影响。

3.1.4 搅拌 搅拌可以使反应物充分混合,缩短反应时间,已被广泛用于混合体系中。在加热过程中,搅拌可以缩短成核时间,对纤维的转化具有积极作用,这可能是由于不成熟的纤维可以通过搅拌处理被破坏,从而产生更多的活性结构块;其次,通过搅拌处理,活性单体被不断地送入纤维素的生长端^[34]。在同一温度下,搅拌可以使豌豆蛋白纤维变得更短、更宽^[24]。刘刚等^[35]发现,在其它条件一定的情况下,不搅拌处理也会产生纤维,但搅拌速度可以影响燕麦球蛋白纤维的伸直长度,相同条件下,搅拌速度为200 rad/s时的最长伸直长度大于0 rad/s条件下的纤维长度。

3.1.5 超声预处理 超声预处理可以促进蛋白质展开,在纤颤前对蛋白质进行超声处理,可以促进蛋白质溶解或形成更小的多肽,从而加速蛋白质原纤化。Tong等^[36]研究了超声波预处理对大豆蛋白纤维形成的影响,结果表明,超声波预处理可以使大豆蛋白改性,从而改善其纤维的形成。超声也能影响蛋白质纤维的功能特性,低振幅的超声波预处理可以明显改善大豆分离蛋白纤维的溶解度、乳化活性指数和吸水能力,但高振幅的超声波预处理会降低大豆分离蛋白纤维的乳化稳定性指数^[37]。超声处理可以促进蛋白质纤维的形成,但也会对蛋白质纤维化有负面影响,即破坏或分解已形成的纤维^[38]。因此,控制超声功率对蛋白质纤维的形成至关重要。

3.1.6 微波辅助处理 微波辅助处理是使用GHz

的微波辐射频率诱导偶极水分子的连续重新定向来加热水溶液。研究表明,微波辅助处理时间控制在2 h内可以促进蛋白质纤维的形成,超过2 h会导致已形成的纤维不可逆的分解。此外,与普通热处理相比,通过微波辅助方法获得的纤维表面疏水性更高,并且纤维由更大的肽组成^[39]。这可能是由于微波辅助处理对蛋白质的展开、成核和随后的堆叠具有非热效应,而不是促进蛋白质部分水解。有报道称微波处理可使小麦胚乳中面筋蛋白形成面筋纤维的动力学发生改变^[40]。

3.2 化学因素

3.2.1 pH值 pH值会影响蛋白质纤维化自组装的进程。构建单元之间的静电斥力会随着pH值的升高而降低,从而促进晶核的生成,加速自组装进程。Herneke等^[41]将pH值从2提高到9来研究绿豆蛋白纤维的结构,当pH值为3时,纤维仍具有特定的形态但已经开始裂解成较短的碎片,当pH值为5到6时,出现更多的聚集,而当pH值为9时,样品主要含有小聚集体,而没有弯曲的纤维出现。Wan等^[42]研究了大豆分离蛋白纤维的组成多肽在不同pH值(2~10)下的热聚集行为,并考察了大豆分离蛋白纤维的结构随pH值升高(2~11)的变化,结果表明,在不同的pH值下,聚集体会聚集成不同的形状,其中在pH<6时,聚集体内含有多重 β -折叠结构,而这些 β -折叠只有在pH 2.0时才堆积成纤维。pH值升高对 β -折叠结构的破坏大致可以分为两个阶段:当pH \leq 6时,由于静电中和作用,纤维的形态发生了显著变化;当pH>6时,纤维中 β -折叠损失很大,结构迅速解体。

3.2.2 离子强度 离子强度对蛋白质纤维化的影响与pH值相似。Veerman等^[43]发现在温度和蛋白浓度恒定的情况下,离子强度越低,自组装的速率越慢。此外,不同的离子强度会导致不同形态和性能的纤维生成。Song等^[44]研究了NaCl浓度对大米蛋白聚集行为的影响,结果显示在低的NaCl浓度(<100 mmol/L)下,大米蛋白倾向于形成长的纤维;而在高的离子浓度下(>100 mmol/L),大米蛋白则以无规则形态出现。

3.2.3 外源物质的添加 蛋白质自组装纤维对环境 中一些外源物质的添加非常敏感,包括乙醇、尿

素、二硫苏糖醇、盐酸胍等离液剂。这些溶剂通过破坏蛋白质的共价或非共价作用来使蛋白质变性,从而导致稳定蛋白质的疏水相互作用减弱。控制离液剂的浓度是蛋白质自组装纤维形成的关键步骤。研究表明,中等浓度的离液剂对蛋白质纤维的形成至关重要,因为低浓度的离液剂不足以引起蛋白质变性,而高浓度的离液剂会使蛋白质纤维解离^[45-46]。An 等^[47]将 α -玉米醇溶蛋白在含水乙醇中热孵育后,形成了具有较低乙醇组成和接近中性 pH 值的淀粉样蛋白纳米纤丝,而酸性条件和高乙醇组成导致球形聚集体的形成。由于大多数离液剂都对人体有害,因此不建议在食品工业中使用。

3.3 生物因素

研究证实,在低 pH 值下,加热诱导蛋白质纤维化的一个重要步骤是含有 Asp 残基的肽键(Asp-X 和 X-Asp 键)的水解^[48]。酶处理在一定程度上可以代替此步骤。 β -伴大豆球蛋白水解产物(通过木瓜蛋白酶水解获得)倾向于形成短的蠕虫状纤维,而非水解蛋白在 pH 2 和 95 °C 下加热 60 min 时形成成长的半柔性纤维^[51]。不同的酶处理也会导致不同形态的纤维生成,Lambrecht 等^[23]用胰蛋白酶、糜蛋白酶、嗜热菌蛋白酶、木瓜蛋白酶以及蛋白酶 K 制备了小麦面筋蛋白水解物,并在最佳条件下诱导其纤维化自组装,结果显示,由胰蛋白酶制备的水解物形成的纤维长而直,而由糜蛋白酶和蛋白酶 K 制备的水解物产生了小的蠕虫状纤维。酶处理可以在一定程度上替代传统酸热诱导的方法,可以为蛋白质纤维化提供新的思路。

4 纤维化自组装对蛋白质结构的影响

在诱导蛋白质纤维化的过程中,蛋白质通常会被水解成小分子的多肽。随着加热时间的延长,蛋白质的水解程度越高,小分子质量肽的数量越多。Wang 等^[49]采用 SDS-PAGE 研究了大豆蛋白纤维化过程中分子质量的变化,结果显示,随着加热时间的延长,低相对分子质量的多肽越多,并形成低聚物,进一步聚集形成纤维结构。纤维化过程中,蛋白质二级结构的变化非常显著,表现为 α -螺旋结构减少, β -折叠片结构增多。在对阿尔茨海默氏症淀粉样纤维的结构研究中,在不同的溶剂

和条件下检测淀粉样蛋白- β 肽,结果证实蛋白质构象发生了从 α -螺旋或无规卷曲到 β -折叠结构的转换^[50]。在植物蛋白源的纤维化自组装中,也有相同的现象,当加热至 24 h 时,鹰嘴豆、豇豆和扁豆的 β -折叠含量分别增加了 169%,144% 和 137%。除二级结构外,蛋白质的三、四级结构在纤维化过程中也会发生改变。Li 等^[3]在对豆类蛋白自组装行为的研究中发现,将 3 种豆类蛋白(鹰嘴豆、豇豆、扁豆)加热 0.5 h 后,芳香族基团的椭圆度明显下降,这表明蛋白质的三级和四级构象发生了相当大的变化;此外,加热 1 h 后,豇豆蛋白的表面疏水性先升高后降低,说明在加热初期,蛋白质的疏水基团暴露,三级结构发生变化,持续加热后,疏水基团整合到纤维结构的组装中,表面疏水性下降。

5 纤维化自组装对蛋白质功能性质的影响

蛋白质发生纤维化自组装后,可以改善其本身的一些性质,并弥补原蛋白质或肽的缺陷。例如胶凝性、黏弹性、乳化性、起泡性、抗氧化性等。

5.1 胶凝性

蛋白质纤维结构较高的纵横比可以赋予蛋白溶液更高的胶凝性并改变其流变行为。胶凝性的改善可能是缠绕的致密网络结构的形成和蛋白质流体动力学直径的增加引起的^[51]。Ge 等^[18]研究了大熊猫豆蛋白纤维对热诱导豌豆分离蛋白凝胶结构和流变特性的影响,发现大熊猫豆蛋白纤维的掺入显著增强了豌豆分离蛋白凝胶的强度。Zhang 等^[52]也发现向米糠蛋白溶液中加入预制的米糠蛋白纤维,预制纤维的加入加速了凝胶形成的动力学,导致凝胶强度增加。

5.2 黏度

蛋白质纤维可以在很低的浓度下增加溶液的黏度,可以作为质构改进剂和增稠剂使用。纤维缠结形成高度密实的集体,可以抵抗沿剪切方向的流动。Huang 等^[21]将预先形成的米糠蛋白纤维加入到米糠蛋白溶液中,可使蛋白溶液黏度增加。Tang 等^[14]也发现在 80 °C、pH 2.0 的条件下加热 15 h 后形成的大豆蛋白纤维增加了大豆球蛋白分散体的黏度,降低了流动性指数。纤维的形态和蛋白质浓度是影响其黏度的重要因素。以蚕豆、蚕豆

组分 11S 和蚕豆组分 7S 为原料制备的直的纤维与由绿豆蛋白在相同 pH 值和浓度下制成的弯曲纤维的比较表明,在低剪切速率(0.1/s)下,绿豆蛋白纤维的黏度分别是蚕豆组分 7S、11S、蚕豆蛋白的 6.3,3.5,1.7 倍;随着剪切速率的增加,所有纤维的黏度都有所下降,但弯曲的纤维仍具有初始优势^[41]。这与之前 Loveday 等^[53]对乳清蛋白纤维的研究结果相吻合,即在同一起来源、浓度、温度下,卷曲的纤维比更长、更直的纤维黏度更高。

5.3 乳化性

蛋白质是表面活性分子,可以作为乳化剂来稳定乳液体系。天然球状蛋白制备成的乳液很容易发生絮凝、聚结等一系列乳液失稳现象,但纤维化蛋白能在溶液中形成黏弹性界面,能够有效延缓乳液的失稳分层,在乳化性方面表现出优势。与天然蛋白质相比,纤维化蛋白由于纤维结构具有较高的纵横比而乳化效果更佳,因此它们目前被广泛用于制备高内相乳液^[54]。Wu 等^[15]在酸性环境下诱导纯化的豌豆蛋白纤维化自组装,结果显示豌豆蛋白纤维可以稳定内相体积分数高达 90% 的高内相乳液。Li 等^[4]也证实,纤维化可以大大提高蛋白质分散体的乳化性。纤维化蛋白优异的乳化能力为提高植物蛋白乳化性的方法提供了新的思路^[55]。

5.4 起泡性

稳定的气泡在许多食品中都很重要,例如面包和其他烘焙类产品、生奶油、冰淇淋、奶酪和蛋白酥饼等。稳定的气泡能够改变食品的质地和流变性,使其具有不同的口感和外观^[56]。蛋白质纤维溶液具有优异的起泡性及泡沫稳定性,这是由于在纤维化过程中,蛋白质水解成了小分子多肽,使得纤维分散液能够在界面处更快地吸附,从而提高了起泡性;泡沫稳定性的提高是由于纤维化蛋白可以形成高黏弹性的界面膜,界面膜的稳定性高,不易破裂。Li 等^[57]报道了蛋白质纤维化自组装对大豆蛋白纤维起泡性的影响,结果表明,纤维化大豆蛋白的起泡能力显著高于天然蛋白。Herneke^[41]的研究也表明,蚕豆、11S 和 7S 球状组分的纤维化蛋白比未纤维化蛋白的起泡性、起泡稳定性更佳。

5.5 抗氧化性

天然蛋白质单体的抗氧化活性较差,但其水

解过程中释放的多肽一般具有较好的抗氧化活性,蛋白质纤维化自组装的过程通常伴随着蛋白质单体的水解。研究表明,蛋白质纤维的结构单元(肽)有利于增强抗氧化活性^[58]。Tong 等^[5]的研究证实,纤维化蛋白的抗氧化活性高于非纤维化蛋白。Pang 等^[55]也得出了同样的结论,纤维化大米蛋白的抗氧化性高于天然蛋白质。这是由于蛋白质在酸和热的条件下,构象发生改变,并产生了多肽。

6 植物蛋白自组装纤维的应用现状

6.1 包装材料

蛋白质纤维可以制备成薄膜或可食用涂层应用于食品包装中,并赋予包装膜一定的机械强度和其它性能如抗氧化性。但到目前为止,通过自组装产生的基于蛋白质的薄膜主要集中在使用合成肽、天然动物来源的蛋白质如乳清蛋白来产生^[59]。基于植物蛋白的薄膜材料较少。Kamada 等^[60]通过控制大豆分离蛋白纳米级自组装,在纳米尺度上产生机械坚固的植物基膜;用这种方法生产的薄膜具有很高的光学透过率,以及与工程塑料相当的坚固的机械性能。

6.2 递送载体与营养保护

蛋白质纤维可以作为递送载体用于食品与制药工业中,这是由于蛋白质纤维具有均衡的氨基酸组成、生物相容性、较高的乳化性能、耐热性能以及优秀的成膜能力,能够很好的保护药物和敏感的生物活性分子。Tang 等^[61]采用米糠蛋白纤维和黄原胶共同稳定的乳液来制备鱼油微胶囊,与未纤维化米糠蛋白及未纤维化米糠蛋白与黄原胶的混合物制备的微胶囊相比,具有更好的封装和保护效果,模拟消化的结果也显示,含有米糠蛋白纤维和黄原胶的微胶囊对游离脂肪酸的控制释放更有利。

此外,由于纤维化蛋白具有优异的凝胶和乳化形成能力,可用于创建不同的封装系统,例如(微)凝胶和乳液,其可在加工和储存过程中保护环境敏感的营养物质和药物,同时可以用作潜在的抗氧化剂,延长食品的保质期^[62]。Yi 等^[63]将豌豆分离蛋白纤维用作纳米载体来封装、稳定和传递白藜芦醇(RES),很好地改善了白藜芦醇的水溶性、化学稳定性和体外生物活性。Zhao 等^[64]研究了

大豆分离蛋白纤维和甜菜碱的相互作用,结果表明,大豆分离蛋白纤维的添加改善了甜菜碱的热稳定性,并减少了甜菜碱的褪色,这一研究为天然色素在食品领域中的进一步应用开辟了新路径。

6.3 铁补充剂

传统的铁强化剂往往会引起不良的感官变化,破坏产品的内在稳定性。蛋白质纤维表现出很强的金属结合能力,可用来制备铁补充剂。Xiang等^[69]研究了由大豆分离蛋白、 β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白制成的大豆蛋白纤维的铁还原性,并探索了它们在铁强化中的应用,结果显示3种蛋白质纤维都显示出铁的还原性。可还原性用于生成纤维-铁纳米颗粒复合材料,所得的纤维-铁纳米颗粒杂化物在各种液体食品中都显示出高分散性,而没有明显的颜色变化。以植物为基础的富含铁的蛋白质纤维可以用来改善素食或纯素食者的铁摄入量。因此,植物源蛋白纤维的添加可能成为开发铁强化食品的可行方法。

6.4 增稠剂

纤维化蛋白可以用作增稠剂,作为功能成分应用到食品产品中,如饮料和火腿食品等高糖分和高脂肪的产品,在代替多糖成分和脂肪成分起到增稠作用的同时,降低热量,可以为低升糖指数的食品开发提供一些思路。Alavi等^[2]分别使用天然蛋清蛋白和纤维化蛋清蛋白制备酥皮面糊,结果发现由纤维化蛋清蛋白制备的面糊表现出流动的稠度,且成型后可以保持其形状,这是由于由纤维化蛋清蛋白制备的面糊中纤维链互相缠结;天然蛋清蛋白制备的面糊虽然能表现出流动的稠度,但无法保持其形状。这项研究表明纤维化蛋清蛋白可用作充气糖果产品中的多功能增稠剂和质地改善剂。虽然暂未有使用植物蛋白纤维作为增稠剂的研究,但植物蛋白纤维具有极大的可行性,这为食品产业中控制配方食品的质地和稠度提供了新的思路。

6.5 生物传感器

蛋白质纤维可以在食品检测方面发挥一定作用。它既可以用作传感器来检测食品中金属离子、病原微生物和葡萄糖的存在;还可以使用带有抗体的自组装微生物蛋白的生物传感器快速检测食品中的病原体。例如,一些研究人员利用乳清蛋白

纤维开发了一种电化学葡萄糖传感器,用于测量啤酒和葡萄酒等糖发酵工业中的葡萄糖水平^[66]。该技术目前多使用研究较为广泛的乳清蛋白和牛胰岛素纤维来开展^[67-68]。对植物蛋白纤维传感器的研究较少,需要我们在今后进行大量研究。

6.6 表面吸附剂

蛋白质纤维在表面吸附剂方面也有很大的应用潜力,可以快速高效的去除污染物。这是由于它们能够通过静电相互作用吸附不同的离子材料和污染物,以及由于其暴露的疏水区域而能够吸附疏水分子^[69]。Soon等^[70]通过绿色和可持续的工艺制备了由向日葵和花生蛋白纤维组成的植物淀粉样碳膜,用于去除有毒重金属污染物,达到可饮用标准。富含蛋白质的向日葵和花生粕可作为低成本的原料,从中提取、分离蛋白质,并自组装成功能性纤维以去除重金属。这些纤维被结合到混合碳/淀粉样膜中,用于过滤含Pt-、Cr-和Pb的水,以生产含<10 $\mu\text{g/L}$ 重金属的饮用水。该工艺流程简单、化学试剂使用量较低,很容易扩大规模,能够为低成本而高效的水处理技术提供一些依据。

7 结论与展望

蛋白质纤维化自组装是拓宽蛋白质在食品产业中应用的潜在方法,通过有目的控制纤维化的条件可以得到具有优异功能性质的植物纤维化蛋白,有望作为胶凝剂、乳化剂、递送载体等应用于食品工业中。但是,与动物蛋白相比,绿色可持续的植物蛋白纤维化尚未得到充分表征和研究,这需要在未来几年进行重点研究。现阶段针对植物蛋白纤维化自组装的相关研究仍处于实验室阶段,研究重点主要集中于探究纤维的形成条件和结构形貌,对于纤维化蛋白质的潜在利用价值还亟需进一步挖掘,此外,它在食品体系的稳定性以及其与食品其它组分之间的相互作用情况等方面的研究还很少,也有待于进一步探索。另一方面,尽管目前研究都证实通过体外自组装形成的植物蛋白纤维是普遍安全的,然而人们对于它们进入人体消化系统后的变化知之甚少,因此在大规模投入应用前,仍有必要对其进行毒理学评估,充分验证其安全性。

参 考 文 献

- [1] MOHAMMADIAN M, MADADLOU A. Technological functionality and biological properties of food protein nanofibrils formed by heating at acidic condition[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 75: 115–128.
- [2] ALAVI F, EMAM-DJOMEH Z, MOHAMMADIAN M, et al. Physico-chemical and foaming properties of nanofibrillated egg white protein and its functionality in meringue batter[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105554.
- [3] LI T, WANG L, ZHANG X X, et al. Assembly behavior, structural characterization and rheological properties of legume proteins based amyloid fibrils [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 111: 106396.
- [4] LI T, ZHOU J T, WU Q L, et al. Modifying functional properties of food amyloid-based nanostructures from rice glutelin[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133798.
- [5] TONG X H, CAO J, TIAN T, et al. Changes in structure, rheological property and antioxidant activity of soy protein isolate fibrils by ultrasound pretreatment and EGCG[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 122: 107084.
- [6] HU Y, HE C X, JIANG C J, et al. Complexation with whey protein fibrils and chitosan: A potential vehicle for curcumin with improved aqueous dispersion stability and enhanced antioxidant activity [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 104: 105729.
- [7] SERFERT Y, LAMPRECHT C, TAN C P, et al. Characterisation and use of β -lactoglobulin fibrils for microencapsulation of lipophilic ingredients and oxidative stability thereof[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 143: 53–61.
- [8] KARBASI M, SÁNCHEZ-FERRER A, ADAMCIK J, et al. Covalent β -lactoglobulin-maltodextrin amyloid fibril conjugate prepared by the Maillard reaction [J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128388.
- [9] VALENCIA G A, ZARE E N, MAKVANDI P, et al. Self-assembled carbohydrate polymers for food applications: A review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18(6): 2009–2024.
- [10] CHITI F, DOBSON C M. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: A summary of progress over the last decade[J]. Annual Review Biochemistry, 2017, 86(1): 27–68.
- [11] CAO Y, MEZZENGA R. Food protein amyloid fibrils: Origin, structure, formation, characterization, applications and health implications[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2019, 269: 334–356.
- [12] LIU J, TANG C H. Heat-induced fibril assembly of vicilin at pH 2.0: Reaction kinetics, influence of ionic strength and protein concentration, and molecular mechanism[J]. Food Research International, 2013, 51(2): 621–632.
- [13] WANG Y J, SHEN Y T, QI G Y, et al. Formation and physicochemical properties of amyloid fibrils from soy protein[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149: 609–616.
- [14] TANG C H, WANG C S. 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.
- [15] WU H Q, NIAN Y Q, LIU Y H, et al. Formation of pea protein amyloid fibrils to stabilize high internal phase emulsions for encapsulation of lutein [J]. Journal of Functional Foods, 2022, 94: 105110.
- [16] HERNEKE A, LENDEL C, JOHANSSON D, et al. Protein nanofibrils for sustainable food – characterization and comparison of fibrils from a broad range of plant protein isolates[J]. ACS Food Science & Technology, 2021, 1(5): 854–864.
- [17] JO Y J, HUANG W J, CHEN L Y. Fabrication and characterization of lentil protein gels from fibrillar aggregates and the gelling mechanism study [J]. Food & Function, 2020, 11(11): 10114–10125.
- [18] GE J, SUN C X, CHANG Y Y, et al. Heat-induced pea protein isolate gels reinforced by panda bean protein amyloid fibrils: Gelling properties and formation mechanism[J]. Food Research International, 2022, 162: 112053.
- [19] ZHOU J Z, ZHANG H, YANG H Y, et al. Formation of heat-induced cottonseed congossypin (7S) fibrils at pH 2.0[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(10): 2009–2015.
- [20] JOSEFSSON L, YE X C, BRETT C J, et al. Potato protein nanofibrils produced from a starch indus-

- try sidestream[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2019, 8(2): 1058–1067.
- [21] HUANG L H, ZHANG Y H, LI H B. Self-assembly of rice bran globulin fibrils in electrostatic screening: Nanostructure and gels[J]. Journal of Nanomaterials, 2014, 2014(1): 951240.
- [22] ZHANG Y H, HUANG L H. Effect of heat-induced formation of rice bran protein fibrils on morphological structure and physicochemical properties in solutions and gels[J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(5): 1417–1423.
- [23] LAMBRECHT M A, MONGE-MORERA M, GODEFROIDT T, et al. Hydrothermal treatments cause wheat gluten-derived peptides to form amyloid-like fibrils[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(6): 1963–1974.
- [24] ROBERTSON A G. Formation and characterization of nanofibrils from peanut protein[D]. Athens: University of Georgia, 2019.
- [25] SUN C X, XIONG Z Q, ZHANG J W, et al. Environmental parameters-dependent self-assembling behaviors of α -zein in aqueous ethanol solution studied by atomic force microscopy [J]. Food Chemistry, 2020, 331: 127349.
- [26] ADAMCIK J, MEZZENGA R. Proteins fibrils from a polymer physics perspective[J]. Macromolecules, 2012, 45(3): 1137–1150.
- [27] GILLAM J, MACPHEE C. Modelling amyloid fibril formation kinetics: mechanisms of nucleation and growth[J]. Journal of Physics: Condensed Matter, 2013, 25(37): 373101.
- [28] 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.
- [29] KROES-NIJBOER A, 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.
- [30] ZAMANI S. Formation and characterization of legume protein amyloid fibrils [D]. Vancouver: University of British Columbia, 2021.
- [31] XIA W J, ZHANG H, CHEN J Y, et al. Formation of amyloid fibrils from soy protein hydrolysate: Effects of selective proteolysis on β -conglycinin[J]. Food Research International, 2017, 100: 268–276.
- [32] VANDENAKKER C C, ENGEL M F, VELIKOV K P, et al. Morphology and persistence length of amyloid fibrils are correlated to peptide molecular structure[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(45): 18030–18033.
- [33] VEERMAN C, DE SCHIFFART G, SAGIS L M, et al. Irreversible self-assembly of ovalbumin into fibrils and the resulting network rheology[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 33(1/2/3): 121–127.
- [34] WANG Y R, YANG Q, DU Y N, et al. Evaluation of the impact of stirring on the formation, structural changes and rheological properties of ovalbumin fibrils[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 128: 107615.
- [35] 刘刚, 黄庆荣, 石彤非, 等. 物化因素对燕麦球蛋白纳米纤维形成的影响[J]. 食品工业科技, 2011, 32(9): 160–163.
- LIU G, HUANG Q R, SHI T F, et al. Effects of physical and chemical factors on the formation of oat globulin nanofibers[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(9): 160–163.
- [36] TONG X H, CAO J, TIAN T, et al. Changes in structure, rheological properties and antioxidant activity of soy protein isolate fibrils by ultrasound pretreatment and EGCG[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 122: 107084.
- [37] HU A N, LI L. Effects of ultrasound pretreatment on functional property, antioxidant activity, and digestibility of soy protein isolate nanofibrils[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 90: 106193.
- [38] CHATANI E, LEE Y H, YAGI H, et al. Ultrasonication-dependent production and breakdown lead to minimum-sized amyloid fibrils[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009, 106(27): 11119–11124.
- [39] HETTIARACHCHI C A, MELTON L D, GERARD J A, et al. Formation of β -lactoglobulin nanofibrils by microwave heating gives a peptide composition different from conventional heating [J]. Biomacromolecules, 2012, 13(9): 2868–2880.
- [40] ORENDAY - ORTIZ J M, MORRIS C F. Microwave fixation enhances gluten fibril formation in wheat endosperm[J]. Cereal Chemistry, 2018, 95(4): 536–542.
- [41] HERNEKE A. Plant protein nanofibrils: Characteris-

- ing properties for future food[J]. *Foods*, 2022, 10(8): 1967.
- [42] WAN Y L, GUO S T. The formation and disaggregation of soy protein isolate fibril: Effects of pH[J]. *Food Biophysics*, 2019, 14(2): 164–172.
- [43] VEERMAN C, RUIS H, SAGIS L M, et al. Effect of electrostatic interactions on the percolation concentration of fibrillar β -lactoglobulin gels [J]. *Biomacromolecules*, 2002, 3(4): 869–873.
- [44] SONG Y J, ZHANG X X, LI T, et al. Investigating the effects of ion strength on amyloid fibril formation of rice proteins[J]. *Food Bioscience*, 2023, 51: 102068.
- [45] VERNAGLIA B A, HUANG J, CLARK E D. Guanidine hydrochloride can induce amyloid fibril formation from hen egg-white lysozyme[J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(4): 1362–1370.
- [46] HAMADA D, DOBSON C M. A kinetic study of β -lactoglobulin amyloid fibril formation promoted by urea[J]. *Protein Science*, 2002, 11(10): 2417–2426.
- [47] AN B Z, WU X C, LI M J, et al. Hydrophobicity-modulating self-assembled morphologies of α -zein in aqueous ethanol[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2016, 51(12): 2621–2629.
- [48] LARA C, GOURDIN-BERTIN S, ADAMCIK J, et al. Self-assembly of ovalbumin into amyloid and non-amyloid fibrils[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(12): 4213–4221.
- [49] WANG Y J, SHEN Y T, QI G Y, et al. Formation and physicochemical properties of amyloid fibrils from soy protein[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 149: 609–616.
- [50] SERPELL L C. Alzheimer's amyloid fibrils: Structure and assembly[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2000, 1502(1): 16–30.
- [51] WEI Z H, CHEN Y S, WIJAYA W, et al. Hydrogels assembled from ovotransferrin fibrils and xanthan gum as dihydromyricetin delivery vehicles [J]. *Food & Function*, 2020, 11: 1478–1488.
- [52] ZHANG Y H, HUANG L H. Effect of heat-induced formation of rice bran protein fibrils on morphological structure and physicochemical properties in solutions and gels[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2014, 23(5): 1417–1423.
- [53] LOVEDAY S, WANG X, RAO M, et al. Tuning the properties of β -lactoglobulin nanofibrils with pH, NaCl and CaCl_2 [J]. *International Dairy Journal*, 2010, 20(9): 571–579.
- [54] WEI Z H, CHENG J W, HUANG Q R. Food-grade Pickering emulsions stabilized by ovotransferrin fibrils [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 94: 592–602.
- [55] PANG S X, SHAO P, SUN Q J, et al. Relationship between the emulsifying properties and formation time of rice bran protein fibrils[J]. *LWT*, 2020, 122: 108985.
- [56] MURRAY B S. Recent developments in food foams [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2020, 50: 101394.
- [57] LI X Y, LI G Y, ZENG Q Z, et al. The formation of soy protein fibrils-chitin nanowhisker complex coacervates: Relationship to mixed foam stability[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 652: 129783.
- [58] MOHAMMADIAN M, MADADLOU A. Characterization of fibrillated antioxidant whey protein hydrolysate and comparison with fibrillated protein solution[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 52: 221–230.
- [59] YE X C, JUNEL K, GAÄLLSTEDT M, et al. Protein/protein nanocomposite based on whey protein nanofibrils in a whey protein matrix[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(4): 5462–5469.
- [60] KAMADA A, RODRIGUEZ-GARCIA M, RUGGERI F S, et al. Controlled self-assembly of plant proteins into high-performance multifunctional nanostructured films[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 1–10.
- [61] TANG W T, PANG S X, LUO Y X, et al. Improved protective and controlled releasing effect of fish oil microcapsules with rice bran protein fibrils and xanthan gum as wall materials[J]. *Food and Function*, 2022, 13(8): 4734–4747.
- [62] ZHANG M Z, ZHAO J, ZHENG J. Molecular understanding of a potential functional link between antimicrobial and amyloid peptides[J]. *Soft Matter*, 2014, 10(38): 7425–7451.
- [63] YI J, HE Q Y, PENG G F, et al. Improved water solubility, chemical stability, antioxidant and anticancer activity of resveratrol via nanoencapsulation with pea protein nanofibrils[J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 131942.
- [64] ZHAO H S, MA Z, JING P. Interaction of soy pro-

- tein isolate fibrils with betalain from red beetroots: Morphology, spectroscopic characteristics and thermal stability[J]. *Food Research International*, 2020, 135: 109289.
- [65] XIANG N, WU S H, WEI Z H, et al. Characterization of iron reducibility of soy protein amyloid fibrils and their applications in iron fortification[J]. *Food Chemistry*, 2021, 353: 129420.
- [66] LEUNG W H, ZOU L, LO W H, et al. An Amyloid-fibril-based colorimetric nanosensor for rapid and sensitive chromium(VI) detection[J]. *Chemplus-chem*, 2013, 78(12): 1440-1445.
- [67] SASSO L, SUEI S, DOMIGAN L, et al. Versatile multi-functionalization of protein nanofibrils for biosensor applications[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(3): 1629-1634.
- [68] PILKINGTON S M, ROBERTS S J, MEADE S J, et al. Amyloid fibrils as a nanoscaffold for enzyme immobilization[J]. *Biotechnology Progress*, 2010, 26(1): 93-100.
- [69] BOLISETTY S, MEZZENGA R. Amyloid-carbon hybrid membranes for universal water purification[J]. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11(4): 365-371.
- [70] SOON W L, PEYDAYESH M, MEZZENGA R, et al. Plant-based amyloids from food waste for removal of heavy metals from contaminated water [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 445: 136513.

Research Progress on Fibrotic Self-assembly of Plant Protein Resource

Tang Ziwei, Ming Yu, Zhao Xinxin, Lin Xinzhuo, Wu Mangang, Wang Qingling*
(School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, Jiangsu)

Abstract Protein fibrils formed through self-assembly are expected to be used as a novel functional ingredient in food industry, on account of their abundant amino acids, straight morphology, and multi-level and multi-scale structures. The development and utilization of protein fibrils have become a research hotspot in the food field in recent years, notably the research on plant-derived protein self-assembled fibrils that are more in line with the needs of green and sustainable development has attracted considerable attention. In this paper, the formation mechanism and influencing factors of plant-derived protein fibrillation are introduced. Especially, the impact of fibrous self-assembly on the protein structure and techno-functional properties, as well as the application status and development prospects of protein fibrils in the food field are highlighted, with a view to provide a theoretical basis for the development and utilization of plant protein fibrils in the field of functional food.

Keywords plant protein; fibrillation; self-assembly; formation mechanism; functionality