

纤维诱导对乳清浓缩蛋白起泡性的改善作用分析

徐红华 谭俊艳 谢明明 丁瑞 关琛 王欣

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 纤维诱导对乳清浓缩蛋白(WPC)起泡性具有明显的改善作用。通过向乳清浓缩蛋白中添加一定量成熟的纤维,研究热处理过程中纤维诱导对乳清浓缩蛋白起泡性的影响。结果发现,纤维诱导的乳清浓缩蛋白起泡性远高于乳清浓缩蛋白自发形成纤维的起泡性。在诱导过程中,纤维可以快速提高乳清浓缩蛋白的起泡性,尤其在诱导前期(0~2 h);纤维诱导乳清浓缩蛋白1 h和2 h的起泡能力分别是乳清浓缩蛋白自发形成纤维的1.36倍和1.41倍。成熟纤维可快速诱导乳清浓缩蛋白形成纤维,提高聚合速率并缩短纤维形成时间。同时,聚合驱动力也在诱导前期(0~2 h)快速变化,加速纤维形成。

关键词: 乳清浓缩蛋白;纤维;起泡性;热处理

中图分类号: TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)08-0353-07

Improving Foaming Properties of Whey Protein Concentrate Induced by Fibrils

XU Honghua TAN Junyan XIE Mingming DING Rui GUAN Chen WANG Xin

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The foaming properties of whey protein concentrate induced by mature fibrils had obvious improvement. The foaming properties of whey protein concentrate by adding an amount of mature fibrils during heat treatment was investigated. The results showed that the foaming property of whey protein concentrate induced by mature fibrils was much higher than that of whey protein concentrate spontaneous fibrillation. In addition, mature fibrils could rapidly improve the foaming properties of whey protein concentrate during the induction process, especially in the early stage (0~2 h). The foaming ability of whey protein concentrate induced by mature fibrils heated for 1 h and 2 h was 1.36 and 1.41 times than that of whey protein concentrate spontaneous fibrillation, respectively. The increase of the foaming ability of whey protein concentrate induced by mature fibrils was increased by 32.35%, compared with the increase of the foaming ability of whey protein concentrate after heated for 10 h. The difference in whey protein concentrate fibrillation capabilities may be related to the two methods of induction and spontaneous processing. Mature fibrils could accelerate whey protein concentrate fibrillation, increase the rate of polymerization and reduce the time of fibril formation. Meanwhile, the driving aggregation force of whey protein concentrate induced by mature fibrils was also changed rapidly during the early stage (0~2 h) to accelerate the formation of fibrils, compared with the spontaneous formation of whey protein concentrate.

Key words: whey protein concentrate; fibrils; foaming properties; heat treatment

0 引言

乳清蛋白经常作为发泡剂应用于蛋白糖饼、蛋糕、人造奶油和发酵面包等发泡性食品中。在低pH值(小于2.5)、低离子强度、高温长时间加热条件下,许多蛋白质能够自组装形成长的、有分

支/无分支、半柔性淀粉样纤维^[1],如乳清浓缩蛋白(WPC)^[2-3]、 β -乳球蛋白^[4-5]、大豆蛋白^[6]、牛血清白蛋白^[7]和溶菌酶^[8]。由于其较高的纵横比(长度与直径比值),纤维状聚合物可被用作增稠剂、胶凝剂^[9-10]和乳化稳定剂^[11-12]。在众多的性质中,蛋白纤维聚合物起泡性与泡沫稳定性远优

收稿日期:2018-03-02 修回日期:2018-03-25

基金项目:国家自然科学基金项目(31471682)

作者简介:徐红华(1969—),女,教授,博士生导师,主要从事食品科学研究,E-mail: xhh3161@126.com

于蛋白质的常规聚合物^[13]。近年来研究发现,成熟纤维还可以促进蛋白质纤维化作用^[14]。KREBS等^[15]发现了成熟纤维加入到蛋白溶液中可加速形成母鸡溶菌酶纤维,并形成无分枝的致密网状结构。然而,关于纤维诱导蛋白成纤维的研究主要集中在聚合机理以及形成条件上,缺乏功能性质的研究。而纤维诱导蛋白形成的纤维化作用与其非诱导情况下自发形成的纤维作用,在功能方面是否存在差异尚缺乏研究。因此,本文采用乳清浓缩蛋白中加入一定量的成熟纤维,比较纤维诱导乳清浓缩蛋白成纤维与乳清浓缩蛋白自发形成纤维过程中起泡性的差异,以期对乳清浓缩蛋白纳米纤维的应用提供新的参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

主要材料有:乳清浓缩蛋白 WPC-80(美国 HILMA 公司);硫黄素 T、8-苯氨基-1-萘磺酸(ANS)(Sigma 公司);DTNB(Merck 公司);其他试剂均为分析纯。

主要仪器有:KDN-102C 型半自动定氮仪(上海纤检仪器有限公司);Allegra64R centrifuge 型离心机(德国 BECKMAN 公司);DK-98-II A 型恒温磁力水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);F-4500 型荧光分光光度计(日本日立公司);DELTA320 型 pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司);UV-240IPC 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);DS-1 型高速组织捣碎机(上海精科实业有限公司);JEM-1200EX 型透射电子显微镜(日本日立公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备

乳清浓缩蛋白自发形成纤维(WPC 自发):按照前期研究的制备方法^[2-3],取 4.00 g 乳清浓缩蛋白 WPC-80 溶于去离子水中,用 6 mol/L HCl 调节溶液的 pH 值至 2.0 并定容至 100 mL,16 000 g、4℃ 离心 20 min,取中间清液,利用凯氏定氮法测定蛋白含量,随即用 pH 值 2.0 去离子水(用 6 mol/L HCl 调节去离子水的 pH 值至 2.0)稀释蛋白质质量分数至 2.0%,90℃ 水浴加热 10 h,取样并 4℃ 冰箱保存。自发形成纤维过程中每隔 1 h 取样(0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 h)并 4℃ 冰箱保存。2.0% 乳清浓缩蛋白溶液在 pH 值 2.0、90℃ 水浴加热 10 h,样品为成熟纤维。

纤维诱导乳清浓缩蛋白形成纤维(纤维诱导 WPC):上述制备的 2.0% 乳清浓缩蛋白溶液中加入成熟纤维(纤维与乳清浓缩蛋白混合质量比为 1:3,

蛋白终质量分数为 2.0%),90℃ 水浴加热(0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 h),取样并 4℃ 冰箱保存。

乳清浓缩蛋白自发形成空白样(WPC 空白):上述制备的 2.0% 乳清浓缩蛋白溶液中加入 pH 值 2.0 去离子水(乳清浓缩蛋白与 pH 值 2.0 去离子水混合体积比为 1:3),90℃ 水浴加热(0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 h),取样并 4℃ 冰箱保存。

纤维诱导乳清浓缩蛋白空白样(纤维空白):上述制备的 2.0% 纤维溶液中加入 pH 值 2.0 去离子水(纤维与 pH 值 2.0 去离子水混合体积比为 1:3),90℃ 水浴加热(0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 h),取样并 4℃ 冰箱保存。

1.2.2 Th T 荧光分析

参照 AKKERMANS 等^[16]的方法并加以改进,用含有 0.2 mol/L 的 NaCl、0.01 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 值 7.0)将硫黄素 T(Th T)稀释成质量浓度为 800 mg/L 的溶液。将溶液用 0.2 μm 的滤膜过滤,除去不溶的 Th T 颗粒,即得到 Th T 储备液。将储备液置于包有铝箔的棕色试剂瓶中,4℃ 冰箱保存。测定时将 Th T 储备液用含有 0.2 mol/L 的 NaCl、0.01 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 值 7.0)稀释 50 倍,即得到 Th T 工作液;取 1 mL 样品加入 10 mL 的 Th T 工作液中混匀,然后于荧光分光光度计下比色,在激发波长为 460 nm,发射波长为 490 nm 以及狭缝宽度分别为 5 nm 和 10 nm 的条件下,测定 Th T 结合物的荧光强度。

纤维诱导过程中纤维自身 Th T 荧光强度也会变化,因此,纤维诱导过程中将去除纤维自身的影响。

纤维诱导乳清浓缩蛋白形成纤维过程中乳清浓缩蛋白的 Th T 荧光强度计算公式为

$$T = T_1 - T_2 \quad (1)$$

式中 T_1 ——纤维诱导 WPC 过程中的 Th T 荧光强度

T_2 ——纤维热处理过程中自身的 Th T 荧光强度

为了保证蛋白终浓度一致,乳清浓缩蛋白自发形成纤维过程中 Th T 荧光强度计算公式为

$$T = T_3 - T_4 \quad (2)$$

式中 T_3 ——WPC 自发形成纤维过程中的 Th T 荧光强度

T_4 ——WPC 热处理过程中自身的 Th T 荧光强度

1.2.3 蛋白聚合率

取 20 mL 加热不同时间(0、1、2、3、5、8、10 h)蛋白质量分数为 2.0% 的样品溶液移入 45 mL 的离心

管中,然后在 16 000 g 离心 20 min (4℃),弃去上清液,取离心管底部沉淀,利用凯氏定氮方法测定不同热处理时间的蛋白质质量浓度。蛋白聚合率计算公式为

$$C = C_t / C_0 \times 100\% \quad (3)$$

式中 C ——蛋白聚合率, %

C_0 ——0 h 时样品蛋白质质量浓度, mg/mL

C_t —— t 时刻样品蛋白质质量浓度, mg/mL

纤维诱导乳清浓缩蛋白形成纤维过程中乳清浓缩蛋白的蛋白聚合率计算公式为

$$C = C_1 - C_2 \quad (4)$$

式中 C_1 ——纤维诱导 WPC 过程中的蛋白聚合率

C_2 ——纤维热处理过程中自身的蛋白聚合率

为了保证蛋白终浓度一致,乳清浓缩蛋白自发形成纤维过程中蛋白聚合率计算公式为

$$C = C_3 - C_4 \quad (5)$$

式中 C_3 ——WPC 自发形成纤维过程中的蛋白聚合率

C_4 ——WPC 热处理过程中自身的蛋白聚合率

1.2.4 表面疏水性

参照相关 ANS (8-苯氨基-1-萘磺酸) 荧光探针法测定^[17],并加以改进。用 0.01 mol/L 的磷酸缓冲液将不同热处理时间得到的蛋白溶液质量分数分别稀释为 0.2%、0.1%、0.05% 和 0.025%。取已稀释后的蛋白溶液 6 mL,加入 20 μ L 的 8 mmol/L ANS 溶液,漩涡搅拌均匀,在室温 (20℃) 下避光 15 min,在激发波长 390 nm、发射波长 470 nm 和狭缝 5 nm 的条件下利用荧光分光光度计比色,测定荧光强度,以荧光强度为纵坐标,蛋白质溶液质量浓度为横坐标作图,初始斜率即为样品表面疏水性值。

纤维诱导乳清浓缩蛋白形成纤维过程中乳清浓缩蛋白的表面疏水性计算公式为

$$B = B_1 - B_2 \quad (6)$$

式中 B_1 ——纤维诱导 WPC 过程中的表面疏水性

B_2 ——纤维热处理过程中自身的表面疏水性

为了保证蛋白终浓度一致,乳清浓缩蛋白自发形成纤维过程中表面疏水性计算公式为

$$B = B_3 - B_4 \quad (7)$$

式中 B_3 ——WPC 自发形成纤维过程中的表面疏水性

B_4 ——WPC 热处理过程中自身的表面疏水性

1.2.5 游离巯基

参照 BEVARIDG 等^[18]的方法并加以改善。取 400 μ L 不同热处理后的样品 (20 mg/mL),加入至 5 mL 的 Tris - Gly 缓冲溶液 (0.086 mol/L Tris, 0.09 mol/L 甘氨酸, 0.004 mol/L 乙二胺四乙酸, pH

值 8.0 和 8 mol/L 尿素) 中,然后向其中加入 20 μ L 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) (DTNB) 试剂,振荡混匀,室温下静止 15 min,利用紫外分光光度计在 412 nm 波长下测定吸光度,以不加 DTNB 的溶液做空白调零。游离巯基浓度计算公式为

$$S = \frac{73.53A_{412}D}{C'} \quad (8)$$

式中 S ——游离巯基浓度, μ mol/L

A_{412} ——在 412 nm 下的吸光度,计算时可用平均值

C' ——固形物质量浓度, mg/mL

D ——稀释系数

纤维诱导乳清浓缩蛋白形成纤维过程中,乳清浓缩蛋白的游离巯基浓度计算公式为

$$S = S_1 - S_2 \quad (9)$$

式中 S_1 ——纤维诱导 WPC 过程中的游离巯基浓度

S_2 ——纤维热处理过程中自身的游离巯基浓度

为了保证蛋白终浓度一致,乳清浓缩蛋白自发形成纤维过程中游离巯基浓度计算公式为

$$S = S_3 - S_4 \quad (10)$$

式中 S_3 ——WPC 自发形成纤维过程中的游离巯基浓度

S_4 ——WPC 热处理过程中自身的游离巯基浓度

1.2.6 起泡性

参照 STIEGER 等^[19]的方法测定蛋白质溶液的起泡能力和起泡稳定性并加以改进。样品用 0.01 mol/L、pH 值 7.0 的磷酸缓冲液稀释至 0.15%,室温下用组织捣碎机 10 000 r/min 均质 1 min,立即测定搅打后样品的体积,再测定放置 30 min 后样品的体积,通过相对溢出量和静止后稳定的泡沫体积比评价样品的起泡能力和泡沫稳定性,具体计算方法为

$$E = V_0 / V_i \times 100\% \quad (11)$$

$$F = V_t / V_0 \times 100\% \quad (12)$$

式中 E ——相对溢出量, %

F ——泡沫稳定性, %

V_0 ——起泡 0 h 时的泡沫体积

V_t ——起泡 t 时间后的泡沫体积

V_i ——起泡前最初液体的体积

纤维诱导乳清浓缩蛋白形成纤维过程中乳清浓缩蛋白的相对溢出量、泡沫稳定性计算公式为

$$E = E_1 - E_2 \quad (13)$$

$$F = F_1 - F_2 \quad (14)$$

式中 E_1 、 F_1 ——纤维诱导 WPC 过程中的相对溢出量、泡沫稳定性

E_2, F_2 ——纤维热处理过程中自身的相对溢出量、泡沫稳定性

为了保证蛋白终浓度一致,乳清浓缩蛋白自发形成纤维过程中相对溢出量、泡沫稳定性计算公式为

$$E = E_3 - E_4 \quad (15)$$

$$F = F_3 - F_4 \quad (16)$$

式中 E_3, F_3 ——WPC 自发形成纤维过程中的相对溢出量、泡沫稳定性

E_4, F_4 ——WPC 热处理过程中自身的相对溢出量、泡沫稳定性

1.2.7 透射电镜

参照 KREBS 等^[20]的方法,使用透射电子显微镜(TEM)测定样品的微观结构。将蛋白溶液质量浓度用去离子水稀释为 1 mg/mL,将稀释液滴于透射电镜专用铜网上吸附 20 min,然后把铜网移入滤纸上并干燥 30 min,采用 100 kV 电压下用透射电镜进行分析。

1.2.8 统计分析

试验数据采用 Origin 8.6 进行作图和 SPSS 16.0 软件对试验数据进行 ANOVA 方差分析,检验差异显著性($P < 0.05$)。数据均以平均值 \pm 标准差表示($n = 3$)。

2 结果与讨论

2.1 起泡性

2.1.1 相对溢出量

本课题组前期研究已得出 WPC 自发形成纤维聚合物的起泡能力和起泡稳定性是其常规聚合物的 2.40 倍和 2.00 倍^[13]。OBOROCEANU 等^[21]研究也得出同样的结果,WPI 自发形成纤维状聚合物的起泡性和泡沫稳定性优于 WPI 常规聚合物。由图 1 可知,纤维诱导的 WPC 起泡能力远高于其自发形成纤维的起泡能力。纤维诱导乳清浓缩蛋白 1 h 和 2 h 的起泡能力分别是乳清浓缩蛋白自发形成纤维的 1.36 倍和 1.41 倍。热处理 10 h,纤维诱导 WPC 起泡能力增量较 WPC 自发形成提高了 32.35%。其次,在诱导过程中,纤维可以快速提高 WPC 的起泡能力,尤其在诱导前期(0~2 h)。纤维诱导 WPC 2 h 起泡能力已经略高于 WPC 自发形成纤维(10 h)的起泡能力,其变化量占整个诱导过程增量的 80%,是 WPC 自发热处理 2 h 增量的 6 倍。结果说明纤维诱导的 WPC 起泡能力强于 WPC 自发形成纤维的起泡能力,并且可短时快速提高 WPC 的起泡能力。

2.1.2 泡沫稳定性

由图 2 可知,纤维诱导的 WPC 泡沫稳定性较

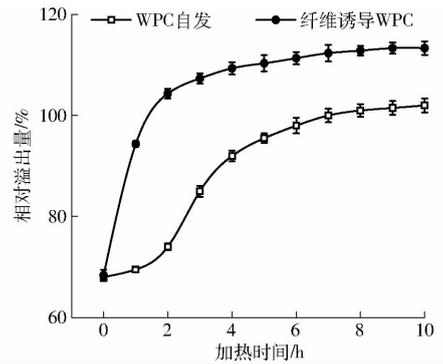


图 1 WPC 与混入纤维的 WPC 热处理过程中起泡能力的变化

Fig. 1 Changes of foaming capacity of WPC and WPC mixed fibrils at different heating times

WPC 自发形成纤维的泡沫稳定性略有提高。但在诱导过程中,纤维仍具有快速提高 WPC 泡沫稳定性的能力(诱导前期 0~2 h);纤维诱导 WPC 2 h 的泡沫稳定性就已高于 WPC 自发形成纤维(10 h)的泡沫稳定性,其变化量占整个诱导过程增量的 79.24%,是 WPC 自发热处理 2 h 增量的 6.11 倍。结果说明混入成熟纤维可快速提高 WPC 的泡沫稳定性。纤维诱导的 WPC 起泡性高于非诱导情况下 WPC 自发形成的起泡性,可能是因为诱导与自发两种处理手段导致 WPC 自组装聚合形成的纤维能力不同。

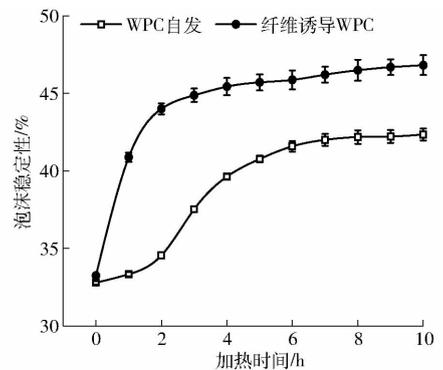


图 2 WPC 与混入纤维的 WPC 热处理过程中泡沫稳定性的变化

Fig. 2 Changes of foaming stability of WPC and WPC mixed fibrils at different heating times

2.2 Th T 荧光分析

自发和纤维诱导的 WPC 在 pH 值 2.0、90℃ 热处理条件下,逐渐聚合形成纤维;此过程中 β -折叠数量不断增加,硫磺素 T(Th T)是一种能与叠加的 β -折叠特异性结合的染料,结合后的荧光强度在一定范围内随着 β -折叠数量的增加而增强^[22],因此,通常用此方法间接反映纤维形成情况。纤维诱导的 WPC 在热处理过程中荧光强度明显高于 WPC 自发形成(图 3a)。在诱导过程中,纤维诱导的 WPC 荧

光强度增量略高于 WPC 自发形成,也有文献得出相同结果^[14,23]。但二者纤维形成速率存在差异(图 3b,图中不同字母表示组内有显著性差异($P < 0.05$))。WPC 自发形成纤维过程中荧光强度变化量主要集中在 2~5 h 内;而纤维诱导的 WPC 荧光强度变化量主要集中在诱导前 2 h。纤维诱导 WPC

2 h 的荧光强度已接近 WPC 自发热处理 10 h 的荧光强度,其变化量占整个诱导过程增量的 80.56%,是 WPC 自发热处理 2 h 增量的 12.04 倍。由此结果可知较 WPC 自发形成纤维,成熟纤维的混入可快速诱导 WPC 形成纤维,缩短纤维形成时间,改善 WPC 起泡性。

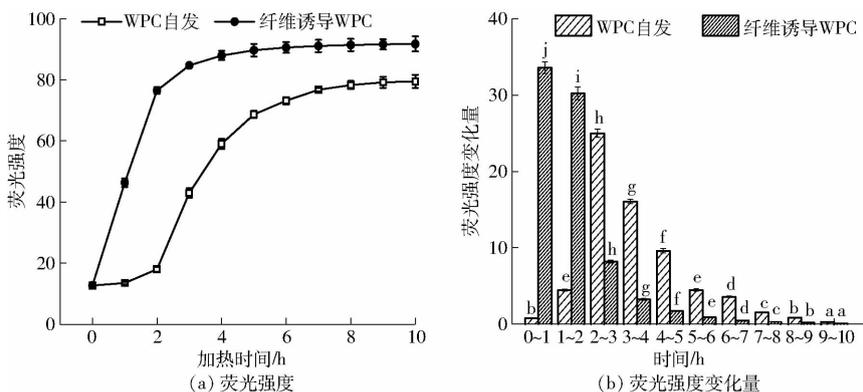


图 3 WPC 与混入纤维的 WPC 热处理过程中 Th T 荧光强度的变化

Fig. 3 Changes of Th T fluorescence intensity of WPC and WPC mixed fibrils at different heating times

2.3 透射电镜

纤维诱导 WPC 与 WPC 自发形成纤维过程中其微观形态存在差异,微观形态差异可反映聚合能力的强弱(图 4)。WPC 自发形成纤维过程中,球形蛋白颗粒不断聚合形成低聚物,最终在热处理 10 h 时形成细长的、有分支的成熟纤维(图 4c)。而纤维诱

导 2 h 时就已形成纤维(无低聚物存在),纤维形成时间由 10 h 缩短至 2 h。在 pH 值 2.0、90℃ 热处理条件下,纤维诱导 WPC 形成纤维的微观形态与 WPC 自发形成纤维的微观形态无明显差异,均形成有分支的棒状结构,但纤维可以加速诱导 WPC 形成纤维,缩短纤维形成时间。

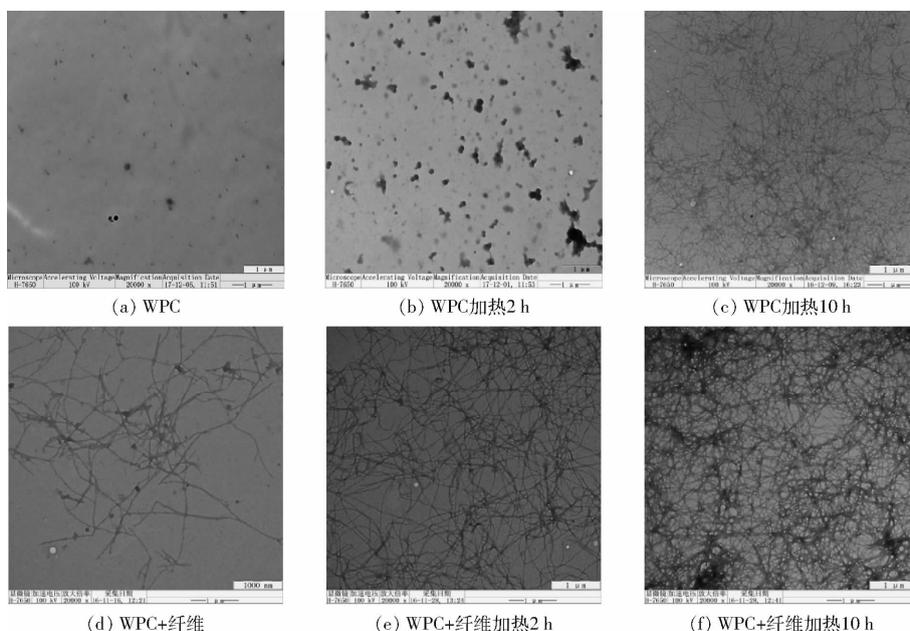


图 4 WPC 与混入纤维的 WPC 热处理过程中形成聚合物的透射电镜图

Fig. 4 Transmission electron micrographs of WPC and WPC mixed fibrils

2.4 蛋白聚合率

为了定量比较纤维诱导和自发形成纤维过程中形成的 WPC 纤维量,研究了混入纤维的 WPC 在热处理过程中蛋白聚合率(图 5)。由图可知,纤维诱导的 WPC 在热处理过程中蛋白聚合率明

显高于 WPC 自发形成。热处理 10 h,纤维诱导的 WPC 蛋白聚合率变化量较 WPC 自发形成提高了 33.79%。同时在诱导过程中,纤维诱导 WPC 2 h 的蛋白聚合率接近 WPC 自发热处理 10 h 的蛋白聚合率,其变化量占整个诱导过程变化量的

69.10%,是WPC自发热处理2 h变化量的3.59倍。由此可知较WPC自发成纤维,混入成熟纤维可以快速诱导WPC形成纤维,并且提高纤维量,从而提高了WPC的起泡性。

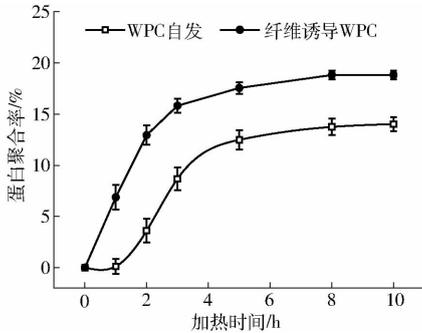


图5 WPC与混入纤维的WPC热处理过程中蛋白聚合率的变化

Fig.5 Changes of protein polymerization rate of WPC and WPC mixed fibrils

2.5 聚合驱动力

蛋白质在一定条件下加热通过某些驱动力而发生聚合,这些驱动力包括共价作用和非共价作用。蛋白质在常规pH值条件下加热主要通过共价作用

(巯基-二硫键的交换作用)相互聚合,而在酸性pH值(远离等电点)条件下加热,蛋白质主要通过疏水作用、氢键、范德华力等非共价作用聚合形成纤维状聚合物。WPC自发和纤维诱导的WPC聚合过程中主要驱动力的差异,主要是表面疏水性和游离巯基浓度的变化。纤维诱导的WPC与WPC自发形成纤维过程中聚合驱动力的变化趋势一致,表面疏水性均呈现先上升后下降的趋势(图6a)。但纤维诱导过程中表面疏水性变化主要集中在诱导0~1 h内,其变化量占整个诱导过程增量的74.78%,是WPC自发形成变化量的1.32倍。纤维诱导的WPC与WPC自发形成纤维过程中游离巯基含量均缓慢降低^[24](图6b)。但纤维诱导的WPC游离巯基变化量同样在诱导0~1 h内最大,其变化量占整个诱导过程变化量的36.93%,是WPC自发形成变化量的2.86倍。从以上结果可知,纤维诱导WPC形成纤维与WPC自发形成纤维过程中,表面疏水性是主要驱动力,二硫键作用很小^[3,25]。同时,较WPC自发形成纤维,纤维诱导过程中的聚合驱动力可在短时间内(0~2 h)快速发生变化,加速纤维的形成。

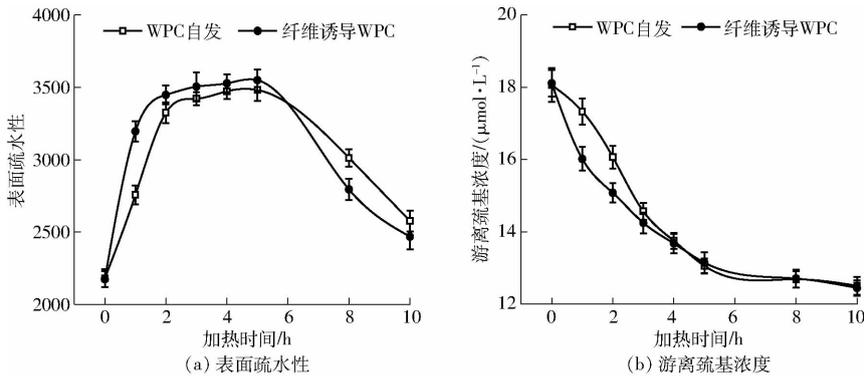


图6 WPC与混入纤维的WPC热处理过程中聚合驱动力的变化

Fig.6 Changes of driving aggregation force of WPC and WPC mixed fibrils

3 结论

(1)与乳清浓缩蛋白自发形成纤维相比,纤维诱导的乳清浓缩蛋白在热处理过程中可显著提高乳清浓缩蛋白的起泡性。

(2)纤维还具有短时快速提高乳清浓缩蛋白

起泡性的能力,尤其在诱导前期(0~2 h)。这是因为诱导与自发两种处理手段导致乳清浓缩蛋白自组装聚合形成的纤维能力不同所致。纤维可快速诱导乳清浓缩蛋白形成纤维,缩短纤维形成时间并提高纤维量,从而改善乳清浓缩蛋白的起泡性。

参 考 文 献

- GOSAL W S, CLARK A H, ROSS-MURPHY S B. Fibrillar beta-lactoglobulin gels: part 1. Fibril formation and structure[J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(6):2408-2419.
- GAO Y Z, XU H H, JU T T, et al. The effect of limited proteolysis by different proteases on the formation of whey protein fibrils[J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(12):7383-7392.
- XU H H, WANG J, DONG S R, et al. Acid-responsive properties of fibrils from heat-induced whey protein concentrate[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(8):6052-6060.
- CARVER J A, HORROCKS M H, CREPIN P, et al. Coaggregation of κ -Casein and β -Lactoglobulin produces morphologically distinct amyloid fibrils[J]. *Small*, 2017, 13(14):1603591.

- 5 LOVEDAY S M, ANEMA S G, SINGH H. β -Lactoglobulin nanofibrils: the long and the short of it[J]. *International Dairy Journal*, 2017, 67:35–45.
- 6 DONG S R, XU H H, LI B Y, et al. Inhibition or improvement for acidic subunits fibril aggregation formation from β -conglycinin, glycinin and basic subunits[J]. *Journal of Cereal Science*, 2016, 70:263–269.
- 7 DAHAL E, CHOI M, ALAM N, et al. Structural evaluation of an amyloid fibril model using small-angle X-ray scattering[J]. *Physical Biology*, 2017, 14(4):046001.
- 8 QIN Z, SUN Y, JIA B H, et al. Kinetic mechanism of Thioflavin T binding onto the amyloid fibril of hen egg white lysozyme[J]. *Langmuir*, 2017, 33(22):5398–5405.
- 9 TACO N, DOMINIQUE D. Controlled food protein aggregation for new functionality[J]. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 2013, 18(4):249–256.
- 10 LOVEDAY S M, RAO M A, CREAMER L K, et al. Factors affecting rheological characteristics of fibril gels: the case of β -lactoglobulin and alpha-lactalbumin[J]. *Journal of Food Science*, 2009, 74(3):47–55.
- 11 MANTOVANI R A, FURTADO G D F, NETTO F M, et al. Assessing the potential of whey protein fibril as emulsifier[J]. *Journal of Food Engineering*, 2018, 223:99–108.
- 12 PENG J F, SIMON J R, VENEMA P, et al. Protein fibrils induce emulsion stabilization[J]. *Langmuir*, 2016, 32(9):2164–2174.
- 13 王晶,徐红华. 乳清浓缩蛋白纳米纤维的制备及其界面性质[J]. *中国乳品工业*, 2013, 41(4):19–22.
WANG J, XU H H. Nanofibril formation of whey protein concentrate and their interfacial properties[J]. *China Dairy Industry*, 2013, 41(4):19–22. (in Chinese)
- 14 KONG L X, ZENG C M. Effects of seeding on lysozyme amyloid fibrillation in the presence of epigallocatechin and polyethylene glycol[J]. *Biochemistry Biokhimiia*, 2017, 82(2):156–167.
- 15 KREBS M R, WILKINS D K, CHUNG E W, et al. Formation and seeding of amyloid fibrils from wild-type hen lysozyme and a peptide fragment from the β -domain[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2000, 300(3):541–549.
- 16 AKKERMANS C, VENEMA P, VAN DER GOOT A J, et al. Peptides are building blocks of heat-induced fibrillar protein aggregates of beta-lactoglobulin formed at pH 2[J]. *Biomacromolecules*, 2008, 9(5):1474–1479.
- 17 HAYAKAWA S, NAKAI S. Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy proteins[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 50(2):486–491.
- 18 BEVARIDG T, TOMA S J, NAKAI S. Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using Ellman's reagent[J]. *Journal of Food Science*, 1974, 39(1):49–51.
- 19 STIEGER M, RICHTERING W, PEDERSEN J S, et al. Small-angle neutron scattering study of structural changes in temperature sensitive microgel colloids[J]. *Journal of Chemical Physics*, 2004, 120(13):6197–6206.
- 20 KREBS M R, DEVLIN G L, DONALD A M. Amyloid fibril-like structure underlies the aggregate structure across the pH range for β -Lactoglobulin[J]. *Biophysical Journal*, 2009, 96(12):5013–5019.
- 21 OBOROCEANU D, WANG L Z, MAGNER E, et al. Fibrillization of whey proteins improves foaming capacity and foam stability at low protein concentrations[J]. *Journal of Food Engineering*, 2014, 121:102–111.
- 22 SABATE R, RODRIGUEZ-SANTIAGO L, SODUPE M, et al. Thioflavin-T excimer formation upon interaction with amyloid fibers[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(51):5745–5747.
- 23 TANAKA M, KAWAKAMI T, OKINO N, et al. Acceleration of amyloid fibril formation by carboxyl-terminal truncation of human serum amyloid A[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2018, 639:9–15.
- 24 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.
- 25 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.