

脉冲电场协同金属离子对卵清蛋白溶液 电化学性质的影响

Effects of pulsed electric field and metal ions on the electrochemical properties of ovalbumin solution

胡菲 汤婷 张佳 刘燕燕 蒋爱民 蒋卓

HU Fei TANG Ting ZHANG Jia LIU Yan-yan JIANG Ai-min JIANG Zhuo

(华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

摘要:采用 zeta 电位分析仪、电导率仪和电化学工作站,分析添加不同二价金属离子(Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cu^{2+})的卵清蛋白溶液在脉冲电场处理前后的 zeta 电位,电导率和氧化还原电位的变化情况,探究金属离子和 PEF 协同对蛋白质电化学性质的影响机制。结果表明:① 添加了 Ba^{2+} 和 Cu^{2+} 的卵清蛋白溶液的 zeta 电位,随着脉冲电场能量的加入呈减小趋势,添加了 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 的样品呈先增大后减小的趋势;② 随着脉冲电场处理时间增加,添加金属离子的蛋白溶液的电导率均呈先增大后减小的趋势,其中添加 Ca^{2+} 对蛋白溶液的电导率影响最大;③ 4 种金属离子的添加都使脉冲电场处理后样品电活性下降,可导电物质的数量减少;随着处理次数增加,氧化还原电位都呈现不同程度的下降。

关键词:脉冲电场;卵清蛋白;金属离子;zeta 电位;电导率;氧化还原电位

Abstract: Zeta potential analyzer, conductivity meter and electrochemical workstation were used to analyze the variation of zeta potential, electrical conductivity and redox potential, with addition of different divalent metal ions (Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} and Cu^{2+}) to ovalbumin solution before and after pulsed electric field treatment. The results showed that: ① the zeta potential of ovalbumin solution with Ba^{2+} and Cu^{2+} decreased with the addition of pulsed electric field energy and samples with Ca^{2+} and Mn^{2+} increased first and then decreased; ② With the increase of pulse electric field treatment time, the conductivity of protein solution with metal ions increased first and then decreased, among which Ca^{2+} had the greatest effect on the conductivity of protein solution; ③ the electrical activity and

quantity of conductive materials decreased with the addition of four metal ions. Besides, the values of redox potential reduced gradually with increasing the treatment times.

Keywords: pulsed electric fields; ovalbumin; metallic ion; zeta potential; conductivity; redox potential

高压脉冲电场 (PEF) 是近年来研究最多的非热杀菌技术之一^[1], 是一种新型的食品绿色加工技术^[2], 相比热加工方法杀菌, 脉冲电场处理能最大限度保持食品的品质、营养和风味^[3]。PEF 较早用于水果的预处理以达到提高果汁提取率的目的, 现在已实现商业规模^[4]。近年来, 高压脉冲电场在食品杀菌、钝酶、物质提取^[5]、酒类催陈^[6]、农药残留降解^[7]等加工领域的应用十分广泛^[8], 在经皮给药^{[9]39-40}、基因转染^[10]、肿瘤治疗^[11]等生物医学效应及其治疗作用上的应用也逐渐被关注。

在食品工业, PEF 的研究主要集中于食品杀菌、钝酶、提取、改性等方面^[12]。在食品杀菌中, 多数学者认为其杀菌是高压脉冲电场对细胞膜的作用, “电穿孔”和“点崩溃”是目前被广泛接受的 2 种学说^[13]。针对 PEF 钝酶作用, 多数学者^[12,14]认为, 其钝酶的机理为影响酶的结构。Wang 等^[15]通过研究 PEF 对辣根过氧化物的影响发现其二级、三级结构均会发生变化; 张若兵等^[4]对 PEF 处理后的过氧化酶和果胶甲基酯酶进行圆二色谱和荧光光谱分析, 发现其二级结构和三级结构发生了改变。Perez 等^[16]借助透射电子显微镜观察 PEF 处理后的蛋白质, 发现脉冲电场会引起蛋白质颗粒聚集, 导致蛋白质粒径增大, 从而提出 PEF 会诱导蛋白质结构变化, 会对食品蛋白质组分的结构与功能产生影响; 具体表现为: 在 PEF 处理条件下, 蛋白质分子结构中自由电子、离子和其他带电荷离子发生移动和极化, 分子偶极距方向的改变增加, 引起蛋白质介电常数的改变, 而进一步影响

基金项目:广东省自然科学基金(编号:2016A030310455)

作者简介:胡菲,女,华南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:蒋卓(1986—),男,华南农业大学讲师,博士。

E-mail:jiangzhuo@scau.edu.cn

收稿日期:2018-02-05

到蛋白质分子的二级和三级结构,但不会影响其一级结构。蛋白质分子的展开会使分子内疏水基团和巯基暴露,从而引起蛋白质活性位点的改变和其功能特性的改变。蛋白质分子的展开导致水分子进入其中,使得蛋白质分子间的氢键相互作用增强,形成蛋白质分子聚集^[17]。蛋白质分子聚集分为蛋白质聚集(aggregation)和蛋白质自组装(self-assembly) 2种,其中蛋白质自组装会形成蛋白质纳米纤维或生成蛋白质纳米管。

天然存在的蛋白质纳米管,如烟草花病毒,具有特殊的生物学功能^[11]。通过蛋白质自组装形成的蛋白质纳米管,其功能和物理性质都有很大提高,是先进功能材料的基础材料,在生物治疗领域,可作为细胞的发动机、泵和模拟自然系统的人造纤维支架,具有很大的应用前景^[18]。近年来,不少学者在研究蛋白质纳米管的形成及其机理。刘燕燕等^[19]^[14]^[20]探究了在金属离子存在条件下,经 PEF 处理,卵清蛋白会形成蛋白质纳米管。Niu^[9]^[39]用原子力显微镜观察和分析蛋白质纳米管,并预测蛋白质纳米管可以用来作为药物载体和组织工程。Graveland-Bikker^[21]在制备水解的-乳清蛋白纳米管时发现金属离子的存在是乳清蛋白纳米管形成的另一个先决条件。刘燕燕^[19]^[14]^[19]的研究表明,卵清蛋白纳米管的形成与添加的金属离子的价态有关,一价金属离子(Na^+)和三价金属离子(Fe^{3+})对蛋白质纳米管的形成作用不大,二价金属离子中: Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cu^{2+} 更易形成结构清晰的蛋白质纳米管。为了更清晰地研究二价金属离子对蛋白质纳米管形成的影响机理,在前人研究的基础上,探究其形成机理,以弥补此方面研究的空白;本试验在卵清蛋白溶液里,添加金属离子 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cu^{2+} 以改变蛋白质溶液的电化学环境,通过测定溶液的氧化还原电位,zeta 电位以及电导率的变化寻求脉冲电场和蛋白质纳米管形成之间的规律,探究金属离子和 PEF 协同对蛋白质电化性质的影响机制,为脉冲电场的应用及蛋白质的利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

卵清蛋白:美国 Sigma 公司;

脉冲电场处理装置:SY-Z-500 型,华南理工大学轻工与食品学院自行研制;

旋片真空泵:2XZ-2 型,浙江台州求精真空泵有限公司;

冷却装置:DLSB-30000 型,郑州长城科工贸有限公司;

电导率仪:DDS-11A 型,上海雷磁·创益仪器仪表有限公司;

zeta 电位分析仪:Nano-zs&MPT-2 型,上海思百吉仪器系统有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验流程

卵清蛋白制备→透析→加金属离子→脱气→脉冲电场处理→测定指标

1.2.2 卵清蛋白处理流程 卵清蛋白相对分子质量为

45 000,按照卵清蛋白样品质量(一般以 20 g 为准)配制 0.000 44 mol 蛋白质溶液样品, Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 与卵清蛋白摩尔比分别为 6:1,4:1,4:1,4:1,搅匀待用。

1.2.3 脉冲电场处理 对加入不同金属离子的卵清蛋白进行单个和多个脉冲处理。处理前,保证样品中没有气泡。处理过程中采用 4℃的恒温冷却水对处理后的样品进行及时冷却,确保样品通过电场的温度一致。采用电子恒流泵,控制样品的流速为 25 mL/min。脉冲波宽度设置为 20 μs ,电场强度分别设置为 14,20 kV/cm,分多次操作。当样品经脉冲电场处理 1,2,3,4 次时,其对应处理时间分别为 565,1 130,1 695,2 230 μs ,脉冲频率 1 000 Hz,处理前电导率为 139 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

1.2.4 zeta 电位检测 根据文献^[22]修改如下:温度设定为 25℃,由 zeta 电位分析仪直接测定。

1.2.5 电导率检测 根据文献^[23]修改如下:温度设定为 20℃,启动电导率分析仪,检测 3 次,取平均值。

1.2.6 氧化还原电位检测 根据文献^[24],采用差分脉冲伏安法和三电极的工作方式测定。

2 结果与分析

2.1 PEF 和不同金属离子协同作用对蛋白质溶液 zeta 电位的影响

由图 1 可以看出,金属离子的添加均增加了卵清蛋白的 zeta 电位,不同金属离子和 PEF 协同处理对卵清蛋白溶液 zeta 电位的影响不同。

Ba^{2+} 协同 PEF 导致卵清蛋白 zeta 值呈递减趋势,其原因有可能是卵清蛋白分子与 Ba^{2+} 形成网络结构的电位绝对值随着脉冲电场输入能量的增大而增大,脉冲电场对蛋白质分子极化程度增加。 Cu^{2+} 协同 PEF 处理后的卵清蛋白 zeta 电位呈现减小趋势。 Mn^{2+} 和 PEF 协同处理的卵清蛋白 zeta 电位呈现先增大后减小趋势,对比未经 PEF 处理的蛋白样品,脉冲处理时间为 565,1 130,1 695 μs 时,zeta 电位都呈现不同程度的增加,当脉冲处理时间为 2 260 μs 时,zeta 电位下降,说明蛋白质分子可能发生了聚集。 Ca^{2+} 和 PEF 协同作用对卵清蛋白 zeta 电位的影响有相似的规律,呈现先增大后减小的趋势,在脉冲处理时间为 1 130 μs 时,zeta 电位最大,说明蛋白质分子展开程度增加, Ca^{2+} 在蛋白质分子间搭桥作用明显,蛋白质分子和 Ca^{2+} 之间最大程度网络化;随着脉冲处理时间继续增大到 1 650,2 260 μs 时,zeta 电位下降,说明蛋白质分子可能发生聚集。

2.2 PEF 和不同金属离子协同作用对蛋白质溶液电导率的影响

由图 2 可以看出,PEF 单独作用对蛋白质溶液电导率的影响不大。

由图 3 可以看出,随着脉冲处理时间的延长,添加了 4 种金属离子的蛋白质溶液的电导率均呈现先增大后减小的趋势,其中 Ca^{2+} 离子的添加对蛋白溶液的电导率影响最大。与未添加金属离子的对照组对比,不同金属离子对未经 PEF 处理的蛋白质溶液电导率有明显差别,说明不同金属离子和

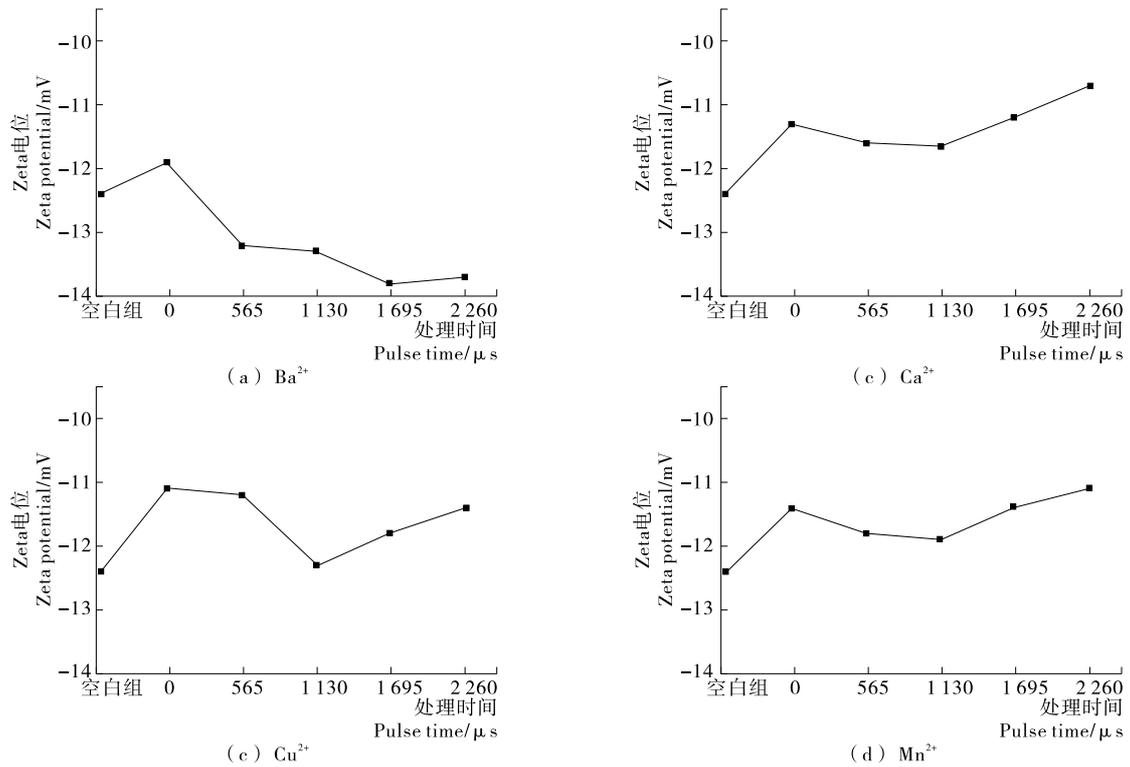


图 1 PEF 协同不同金属离子对蛋白质溶液 zeta 电位的影响

Figure 1 The effect of PEF and different metal ions on the zeta potential of protein solution

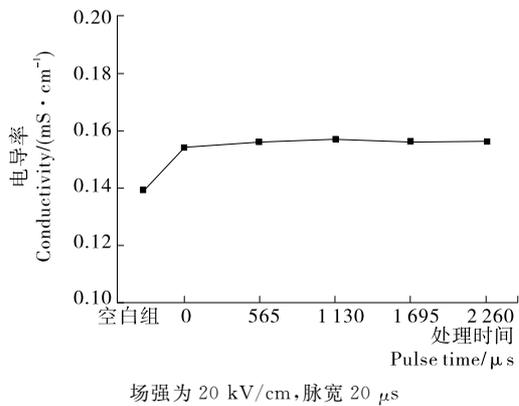


图 2 PEF 对蛋白质溶液电导率的影响

Figure 2 Effect of PEF on conductivity of protein solution

蛋白质分子的整合作用不同。Ca²⁺ 的添加对卵清蛋白溶液电导率影响最大,说明 Ca²⁺ 与蛋白质分子之间形成的网络结构最明显。当脉冲处理时间为 565 μs 时,添加 Ba²⁺ 和 Ca²⁺ 的蛋白质溶液电导率达到最大,当脉冲处理时间为 1 650 μs 时,添加 Cu²⁺ 的蛋白质溶液电导率达到最大值。之后随着脉冲时间的延长,电导率都有明显的下降,说明蛋白质分子发生聚集,金属离子分布在蛋白质分子聚集体内,导致蛋白质溶液电导率下降。

2.3 不同场强 PEF 和 Ca²⁺ 协同作用对蛋白质溶液电导率的影响

根据上述研究,发现 Ca²⁺ 对 zeta 电位和电导率影响较大。为研究场强对溶液电化学性质的影响,选取 Ca²⁺ 与 PEF 协同作用,观察不同场强对溶液电导率的影响。试验

时,Ca²⁺ 浓度不变,改变电场场强及脉冲时间,蛋白质溶液的电导率见图 4。未添加 Ca²⁺ 金属离子未经 PEF 处理的蛋白质溶液电导率为 0.299 mS/cm,添加 Ca²⁺ 但未经 PEF 处理的蛋白质溶液电导率有明显差别,呈显著提高,说明 Ca²⁺ 和蛋白质分子之间存在较强的缔合作用。当脉冲场强为 14 kV/cm,添加 Ca²⁺ 的蛋白质溶液的电导率随着脉冲处理时间的延长呈现减小的趋势,其原因是蛋白质分子有可能发生聚集,Ca²⁺ 分布在蛋白质分子聚集体内,导致蛋白质溶液电导率下降。当脉冲场强为 20 kV/cm 时,添加 Ca²⁺ 的蛋白质溶液呈现先减小后增大的趋势。二者相比,高场强的脉冲电场处理后,蛋白质溶液的电导率比经过低场强处理的蛋白质溶液高。其原因可能是高场强诱导蛋白质分子正极化,低场强诱导蛋白质分子负极化,高场强诱导蛋白质溶液内游离离子增加。

2.4 PEF 和不同金属离子协同作用对蛋白质溶液氧化还原电位的影响

除上述指标外,还研究了 PEF 和不同金属离子协同作用对蛋白质溶液氧化还原电位的影响。在卵清蛋白溶液中分别按比例加入确定质量的 Ca²⁺、Ba²⁺、Cu²⁺ 和 Mn²⁺,采用差分脉冲伏安法和三电极的工作方式,利用电化学工作站,生成伏安图像,分析 PEF 和不同金属离子协同作用对蛋白质溶液氧化还原电位的影响。PEF 和不同金属离子协同作用后,蛋白质溶液氧化还原电位见图 5~8。

如图 5 所示,随着处理次数的增加,电流曲线增幅下降,Ca²⁺ 样品的电活性下降,且未呈现明显的峰电流。从 Ca²⁺ 伏安图中也可以看出,控制样品(未添加钙离子且未经过电

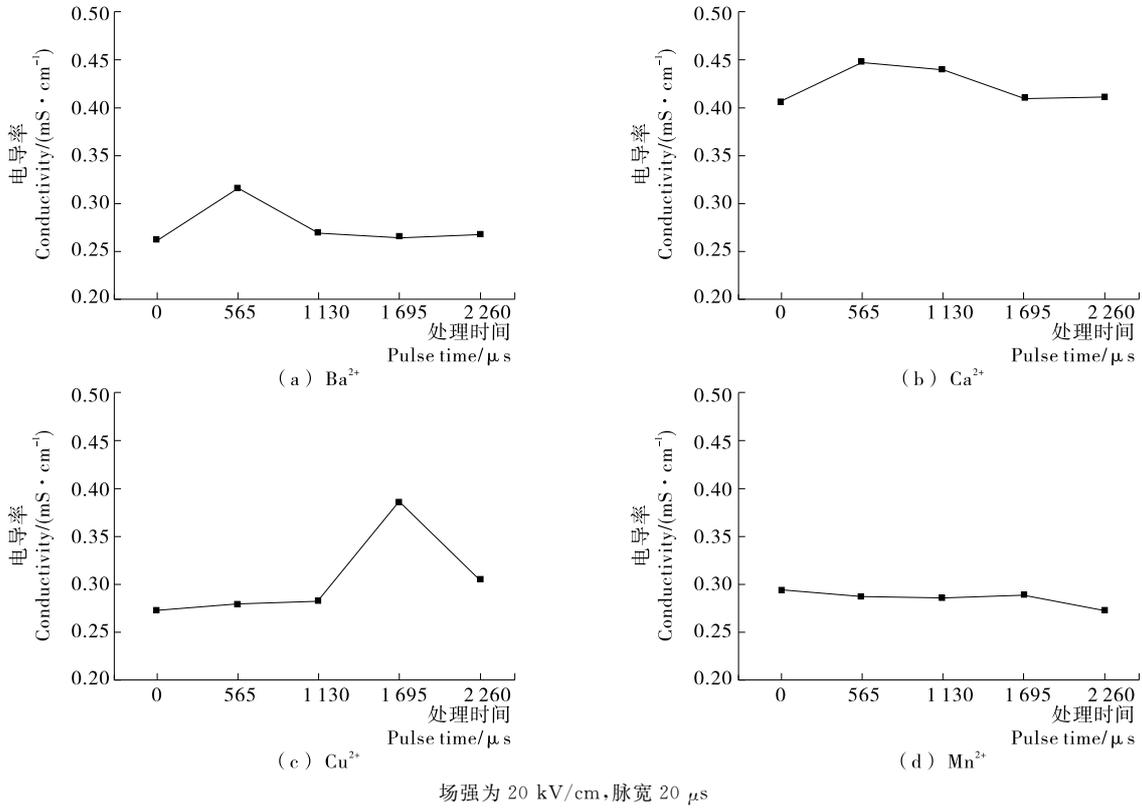


图3 PEF协同不同金属离子对蛋白质溶液电导率的影响

Figure 3 Effect of PEF cooperating with different metal ions on conductivity of protein solution

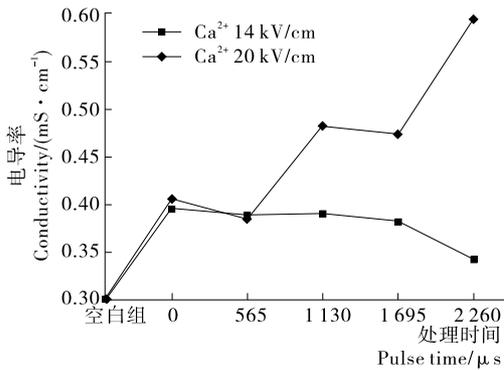


图4 不同场强 PEF 协同 Ca²⁺ 对蛋白质溶液电导率的影响
Figure 4 Effects of different field strengths of PEF and Ca²⁺ on the conductivity of protein solution

场处理)的电活性最强,可知经过低场强脉冲电场处理后样品电活性下降,可导电物质能力和数量减少。

如图6所示,随着处理次数的增加,电流曲线下降,Ba²⁺样品的电活性下降,且未呈现明显的峰电流,曲线之间呈现递减规律。从Ba²⁺伏安图中也可以看出,控制样品(未添加离子且未经过电场处理)的电活性最强,因此也可以断定脉冲电场处理后样品电活性下降,可导电物质能力和数量减少。

如图7所示,蛋白质溶液空白样电流小,Cu²⁺的添加增加了卵清蛋白溶液的峰电流。随着脉冲电场处理时间的增加,出现峰电流,未添加金属离子的控制样品和添加金属离

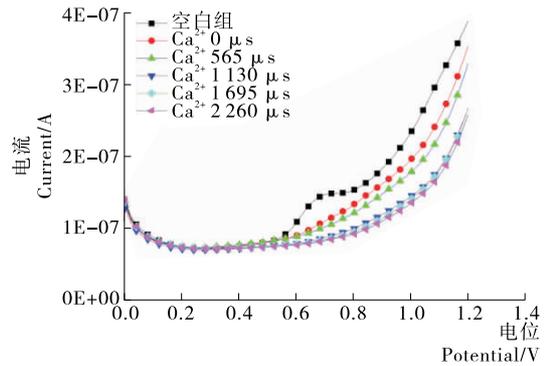


图5 PEF协同Ca²⁺对氧化还原电位的影响
Figure 5 Effect of PEF and Ca²⁺ on Redox Potential

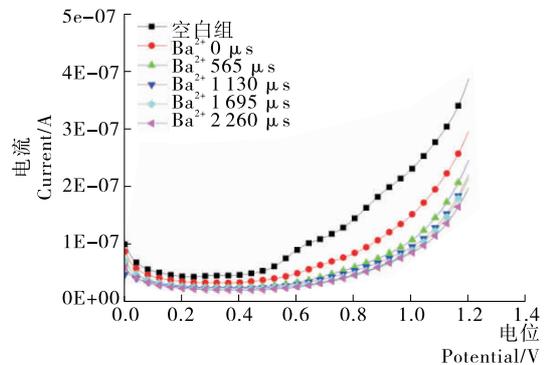
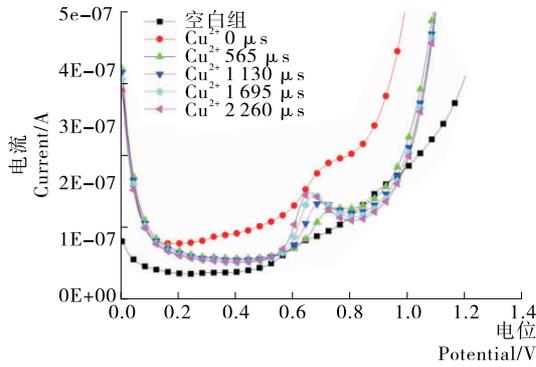
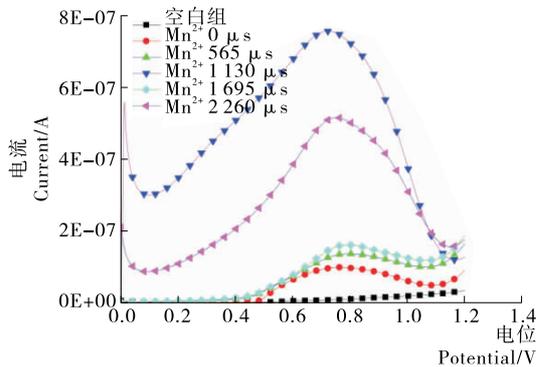


图6 PEF协同Ba²⁺对氧化还原电位的影响
Figure 6 Effect of PEF and Ba²⁺ on Redox Potential

图 7 PEF 协同 Cu^{2+} 对氧化还原电位的影响Figure 7 Effect of PEF and Cu^{2+} on Redox Potential图 8 PEF 协同 Mn^{2+} 氧化还原电位的影响Figure 8 Effect of PEF and Mn^{2+} on Redox Potential

子后均没有峰电流值。当脉冲处理时间为 565, 1 130, 1 695, 2 260 μs , 峰电流值分别为 $1.59\text{E}-07$ (0.78 V), $1.69\text{E}-07$ (0.7 V), $1.82\text{E}-07$ (0.68 V), $1.86\text{E}-07$ (0.66 V) A, 呈现递增规律。说明脉冲电场和金属 Cu^{2+} 协同增加了蛋白质分子的电活性, Cu^{2+} 在蛋白质分子间搭桥作用明显, 蛋白质分子间相互作用增强, 形成了电活性比较稳定的自组装结构。随着脉冲电场输入能量持续增加, 脉冲电场对蛋白质分子极化程度增加。

如图 8 所示, 蛋白质溶液空白样电流小, Mn^{2+} 的添加增加了卵清蛋白溶液的峰电流。随着脉冲电场处理时间的延长, 出现峰电流, 未添加金属离子的控制样品峰电流值为 $9.67\text{E}-08$ A (0.732 V), 添加金属离子后峰电流值为 $1.24\text{E}-06$ A (0.824 V)。当脉冲处理时间为 565, 1 130, 1 695, 2 260 μs 时, 峰电流值分别为 $5.57\text{E}-06$ (0.76 V), $6.99\text{E}-06$ (0.74 V), $7.53\text{E}-06$ (0.74 V), $7.56\text{E}-06$ (0.74 V) A, 呈现递增规律。说明脉冲电场和金属 Mn^{2+} 协同增加了蛋白质分子的电活性, 诱导蛋白质分子和金属离子缔合, 形成较大颗粒网络结构, 蛋白质与蛋白质分子间通过 Mn^{2+} 相互作用, 形成了电活性比较稳定的自组装结构。当脉冲处理时间为 1 130 μs 时, 脉冲电场和金属离子协同作用诱使蛋白质生成粒度较大的纳米材料。

综上, 添加 Ca^{2+} 和 Ba^{2+} 的蛋白质溶液, 随着处理次数的增加电流下降, 溶液内可导电物质以及导电能力下降, 而添加了 Cu^{2+} 和 Mn^{2+} 的蛋白质溶液, 均出现峰电流, 形成了较稳定的自组装结构。

3 结论

金属离子的加入都能影响 PEF 下蛋白质纳米管的形成, 卵清蛋白与金属离子间会发生螯合作用, Ca^{2+} 协同 PEF 处理时在蛋白质分子间搭桥作用最明显, 分子间呈现最大程度网络化, PEF 处理 1 130 μs 时作用最明显, 之后蛋白质分子发生聚集。且在高场强下诱导蛋白质溶液内游离离子增加, 蛋白质分子正极化, 低场强诱导蛋白质分子负极化。 Cu^{2+} 协同 PEF 处理也会使蛋白质分子发生聚集, 蛋白质分子间相互作用增强, 形成了电活性比较稳定的自组装结构。本试验研究发现脉冲电场对蛋白质与金属离子的螯合有加强作用, 可进一步探究脉冲电场在提高高蛋白饮料中矿物质的结合率上的应用, 从而提供矿物元素的吸收, 为脉冲电场的应用开拓新领域。

参考文献

- [1] 颜文旭, 张珊珊, 公群. 高压脉冲电场杀菌多物理场特性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 1-6.
- [2] 曾新安, 资智洪, 杨连生. 高压脉冲电场对食品成分的影响[J]. 食品工业科技, 2008(12): 256-269.
- [3] 李迎秋, 陈正行. 高压脉冲电场对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 194-198.
- [4] 张若兵, 陈杰, 肖健夫, 等. 高压脉冲电场设备及其在非热处理中的应用[J]. 高电压技术, 2011, 37(3): 777-786.
- [5] SCHULTHRIS C, BLUHM H, MAYER H, et al. Processing of sugar beets with pulsed-electric fields[J]. Ieee Transaction on Plasma Science, 2002, 30(4): 1 547-1 551.
- [6] CHEN Jie, ZHANG Ruo-bin. Effects of pulsed electric fields on phenols and colour in young red wine[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(1): 206-209.
- [7] CHEN Fang, ZHANG Yuan-yuan, ZENG Ling-qin, et al. Degradation behaviour of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields[J]. Food Chemistry, 2009, 112(4): 956-961.
- [8] 杨楠楠. 高压脉冲电场处理对黄酒中酿酒酵母菌致死及压致死损伤效应探究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016: 22-24.
- [9] NIU Li-jiang. Investigating self-assembled protein nanotubes using atomic force microscopy[D]. Nottingham: University of Nottingham, 2009.
- [10] XUE Qu, KOMATSU T. Molecular capture in protein nanotubes[J]. ACS Nano, 2010, 4(1): 563-573.
- [11] GRAVELAND B. Self-assembly of hydrolysed-lactalbumin into nanotubes[D]. Utrecht: Universiteit Utrecht, 2006: 19.
- [12] 赵伟. 高压脉冲电场在液态蛋杀菌中的应用及其对微生物和蛋白质的作用机制[D]. 无锡: 江南大学, 2009: 11.
- [13] 钟葵. 高压脉冲电场技术杀菌钝酶效果与对胡萝卜汁品质影响研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2009: 17.
- [14] 赵伟, 杨瑞金, 张文斌, 等. 高压脉冲电场对食品中微生物、酶及组分影响的研究进展[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 153-157.

(下转第 117 页)

CNC 都均匀进入玉米纳米淀粉基质中,形成了均一稳定的纳米淀粉基膜,成膜平整光滑,玉米纳米淀粉/CNC 复合膜安全环保可食用,在食品及医药胶囊包装领域具有较好的应用前景。

参考文献

- [1] 翟美玉, 彭茜. 生物可降解高分子材料[J]. 化学与粘合, 2008, 30(5): 66-69.
- [2] 陈启杰, 郑学铭, 周丽玲, 等. 纳米淀粉的研究及其在食品工业中的应用[J]. 食品与机械, 2017, 33(7): 210-214.
- [3] 陈启杰, 董徐芳, 周丽玲, 等. 挤压法制备玉米纳米淀粉及其表征[J]. 食品与机械, 2017, 33(5): 40-44.
- [4] SLAVUTSKY A M, BERTUZZI M A. Water barrier properties of starch films reinforced with cellulosenanocrystals obtained from sugarcane bagasse[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 110(18): 53-58.
- [5] CORSELLO F A, BOLLA P A, ANBINDER P S, et al. Morphology and properties of neutralized chitosan-cellulose nanocrystals biocomposite films[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 156: 452-459.
- [6] EI M N, ABDELOUAHDI K, BARAKAT A, et al. Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 129: 156-167.
- [7] SARALEGI A, RUEDA L, MARTIN L, et al. From elastomeric to rigid polyurethane/cellulosenanocrystal bionanocomposites[J]. Composites Science & Technology, 2013, 88(10): 39-47.
- [8] GAZZOTTI S, FARINA H, LESMA G, et al. Polylactide/cellulose nanocrystals: the in situ, polymerization approach to improved nanocomposites[J]. European Polymer Journal, 2017, 94: 173-184.
- [9] SINGH S, GAIKWAD K K, LEE Y S. Antimicrobial and antioxidant properties of polyvinyl alcohol bio composite films containing seaweed extracted cellulose nano-crystal and basil leaves extract[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 107: 1 879-1 887.
- [10] CUI Shao-ning, LI Man, ZHANG Shuang-ling, et al. Physico-chemical properties of maize and sweet potato starches in the presence of cellulose nanocrystals [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 77: 220-227.
- [11] SAVADEKAR N R, MHASKE S T. Synthesis of nano cellulose fibers and effect on thermoplastics starch based films[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(1): 146-151.
- [12] 田莉雯, 陈复生, 宋小勇, 等. 玉米淀粉与小麦淀粉复合可食用膜工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(20): 290-294.
- [13] DAI Lei, QIU Chao, XIONG Liu, et al. Characterisation of corn starch-based films reinforced with taro starch nanoparticles[J]. Food Chemistry, 2015, 174: 82-88.
- [14] KAUSHIK A, SINGH M, VERMA G. Green nanocomposites based on thermoplastic starch and steam exploded cellulose nanofibrils from wheat straw [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(2): 337-345.
- [15] MONTERO B, RICO M, RODRÍGUEZ LLAMAZARES S, et al. Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume [J]. Carbohydr Polym, 2016, 157: 1 094-1 104.
- [16] ABU-DANSO E, SRIVASTAVA V, SILLANPÄÄ M, et al. Pretreatment assisted synthesis and characterization of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibers from absorbent cotton[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 102: 248-259.
- [17] KARGARZADEH H, SHELTAMI R M, AHMAD I, et al. Cellulose nanocrystal: A promising toughening agent for unsaturated polyester nanocomposite [J]. Polymer, 2015, 56: 346-357.
- [18] 金巧燕, 邢丽丽, 王楠, 等. 木薯淀粉基可食用膜制备及膜阻隔性能研究[J]. 浙江树人大学学报: 自然科学版, 2015(1): 29-34.
- [19] 刘燕燕. 脉冲电场对氨基酸的极化影响及其制备蛋白质纳米管研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [20] WEI Jing-ni, ZENG Xin-an, TANG Ting, et al. Unfolding and nanotube formation of ovalbumin induced by pulsed electric field[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2018, 45: 249-254.
- [21] GRAVELAND B, SCHAAP I A, SCHMIDT C F, et al. Structural and mechanical study of a self-assembling protein nanotube[J]. Nano Letters, 2006, 6(4): 616-621.
- [22] CHEN Chen, ZHAO Wei, YANG Rui-jin, et al. Effects of pulsed electric field on colloidal properties and storage stability of carrot juice[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(10): 2 079-2 085.
- [23] 马理娇. 脉冲电场钝化 PPO 对苹果制品影响及酶钝化机理的探究[D]. 扬州: 扬州大学, 2015: 13-14.
- [24] 石磊, 曾祥盛, 彭冬英, 等. 生乳、巴氏乳与酸败乳的电化学识别研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12): 468-472.

(上接第 10 页)

- [15] WANG Bei, ZHANG Yan-yan, VENKITASAMY C, et al. Effect of pulsed light on activity and structural changes of horseradish peroxidase[J]. Food Chemistry, 2017, 234: 20-25.
- [16] PÉREZ-MUNUERA I, MARCO-MOLÉS R, HERNANDO A, et al. Microstructural changes produced by Pulsed Electric Fields in liquid whole egg studied by Transmission Electron Microscopy (TEM)[C]// Anke Aretz. EMC 2008 14th European Microscopy Congress 1-5 September 2008, Aachen, Germany. Aachen: Life Science, 2008: 275-276.
- [17] LIU Yan-yan, ZENG Xin-an. Effect of pulsed electric field on the secondary structure and thermal properties of soy protein isolate[J]. European Food Research, 2011, 233(5): 841-850.
- [18] KING N P, SHEFFLER W, SAWAYA M R, et al. Computational design of self-assembling protein nanomaterials with atomic level accuracy[J]. Science, 2012, 336(6 085): 1 171-1 174.