

# 熔球态蛋白质的结构表征及功能的研究进展

李祥鹏, 高 健, 刘晓飞, 关桦楠, 陈凤莲, 王 冰, 刘琳琳, 杨 杨, 朱秀清,  
石彦国, 张 娜\*

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 哈尔滨 150076)

**摘 要:** 蛋白质熔球态是球蛋白变性过程中的一个稳定的中间态, 此状态下的蛋白被发现具有良好的功能性质。本文简要综述了球蛋白熔球态的发现及其研究进展, 介绍了球蛋白熔球态可以在酸碱、加热、变性剂以及高压下形成, 并具有类似天然态的紧密性以及更强的疏水性等特性; 熔球态蛋白常用的表征方法有荧光光谱法、圆二色谱法、核磁共振法等; 介绍了熔球态蛋白的某些生物功能性质以及食品加工性质。蛋白质“熔球态”的发现与研究, 对生命科学有着深远影响, 也对食品化学与食品蛋白加工有着指导意义。

**关键词:** 蛋白质折叠; 蛋白质熔球态; 二级结构; 表征方法; 功能特性

## Research progress in structure characterization and function of the molten globule of protein

LI Xiang-Peng, GAO Jian, LIU Xiao-Fei, GUAN Hua-Nan, CHEN Feng-Lian, WANG Bing,  
LIU Lin-Lin, YANG Yang, ZHU Xiu-Qing, SHI Yan-Guo, ZHANG Na\*

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

**ABSTRACT:** “Molten globule” state protein is a stable intermediate state in the denaturation process of globulin. Proteins in this state have good functional properties. This paper briefly reviewed the discovery and research progress of “molten globule” state protein, introduced that the molten globule state protein could be formed under acid-base, heating, denaturant and high pressure, and had the characteristics of compactness similar to natural state and stronger hydrophobicity. This paper also introduced the common characterization methods of molten globule state protein including fluorescence spectroscopy, circular dichroism, nuclear magnetic resonance spectroscopy, etc, and some biological functional properties and food processing properties. The discovery and research of “molten globule” of protein had a profound impact on life science, and also had a guiding significance for food chemistry and food protein processing.

**KEY WORDS:** protein folding; molten globule protein; secondary structure; evaluation methods; functional properties

## 1 引 言

蛋白质是一类结构复杂, 功能多样的大分子, 其对食

品的持水性、乳化性、凝胶性以及风味物质等物理化学特性都起着重要的作用。自 20 世纪 80 年代以来, 结构生物学得到了迅速的发展, 很多研究都表明蛋白质的结构对

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(31871747)、国家自然科学基金青年科学基金项目(31301602)、国家重点研发计划(2016YFD0400402)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31871747), National Natural Science Foundation of China Youth Science Foundation Project (31301602), and National Key R&D Program (2016YFD0400402)

\***通讯作者:** 张娜, 教授, 博士, 主要研究方向为食品安全与食品化学。E-mail: foodzhangna@163.com

\***Corresponding author:** ZHANG Na, Professor, Ph.D, Harbin University of Commerce, No.138, Tongda Road, Daoli District, Heilongjiang 150076, China. E-mail: foodzhangna@163.com

生物活性有着重要影响, 结构改变其功能性质也发生不同程度的改变<sup>[1]</sup>。蛋白质熔球态的变化, 本质上就是蛋白质空间构象的变化, 而蛋白质的空间构象主要受到氢键、范德华力、疏水作用力、盐键以及二硫键等作用力的影响。本文通过对蛋白质熔球态的研究进行概述, 揭示蛋白质熔球态形成的机制, 了解蛋白质变性过程中的结构变化及其对功能性质的影响, 明确结构与功能的关系, 无论对蛋白质的折叠/解折叠, 还是对蛋白质在食品加工和生产中的功能特性都有着重要的作用和指导意义。

## 2 蛋白质熔球态的发现

随着 1961 年 Anfinsen 的“热力学假说”和 1968 年 Levinthal 的“Levinthal 悖论”的提出<sup>[2,3]</sup>, 研究人员发现蛋白质的折叠过程中可能存在中间状态。为了描述其存在的可能性, Ptitsyn 于 1973 年首次提出了-蛋白质折叠过程是“逐步阶段式机制”假说, 这个假说又被人们称为“框架模型”(framework model)。Ptitsyn 指出蛋白质的折叠过程存在若干个中间状态, 且每个状态都会越来越接近天然状态结构的特征, 这些特征不会被重新改变, 而是在随后的折叠过程中稳定下来。即蛋白质折叠时首先形成一些二级结构域, 随后这些二级结构域渐渐的组装成一个类似天然态二级结构的紧凑的状态, 最终这个中间状态转变成刚性的天然态<sup>[4]</sup>(如图 1 所示)。

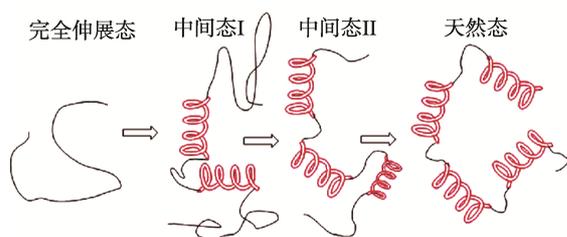


图 1 蛋白质折叠过程的“逐步阶段式机制”

Fig.1 Step-by-step mechanism of protein folding

随着这个假说的提出, 科研人员们对这个假说不断的进行探索, 最终证实这一中间体无论是在折叠动力学中还是平衡实验中都是存在的。1981 年, Dolgikh 等<sup>[5]</sup>通过对人乳  $\alpha$ -乳清蛋白和牛乳  $\alpha$ -乳清蛋白在酸性条件下的变性实验, 发现它们均能转变到处于天然态和伸展态之间的一个稳定的中间状态。在此状态下, 其球蛋白结构紧凑, 具有类似天然状态的二级结构, 但缺少刚性的三级结构, 没有协同融化温度, 并且分子内迁移率远远大于天然状态; 且该中间状态不是带有二级结构的蛋白质分子的局部展开链, 而是一种特殊的蛋白质分子的物理状态且是稳定存在的。1983 年 Ohgushi 等<sup>[6]</sup>在酸性条件下对马的细胞色素 C 进行处理, 同样得到了一个处于天然态和伸展态之间的中间状态, 这个中间状态具有和 Dolgikh 等发现的中间态相似的

特征, 最终 Ohgushi 将这种蛋白质折叠过程中处于天然态和伸展态之间的中间状态命名为“熔球态”。在随后的研究中, 不同的球状蛋白质(如牛的碳酸酐酶、牛乳  $\beta$ -乳球蛋白、 $\beta$ -内酰胺酶、脱辅基肌红蛋白以及马乳  $\beta$ -乳球蛋白)中均发现了熔球态的存在<sup>[7-10]</sup>, Ptitsyn 等<sup>[11]</sup>认为熔球态是球状蛋白质早期折叠路径中普遍存在的。

## 3 熔球态蛋白的制备方法

由于分子内氢键、疏水相互作用、范德华相互作用以及离子相互作用等, 构成了天然球蛋白稳定且紧密的三级结构。然而经过温和的变性条件处理后的球蛋白, 这些相互作用被中断而使天然球蛋白的三级结构发生改变, 导致了熔球态蛋白的形成。大量的实验研究表明, 热处理、极端 pH 处理、高压以及不同浓度的变性剂等都是诱导球状蛋白形成熔球态的常用方法。

天然态的球蛋白经过强酸或强碱处理后, 氢键作用力增强, 三级结构发生改变, 然后协同疏水残基和二硫键等作用逐渐形成熔球态。在早期熔球态蛋白基础研究中, 采用的是极端酸性 pH 来诱导获得蛋白的熔球态, 一般采用酸性条件为 pH 1.5~2.0<sup>[12-15]</sup>。但由于不同蛋白中氢键等次级键的构成不同, pH 值也会发生稍微的变动。如, Golaki 等<sup>[16]</sup>在 pH 3.0 的条件下得到了脂肪酶-3646 的熔球态, 而 Yeh 等<sup>[17]</sup>却在 pH 4.0 时得到了牛血清白蛋白的熔球态。此外, 随着研究不断地深入, 球蛋白被证实也可以通过极端碱性 pH 条件形成熔球态, 而极端碱性的条件至少是 pH > 10.0。如 Dave 等<sup>[18]</sup>在碱性的条件下处理茎菠萝蛋白酶, 发现在 pH 7.0~10.0 其二级结构和三级结构没有明显的变化; 当 pH > 10.0 时, 茎菠萝蛋白酶的构象显示处于熔球状态。Sen 等<sup>[19]</sup>在 pH 11.2 的条件下得到了牛血清白蛋白的熔球态。

热处理是另一种有效的制备方法。由于不同蛋白质受温度影响程度不同, 则变性温度不同, 所以得到蛋白质熔球态时的温度也不同。Polverin 等<sup>[20]</sup>通过圆二色谱技术观察, 在 45 °C 温度加热下的  $\alpha$ -乳清蛋白, 其二级结构和天然态相似, 缺少刚性的三级结构。Chaudhuri 等<sup>[21]</sup>在 23 °C 下, 得到了 10 mmol/L, pH 为 7.0 的缓冲溶液中牛的脱辅基  $\alpha$ -乳清蛋白的熔球态。NCBL<sup>[22]</sup>对藜麦的 11S 球蛋白经 100 °C 加热 0~15 min 处理, 发现藜麦的 11S 球蛋白在加热 5 min 时其二级结构未发生明显变化, 而三级结构表现出明显的展开, 证明此时藜麦的 11S 球蛋白为熔球态。Wit 等<sup>[23]</sup>对牛乳  $\beta$ -乳球蛋白在从 50~125 °C 加热处理得到了不同的中间构象。在蛋白质浓度为 25 mg/mL 时, 天然态二聚体的解离和小的构象变化发生在 55 °C, 且冷却后可逆; 却在 pH 6.8 条件下, 加热到 60~70 °C 之间观察到  $\beta$ -乳球蛋白部分伸展进入熔球态且是稳定的; 在 65~70 °C 之间, 由巯基和二硫键的交换反应引起了小的低聚物的形成; 在 75~85 °C

时,非共价键作用导致低聚物增大。在 125~150 °C 时,剩余的残留蛋白结构全部展开。而 Laurette 等<sup>[24]</sup>却在 80 °C 温度下对  $\beta$ -乳球蛋白加热 1 h,也得到了  $\beta$ -乳球蛋白的熔球态。

除了 pH 和温度外,变性剂和压力等方法也可以诱导蛋白质的熔球态。目前,被证实可以用来诱导熔球态的变性剂有山梨醇<sup>[25]</sup>、三氟乙醇<sup>[26]</sup>、3-羟基丁盐酸<sup>[27]</sup>以及十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)<sup>[28]</sup>等。而对于压力诱导,一般在高压下才能形成蛋白质的熔球态。Chen 等<sup>[29]</sup>采用高静水压方法对华根霉脂肪酶进行处理,因为低压以及中压对氢键的影响较弱,所以在小于 400 MPa 时,其基本保持着天然态的结构,而压力大于 400 MPa 时,三级结构开始展开,空间构象发生改变;随着压力的逐渐增加,当大于 600 MPa 时,华根霉脂肪酶分子会聚集形成一个体积较大的聚集态,而此时如果加入  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,就可以阻止其聚集而形成熔球态。Marion 等<sup>[30]</sup>研究高静压对人的乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, hAChE)结构的影响,通过弹性非相干中子散射技术(elastic incoherent neutron scattering technology, EINS)将其在压力下的结构变化分为 4 部分,即天然态、伸展态、熔球态以及完全变性状。当压力为 0~100 MPa 时,乙酰胆碱酯酶处于天然状态;100~200 MPa 时,处于伸展态(此时三级结构仍然存在);200~300 MPa 时,形成熔球态;大于 300 MPa,乙酰胆碱酯酶逐渐形成完全变性状。

研究人员证实,同一蛋白质经上述不同变形条件下形成的熔球态是具有同一构象的。Balobanov 等<sup>[31]</sup>对抹香鲸脱辅基肌红蛋白采用不同的变性条件(pH、温度、变性剂浓度)进行熔球态诱导,通过圆二色性光谱技术与荧光光谱技术研究发现不同方法得到的脱辅基肌红蛋白的熔球态中间体都属于脱辅基肌红蛋白构象图中的同一区域,即同一蛋白质不同条件下形成的熔球态具有相同的结构。

## 4 蛋白质熔球态的结构特性

蛋白质熔球态结构的表征是熔球态鉴定、性质分析、构效关系分析的重要依据和前提,球状蛋白的熔球态二级结构保留、三级结构缺失的基本特征外,蛋白质熔球态的紧密性和较大的疏水表面积是其非常重要的结构特性,从而显著影响其功能特性。

### 4.1 紧密性

天然态的蛋白质分子内是紧密堆积的,而经过变性处理后,其空间结构被破坏,分子内逐渐变得疏散,最终成呈无规则卷曲的线状。由于熔球态的蛋白质具有与天然态相似的二级结构,因此其空间结构的紧密程度是与天然态相似的,即紧密性相似。蛋白质紧密性的变化可以通过特性黏度或流体力学半径进行表征,与天然态相比,熔球

态的黏度变化不大,而流体力学半径相较于天然态增加 10%~30%,不同的蛋白质变化程度不同。如 Dolgikh 等<sup>[5]</sup>发现,牛和人的  $\alpha$ -乳清蛋白熔球态的特性黏度为 3~4  $\text{cm}^3/\text{g}$ ,与天然态(3.1~3.4  $\text{cm}^3/\text{g}$ )非常接近;而完全变性的伸展态是天然态的 2 倍,为 6.1~6.6  $\text{cm}^3/\text{g}$ 。Gilmanshin 等<sup>[32]</sup>测得由酸性 pH 诱导变性得到的牛乳  $\alpha$ -乳清蛋白熔球态的流体力学半径值为 15.7Å,其与天然态相比,增加了 10%。相同的, Gast 等<sup>[32]</sup>由高温诱导的人的  $\alpha$ -乳清蛋白熔球态,其流体力学半径与天然态相比,也增加约 10%;伸展态与天然态相比,增加了约 40%。Stojanovski 等<sup>[34]</sup>在 pH 值对 5-氨基酮戊酸合酶结构影响的研究中,通过动态光散射法得到 5-氨基酮戊酸合酶熔球结构的流体力学半径比天然状态增加了 12%。

### 4.2 疏水性

蛋白质熔球态具有半柔韧性,其内部的一些非极性基团暴露在分子表面,从而使疏水表面积相较于天然状态下有所增加,疏水性更强,这导致熔球态蛋白质和溶液中的非极性分子结合比天然状态下更强烈。蛋白质分子的疏水表面积一般使用 8-苯胺基萘-1-磺酸铵盐(8-anilino naphthalene-1-sulfonic acid ammonium salt, ANS)染料作为荧光探针,通过荧光光谱法检测发光强度进行表征。如 Semisotnov 等<sup>[35]</sup>在进行碳酸酐酶、 $\beta$ -内酰胺酶和  $\alpha$ -乳清蛋白熔球状态的平衡和动力学研究时,采用了 ANS 荧光探针结合的方法。发现 ANS 的荧光强度与同源多肽无规则卷曲侧链和  $\alpha$ -螺旋的亲合力并不明显,而与  $\beta$ -结构结合的更强烈。此外,在形成蛋白质的熔球状态时,蛋白质的刚性结构受到破坏,ANS 与蛋白分子的亲和力显著增加,荧光强度明显增强。除了 ANS 染料以外,疏水性光敏试剂 3-(trifluoromethyl)-3-(m-[125I]iodophenyl) diazirine 或 [3H] diazofluorene(DAF)标记蛋白,也可以用来观察蛋白质熔球态、天然态以及伸展态的疏水表面积<sup>[36,37]</sup>。蛋白质熔球态疏水表面积的增加是整体性的,而不是局部性的。例如,牛乳  $\alpha$ -乳清蛋白在天然状态下有 4 个埋藏在分子结构内部的色氨酸(分别在氨基酸链的 26、60、104 和 118 的位置上),但是当其处于熔球状态时,分子结构发生变化,其中的 2 个色氨酸就会被暴露出来<sup>[37]</sup>。这些实验结果都表明了球状蛋白的熔球态具有较大的疏水表面,具有较强的疏水性,易发生疏水性结合。

## 5 蛋白质熔球态的表征方法

圆二色谱(近/远紫外圆二色谱)、荧光光谱(色氨酸内源荧光、ANS 外源荧光)以及核磁共振和氘气交换技术均可以有效的对球状蛋白的熔球状态的结构特征进行表征。

### 5.1 圆二色谱法

圆二色性光谱法是研究溶液中蛋白质分子构象的常

规手段, 一般分为 2 段, 一段是 185~245 nm, 称为远紫外区; 另一段是 245~320 nm, 称为近紫外区。远紫外是肽键的吸收峰范围, 反映蛋白质主链的二级结构构象, 在远紫外区蛋白质处于天然状态时圆二色谱线是 190 nm 左右为正峰, 205~235 nm 时为负槽。近紫外区, 蛋白质的圆二色性主要由侧链基团所贡献, 即观察其三级结构<sup>[38]</sup>。在蛋白质熔球态的圆二色谱测定时, 通过远紫外圆二色谱拟合图可以发现, 熔球态的二级结构图像与天然态相类似, 曲线接近且保持同一趋势。而近紫外圆二色谱拟合图中, 熔球态的曲线与完全变性态的接近且相似, 即为一条平坦的曲线。如 Sattarahmady 等<sup>[39]</sup>使用不同浓度葡萄糖对 pH 7.4、0.2 mg/mL 的人类血清蛋白糖基化培养不同天数时发现, 在 35 mmol/L 浓度下培养 21 d 得到了其熔球态结构, 通过远紫外圆二色谱的检测, 计算平均残基摩尔椭圆度做圆二色曲线谱图发现, 35 mmol/L 葡萄糖糖基化 21 d 后的人血清蛋白的二级结构与未糖基化 21 d(新鲜的)的人血清蛋白的二级结构相似。López-Llano 等<sup>[40]</sup>在采用  $\phi$ -平衡分析法研究 1-149-脱辅黄素氧化还原蛋白片段(重组片段)熔球态的能量和结构的变化中, 采用远/近紫外光圆二色性光谱分别对 1-149-脱辅黄素氧化还原蛋白片段、不同突变体以及全长的野生型脱辅黄素氧化还原蛋白进行二级和三级结构的监测。发现与全长的野生型脱辅黄素氧化还原蛋白相比, 野生型 1-149-脱辅黄素氧化还原蛋白片段的熔球态二级结构变化不明显。在 0.5 mol/L 氯化钠存在条件下观察的近紫外光谱中, 1-149-脱辅黄素氧化还原蛋白曲线是保持平坦的, 说明没有明显的三级结构。Watanabe 等<sup>[41]</sup>对犬乳中溶菌酶熔球态的  $\beta$  区域中非天然  $\alpha$  螺旋形成的研究中, 采用远紫外光圆二色性光谱和 AGADIR 算法, 发现熔球态下的螺旋含量高于天然状态下, 表明了犬乳溶菌酶熔球态下, 有非天然的  $\alpha$  螺旋结构的形成, 且这种结构可能是在第三  $\beta$ -链区域形成的, 在近紫外光谱下, 熔球态的局部三级结构发生缺失, 但蛋白质仍保持球状。

## 5.2 荧光光谱法

荧光光谱法主要以蛋白质分子内的色氨酸为对象, 通过荧光强度的形式表现出结构的变化程度, 从而成为判断是否成为熔球态的依据之一。一般情况, 与天然态相比, 熔球态的内源性色氨酸荧光强度更弱, 但却比完全伸展态要强。但是有些蛋白在天然态时, 复杂的空间构象会形成自身的荧光淬灭效果, 因此这些蛋白熔球态的荧光强度会比天然态时的荧光强度更高。但是, 无论熔球态荧光强度发生增强还是减弱, 其最大激发波长较天然态时, 是发生红移的。如 Chaudhuri 等<sup>[42]</sup>采用荧光光谱法对牛乳  $\alpha$ -乳清蛋白的天然态和熔球态进行检测观察, 牛乳  $\alpha$ -乳清蛋白天然状态下的色氨酸最大发射波长在 330 nm 处, 熔球态下的发射光谱中发生了红移, 色氨酸最大发射波长在 338 nm;

尿素诱导的完全变性的牛乳  $\alpha$ -乳清蛋白荧光光谱中最大发射波长在 348 nm 处。Bohlooli 等<sup>[43]</sup>在以 3- $\beta$ -羟丁酸作为酮体诱导人血清蛋白熔球态的研究中, 发现由 3- $\beta$ -羟丁酸对人血清蛋白变性过程中的荧光强度随时间的增加而降低; 并在 21 d 时人类血清蛋白形成熔球状态。Alam 等<sup>[44]</sup>通过内源性荧光光谱法发现, 相较于天然状态的大豆凝集素蛋白的最大激发波长在 339 nm 处, 在 pH 2.2 条件下诱导得到的大豆凝集素蛋白熔球态的最大激发波长红移了 3 nm, 且荧光强度显著降低。

## 5.3 核磁共振波谱与氘氘交换技术

### 5.3.1 核磁共振波谱法

液相核磁共振波谱法(nuclear magnetic resonance, NMR)是一种被广泛接受并用于研究溶液中蛋白质折叠、展开/再折叠和部分折叠状态的结构与动力学的强大技术。核磁共振信号的弛豫参数包含了蛋白质分子运动的信息, 可以作为探针来获得蛋白质分子的动力学特性。通常用于蛋白质动力学研究的宏观可测弛豫参数包括: 纵向弛豫速率  $R_1$ , 横向弛豫速率  $R_2$ , 以及异核稳态(nuclear overhauser effect, NOE)效应。通过核磁共振法可以测得蛋白质分子中的螺旋含量、进行化学位移归属、记录蛋白质分子中螺旋与不规则卷曲之间的转化过程、测定蛋白质特定区域的构象等。传统的核磁共振方法需要对蛋白质进行同位素的标记, 采集目标蛋白质的多维 NMR 谱对其  $^1\text{H}$  原子、 $^{15}\text{N}$  原子、 $^{13}\text{C}$  原子进行主链和侧链的化学位移归属和指认。蛋白质的结构计算可以通过多套 NMR 实验来获得约束。NOE 实验可以获得核之间近程的距离约束<sup>[45]</sup>。

核磁共振波谱技术已经广泛应用于形成蛋白质熔球态的测定中, 用以研究蛋白质熔球态形成过程中的动力学变化特征。如 Kim 等<sup>[46]</sup>对豚鼠的  $\alpha$ -乳清蛋白酸诱导的熔球态进行核磁共振测定发现, 在  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSCQ 光谱中大多数交叉峰出现了变宽的现象, 这表明存在着交换变宽和复杂的动力学行为。当化学位移值大于 8 ppm 时, 图谱中出现了一些更尖锐的共振, 表明存在各种弛豫性质的  $^{15}\text{N}$  共振。通过  $^{15}\text{N}$  CP-R2 CPMG(carr paucell meiboom gill)弛豫实验在 0.1~2.0 ms 时间尺度范围内检测发现,  $\alpha$ -乳清蛋白熔球态的构象波动范围在 0.2~0.5 ms。此外得到  $\alpha$ -乳清蛋白熔球态核心的主链运动平均活化能值为 4 kcal/mol, 比天然态(20~50 kJ/mol)的活化能要小的多。Ramboarina 等<sup>[47]</sup>对 20 °C, pH 2.0 条件下诱导的人血清视黄醇结合蛋白(retinol binding protein, RBP)熔球态进行 NMR 监测, 发现熔球态状态下在 HSQC 光谱中仅能观察到一个峰, 这是由于熔球态的构象异质性和复杂的动力学性质导致了极端线展宽和峰的缺失。在添加不同浓度尿素后发现, 随着尿素浓度的增加, 峰数量也随之增加, 在 8 mol/L 尿素浓度时, 观察到所有的预期峰。表明 PBR 熔球态的展开可以在单个

残基的水平上进行监测,在特定的尿素浓度下的首个峰值出现后,可以清楚地观察到整个滴定过程中 RBP 的 176 个酰胺架的 118 个共振。Mishra 等<sup>[48]</sup>通过 NMR 的  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSCQ 光谱观察到 pH 2.0 条件下诱导的恶性疟原虫 P2 单体的熔球态的峰值仅有近 40 个,而完全伸展的预期峰值为 138 个。观察到在 25 °C、pH 7.4 的条件下加入 ANS 后的 PfP2 四聚体的 2D  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC 光谱中 C-末端残基与未加入 ANS 的 C-末端残基相比没有发生位移变化,说明 C-末端结构域与 ANS 不反应,即疏水腔是蛋白质的 N-末端构建的。此外,在添加尿素后也发现,随着尿素浓度的增加峰数目逐渐变多。通过采用  $^{15}\text{N}$ -CPMG 弛豫扩散实验方法,得到了  $\mu\text{s}$ - $\text{ms}$  时间尺度下 PfP2 四聚体和二聚体的结合位点。

利用二维氢谱只能解析分子量小于 10 kD 的蛋白质。而对于分子量大于 10 kD 而小于 25 kD 的蛋白质,由于氢谱的谱峰重叠比较严重,需要使用  $^{13}\text{C}$  和  $^{15}\text{N}$  标记的样品,采集一系列的  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$  三共振谱图进行化学位移归属和结构解析。对于分子量更大的蛋白质,则需要使用  $\text{D}_2\text{O}$  配制的溶液获得氘代的蛋白样品进行核磁共振实验<sup>[49]</sup>。

### 5.3.2 氘交换

氘交换是指将蛋白质样品溶解在重水( $\text{D}_2\text{O}$ )中,此时蛋白质分子中主链酰胺键上不稳定的氢原子会与重水溶液中的氘原子进行交换,根据此交换过程可以对蛋白质的结构进行研究,这个交换过程会受到 pH、温度以及相邻的侧链等影响<sup>[50,51]</sup>。氘交换实验允许在低 pH 条件下形成熔球态的时间内进行,然后通过回调 pH 值来终止氘交换。熔球态下,大量的酰胺与溶剂缓慢的交换并在核磁共振谱上产生明显的波动。在低 pH 条件下不同的交换周期内,实验重复使用重水进行溶解,会观察到随着交换周期的增加,这些共振的整体强度是降低的,从而得到了熔球状态下这些氢交换的独特速率<sup>[52]</sup>。

此外,二维核磁共振(2D NMR)氘交换实验还可以用来识别二级结构形成所涉及的特定残基<sup>[53]</sup>。蛋白质熔球态与天然态一样,具有明显且大量的二级结构,特别是  $\alpha$  螺旋结构<sup>[54]</sup>。这些二级结构可以被用来获取氘交换中有关酰胺保护的信息<sup>[55]</sup>。如 Schanda 等<sup>[56]</sup>将牛的天然态  $\alpha$ -乳清蛋白溶解在 pH 2.0 的重水溶液中,得到浓度为 300  $\mu\text{mol/L}$  的蛋白溶液,并在 30 s~3.5 h 的时间范围内选取特定时间点等分样品后冷冻以猝灭交换。将冷冻干燥后的样品在 pH 5.5 的条件下重新溶解在含有  $\text{Ca}^{2+}$  的缓冲溶液中,并采用 COSY 光谱收集酰胺。发现牛  $\alpha$ -乳清蛋白熔球状态下  $\alpha$  螺旋域的 A、B 以及 C 端螺旋的保护因子(大约 100 左右)远远的低于天然状态下的(约为 107),但是酰胺在 D 和 C 末端形成的螺旋在熔球态中没有被发现,因此说明在蛋白质天然状态下这些螺旋中的酰胺是不被保护的。Annika 等<sup>[57]</sup>利用 NMR 波谱表征了大分子(29 kD)的人碳酸酐酶的氢交

换过程以及熔球态聚集的特征。人碳酸酐酶的熔球态与天然态在观察到的酰胺质子中提供氘交换保护是相似的,在高蛋白浓度下熔球态形成了较大的聚集。Honda 等<sup>[58]</sup>通过氘交换实验与核磁共振联用表征了在 pH 2.0 条件下酸诱导得到了朊病毒蛋白独特的熔球态。 $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC 二维核磁共振光谱结果表明,朊病毒蛋白熔球态在 7.5 和 9 ppm 附近的峰几乎消失,但是在 8.5 ppm 附近熔球态比天然态的峰值略微增加;根据光谱中峰强度和形状表明此状态的蛋白质是未完全伸展的。此外,在 pH 2.0 条件下的 N-末端结构域(残基 90~119)中峰的弛豫时间  $T_2$  与 pH 4.6 时是大致相同,这表明熔球态下此结构域的仍具有灵活性。氘交换和核磁共振联用实验表明,朊病毒蛋白熔球态的保护系数比天然的要小,保护因子谱表明熔球态在 H2-H3 区域是轻微稳定的,而 S1-H1-S2 区域在很大程度上是不稳定的。

## 6 熔球态蛋白质的功能性质

蛋白质无论在生命系统还是在食品中都具有一定的功能特性和作用,熔球态蛋白质一般情况下会依然保持这种特性,并在某些情况下,具有更加良好的功能意义。Kasper 等<sup>[59]</sup>对熔球态的大肠杆菌的二氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductase, DHFR)与配体的结合情况发现,  $\text{NADP}^+$ (一种功能配体,辅酶II)与熔球态的 DHFR 结合方式与天然态的相似,此外通过对 DHFR- $\text{NADP}^+$ 配合物晶体结构以及不同  $\text{NADP}^+$ 浓度下 DHFR 部分展开所需的自由能分析,发现熔球态的腺嘌呤结构域保持天然态的结构和结合腺嘌呤的能力。Hilvert's 团队发现单体形式存在的熔球态分支酸变位酶(methylmalonylcoenzyme amutase, mCM)其结构比天然态更紧密,并具有比天然态更高的活性。通过配体和 mCM 结合的动力学和热力学实验研究表明,熔球态的支酸变位酶与配体结合/释放过程要比天然态下的快的多<sup>[60]</sup>。此外,熔球态蛋白质在细胞的信号传导<sup>[61]</sup>、细胞器膜插入和易位的过程<sup>[62]</sup>、参与  $\text{E}_1$ - $\text{E}_2$ - $\text{E}_3$  级联反应<sup>[63]</sup>以及 DNA 和其他蛋白的相互作用<sup>[64]</sup>等都起着重要的作用。

另一方面,熔球态的蛋白质具有较强的表面活性,其乳化性、凝胶性、起泡性及其他蛋白质间的作用均较天然态和完全变性的蛋白质有十分明显改善<sup>[65,66]</sup>。凝胶性是大豆分离蛋白非常重要的功能性质,其中 7S 和 11S 的亚基组成对凝胶性起到重要的作用,7S 主要影响蛋白凝胶的粘弹性,而 11S 比例越高,凝胶硬度更大。热处理后的蛋白结构的变性展开对凝胶的形成具有明显的影响。Feng 等<sup>[67]</sup>报道了大豆蛋白在 90 °C 或 95 °C 预热处理 3 min 提高了蛋白的凝胶能力。同样, Campbell 等<sup>[68]</sup>也发现大豆蛋白在 95 °C 水浴加热 10 min 后比未加热样品显著提高了凝胶弹性模量。Jiang 等<sup>[69]</sup>通过极端 pH 偏移处理得到大豆蛋白的熔球态,提高了大豆 SPI、7S 和 11S 的乳化活性和乳化稳

定性, 其中大豆 11S 的乳化性得到了大幅度的提高; 在较低离子强度下( $\leq 0.1$  mol/L NaCl), pH 12 偏移处理后的大豆 SPI 和 11S 蛋白在 pH 2~3 和 6~8 缓冲液中的溶解度显著提高, 而 pH 1.5 偏移处理后增加略小。此外极端 pH 偏移处理后的大豆蛋白膜厚度增加, 湿度含量略有增加, 拉伸性明显增加, 但拉伸强度和阻湿能力降低。此外, Lajnaf 等<sup>[70]</sup>发现骆驼乳蛋白熔球态蛋白的起泡性比天然态有了明显的改善。目前, 无论国内外, 对熔球态蛋白的功能性质这一方向的研究尚不完善, 亟待解决。

## 7 总结与展望

目前蛋白质熔球态结构特征的表征手段已经被很好的证实了。但对于蛋白质熔球态的研究还存在以下不足: (1) 虽然蛋白质熔球态的功能性质被越来越多的人关注, 熔球态蛋白在某些情况下功能性得到了改善, 但是目前对于其研究的深度还远远不足。(2) 蛋白质熔球态形成的机制尚未明确, 对于这一机制的研究使得蛋白质折叠/去折叠理论更加完善。(3) 如何获得稳定的蛋白质熔球态方法尚未完善。以上不足将成为蛋白质熔球态研究的主要方向。

## 参考文献

- [1] 张雪梅, 蒋雨. 蛋白质结构与食品功能性质的关系研究[J]. 肉类研究, 2009, (5): 71-74.  
Zhang XM, Jiang Y. Study on the relationship between protein structure and functional properties of food [J]. Meat Res, 2009, (5): 71-74.
- [2] Anfinsen CB, Haber E, Sela M, *et al.* The kinetics of formation of native ribonuclease during oxidation of the reduced polypeptide chain [J]. P Natl Acad Sci USA, 1961, 47(9): 1309-1314.
- [3] Levinthal C. Are there pathways for protein folding? [J]. J Chim Phys Physico-Chim Biol, 1968, 65(62): 44-45.
- [4] Ptitsyn OB. Protein folding: Hypotheses and experiments [J]. Protein Chem, 1987, 6(4): 273-293.
- [5] Dolgikh DA, Gilmanshin RI, Brazhnikov EV, *et al.*  $\alpha$ -Lactalbumin: Compact state with fluctuating tertiary structure? [J]. Febs Lett, 1981, 136(2): 311-315.
- [6] Ohgushi M, Wada A. 'Molten-globule state': A compact form of globular proteins with mobile side-chains [J]. Febs Lett, 1983, 164(1): 21-24.
- [7] Barrick D, Baldwin RL. The molten globule intermediate of apomyoglobin and the process of protein folding [J]. Protein Sci, 1993, 2: 869-876.
- [8] Ptitsyn OB, Uversky VN. The molten globule is a third thermodynamical state of protein molecules [J]. Febs Lett, 1994, 341(1): 15-18.
- [9] Arai M, Kuwajima K. Rapid formation of a molten globule intermediate in refolding of  $\alpha$ -lactalbumin [J]. Folding Design, 1996, 1(4): 275-287.
- [10] Uversky VN, Semisotnov GV, Pain RH, *et al.* 'All-or-none' mechanism of the molten globule unfolding [J]. Febs Lett, 1992, 314(1): 89-92.
- [11] Ptitsyn OB, Pain RH, Semisotnov GV, *et al.* Evidence for a molten globule state as a general intermediate in protein folding [J]. Febs Lett, 1990, 262(1): 20-24.
- [12] Goto Y, Takahashi N, Fink AL. Mechanism of acid-induced folding of proteins [J]. Biochem US, 1990, 29(14): 3480-3488.
- [13] Zhen X, Qiang X, Zhou HM. Trichloroacetic acid-induced molten globule state of aminoacylase from pig kidney [J]. Protein Chem, 2003, 22(7-8): 669-675.
- [14] Kumari NKP, Jagannadham MV. SDS induced molten globule state of heynein; a new thiol protease: Evidence of domains and their sequential unfolding [J]. Coll Surfaces B Biointerfaces, 2011, 82(2): 609.
- [15] Devaraj KB, Kumar PR, Prakash V. Characterization of acid-induced molten globule like state of ficin [J]. Int J Biol Macromol, 2009, 45(3): 0-254.
- [16] Golaki BP, Aminzadeh S, Karkhane AA, *et al.* The effect of pH on globular state of lipase-3646; An appropriate model for molten globule investigations [J]. Protein J, 2015, 34(4): 267-274.
- [17] Yeh YQ, Liao KF, Shih O, *et al.* Probing the acid-induced packing structure changes of the molten globule domains of a protein near equilibrium unfolding [J]. J Phys Chem Lett, 2017, 8(2): 470.
- [18] Dave S, Mahajan S, Chandra V, *et al.* Specific molten globule conformation of stem bromelain at alkaline pH [J]. Arch Biochem Biophys, 2010, 499(1-2): 0-31.
- [19] Sen P, Ahmad B, Khan RH. Formation of a molten globule like state in bovine serum albumin at alkaline pH [J]. Eur Biophys J Biophys, 2008, 37(8): 1303.
- [20] Polverinod LP, Frare E, Gottardo R, *et al.* Molten globule of bovine  $\alpha$ -lactalbumin at neutral pH induced by heat, trifluoroethanol, and oleic acid: A comparative analysis by circular dichroism spectroscopy and limited proteolysis [J]. Proteins, 2002, 49(3): 385-397.
- [21] Chaudhuri A, Haldar S, Chattopadhyay A. Organization and dynamics of tryptophans in the molten globule state of bovine  $\alpha$ -lactalbumin utilizing wavelength-selective fluorescence approach: Comparisons with native and denatured states [J]. Biochem Biophys Res Co, 2010, 394(4): 1082-1086.
- [22] NCBI. Heat-denaturation and aggregation of quinoa (*Chenopodium quinoa*) globulins as affected by the pH value [J]. Food Chem, 2016, 196: 17-24.
- [23] Wit JND. Thermal behaviour of bovine  $\beta$ -lactoglobulin at temperatures up to 150 °C. a review [J]. Trends Food Sci Tech, 2009, 20(1): 27-34.
- [24] Laurette T, Céline M, Saïd B, *et al.* Interactions between aroma compounds and  $\beta$ -lactoglobulin in the heat-induced molten globule state [J]. Food Chem, 2010, 119: 1550-1556.
- [25] Kamiyama T, Marutani T, Dai K, *et al.* Thermodynamic and kinetic properties of sorbitol-induced molten globule of myoglobin [J]. J Therm Anal Calorim, 2015, 123(3): 1-9.
- [26] Iram A, Naeem A. Trifluoroethanol and acetonitrile induced formation of the molten globule states and aggregates of cellulase [J]. Int J Biol Macromol, 2012, 50(4): 932.
- [27] Bohlooli M, Moosavi-Movahedi AA, Taghavi F, *et al.* Thermodynamics of a molten globule state of human serum albumin by 3- $\beta$ -hydroxybutyrate as a ketone body [J]. Int J Biol Macromol, 2013, 54: 258-263.
- [28] Kumari NKP, Jagannadham MV. SDS induced molten globule state of heynein; a new thiol protease: Evidence of domains and their sequential unfolding [J]. Colloid Surface B, 2011, 82(2): 609-615.
- [29] Chen G, Miao M, Jiang B, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure on *Rhizopus chinensis*, lipase: II. Intermediate states during unfolding [J]. Innov Food Sci Emerg, 2017, 45.

- [30] Marion J, Trovaslet M, Martinez N, *et al.* Pressure-induced molten globule state of human acetylcholinesterase: Structural and dynamical changes monitored by neutron scattering [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2015, 17(5): 3157–3163.
- [31] Balobanov VA, Katina NS, Finkelstein AV, *et al.* Intermediate states of apomyoglobin: Are they parts of the same area of conformations diagram? [J]. *Biochem Biokhimiia*, 2017, 82(5): 625.
- [32] Gilmanshin RI, Abaturavl V, Bolotina IA, *et al.* Compact state of a protein molecule with pronounced small-scale mobility: Bovine  $\alpha$ -lactalbumin [J]. *Eur Biophys J Ebj*, 1985, 13(2): 109–121.
- [33] Gast K, Zirwer D, Welfle H, *et al.* Quasielastic light scattering from human  $\alpha$ -lactalbumin: Comparison of molecular dimensions in native and 'molten globule' states [J]. *Int J Biol Macromol*, 1986, 8(4): 231–236.
- [34] Stojanovski BM, Breydo L, Hunter GA, *et al.* Catalytically active alkaline molten globular enzyme: Effect of pH and temperature on the structural integrity of 5-aminolevulinic synthase [J]. *Biophys J*, 2014, 1844(12): 2145–2154.
- [35] Semisotnov GV, Rodionova NA, Razgulyaev OI, *et al.* Study of the "molten globule" intermediate state in protein folding by a hydrophobic fluorescent probe [J]. *Biopolymers*, 1991, 31(1): 119–128.
- [36] Dumont ME, Richards FM. The pH-dependent conformational change of diphtheria toxin [J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(4): 2087–2097.
- [37] Lala AK, Kaul P. Increased exposure of hydrophobic surface in molten globule state of alpha-lactalbumin. Fluorescence and hydrophobic photolabeling studies [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(28): 19914–19918.
- [38] 赵新淮, 徐红华, 姜毓君. 食品蛋白质: 结构、性质与功能[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- Zhao XH, Xu HH, Jiang YJ. Food protein: Structure, properties and function [M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [39] Sattarahmady N, Moosavi-Movahedi AA, Ahmad F, *et al.* Formation of the molten globule-like state during prolonged glycation of human serum albumin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770(6): 933–942.
- [40] López-Lano J, Campos LA, Bueno M, *et al.* Equilibrium phi-analysis of a molten globule: The 1–149 apoflavodoxin fragment [J]. *J Mol Biol*, 2006, 356(2): 354–366.
- [41] Watanabe M, Kobashigawa Y, Aizawa T, *et al.* A non-native  $\alpha$ -helix is formed in the  $\beta$ -sheet region of the molten globule state of canine milk lysozyme [J]. *Protein J*, 2004, 23(5): 335–342.
- [42] Chaudhuri A, Halder S, Chattopadhyay A. Organization and dynamics of tryptophans in the molten globule state of bovine alpha-lactalbumin utilizing wavelength-selective fluorescence approach: comparisons with native and denatured states [J]. *Biochem Biophys Res Co*, 2010, 394(4): 1082–1086.
- [43] Bohlooli M, Moosavimovahedi AA, Taghavi F, *et al.* Thermodynamics of a molten globule state of human serum albumin by 3- $\beta$ -hydroxybutyrate as a ketone body [J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 54(1): 258–263.
- [44] Alam P, Naseem F, Abdelhameed AS, *et al.* Effect of galactose on acid induced molten globule state of soybean agglutinin: Biophysical approach [J]. *J Mol Struct*, 2015, 1099: 149–153.
- [45] 顾新华. 蛋白质动态结构研究的化学生物学方法[D]. 武汉: 中国科学院研究生院, 2016.
- Gu XH. Chemical biology methods for visualizing the structure and dynamics of proteins [D]. Wuhan: University of Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [46] Kim S, Brackenc J. Characterization of millisecond time-scale dynamics in the molten globule state of alpha-lactalbumin by NMR [J]. *J Mol Biol*, 1999, 294(2): 551–560.
- [47] Ramboarina S, Redfield C. Structural characterisation of the human alpha-lactalbumin molten globule at high temperature [J]. *J Mol Biol*, 2003, 330(5): 1177–1188.
- [48] Mishra P, Choudhary S, Mukherjee S, *et al.* Molten globule nature of plasmodium falciparum P2 homo-tetramer [J]. *Biochem Biophys Reports*, 2015, 1(1): 97–107.
- [49] 胡蕴菲, 金长文. 蛋白质溶液结构及动力学的核磁共振研究[J]. *波谱学杂志*, 2009, 26(2): 151–172.
- Hu YF, Jin CW. NMR studies of protein solution structures and dynamics [J]. *Chin J Magn Reson*, 2009, 26(2): 151–172.
- [50] Bai Y, Sosnick TR, Maune L, *et al.* Protein folding intermediates: Native-state hydrogen exchange [J]. *Science*, 1995, 269(5221): 192–197.
- [51] Englander SW, Kallenbach NR. Hydrogen exchange and structural dynamics of proteins and nucleic acids [J]. *Q Rev Biophys*, 1983, 16(4): 521–655.
- [52] Mizuguchi M, Aiazawa T, Kawano K, *et al.* Chapter 2 NMR studies of protein folding: Folding studies of calcium-binding lysozyme and  $\alpha$ -lactalbumin [J]. *Annu Rep Nmr Spectro*, 2009, 65: 53–76.
- [53] Redfield C. Using nuclear magnetic resonance spectroscopy to study molten globule states of proteins [J]. *Methods*, 2004, 34(1): 121–132.
- [54] Forge V, Hoshino M, Kuwata K, *et al.* Is folding of beta-lactoglobulin non-hierarchical? Intermediate with native-like beta-sheet and non-native alpha-helix [J]. *J Mol Biol*, 2000, 296(4): 1039–1051.
- [55] Baum J, Dobson CM, Evans PA, *et al.* Characterization of a partly folded protein by NMR methods: Studies on the molten globule state of guinea pig alpha-lactalbumin [J]. *Biochem US*, 1989, 28(1): 7–13.
- [56] Schanda P, Forge V, Brutscher B. Protein folding and unfolding studied at atomic resolution by fast two-dimensional NMR spectroscopy [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(27): 11257–11262.
- [57] Annika K, Ingmar SA, Bengtharald J. Hydrogen exchange in a large 29 kD protein and characterization of molten globule aggregation by NMR† [J]. *Biochem US*, 2003, 42(2): 363.
- [58] Honda RP, Yamaguchi K, Kuwata K. Acid-induced molten globule state of a prion protein: Crucial role of strand 1-helix 1-strand 2 segment [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(44): 30355–3063.
- [59] Kasper JR, Park C. Ligand binding to a high-energy partially unfolded protein [J]. *Protein Sci*, 2015, 24(1): 129–137.
- [60] Vamvaca K, Vogeli B, Kast P, *et al.* An enzymatic molten globule: Efficient coupling of folding and catalysis [J]. *P Natl Acad Sci*, 2004, 101(35): 12860–12864.
- [61] Rajesh K, Rajesh K, Deepak S, *et al.* BBA-proteins proteom [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Proteins Proteomics*, 2018: S157096391830147X–.
- [62] Baker BY, Yaworsky DC, Miller WL. A pH-dependent molten globule transition is required for activity of the steroidogenic acute regulatory protein, star [J]. *J Biol Chem*, 2006, 280(50): 41753–41760.
- [63] Goto Y, Fink AL. Conformational states in beta-lactamase: Molten-globule states at acidic and alkaline pH with high salt [J]. *Biochem US*, 1989, 28(3): 945–952.
- [64] Chen L, Balabanidou V, Remeta DP, *et al.* Structural instability tuning as a

regulatory mechanism in protein-protein interactions [J]. *Mol Cell*, 2011, 44(5): 734–744.

[65] Haque MA, Ubaid-Ullah S, Zaidi S, *et al.* Characterization of pre-molten globule state of yeast iso-1-cytochrome c and its deletants at pH 6.0 and 25 °C [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 1406–1418.

[66] Solution structure of the Q41N variant of ubiquitinas a model for the alternatively folded N2 state of ubiquitin [J]. *Biochem US*, 2013, 52(11): 1874–1885.

[67] Feng J, Xiong YL. Interaction of myofibrillar and preheated soy proteins [J]. *J Food Sci*, 2002, 67(8): 6.

[68] Campbell LJ, Gu X, Dewar SJ, *et al.* Effects of heat treatment and glucono- $\delta$ -lactone-induced acidification on characteristics of soy protein isolate [J]. *Food Hydrocoll*, 2009, 23(2): 344–351.

[69] Jiang J, Chen J, Xiong YL. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(16): 7576–7583.

[70] Lajnaf R, Picartpalmade L, Attia H, *et al.* The effect of pH and heat

treatments on the foaming properties of purified  $\alpha$ -lactalbumin from camel milk [J]. *Coll Surf B*, 2017, 156: 55–61.

(责任编辑: 苏笑芳)

### 作者简介



李祥鹏, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品加工及贮藏工程。  
E-mail: 18800466023@163.com



张娜, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全与食品化学。  
E-mail: foodzhangna@163.com



## 食品接触材料研究专题征稿函

食品与药品接触材料是指用于制造食品包装容器和构成食品包装的材料总称, 包括纸、塑料、金属、玻璃、陶瓷等原材料以及粘合剂, 涂覆材料等各种辅助材料。食品与药品包装是食品的重要组成部分, 具有保护食品与药品不受外来生物、化学和物理因素的影响, 维持食品与药品质量稳定的特点。为了满足各种食品与药品的包装要求, 接触材料必须具备适当的阻隔性、足够的机械强度、化学稳定性、耐高温及光学性能等多种性能。此外, 当接触材料直接与食品、药品接触时, 有些物质会迁移渗透到食品、药品中, 可能导致食品、药品的安全隐患。因此, 食品与药品接触材料的安全问题也显得尤为重要。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品接触材料研究”专题, 由华南农业大学 向红 教授担任专题主编, 主要围绕食品接触材料的制备、性能(机械性能、阻隔性、化学稳定性、抗菌性及其他性能)、接触材料中有害物质的检测及其向食品中的迁移行为、绿色及智能接触材料的研究与开发等方面或您认为有意义的相关领域展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 学报主编吴永宁技术总师和专题主编向红 教授特邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在 2019 年 11 月正刊出版, 请在 2019 年 9 月 20 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。希望您能够通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。感谢您的参与和支持!

投稿方式: 备注“2019 专题: 食品接触材料研究”

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoods@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部