

激光光散射技术在食品蛋白体系中的应用

喻 姣¹, 张秋萍¹, 王春晓¹, 牛付阁^{1,2}, 周 娉¹, 王美婧¹, 潘伟春^{1*}

(1. 浙江工商大学食品与生物工程学院, 杭州 310018; 2. 荣达禽业股份有限公司, 宣城 242000)

摘 要: 激光光散射技术是一种测量灵敏度高、时间短、测得结果可重复性较高的检测技术, 被广泛应用于食品医药、化学材料、生物工程等领域。食品蛋白体系非常复杂, 成分多且成分间存在强相互作用, 组分分布高度不均, 给食品蛋白检测带来诸多不便。将激光光散射技术应用于食品蛋白体系检测具有重要意义。本文综述了激光光散射技术的基本原理以及在食品蛋白体系中的应用, 以期建立检测食品蛋白体系中分子间相互作用力大小、颗粒大小及形状结构的检测方法提供理论依据。

关键词: 激光光散射技术; 食品蛋白体系; 分子间相互作用力; 颗粒大小; 形状结构

Application of laser light scattering technology in food protein system

YU Jiao¹, ZHANG Qiu-Ping¹, WANG Chun-Xiao¹, NIU Fu-Ge^{1,2}, ZHOU Yu¹,
WANG Mei-Jing¹, PAN Wei-Chun^{1*}

(1. School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China; 2. Rongda Poultry Co., LTD., Xuancheng 242000, China)

ABSTRACT: Laser light scattering technology is a kind of detection technology with high sensitivity, short time and high repeatability. It is widely used in food medicine, chemical materials, biological engineering and other fields. The food protein system is very complex, with many components and strong interaction between components. and the distribution of components is highly uneven, which brings a lot of inconvenience to food protein testing. It is of great significance to apply laser light scattering technology to the detection of food protein systems. This paper reviewed the basic principle and application of laser light scattering technology in food protein system, in order to provide theoretical basis and reference for establishing detection methods of inter molecular interaction force, particle size and shape structure in food protein system.

KEY WORDS: laser light scattering technology; food protein system; inter molecular interaction force; particle size; shape structure

1 引 言

光散射技术始于 1869 年 John Tyndall 对大气中气溶胶现象的观察^[1,2]和 Rayleigh 于 1871 年^[3-5]和 1881 年^[6]对此现象作的理论解释, 这些实验现象和理论开始用于解释大

量的物理现象。1899 年 Rayleigh^[7]用光散射理论解释了蓝色天空和傍晚晚霞满天的现象, 并在 1910 年^[8]、1914 年^[9]和 1918 年^[10]推导出一套公式用于阐述任意大小球形颗粒的光散射行为。Debye^[11]于 1915 年对非球形颗粒的光散射体系作了有益的尝试。针对颗粒远大于散射光的光波长的

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171713, 31701650)、浙江省自然科学基金项目(LY17C200004)、浙江省重点项目(JYTsp20142014)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31171713, 31701650), the Natural Science Foundation of Zhejiang province (LY17C200004), and the Key program of Zhejiang Province (JYTsp20142014)

***通讯作者:** 潘伟春, 教授, 主要研究方向为食品现代制造。E-mail: wpan@mail.zjgsu.edu.cn

***Corresponding author:** PAN Wei-Chun, Professor, Food Science and Biotechnology School, Zhejiang Gongshang University, No.18, Xuezheng Street, High Education District, Xiasha, Hangzhou, 310018, China . E-mail: wpan@mail.zjgsu.edu.cn

体系, Mie 1908 年建立了新的模型——Mie scattering^[12], 以区别于 Rayleigh 开创的模型——Rayleigh scattering。用于光散射的光源也从最初的可见光、红外光, 发展到激光、X-光和中子光源。后面的 3 种光源, 目前比较常见。就激光光散射而言, 它的光强和其他光源比很高, 因此可在短时间内针对较低浓度的体系完成检测, 后面的 2 种光源, 由于其有很高的能量, 因此对应的光波长很小, 因此可用来检测粒子内/间的微小变化。但其成本高, 目前国内相关光源还不是很充裕。

本文主要介绍了激光光散射技术的基本原理, 重点综述了实验室近几年激光光散射技术在食品蛋白体系中的应用, 以期日后提高激光光散射技术在食品领域的应用提供参考。

2 激光光散射基本原理

光散射就其测量原理而言, 存在 2 种模式: 动态(dynamic)和静态(static), 其测量的物理量都是散射光光强随时间变化的信息。评价光散射仪器的一个关键指标就是该系统的最小时间分辨率。动态光散射(dynamic light scattering, DLS)是利用相关器(correlator)处理这些光强信号间在时域的相关性得到电场强度自关联方程(electric field autocorrelation function) $g_2(t)-1$, 再利用拉普拉斯变换, 求得相应的衰变时间分布方程。为了尽可能的减少此数据处理过程的信号失真, 科学家们提出了不少的算法, 如 CONTIN 技术^[13], 非负最小平方(non-negative least squares)^[14]等。通过 Stokes-Einstein 方程以及布朗运动方程^[15], 测量体系中的颗粒大小可以估算:

$$D = \frac{1}{q^2 \tau} \quad (1a)$$

$$D = \frac{kT}{6\pi\mu R_H} \quad (1b)$$

q 是波矢, $q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin(\frac{\theta}{2})$ (n 是溶剂的折光系数, λ 是入射光的波长, θ 是入射光和散射光的夹角); τ 是衰变时间(min); k 是波尔茨曼常数; T 是温度(°C); μ 是溶剂的黏度; R_H 是水力学半径。当颗粒的大小已知, 此时该颗粒叫做示踪粒子(tracer), 利用方程(1b)实际上可以变形求得溶剂的粘度; 类似的如果溶液是非牛顿流体的话, 可得到流体的粘弹性, 这就是所谓的基于光散射的微流变技术^[16]。方程 1 仅仅对单散射适用, 但实际科研活动中存在高浓度体系。为应对此类挑战, 扩散波谱技术(diffusing wave spectroscopy, DWS)应运而生^[17]。在使用 DWS 时, 首先要核实体系是否适用, 也就是检测在测量体系中的光散射次数。同时, DWS 有 2 种测量模式: 前散和背散, 当体系高度混浊时, 一般只能用背散模式。DWS 的测量原理和一般动态光散射技术基本相似, 遵循从光强的时间信号到关联方程, 利用关联

方程求得颗粒的均方位移差(mean squared displacement, MSD), 进而获取各种粘弹力学特性。但由于光在浑浊相中的多次散射, 光子的平均自由程需确定, 这使得数据处理比一般动态光散射(dynamic light scattering, DLS)复杂。

在处理 DLS 数据时, 需要注意由于颗粒在溶液中进行布朗运动时, 颗粒间的相互作用会影响其动力学行为。因此, R_H 的精确定义是浓度在趋向零时的值, 以排除颗粒间相互作用的影响。同时, 名义扩散系数对颗粒浓度的依赖性可用来探测颗粒间的相互作用以及水力学对颗粒的影响,

$$D_C = D_0 \frac{1-H(q=0)}{S(q=0)} \quad (2a)$$

$$S(q=0, \Phi) \approx 1 - k_S \Phi \quad (2b)$$

$$H(q=0, \Phi) \approx k_H \Phi \quad (2c)$$

$$D_C = D_0 [1 + (k_S - k_H) \Phi] \quad (2d)$$

D_C 是在颗粒体积分率为 Φ 时的颗粒扩散系数; D_0 颗粒浓度趋于 0 时的数值; $H(q)$ 是描述水力学相互作用的 Oseen 表达式; $S(q)$ 是静态结构因子(static structure-factor); k_S 和 k_H 分别表示的是分子间相互作用和水力学相互作用线性化后的斜率^[18]。

关于静态光散射(static light scattering, SLS), 由于测量光强的平均值反映了溶液中颗粒浓度的涨落程度的大小, 通过确定该光强随颗粒浓度的变化, 利用 Zimm—plot 方程(方程 3a), 能估算颗粒的大小(分子量和旋转半径)以及颗粒间相互作用的强弱(二阶维里系数)。如果颗粒大小远小于入射光的光强($\leq \frac{1}{10}$), 该方程可化简为 Rayleigh—Debye 方程(方程 3b)。

$$\frac{KC}{R} = \frac{1}{M_W} \left(1 + \frac{R_g^2}{3} q^2 \right) (1 + 2B_2 C) \quad (3a)$$

$$\frac{KC}{R} = \frac{1}{M_W} (1 + 2B_2 C) \quad (3b)$$

K (仪器常数) = $N_A^{-1} \left(\frac{2\pi n_0}{\lambda^2} \right)^2 \left(\frac{dn_0}{dc} \right)^2$ ^[19], n_0 是溶剂的在入射光的波长下的折光系数, N_A 是阿伏加德罗常数, $\frac{dn_0}{dc}$ 是颗粒溶液的折光系数随颗粒浓度变化的微分系数; $R = I/I_i$ 是散射光对入射光两者光强的 Rayleigh 系数; M_W 是分子量; R_g 是旋转半径; B_2 是二阶维里系数。 B_2 大于 0, 表示溶液中的颗粒存在相互排斥的力; 反之, 就是吸引力。

此外, 由于在高分子溶液中不少结构存在自相似性质, 可利用多角度下的光强信号, 依据方程(4)估算该结构的分维系数。

$$I(q) = q^{-d_f} \quad (4)$$

d_f 为分维系数。此参数可用来估计结构的拓扑特征(见表 1)^[15]。

另一个常见的参数是 ρ -系数, 定义为 $\frac{R_g}{R_H}$, 它也是一个较为常见用来估算结构的拓扑形状的量(见表 2)。

表 1 拓扑形状和分维系数间的关系

Table 1 The typical topological structures and their fractal dimensions

拓扑形状	分维系数
棒状	1
理想高斯无规线团	2
自规避高斯线团	5/3
带枝链的高斯链	16/7
溶胀有枝链的链	2

表 2 拓扑形状和 ρ -系数

Table 2 The typical topological structures with their ρ -coefficients

拓扑	ρ -系数
均相球	0.775
空心球	1
椭球	0.775-4
随机高分子线团	1.505
柱状体(高 L , 直径 D)	$\frac{1}{\sqrt{3}}\ln(\frac{L}{D}-0.5)$

3 激光光散射技术在食品蛋白体系中的应用

和传统的物理和化学体系相比较, 食品蛋白体系非常复杂, 具体表现在: 1)成分多; 2)成分间存在强相互作用, 因此食品中存在多层次多尺度的结构; 3)这导致食品蛋白组分在空域分布高度不均; 4)食品蛋白的非平衡态导致其内部存在众多的物理化学变化, 使得其各成分在时域中不稳定^[19]。这些特点导致激光光散射技术在食品蛋白体系中应用时存在巨大挑战。如^[20-25]:

$$B_2^{no} = \frac{1}{2(<M_W>^{no})^2} \sum_{i,k=1}^n f_i f_k M_W^k M_W^i B_2^{ik} \quad (5a)$$
$$(R_g^{no})^2 = \frac{<\sum_{i,k=1}^n m_{ik}(\frac{r_{ik}}{r_c} - \frac{r_{ck}}{r_c})^2>}{\sum_{i,k=1}^n m_{ik}} = \frac{\sum_{k=1}^n (\frac{\sum_{i=1}^n m_{ik}}{\sum_{i,k=1}^n m_{ik}} \frac{<\sum_{i,k=1}^n m_{ik}(\frac{r_{ik}}{r_c} - \frac{r_{ck}}{r_c})^2>}{\sum_{i=1}^n m_{ik}})}{\sum_{i,k=1}^n m_{ik}} = \sum_{k=1}^n f_k (R_g^k)^2 \quad (5b)$$
$$<M_W>^{no} = \sum_{k=1}^n f_k M_W^k \quad (5c)$$

上标 no 表示光散射测得的测量值; 下标 i, j 等表示不同成分; f 是对应成分的重量分率。

(5a)和(5b)是 Kirkwood 等^[20,22]于 20 世纪 50 年代所得到的研究成果, 揭示了复杂体系里分子间相互作用和表观分子量是如何由各个组分决定的。此后, 根据具体的研究体系, Minton 等^[21,23,24]又对此进行了局部简化并让其能较为方便的在生物体系中应用。他们的研究结果与(5a)、(5b)的表达式差别不大。由于在这 2 个公式中, 有大量的参数要确定, 如各组分间的两体相互作用以及它们的浓度, 因此非常复杂, 目前基本看不到它们在食品中的应用。(5c)表示了表观颗粒大小和实际各个粒子大小之间的关系, 需

要知道各颗粒的大小以及浓度。

虽然存在这些挑战, 但和其他技术相比, 激光光散射技术存在以下优点: (1)非接触式测量。因此, 除了由于某些样品可能存在强吸光效应导致得温度上升, 本技术基本可忽略激光和样品间的相互作用;

(2)测量时间短。一般少于 1 min;

(3)测量灵敏度高;

(4)光散射技术的理论成熟;

(5)所需样品量少;

(6)所测得的结果是测量体积所含颗粒的一个系综平均行为。

在食品蛋白领域中, 激光光散射多与其他仪器联用来测量蛋白的分子量、粒径、回转半径等信息。邱佩等^[26]利用静态激光光散射测定魔芋飞粉蛋白酶解物分子量后, 考察了其对酿酒酵母菌落大小、出芽率、菌体数量及代谢产物影响; 黄友如等^[27]应用激光光散射仪分析大豆分离蛋白加工和热处理过程中聚集体的形成和变化; 刘付等^[28]采用激光光散射技术研究转谷氨酰胺酶催化的 β -乳球蛋白交联反应; 黎亢抗等^[29]采用排阻色谱-多角度激光光散射-折光联用技术(size exclusion chromatography-multi-angle laser light scattering-refraction, SEC-MALLS-RI)研究高静压处理对芸豆分离蛋白分子量分布的影响规律, 揭示高静压处理导致芸豆分离蛋白聚集-解离行为; 肖娜等^[30]运用凝胶渗透色谱/低角度激光光散射联用技术(gel permeation chromatography/ size exclusion chromatography, GPC/SEC)与激光光散射联用技术测定蛋白质的分子量及其分布以及研究蛋白质的聚合状态, 显示了其与众不同的性能; 张兵等^[31]采用色谱柱和激光光散射联用(size exclusion chromatography-multi-angle laser light scattering, SEC-MALLS)的方法对蛋白酶水解明胶制备的胶原蛋白肽进行检测, 得到了产品的分子量分布范围、平均分子量、尖峰分子量及各段分子量内组分含量等信息。

除食品蛋白领域, 激光光散射技术在食品其他领域的应用也较广泛。刘誉繁等^[32]为了明晰不同高压均质条件对大米淀粉分子结构与消化性能的影响, 通过凝胶渗透色谱-多角度激光光散射技术、核磁共振技术和碘比色法考察了均质处理前后大米淀粉分子结构的变化, 以及利用体外模拟法比较了高压均质前后大米淀粉的消化性能; 赵雯等^[33]采用激光光散射仪辅助测量一株从传统酒曲中分离筛选得到的高产胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)解淀粉芽孢杆菌的分子形态: 得到 EPS 在水溶液中重均分子质量、回旋半径、流体力学半径、结构参数, 认为该分子可能为紧密的球状结构; 马霞等^[34]采用高效体积排阻色谱与多角度激光光散射联用仪测定了 3 种方法提取的 β -葡聚糖的分子量分布和多糖平均分子半径, 表明 3 种方法提取的 β -葡聚糖的重均分子质量 m_w 存在差异; 江琦等^[35]采用多角

度激光光散射凝胶渗透色谱和示差联用(gel permeation chromatography multi-angle laser light scattering-reflective index, GPC-MALLS-RI)测定虫草中性多糖(cordyceps militaris polysaccharide, CMP)重均分子质量(weight average molecular mass, MW)和均方根旋转半径(R_g),同时分析了CMP在溶液中的构象; Abdelhaseib 等^[36]利用光散射技术鉴定食品中比较常见 3 种病菌,沙门氏菌、大肠杆菌和李斯特菌; Sharma 等^[37]利用光散射技术对纳米尺度的结构进行表征,并就结构在食品中的应用展开讨论; Verdú 等^[38,39]利用激光光散射背散成像技术分析基于蔬菜的奶昔类产品的微观结构,通过分析此结构和产品性能间的关系,以此为优化设计该类产品的生产工艺,并利用此技术分析了饼干类产品的物理化学特性和感官特性; Liu 等^[40]利用拉曼光散射成像技术检测包装食品的品质; Piasecka 等^[41]利用激光光散射技术检测藻类的新陈代谢。

张蕊等^[42,43]近几年也利用激光光散射技术对秘鲁鱿鱼的肌原纤维蛋白溶液等食品蛋白质体系展开了研究,揭示了几个比较有趣的物理现象,如:蛋白纳米颗粒的确证和存在机制研究^[42]、秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白的凝胶过程^[43]等,期望对食品蛋白的研究和加工应用能有所启发。和蛋白质单个分子乃至介观结构相比,激光光散射技术所测量的体积很大,所测得的结果是一个宏观平均行为。因此,该技术对食品体系进行测量时,结果的可重复性和其他方法比,有较大提高。

3.1 肌肉纤维蛋白的盐溶效应

肌肉蛋白的盐溶效应很早就为人所知并加以利用来分离纯化蛋白质,如从肌肉中分离各种蛋白^[44]。由于蛋白溶解度和蛋白分子间的相互作用紧密相关,当颗粒间的相互作用是吸引力,随着分子间吸引力增大,颗粒平衡浓度降低;反之,颗粒间排斥力增大有利于相应颗粒浓度的增大。由于盐浓度增大,将导致颗粒间静电力的屏蔽效应变强,使得颗粒间的排斥力变小。因此,溶液中盐浓度增大将导致盐析效应的出现。Zhang 等^[45]利用激光光散射技术表征了秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白的分子间相互作用,发现随着氯化钾(KCl)浓度的增加, B_2 增大;根据扩展对应状态理论,可知体系中的蛋白质溶解度需提高。进一步的实验证明,这一变化主要来自于 paramyosin 蛋白分子构象对 KCl 浓度的依赖性^[46]。同时,研究还发现此构象变化为一个可逆过程。

3.2 蛋白纳米纤维颗粒的发现

由于蛋白质分子表面由多种极性不同的区域块组成^[47],其分子间存在非常复杂的作用力;同时,蛋白分子非常容易受外界条件的影响发生分子构象的部分乃至完全解折叠,这些导致单质蛋白溶液中有蛋白簇的存在^[48-50]。这一蛋白簇能影响蛋白溶液中的相变行为^[51]为控制和利

用蛋白相变提供了更多手段^[52,53]。Montero 等^[54]在 1988 年就提出了蛋白胶体的概念,但这一概念并未受到重视。同时,食品蛋白浓度测试过程中,利用 biuret method^[55], Bradford assay^[56], Lowry method^[57], 和 bicinchonic acid assay^[58]等显色反应的方法,都存在结果不确定的问题^[59]。这也进一步暗示蛋白聚集体在食品蛋白中存在。

因此,以秘鲁鱿鱼肌原纤维溶液为模型,利用激光光散射技术,发现了一个尺度在 100 nm 左右,形状近似为纤维状的颗粒^[42,60]。同时,其表面带电特性、热稳定性等多与它的存在状态有很大关联,并被原子力显微镜观察进一步证实。该颗粒的大小形状变化和溶液中的盐离子种类密切相关,和 Hofmeister 规律相符。有趣的是该颗粒形式在其他体系中也存在,如家猪蛋白^[61]、黑鱼蛋白和牛蛋白。这暗示这种纳米纤维结构有可能是普遍存在的。介于这一结构是固体,因此蛋白组成的微小变化也能导致。利用该原理,利用激光光散射技术,能较好地地区分渗水发白(pale soft exudative, PSE)猪肉和正常的猪肉^[62]。

3.3 秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白的凝胶过程研究

蛋白凝胶在食品的加工制造过程中起非常重要的作用,因为其不仅仅赋予产品一定的质构特性;同时,基于蛋白凝胶所制得的结构还能影响食品摄入过程中的味觉等^[63]。另一方面,由于蛋白凝胶涉及蛋白分子的构象变化使得疏水基团暴露于溶剂中,以及利用二硫键等实现不同蛋白分子间的交联,非常复杂^[64]。溶液条件以及外界环境因素的微小变化,都有可能对凝胶产品的品质发生巨大的变化。

为验证此假设,利用激光光散射技术, Niu 等^[65]分析了外加流场对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶过程的影响,主要分析在凝胶过程中,蛋白颗粒的几何形状和分子间相互作用变化,以及该变化对最终产品性能的影响。同时,还利用 DWS 分析了添加甘油对此过程的影响,主要是流体的粘弹性分析、示踪离子均方位移的测定等,在微米尺度上分析该体系中蛋白质分子是如何变性以及相互铰链的^[43]。

3.4 PSE 猪肉的溶解度研究

食品品质的监测,一直是食品研究的一个热点,这和消费者食品安全意识的提高有关,同时,全球每年因食品仿冒造成损失高达几百亿美元^[66]。面对此挑战,目前有常规技术的联合使用策略(如气质联用+嗅觉)^[67],计算机视觉技术^[68]等,还有蛋白组学技术^[69,70]和代谢组学技术^[71,72]。这些技术都存在着以下共性问题:1)没有扎实理论基础,仅仅基于表象的观察;2)局限于特定的化合物。

针对这一问题,团队利用激光光散射技术,分析了从正常猪肉和 PSE 肉中所提取的蛋白质,它们溶液中颗粒的分维系数大小对蛋白质浓度依赖性是完全不同的^[73]。这一

实验现象表明, 虽然上述 2 类蛋白质的蛋白组成差异非常小, 乃至用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)技术也无法区分这 2 类蛋白质, 但这些微小变化能利用激光光散射技术区分。

3.5 以多糖-蛋白质为壁材的活性物质包埋体系研究

活性物质包埋一直以来倍受食品工作者关注, 虽然有很多研究讨论过这些物质的包埋机制, 但这些结论存在适用性问题, 同时, 包埋过程中热力学和动力学研究鲜见报道。

为了填补这个空缺, 通过激光光散射技术, 寇梦璇^[74]研究了不同蛋白质(卵白蛋白)和多糖(羧甲基纤维素钠)比例下的聚集体的几何特征, 以及包埋了姜黄素后聚集体的变化。结果显示姜黄素包埋对聚集体的影响和蛋白多糖的比例紧密相关, 随着这一比例的升高, 吸附了姜黄素的聚集体从膨胀到收缩。

3.6 粘膜蛋白和多糖的相互作用

粘膜蛋白覆盖了整个消化道, 因此粘膜蛋白的物理化学行为严重影响了食品风味的识别、以及食品的消化和吸收^[75]。粘膜蛋白和食品的相互作用可指导产品的设计和评价。Niu^[43]以猪粘膜蛋白和甲壳素为模型, 利用 DWS 技术, 测试了上述两个物质不同比例下的微流变特性, 揭示出这两者间存在很强的相互作用。

4 结 论

由于其无需特殊的光源, 激光光散射技术是目前较为普遍的测量微观颗粒相互作用和几何形状的技术。同时, 由于其结果自身所具有的宏观平均特性, 使得该技术很适合在食品中应用。随着激光光散射仪器的不断升级, 动静态模式的同时实施成为可能, 如德国 ALV 公司和瑞士的 LS 公司产品, 这为食品蛋白质体系的测量提供了一种新的可能。食品中的不少结构依赖于其所在溶液中的各个组成以及溶度。由于不少光散射参数的获得需要在一个梯度浓度下获得, 这一操作有可能会引起这些结构的变化而使所获取的物理图像变得非常复杂。动静态模式的同步实施, 可以同时获取 R_g (由于食品中的结构一般都比较小, 激光波长的十分之一以上)和 R_H , 通过监测这 2 个量随浓度梯度的变化, 能进一步理清所测结果的变化到底是相互作用减弱带来的还是颗粒本身的几何形状变化导致的。

虽然激光光散射技术对样品的要求很高, 同时对实验结果的解读需要一定的物理背景。但随着该技术在国内的不断普及推广, 越来越多的食品科研工作者使用它, 这些问题会很快解决。同时, 激光光散射的测量尺度为纳米级, 它可以提供基于分子水平的图像, 为更清晰地掌握食品在储藏加工过程的变化, 以指导食品的生产加工和研究。

参考文献

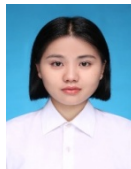
- [1] Tyndall J. On the formation and phenomena of clouds [J]. J Sci, 1869, (38): 156–157.
- [2] Tyndall J. On the blue colour of the sky, and on the polarization of light [J]. J Sci, 1869, (37): 384–394.
- [3] Strutt HJ. The scattering of light by small particles [J]. J Sci, 1871, (41): 447–454.
- [4] Lindsay RB. On the light from the sky, its polarization and colour (1871) [J]. Men Physics Lord Rayleigh Man His Work, 1970: 85–92.
- [5] Kinsell L, Coulson. effects of the El chichon volcanic cloud in the stratosphere on the polarization of light from the sky [J]. Appl Optics, 1983, 22(7): 1036–1050.
- [6] Lord RFRS. On the electromagnetic theory of light [J]. Philosophical Magazine, 1881, (12): 81–101.
- [7] Lord RFRS. On the transmission of light through an atmosphere containing small particles in suspension, and on the origin of the blue of the sky [J]. Philosophical Magazine Series 1, 1899, (47): 375–384.
- [8] Lord RFRS. The incidence of light upon a transparent sphere of dimensions comparable with the wave-length [J]. Proceedings Royal Soc A: Math Physical Eng Sci, 1910, (84): 25–46.
- [9] Lord RFRS. On the theory of long waves and bores [J]. Proceed Royal Soc A: Math Phys Eng Sci, 1914, (90): 324–328.
- [10] Lord RFRS. Scattering of light by dust-free air, with artificial reproduction of the blue sky. —Preliminary note [J]. Proceed Royal Soc A: Math Phys Eng Sci, 1918, (94): 453–459.
- [11] Debye P. Zerstreuung von Röntgenstrahlen [J]. Annalen der Physik, 1915, (351): 809–823.
- [12] Mie G. Beiträge zur optik trüber Medien, speziell kolloidaler metallösungen [J]. Annalen der Physik, 1908, (330): 377–445.
- [13] Provencher SW. Contin: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations [J]. Comp Phys Commun, 1982, (27): 229–242.
- [14] Alejandro R, Alessandrini JL. Particle size distributions from static light scattering with regularized non-negative least squares constraints [J]. Particle Particle Systems Characterization, 2007, (23): 431–437.
- [15] Schärli W. Light scattering from polymer solutions and nanoparticle dispersions [M]. 2007.
- [16] Mason TG, Ganesan K, Zanten JH, *et al.* Particle tracking microrheology of complex fluids [J]. Physical Review Letters, 1997, (79): 3282.
- [17] Furst EM, Squires TM. Microrheology [M]. Oxford University Press, 2017.
- [18] Muschol M, Rosenberger F. Interactions in undersaturated and supersaturated lysozyme solutions: Static and dynamic light scattering results [J]. J Chem Physics. 1995, (103): 10424–10432.
- [19] Mezzenga R, Schurtenberger P, Burbidge, *et al.* Understanding foods as soft materials [J]. Nat Materials. 2005, (4): 729–740.
- [20] Kirkwood JG, Buff FP. The statistical mechanical theory of solutions. I. [J]. J Chem Physics, 1951, (19): 774–777.
- [21] Minton AP. Static light scattering from concentrated protein solutions, I: general theory for protein mixtures and application to self-associating proteins [J]. Biophysical J. 2007, (93): 1321–1328.
- [22] Kirkwood JG, Goldberg RJ. Light scattering arising from composition

- fluctuation in multi-component systems [J]. J Chem Physics, 1950, (18): 54–57.
- [23] Fernandez C, Minton AP. Static light scattering from concentrated protein solutions II: Experimental test of theory for protein mixtures and weakly self-associating proteins [J]. Biophysical J, 2009, (96): 1992–1998.
- [24] Hanlon AD, Larkin MI, Reddick RM. Free-solution label-free protein-protein interactions characterized by dynamic light scattering [J]. Biophysical J, 2010, (98): 297–304.
- [25] Tanford C. Physical chemistry of macromolecules [M]. Wiley, 1961.
- [26] 邱佩, 刘琰, 徐宁, 等. 魔芋飞粉蛋白酶解物对酿酒酵母生长的影响 [J]. 中国酿造, 2013, 32(4): 82–84.
- Qiu P, Liu Y, Xu N, *et al.* Study on konjac powder protein hydrolysates promote the growth of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. China Brewing, 2013, 32(4): 82–84.
- [27] 黄友如, 华欲飞, 裴爱泳. 光散射及其在大豆蛋白粒度分析中应用 [J]. 粮食与油脂, 2003, (12): 14–16.
- Huang YR, Hua YF, Qiu AY. Light scattering methods and applications in particle size distribution of soybean proteins [J]. J Cereals Oils, 2003, (12): 14–16.
- [28] 刘付, 王昌盛, 唐传核. 采用激光光散射技术研究转谷氨酰胺酶催化的 β -乳球蛋白交联反应 [J]. 现代食品科技, 2010, 26(1): 14–17.
- Liu F, Wang CS, Tang CH. A laser light scattering study of transglutaminase-induced cross-linking reaction [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, 26(1): 14–17.
- [29] 黎亢抗, 马雯, 尹寿伟, 等. 高静压处理对芸豆分离蛋白的聚集行为研究 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(3): 252–255.
- Li KK, Ma W, Yin SW, *et al.* Effect of high pressure on aggregation behavior of kidney bean (*Phaseolus Vulgaris* L) protein isolate [J]. Mod Food Sci Technol, 2012, 28(3): 252–255.
- [30] 肖娜, 佟平, 熊丽姬, 等. GPC/SEC 与激光光散射联用技术在食物蛋白分析中的应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(4): 384–386.
- Xiao N, Tong P, Xiong LJ. Application of GPC/SEC coupled with laser light scattering on food proteins [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(4): 384–386.
- [31] 张兵, 王毅虎, 王富荣, 等. 采用色谱柱和激光光散射联用的方法表征胶原蛋白肽的分子量 [J]. 明胶科学与技术, 2013, 33(1): 23–27.
- Zhang B, Wang YH, Wang FR, *et al.* The molecular weight of collagen peptide was characterized by chromatographic column and laser light scattering [J]. Sci Technol Gelatin. 2013, 33(1): 23–27.
- [32] 刘誉繁, 郑波, 曾茜茜, 等. 高压均质对大米淀粉分子结构及体外消化性能的影响 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(9): 227–231.
- Liu YF, Zheng B, Zeng QQ, *et al.* Effect of high-pressure homogenization on molecular structure and *in vitro* digestibility of rice starch [J]. Mod Food Sci Technol, 2019, 35(9): 227–231.
- [33] 赵雯, 腾军伟, 张健, 等. 解淀粉芽孢杆菌 GSBa-1 胞外多糖的发酵制取、流变学特性和应用 [J]. 食品科学, 2017, 38(16): 1–8.
- Zhao W, Teng JW, Zhang J, *et al.* Production of exopolysaccharide by fermentation with bacillus amyloliquefaciens GSBa-1, Its rheological characterization and application [J]. Food Sci, 2017, 38(16): 1–8.
- [34] 马霞, 刘蓝天, 沈丽, 等. 提取方法对产阮假丝酵母 β -葡聚糖性质的影响 [J]. 食品科学, 2018, 39(11): 119–124.
- Ma X, Liu LT, Shen L, *et al.* Physicochemical and moisturizing properties of β -Glucan from *Candida utilis* extracted by different methods [J]. Food Sci, 2018, 39(11): 119–124.
- [35] 江琦, 姜在祥, 王正齐, 等. 蛹虫草虫草多糖的分离纯化、分子构象分析及抗氧化活性研究 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(1): 22–26.
- Jiang Q, Lou ZX, Wang ZQ, *et al.* Isolation and purification, structure and molecular conformation and antioxidant activities of polysaccharides from *Cordyceps militaris* [J]. Food Fermentation Ind, 2019, 45(1): 22–26.
- [36] Abdelhaseib MU, Singh AK, Bhunia AK. Simultaneous detection of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in food using a light scattering sensor [J]. J Appl Microbiology, 2019, (126): 1496–1507.
- [37] Sharma S, Jaiswal S, Duffy B, *et al.* Nanostructured materials for food applications: Spectroscopy, microscopy and physical properties [J]. Bioengineering, 2019, (6): 26.
- [38] Verdú S, Pérez AJ, Barat JM, *et al.* Laser backscattering imaging as a control technique for fluid foods: Application to vegetable-based creams processing [J]. J Food Eng, 2019, (241): 58–66.
- [39] Verdú S, Barat JM, Grau R. Laser backscattering imaging as a non-destructive quality control technique for solid food matrices: Modelling the fibre enrichment effects on the physico-chemical and sensory properties of biscuits [J]. Food Control, 2019, 100: 278–286.
- [40] Liu Z, Huang M, Kim MS. Packaged food detection method based on the generalized Gaussian model for line-scan Raman scattering images [J]. J Food Eng, 2019, (258): 9–17.
- [41] Piasecka A, Cieřla J, Krzemińska I. Effectiveness of *Parachlorella kessleri* cell disruption evaluated with the use of laser light scattering methods [J]. J Appl Phycology, 2019, (31): 97–107.
- [42] 张蕊. pH 和盐对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白溶解度及构象影响的研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2016.
- Zhang R. The effects of pH and salt on the solubility and conformation of myofibrillar protein extracted from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University. 2016.
- [43] Niu FG. The application of diffusing wave spectroscopy (DWS) in soft foods [J]. Food Hydrocoll, 2019, (96): 671–680.
- [44] Mallin ML. Actomyosin and myosin of vascular smooth muscle [J]. Nature, 1965, (207): 1297–1298.
- [45] Zhang R, Zhou R, Pan WC, *et al.* Salting-in effect on muscle protein extracted from giant squid (*Dosidicus gigas*) [J]. Food Chem, 215: 256–262.
- [46] 周茹, 倪渠峰, 林伟伟, 等. 肌原纤维蛋白溶解度对盐离子浓度的依赖性 [J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 32–39.
- Zhou R, Ni QF, Lin WW, *et al.* The dependency of the myofibrils solubility on the ion concentration [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2015, 15(3): 32–39.
- [47] Petsev DN, Wu XX, Vekilov PG. Thermodynamic functions of concentrated protein solutions from phase equilibria [J]. J Physical Chem B, 2003, (107): 3921–3926.
- [48] Byington MC, Safari MS, Conrad JC, *et al.* Shear flow suppresses the volume of the nucleation precursor clusters in lysozyme solutions [J]. J Crystal Growth, 2017, (468): 493–501.
- [49] Byington MC, Safari MS, Conrad JC, *et al.* Protein conformational flexibility enables the formation of dense liquid clusters: Tests using solution shear [J]. J Physical Chem Letters, 2016, (7): 2339–2345.
- [50] Stradner A, Sedgwick H, Cardinaux F, *et al.* Equilibrium cluster formation

- in concentrated protein solutions and colloids [J]. *Nature*, 2004, 432(7016): 492–495.
- [51] Galkin OI, Pan W, Filobelo L, *et al.* Two-step mechanism of homogeneous nucleation of sickle cell hemoglobin polymers [J]. *Biophysical J*, 93(3): 902–913.
- [52] Van Driessche AES, Van Gerven N, Bomans PHH, *et al.* Molecular nucleation mechanisms and control strategies for crystal polymorph selection [J]. *Nature*, 2018, 556(7699): 89–94.
- [53] Peressini D, Peighambardoust SH, Goot AJ. Effect of shear rate on microstructure and rheological properties of sheared wheat doughs [J]. *J Cereal Sci*, 2008, (48): 426–438.
- [54] Montero P, Borderias AJ. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos [J]. *Revista de Agroquimicay Technol de Alimentos*, 1988, (28): 159–169.
- [55] Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction [J]. *J Biological Chem*, 1949, (177): 751–766.
- [56] Bradford MM. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, (72): 248–254.
- [57] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, *et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. *J Biological Chem*, 1951, (193): 265–275.
- [58] Smith PK. Measurement of protein using bicinchoninic acid [J]. *Anal Biochem*, 1985, (150): 76–85.
- [59] Kakalis LT, Regenstien JM. Effect of pH and salts on the solubility of egg white protein [J]. *J Food Sci*, 1986, (51): 1445–1447.
- [60] Yan NG, J-Qing WU, Guang HZ, *et al.* Effect of speed of homogenizer, pH value and myofibrillar protein concentration on emulsifying properties of myofibrillar proteins [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2010, 14(5): 745–7.
- [61] 黄雯琪. PSE 猪肉蛋白溶解度及其变化机理[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015.
- Huang WQ. The changes of protein solubility of PSE pork and the mechanism [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2015.
- [62] 黄雯琪, 潘伟春, 韩剑众. 激光散射技术在 PSE 猪肉鉴定中的应用研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(1): 176–182.
- Huang WQ, Pan WC, Han JZ. The application of laser light scattering technology in pale, soft and exudative pork quality assessment [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(1): 176–182.
- [63] Linden VDE, Foegeding EA. Gelation: Principles, models and applications to proteins [J]. *Mod Biopolymer Sci*, 2009, 29–91.
- [64] Ferry JD. Protein gels [J]. *Adv Protein Chem*, 1948, (4): 1–78.
- [65] Westphalen AD, Briggs JL, Lonergan SM. Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation [J]. *Meat Sci*, 2005, 70(2): 293–299.
- [66] Spink J, Ortega DL, Chen C, *et al.* Food fraud prevention shifts the food risk focus to vulnerability [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2017, (62): 215–220.
- [67] Wardencki W, Chmiel T, Dymerski T, *et al.* Application of gas chromatography, mass spectrometry and olfactometry for quality assessment of selected food products [J]. *Ecological Chem Eng*, 2009, (16): 287–300.
- [68] Brosnan T, Sun DW. Improving quality inspection of food products by computer vision—a review [J]. *J Food Eng*, 2004, (61): 3–16.
- [69] Nasi A, Picariello G, Ferranti P. Proteomic approaches to study structure, functions and toxicity of legume seeds lectins. Perspectives for the assessment of food quality and safety [J]. *J Proteomics*, 2009, (72): 527–538.
- [70] Carbonaro M. Proteomics: Present and future in food quality evaluation [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2004, (15): 209–216.
- [71] Wishart DS. Metabolomics: Applications to food science and nutrition research [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2008, (19): 482–493.
- [72] Kim S, Kim J, Yun E, *et al.* Food metabolomics: From farm to human [J]. *Current Opinion Biotechnol*, 2016, (37): 16–23.
- [73] 黄雯琪, 潘伟春, 韩剑众. PSE 猪肉蛋白溶解度的研究[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(12): 59–65.
- Huang WQ, Pan WC, Han JZ. The study of protein solubility changes of PSE pork [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2016, 16(12): 59–65.
- [74] 寇梦璇. 卵白蛋白–CMC 自组装纳米颗粒包埋姜黄素体系构建与表征 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019: 12–52.
- Kou MX. Construction and characterization of ovalbumin–CMC self assembled nanoparticle embedded curcumin system [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2019.
- [75] Ritzoulis C, Siasios S, Melikidou KD, *et al.* Interactions between pig gastric mucin and sodium caseinate in solutions and in emulsions [J]. *Food Hydrocolloid*, 2012, (29): 382–388.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



喻 姣, 硕士研究生, 主要研究方向为现代食品制造。

E-mail: 1758880466@qq.com



潘伟春, 博士, 教授, 主要研究方向为现代食品制造。

E-mail: wpan@mail.zjgsu.edu.cn