doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.10.043

大豆乳清蛋白与硫酸葡聚糖相互作用及乳化特性研究

王喜波　曹　佳　杨　赛　佟晓红　吕　博　王　欢
(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 为改善大豆乳清蛋白(SWP)的乳化特性,提高大豆副产物的利用价值,以大豆乳清蛋白和硫酸葡聚糖(DS)为原料制备复合物,对其形成机制及乳化特性进行研究。通过 ζ-电位、浊度和光谱法分析蛋白质-多糖复合体系的结构变化及相互作用机制;通过平均粒径和微观结构观察对复合物的分布情况和聚集状态进行表征,并对复合体系的乳化特性进行分析。结果表明,pH 值和蛋白多糖比显著影响 SWP 与 DS 的相互作用,在 pH 值为 3.5 时,SWP 和 DS 能够通过静电相互作用形成更稳定的复合物;荧光光谱和傅里叶变换红外光谱分析表明,DS 的加入改变了 SWP 的微环境和二级结构,复合物中 α-螺旋的相对含量显著升高,氢键和疏水相互作用也影响复合物的形成;随着 DS 浓度增加,复合物的粒径呈先增大后减小的趋势,当蛋白多糖比为 4 时,复合物聚集程度最大,平均粒径为(3 667.25 ±95.32) nm,在此条件下形成的复合物显著改善了 SWP 的乳化特性,乳化活性指数和乳化稳定性指数分别提高了 31.03% 和 14.71%。

关键词: 大豆乳清蛋白; 硫酸葡聚糖; 相互作用; 乳化特性
中图分类号: TS209　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-1298(2021)10-0409-08　　**OSID**:

Interaction and Emulsification Properties of Soybean Whey Protein and Dextran Sulfate

WANG Xibo　CAO Jia　YANG Sai　TONG Xiaohong　LÜ Bo　WANG Huan
(*College of Food Science*, *Northeast Agricultural University*, *Harbin* 150030, *China*)

Abstract: In order to improve the emulsification property of soybean whey protein (SWP) and improve the utilization value of soybean byproducts, the complex was prepared from soybean whey protein and dextran sulfate (DS), and its formation mechanism and emulsification characteristics were studied. The ζ-potential, turbidity and spectral methods were used to analyze the structural changes and the interaction mechanism of the protein - polysaccharide complex system. The average particle size and observation of microstructure were used to characterize the distribution and aggregation state of the composite, and the emulsifying characteristics of the composite system were analyzed. The results showed that the pH value and protein/polysaccharide ratio significantly affected the interaction between SWP and DS. SWP and DS could form more stable electrostatic complex through electrostatic interaction at pH value 3.5. Fluorescence spectra and Fourier transform infrared spectra showed that the addition of DS changed the microenvironment and secondary structure of SWP, and the relative content of α-helix in the complex was increased significantly. Hydrogen bond and hydrophobic interaction also affected the formation of the complex. With the increase of DS concentration, the particle size of the complex was increased first and then decreased. When the ratio of SWP/DS was 4, the agglomeration degree of the composite was the highest, and the average particle size was (3 667.25 ±95.32) nm. Under this condition, the composite formed significantly improved the emulsification properties of SWP. The emulsifying activity index and emulsifying stability index were increased by 31.03% and 14.71%, respectively.

Key words: soybean whey protein; dextran sulfate; interaction; emulsifying properties

收稿日期: 2021-04-26　修回日期: 2021-07-20
基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2019ZX08B01)、黑龙江省博士后面上项目(LBH-Z20089)、山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2019JZZY010722)和东北农业大学“青年才俊”项目(19QC29)
作者简介: 王喜波(1975—),男,教授,博士生导师,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: kingxibo@163.com
通信作者: 王欢(1987—),女,讲师,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: whname@neau.edu.cn

0 引言

大豆乳清废水是碱溶酸沉法生产大豆分离蛋白(Soybean protein isolate,SPI)过程中的副产物,其中大豆乳清蛋白(Soybean whey protein,SWP)含量最多[1]。大豆乳清蛋白中含有多种生物活性蛋白,主要由分子量较低的 2S 和 7S 组成,包括大豆胰蛋白酶抑制剂、β-淀粉酶、凝集素等[2]。大豆乳清蛋白是一种酸溶性蛋白,具有很高的营养价值,可以作为许多配方食品的功能成分[3]。研究发现,天然的大豆乳清蛋白具有较好的溶解性及起泡性,但是其乳化特性很难满足加工需求,需要进行适当的改性[4]。多糖是一种天然的生物聚合物,能够通过与蛋白质发生相互作用引起其构象变化,使形成的复合物具有不同的功能特性。

蛋白-多糖复合物在食品领域中具有广泛的应用,由于特殊的结构、尺寸和组成,其功能性质优于单独的蛋白或多糖,二者的相互作用对食品乳液体系具有重要作用[5]。研究两者之间相互作用对设计新型食品具有重要意义,可应用于各种功能性食品开发[6]。文献[7]研究表明,多糖与蛋白发生相互作用可以改变复合物表面电荷分布并改善界面层厚度,增加液滴的亲水性和空间排斥力,从而提高乳液的稳定性。文献[8]研究了大豆乳清蛋白-可溶性大豆多糖复合物对水包油乳液的稳定作用,发现复合物界面层的存在具有提高 O/W 乳液抗油滴聚合和相分离的能力。文献[9]制备了大豆乳清分离蛋白-葫芦巴胶复合物,与大豆乳清分离蛋白相比,加入葫芦巴胶能够改善大豆乳清蛋白的乳化稳定性。硫酸葡聚糖(Dextran sulfate,DS)是含有硫酸盐基团的聚阴离子多糖,具有良好的溶解性,在肝素替代品及蛋白固定方面已经有所应用[10]。此外,硫酸葡聚糖是一类可降解的、具有生物相容性的聚合物,由于其抗凝血活性,被广泛应用于生物医学领域及食品体系[11]。目前的研究主要针对多糖对蛋白理化特性的影响,对硫酸葡聚糖与蛋白的相互作用及其在改善乳化特性中的影响鲜有研究报道。

本文主要研究 pH 值和蛋白多糖比对大豆乳清蛋白和硫酸葡聚糖相互作用的影响,对复合体系的微观结构、构象变化及相互作用方式进行分析,并对其乳化活性及乳化稳定性进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

脱脂大豆粕,山东万得福实业集团有限公司;硫酸葡聚糖,上海源叶生物科技有限公司;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,国药化学试剂有限公司;玉米油,黑龙江省九三集团有限责任公司;其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FD5-3 型冷冻干燥机,美国 SIM 公司;PHS-3C 型 pH 计,上海仪电科学仪器有限公司;AL204 型分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;GL-20M 型高速冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;Infinite M200 Pro 型多功能酶标仪,帝肯(上海)贸易有限公司;Zetasizer Nanozs 90 型电位仪,美国布鲁克海文仪器公司;Mastersizer 2000 型激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;BX53 型科研级正置显微成像系统,奥林巴斯(中国)有限公司;ZEISSLSM700 型激光共聚焦显微镜,德国蔡司公司;F2000 型荧光光谱仪,日本日立公司;MAGNA-IR560 型傅里叶变换红外光谱仪,美国 Thermo 仪器股份有限公司;ULTRA-TURRAX T18 型高速分散机,德国 IKA 公司。

1.3 方法

1.3.1 大豆乳清蛋白制备

参照文献[12]的方法。将脱脂豆粕破碎成粉,与去离子水以液料比 10 mL/g 的比例混合;调节 pH 值至 8.0,搅拌 2 h,离心(9 000 r/min,30 min),收集上清液调节 pH 值至 4.5,搅拌 30 min,离心(9 000 r/min,15 min),取上清液;将上清液 pH 值调至 8.0,离心(9 000 r/min,15 min),去除不溶性物质,得到大豆乳清溶液。用硫酸铵对大豆乳清溶液进行盐析(饱和度 80%),离心(9 000 r/min,30 min),并将得到的沉淀重新溶解于去离子水中,调节溶液 pH 值为 7.0,透析(截留分子质量 3 500u,4℃)48 h;冻干制得大豆乳清蛋白。杜马斯燃烧法测定大豆乳清蛋白的蛋白质质量分数为 93.12%。

1.3.2 储备液制备

大豆乳清蛋白储备液制备:精确称量 2.0 g 大豆乳清蛋白,溶于 100 mL 的磷酸盐缓冲液(pH 值 7.0,10 mmol/L)中,于室温(20℃)下搅拌 2 h,大豆乳清蛋白溶液质量浓度为 20.0 mg/mL。

硫酸葡聚糖储备液制备:分别精确称量一定质量(0.1、0.135、0.2、0.25、0.35、0.5、1.0、2.0 g)的硫酸葡聚糖粉末,溶于 100 mL 磷酸盐缓冲液(pH 值 7.0,10 mmol/L)中,室温下搅拌 2 h,得到质量浓度为 1.0、1.35、2.0、2.5、3.35、5.0、10.0、20.0 mg/mL 的硫酸葡聚糖溶液。

1.3.3 蛋白-多糖复合体系制备

将大豆乳清蛋白溶液和不同浓度的硫酸葡聚糖溶液等体积混合,得到不同蛋白多糖比(SWP 与 DS

质量比，20、15、10、8、6、4、2、1）的大豆乳清蛋白-硫酸葡聚糖混合溶液，室温下搅拌 30 min，其中大豆乳清蛋白质量浓度恒定为 10.0 mg/mL，硫酸葡聚糖溶液质量浓度分别为 0.5、0.675、1.0、1.25、1.675、2.5、5.0、10.0 mg/mL。用盐酸调节制备不同 pH 值（2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0）的大豆乳清蛋白-硫酸葡聚糖复合体系。

1.3.4　蛋白-多糖复合体系 ζ-电位测定

参照文献[13]的方法。采用 Zetasizer Nanozs 90 型电位仪测定样品的 ζ-电位。将不同 pH 值和不同蛋白多糖比的复合体系用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液分别稀释 10 倍，样品中的蛋白质质量浓度为 1 mg/mL，上样体积 1 mL，室温下测定。

1.3.5　蛋白-多糖复合体系浊度测定

参照文献[14]的方法略有改动。将不同 pH 值、不同蛋白多糖比的样品溶液用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液分别稀释 10 倍，取 200 μL 于 96 孔板上，用酶标仪测定样品在 600 nm 处的吸光度（浊度）。

1.3.6　蛋白-多糖复合体系粒径测定

参照文献[13]的方法。分别取 pH 值为 3.5、不同蛋白多糖比的样品溶液用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液稀释 10 倍，利用 Mastersizer 2000 型马尔文激光粒度仪测定样品的粒径。

1.3.7　光学显微镜观察

参照文献[15]的方法。取 5 μL 样品于载玻片上，盖上盖玻片，10 倍光学显微镜观察，图像通过连接到计算机，用数字图像处理软件获得。

1.3.8　激光共聚焦显微镜观察

参照文献[16]的方法略有改动。将 1 mL 蛋白-多糖复合物样品与 25 μL 0.01 mg/mL 的尼罗蓝充分混合，避光保存 30 min；将 5 μL 样品滴在载玻片上，盖上盖玻片密封，平衡 2 min 后，将样品放置于载物台上，用 20 倍的物镜观察样品分布情况，选择荧光激发波长为 515 nm 的氩氪激光。

1.3.9　荧光光谱测定

参照文献[17]的方法。利用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液稀释样品，在室温下用荧光分光光度计在激发波长 $\lambda_{ex}=295$ nm，发射波长 $\lambda_{em}=200\sim500$ nm 范围内测定荧光光谱。

1.3.10　傅里叶变换红外光谱测定

参照文献[18]的方法，称取样品 1 mg，加入溴化钾 100 mg，充分混匀压片后在室温条件下通过红外光谱扫描测定。在扫描波数谱段 400～4 000 cm^{-1}、分辨率 4 cm^{-1} 条件下扫描 64 次。

1.3.11　乳化活性与乳化稳定性测定

参照文献[19]的方法略有改动。采用浊度法表征样品乳化特性。将 15 mL 样品溶液和 5 mL 玉米油混合后，10 000 r/min 高速均质处理 5 min 制备乳液，在距烧杯底部 0.5 cm 处取 50 μL 样品加入 1 mg/mL 的SDS（十二烷基硫酸钠）稀释至 5 mL，乳化活性指数和乳化稳定性指数计算公式为

$$E_{AI}=\frac{2\times2.303A_0N}{10\,000C(1-\Phi)} \tag{1}$$

$$E_{SI}=\frac{30A_0}{A_0-A_{30}} \tag{2}$$

式中　E_{AI}——乳化活性指数，m^2/g

E_{SI}——乳化稳定性指数，min

N——稀释倍数

A_0、A_{30}——0、30 min 时的吸光度

C——蛋白质量浓度，g/mL

Φ——乳液中油相所占体积分数

1.4　数据统计分析

每组实验重复测定 3 次，采用 SPSS 23.0 软件中的方差分析法进行 ANOVA 显著性分析，以 $P<0.05$ 表示差异显著，通过 Origin 2020 软件制图，采用 Peakfit 4.12 软件对红外图谱进行拟合处理。

2　结果与分析

2.1　ζ-电位分析

pH 值和蛋白多糖比影响复合物的电荷平衡，不同复合体系的电荷关系具有一定的规律性，可以通过 ζ-电位测定样品的表面电荷密度，分析 SWP 与 DS 的静电相互作用。图 1 显示了不同 pH 值和蛋白多糖比对复合体系 ζ-电位的影响。随着 pH 值的增加，DS 溶液的 ζ-电位始终为负值，而复合体系的 ζ-电位发生了由正到负的转变。当 pH 值小于 SWP 的 pI 值时，SWP 带正电荷，两者发生静电吸引作用而形成复合物[20]。当 pH 值大于 SWP 的 pI 值时，SWP 与 DS 同时带负电荷，复合体系的 ζ-电位均处于 SWP 与 DS 之间，这一现象与文献[21]的研究结果类似。

随着 DS 浓度的增大，复合体系的 ζ-电位降低（$P<0.05$），等电点向左偏移，当蛋白多糖比为 4 时，等电点偏移程度最大，在 pH 值为 3.5 时复合体系 ζ-电位的绝对值较低，此时 DS 的 ζ-电位为 −54.6 mV，SWP 的 ζ-电位为 17.84 mV，两者之间具有较强的静电相互作用，可形成稳定的复合物。当 DS 浓度继续升高，复合体系 ζ-电位变化不再显著，说明电荷达到某种平衡后，游离的 SWP 与 DS 的复合程度降低[22]。

2.2　浊度分析

浊度可以直观反映多糖与蛋白相互作用过程中复合物的形成。SWP－DS 复合体系浊度随 pH 值变

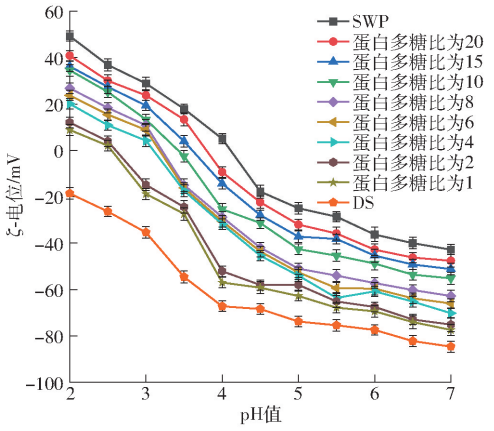

图 1 SWP－DS 复合体系 ζ-电位随 pH 值的变化曲线

Fig. 1 Changing curves of ζ-potential of SWP－DS composite system with pH value

化的曲线如图 2 所示,在给定的 pH 值(2.0～7.0)范围内,SWP 均有良好的溶解性,浊度仅在 0～0.1 范围内波动,DS 溶液浊度均小于 SWP,不同 pH 值条件下无显著变化。加入 DS 后,复合体系的浊度显著升高,且随着 pH 值的增加,复合体系的浊度均呈先升高后下降趋势($P<0.05$)。当 pH 值为 3.0～4.5 时,SWP－DS 复合体系的浊度显著升高,结合图 1 可知,这主要是由于 SWP 的 ζ-电位由正变负,SWP－DS 静电复合物达到电荷中性,分子间进一步复合形成凝聚物。在 pH 值升高至 5.5 的过程中,浊度显著下降,说明到达临界点,SWP－DS 复合物开始解离形成部分可溶性静电复合物。在可溶性复合物形成的临界 pH 值时,浊度较低且无显著性变化,复合物由于 SWP 与 DS 带有相同的电荷而发生静电互斥,阻止了复合物的形成[23]。

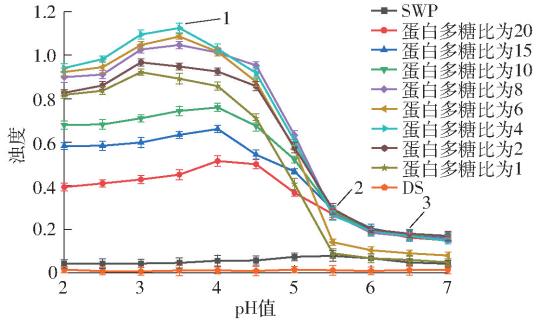

图 2 SWP－DS 复合体系浊度随 pH 值的变化曲线

Fig. 2 Changing curves of turbidity titration of SWP－DS composite system with pH value

1. 浊度最大对应的 pH 值 2. 不溶性复合物形成的临界 pH 值 3. 可溶性复合物形成的临界 pH 值

随着 DS 浓度的升高,复合体系的浊度呈现先增加后减小的趋势($P<0.05$)。当 DS 浓度较低时,由于复合体系内没有足够的负电荷来中和 SWP 携带的正电荷,导致最大浊度较低。当蛋白多糖比为 4、6、8 时,浊度最大对应的 pH 值均为 3.5,蛋白多糖比为 4 时浊度达到最大值,为 1.125,可能是由于随着 DS 浓度增大,达到一定值时 SWP 所带正电荷能够与 DS 所带负电荷发生静电相互作用从而生成更多的复合物[24]。随着 DS 浓度的继续增大,浊度下降,表明 DS 浓度过高时一定程度上不利于其与 SWP 发生相互作用,阻碍了复合物的生成[25]。因此,选择 pH 值为 3.5 时对不同蛋白多糖比复合体系的相互作用进行进一步研究。

2.3 平均粒径分析

平均粒径是反映复合物聚集状态的重要指标之一。当 pH 值为 3.5 时,SWP 与 DS 形成复合物的平均粒径如图 3(图中不同字母表示差异显著,下同)所示。随着 DS 浓度的增加,SWP 与 DS 形成复合物的平均粒径先增大后减小($P<0.05$),与浊度变化趋势一致。SWP 的平均粒径为(1 158.20±33.49) nm,蛋白多糖比为 4 时 SWP－DS 复合物的平均粒径为(3 667.25±95.32) nm,为 SWP 的 3.17 倍。当 DS 浓度较低时,只有部分 SWP 与 DS 结合,生成的复合物较少,且粒径较小[26]。随着 DS 浓度的增大,复合物的平均粒径增大,主要是因为 SWP 和 DS 发生静电相互吸引,趋于形成电中性的复合物,复合物之间相互吸附发生聚集导致粒径增大,说明 DS 的加入改变了酸性条件下 SWP 的聚集状态[27]。随着 DS 浓度的继续增大,复合体系粒径减小,主要是由于 SWP 和 DS 形成可溶性复合物,复合体系带有大量负电荷,此时分子之间静电斥力较强,阻止了复合物的进一步聚集[28]。

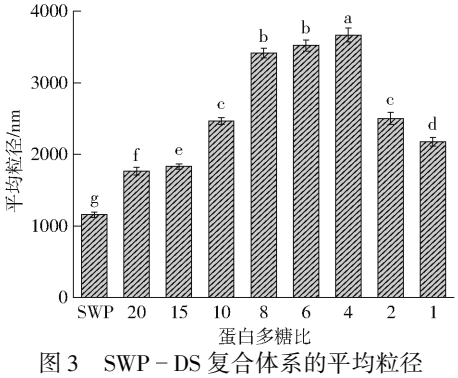

图 3 SWP－DS 复合体系的平均粒径

Fig. 3 Average particle size distribution of SWP－DS composite system

2.4 光学显微镜分析

SWP－DS 复合物光学显微镜图像如图 4 所示,当蛋白多糖比大于 10 时,形成的复合物粒径较小,均匀分布在溶液中。蛋白多糖比由 8 降到 4 时,SWP 与 DS 形成更多的复合物,并聚集形成更大体积的团聚物,颗粒之间的界限也逐渐明显,此时颗粒表面电荷被中和,SWP 与 DS 发生静电吸引形成结构紧密的复合物。当 DS 浓度进一步增加,复合物

结构逐渐变得疏松，主要是由于此时复合体系中的多糖所带负电荷相对过量，蛋白之间没有竞争关系，可以自由结合多糖分子，静电斥力导致复合物间距加大，因此不容易发生聚集[29]。

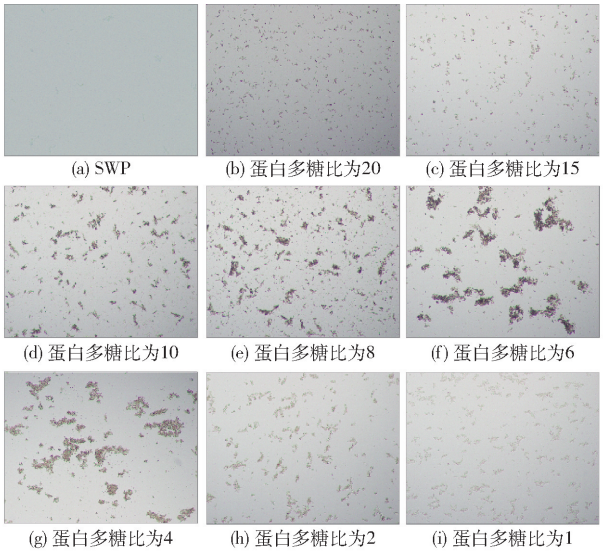

图 4　SWP－DS 复合体系光学显微镜图像

Fig. 4　Microstructure images of SWP－DS complex

2.5　激光共聚焦显微镜分析

激光共聚焦显微镜从微观结构解释了不同蛋白多糖比对 SWP 与 DS 相互作用的影响。如图 5 所示，蛋白多糖比为 20 和 10 时，形成了少量复合物，复合物的粒径较小且较分散，主要是由于 DS 含量较少，游离的 SWP 无法与其形成更多的复合物。当蛋白多糖比为 8 至 4 时，体系内形成复合物的粒径逐渐增大，且形成的复合物结构更加紧密，表明二者之间发生了较强的静电相互作用。此时，SWP 携带大量的正电荷，DS 和 SWP－DS 复合物携带负电荷，蛋白所带正电荷需要大量的负电荷与其中和，形成的复合物发生聚集，粒径进一步增大[30]。当蛋白多糖比为 2 和 1 时，形成了结构相对较为松散的复合物，说明体系内形成了部分可溶性复合物，复合物表面带有大量负电荷，复合体系的 ζ-电位逐渐接近于 DS，分子之间具有较大的静电斥力，从而阻止了复合物之间的聚集。

2.6　荧光光谱分析

荧光光谱法是检测复合体系中蛋白质构象变化以及蛋白与多糖结合强度的有效方法，可以进一步表征 SWP 与 DS 的相互作用方式[31]。如图 6 所示，SWP 的最大荧光峰出现在 334 nm 处，表明色氨酸存在于蛋白质内部的疏水基团中，被非极性氨基酸包围[32]。加入 DS 后，复合体系的荧光强度不断降低且降幅明显，说明 SWP 与 DS 发生了荧光猝灭。当 DS 浓度较低时，荧光强度较高，主要是由于带负电荷的 DS 仅与部分 SWP 结合，部分色氨酸暴露于分

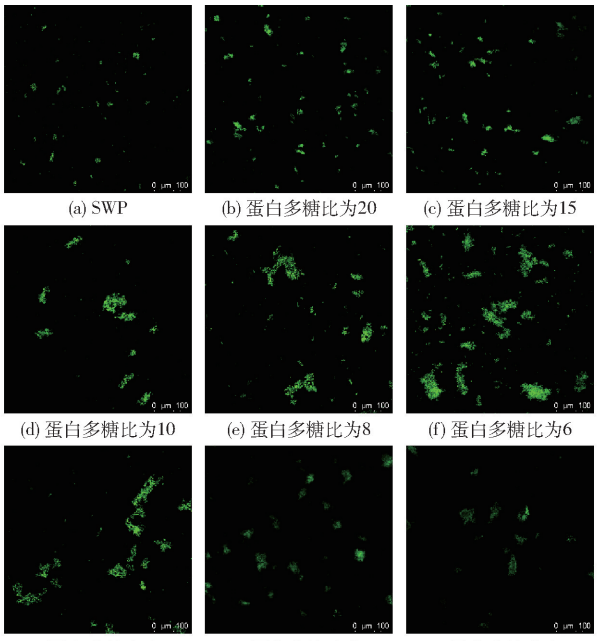

图 5　SWP－DS 复合体系激光共聚焦扫描显微镜图像

Fig. 5　Confocal scanning microscope images of SWP－DS composite system

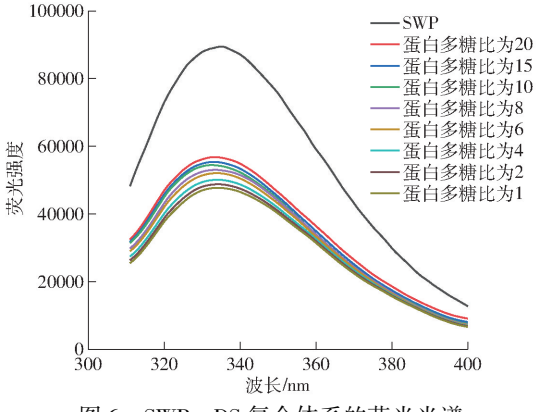

图 6　SWP－DS 复合体系的荧光光谱

Fig. 6　Fluorescence spectra of SWP－DS composite system

子表面[33]。随着 DS 浓度升高，SWP－DS 复合体系的荧光强度继续降低，这可能是由于 SWP 与 DS 通过静电相互作用形成的复合物结构紧密，且复合物之间发生聚集，芳香族氨基酸被非极性环境所包围，对蛋白质内源荧光产生的猝灭作用增强导致荧光强度下降[34]。由此说明，SWP 与 DS 之间除了静电相互作用，还存在疏水相互作用。

2.7　傅里叶变换红外光谱分析

为进一步分析 SWP 与 DS 之间的相互作用及结构变化，测定了 DS、SWP 和 SWP－DS 复合物的傅里叶变换红外光谱。如图 7 所示，SWP 的特征峰保持不变，SWP－DS 复合物在 3 000 ~ 3 700 cm^{-1} 波数处的峰强度发生改变，说明 SWP 与 DS 之间为非共价结合[35]。随着 DS 浓度的增加，复合物 O—H 拉伸从 3 295. 16 cm^{-1} 向 3 291. 78 cm^{-1} 偏移，特征峰中峰

值的改变可能是由于 SWP 和 DS 之间存在氢键相互作用[36]。SWP 在 1 700 ~ 1 500 cm^{-1}处的特征峰是酰胺Ⅰ和酰胺Ⅱ振动,表明酰胺键的形成。酰胺Ⅰ带(1 700 ~ 1 600 cm^{-1})特征吸收峰改变,表明 DS 对蛋白质的二级结构有明显影响。SWP - DS 复合体系中蛋白质二级结构含量变化如图 8 所示,复合物较 SWP 的 α-螺旋相对含量显著升高,β-转角相对含量升高,β-折叠和无规卷曲相对含量均减少。α-螺旋和 β-转角代表蛋白质的有序结构,而 β-折叠和无规则卷曲代表蛋白质的无序结构,说明 SWP 与 DS 形成了结构更加有序且稳定的复合物[37]。随着 DS 浓度升高,α-螺旋和 β-转角相对含量呈先升高后降低趋势,当蛋白多糖比为 4 时,达到最大值,分别为 27% 和 35%,表明 SWP 和 DS 的静电作用和氢键的形成可对蛋白质的 α-螺旋结构产生影响,一定浓度的 DS 使蛋白质二级结构更趋向有序化。

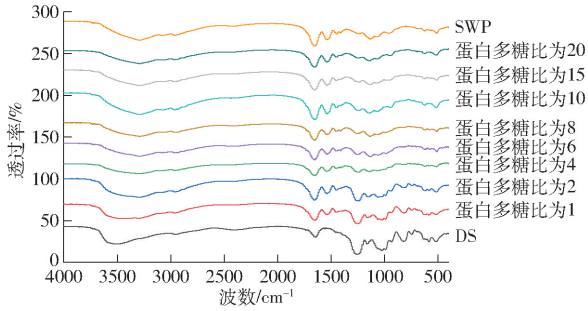

图 7 SWP - DS 复合体系的傅里叶变换红外光谱图

Fig. 7 FTIR spectra of SWP - DS composite system

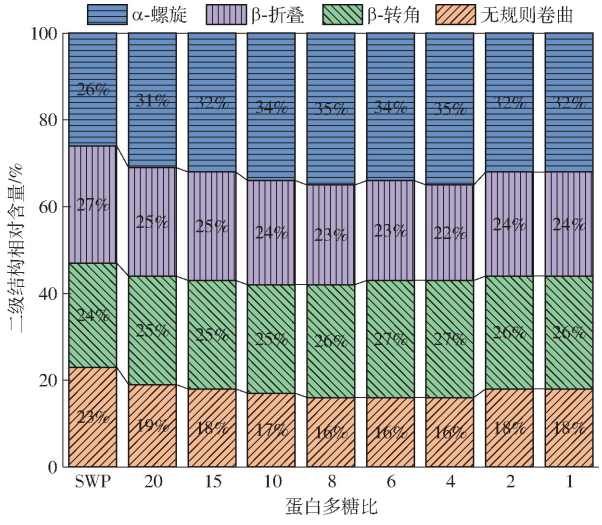

图 8 SWP - DS 复合体系的二级结构相对含量

Fig. 8 Secondary structure fractions of SWP - DS composite system

2.8 乳化活性及乳化稳定性分析

不同 SWP - DS 复合体系的乳化活性指数和乳化稳定性指数如图 9 所示。随着 DS 浓度的增加,不同复合物的乳化活性呈先增加后降低的趋势($P<0.05$)。当蛋白多糖比为 4 时,SWP - DS 复合物的乳化活性指数达到最大值(55.21 ±0.57) m^2/g,相比 SWP 提高了 31.03%。这可能是由于蛋白多糖比为 4 时,SWP 与 DS 生成的静电复合物达到最大值,有利于 SWP 在油-水界面重排,使 SWP 表面的亲水亲油平衡值发生改变,降低界面张力,在一定程度上提高了 SWP 的乳化活性[38]。当 DS 浓度继续增加,乳化活性不再增大,主要是由于过多的 DS 可能会降低溶液中颗粒的分散性,导致复合物的乳化活性下降[39]。此外,复合物的乳化稳定性指数显著提高,最大值为(97.13 ±0.39) min,与 SWP 相比提高了 14.71%。这可能是由于复合物的形成增加了油/水乳化系统中水相的黏度,同时也会降低油/水界面张力,从而提高了乳化稳定性[40]。此外,SWP 与 DS 的相互作用可以使蛋白质分子结构展开,暴露出部分疏水基团,有利于蛋白吸附到油-水界面上,提高乳液的稳定性[41]。

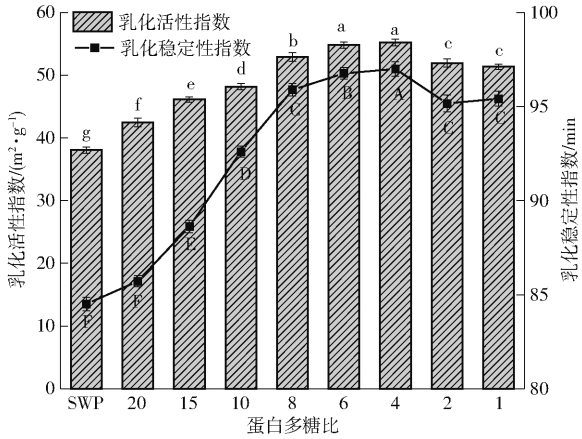

图 9 SWP - DS 复合体系乳化活性指数和乳化稳定性指数

Fig. 9 Emulsification activity index and emulsification stability index of SWP - DS composite system

3 结束语

研究了不同 pH 值和蛋白多糖比对大豆乳清蛋白与硫酸葡聚糖的相互作用方式及乳化特性的影响。ζ-电位和浊度结果表明,SWP 和 DS 通过静电相互作用形成复合物,当复合体系的 pH 值为 3.5、蛋白多糖比为 4 时,浊度达到最大值,两者静电相互作用最强。荧光光谱和傅里叶变换红外光谱说明,DS 的加入改变 SWP 的微环境和二级结构,使蛋白质的二级结构更趋向有序化,SWP - DS 复合物的形成是静电相互作用、氢键和疏水相互作用的共同结果。通过平均粒径和微观结构结果得出,一定蛋白多糖比有利于形成结构更加稳定的复合物,当蛋白多糖比为 4 时,复合物的聚集程度最大。乳化特性结果表明,一定浓度的 DS 有利于 SWP 在油-水界面重排,能够显著改善 SWP 的乳化活性及乳化稳定性。

参 考 文 献

[1] YONG C, QUAN L S. Soy whey: more than just wastewater from tofu and soy protein isolate industry[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 91(3): 24 – 32.

[2] 陈爱梅, 江连洲. 大豆乳清蛋白的主要成分概述[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4): 180 – 182.

[3] LI X F, HUA Y F, CHEN Y M, et al. The selective complex behavior between soybean whey proteins and ι-carrageenan and isolation of the major proteins of the soybean whey[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 56(2): 207 – 217.

[4] ELENA P, GUADALUPE P S, ROSARIO G. High pressure and the enzymatic hydrolysis of soybean whey proteins[J]. Food Chemistry, 2004, 85(4): 641 – 648.

[5] WANG W J, SHEN M Y, LIAN J, et al. Influence of *Mesona blumes* polysaccharide on the gel properties and microstructure of acid-induced soy protein isolate gels[J]. Food Chemistry, 2019, 313: 126125.

[6] WARNAKULASURIYA S N, NICKERSON M T. Review on plant protein-polysaccharide complex coacervation, and the functionality and applicability of formed complexes[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2018, 98(15): 5559 – 5571.

[7] LI Q, HE Q, XU M, et al. Food-grade emulsions and emulsion gels prepared by soy protein-pectin complex nanoparticles and glycyrrhizic acid nanofibrils[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(4): 1051 – 1063.

[8] RAY M, DERICK R. Stabilization of oil-in-water emulsions using mixtures of denatured soybean whey proteins and soluble soy polysaccharides[J]. Food Research International, 2013, 52(1): 298 – 307.

[9] KASRAN M, CUI S W, GOFF H D. Emulsifying properties of soy whey protein isolate-fenugreek gum conjugates in oil-in-water emulsion model system[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 691 – 697.

[10] ANITHA A, DEEPAGAN V G, DIVYA RANI V V, et al. Preparation, characterization, in vitro drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(3): 1158 – 1164.

[11] JOURDAIN L S, SCHMITT C, LESER M E, et al. Mixed layers of sodium caseinate + dextran sulfate: influence of order of addition to oil-water interface[J]. Langmuir, 2009, 25(17): 10026 – 10037.

[12] MOUMITA R. Kinetic and oxidative stability of oil-in-water emulsions prepared with denatured soy whey proteins and soy soluble polysaccharides[D]. Toronto: Univ. of Ryerson, 2013.

[13] WEI Y, LI C, DAI L, et al. The construction of resveratrol-loaded protein-polysaccharide-tea saponin complex nanoparticles for controlling physicochemical stability and in vitro digestion[J]. Food & Function, 2020, 11(11): 9973 – 9983.

[14] 李果. 壳聚糖与牛血清白蛋白作用机制及其乳化性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2017.
LI Guo. Study on the mechanism of interaction between chitosan and bovine serum albumin and its emulsification[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2017. (in Chinese)

[15] WANG S, YANG J, SHAO G, et al. pH-induced conformational changes and interfacial dilatational rheology of soy protein isolated/soy hull polysaccharide complex and its effects on emulsion stabilization[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 109: 106075.

[16] SHAO Y, TANG C H. Characteristics and oxidative stability of soy protein-stabilized oil-in-water emulsions: influence of ionic strength and heat pretreatment[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 37(3): 149 – 158.

[17] LI X F, HUA Y F, CHEN Y M, et al. Two-step complex behavior between Bowman-Birk protease inhibitor and ι-carrageenan: effect of protein concentration, ionic strength and temperature[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 62(3): 1 – 9.

[18] WEN C T, ZHANG J X, QIN W, et al. Structure and functional properties of soy protein isolate-lentinan conjugates obtained in Maillard reaction by slit divergent ultrasonic assisted wet heating and the stability of oil-in-water emulsions[J]. Food Chemistry, 2020, 331(30): 127374.

[19] 李杨, 陈凡凡, 王中江, 等. 超声预处理对大豆蛋白聚集体结构和乳化特性的影响[J/OL]. 农业机械学报,2020, 51(6): 366 – 374.
LI Yang, CHEN Fanfan, WANG Zhongjiang, et al. Effect of ultrasonic pretreatment on structure and functional properties of soy protein aggregates[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(6): 366 – 374. https://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no=20200640&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2020.06.040. (in Chinese)

[20] FANNY W, HANS N, ROBIJN G W, et al. Complexation of whey proteins with carrageenan[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(11): 3550 – 3555.

[21] MA X B, YAN T Y, HOU F R, et al. Formation of soy protein isolate (SPI)-citrus pectin (CP) electrostatic complexes under a high-intensity ultrasonic field: linking the enhanced emulsifying properties to physicochemical and structural properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 59: 104748.

[22] RAOUFI N, KADKHODAEE R, PHILLIPS G O, et al. Characterisation of whey protein isolate-gum tragacanth electrostatic interactions in aqueous solutions[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(5):1220 – 1227.

[23] NIU F, SU Y, LIU Y, et al. Ovalbumin-gum arabic interactions: effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014, 113(3): 477 – 482.

[24] XU Y, YANG N, YANG J X, et al. Protein/polysaccharide intramolecular electrostatic complex as superior food-grade foaming agent[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101(10 – 11): 105474.

[25] MIRI K, ABRAHAM A, BEN I P, et al. Interactions between whey protein isolate and gum Arabic[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 79(2): 377 – 383.

[26] LI X Y, FANG Y P, SAPHWAN A, et al. Complexation of bovine serum albumin and sugar beet pectin: stabilising oil-in-water emulsions[J]. Journal of Colloid & Interface Science, 2012, 388(1): 103 – 111.

[27] DUKHIN A S, GOETZ P J. Characterization of aggregation phenomena by means of acoustic and electroacoustic spectroscopy [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1998, 144(1 – 3): 49 – 58.

[28] SCHMITT C, ABERKANE L, SANCHEZ C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates [J]. Handbook of

Hydrocolloids (Second Edition), 2009, 17(3): 420 - 476.
[29] KHEMISSI H, BASSANI H, ASCHI A, et al. Exploiting complex formation between polysaccharides and protein microgels to influence particle stabilization of W/W emulsions[J]. Langmuir, 2018, 34(39): 11806 - 11813.
[30] ARYEE F N, NICKERSON M T. Effect of pH, biopolymer mixing ratio and salts on the formation and stability of electrostatic complexes formed within mixtures of lentil protein isolate and anionic polysaccharides (κ-carrageenan and gellan gum)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2013, 49(1): 65 - 71.
[31] LUO X, GAO J, CAO M G, et al. Tuning the conformations of hemoglobin via interactions with single-chain and Gemini quaternary ammonium surfactants[J]. Chemical Physics Letters, 2019, 728: 115 - 123.
[32] NIU F G, DONG Y T, SHEN F, et al. Phase separation behavior and structural analysis of ovalbumin-gum arabic complex coacervation[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43(2): 1 - 7.
[33] LI G, HUANG J Y, CHEN T, et al. Insight into the interaction between chitosan and bovine serum albumin[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 176(15): 75 - 82.
[34] RASSI Z E. Capillary electrochromatography and pressurized flow capillary electrochromatography—an introduction[J]. Analytical Biochemistry, 2000, 287(2): 353 - 353.
[35] HUANG G, LIU J, JIN W, et al. Formation of nanocomplexes between carboxymethyl inulin and bovine serum albumin via pH-induced electrostatic interaction[J]. Molecules, 2019, 24(17): 3056.
[36] XIONG Z Y, ZHANG M J, MA M H. Emulsifying properties of ovalbumin: improvement and mechanism by phosphorylation in the presence of sodium tripolyphosphate[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60(2): 29 - 37.
[37] OZDAL T, CAPANOGLU E, ALTAY F. A review on protein-phenolic interactions and associated changes[J]. Food Research International, 2013, 51(2): 954 - 970.
[38] LI L J, HE M Y, WANG N, et al. Spectroscopic analysis of the effect of vitamin B 12-soy protein isolate on the soy protein isolate structure[J]. Journal of Molecular Liquids, 2021, 325: 115148.
[39] 王喜波, 王琳, 周国卫, 等. 超声时间对大豆-乳清混合蛋白结构及乳化性质的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2020, 51(8): 358 - 364.
WANG Xibo, WANG Lin, ZHOU Guowei, et al. Effect of ultrasound time on structure and emulsifying property of soy whey mixed protein[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(8): 358 - 364. https://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no=20200840&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2020.08.040. (in Chinese)
[40] SUN Y T, CHENG Z X, LI G, et al. Study on the interaction between soybean protein isolate and chitosan by spectroscopic methods[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(4): 723 - 731.
[41] 李良, 张小影, 朱建宇, 等. 大豆-乳清混合蛋白对 O/W 乳液稳定性及流变性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2019, 50(12): 372 - 379.
LI Liang, ZHANG Xiaoying, ZHU Jianyu, et al. Effect of soy-whey mixed protein on stability and rheological properties of O/W emulsion[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2019, 50(12): 372 - 379. https://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no=20191243&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2019.12.043. (in Chinese)

(上接第 299 页)

[32] BERGAMASCO L, OSELLA M C, SAVARINO P, et al. Heart rate variability and saliva cortisol assessment in shelter dog: human-animal interaction effects[J]. Applied Animal Behaviour Science, 2010, 125(1 - 2): 56 - 68.
[33] GIANNANTONIO R, PIERLEONI P, FORTINO G. SPINE - HRV: a BSN-based toolkit for heart rate variability analysis in the time-domain[C]// Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010: 369 - 389.
[34] 陈倩蓉,梁永波,赵飞骏,等. 基于心电-脉搏波的心血管疾病识别研究[J]. 中国医学物理学杂志, 2019, 36(2): 210 - 214.
CHEN Qianrong, LIANG Yongbo, ZHAO Feijun, et al. Cardiovascular disease recognition based on electrocardiogram data and pulse wave[J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2019, 36(2): 210 - 214. (in Chinese)
[35] 王想,肖新清,朱志强,等. 鲜食葡萄冷链物流气体传感器响应特征试验研究[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(1): 240 - 246.
WANG Xiang, XIAO Xinqing, ZHU Zhiqiang, et al. Experimental study of response characteristics of gas sensors for monitoring table grape cold-chain logistics[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 47(1): 240 - 246. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no=20160132&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2016.01.032. (in Chinese)
[36] 王想. 面向水果冷链物流品质感知的气体传感技术与建模方法[D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
WANG Xiang. Gas sensing technology and modeling method for fruit quality perception of cold chain logistics[D]. Beijing: China Agricultural University, 2018. (in Chinese)
[37] 祝荣欣. 基于生理信号的联合收获机驾驶疲劳检测与评价[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
ZHU Rongxin. Detection and evaluation for driver fatigue of combine harvester based on physiological signals[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016. (in Chinese)
[38] 李鑫星,朱晨光,白雪冰,等. 基于可见光谱和支持向量机的黄瓜叶部病害识别方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(7): 2250 - 2256.
LI Xinxing, ZHU Chenguang, BAI Xuebing, et al. Recognition method of cucumber leaves diseases based on visual spectrum and support vector machine[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2019, 39(7): 2250 - 2256. (in Chinese)