

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2022.06.043

# 大豆蛋白-多糖复合物结构与性能及其稳定性研究

郑环宇<sup>1,2</sup> 孔洋<sup>1</sup> 郑丽<sup>1</sup> 金技峰<sup>1,3</sup> 李杨<sup>1,4</sup> 滕飞<sup>1</sup>

(1. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省绿色食品科学研究院, 哈尔滨 150030;

3. 张哲九平壤商业大学给养系, 平壤 950003; 4. 国家大豆工程技术研究中心, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 以大豆分离蛋白(SPI)、阿拉伯树胶(GA)及卡拉胶(CA)为原料,经物理混合成功制备不同多糖与SPI复合物,考察不同添加量(SPI与GA/CA质量比为20、15、10、5)对蛋白-多糖复合物结构、性能变化趋势及其乳液稳定性的影响规律,最终探明蛋白与不同多糖复合物的相互作用机制;运用红外光谱、荧光光谱及电子显微镜解析不同复合物的结构特征,采用乳化特性、粒径、Zeta-电位、表面疏水性等指标明确不同复合物的理化特性,并通过探讨不同复合物乳液的乳化活性、乳化稳定性、表观粘度及乳析指数明晰其稳定特性。结果表明,两种多糖在酸性条件下可与SPI生成复合物,并且当SPI与CA质量比为20时,复合物的Zeta-电位最高,为 $(20.47 \pm 0.82)$  mV,平均粒径最小,为 $(1.37 \pm 0.01)$   $\mu\text{m}$ ,分布均匀,乳化活性指数最高,为 $(106.46 \pm 4.75)$   $\text{m}^2/\text{g}$ ,乳化稳定性指数为 $(145.33 \pm 8.53)$  min,此时复合乳液的稳定性较好,CA的加入显著降低SPI内源荧光强度并改变SPI的二级结构,SPI与CA结合形成了稳定的复合物。

**关键词:** 大豆分离蛋白; 卡拉胶; 阿拉伯树胶; 乳液; 多糖

中图分类号: TS214.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2022)06-0406-10

OSID:



## Effect of Soybean Protein – Polysaccharides Complexes on Structure, Properties and Stability

ZHENG Huanyu<sup>1,2</sup> KONG Yang<sup>1</sup> ZHENG Li<sup>1</sup> KIM Kibong<sup>1,3</sup> LI Yang<sup>1,4</sup> TENG Fei<sup>1</sup>

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

2. Heilongjiang Academy of Green Food Science, Harbin 150030, China

3. Catering Faculty, Pyongyang Jang Chol Gu Commerce University, Pyongyang 950003, North Korea

4. National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Soybean protein isolate (SPI), gum Arabic (GA) and carrageenan (CA) were used as raw materials to prepare different polysaccharide and SPI complexes by physical mixture. The effects of different amounts (the mass ratios of SPI and GA/CA were 20, 15, 10 and 5) on the structure, properties and emulsion stability of protein – polysaccharide complexes were investigated. Finally, the interaction mechanism between protein and different polysaccharide complexes was confirmed. The structural characteristics of different complexes were analyzed by infrared spectrum, fluorescence spectrum and electron microscope. The physical and chemical properties of different complexes were determined by emulsifying property, particle size, Zeta-potential and surface hydrophobicity, and their stability properties were clarified by discussing the emulsifying activity, emulsifying stability, apparent viscosity and emulsifying index of different complex emulsions. The results showed that the two polysaccharides could form complexes with SPI under acidic conditions, and when the mass ratio of SPI to CA was 20, the highest Zeta-potential of the complex was  $(20.47 \pm 0.82)$  mV and the minimum average particle size was  $(1.37 \pm 0.01)$   $\mu\text{m}$ , the emulsifying activity index was  $(106.46 \pm 4.75)$   $\text{m}^2/\text{g}$ , and the emulsifying stability index was  $(145.33 \pm 8.53)$  min, the stability of the composite emulsion was better under the condition. The addition of CA significantly reduced the endogenous fluorescence intensity of

收稿日期: 2021-06-16 修回日期: 2021-07-29

基金项目: 黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2020C028)和国家自然科学基金青年科学基金项目(32001686)

作者简介: 郑环宇(1975—),女,副研究员,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: zhenghuanyu1@163.com

通信作者: 滕飞(1986—),女,副教授,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: tengfei@neau.edu.cn

SPI and changed the secondary structure of SPI. SPI combined with CA to form a stable complex, which provided some theoretical support for the application of protein-polysaccharide composite emulsion in the transport of active substances.

**Key words:** soybean protein isolate; carrageenan; gum Arabic; emulsion; polysaccharide

## 0 引言

蛋白和多糖都是食品工业中重要的生物大分子,功能特性优良、营养价值高<sup>[1-2]</sup>。大豆分离蛋白(Soybean protein isolate, SPI)作为两亲性(亲水性和疏水性)物质,能很好吸附在油水界面,是良好的乳化剂,常用来制作乳液应用在食品、医药、化妆品等行业<sup>[3]</sup>,在食品行业中,由于食品所处微环境或酸或碱,或者有生物酶等其他物质存在,影响食品的稳定性的,使SPI在应用方面受到限制,因此选择合适的稳定剂来增强其乳化性一直受到研究者关注<sup>[4-5]</sup>。将多糖用作稳定剂来增强蛋白乳液的稳定性受到研究者们重视,因为多糖来源广泛,亲水性强,在食品工业中常被用作增稠剂和稳定剂<sup>[6]</sup>,目前,学者们研究大豆壳多糖、海藻酸钠等多糖与SPI进行复合制备乳液,结果表明复合后的乳液理化稳定性及功能性有进一步提高<sup>[7-9]</sup>。

在蛋白-多糖复合物形成过程中,多糖对蛋白的修饰作用主要为共价接枝和静电相互作用,当蛋白质与多糖所带电荷相反时,二者可以发生静电相互作用形成复合物<sup>[10]</sup>,静电相互作用反应进程简单、可控,无中间副产物生成。在静电相互作用过程中,蛋白质与多糖的质量比、溶液pH值和电荷密度都会影响复合物形成<sup>[11-12]</sup>。阿拉伯树胶(Gum Arabic, GA)是一种低粘度的羧基阴离子多糖,价格便宜,文献[13]研究GA对 $\beta$ -乳球蛋白双层乳液物理稳定性及对D-柠檬烯的保护作用,结果表明当GA最佳质量分数为1.00%时,形成稳定的双层乳液,并提高了D-柠檬烯在超高温加工过程中的降解性。卡拉胶(Carrageenan, CA)是一种高粘度大分子硫酸基阴离子多糖,广泛用于食品增稠剂、乳化剂和稳定剂等<sup>[14]</sup>,文献[15]研究CA对SPI乳液稳定性的影响,通过理化性质和微观结构研究表明,适量CA的加入使复合乳液的稳定性增加。

目前研究主要集中在探究环境条件及多糖种类对蛋白质-多糖复合乳液稳定性的影响<sup>[16-17]</sup>,针对不同电荷量的碱性多糖研究有限。本文以SPI为研究对象,通过添加不同质量碱性多糖GA与CA制备蛋白-多糖复合物,利用动态光散射、荧光光谱及红外光谱等技术,探究蛋白-多糖复合物的结构及理化性质变化趋势,采用高压均质制备乳液,通过乳液乳

化特性、微观结构和稳定性等表征乳液的理化性质,评价多糖对复合物乳液稳定性影响规律,以期在SPI-多糖复合乳液在生物活性物质运载和凝胶性应用方面研究提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大豆分离蛋白(SPI,蛋白质的质量分数为78.9%),山东优索化工科技有限公司;卡拉胶(CA),源叶生物科技有限公司;阿拉伯树胶(GA),Biotopped科技公司;十二烷基硫酸钠(SDS),Biotopped科技公司;鲁花压榨玉米油,购自当地超市;其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

SPCH-10实验型高压均质机,英国安盛联合科技有限公司;ULTRA-TURRAX UTL2000型乳化机,德国IKA仪器设备公司;Nano-ZS90型马尔文激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;FD-1C型冷冻干燥机,北京德天佑科技发展有限公司;UV-2600型紫外可见分光光度计,岛津仪器(苏州)有限公司;Nicolet is50型傅里叶变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;F-4500型荧光分光光度计,日本Hitachi公司;RST-CPS型流变仪,美国博勒飞公司;雷磁PHS-3C型pH计,上海精科仪器有限公司;BX53型科研级正置显微成像系统,奥林巴斯(中国)有限公司;NDA702型杜马斯定氮仪,意大利VELP公司;HJ-6B型数显多头磁力加热搅拌器,金坛区西城新瑞仪器厂;AUY120型、PL303型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 大豆分离蛋白、阿拉伯树胶和卡拉胶复合物制备

(1) SPI溶液:配制质量分数5%的SPI溶液,在室温(25℃)下,用磁力搅拌器搅拌2h后,放置在4℃冰箱中储存12h,以使其充分水合,水合后的蛋白样品直接用于蛋白-多糖复合物的制备。

GA溶液:根据多糖与蛋白的质量比,称取一定质量的GA溶于蒸馏水中,用磁力搅拌器在常温下搅拌1h,使GA完全溶解,溶解后的储备液用于复合物的制备。

CA溶液:根据多糖与蛋白的质量比,称取一定

质量的 CA 溶于蒸馏水中,用磁力搅拌器在 55℃ 下搅拌 1 h,使 CA 完全溶解,溶解后的储备液冷却至室温后,用于复合物的制备。

### (2) 蛋白-多糖复合物制备

**SPI-GA:**按照 SPI 与 GA 质量比为 20、15、10 和 5 配制蛋白-多糖溶液,使 SPI 终质量分数为 1%,用 1 mol/L 的 NaOH、HCl 溶液将混合物 pH 值调节至  $3.00 \pm 0.02$ ,室温下搅拌 1 h,使混合物充分反应。混合后的部分样品进行冻干,冻干后的样品保存于干燥器内。

**SPI-CA:**按照 SPI 与 CA 质量比为 20、15、10 和 5 配制蛋白-多糖溶液,使 SPI 终质量分数为 1%,用 1 mol/L 的 NaOH、HCl 溶液将混合物 pH 值调节至  $3.00 \pm 0.02$ ,室温下搅拌 1 h,使混合物充分反应。混合后的部分样品进行冻干,冻干后的样品保存于干燥器内。

### 1.3.2 SPI-GA、SPI-CA 复合物 Zeta-电位测定

**Zeta-电位测定:**分别配制质量分数 0.1% 的 SPI、GA、CA 溶液,稀释 100 倍后,在室温下,使用马尔文激光粒度仪分别测定 pH 值为 2.00、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00、8.00 和 9.00 时溶液 Zeta-电位,筛选出本研究所需的反应 pH 值后,按照 1.3.1 节配制复合物,稀释 100 倍后,测定其 Zeta-电位。

### 1.3.3 蛋白-多糖复合物表面疏水性测定

采用 1-苯胺基-8-萘磺酸盐 (ANS) 荧光探针法测定蛋白-多糖复合物表面疏水性<sup>[18]</sup>。配制 0.01 mol/L、pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲液,利用该缓冲液配制浓度为 8 mmol/L 的 ANS 原液,并将 SPI 溶液、蛋白-多糖复合物溶液梯度稀释 0.02 ~ 0.1 mg/mL 共 5 个质量浓度。分别向稀释后的样品 (10 mL) 中添加 100  $\mu$ L ANS,避光操作,充分混合后利用 F-4500 型荧光分光光度计测定荧光强度,激发波长为 340 nm,发射波长为 440 nm。荧光强度与蛋白质量浓度的初始斜率即为蛋白样品的表面疏水性指数  $H_0$ 。

### 1.3.4 蛋白-多糖复合物内源荧光光谱测定

测试方法参照文献[19]并略加修改,将 1.3.1 节制备好的复合物稀释 100 倍后,激发波长  $\lambda_{ex}$  设为 295 nm,狭缝为 5 nm,在 25℃ 下扫描发射波长 300 ~ 400 nm 范围内的内源荧光光谱,以蛋白溶液作为空白对照。所有实验取 3 次平均值。

### 1.3.5 蛋白-多糖复合物傅里叶变换红外光谱测定

测试方法参照文献[20]并略加修改,称取干燥后的样品 2 mg,按照一定比例加入 100 mg 溴化钾固体混和均匀,研磨压片后进行测定。测定条件:环境温度 25℃,扫描波数范围 4 000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$ ,波数精

度 0.005  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描次数 64 次。

### 1.3.6 乳液制备

按照 1.3.1 节方法制备 SPI-多糖复合物,以油相体积分数为 30% 向复合物中加入相应量玉米油,用 IKA 型均质机在 1 000 r/min 下高速分散 3 min,分散后粗乳液在 80 MPa 下均质一次,得到新鲜乳液等待进一步测定<sup>[21]</sup>。

### 1.3.7 乳液粒径测定

用 Nano-ZS90 型马尔文激光粒度仪测定乳液粒径分布,水相和油相的折射率分别为 1.33 和 1.45,在固定检测角 90° 下进行动态光散射 (DLS) 测定<sup>[22]</sup>。结果用累积平均直径 ( $D_{4,3}$ ) 表示液滴大小,多分散指数 (PDI) 表示粒度分布。

### 1.3.8 乳液流变特性测定

**静态流变:**测试方法见文献[23],新鲜制备的乳液放入测试平板内 (直径 50 mm),测试过程在室温下进行,恒定频率 1 Hz,剪切速率范围为 0.1 ~ 100  $\text{s}^{-1}$ ,以剪切速率为横坐标,表观粘度为纵坐标绘制图谱反映乳液的流变性能。

**动态流变:**测试方法见文献[24],新鲜制备的乳液放入测试平板内 (直径 50 mm),测试过程在室温下进行,恒定应力 1% 进行频率扫描,测试角速度从 0.01 rad/s 增加到 100 rad/s 过程中乳液的弹性模量  $G'$  和粘性模量  $G''$  变化情况。

### 1.3.9 乳液乳化特性测定

测试方法参照文献[25]并略加修改,吸取新鲜制备乳液 10  $\mu$ L 加入到 9.99 mL 0.1% 的 SDS 溶液中,稀释 1 000 倍,充分混匀,在波长 500 nm 下测定其吸光度  $A_0$ ;待乳液静置 30 min 后,再将其稀释测定吸光度  $A_{30}$ ,乳化活性指数和乳化稳定性指数计算公式为

$$E_{AI} = \frac{2 \times 2.303A_0D_F}{10\,000c\phi(1-\theta)} \approx 65.8A_0 \quad (1)$$

$$E_{SI} = \frac{30A_0}{A_0 - A_{30}} \quad (2)$$

式中  $E_{AI}$ ——乳液活性指数,  $\text{m}^2/\text{g}$

$E_{SI}$ ——乳化稳定性指数, min

$D_F$ ——稀释因子,取 1 000

$c$ ——初始蛋白质质量浓度,取 1 g/(100 mL)

$\phi$ ——光程,取 0.01 m

$\theta$ ——制备乳状液所用油相的体积分数,取 30%

### 1.3.10 乳液微观结构观察

在科研级正置显微成像系统下观察乳液微观状态。将乳液按体积稀释 100 倍,用 10 倍目镜和 40 倍物镜观察。

### 1.3.11 乳液稳定性

新鲜乳液在4℃冰箱放置30 d后,观察其外观状态,测试乳液平均粒径和乳析指数 $C_I$ <sup>[26]</sup>,公式为

$$C_I = \frac{H_s}{H_t} \times 100\% \quad (3)$$

式中  $H_s$ ——下层乳析清液高度,mm

$H_t$ ——乳液总高度,mm

### 1.3.12 统计分析

每次实验进行3次平行实验,用单因素方差分析(ANOVA)法检验结果统计学意义,用概率水平0.05的LSD(最小显著差异法)多范围检验分析各组均值之间的差异( $p < 0.05$ )。图表中的数据为平均值±标准差,图表是用PeakFit v4、Origin 2017和IBM SPSS 23软件进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 大豆蛋白-多糖复合物 Zeta-电位

图1为SPI、GA和CA溶液Zeta-电位随pH值的变化曲线。结果表明,在pH值大于4.00时,三者同时带有负电荷,当pH值在2.00~4.00之间时,SPI带有正电荷,GA和CA带有负电荷,当蛋白质与多糖带有相反电荷时,二者可以发生静电相互作用吸引,形成复合物<sup>[27]</sup>。因此,本研究选择pH值3.00作为静电相互作用的反应条件。

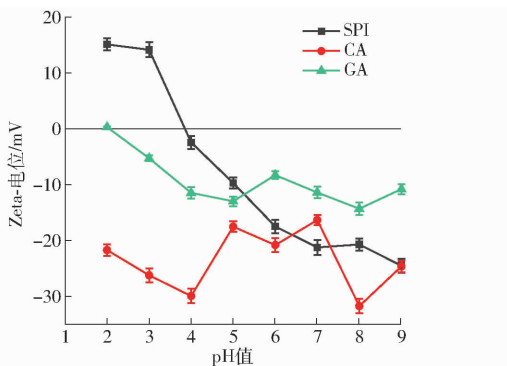


图1 不同pH值下大豆分离蛋白、阿拉伯树胶、卡拉胶 Zeta-电位

Fig. 1 Zeta-potential of SPI, gum Arabic, carrageenan with different pH values

Zeta-电位是粒子间静电相互作用的标尺,可以用来预测分散体系的稳定性,一定条件下,Zeta-电位绝对值越大,粒子间的斥力越大,体系越稳定<sup>[28]</sup>。图2(图中不同字母表示差异显著,下同)为SPI与GA、CA复合物Zeta-电位变化趋势图,单独的SPI电位为 $(11.90 \pm 1.10)$  mV。由图2可知,多糖加入后复合体系的电位增加,当SPI与CA质量比为20时,Zeta-电位最高,为 $(20.47 \pm 0.82)$  mV。在该反应条件下,SPI的氨基基团暴露在体系内,GA侧链上的

羧基、CA侧链上的巯基与氨基之间因电荷的不同相互吸引,形成中性复合物,使更多的氨基呈现暴露状态,进而打破了SPI液滴之间的聚集,造成电位增加,也可能是由复合物形成方式造成的<sup>[15]</sup>,而随着多糖含量的增加,多糖与暴露氨基的结合逐渐增加,形成更多的中性复合物,导致Zeta-电位降低<sup>[29]</sup>。因为CA的电荷密度高于GA,因此,在一定范围内,CA使SPI的展开效果更佳,暴露的氨基更多,与SPI的结合效果更好,因此,CA复合物的电位高于GA。

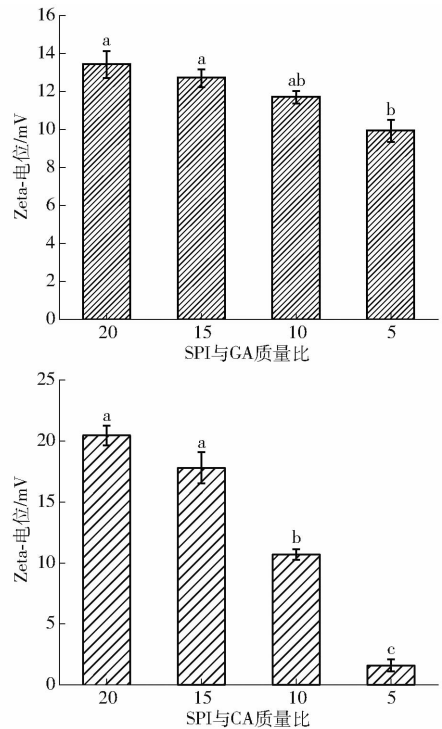


图2 SPI与不同多糖复合物 Zeta-电位

Fig. 2 Zeta-potential of SPI and different polysaccharide complexes

### 2.2 蛋白-多糖复合物表面疏水性

蛋白质的 $H_0$ 对蛋白质的功能性有很重要的影响,与其乳化能力和乳化稳定性之间也存在密切的关系<sup>[30]</sup>。SPI与多糖复合物的表面疏水性变化趋势如图3所示,单独SPI溶液的表面疏水性指数为 $15.037.33 \pm 210.56$ ,由图3可知,随着多糖含量的增加,SPI表面疏水性指数呈现先增加后降低的趋势,当SPI与多糖的质量比为10时表面疏水性达到最大,说明多糖的加入使SPI结构展开,疏水基团暴露出来,从而与ANS探针结合显示疏水性增加。当多糖添加量继续增加时,SPI的疏水性反而降低,这可能是由于多糖含量增加,蛋白-多糖体系的粘度增加从而使展开的结构又被包裹在复合体系中,致使体系的疏水性降低<sup>[31-32]</sup>。从GA和CA对SPI表面疏水性的作用可知,CA的疏水性更高,说明CA的加入更有利于SPI结构展开,暴露疏水基团。

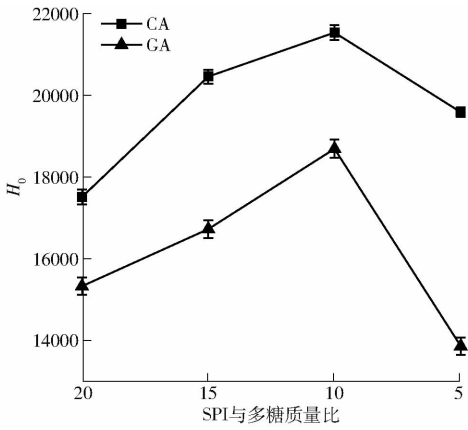
图3 SPI与多糖复合物表面疏水性( $H_0$ )

Fig. 3 Surface hydrophobicity of SPI and different polysaccharide complexes

### 2.3 蛋白-多糖复合物内源荧光

内源荧光光谱可以用来检测不同含量多糖与蛋白结合的荧光强度变化,当激发波长为 295 nm 时,荧光光谱变化主要是由色氨酸(Trp)残基发生变化引起的。如图 4 所示,随着多糖含量的增加,SPI 最大发射峰强度显著降低,而峰的形状基本没有变化,呈现典型的荧光猝灭现象,表明两种多糖与 SPI 之间存在相互作用<sup>[33]</sup>,此外,SPI 的最大发射波长发生了蓝移,说明 SPI 与两种多糖之间都发生了结合,形成复合物,这可能是由于阴离子多糖加入增加了蛋白质粒子之间空间位阻,使 SPI 的构象发生变化,色氨酸的内部微环境有由极性向非极性转变的趋势,从而导致色氨酸最大吸收波长发生了蓝移<sup>[34-35]</sup>。在 SPI-GA 复合物中,随着 GA 含量的增加,SPI 的荧光光谱呈现逐渐降低的趋势;但是在 SPI-CA 复合物中,当 SPI 与 CA 质量比为 5 时,荧光强度有所升高,这可能是由于卡拉胶过量加入,除了卡拉胶自身发生团聚外,聚集在 SPI 表面的过量多糖形成更多、更大的中性复合物<sup>[15]</sup>,从而聚集沉降,使溶液中游离的 SPI 增加,因此荧光强度略有升高,这与文献<sup>[36]</sup>的研究结果相似,多糖含量增加,复合物荧光强度变化不大,而本实验使用原料卡拉胶粘度较大,因此多糖添加过多时荧光强度略微升高。

### 2.4 蛋白-多糖复合物傅里叶变换红外光谱

蛋白质在红外区有特征吸收带,可以反映蛋白质结构中官能团的变化情况,用于分析蛋白质和多糖之间相互作用<sup>[37]</sup>。图 5 为不同多糖添加量下 SPI 的红外吸收光谱图,由图 5 可知,SPI 与 GA 复合物的图谱没有新的吸收峰出现,而吸收峰的强度和峰宽发生变化,说明 GA 的加入并未与 SPI 生成新的物质,但对其结构产生影响。在 SPI 与 CA 的红外图谱中,840~930  $\text{cm}^{-1}$  波数范围内可以清晰地看到有新的吸收峰出现,由前人的研究可知,这是典型硫

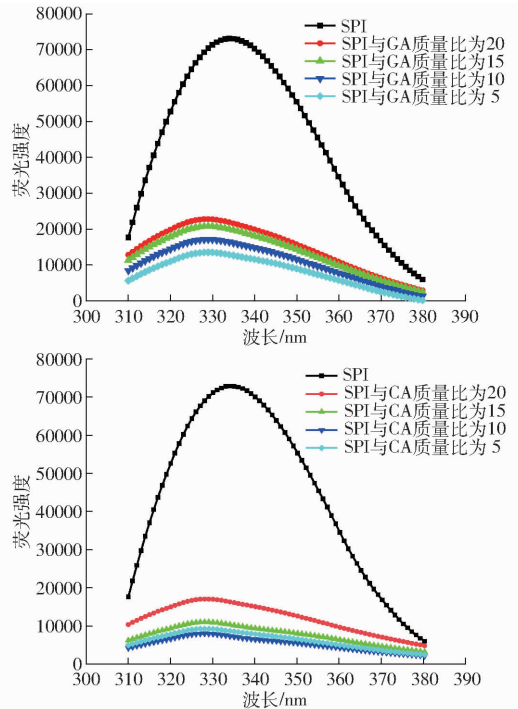


图4 不同条件下 SPI-多糖复合物的内源荧光光谱

Fig. 4 Intrinsic fluorescence spectra of SPI-polysaccharide complex with different conditions

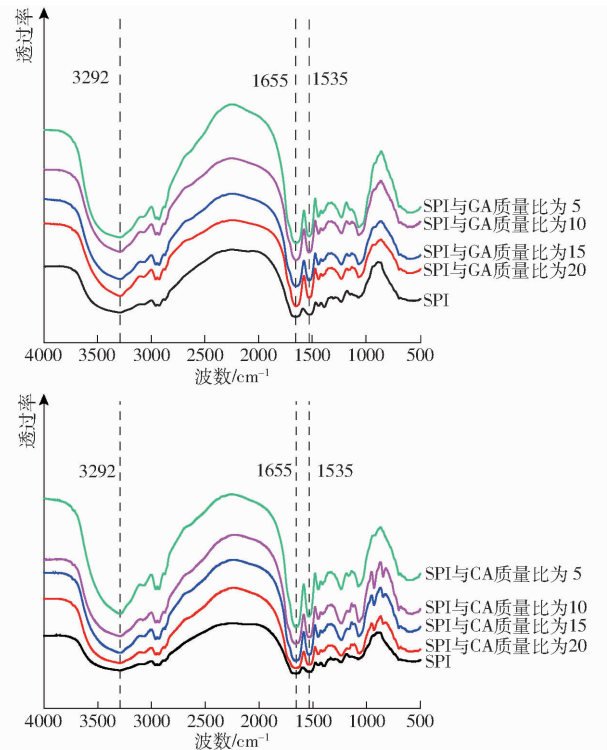


图5 不同条件下 SPI-多糖复合物的傅里叶变换红外光谱

Fig. 5 FTIR of SPI-polysaccharide complex with different conditions

基多糖 CA 的特征吸收峰<sup>[38]</sup>,此外并没有新的吸收峰生成,表明 CA 只对 SPI 的结构产生影响。红外图谱中酰胺 A 带(3 100~3 500  $\text{cm}^{-1}$ )的宽峰是由氢键引起,酰胺 I 带(1 600~1 700  $\text{cm}^{-1}$ )主要是由 C—O 伸缩振动形成,多糖加入后,酰胺 A 带内

3 292 cm<sup>-1</sup>波数段的峰值及峰宽略有变化,这可能是由于多糖与 SPI 发生缩合产生氢键<sup>[39]</sup>。

酰胺 I 带对蛋白质的结构变化敏感,对该波段进行求导、去卷积化处理后,计算 α-螺旋(1 648 ~ 1 660 cm<sup>-1</sup>)、β-折叠(1 610 ~ 1 636 cm<sup>-1</sup>、1 682 ~ 1 690 cm<sup>-1</sup>)、β-转角(1 661 ~ 1 681 cm<sup>-1</sup>)和无规则卷曲(1 637 ~ 1 647 cm<sup>-1</sup>)的比例,得到 SPI 的二级结构变化情况<sup>[40]</sup>。由表 1 可知,随着多糖的加入,α-螺旋与 β-转角相对含量呈现先下降后上升的趋势,而 β-折叠相对含量先升高后降低,无规则卷曲

的变化程度不大,但与 β-折叠的变化趋势相同,β-折叠的增加有助于蛋白质疏水区域暴露,这与表面疏水性的结果相一致,表明多糖的加入使蛋白质的疏水基团暴露,疏水性显著增加<sup>[40]</sup>。在蛋白质的结构中,β-折叠和 β-转角结构与氢键相关,β-折叠的显著增加说明蛋白与多糖之间有氢键作用,二者可以通过静电作用结合形成复合物<sup>[41]</sup>。CA 加入后 SPI 的二级结构变化程度更高,这与 H<sub>0</sub>的结果相一致,CA 的加入更有利于 SPI 结构的展开。

表 1 不同条件下 SPI-多糖复合物二级结构相对含量

Tab. 1 Relative content of secondary structure of SPI-polysaccharide with different conditions

类别	α-螺旋	β-折叠	β-转角	无规则卷曲
SPI	(15.51 ± 0.25) <sup>c</sup>	(39.46 ± 0.29) <sup>g</sup>	(27.78 ± 0.21) <sup>a</sup>	(17.26 ± 0.20) <sup>c</sup>
SPI 与 GA 质量比 20	(15.32 ± 0.31) <sup>cd</sup>	(44.84 ± 0.20) <sup>e</sup>	(24.11 ± 0.24) <sup>c</sup>	(15.73 ± 0.30) <sup>de</sup>
SPI 与 GA 质量比 15	(14.67 ± 0.25) <sup>e</sup>	(46.60 ± 0.30) <sup>c</sup>	(23.34 ± 0.20) <sup>d</sup>	(15.39 ± 0.32) <sup>ef</sup>
SPI 与 GA 质量比 10	(15.13 ± 0.28) <sup>cde</sup>	(45.91 ± 0.20) <sup>d</sup>	(19.86 ± 0.23) <sup>f</sup>	(19.12 ± 0.12) <sup>b</sup>
SPI 与 GA 质量比 5	(16.35 ± 0.23) <sup>b</sup>	(38.78 ± 0.21) <sup>h</sup>	(27.28 ± 0.21) <sup>b</sup>	(17.55 ± 0.27) <sup>c</sup>
SPI 与 CA 质量比 20	(12.16 ± 0.24) <sup>g</sup>	(46.35 ± 0.41) <sup>cd</sup>	(22.21 ± 0.21) <sup>e</sup>	(19.60 ± 0.25) <sup>a</sup>
SPI 与 CA 质量比 15	(14.09 ± 0.28) <sup>f</sup>	(52.22 ± 0.21) <sup>a</sup>	(18.45 ± 0.30) <sup>g</sup>	(15.24 ± 0.22) <sup>f</sup>
SPI 与 CA 质量比 10	(14.97 ± 0.48) <sup>de</sup>	(49.02 ± 0.29) <sup>b</sup>	(20.06 ± 0.24) <sup>f</sup>	(16.07 ± 0.25) <sup>de</sup>
SPI 与 CA 质量比 5	(22.03 ± 0.22) <sup>a</sup>	(42.17 ± 0.21) <sup>f</sup>	(21.83 ± 0.22) <sup>c</sup>	(13.96 ± 0.24) <sup>g</sup>

注:同列不同字母表示差异显著(p < 0.05),下同。

### 2.5 乳液粒径

乳液中液滴粒径影响乳液稳定性,液滴粒径越小,乳液越趋于稳定<sup>[42]</sup>。新鲜制备乳液液滴粒径和多分散性指数(PDI)如图 6 所示,单独 SPI 乳液液滴的粒径为(2.63 ± 0.02) μm, PDI 为 0.64 ± 0.03,两种多糖加入均使乳液的平均粒径减小,由(2.63 ± 0.02) μm 分别降至(1.81 ± 0.03) μm、(1.37 ± 0.01) μm,且此时乳液的 PDI 均小于 1,表明多糖可以提高乳液稳定性。随着多糖含量增加,乳液平均粒径逐渐增加,当多糖添加量过多时有降低的趋势,这可能是因为适量多糖加入有助于液滴粒径的减小,多糖添加量过多时,阴离子多糖产生的静电斥力使液滴发生絮凝,多糖的添加量再增加时,多糖已经不能与 SPI 结合形成复合物,自身形成小的聚集体,因此使乳液的粒径减小<sup>[43-44]</sup>。

研究表明电荷密度会影响蛋白-多糖之间的静电相互作用,当 SPI 与多糖质量比为 20 时,GA 和 CA 的平均粒径分别为(1.81 ± 0.03) μm、(1.37 ± 0.01) μm,CA 的平均粒径小于 GA,说明蛋白质表面的电荷密度较少时,氨基多糖的静电作用优于羧基多糖,此时 CA 的 PDI 为 0.81 ± 0.04,GA 的 PDI 为 0.48 ± 0.05,二者的 PDI 均小于 1,就乳液粒径而言,SPI-CA 复合乳液比 SPI-GA 复合乳液更加稳定。

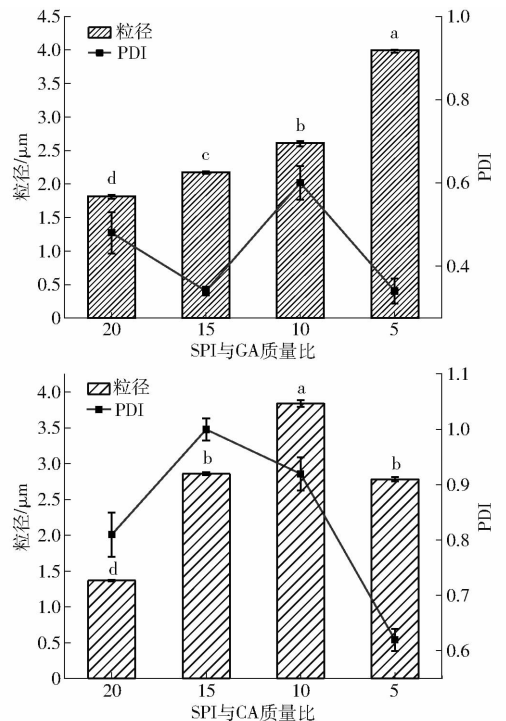


图 6 不同条件下乳液的粒径及 PDI 分布  
Fig. 6 Particle size and PDI distribution of emulsion with different conditions

### 2.6 乳液流变特性

乳液体系的粘度可以在一定程度上反映乳液体系内粒子的状态,乳液粘度越大,乳液内粒子的运动

速率受阻,减少乳液内粒子的絮凝与聚集,因此乳液的稳定性越高<sup>[45]</sup>。乳液表观粘度随剪切速率变化趋势如图7所示,随着剪切速率增加,乳液的粘度呈下降的趋势,所有乳液样品都表现出剪切稀释的趋势,这是典型的非牛顿流体<sup>[46]</sup>。由图7可知,乳液的粘度随多糖含量的增加而增加,在多糖添加量较低时,乳液的粘度低于单独SPI乳液或增加较少,而SPI与多糖质量比为5时,乳液的剪切粘度显著增加,这是由于多糖自身的粘度较大,使乳液体系的流动性减少,从而乳液也更趋于稳定,但过量多糖的加入,对SPI-多糖的相互作用没有益处。当多糖添加量较低时,乳液的粘度低于单独SPI乳液的粘度,这可能是因为此时乳液内粒子的粒径较小,运动速率快,所以粘度较大,而随着多糖的增加,乳液体系的粒径增加,运动速度减慢,因此粘度增加,这与乳液粒径变化的结果一致,而CA的粘度总体上大于GA的粘度,这与多糖自身的粘度性质有关。

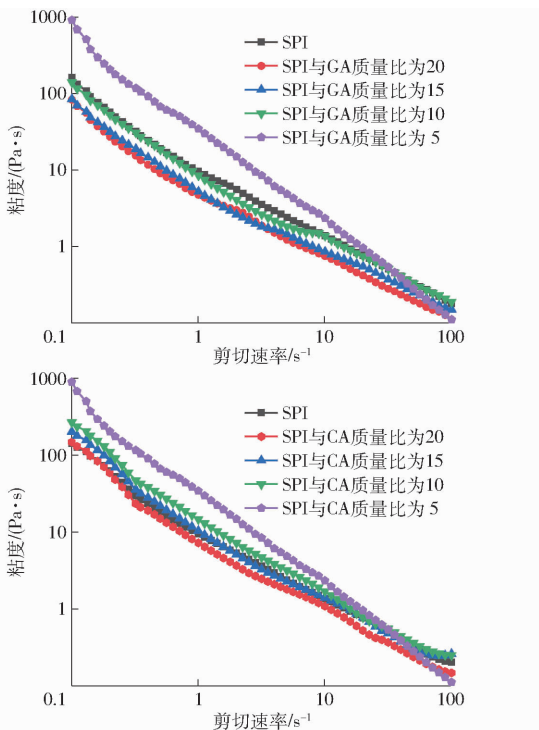


图7 不同条件下乳液表观粘度分析

Fig.7 Analysis of apparent viscosity of emulsion with different conditions

乳液体系的粘弹性行为可以通过剪切模量的变化来表示,储能模量 $G'$ 是材料在变形过程中储存能量的量度,而损耗模量 $G''$ 是耗散能量的量度, $G'$ 大于 $G''$ 的样品表现为弹性行为,反之则为粘性行为<sup>[37-46]</sup>。乳液的剪切模量随角速度变化的情况如图8所示,随着角速度的增加,乳液的剪切模量呈现上升的趋势并趋于稳定,且 $G'$ 远大于 $G''$ ,表明所有

的乳液样品都以弹性行为为主,主要形成类弹性的网络结构<sup>[47]</sup>。由图8可知,乳液的 $G'$ 与 $G''$ 随着多糖含量的增加而增加,且均大于单独的蛋白乳液,可能是因为多糖的加入增强了乳液中液滴之间的相互作用,从而增加了乳液的粘弹性,这与表观粘度的结果一致<sup>[23]</sup>。总体来看,CA乳液的模量高于GA乳液的模量,这与多糖自身的粘度性质也是分不开的。

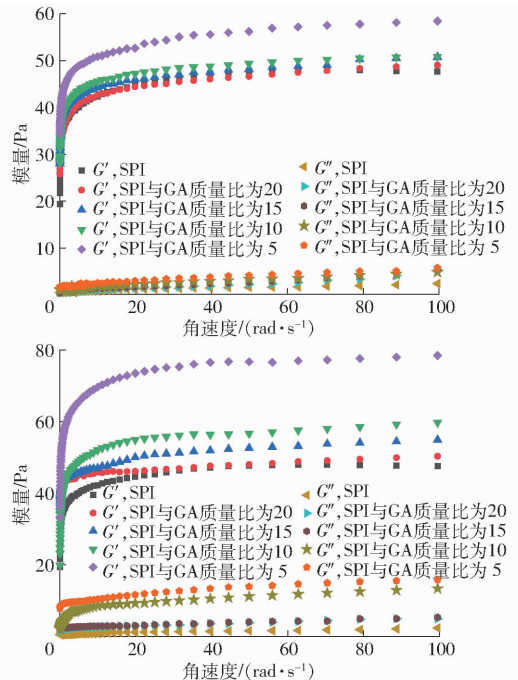


图8 不同条件下乳液的模量分析

Fig.8 Analysis of modulus of emulsion with different conditions

## 2.7 乳液乳化特性

蛋白质的乳化活性和复合乳液的乳化稳定性在蛋白质应用中有重要作用<sup>[48]</sup>。如表2所示,随着多糖含量增加,复合乳液乳化活性呈现先增加后降低的趋势,这可能是因为阴离子多糖的加入打破了SPI粒子之间聚集,导致更多疏水基团暴露,增强了与油滴结合能力<sup>[49]</sup>。与单独SPI乳化活性指数 $(83.04 \pm 3.64) \text{ m}^2/\text{g}$ 相比,随着GA增加,乳化活性指数由 $(87.87 \pm 3.25) \text{ m}^2/\text{g}$ 增加到 $(123.70 \pm 2.02) \text{ m}^2/\text{g}$ 后降低,SPI与CA质量比为20时乳化活性指数达到最大,为 $(106.46 \pm 4.75) \text{ m}^2/\text{g}$ ,这可能是因为相同添加量下,CA静电荷量高于GA,当多糖添加量过量时,多糖因自身的高粘度而发生聚集,从而降低了乳化活性,表明GA对于乳液的乳化活性指数增加更有益。

由表2可知,多糖的加入使SPI乳化稳定性降低,随着GA添加量增加,乳化稳定性指数由 $(270.53 \pm 6.49) \text{ min}$ 降至 $(116.24 \pm 8.63) \text{ min}$ ,这

与粒径电位的结果相一致,随着电位的降低,乳液粒径增加,蛋白质表面吸附了大量多糖后,蛋白质分子间的强烈静电斥力会产生空间位阻,使液滴发生聚集,降低乳液的稳定性<sup>[50]</sup>,粒径越小,Zeta-电位越高,乳液稳定性越高,随着 CA 添加量的增

加,乳化稳定性指数由  $(145.33 \pm 8.53)$  min 增加至  $(363.75 \pm 7.61)$  min 后降低,表明 Zeta-电位不是影响蛋白质乳液在低 pH 值条件下稳定性的唯一因素,具体的影响因素还需要进一步探究,而 CA 本身的高粘性也对乳液稳定性有益处。

表 2 不同条件下 SPI-多糖  $E_{SI}$ 、 $E_{AI}$ 、 $C_I$  和平均粒径

Tab. 2  $E_{SI}$ ,  $E_{AI}$ ,  $C_I$  and average particle size of SPI-polysaccharide with different conditions

类别	$E_{AI}/(\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$	$E_{SI}/\text{min}$	30 d 后 $D_{4.3}/\mu\text{m}$	30 d 后 $C_I/\%$
SPI	$(83.04 \pm 3.64)^e$	$(374.85 \pm 5.68)^a$	$(4.47 \pm 0.09)^{cd}$	$0^b$
SPI 与 GA 质量比 20	$(87.87 \pm 3.25)^{de}$	$(270.53 \pm 6.49)^c$	$(3.99 \pm 0.03)^c$	$0^b$
SPI 与 GA 质量比 15	$(95.74 \pm 2.63)^c$	$(200.23 \pm 7.84)^d$	$(4.26 \pm 0.14)^{de}$	$(15 \pm 1.00)^{ab}$
SPI 与 GA 质量比 10	$(123.70 \pm 2.02)^a$	$(125.01 \pm 5.37)^f$	$(5.26 \pm 0.20)^b$	$(21 \pm 1.50)^{ab}$
SPI 与 GA 质量比 5	$(89.49 \pm 4.39)^d$	$(116.24 \pm 8.63)^f$	$(7.42 \pm 0.18)^a$	$(25 \pm 1.00)^{ab}$
SPI 与 CA 质量比 20	$(106.46 \pm 4.75)^b$	$(145.33 \pm 8.53)^e$	$(2.40 \pm 0.40)^f$	$(5 \pm 0.50)^b$
SPI 与 CA 质量比 15	$(82.97 \pm 4.28)^c$	$(314.86 \pm 8.25)^b$	$(4.25 \pm 0.28)^{de}$	$(10 \pm 1.00)^{ab}$
SPI 与 CA 质量比 10	$(75.28 \pm 3.39)^f$	$(363.75 \pm 7.61)^a$	$(4.74 \pm 0.08)^c$	$(15 \pm 1.50)^a$
SPI 与 CA 质量比 5	$(24.68 \pm 2.79)^e$	$(94.54 \pm 7.42)^e$	$(4.24 \pm 0.08)^{de}$	$0^b$

## 2.8 乳液微观结构

光学显微镜因成本低、操作简便,在表征大尺寸液滴时应用较为广泛,本研究乳液为微米级别,因此可用较为宏观的光学显微镜直接观察乳液液滴状态<sup>[51]</sup>。图 9 为不同质量比 SPI-多糖乳液光学显微镜图像,由图 9 可知,SPI 以及 SPI-多糖复合物很好

地吸附在油水界面形成乳液,形成的液滴在乳液中均匀分布,整体来看,多糖加入后,相对于单独的 SPI 乳液,SPI-多糖乳液液滴粒径先减小后增加,这与上文粒径结果相一致,乳液并没有发生过量聚结,这可能是由于多糖提供的空间位阻效应,使形成的油滴被蛋白质包覆,体系保持稳定<sup>[17]</sup>。

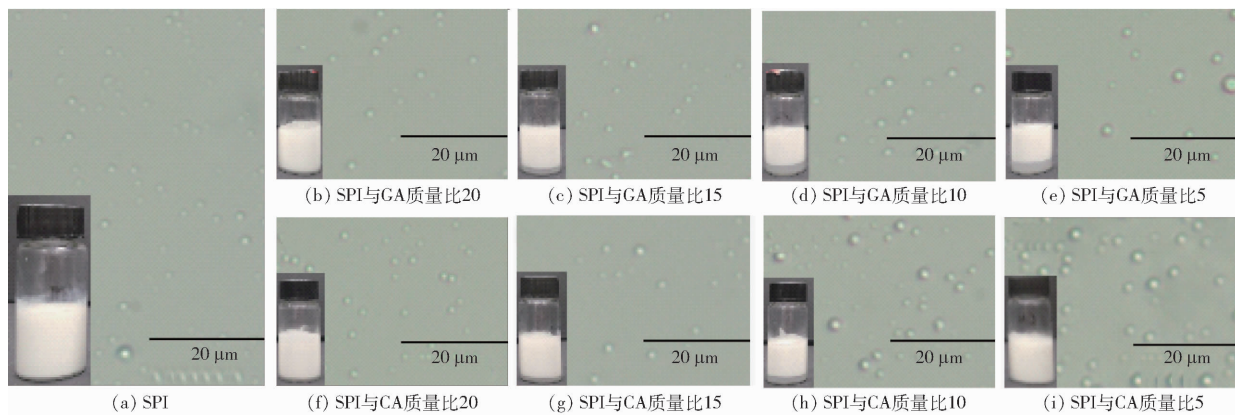


图 9 不同条件下 SPI-多糖乳液光学显微镜图像及乳液储存 30 d 后的表现图像

Fig. 9 Optical microscope images of SPI-polysaccharide emulsions with different conditions and appearance of emulsion after 30 d

## 2.9 乳液储藏稳定性

如表 2 所示,蛋白-多糖乳液贮藏 30 d 后平均粒径有所升高,但变化趋势与新鲜乳液相同,随着两种多糖含量的增加,乳液平均粒径先增加后降低。当 SPI 与 GA 质量比为 20 时,乳液平均粒径最小,为  $(3.99 \pm 0.03) \mu\text{m}$ ,随着 GA 含量增加,在 SPI 与 GA 质量比为 5 时达到最大,为  $(7.42 \pm 0.18) \mu\text{m}$ ,这与新鲜乳液的平均粒径结果相一致。从乳析指数上来看随着 GA 含量的增加,乳液粒径逐渐增加,乳析指数呈升高趋势,当 SPI 与 GA 质量比为 20 时,乳

析指数为 0,说明此时溶液趋于稳定,在一定范围内,适量多糖的加入,有助于提高乳液贮藏稳定性。

当 SPI 与 CA 质量比为 20 时,乳液平均粒径最小,为  $(2.40 \pm 0.40) \mu\text{m}$ ,随着 CA 含量增加,在 SPI 与 CA 质量比为 10 时达到最大,为  $(4.74 \pm 0.08) \mu\text{m}$ ,随后降低,这与新鲜乳液的平均粒径结果相一致。乳析指数也为相同的趋势,当 SPI 与 CA 质量比为 5 时,乳析指数为 0,说明此时乳液趋于稳定,这与乳化稳定性的结果相反,表明过量 CA 的加入有助于提高乳液的储藏稳定性,但对其乳化稳定



性没有益处。

### 3 结束语

本研究利用动态光散射、光谱学等技术,通过粒径、Zeta-电位、表面疏水性、内源荧光光谱、傅里叶变换红外光谱、乳化活性、乳化稳定性、表观粘度等表征蛋白-多糖复合物及乳液特性。研究表明,在pH值为3.00的条件下,随着多糖含量的增加,蛋白-多糖复合物的电位逐渐降低,内源荧光光谱的最大发射峰强度显著降低,表面疏水性先升高后降低,

表明SPI的微环境发生变化,疏水基团暴露,SPI与GA、CA形成复合物,而SPI的 $\alpha$ -螺旋与 $\beta$ -转角相对含量先降低后升高, $\beta$ -折叠相对含量先升高后降低,SPI的二级结构发生改变。多糖的加入改善了乳液的乳化活性、乳化稳定性与储藏稳定性,乳液的表观粘度随多糖含量的增加逐渐升高,乳液表现为弹性行为,CA对乳液的粘度与稳定性的影响优于GA,而添加GA的乳液乳化活性高。这为后续研究蛋白-多糖乳液凝胶作为脂肪替代物,及在疏水性物质运输研究中提供理论支持。

### 参 考 文 献

- [1] ZHU Ying, FU Shaoyu, WU Changling, et al. The investigation of protein flexibility of various soybean cultivars in relation to physicochemical and conformational properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103: 105709.
- [2] FRIEDMAN M, BRANDON D L. Nutritional and health benefits of soy proteins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(3): 1069-1086.
- [3] MATS M, MAREFATI A, BARRERO P, et al. Resveratrol loaded pickering emulsions stabilized by OSA modified rice starch granules[J]. *Food Research International*, 2021, 139: 109837.
- [4] TOMOHIRO I, MIO N, TOSHIKI T, et al. Interfacial and emulsifying properties of soybean peptides with different degrees of hydrolysis[J]. *Journal of Oleo Science*, 2015, 64(2): 183-189.
- [5] TANG Chuanhe. Emulsifying properties of soy proteins: a critical review with emphasis on the role of conformational flexibility[J]. Taylor & Francis, 2017, 57(12): 2636-2679.
- [6] HUANG Lihua, CAI Yongjian, LIU Tongxun, et al. Stability of emulsion stabilized by low-concentration soybean protein isolate; effects of insoluble soybean fiber[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 97: 105232.
- [7] DICKINSON E. Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions[J]. *Soft Matter*, 2008, 4(5): 932-942.
- [8] WANG Shengnan, YANG Jinjie, SHAO Guoqiang, 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.
- [9] LIN Duanquan, KELLY A L, MIAO Song. The role of mixing sequence in structuring O/W emulsions and emulsion gels produced by electrostatic protein-polysaccharide interactions between soy protein isolate-coated droplets and alginate molecules[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 113: 106537.
- [10] COOPER C L, DUBIN P L, KAYITMAZER A B, et al. Polyelectrolyte-protein complexes[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2005, 10(1-2): 52-78.
- [11] TURGEON S L, LANEUVILLE S I. Protein + polysaccharide coacervates and complexes: from scientific background to their application as functional ingredients in food products[M]// *Modern Biopolymer Science*. Academic Press, 2009: 327-363.
- [12] KENNEDY J F, KNILL C K. Handbook of hydrocolloids[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2002, 49(4): 516.
- [13] SU Jiaqi, GUO Qing, CAI Yongjian, et al. Effect of ultra-high temperature processing on the physicochemical properties and antibacterial activity of d-limonene emulsions stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin/gum Arabic bilayer membranes[J]. *Food Chemistry*, 2020, 332: 127391.
- [14] 张慧, 杨瑞利, 刘芳, 等. 食品级 $\kappa$ -卡拉胶对肥胖小鼠致结肠炎风险及体脂蓄积的影响[J/OL]. *食品科学*, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201120.1452.057.html>.
- [15] TAVERNIER I, PATEL A R, MEEREN P V, et al. Emulsion-templated liquid oil structuring with soy protein and soy protein;  $\kappa$ -carrageenan complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 65(1): 107-120.
- [16] XIONG Wenfei, REN Cong, TIAN Mo, et al. Emulsion stability and dilatational viscoelasticity of ovalbumin/chitosan complexes at the oil-in-water interface[J]. *Food Chemistry*, 2018, 252(3): 181-188.
- [17] VÉLEZ-ERAZO E M, BOSQUI K, RABELO R S, et al. High internal phase emulsions (HIPE) using pea protein and different polysaccharides as stabilizers[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105775.
- [18] LEE H, YILDIZ G, DOS SANTOS L C, et al. Soy protein nano-aggregates with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 55(3): 200-209.
- [19] 李兴飞. 大豆乳清蛋白与多糖的复合作用以及蛋白质组分的选择性提取[D]. 无锡: 江南大学, 2017: 80.
- [20] LI Xingfei. Soybean whey proteins-polysaccharide complexation and the selective extraction of proteins[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017: 80. (in Chinese)
- [20] 李兴飞, 陈斌, 陈国靖, 等. 高粱醇溶蛋白-卡拉胶复合纳米颗粒负载姜黄色素的特性研究[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(3): 45-51.
- [21] LI Xingfei, CHEN Bin, CHEN Guojing, et al. Characteristic study curcumin loaded by Kafirin - Carrageenan composite nanoparticles[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2020, 35(3): 45-51. (in Chinese)
- [21] BI Chonghao, WANG Penglin, SUN Dongyu, et al. Effect of high-pressure homogenization on gelling and rheological properties of soybean protein isolate emulsion gel[J]. *Journal of Food Engineering*, 2020, 277: 109923.
- [22] LU Yao, MAO Like, ZHENG Hongxia, et al. Characterization of  $\beta$ -carotene loaded emulsion gels containing denatured and native whey protein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105600.
- [23] MA Li, ZOU Liqiang, MCCLEMENTS D J, et al. One-step preparation of high internal phase emulsions using natural edible Pickering stabilizers: gliadin nanoparticles/gum Arabic[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 100: 105381.
- [24] IQBAL S, XU Zichong, HUANG He, et al. Structuring of water-in-oil emulsions using controlled aggregation of polysaccharide in aqueous phases[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 258(2): 34-44.

- [25] JOCE A L, SÓNIA R M. Gelling and emulsifying properties of soy protein hydrolysates in the presence of a neutral polysaccharide[J]. *Food Chemistry*, 2019, 294: 216 – 223.
- [26] 刘竞男, 徐晔晔, 王一贺, 等. 高压均质对大豆分离蛋白乳液流变学特性和氧化稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 80 – 85.
- [27] LIU Jingnan, XU Yeye, WANG Yihe, et al. Effect of high pressure homogenization on rheological properties and oxidation stability of soy protein isolate-stabilized emulsion[J]. *Food Science*, 2020, 41(1): 80 – 85. (in Chinese)
- [28] 张晋博. 多糖对大豆蛋白的修饰及其界面、乳化和凝胶性质的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013: 5 – 6.
- [29] ZHANG Jinbo. Interfacial, emulsifying and gelation properties of soy protein modified by polysaccharide[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013: 5 – 6. (in Chinese)
- [30] 谢晶晶. 大豆分离蛋白与甜菜果胶的静电复合研究及应用[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2013: 17 – 19.
- [31] XIE Jingjing. Electrostatic complexation between soy protein isolate and sugar beet pectin and its application[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2013: 17 – 19. (in Chinese)
- [32] STONE A K, NICKERSON M T. Formation and functionality of whey protein isolate-(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 27(2): 271 – 277.
- [33] LIU Xiaoming, POWERS J R, SWANSON B G, et al. Modification of whey protein concentrate hydrophobicity by high hydrostatic pressure[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2005, 6(3): 310 – 317.
- [34] REN Si, LIU Liya, LI Yan, et al. Effects of carboxymethylcellulose and soybean soluble polysaccharides on the stability of mung bean protein isolates in aqueous solution[J]. *LWT*, 2020, 132: 109927.
- [35] 丁俭, 隋晓楠, 王婧, 等. 超声处理大豆分离蛋白与壳聚糖复合物对 O/W 型乳液稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(13): 74 – 80.
- [36] DING Jian, SUI Xiaonan, WANG Jing, et al. Effect of ultrasonic treatment on stability of oil-in-water (O/W) emulsion containing soybean protein isolate-chitosan complex[J]. *Food Science*, 2018, 39(13): 74 – 80. (in Chinese)
- [37] 范金波, 安佳鑫, 麻奥, 等. 荧光光谱法结合分子对接探究咖啡酸与牛血清白蛋白相互作用机制[J]. *包装与食品机械*, 2020, 38(5): 6 – 12.
- [38] FAN Jinbo, AN Jiaxin, MA Ao, et al. Study on the interaction mechanism between caffeic acid and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy combined with molecular docking[J]. *Packaging and Food Machinery*, 2020, 38(5): 6 – 12. (in Chinese)
- [39] 李杨, 李明达, 王中江, 等. 基于光谱技术的维生素 B12 与大豆分离蛋白相互作用分析[J]. *农业机械学报*, 2020, 51(1): 341 – 348.
- [40] LI Yang, LI Mingda, WANG Zhongjiang, et al. Spectroscopy analysis of interaction between vitamin B12 and soybean protein isolate[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2020, 51(1): 341 – 348. (in Chinese)
- [41] MA Xiaobin, HOU Furong, ZHAO Huanhuan, et al. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin by ultrasound treatment[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108: 106056.
- [42] 张雪, 张震, 邹建, 等. 鹰嘴豆蛋白与卡拉胶互作体系表征及其功能性研究[J]. *食品科技*, 2020, 45(12): 245 – 250.
- [43] LIANG Xiuping, MA Cuicui, YAN Xiaojia, et al. Structure, rheology and functionality of whey protein emulsion gels: effects of double cross-linking with transglutaminase and calcium ions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105569.
- [44] EVA G O, PILAR R. FTIR – ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(6): 1514 – 1520.
- [45] ZHANG Cen, LI Yang, WANG Peng, et al. Core-shell nanofibers electrospun from O/W emulsions stabilized by the mixed monolayer of gelatin-gum arabic complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 107: 105980.
- [46] ZHANG Ruihua, PANG Xiaoyang, LU Jing, et al. Effect of high intensity ultrasound pretreatment on functional and structural properties of micellar casein concentrates[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, 47: 10 – 16.
- [47] LI Qun, WANG Zhigao, DAI Caixia, et al. Physical stability and microstructure of rapeseed protein isolate/gum Arabic stabilized emulsions at alkaline pH[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 88(12): 50 – 57.
- [48] 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]. *农业机械学报*, 2019, 50(12): 372 – 379.
- [49] LI Liang, ZHANG Xiaoying, ZHU Jianyu, et al. Effect of soybean – whey mixed protein on stability and rheological properties of O/W emulsion[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2019, 50(12): 372 – 379. (in Chinese)
- [50] 李慧娜, 田少君, 章绍兵. 多糖对大豆浓缩蛋白乳液稳定性的影响研究[J]. *粮食与油脂*, 2019, 32(7): 34 – 38.
- [51] LI Huina, TIAN Shaojun, ZHANG Shaobing, et al. The effect of polysaccharide on the stability of soybean protein concentrate emulsion[J]. *Cereals & Oils*, 2019, 32(7): 34 – 38. (in Chinese)
- [52] SU Jiaqi, GUO Qing, CHEN Yulu, et al. Characterization and formation mechanism of lutein pickering emulsion gels stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin-gum arabic composite colloidal nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98: 105276.
- [53] 谢燕萍, 张修齐, 蔡志祥, 等. 单月桂酸甘油酯接枝改性阿拉伯胶及其乳化性能[J]. *食品科学*, 2019, 40(18): 28 – 34.
- [54] XIE Yanping, ZHANG Xiuqi, CAI Zhixiang, et al. Emulsifying properties of glyceryl monolaurate grafted gum Arabic[J]. *Food Science*, 2019, 40(18): 28 – 34. (in Chinese)
- [55] GE Anlei, IQBAL S, KIRK T V, et al. Modulating the rheological properties of oil-in-water emulsions using controlled WPI-polysaccharide aggregation in aqueous phases[J]. *Journal of Food Engineering*, 2021, 297: 110488.
- [56] JIRATTHITIKAN S, PAIROJ L, JIRARUT W, et al. Influence of pH and ionic strength on the physical and rheological properties and stability of whey protein stabilized O/W emulsions containing xanthan gum[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 242(6): 141 – 152.
- [57] YU Cuiping, WU Fan, CHA Yue, et al. Effects of high-pressure homogenization on functional properties and structure of mussel (*Mytilus edulis*) myofibrillar proteins [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: S0141813018322785.
- [58] SHIMADA K, CHEFTEL J C. Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reactions during heat-induced gelation of whey protein isolate[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1989, 37(1): 161 – 168.
- [59] ZHAO Yue, WANG Xu, LI Dan, et al. Effect of anionic polysaccharides on conformational changes and antioxidant properties of protein-polyphenol binary covalently-linked complexes[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 89: 89 – 97.
- [60] 焦博. 花生蛋白-多糖 Pickering 乳液的制备及稳定机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018: 9.
- [61] JIAO Bo. Preparation and stabilizing mechanism of peanut rotein – polysaccharide composite particles stabilized Pickering emulsions[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018: 9. (in Chinese)