

## EGCG 与大豆 7S/11S 蛋白互作对乳液稳定性的影响

黄 国<sup>1</sup>, 张江江<sup>1</sup>, 田泽鹏<sup>2</sup>, 罗小雪<sup>1</sup>, 孙书境<sup>1</sup>, 隋晓楠<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>东北农业大学食品学院 哈尔滨 150030

<sup>2</sup>东北农业大学生命科学学院 哈尔滨 150030)

**摘要** 以 $\beta$ -伴大豆球蛋白(7S)和大豆球蛋白(11S)为乳化剂,添加表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)制备 O/W 型乳液。通过测定复合物三维荧光光谱、热稳定性、粒径分布、 $\zeta$ -电位及乳液液滴尺寸、色差、液滴形态和界面蛋白吸附等特性,探究 EGCG 与 7S/11S 蛋白的相互作用对乳液稳定性的影响。结果表明:EGCG 使 7S/11S 蛋白荧光强度下降,蛋白三级结构展开,热稳定性降低。EGCG 引起 7S/11S 蛋白的交联,使其蛋白颗粒粒径增大,在一定程度上提高 $\zeta$ -电位。11S 蛋白对上述变化更为敏感,提示 11S 蛋白与 EGCG 的互作程度强于 7S 蛋白。添加 EGCG 提高了两者蛋白乳液的 $a^*$ 、 $b^*$ 值,并显著减小液滴尺寸。当 EGCG 质量分数为 0.02%时,7S/11S 蛋白乳液的 $d_{4,3}$ 最小,而 11S 蛋白乳液液滴仍以大聚集体形式存在。EGCG 明显改善 7S 蛋白乳液的储藏分层情况,而对 11S 蛋白乳液无明显影响。此外,EGCG 对 7S/11S 蛋白乳液界面蛋白整体亚基分布行为没有影响。

**关键词**  $\beta$ -伴大豆球蛋白; 大豆球蛋白; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 相互作用; 乳液稳定性

**文章编号** 1009-7848(2022)12-0082-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.12.009

大豆蛋白是一种优质的食源性植物蛋白,因完整的氨基酸组成、优良的功能特性和较高的营养价值而被广泛地应用于食品工业中<sup>[1]</sup>。根据沉降系数大豆蛋白被细分为 2S、7S、11S 和 15S 蛋白,其中 7S 和 11S 蛋白作为大豆蛋白的主要储藏蛋白,其含量占大豆蛋白的 70%~80%<sup>[2]</sup>。7S 蛋白(约 180 ku)是一种三聚体糖蛋白,由 3 个糖基化亚基 $\alpha$ (67 ku), $\alpha'$ (71 ku)和 $\beta$ (50 ku)通过疏水及静电相互作用连接<sup>[3-4]</sup>;而 11S(约 360 ku)蛋白是一种六聚体非糖蛋白,由亚基酸性多肽 A(35 ku)和碱性多肽 B(20 ku)通过二硫键连接而成的三聚体进一步聚合形成的六聚体<sup>[5-6]</sup>。近年来,以食源性蛋白为乳化剂的乳液体系被广泛研究。大豆蛋白因良好的表面活性及安全性而被用作乳化剂。7S/11S 蛋白作为大豆蛋白的主要蛋白,其蛋白结构、组分的变化会引起乳化特性差异。7S 蛋白较小的分子量,较高的柔韧性,可以很快移动到油-水界面形成乳液<sup>[7]</sup>;而 11S 蛋白中高分子量和亚基中较多的二硫键限制了其在油滴表面的吸附能力,不能在

界面处快速重排并迅速暴露与油相相互作用的疏水区域,使得 11S 蛋白的乳化效果不如 7S 蛋白<sup>[8]</sup>。11S 蛋白较高的聚集度和较多的二硫键的特性使其在凝胶功能上优于 7S 蛋白。这些表明大豆蛋白的不同组分因具有不同的功能而在食品加工中发挥不同的作用。7S/11S 蛋白之间结构和功能的差异性可能会影响乳液特性<sup>[9]</sup>。Puppo 等<sup>[10]</sup>研究表明 7S 蛋白对整体大豆蛋白乳液起关键作用,在 600 MPa 下,7S 蛋白乳液液滴絮凝形成结构化乳液,因而具有非常高的表观黏度;而 11S 蛋白乳液微观结构的未发生变化。Keerati-U-Rai 等<sup>[11]</sup>发现 11S 蛋白在大豆蛋白稳定的乳液中的剪切稀化行为发挥了主要作用,与 7S 蛋白稳定的乳液相比,较大的液滴尺寸、较高的絮凝程度和较高的蛋白质含量都有助于 11S 蛋白乳液稠度指数的提高。此外,由于乳液是一种热力学失稳的混合胶体体系,特别是在长期储存中,乳液往往会出现严重的絮凝失稳现象,降低了乳液的稳定性,进而影响食品的感官特性及营养价值。

有研究表明在乳液中添加多酚类化合物可以改善乳液的稳定性,以多酚与蛋白的复合体系构建的新型乳化剂的研究近年来引起业界极大的兴趣<sup>[12]</sup>。EGCG 是绿茶中含量最高、活性最强的儿茶素,其特殊的立体化学结构,表现出优异的生物学

收稿日期: 2021-12-11

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年科学基金项目  
(32022068)

第一作者: 黄国,男,硕士生

通信作者: 隋晓楠 E-mail: xiaonan.sui@neau.edu.cn

活性,如抗氧化、抗炎、抗病毒等,同时也被广泛地添加于食品之中<sup>[13]</sup>。EGCG 通过氢键与疏水相互作用与蛋白发生相互作用,进而影响蛋白的结构、功能及其乳液的稳定性。赵思明等<sup>[14]</sup>研究表明 EGCG 与大豆分离蛋白(Soy protein isolates, SPI)之间依靠疏水作用结合,并降低了 SPI 的  $\beta$ -折叠含量。 $\beta$ -乳球蛋白-EGCG 复合物能够在油-水界面发生结构变化并趋于展开,形成薄而带电的界面膜,从而稳定乳液<sup>[15]</sup>。祝钢等<sup>[16]</sup>研究发现 EGCG 与 SPI 之间的相互作用增强了蛋白质的抗氧化性;以 SPI-EGCG 复合物制备的 Pickering 乳液具有较好的乳化活性和乳化稳定性,乳液液滴分布均匀,不易聚集。虽然大量研究表明 EGCG 的加入能够改善大豆蛋白乳液的稳定性<sup>[17-19]</sup>,并明晰了 EGCG 与 7S/11S 蛋白的相互作用<sup>[20-21]</sup>,但是相关研究未涉及 EGCG 与 7S/11S 蛋白的相互作用对蛋白乳液稳定性的影响。明确 EGCG 与 7S/11S 蛋白的相互作用,不仅可以了解 7S/11S 蛋白稳定的乳液的特性差异,还可能通过开发蛋白-多酚复合乳化剂来提高蛋白乳液稳定性。

基于此,本文在前期试验的基础上,在中性条件下构建大豆蛋白-EGCG 复合体系,通过测定复合体系三维荧光光谱、热稳定性等探究其相互作用。以其为乳化剂,制备 O/W 型乳液。通过测定乳液的粒径分布、色差、液滴形态,观察储藏期分层情况及界面蛋白分布等,研究 EGCG 对 7S/11S 蛋白乳液稳定性差异的影响,为 EGCG 调控大豆蛋白乳液稳定性提供理论依据,也为大豆蛋白-多酚稳定乳液食品的开发与应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大豆(绥农 53 号),国家大豆工程技术研究中心;福临门玉米油,中粮佳悦(天津)有限公司。

EGCG(纯度 $\geq 98\%$ ),西安通泽生物科技有限公司;SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;十二烷基磺酸钠(分析纯),广州化学试剂厂;所用试剂均为分析纯级;试验用水均为去离子水。

### 1.2 仪器与设备

RF-6000 型荧光分光光度计,日本 Shimadzu

公司;DSC Q2000 差示扫描量热仪,美国 TA 公司;NANO ZS90 粒度及电位分析仪,英国马尔文仪器有限公司;BX53 正置显微镜,奥林巴斯(中国)有限公司;Mastersize 2000 粒度分布仪,英国马尔文仪器有限公司;ZE-600 色差计,日本色电工业株式会社;SPCH-EP-IC-10-60 高压微通道射流均质机,英国 Homogenising Systems Ltd 公司;T25 高速均质机,德国 IKA 公司。

### 1.3 方法

1.3.1 伴大豆球蛋白与大豆球蛋白的制备 参考 Nagano 等<sup>[22]</sup>的方法并稍作修改。大豆经万能粉碎机粉碎,过 60 目筛,按料液比 1:3(g/mL)将大豆粉用正己烷脱脂。室温下搅拌 2 h,重复脱脂 5 次,干燥得到脱脂大豆粉。将脱脂大豆粉按料液比 1:10(g/mL)加入去离子水中,用 2 mol/L NaOH 调节 pH 值至 7.5,室温搅拌 1 h 后离心(4 °C, 10 000 $\times$ g, 30 min),向上清液中添加 0.98 g/L 干燥后的亚硫酸氢钠,搅拌使其充分溶解。用 2 mol/L HCl 调节 pH 值至 6.4,置 4 °C 冰箱保持过夜,经离心(4 °C, 6 500 $\times$ g, 20 min)得到 11S 沉淀物。为获得 7S 蛋白,在离心后的上清液中加入固体 NaCl 使其浓度为 0.25 mol/L,并用 2 mol/L HCl 调节 pH 值至 5.0,搅拌 1 h 使其充分溶解,然后离心(4 °C, 10 000 $\times$ g, 30 min)除去沉淀物。向上清液添加等体积的冰冷水,用 2 mol/L HCl 调节 pH 值至 4.8,静置 1 h 后离心(4 °C, 6 500 $\times$ g, 20 min)得到 7S 沉淀物。

将 5 次水洗后的 7S/11S 沉淀物重新分散于 10 倍的去离子水中溶解并调节 pH 值至 7.5,将蛋白溶液透析 48 h(3 500 u),冻干,备用。经杜马斯法( $N \times 6.25$ )测定获得的(91.01 $\pm$ 0.05)%和(95.90 $\pm$ 0.12)%的 7S/11S 蛋白。经 SDS-PAGE 凝胶电泳分析,制备的 7S/11S 蛋白纯度分别为(80.07 $\pm$ 0.13)%,(93.43 $\pm$ 0.06)%。

1.3.2 伴大豆球蛋白/大豆球蛋白-EGCG 复合物的制备 将 EGCG、7S/11S 蛋白分别溶解于磷酸盐缓冲溶液(PBS, 0.01 mol/L, pH 7.0)中搅拌 2 h,而后将避光的 EGCG 溶液超声脱气,与 7S/11S 蛋白溶液在 4 °C 冰箱中放置过夜 12 h,以确保充分水化。将 EGCG、7S/11S 蛋白溶液按比例混合,最终配成质量分数为 1%的 7S/11S 蛋白,蛋白与

EGCG 质量比为 1:0 和 2:1 的混合溶液。避光搅拌 2 h, 确保充分反应。将混合溶液透析 48 h (3 500 u), 除去游离的 EGCG, 然后, 冷冻干燥获得 7S/11S 蛋白-EGCG 复合物。

**1.3.3 三维荧光光谱测定** 为了描述蛋白-多酚的相互作用, 使用三维荧光光谱技术来测量峰位置和峰强度值的相应变化。将 7S/11S 蛋白及其 EGCG 复合物溶于 PBS(0.01 mol/L, pH 7.0) 中, 最终质量浓度为 0.05 mg/mL。室温下匀速搅拌 2 h 后 4 °C 放置过夜 12 h, 以确保充分水化。取出, 恢复室温后进行三维荧光光谱测量。激发波长( $E_x$ ) 设置为 200~350 nm, 发射波长( $E_m$ ) 为 200~500 nm, 激发/发射狭缝宽带均为 5 nm, 扫描速度 2 000 nm/min。

**1.3.4 热稳定性的测定** 参考 Ren 等<sup>[23]</sup>的方法并稍作修改。取 5 mg 的 EGCG、7S/11S 蛋白及其 EGCG 复合物放入空白坩埚中, 加入 20  $\mu$ L PBS (0.01 mol/L, pH 7.0), 压片放置过夜平衡。用 Q2000 差示扫描量热仪测定蛋白质的热稳定性, 以空白坩埚为对照, 测定温度 20~100 °C, 加热速度 10 °C/min。采用机身自带软件记录数据及处理 DSC 曲线。

**1.3.5 蛋白颗粒粒径分布及  $\zeta$ -电位的测定** 参考 Sui 等<sup>[24]</sup>的方法, 使用 NANO ZS90 粒度及电位分析仪对大豆蛋白及其 EGCG 复合物进行粒径分布及电位测定。用 PBS(0.01 mol/L, pH 7.0) 将样品稀释至 0.1 mg/mL, 过 0.45  $\mu$ m 水系膜, 避免颗粒聚集。其中粒径分布设置参数: 折射率分别为 1.46 和 1.33, 吸收参数为 0.001。 $\zeta$ -电位采用激光多普勒电泳光散射技术测量, 将稀释后蛋白溶液注入两端加有电压的电泳池中, 使用 Helmholtz-Smoluchowski 方程从试验确定的电泳迁移率直接积分计算  $\zeta$ -电位, 温度设置为 25 °C。

**1.3.6 乳液的制备** 将 EGCG、7S/11S 蛋白分别溶解于 PBS(0.01 mol/L, pH 7.0) 中搅拌 2 h, 而后将避光的 EGCG 溶液超声脱气, 与 7S/11S 蛋白溶液在 4 °C 冰箱中放置过夜 12 h, 以确保充分水化。将 EGCG、7S/11S 蛋白溶液按比例混合, 使其混合溶液包含最终质量分数为 1% 的 7S/11S 蛋白及 0.00%, 0.01%, 0.02% 和 0.03% 的 EGCG。室温下避光搅拌 2 h, 确保充分反应。将玉米油按照油水体

积比 1:4 添加至混合溶液中, 经 T 25 高速均质机预乳化(10 000 r/min, 2 min), 高压均质(150 MPa, 4 次) 处理后得到新鲜乳液。使用 0.1 mol/L HCl/NaOH 将乳液 pH 值调节至 7.0, 而后加入 0.02% 叠氮化钠抑制微生物生长。

**1.3.7 乳液色差的测定** 使用 ZE-600 色差计测定 7S/11S 蛋白乳液的色差。测定前使用白板以及光源器件对仪器进行标准化。测定参数包括亮度值( $L^*$ )、红度值( $a^*$ )、黄度值( $b^*$ )和总色差( $\Delta E$ )。总色差( $\Delta E$ )计算公式:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta(L_0 - L_i)^2 + \Delta(a_0 - a_i)^2 + \Delta(b_0 - b_i)^2}$$

式中:  $L_0$ 、 $a_0$ 、 $b_0$ ——分别是不添加 EGCG 对照样品的亮度值、红度值和黄度值;  $L_i$ 、 $a_i$ 、 $b_i$ ——分别是添加 EGCG 样品的亮度值、红度值和黄度值。

**1.3.8 乳液液滴尺寸及其粒径分布的测定** 采用 Mastersize 2000 粒度分布仪测定乳液液滴尺寸。仪器参数设置: 颗粒折射率 1.473, 颗粒吸收率 0.001, 分散剂为水, 分散剂折射率 1.330。采用  $d_{4,3}$ 、 $d_{3,2}$  表示乳液液滴尺寸。

**1.3.9 乳液显微镜及储藏稳定性观察** 将制备好的新鲜乳液用 PBS(0.01 mol/L, pH 7.0) 适当稀释, 用高速漩涡振荡器混匀, 移取 10  $\mu$ L 稀释乳液滴在载玻片上, 在显微镜下观察。将新鲜乳液置于 2.5 cm $\times$ 2.4 cm $\times$ 10 cm 的样品瓶中观察, 室温避光储藏 60 d, 期间记录样品分层情况。

**1.3.10 乳液界面蛋白组成的测定** 参考 Mannephan 等<sup>[25]</sup>的方法测定吸附在界面上的蛋白质组成。将新鲜乳液离心(25 °C, 20 000 $\times$ g, 30 min), 小心地从离心管顶部刮除乳霜并在滤纸上干燥, 然后, 重新分散在 PBS(0.01 mol/L, pH 7.0) 中至初始体积。重复离心步骤 3 次, 确保除去未吸附蛋白。将最后一次的乳液分散液做 SDS-PAGE 凝胶电泳分析。取 80  $\mu$ L 分散液加到 20  $\mu$ L 不含还原剂的 5 $\times$ 上样缓冲液中, 沸水浴 3 min 变性处理并离心(25 °C, 10 000 $\times$ g, 10 min), 备用。取 10  $\mu$ L 上清液等分试样装入含有 12% 分离胶与 5% 浓缩胶中, 用于蛋白质分离。对浓缩胶、分离胶分别调节电压为 60, 120 V。用含 R-250 考马斯亮蓝染色液进行浸染, 用含冰乙酸及甲醇的脱色液洗脱。

## 1.4 数据结果与分析

每个试验重复 3 次, 结果表示为  $\bar{x} \pm s$ 。使用



SPSS 23.0 软件进行 ANOVA 差异性分析与方差分析( $P < 0.05$  为差异性显著)。采用 Origin Pro 9.5 软件绘制图像。

## 2 结果与分析

### 2.1 三维荧光光谱结果分析

采用三维荧光光谱技术深入了解多酚与蛋白质结合的微环境和构象变化。通过比较添加和不添加 EGCG 的 7S/11S 蛋白的光谱变化,可以获得有关 7S/11S 蛋白构象和微环境变化的有用信息。如图 1 所示,Peak I 的“指纹型”峰是典型的色氨酸、酪氨酸残基的荧光峰,而 Peak II 的“指纹型”峰主要揭示了蛋白质多肽链的骨架结构的荧光行为<sup>[26]</sup>。11S 蛋白具有较高含量的色氨酸与酪氨酸,与 7S 蛋白相比,显示出更高的荧光强度<sup>[3]</sup>。添加

EGCG,导致 7S/11S 蛋白的两种峰形变得稀疏,颜色变浅,说明 EGCG 的加入使氨基酸特征荧光峰与多肽链骨架峰均有不同程度的降低,表明色氨酸、酪氨酸残基附近的微环境发生变化,多肽链发生解折叠,蛋白三级结构变得伸展<sup>[27]</sup>。11S 蛋白的稀疏程度要高于 7S 蛋白,表明 EGCG 与 11S 蛋白的互动强度要强于 7S 蛋白,使 11S 蛋白荧光强度下降更多。以上变化表明 EGCG 与 7S/11S 蛋白之间存在相互作用,两者形成复合物,并改变 7S/11S 蛋白的微环境和三级构象,这与 Ren 等<sup>[23]</sup>的研究结果一致,表明 7S/11S 蛋白的 Peak I 和 II 荧光在很大程度上被花青素-3-葡萄糖苷猝灭,进而引起蛋白质骨架结构的解折叠,诱导氨基酸微环境由疏水向亲水转变。

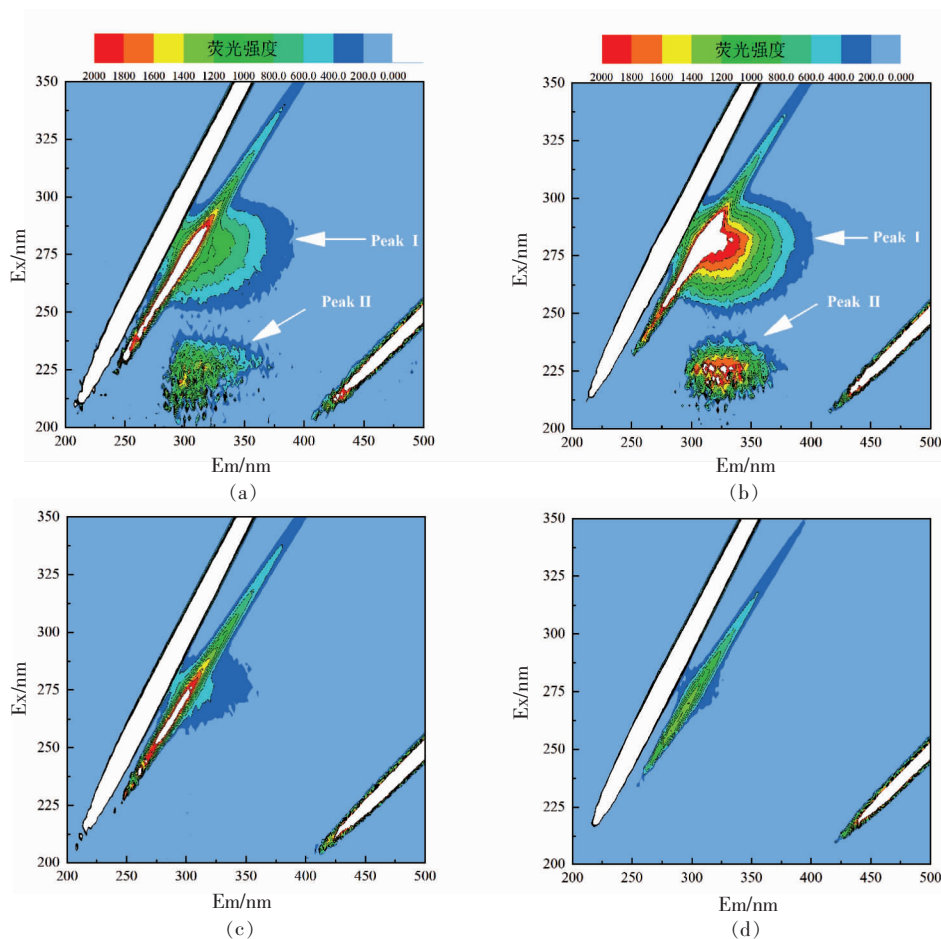


图 1 7S(a)/11S(b)蛋白及其 EGCG 复合物的三维荧光等高线图

Fig.1 Three-dimensional fluorescence contour map of 7S (a) /11S (b) protein and its EGCG complex

## 2.2 热稳定性

热稳定性是了解 EGCG 与 7S/11S 蛋白相互作用的另一方式。如图 2 所示,与 7S 蛋白相比,11S 蛋白表现出更高的热转变温度,这是由于 11S 蛋白含有较高含量的含硫氨基酸,能够形成较多的二硫键以稳定蛋白质的空间结构所致<sup>[28]</sup>。在图 2a 中,出现微小的 11S 蛋白的变性峰,这是因为在 7S 蛋白提取时,残留着少量的 11S 蛋白,这与 Añón 等<sup>[29]</sup>的报道一致。当添加 EGCG 时,7S/11S

蛋白的变性转变温度  $T_d$  和变性焓  $\Delta H$  发生不同程度的改变,EGCG 与 7S/11S 蛋白的相互作用可能使蛋白质部分结构展开,从而降低了蛋白质的热稳定性。在苹果幼果多酚-猪胰腺  $\alpha$ -淀粉酶<sup>[30]</sup>、桑树多酚-肌原纤维蛋白<sup>[31]</sup>等多酚-蛋白相互作用中也报道了类似的发现。此外,11S 蛋白的  $T_d$ 、 $\Delta H$  比 7S 蛋白下降的多,表明 EGCG 与 11S 蛋白具有更强的相互作用,这与三维荧光的结果是一致的。

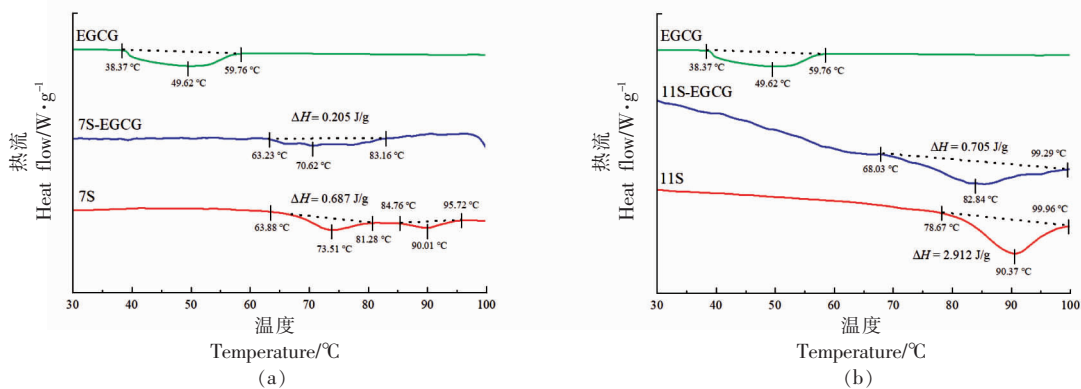


图 2 7S(a)/11S(b) 蛋白及其 EGCG 复合物的热稳定性

Fig.2 Thermal stability of 7S (a) /11S (b) protein and its EGCG complex

## 2.3 蛋白颗粒粒径分布及 $\zeta$ -电位

粒径分布如图 3a 所示,所有样品均呈单峰分布状态。当添加 EGCG 后,7S/11S 蛋白的粒径分布均向粒径大的方向移动。大粒径方向的移动暗示蛋白之间可能发生解折叠和聚集。有研究表明,茶多酚与大豆蛋白间的相互作用可能会形成高分子量的大颗粒,进一步导致聚集体的形成<sup>[32]</sup>。这可能

是由于 EGCG 具有多个酚羟基,可与蛋白发生交联作用;其中,EGCG 充当交联剂,使蛋白质发生一定的聚集现象<sup>[33]</sup>。在 Ren 等<sup>[34]</sup>的研究中同样发现,黑豆皮提取物多酚的加入使 SPI 颗粒的粒径增大,并且随着多酚浓度的增加,多酚作为蛋白质分子的架桥剂,形成粒径更大的复合物。由于 11S 蛋白具有较高的聚集度,在 EGCG 的作用下,可能

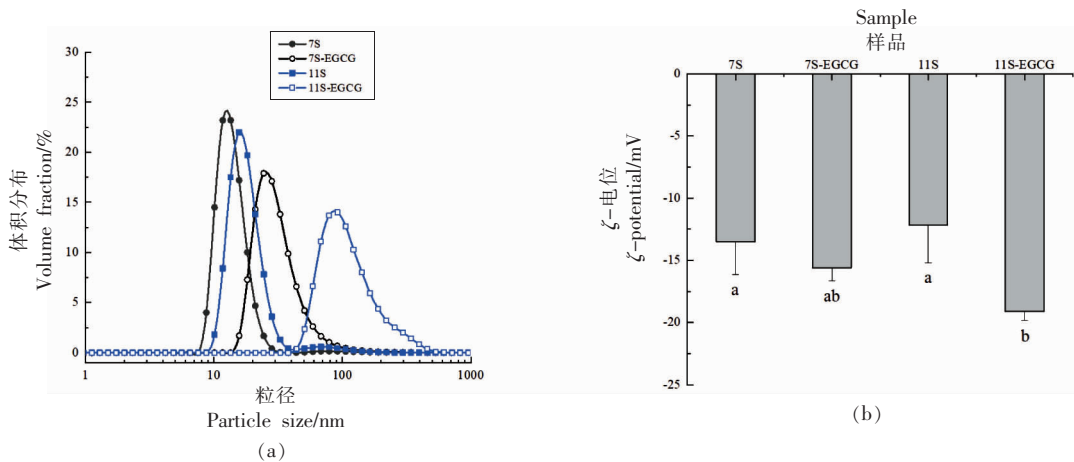


图 3 7S/11S 蛋白及其 EGCG 复合物的粒径分布(a)及  $\zeta$ -电位(b)

Fig.3 Particle size distribution (a) and  $\zeta$ -potential (b) of 7S/11S protein and its EGCG complex

形成更大的聚集体,与 7S 蛋白相比,11S 蛋白粒径变化更为明显,这与 OCHNIO 等<sup>[35]</sup>的结果一致:当叶酸作用于 7S/11S 蛋白时,蛋白平均粒径增加;11S 蛋白似乎更易于自组装,被叶酸诱导形成更广泛的聚集体。 $\zeta$ -电位是决定胶体粒子带电基团之间相互作用强度的重要因素,结果如图 3b 所示。大豆蛋白的 $\zeta$ -电位的绝对值因添加 EGCG 而增加,这归因于在 pH 7.0 时添加带负电荷的 EGCG,中和了部分带正电荷的蛋白质基团。该结果表明 EGCG 可能包围大豆蛋白质分子的表面,进而改变其表面电荷分布,进一步增强了粒子间的静电斥力,相对提高了分散体的稳定性。这与 Zhou 等<sup>[36]</sup>的研究结果相似,添加 EGCG 提高了 SPI 的 $\zeta$ -电位,EGCG-SPI 的交联可形成稳定的网络结构。其中,静电排斥力对网络结构的影响小于交联引起的影

响。在 Peng 等<sup>[37]</sup>对 EGCG 与 7S 蛋白的相互作用研究中也观察到类似的现象。

## 2.4 乳液色差

大豆蛋白乳液食品的可接受性高度取决于乳液食品的颜色特性。如表 1 所示,与不添加 EGCG 的 7S/11S 蛋白乳液相比,添加 EGCG 的 7S/11S 蛋白乳液显示出较低的亮度值  $L^*$ , 更高的红度值  $a^*$  和黄度值  $b^*$ 。EGCG 因自身的颜色效应,故作为食品添加剂添至 7S/11S 蛋白乳液,使 7S/11S 蛋白乳液中呈现一定的红色<sup>[38]</sup>。当 EGCG 为最大添加量时,7S/11S 蛋白乳液的  $L^*$  没有显著差异,而 7S 蛋白乳液的  $a^*$  高于 11S 蛋白乳液,7S 蛋白乳液的  $b^*$  和  $\Delta E$  低于 11S 蛋白乳液。这种乳液产品颜色的差异可能影响消费者对大豆蛋白乳液食品的选择。

表 1 不同浓度的 EGCG 对 7S/11S 蛋白乳液的颜色及其液滴尺寸的影响

样品	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$	$d_{4,3}/\mu\text{m}$	$d_{3,2}/\mu\text{m}$	
7S	对照	88.140 ± 0.017 <sup>b</sup>	-0.463 ± 0.401 <sup>d</sup>	0.260 ± 0.187 <sup>f</sup>	0	5.220 ± 0.214 <sup>d</sup>	0.254 ± 0.003 <sup>e</sup>
	0.01% EGCG	85.847 ± 0.051 <sup>d</sup>	1.993 ± 0.323 <sup>ab</sup>	1.717 ± 0.084 <sup>e</sup>	3.663	2.910 ± 0.135 <sup>f</sup>	0.230 ± 0.004 <sup>e</sup>
	0.02% EGCG	84.780 ± 0.130 <sup>f</sup>	2.470 ± 0.440 <sup>a</sup>	2.050 ± 0.221 <sup>d</sup>	4.806	1.429 ± 0.068 <sup>e</sup>	0.252 ± 0.001 <sup>e</sup>
	0.03% EGCG	85.423 ± 0.095 <sup>e</sup>	1.877 ± 0.172 <sup>b</sup>	4.053 ± 0.167 <sup>e</sup>	5.220	4.000 ± 0.056 <sup>e</sup>	0.261 ± 0.003 <sup>f</sup>
11S	对照	89.723 ± 0.084 <sup>a</sup>	-0.137 ± 0.268 <sup>d</sup>	2.037 ± 0.084 <sup>d</sup>	0	39.716 ± 1.259 <sup>a</sup>	8.827 ± 0.076 <sup>a</sup>
	0.01% EGCG	86.123 ± 0.085 <sup>e</sup>	0.940 ± 0.250 <sup>e</sup>	3.843 ± 0.244 <sup>e</sup>	4.169	38.283 ± 0.672 <sup>a</sup>	7.478 ± 0.026 <sup>b</sup>
	0.02% EGCG	85.870 ± 0.026 <sup>d</sup>	1.327 ± 0.291 <sup>e</sup>	4.853 ± 0.095 <sup>b</sup>	4.992	29.639 ± 0.212 <sup>c</sup>	6.536 ± 0.056 <sup>c</sup>
	0.03% EGCG	85.503 ± 0.084 <sup>e</sup>	1.250 ± 0.308 <sup>e</sup>	5.447 ± 0.180 <sup>a</sup>	5.600	32.750 ± 0.873 <sup>b</sup>	5.853 ± 0.015 <sup>d</sup>

注:不同小写字母表示不同样品间存在显著差异( $P < 0.05$ )。

## 2.5 乳液粒径及其分布

颗粒的体积加权平均直径( $d_{4,3}$ )及表面积加权平均直径( $d_{3,2}$ )对乳液液滴的聚集状态高度敏感。 $d_{3,2}$ 值可以提供大多数颗粒的尺寸信息;而 $d_{4,3}$ 值可以提供大聚集体的尺寸信息,因为它对大颗粒或聚集体的存在高度敏感<sup>[39]</sup>。两者常被用于乳液稳定性的评价。较小的液滴可能有利于乳液稳定性的提高。由表 1 及图 4 可知,对于 7S 蛋白乳液,添加 EGCG 导致乳液液滴粒径分布向左移动, $d_{4,3}$ 值逐渐降低, $d_{3,2}$ 值变化不明显。当 EGCG 添加量为 0.02%, $d_{4,3}$ 值为 1.429  $\mu\text{m}$  时,达到最小值。同样的,对于 11S 蛋白乳液,乳液液滴粒径分布变化与 7S 蛋白类似,其  $d_{4,3}$ 、 $d_{3,2}$  值逐渐降低。当

EGCG 添加量为 0.02%, $d_{4,3}$  值为 29.639  $\mu\text{m}$  时,达到最小值, $d_{3,2}$  值为 6.536  $\mu\text{m}$ 。相比于 7S 蛋白,11S 蛋白乳液液滴粒径较大,这与 Keerati-U-RAI 等<sup>[11]</sup>的研究一致,表明 7S/11S 蛋白具有不同的界面特性,其粒径和分子结构的差异影响乳液液滴的尺寸和稳定性。7S 蛋白由于自身分子量小,聚集度低,能够快速吸附到油-水界面形成稳定的乳液,因此乳化能力强,粒径较小。而 11S 蛋白分子量高,聚集度高,导致其吸附到油-水界面的速率相对较慢,并且,11S 蛋白刚性的球状结构在油-水界面处难以展开,极大地保持了完整的球形结构,导致乳液液滴高度絮凝,出现较多的乳液液滴聚集状态。另一方面,11S 蛋白的不良的溶解度,当



作为以凝胶能力主导的大豆蛋白时,其乳液液滴粒径  $> 10 \mu\text{m}$ ,乳液样品黏稠、不易流动,在高压均质作用下可能发生部分凝胶作用,形成凝胶型乳液<sup>[40]</sup>。Puppo 等<sup>[10]</sup>也报道了类似的发现,凝胶型乳液的形成可能有利于乳液稳定性的提高。添加 EGCG 后,在 EGCG 的作用下,7S/11S 蛋白分子部分结构展开,在油-水界面发生结构重排,亲水、疏

水基团重新排布使乳液液滴界面结构变得紧凑,从而降低蛋白乳液液滴的尺寸,并改善了絮凝的程度,这与 Tian 等<sup>[41]</sup>的研究结论较一致。Li 等<sup>[42]</sup>研究表明,与单独的米糠蛋白相比,儿茶素-米糠蛋白复合物展开的结构,在均质化过程中更能有效减小乳液液滴尺寸,阻止液滴聚合。

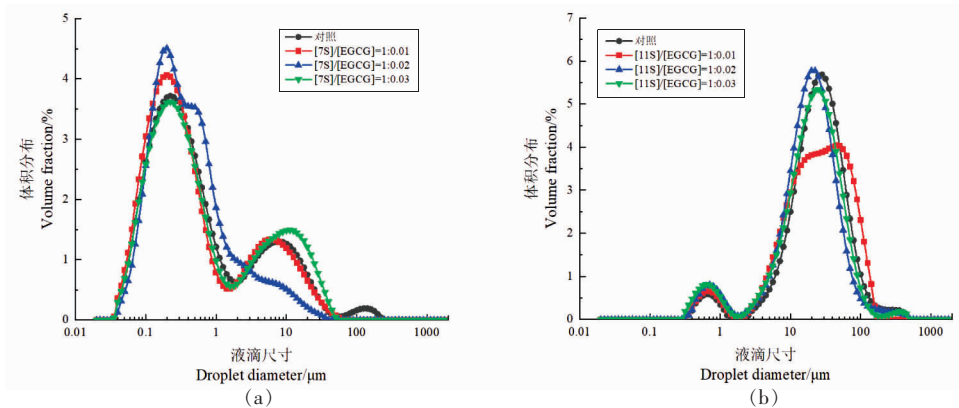


图4 不同浓度的 EGCG 对 7S(a)/11S(b)蛋白乳液液滴粒径分布的影响

Fig.4 Effect of different EGCG concentrations on the particle size distribution of 7S (a)/11S (b) protein emulsion droplets

## 2.6 乳液显微镜观察结果及储藏稳定性

乳液样品经高速漩涡稀释后,通过光学显微镜标尺测算的乳液液滴大小可能与激光粒度仪测定的数据不一致。如图 5 光学显微镜图像所示,7S/11S 蛋白单独稳定的乳液中出现液滴的絮凝,这与图 4 的结果较一致。随着 EGCG 浓度的增加,乳液液滴尺寸减小,特别是当 EGCG 含量为 0.02% 时,7S/11S 蛋白乳液液滴较小,分布较为均匀,液

滴絮凝状态得到改善。图 6 为 7S/11S 蛋白及其 EGCG 复合乳液在 60 d 储藏期的分层情况,7S 蛋白单独稳定的乳液液滴絮凝程度较低,1 周后出现乳析现象,而随着储存时间的延长,分层情况逐渐加剧。添加 EGCG 后,7S 蛋白乳液的乳析程度减弱,乳液储藏稳定性得到改善。这表明 EGCG 能够提高 7S 蛋白乳液储藏稳定性,这是由于 EGCG 使 7S 蛋白结构部分展开,7S 蛋白牢牢吸附于油-

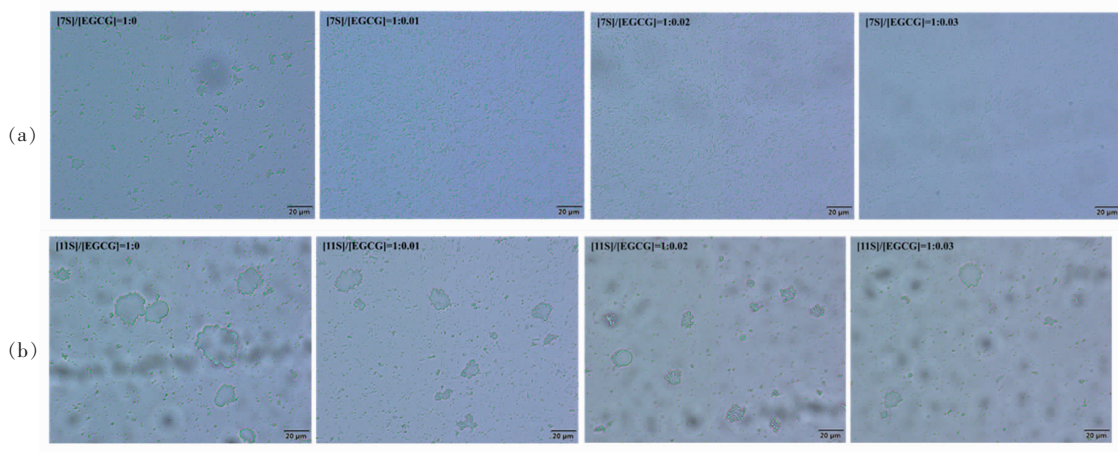


图5 不同浓度 EGCG 下 7S(a)/11S(b)蛋白乳液的光学显微镜图片

Fig.5 Optical microscopy of 7S (a) /11S (b) protein emulsion droplets with different EGCG concentrations

水界面处并形成稳定的界面膜,从而削弱了液滴的絮凝作用。据报道,花青素的加入使 SPI 乳液界面膜牢固,提高了 SPI 的乳化性及乳化稳定性,并在储存过程中表现出更高的稳定性<sup>[12,43]</sup>。与 7S 蛋白相比,11S 蛋白及其 EGCG 复合乳液由于较大的液滴尺寸,在制备 1d 后观察到乳析现象。此后,这些样品的分层位置在 60d 的储藏期间没有移动,表明这些乳液中没有发生进一步的乳化。11S 蛋白由于在溶液中不良的聚集状态,因此很少作为稳定乳液的乳化剂,然而,在储存期间,能够为乳液提供良好的储藏稳定性<sup>[44]</sup>。虽然添加 EGCG 能使 11S 蛋白乳液液滴减小,但是对 11S 蛋白乳液的储藏稳定性无明显影响。这可能是由于添加 EGCG 浓度较低,11S 蛋白乳液液滴主要以大尺寸存在。较大的乳液液滴在储存期间容易发生絮凝耗竭,导致乳析现象。Zhu 等<sup>[45]</sup>同样发现类似的现象:低浓度的大豆皂苷(0.05%至 0.2%)添加至 11S 蛋白乳液中,液滴  $d_{4,3}$  略有下降,并观察到显著的相分离;而添加高浓度(0.25%)的大豆皂苷时,蛋白乳液液滴  $d_{4,3}$  最小,乳液未出现相分离现象。

## 2.7 乳液界面蛋白 SDS-PAGE 的结果

SDS-PAGE 凝胶电泳用于研究 EGCG 对 7S/11S 蛋白乳液界面蛋白组成的影响。如图 7 所示,7S 蛋白乳液界面蛋白主要由 7S 蛋白固有 3 个亚基: $\alpha'$ 、 $\alpha$  和  $\beta$  组成,而 11S 蛋白乳液界面蛋白主要由酸性 A 和碱性 B 亚基组成。随着 EGCG 浓度的增加,7S/11S 蛋白乳液的界面蛋白亚基保持完整,7S/11S 蛋白的固有亚基能够吸附于乳液界面并保持乳液稳定<sup>[46]</sup>。这些结果表明:添加 EGCG 后,7S/11S 蛋白乳液的稳定性不受界面蛋白组成的影响。这与 Hu 等<sup>[47]</sup>的研究结果一致:高压均质后,SPI 亚基均存在于油相中且保持完整,SPI 乳液界面蛋白亚基不影响乳液的稳定性。除此之外,凝胶顶部显示出一定的蛋白聚集体,这是由于蛋白乳液界面处的一些界面蛋白具有致密的界面层,这使得它们无法通过浓缩和分离凝胶<sup>[48]</sup>。致密的界面层可能会改善的乳液稳定性。对于所研究的 EGCG-7S/11S 蛋白复合乳化剂稳定的乳液,7S/11S 蛋白和 EGCG 均在界面处吸收,可能形成有助于乳液稳定的混合物致密层。

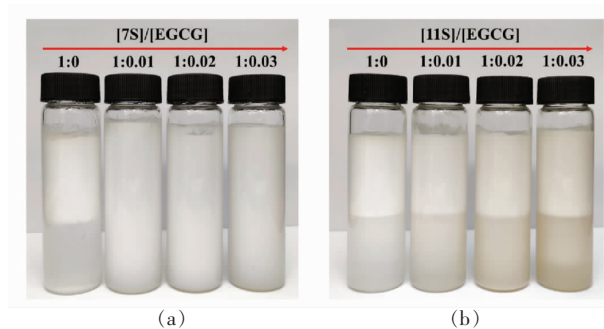


图 6 不同浓度的 EGCG 下 7S(a)/11S(b)蛋白乳液 60 d 储藏期观察

Fig.6 Observation of 60 days storage period of 7S (a) /11S (b) protein emulsion with different EGCG concentrations

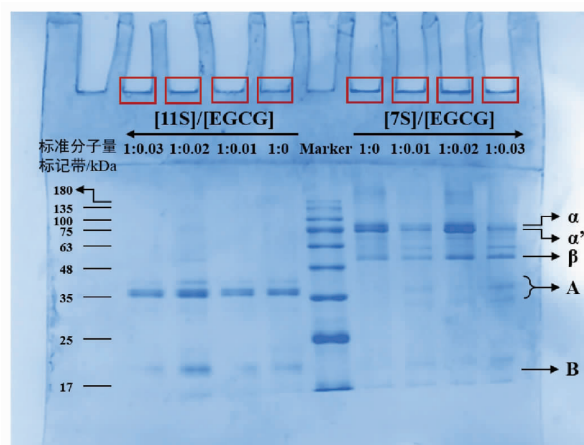


图 7 不同浓度的 EGCG 下 7S/11S 蛋白乳液的界面蛋白组成

Fig.7 Interfacial protein composition of 7S/11S protein emulsion with different EGCG concentrations

## 3 结论

本试验研究了中性条件下 EGCG 与 7S/11S 蛋白间的相互作用形成的大豆蛋白-EGCG 复合物对乳液稳定性的影响。结果表明:1)三维荧光光谱及热稳定性显示 EGCG 与 7S/11S 蛋白发生相互作用,引起蛋白质多肽链解折叠,蛋白质热稳定性降低,蛋白质颗粒粒径增大, $\zeta$ -电位增高,且 11S 蛋白与 EGCG 比 7S 蛋白互作更强,变化更加明显。2)EGCG 的加入使得蛋白乳液亮度降低,红度值、黄度值增加,在一定程度上改善了 7S/11S 蛋白乳液的絮凝程度,使得蛋白乳液液滴尺寸减小,分布较为均匀;11S 蛋白乳液仍以较大聚集的



液滴存在。3)在储藏期间,11S蛋白乳液稳定性优于7S蛋白,EGCG的添加提高了7S蛋白乳液的稳定性,而对11S蛋白乳液无明显影响。此外,EGCG没有改变7S/11S蛋白乳液界面蛋白的亚基分布,7S/11S蛋白乳液的稳定性不受界面蛋白组成的影响。

### 参 考 文 献

- [1] 隋晓楠, 黄国, 刘贵辰. 大豆蛋白质-植物多酚互作研究进展[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 1-10.
- SUI X N, HUANG G, LIU G C. A review on the interactions between soy protein-plant polyphenols [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(7): 1-10.
- [2] LI J F, LI Y T, GUO S T. The binding mechanism of lecithin to soybean 11S and 7S globulins using fluorescence spectroscopy[J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(6): 1785-1791.
- [3] PANTHEE D R, KWANYUEN P, SAMS C E, et al. Quantitative trait loci for beta-conglycinin (7S) and glycinin (11S) fractions of soybean storage protein[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2004, 81(11): 1005-1012.
- [4] WILSON S, BLASCHEK K, DE MEJIA E G. Allergenic proteins in soybean: Processing and reduction of P34 allergenicity[J]. Nutr Rev, 2005, 63(2): 47-58.
- [5] SUI X N, ZHANG T Y, JIANG L Z. Soy protein: Molecular structure revisited and recent advances in processing technologies[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2020, 12: 119-147.
- [6] ADACHI M, TAKENAKA Y, GIDAMIS A B, et al. Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer[J]. Journal of Molecular Biology, 2001, 305(2): 291-305.
- [7] CHOVE B E, GRANDISON A S, LEWIS M J. Emulsifying properties of soy protein isolate fractions obtained by isoelectric precipitation[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2001, 81(8): 759-763.
- [8] RICKERT D A, JOHNSON L A, MURPHY P A. Functional properties of improved glycinin and  $\beta$ -conglycinin fractions[J]. Journal of Food Science, 2004, 69(4): C303-C311.
- [9] TANG C H, LUO L J, LIU F U, et al. Transglutaminase-set soy globulin-stabilized emulsion gels: Influence of soy  $\beta$ -conglycinin/glycinin ratio on properties, microstructure and gelling mechanism[J]. Food Research International, 2013, 51(2): 804-812.
- [10] PUPPO M C, BEAUMAL V, SPERONI F, et al.  $\beta$ -Conglycinin and glycinin soybean protein emulsions treated by combined temperature-high-pressure treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 389-397.
- [11] KEERATI-U-RAI M, CORREDIG M. Heat-induced changes occurring in oil/water emulsions stabilized by soy glycinin and  $\beta$ -conglycinin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(16): 9171-9180.
- [12] JU M N, ZHU G, HUANG G, et al. A novel pickering emulsion produced using soy protein-anthocyanin complex nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 99: 105329.
- [13] 闫晓佳, 梁秀萍, 李思琪, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯性质、稳定性及其递送体系的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 258-266.
- YAN X J, LIANG X P, LI S Q, et al. Advances in the properties, stability and delivery systems of (-)-epigallocatechin-3-gallate: A review[J]. Food Science, 2020, 41(1): 258-266.
- [14] 赵思明, 江连洲, 王冬梅, 等. EGCG对大豆蛋白结构的调控机理[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 67-75.
- ZHAO S M, JIANG L Z, WANG D M, et al. Regulation mechanism of epigallocatechin gallate on the structure of soybean protein[J]. Food Science, 2021, 42(12): 67-75.
- [15] SU J Q, GUO Q, CHEN Y L, et al. Utilization of  $\beta$ -lactoglobulin - (-) - Epigallocatechin - 3 - gallate (EGCG) composite colloidal nanoparticles as stabilizers for lutein pickering emulsion[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105293.
- [16] 祝钢, 鞠梦楠, 崔守琦, 等. 大豆蛋白/表没食子儿茶素没食子酸酯纳米复合颗粒制备 Pickering 乳液及其性质研究[J]. 食品科技, 2020, 45(9): 221-226.
- ZHU G, JU M N, CUI S Q, et al. Preparation and characterization of pickering emulsion stabilized by soybean protein/epigallocatechin gallate nanocomposite particles[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(9): 221-226.

- [17] YOU Y H, YANG L, CHEN H, et al. Effects of (-)-Epigallocatechin-3-gallate on the functional and structural properties of soybean protein isolate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(7): 2306-2315.
- [18] ZHOU S D, LIN Y F, XU X, et al. Effect of non-covalent and covalent complexation of (-)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and *in vitro* digestion characteristics [J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125718.
- [19] YAN S Z, XIE F Y, ZHANG S, et al. Effects of soybean protein isolate-polyphenol conjugate formation on the protein structure and emulsifying properties: Protein-polyphenol emulsification performance in the presence of chitosan[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2021, 609: 125641.
- [20] YANG Y X, WANG Q M, TANG Y W, et al. Effects of ionic strength and (-)-epigallocatechin gallate on physicochemical characteristics of soybean 11S and 7S proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 119: 106836.
- [21] YANG Y X, WANG Q M, LEI L, et al. Molecular interaction of soybean glycinin and  $\beta$ -conglycinin with (-)-epigallocatechin gallate induced by pH changes[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106010.
- [22] NAGANO T, HIROTSUKA M, MORI H, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7 S globulin from soybeans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 941-944.
- [23] REN C, XIONG W F, LI J, et al. Comparison of binding interactions of cyanidin-3-O-glucoside to  $\beta$ -conglycinin and glycinin using multi-spectroscopic and thermodynamic methods[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 92: 155-162.
- [24] SUI X N, SUN H B, QI B K, et al. Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: Focus on covalent and non-covalent interactions[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 871-878.
- [25] KEERATI-U-RAI M, CORREDIG M. Heat-induced changes in oil-in-water emulsions stabilized with soy protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(8): 2141-2148.
- [26] 孔繁华, 曹雪妍, 康世墨, 等. 基于多重光谱技术的木糖醇与牛乳酪蛋白相互作用及对酪蛋白结构的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(16): 75-82.
- [27] 李杨, 刘宝华, 樊金源, 等. 超声及高压均质处理对大豆蛋白-磷脂酰胆碱相互作用的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(8): 162-171.
- Li Y, Liu B H, Fan J Y, et al. Effects of ultrasound and high pressure homogenization treatment on the interaction of soybean protein-phosphatidylcholine [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(8): 162-171.
- [28] RIBLETT A L, HERALD T J, SCHMIDT K A, et al. Characterization of  $\beta$ -conglycinin and glycinin soy protein fractions from four selected soybean genotypes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10): 4983-4989.
- [29] ANON M C, DE LAMBALLERIE M, SPERONI F. Influence of NaCl concentration and high pressure treatment on thermal denaturation of soybean proteins[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(4): 443-450.
- [30] SUN L J, WARREN F J, GIDLEY M J, et al. Mechanism of binding interactions between young apple polyphenols and porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase [J]. Food Chemistry, 2019, 283: 468-474.
- [31] CHENG J R, ZHU M J, LIU X M. Insight into the conformational and functional properties of myofibrillar protein modified by mulberry polyphenols[J]. Food Chemistry, 2020, 308: 125592.
- [32] CHEN G, WANG S T, FENG B, et al. Interaction between soybean protein and tea polyphenols under high pressure[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 632-638.
- [33] LAN T, DONG Y B, ZHENG M, et al. Complexation between soy peptides and epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Formation mechanism and morphological characterization[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 134: 109990.
- [34] REN C, XIONG W F, PENG D F, et al. Effects of thermal sterilization on soy protein isolate/polyphenol complexes: Aspects of structure, *in vitro* digestibility and antioxidant activity [J]. Food Research International, 2018, 112: 284-290.
- [35] OCHNIO M E, MARTINEZ J H, ALLIEVI M C,

- et al. Proteins as nano-carriers for bioactive compounds. The case of 7s and 11s soy globulins and folic acid complexation[J]. *Polymers*, 2018, 10(2): 149.
- [36] ZHOU S D, LIN Y F, XU X, et al. Effect of non-covalent and covalent complexation of (-)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and *in vitro* digestion characteristics [J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125718.
- [37] PENG L P, TANG C H. Outstanding antioxidant pickering high internal phase emulsions by co-assembled polyphenol-soy  $\beta$ -conglycinin nanoparticles [J]. *Food Research International*, 2020, 136: 109509.
- [38] KERŠIENĖ, M, JASUTIENĖ, I, EISINAITĖ, V, et al. Development of a high-protein yoghurt-type product enriched with bioactive compounds for the elderly[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 131: 109820.
- [39] PEI Y Q, WAN J W, YOU M, et al. Impact of whey protein complexation with phytic acid on its emulsification and stabilization properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 87: 90-96.
- [40] 王旭峰. CaSO<sub>4</sub> 诱导大豆分离蛋白乳状液凝胶性质影响因素的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.  
WANG X F. Study of influencing factors on the properties of soy protein isolate emulsion gels induced by CaSO<sub>4</sub> [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [41] TIAN B, WANG Y X, WANG T J, et al. Structure and functional properties of antioxidant nanoemulsions prepared with tea polyphenols and soybean protein isolate[J]. *Journal of Oleo Science*, 2019, 68(7): 689-697.
- [42] LI D, ZHAO Y, WANG X, et al. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet size, zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98: 105306.
- [43] 鞠梦楠, 祝钢, 陈红宇, 等. 大豆球蛋白-花青素 Pickering 乳液性质[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 1-7.  
JU M N, ZHU G, CHEN H Y, et al. Physicochemical characterization of pickering emulsions stabilized by anthocyanin and soybean protein isolate composite nanoparticles[J]. *Food Science*, 2020, 41(2): 1-7.
- [44] GUO J, ZHOU Q, LIU Y C, et al. Preparation of soy protein-based microgel particles using a hydrogel homogenizing strategy and their interfacial properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 58: 324-334.
- [45] ZHU L J, XU Q Y, LIU X Y, et al. Soy glycinin-soyasaponin mixtures at oil-water interface: Interfacial behavior and O/W emulsion stability [J]. *Food Chemistry*, 2020, 327: 127062.
- [46] LI F, KONG X Z, ZHANG C M, et al. Effect of heat treatment on the properties of soy protein-stabilised emulsions[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2011, 46(8): 1554-1560.
- [47] HU M, XIE F Y, ZHANG S, et al. Homogenization pressure and soybean protein concentration impact the stability of perilla oil nanoemulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 101: 105575.
- [48] JI J, ZHANG J P, CHEN J S, et al. Preparation and stabilization of emulsions stabilized by mixed sodium caseinate and soy protein isolate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 51: 156-165.

### Effect of EGCG and Soy 7S/11S Proteins Interaction on Emulsion Stability

Huang Guo<sup>1</sup>, Zhang Jiangjiang<sup>1</sup>, Tian Zepeng<sup>2</sup>, Luo Xiaoxue<sup>1</sup>, Sun Shujing<sup>1</sup>, Sui Xiaonan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030

<sup>2</sup>College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030

**Abstract** In this study, the O/W emulsions have been generated by using  $\beta$ -conglycinin (7S) and glycinin (11S) as emulsifiers with adding Epigallocatechin gallate (EGCG). Three-dimensional fluorescence spectrum, thermal stability, particle size and  $\zeta$ -potential of soy protein-EGCG complex, droplet size, chromatic aberration, droplet morphology and interfacial protein adsorption of the emulsion were determined in order to investigate the effects of EGCG interaction with



7S/11S proteins on emulsion stability. The results showed that EGCG decreased the fluorescence intensity of 7S/11S protein, resulting in an unfolding in soy protein tertiary structure and reducing thermal stability. EGCG caused the cross-linking of 7S/11S protein, increasing the particle size of its protein particles, and enhancing its  $\zeta$ -potential to a certain extent. 11S protein was more sensitive to the above changes, suggesting that the interaction between 11S protein and EGCG was stronger than that of 7S protein. The addition of EGCG increased the  $a^*$  and  $b^*$  values of both protein emulsions, and significantly reduced the droplet size. When EGCG concentration was up to 0.02%,  $d_{4.3}$  of 7S/11S protein emulsion was the smallest, but 11S protein emulsion droplets still existed in the form of large aggregates. EGCG significantly improved the storage stratification of 7S protein emulsion, but had no significant effect on 11S protein emulsion. In addition, EGCG had no effect on the overall subunit distribution of 7S/11S protein emulsion interface proteins.

**Keywords**  $\beta$ -conglycinin (7S); glycinin (11S); epigallocatechin gallate (EGCG); interaction; stability of emulsion