甘草多糖与酪蛋白的相互作用及乳化性能

郭东起[1,2]， 殷秀秀[1]， 程 焕[1]， 陈健乐[1]， 叶兴乾[1*]

([1] 浙江大学生物系统工程与食品科学学院 馥莉食品研究院 浙江大学宁波研究院
浙江省农产品加工技术研究重点实验室 智能食品加工技术与装备国家地方联合工程实验室
浙江省食品加工技术与装备工程实验室 杭州 310058
[2] 塔里木大学食品科学与工程学院 南疆特色农产品深加工兵团重点实验室 新疆阿拉尔 843300)

摘要 采用 Zeta-电位和浊度分析甘草多糖(GP)/酪蛋白(CS)复合物的稳定性，利用荧光、红外和圆二色谱等技术探究 GP/CS 的复合物的结构性质及相互作用，并探讨复合物乳液的乳化稳定性。结果表明，GP/CS 能形成稳定的复合物；当 pH=7 时，GP/CS 复合物溶液的电位值介于 CS 及 GP 溶液电位值之间，平均粒径增大，紫外吸收强度均降低，并发生蓝移，荧光强度下降，红外图谱中酰胺带发生了改变，CS 的二级结构发生改变。静电作用、氢键及疏水作用等参与复合物的形成。另外，GP/CS 的复合能提高乳液的稳定性。本研究结果为蛋白-多糖复合物在食品领域中的应用提供参考。

关键词 酪蛋白；甘草多糖；复合体系；乳液；稳定性

文章编号 1009-7848(2023)12-0012-08 **DOI**：10.16429/j.1009-7848.2023.12.002

天然来源的蛋白质和多糖由于其大的聚合结构而被归类为生物聚合物，常用来设计具有各种结构和长度规格的生物复合物，如纳米颗粒、微粒、乳液、水凝胶和膜等，应用在不同的领域，特别是食品和生物医学方面[1-2]。它们在分子水平上的相互作用对这两个体系的许多理化性质和功能有重要的影响，近年来，学者对这两个生物大分子之间的分子相互作用进行了广泛研究，普遍认为多糖与蛋白质之间的相互作用主要包括静电及疏水作用、氢键、空间位阻等[3-4]。然而，由于多糖及蛋白质的种类繁多，结构复杂，因此，对不同来源的多糖与蛋白质的相互作用机理的研究仍然是该领域的热点[2]。

酪蛋白主要来源于牛奶，也可以用电泳、色谱、酶和膜过滤等方法从其它蛋白质中分离出来[5]，普遍存在于哺乳动物和人的乳汁中，具有降低过敏性，抗高血压的功能，促进营养成分吸收等作用，常作为添加剂在食品加工等领域广泛应用[6]。然而，酪白质存在溶解度低、酸性或高盐离子浓度环境下易沉淀等问题，使其在应用方面受到限制，因此，选择合适的辅助剂来增强其稳定性一直备受关注[7]。多糖是一种天然高分子碳水化合物，广泛存在于植物、动物和微生物等生物体内，具有安全无害、亲水性强及多种生物活性[8]，将多糖用来增强蛋白乳液的稳定性已成为食品行业的热点研究方向。目前，许多的研究表明，多糖(如壳多糖、果胶、魔芋多糖等)与不同蛋白质(如大豆分离蛋白、乳清蛋白、酪蛋白)进行复合制备乳液的理化稳定性及功能性有所提升[9]。甘草多糖作为甘草的主要活性物质之一，越来越引起人们的关注。甘草多糖是由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖及甘露糖等组成的杂多糖，具有免疫调节、抗肿瘤、调节血糖及抗氧化等生理活性[10]。将甘草多糖应用到富含乳蛋白的制品中，不仅能达到体系稳定的目的，还能增加产品的功能活性。目前，关于甘草多糖与酪蛋白相互作用的研究较少。

综上所述，本文以拟利用动态光散射、红外、荧光及圆二色谱等技术，探究 GP/CS 复合物的相互作用机制，同时，探讨复合物乳液的稳定性。以期为多糖-蛋白复合物在食品、医药等方面的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

酪蛋白(来源于牛奶)，上海旭硕生物科技有

收稿日期：2022-12-26
基金项目：浙江省重点研发计划项目(2021C02001)；第一师阿拉尔市科技计划项目(2019GJJ01)
第一作者：郭东起，男，博士，教授
通信作者：叶兴乾 E-mail：psu@zju.edu.cn

限公司；甘草多糖：单糖组成为：*D*-葡萄糖(58.7%)、*D*-半乳糖(19.71%)、*D*-甘露糖(8.86%)、*D*-阿拉伯糖(8.64%)、*D*-半乳糖醛酸(1.82%)、*L*-鼠李糖(1.54%)、*L*-岩藻糖(0.52%)及 *D*-葡萄糖醛(0.21%)，分子质量为 261.2 ku，总糖含量为 81.5%（质量分数），本实验室制备；玉米胚芽油(压榨)，益海嘉里食品有限公司。

1.2　主要仪器与设备

Nano-ZS 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪，英国马尔文仪器有限公司；傅里叶变换红外光谱仪，美国赛默飞尔科技公司；圆二色光谱仪，日本 JASCO 公司；荧光分光光度计，美国瓦里安技术公司；UV-2600 分光光度计，日本岛津公司。

1.3　试验方法

1.3.1　甘草多糖(GP)-酪蛋白(CS)溶液的制备

1）GP 溶液　甘草多糖溶解于纯净水中制备得到 6 个质量分数水平(0.0%，0.005%，0.010%，0.015%，0.020%，0.025%)的 GP 的溶液，搅拌溶解后，置于 4 ℃冰箱，备用。

2）CS 溶液　称取 0.1 g 酪蛋白，溶解于 20 mL 的 0.1 mol/L NaOH 溶液中，再加 80 mL 超纯水，制备得到 0.1%的酪蛋白溶液，搅拌使其溶解，4 ℃冰箱中，过夜水合。使用前用 1 mol/L 的 HCL 溶液调节 pH 值至 7.0±0.2，备用。

3）将 CS 和 GP 溶液按 1∶1(体积比)比例混合，在混合溶液中，GP 的质量分数分别为 0，0.0025%，0.005%，0.0075%，0.01%，0.0125%；CS 质量分数为 0.05%。将 GP/CS 复合液置于磁力搅拌器上搅拌使其充分混匀，待测。

1.3.2　浊度　使用分光光度计在 400 nm 处测定吸光度，得到浊度值，以蒸馏水为空白对照[11]。

1.3.3　粒径和 Zeta-电位　不同 GP/CS 比例的混合溶液，调节 pH 值为 7.0±0.2，1 mL 的样品稀释液置于电位粒径测试样品池中，25 ℃平衡 2 min。

1.3.4　紫外光谱　取 2 mL 样品混合液于石英比色皿中，扫描波长为 220~400 nm，扫描速率为 50 nm/min，温度为 25 ℃。

1.3.5　荧光光谱　取 2 mL 稀释 1 倍的样品溶液加入到石英比色皿中。内源荧光光谱的激发波长为 290 nm(色氨酸)，发射范围为 300~400 nm，扫描速率为 600 nm/min；外源荧光光谱参考徐康及 Zhao 等[3,12]的方法进行测定。

1.3.6　红外光谱　将 GP 溶液、CS 溶液和 GP/CS 复合物溶液真空冻干处理后，采用溴化钾压片法，在 4 000~500 cm^{-1} 之间进行扫描，分辨率为 1 cm^{-1}。

1.3.7　圆二色谱　取 200 μL 稀释 1 倍的样品溶液于比色皿中，扫描范围 190~260 nm，速度为 100 nm/min，间隔均为 1.0 nm，狭缝为 1.0 nm，测试温度为 25 ℃，并扣除样品和溶剂空白。

1.3.8　乳液制备　按照 1.3.1 节描述的方法制备 GP/CS 复合物，在二元溶液中，甘草多糖质量分数分别为 0，0.25%，0.5%，0.75%，1%，1.25%；酪蛋白终质量分数为 1%。以油相体积分数为 30%向复合物中加入相应量玉米油，高速剪切机 10 000 r/min 均质 3 min，得到新鲜乳液。

1.3.9　乳化活性(EAI)及乳化稳定性(ESI)　参照郑环宇等[7]方法进行测定。

1.3.10　乳液贮藏稳定性　取新鲜乳液各 10 mL 于平底塑料管中，常温下静置 14 d 后，观察并记录乳液分层及表面出油情况。并计算乳析指数 CI[13]，公式为：

$$CI = \frac{H_s}{H_t} \times 100\%$$

式中：H_s——下层乳析清夜高度，mm；H_t——乳液总高度，mm。

1.3.11　统计分析　数据以平均值±标准差表示，采用 SPSS 22.0 进行统计分析，以 $P<0.05$ 表示差异显著，利用 Origin 2018 及 Excel 绘图。

2　结果与讨论

2.1　浊度分析

浊度值能直观反映蛋白与多糖相互作用过程中复合体系的形成情况，如表 1 所示，GP 的浊度值较小且不受 pH 值变化的影响；在 pH 4~5 内，即接近酪蛋白的等电点(pI)4.6 时，CS 的浊度发生明显的变化，CS 聚集致浊度值增大；但随着 pH 值远离酪蛋白的 pI，浊度值降低，说明酪蛋白重新溶解于溶液里；相同的 GP 含量及不同的 pH 值条件下，GP/CS 复合体系的浊度的变化趋势同 CS 的变化相一致，均先增加(近酪蛋白 pI)后减小。玉木耳多糖与乳清蛋白复合时也有相似的结果[14]。但在相同 pH 值条件下，GP/CS 复合体系的浊度值均

低于 CS 溶液的浊度值，特别是 pH 值近酪蛋白 pI 时，GP/CS 复合体系的浊度值随着 GP 浓度的增加，相应的浊度值变化显著，呈下降趋势，这表明，高浓度的 GP 存在抑制 CS 的变性和聚合，可能是因为复合体系电荷发生了改变，GP 和 CS 分子之间可能形成了相应的静电相互作用。相关研究表明，通常 pH=7 时，蛋白质带负电荷，蛋白质和多糖之间的相互作用更复杂，因此，进一步探讨 GP/CS 复合体系在中性条件下(pH=7)的相互作用机理。

表 1 不同浓度 GP 与 CS 复合体系在不同 pH 值条件下的浊度变化

Table 1 Changes of turbidity for casein solutions with different GP concentrations under different pH

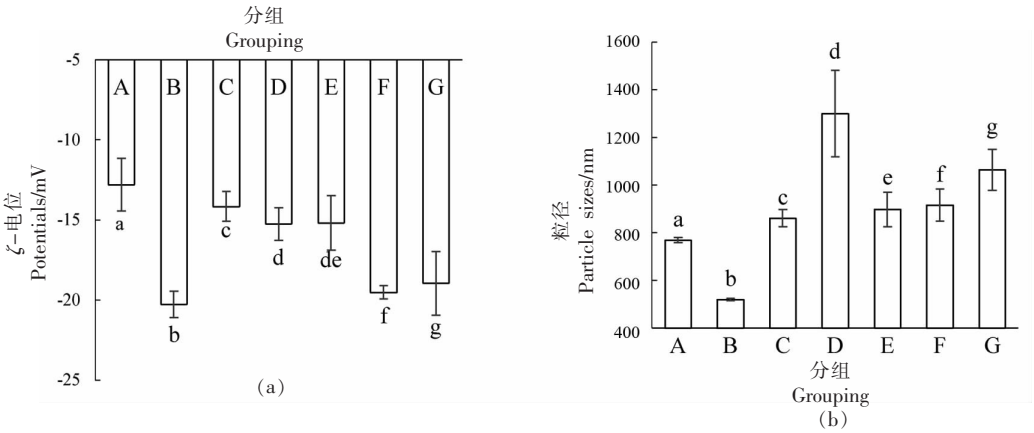
组别	pH 值					
	2	3	4	5	6	7
0.1%CS	0.085 ± 0.000[a]	0.269 ± 0.006[a]	0.749 ± 0.041[a]	0.706 ± 0.031[a]	0.131 ± 0.002[a]	0.0864 ± 0.002[a]
0.05%CS/0.0025%GP	0.083 ± 0.020[ab]	0.342 ± 0.004[b]	0.604 ± 0.018[b]	0.594 ± 0.011[b]	0.079 ± 0.002[b]	0.0807 ± 0.005[b]
0.05%CS/0.005%GP	0.069 ± 0.001[c]	0.208 ± 0.004[c]	0.528 ± 0.004[c]	0.376 ± 0.005[c]	0.075 ± 0.001[c]	0.0747 ± 0.001[c]
0.05%CS/0.0075%GP	0.072 ± 0.002[d]	0.170 ± 0.004[d]	0.524 ± 0.022[cd]	0.454 ± 0.004[d]	0.079 ± 0.002[cd]	0.0748 ± 0.003[cd]
0.05%CS/0.01%GP	0.076 ± 0.002[e]	0.242 ± 0.012[e]	0.380 ± 0.015[e]	0.370 ± 0.016[e]	0.100 ± 0.002[e]	0.0780 ± 0.001[e]
0.05%CS/0.0125%GP	0.070 ± 0.001[f]	0.239 ± 0.014[ef]	0.396 ± 0.007[ef]	0.484 ± 0.002[f]	0.077 ± 0.001[df]	0.0766 ± 0.001[ef]
0.1%GP	0.057 ± 0.000[g]	0.059 ± 0.001[g]	0.058 ± 0.001[g]	0.061 ± 0.001[g]	0.060 ± 0.001[g]	0.0628 ± 0.001[g]

注：同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

2.2 Zeta-电位和粒径分析

Zeta-电位通常用来反映分散体系的稳定性，Zeta-电位绝对值及粒子间的静电斥力越大，体系越稳定[15]。如图 1a 所示，在 pH=7 时，GP 和 CS 溶液均带负电荷，电位值分别为 (-20.27±0.81)mV 和(-12.80±1.65)mV。GP/CS 复合溶液的电位绝对值均低于 CS 溶液电位值，说明分子之间存在络合作用，并且基本上是随着多糖浓度的增加而降低，使复合溶液的 Zeta-电位值逐渐接近于 GP 的电位值，说明 CS 表面可能结合了更多的 GP 分子，使得体系变得更加稳定，可能因为而随着 GP 含量的增加，GP 与 CS 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[16]。

粒径是反映聚合物在水溶液中相互作用的重要指标之一。由图 1b 可知，GP/CS 复合体系平均粒径均大于单独的 GP 或 CS 的平均粒径，这是由于 GP 与 CS 发生相互作用产生复合物所致，但 GP/CS 复合体系平均粒径不随着 GP 浓度的增加



注：A：0.1% CS；B：0.1% GP；C：0.05% CS/0.0025% GP；D：0.05% CS/0.005% GP；E：0.05% CS/0.0075% GP；F：0.05% CS/0.010% GP；G：0.05% CS/0.0125% GP。

图 1 不同浓度 GP 与酪蛋白复合体系的 ζ-电位(a)和粒径(b)

Fig.1 Zeta potentials (a) and particle sizes (b) of CS, GP and CS/GP complexes

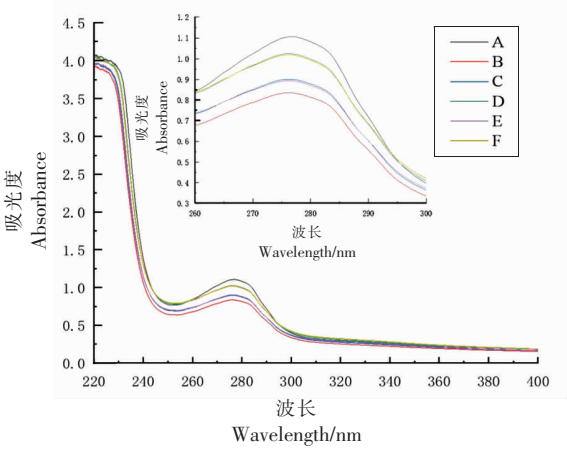
而逐渐增加，这与王银平[14]研究的结果相异，即随着多糖比例的增加，玉木耳多糖/乳清蛋白混合液的平均粒径呈现不断增大的趋势。0.05%CS/0.005%GP(1∶1)混合溶液的粒径为(1 299.50±181.01)nm，比 CS 溶液平均粒径（768.17±11.46）nm 高约 1~2 倍，说明此 GP 比例下 GP 与 CS 分子大量聚合。

2.3　紫外光谱分析

蛋白质的紫外光谱主要由芳香族氨基酸组成，尤其是酪氨酸和色氨酸残基[17]。图 2 所示，与 CS 相比，CS/GP 复合溶液的紫外吸收强度均呈不同程度降低，可能原因是较大分子的多糖与蛋白质结合，将蛋白质肽链上的疏水氨基酸基团包裹。另外，CS/GP 复合溶液的光谱发生了蓝移，说明 CS 的空间结构发生改变了[18]。

2.4　荧光光谱分析

在蛋白质分子中，由于色氨酸(Trp)的荧光强度最强，通常用 Trp 来反映蛋白质结构的变化[19]。随着多糖比例的增大，CS 最大发射峰强度显著降低，峰的形状基本没有变化，呈现典型的荧光猝灭现象（见图 3a），表明 GP 与 CS 之间存在相互作用，此外，CS 的最大发射波长发生了蓝移，说明 CS 与 GP 之间都发生了结合，形成复合物，这可能是因为阴离子多糖加入增加了蛋白质粒子之间空间位阻，使 CS 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



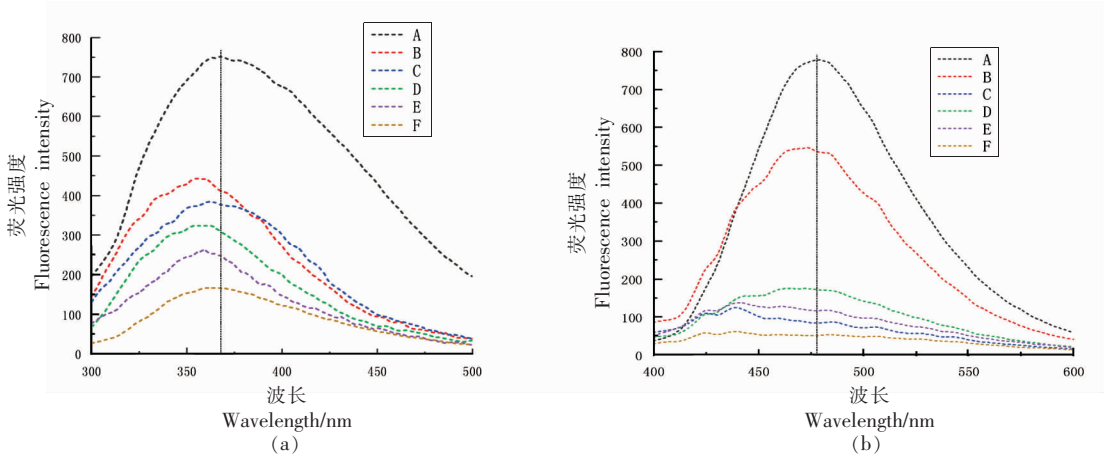
注：A:0.05% CS;B:0.05% CS/0.0025% GP;C:0.05% CS/0.005% GP;D:0.05% CS/0.0075% GP;E:0.05% CS/0.010% GP;F:0.05% CS/0.0125% GP。

图 2　不同浓度 GP 与酪蛋白复合体系的紫外光谱

Fig.2　UV spectrum of casein solutions with different GP concentrations

氨酸最大吸收波长发生了蓝移[20]。在 CS/GP 复合物中，随着 GP 比例的增加，CS 的固有荧光使荧光强度逐渐下降，表明疏水相互作用参与了复合物的形成。

ANS 作为外源荧光团也能反映蛋白质结构的变化，尤其是疏水区域暴露于溶剂中间态的变化[21]。随着 GP 比例的增大，复合物的荧光强度逐渐降低，表明 GP/CS 之间的相互作用掩盖了暴露于 CS 表面的疏水性残基。GP 质量浓度大于



注：A:0.025% CS;B:0.025% CS/0.00125% GP;C:0.025% CS/0.0025% GP;D:0.025% CS/0.00375% GP;E:0.025% CS/0.005% GP;F:0.025% CS/0.00625%。

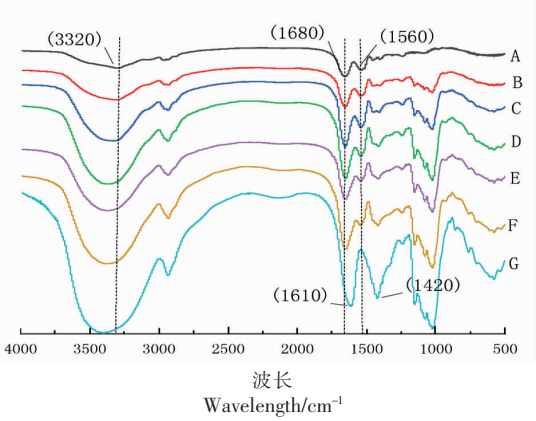
图 3　CS 和 CS/GP 复合体系的内源(a)及外源(b)荧光光谱

Fig.3　The endogenous (a) and exogenous (b) fluorescence spectra of CS and CS/GP complexes

0.00125%(w/v) 时,GP/CS 之间的相互作用较强,ANS 的荧光强度降低显著。

2.5 红外光谱分析

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,因此,傅里叶变换红外光谱可用于分析蛋白质和多糖之间相互作用。由图 4 可知,GP/CS 复合物的图谱没有新的吸收峰出现,但吸收峰的强度及峰宽发生变化,说明 GP 的加入并未与 CS 生成新的物质,但对其结构产生影响。红外图谱中酰胺 A 带(3 000~3 600 cm^{-1})的宽峰是由氢键引起,GP 加入后,酰胺 A 带内 3 320 cm^{-1} 波数段的峰值及峰宽发生了变化,并发生了红移,表明 GP 和 CS 之间可能存在氢键相互作用[22]。酪蛋白(CS)的酰胺Ⅰ带吸收峰处于 1 680 cm^{-1} 附近,酰胺Ⅱ带在 1 560 cm^{-1} 附近,随着 GP 的增加,CS 的酰胺Ⅰ带的峰值发生了蓝移,说明 GP/CS 发生了疏水相互作用,引起了 CS 二级结构的改变,酰胺Ⅱ带的吸收峰未见明显变化,1 610 cm^{-1} 处的吸收峰代表 GP 羰基上的 C=O 的伸缩振动,在复合物中未检测到,这也表明 GP/CS 之间产生了相互作用。根据 GP/CS 红外光谱的细微变化,表明 GP/CS 之间可能还存在氢键、疏水作用等[23]。



注:A:CS;B:0.05% CS/0.0025% GP;C:0.05% CS/0.005% GP;D:0.05% CS/0.0075% GP;E:0.05% CS/0.010% GP;F:0.05% CS/0.0125% GP;G:GP。

图 4 CS,GP 和 CS/GP 复合体系的红外光谱

Fig.4 FTIR spectra of CS, GP and CS/GP complexes

2.6 圆二色谱

圆二色谱信号能分析蛋白质的二级结构变化。如表 2 所示,GP 的添加使酪蛋白(CS)α-螺旋减少,β-折叠增加,β-转角和无规卷曲变化不显著,这表明 GP 与 CS 发生相互作用后 CS 的空间结构发生了展开,CS 中的部分 α-螺旋发生了解体,排列重组后形成了 β-折叠。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,二者可以通过静电相互作用形成复合物[24]。GP 的浓度对 GP/CS 复合体系的二级结构含量影响并不显著。以上结果与红外光谱分析结果(见 2.5 节)相一致。

表 2 CS 和 CS/GP 复合体系中二级结构相对含量

Table 2 Relative content of secondary structure of CS and CS/GP complexes

组别	α-螺旋	β-折叠	β-转角 ns	无规卷曲 ns
0.025%CS	4.95 ± 0.21[a]	30.75 ± 0.28[a]	17.70 ± 0.14	46.65 ± 0.07
0.025%CS/0.00125%GP	4.23 ± 0.17[b]	32.33 ± 0.10[b]	16.98 ± 0.29	46.48 ± 0.15
0.025%CS/0.0025%GP	4.38 ± 0.22[c]	32.13 ± 0.10[bc]	16.88 ± 0.29	46.55 ± 0.19
0.025%CS/0.00375%GP	4.13 ± 0.30[bd]	32.30 ± 0.16[bcd]	16.88 ± 0.29	46.68 ± 0.19
0.025%CS/0.005%GP	4.63 ± 0.25[e]	31.55 ± 0.13[e]	16.80 ± 0.34	47.03 ± 0.24
0.025%CS/0.00625%	4.72 ± 0.22[f]	31.12 ± 0.29[ef]	16.72 ± 0.52	47.42 ± 0.39

注:同列不同字母表示差异显著(P<0.05);ns:差异不显著(P>0.05)。

2.7 乳化活性(EAI)及乳化稳定性(ESI)

EAI 和 ESI 是反应乳液特性的重要指标,乳化活性越高,蛋白质越能够抑制油滴的聚集,从而形成稳定的乳液。GP/CS 复合物乳化活性指数和乳化稳定性指数变化情况,如表 3 所示,相比单独的 CS 而言,GP/CS 复合体系具有更好的乳化活性,其中,1%GP/1%CS 复合体系乳化活性最强,为(22.24±1.13)m^2/g。在乳化的过程中,GP 可与 CS

相互作用而发生聚合，从而改变了 CS 在油-水界面的吸附行为及界面薄膜的流变特性，提高其乳化性[25]。随着 GP 添加比例增加，新鲜复合乳液乳化稳定性大致呈现先增加后降低的变化趋势，复合体系中 GP 超过 0.75%时，其 ESI 值很明显低于 CS 的 ESI 值。这可能是因为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。

表 3　CS 和 CS/GP 复合体系的 ESI、EAI 和 CI

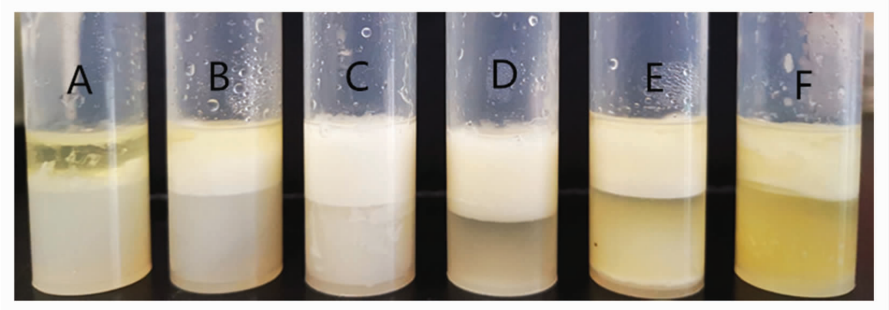
Table 3　ESI, EAI and CI of CS and CS/GP complexes

组别	EAI	ESI	CI
1%CS	9.91 ± 0.04[a]	489.10 ± 5.46[a]	100 ± 0.00[a]
0.25%GP/1%CS	13.23 ± 0.62[b]	780.00 ± 32.80[b]	61.54 ± 1.00[b]
0.5%GP/1%CS	14.58 ± 0.44[c]	522.05 ± 11.42[c]	54.554 ± 1.92[c]
0.75%GP/1%CS	15.42 ± 0.75[d]	533.85 ± 4.04[d]	49.06 ± 1.05[d]
1%GP/1%CS	22.24 ± 1.13[e]	251.17 ± 6.21[e]	58.18 ± 1.89[e]
1.25%GP/1%CS	16.07 ± 1.47[f]	277.62 ± 7.64[f]	61.54 ± 1.05[lf]

注：同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

2.8　乳液贮藏稳定性

根据乳液分层情况判断乳液储藏稳定性，如图 5 所示，室温贮藏 14 d 后，CS 乳液体系出现了分层现象，并伴有明显的溢油现象的发生，表明单独 CS 乳液稳定性差，可能原因在于随着储藏时间的延长，蛋白质分子不足以维持油水界面平衡，由于重力作用开始有溢油现象的发生。GP/CS 复合乳液体系也发生了分层，但析油现象不明显，这说明多糖与蛋白质的复合能提高乳液的贮藏乳化稳定性，0.5%GP/1%CS 和 0.75%GP/1%CS 复合乳液体系的乳化稳定性较好。乳析指数也为相同的趋势，0.5%GP/1%CS 和 0.75%GP/1%CS 两组的 CI 相对较低，分别为 54.554±1.92 和 49.06±1.05。这与乳化稳定性的结果相似，表明适量 GP 的加入有助于提高乳液的储藏稳定性，并对其乳化稳定性也有利。



注：A：1% CS；B：0.25% GP/1% CS；C：0.5% GP/1% CS；D：0.75% GP/1% CS；E：1% GP/1% CS；F：1.25% GP/1% CS。

图 5　CS 和 CS/GP 复合的乳液在室温下储存 14 d 后的表观图像

Fig.5　The appearance of the CS and CS/GP emulsion after 14 d of storage at room temperature

3　结论

研究了 GP/CS 复合物的相互作用机制及其乳液的乳化稳定性，研究表明，pH 值通过影响体系内的电荷平衡来影响 GP/CS 凝聚体的形成，随着复合体系中 GP 比例的增加，相应的浊度值变化显著，呈下降趋势；当 pH=7 时，GP/CS 复合溶液的电位值介于 CS 及 GP 溶液电位值之间，溶液平均粒径增大，紫外吸收强度均呈不同程度降低，并发生了蓝移，内源性及外源荧光强度逐渐下降，GP/CS 红外光谱的发生细微变化，蛋白质二级结构发生改变。静电相互作用是形成 GP/CS 复合物的主要作用力，疏水相互作用、氢键等也参与复合物的形

成。添加 GP 改善了乳液的乳化活性及稳定性,提高了乳液的储藏稳定性。本研究可为蛋白-多糖复合物及其乳液制备提供理论依据。

参 考 文 献

[1] LE X T, RIOUX L E, TURGEON S L. Formation and functional properties of protein-polysaccharide electrostatic hydrogels in comparison to protein or polysaccharide hydrogels[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2017, 239(1): 127-135.

[2] WUSIGALE, LIANG L, LUO Y. Casein and pectin: Structures, interactions, and applications[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 97(1): 391-403.

[3] 徐康. 黄秋葵多糖的结构表征, 功能活性及其对发酵食品的改性作用[D]. 济南: 山东农业大学, 2020.
XU K. Structure characteristics, functional properties of okra polysaccharide and its modification in fermented foods[D]. Jinan: Shandong Agricultural University, 2020.

[4] 龙慧, 李祎, 朱叶力, 等. 银耳多糖与大豆分离蛋白的相互作用及流变性能[J]. 食品科学, 2022, 43(16): 160-168.
LONG H, LI Y, ZHU Y L, et al. The interaction and rheological properties of *Tremella fuciformis* polysaccharide and soybean protein isolate[J]. Food Science, 2022, 43(16): 160-168.

[5] KERN L, FABRE O, SCHER J, et al. Chemical fractionation of caseins by differential precipitation: Influence of pH, calcium addition, protein concentration and temperature on the depletion in α - and β - caseins[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2020, 55(2): 542-552.

[6] 刘郁琪. 基于酪蛋白与多糖相互作用的产物制备及性能应用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
LIU Y Q. Study on the preparation and performance application of products based on the interaction between casein and polysaccharides[D]. Chongqing: Southwest University, 2021.

[7] 郑环宇, 孔洋, 郑丽, 等. 大豆蛋白-多糖复合物结构、性能及其稳定性研究[J]. 农业机械学报, 2022, 53(6): 406-415.
ZHENG H Y, KONG Y, ZHENG L, et al. Effect of soybean protein-polysaccharides complexes on structure, properties and stability[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2022, 53(6): 406-415.

[8] SHI L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 92(11): 37-48.

[9] WANG S N, YANG J J, SHAO G Q, 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(12): 106075.

[10] SIMAYI Z, ROZI P, YANG X, et al. Isolation, structural characterization, biological activity, and application of *Glycyrrhiza* polysaccharides: Systematic review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183(7): 387-398.

[11] LE X T, RIOUX L, TURGEONS L. Formation and functional properties of protein-polysacchride electostatic hydrogels in comparison to protein or polysaccharide hydrogels[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2017, 239(1): 127-135.

[12] ZHAO Z T, LI H, ZHAO M M, LI Q Y. Structural and surface properties of whey protein from buffalo milk as influenced by exopolysaccharide[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(3): S2323-2331.

[13] 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.
LIU J N, XU Y Y, WANG Y H, 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.

[14] 王银平. 玉木耳多糖的制备、结构表征及其与乳清蛋白相互作用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2020.
WANG Y P. Preparation and structural characterization of polysaccharides from Auricularia cornea var. Li. and their interactions with whey protein[D]. Changchun: Jilin University, 2020.

[15] 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.
XIE J J. Electrostatic complexation between soy protein isolate and sugar beet pectin and its application

[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2013.

[16] 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.

[17] EKEZIE F C, CHENG J H, SUN D W. Effects of atmospheric pressure plasma jet on the conformation and physicochemical properties of myofibrillar proteins from king prawn (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Food Chemistry, 2019, 276(3): 147-156.

[18] ALEXNDER P. DEMCHENKO. Ultraviolet Spectroscopy of Proteins[M]. Berlin: Springer, 1986: 312-318.

[19] IMÉNEZ-CASTA ÑO L, VILLAMIEL M, LÓPEZ-FANDI ÑO R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(3): 433-443.

[20] MA X B, HOU F R, ZHAO H H, et al. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin by ultrasound treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108(4): 106056.

[21] STĂNCIUC N, RÂPEANU G, BAHRIM G, et al. pH and heat-induced structural changes of bovine apo-α-lactalbumin[J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 956-963.

[22] ZHAO Y, KHALID N, SHU G, et al. Complex coacervates from gelatin and octenyl succinic anhydride modified kudzu starch: Insights of formulation and characterization[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 86(1): 70-77.

[23] GUERRERO P, KERRYJ P, CABA K. FTIR characterization of protein-polysaccharide interactions in extruded blends[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 111(10): 598-605.

[24] LI Q, WANG Z, DAI C, et al. Physical stability and microstructure of rapeseed protein isolate/gum arabic stabilized emulsions at alkaline pH[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 88(3): 50-57.

[25] 梁瑞红, 董浩澜, 王学栋, 等. 果胶结构特征对果胶-β-酪蛋白复合体系性质的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 31-38.
LIANG R H, DONG H L, WANG X D, et al. Effects of pectin structure on the properties of pectin-β-casein complex systems[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(12): 31-38.

The Interaction Mechanism and Emulsifying Properties of *Glycyrrhiza* Polysaccharide and Casein

Guo Dongqi[1,2], Yin Xiuxiu[1], Cheng Huan[1], Chen Jianle[1], Ye Xingqian[1*]

([1]*College of Biosystems Engineering and Food Science, Fuli Institute of Food Science, Ningbo Research Institute, Zhejiang Key Laboratory for Agro-Food Processing, National-Local Joint Engineering Laboratory of Intelligent Food Technology and Equipment, Zhejiang Engineering Laboratory of Food Technology and Equipment, Zhejiang University, Hangzhou 310058*

[2]*Production & Construction Group Key Laboratory of Special Agricultural Products Further Processing in Southern Xinjiang, College of Food Science and Engineering, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang*)

Abstract The stability of *Glycyrrhiza* polysaccharide / casein complex was analyzed by Zeta potential and turbidity, and the structural properties and interaction mechanism of GP/CS complex were investigated by fluorescence spectrum, infrared spectrum and circular dichroism spectrum, ect. The emulsifying stability of compound emulsion was also discussed. The results showed that GP/CS could form a stable complex. When pH=7, the Zeta potential values of GP/CS complexes were between CS and GP solution, with the average particle size increasing and fluorescence intensity decreasing, and the ultraviolet absorption intensity decreasing with blue shift, the intensity and peak width of the absorption peak of the infrared spectrum were changed, and the secondary structure of casein were changed. The electrostatic interaction, hydrogen bonding and hydrophobicity were involved in the formation of the composites. In addition, GP/CS complex could improve the stability of the emulsion. This study provides reference for the application of protein-polysaccharide complex in food field.

Keywords casein; *Glycyrrhiza* polysaccharide; complex system; emulsion; stability