doi:10.12301/spxb202200988 文章编号:2095-6002(2023)03-0127-12
引用格式:赵钜阳,袁惠萍,姚恒喆,等. pH 值对儿茶素-大豆分离蛋白复合物结构与乳化性的影响[J]. 食品科学技术学报,2023,41(3):127-138.
ZHAO Juyang, YUAN Huiping, YAO Hengzhe, et al. Effects of pH on structure and emulsibility of catechin-soy protein isolate complex[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(3):127-138.

pH 值对儿茶素-大豆分离蛋白复合物结构与乳化性的影响

赵钜阳[1], 袁惠萍[2], 姚恒喆[3], 陈逸玉[4], 高世勇[1,*]
(1. 哈尔滨商业大学 药物研究所博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150030;
2. 郑州科技学院 食品科学与工程学院, 河南 郑州 450064;
3. 青岛酒店管理职业技术学院 烹饪学院, 山东 青岛 266100;
4. 哈尔滨商业大学 旅游烹饪学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 以大豆分离蛋白(soy protein isolate,SPI)为原料,制备不同 pH 值荷载儿茶素的蛋白复合物,利用差示扫描量热法、紫外可见光谱、荧光光谱、圆二色光谱等技术探究儿茶素和 SPI 相互作用机理,解析蛋白复合物热稳定性、荧光淬灭类型、结合位点数、热力学参数和二级结构含量等信息,分析儿茶素和 SPI 间结合亲和力以及复合物的乳化性。结果表明:不同 pH 值处理的儿茶素对 SPI 荧光淬灭方式均为静态淬灭,当 pH 值为 3.5、5.5、6.5 时,二者间相互作用力主要为静电作用力,pH 值为 4.5 时主要为氢键和范德华力,pH 值为 7.0、7.5、8.5、9.5 时主要为疏水相互作用。随着 pH 值增加,复合物的热稳定性逐渐增加,且在 pH 值为 9.5 时,SPI 变性温度升高至 157.09 ℃。当 pH 值为 7.5 时,复合物乳化活性和乳化稳定性比相同 pH 值下对照组(SPI 组)分别显著提高 7.70% 和 13.44% ($P<0.05$)。不同 pH 值处理会改变儿茶素-SPI 复合物的结构,通过调控 pH 值可制备具有良好乳化性的大豆蛋白食品基料。

关键词: 儿茶素; 大豆分离蛋白; 相互作用; pH 值; 乳化性
中图分类号: TS201.6 **文献标志码:** A

大豆分离蛋白(soy protein isolate,SPI)具有较高的营养价值和较好的功能特性,被广泛用于食品体系中[1-2]。多酚具有较高的生物活性,但较差的溶解性限制了其应用范围,目前已有大量研究证实,多酚能与 SPI 发生相互作用形成共价或非共价复合物,进而影响蛋白质的结构,同时提高多酚的溶解性和蛋白质的乳化性等功能性质[3-6]。蛋白质功能特性改变的本质是其结构的变化,而蛋白质与多酚复合条件,如温度、处理方式、pH 值,会严重干预复合物结构[7]。

研究发现,pH 值的改变也同样会诱导蛋白质结构展开,疏水基团暴露,进而影响蛋白质与多酚的结

收稿日期: 2022-10-29
基金项目: 黑龙江省自然科学博士后基金面上项目(LBH-Z22204);黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目(UNPYSCT-2020213)。
Foundation: Heilongjiang Natural Science Postdoctoral Foundation (LBH-Z22204); University Nursing Program for Young Scholars with Creative Talents in Heilongjiang Province (UNPYSCT-2020213).
第一作者: 赵钜阳,女,副教授,博士,主要从事大豆蛋白加工和烹饪科学方面的研究。
* 通信作者: 高世勇,男,研究员,博士,博士生导师,主要从事功能活性物质的提取和抗肿瘤中药方面的研究。

合度及相互作用方式。伏二伟等[8]研究发现,碱性条件下,单宁酸与麦醇溶蛋白交联程度随 pH 值的增大呈先升高后降低的趋势,碱性条件多酚易被氧化为醌中间体,与蛋白质的某些氨基酸生成共价键,增大二者相互作用程度[9];而当 pH 值大于 10 时,强碱环境下多酚与蛋白质均携带负电,分子间斥力增大,二者交联度下降[10]。王团结等[11]研究发现,随着 pH 值的增加,茶多酚与 SPI 复合乳液的乳化活性和乳化稳定性先降低后增强,其乳化活性和乳化稳定性在碱性条件下比在酸性条件下强。可见 pH 值的改变会影响多酚与蛋白质相互作用及蛋白质的功能性。

儿茶素是多酚的一种,结构中含有多个羟基基团,蛋白质亲和力更强,有利于新形成的复合物功能改善[12],并具有抑菌、防腐、保鲜、抗氧化的功效。已有研究证实,儿茶素可以与乳清蛋白[13]、大豆分离蛋白[14]、蛋清蛋白等相互作用[15]。但是,pH 值是否影响儿茶素与 SPI 之间的相互作用目前还尚不可知,其相互作用机制也不明晰。本研究着重探究了 pH 值对儿茶素与 SPI 相互作用的影响,分析不同 pH 值对儿茶素与 SPI 结合亲和力、SPI 热稳定性、二级和三级结构、乳化性的影响,并深入探讨儿茶素与 SPI 的相互作用方式、作用位点等作用机制,以期为多酚-蛋白质相互作用理论及儿茶素、SPI 的综合利用提供理论依据与支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

儿茶素(质量分数大于 98%),安徽合肥博美生物有限公司;大豆分离蛋白(质量分数 98.7%),哈尔滨商业大学旅游烹饪学院烹饪实验室自提;大豆油,哈尔滨九三粮油工业集团有限公司;其他试剂均为分析纯,整个实验过程中均使用去离子水。

1.2 仪器与设备

H1850R 型高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;UV-800 型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;DSC 4000 型差示扫描量热仪,珀金埃尔默股份有限公司;LS55 型荧光光谱仪,美国 PerkinElmer 公司;Chirascan 型圆二色光谱仪,英国 Applied Photophysics 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 SPI 提取

参考 Speroni 等[16]的制备方法并适当修改,利用碱溶酸沉的方法获取 SPI。将 600 g 脱脂豆粕加入 9 L 去离子水中,NaOH 溶液(2 mol/L)调节 pH 值至 7.8,搅拌 2 h 后于 8 681 r/min 离心 20 min,上清液用盐酸(2 mol/L)调节 pH 值至 4.5,4 ℃环境中静置 1 h,倒出上清液,沉淀在 8 681 r/min 下离心 10 min,离心后取下部沉淀,用 5 倍体积蒸馏水清洗后,于8 681 r/min离心 10 min,用 NaOH 溶液(2 mol/L)调节蛋白质溶液至中性。提取后的 SPI 溶液冻干并研磨,即可获得 SPI。利用全自动凯氏定氮仪测定 SPI 质量分数为 98.32%。

1.3.2 复合物样品制备

参考 Zhou 等[17]的方法并适当修改,将 10 g SPI 与 0.4 g 儿茶素粉末溶解在 49 mL 10 mmol/L 的磷酸盐缓冲溶液(pH 值 7.0)中,分别用 2 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调节溶液 pH 值至 3.5、4.5、5.5、6.5、7.0、7.5、8.5 和 9.5,室温下磁力搅拌 15 min 使儿茶素与 SPI 充分反应,记为 pH3.5、pH4.5、pH5.5、pH6.5、pH7.0、pH7.5、pH8.5、pH9.5 组。将反应样品透析48 h(分子质量截止值:8 000 ~ 14 000 kDa),每 6 h 更换 1 次水以确保完全透析,使用紫外可见分光光度计记录透析液在 280 nm 处的吸收峰,直至所有未反应的多酚被完全去除,透析液预先冷冻并真空干燥 48 h 备用。

1.3.3 儿茶素与 SPI 结合亲和力测定

参照文献[18]测定儿茶素与 SPI 结合亲和力,复合物于 8 000 r/min、4 ℃条件下离心 20 min,取沉淀物加入 5 mL 无水乙醇并置于磁力搅拌器上充分溶解 5 min 后,于 8 000 r/min、4 ℃条件下离心 20 min,取上清液测定其 280 nm 处的吸光度,并根据儿茶素标准曲线计算儿茶素质量,儿茶素包埋率和装载质量比计算见式(1)、式(2)。

$$\text{包埋率} = 1 - \frac{m_1}{m_2} \quad 。 \tag{1}$$

式(1)中,m_1 为复合物离心后所得沉淀中儿茶素的质量,mg;m_2 为添加的儿茶素的总质量,mg。

$$w = \frac{m_3}{m_4} \quad 。 \tag{2}$$

式(2)中,w 为复合物装载儿茶素的质量比,mg/g;m_3 为复合物包埋儿茶素的总质量,mg;m_4 为加入的蛋白质的总质量,g。

1.3.4 复合物热稳定性测定

根据 Tang 等[19]的方法并适当修改,配置 SPI 质量分数为 10% 的儿茶素-SPI 复合物溶液,精准称

取 7 mg 的复合物浆液置于具有聚合物涂层的小铝盒内，密封。样品以 10 ℃/min 的速度从 20 ℃升温至 200 ℃。结果用 Pyris 软件分析，记录最大变性温度（T_{max}）和热焓变值（ΔH）。

1.3.5　复合物结构测定

用 10 mmol/L、pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲溶液配置不同 pH 值的儿茶素-SPI 复合物溶液，使复合物中蛋白质质量浓度为 1 mg/mL，用紫外可见分光光度计扫描儿茶素-SPI 复合物样品的紫外吸收光谱，扫描波长为 200～400 nm，扫描间隔 1 nm，扫描速度 100 nm/min。

1.3.6　复合物表面疏水性测定

参照 Jiang 等[20]的方法，用 10 mmol/L、pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲溶液配置不同 pH 值的儿茶素-SPI复合物溶液，将样品溶液置于 9 705 r/min 下离心 30 min，取上清液，用磷酸盐缓冲溶液将 SPI 质量浓度稀释至 0.1 mg/mL，取 4 mL 稀释液加入 40 μL浓度为 8 mmol/L 的 8-苯胺基-1-萘磺酸（ANS），振荡混匀，在激发波长 390 nm、发射波长 468 nm、狭缝宽度 5 nm、扫描速度 10 nm/s 下记录荧光强度。表面疏水性为荧光强度与蛋白质质量浓度的比值。

1.3.7　复合物二级结构测定

参考由耀辉等[21]的方法，对样品进行圆二色光谱扫描，分析儿茶素-SPI 复合物中二级结构的变化。使用 10 mmol/L、pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲溶液配置样品溶液，使溶液中 SPI 质量浓度为 0.1 mg/mL，室温条件下设置扫描波长 190～260 nm，光径 1 mm。结果扣除缓冲溶液对应的圆二色光谱，并通过 CDPro 软件处理数据。

1.3.8　复合物荧光淬灭类型检测

用 10 mmol/L、pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲溶液配置不同 pH 值的儿茶素-SPI 复合物溶液，使复合物中蛋白质质量浓度为 0.1 mg/mL。利用荧光光谱仪测定样品的荧光光谱，设置激发波长 295 nm，扫描范围为 300 ～500 nm，夹缝宽为 5 nm，扫描速度为 500 nm/min[22]，分别在 293、310 K 的恒温条件下收集荧光光谱信息，分析时需扣除缓冲溶液产生的荧光吸收峰值。

儿茶素对 SPI 淬灭方式可通过 Stern-Volmer 方程[23]分析得到，见式（3）。

$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_{SV}[Q] \quad 。 \tag{3}$$

式（3）中，F_0为不添加儿茶素时 SPI 的荧光强度；F 为添加儿茶素时 SPI 荧光强度；K_q 为分子淬灭常数，L/mol；$[Q]$为淬灭剂浓度，mol/L；K_{SV}为Stern-Volmer 淬灭常数，L/（mol·s）；τ_0为不添加儿茶素时荧光物质的平均寿命，对于蛋白质等生物大分子，荧光寿命一般为 10^{-8} s[24]。

将 Stern-Volmer 方程转化为式（4）可进一步分析出儿茶素与 SPI 相互作用的结合位点数和结合常数[25]。

$$\lg\frac{F_0 - F}{F} = \lg K_b + n\lg[Q] \quad 。 \tag{4}$$

式（4）中，K_b为 SPI 与儿茶素的结合常数，n 为二者结合的位点数。

根据热力学参数评估儿茶素与 SPI 之间的相互作用力，由式（5）～式（7）推算儿茶素与 SPI 结合的吉布斯自由能（ΔG）、焓变（ΔH）和熵变（ΔS）。$\Delta H>0$，$\Delta S>0$ 主要表现为疏水相互作用；$\Delta H<0$，$\Delta S<0$ 主要表现为氢键和范德华力；$\Delta H<0$，$\Delta S>0$ 主要表现为静电作用力[26]。

$$\Delta G = -RT\ln K_b \quad ; \tag{5}$$

$$\ln\frac{K_{b1}}{K_{b2}} = \frac{\Delta H}{R}\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right) \quad ; \tag{6}$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad 。 \tag{7}$$

式（5）～式（7）中，R 为摩尔气体常数，8.314 J/（mol·K）；T 为实验温度，K；K_{b1}为 T_1温度下对应的结合常数；K_{b2}为 T_2温度下对应的结合常数；ΔG 为吉布斯自由能，kJ/mol；ΔH 为焓变，kJ/mol；ΔS 为熵变，J/（mol·K）。

1.3.9　复合物分子对接模拟

利用 AutoDock Tools 4.2.6 软件和 Pymol 软件研究儿茶素-SPI 输送载体机制。SPI 的晶体结构取自蛋白质数据库 PDB（Protien Date Bank），11S 蛋白编码为 lOD5、7S 蛋白编码为 1UIK，参考网址为 https://www.rcsb.org/pages/search_features。配体儿茶素结构取自 PubChem Compound，参考网址为 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound[27]。受体除去多余水分子及金属离子备用。分子对接过程中保持蛋白质分子的刚性结构不变，配体构象发生改变，通过计算配体受体之间的非键相互作用，采用 AutoDock Tools 4.2.6 软件进行儿茶素与 SPI 之间的分子对接。在对接过程中仅考虑复合物的 10 个构象，并分析结合自由能量最低的构象，由 Pymol 软件平台对结果进行深入分析处理，具体对接方法参照文献[28]。

1.3.10 复合物乳化性的测定

取每组复合物溶液 8 mL,向其中加入 2 mL 大豆色拉油,高速匀浆器 10 000 r/min 搅打 1 min 后,立即于容器底部取样 50 μL,加入到 5 mL 质量分数为 0.1% 的 SDS 溶液中,混匀后于 500 nm 处测定吸光度,以 SDS 溶液作为空白对照。将乳化液置于室温下 10 min 后再次取样测定。乳化活性(EAI)及乳化稳定性(ESI)按式(8)、式(9)计算[29]。

$$EAI = \frac{2 \times 2.303}{\rho \times (1-\varphi) \times 104} \times A_0 \times dilution \quad ; \quad (8)$$

$$ESI = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100\% \quad 。 \quad (9)$$

式(8)、式(9)中,EAI 为单位质量 SPI 的乳化区域, m^2/g;ρ 为 SPI 质量浓度,g/mL;φ 为油相体积分数,本实验中油相占 1/4,故 $\varphi = 0.25$;$dilution$ 为稀释倍数;A_0 为 500 nm 处 0 min 的吸光度;A_{10} 为 500 nm 处10 min 的吸光度。

样品乳状液制备完成后,用移液枪吸取 20 μL 乳液样品,置于干净的载玻片上,盖好载玻片后置于显微镜载物台上,在物镜 40×、目镜 10×的光学显微镜下进行观察,用手机拍照功能截取图像。

1.4 数据处理

每组实验设置 3 次重复,结果以平均值±标准偏差表示。数据采用 Statistix 8.1 分析差异显著性,图片采用 Sigmaplot 9.0 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 pH 值对儿茶素-SPI 复合物结合情况的影响

儿茶素包埋率和 SPI 装载儿茶素的质量反映了二者相互作用的结合度,见表 1。由表 1 可知,在酸性条件下,二者结合度随着 pH 值的增大先升高后下降,在 SPI 等电点达到最大值。这是由于酸性条件下改变了大豆蛋白的结构,使其聚集沉淀,当达到大豆蛋白等电点时,聚集现象最强,导致大部分多酚随着蛋白质的聚集而被包埋进蛋白质沉淀,使混合体系中游离的多酚含量降低,与大豆蛋白结合的多酚含量增加,从而影响儿茶素的包埋率和 SPI 装载儿茶素的含量。在碱性环境中,多酚的包埋率和 SPI 装载儿茶素的质量随着 pH 值的增加而增加,当 pH 值达到 8.5 时,不再有显著变化。这是由于碱性条件下,pH 值促使蛋白质结构展开,SPI 内的疏水性氨基酸基团暴露,儿茶素与 SPI 之间的作用力由非共价相互作用转变为共价相互作用,作用力增强,二者相互作用的结合能力也随之加强且包埋率达到 100%。

表 1 pH 值对儿茶素包埋率和 SPI 装载儿茶素质量的影响

Tab. 1 Effect of pH value on catechin entrapment rate and content of catechin loaded in SPI

组别	包埋率/%	w(装载)/($mg \cdot g^{-1}$)
pH3.5	93.38 ± 0.12^{e}	93.38 ± 0.12^{e}
pH4.5	96.77 ± 0.20^{b}	96.77 ± 0.20^{b}
pH5.5	96.11 ± 0.12^{c}	96.11 ± 0.12^{c}
pH6.5	92.97 ± 0.31^{ef}	92.97 ± 0.31^{ef}
pH7.0	92.72 ± 0.12^{f}	92.72 ± 0.12^{f}
pH7.5	95.04 ± 0.20^{d}	95.04 ± 0.20^{d}
pH8.5	99.67 ± 0.12^{a}	99.67 ± 0.12^{a}
pH9.5	100.00 ± 0.00^{a}	100.00 ± 0.00^{a}

不同字母表示同列数据差异显著($P < 0.05$)。

2.2 pH 值对儿茶素-SPI 复合物热稳定性的影响

蛋白质在商业加工过程易受热变性,蛋白质热稳定性的提高可改善加工过程中的变性情况[30]。表 2 显示的是 pH 值对复合物热稳定性的影响。由表 2 可知,酸性条件下儿茶素-SPI 复合物的热稳定性较差。这是由于该条件下儿茶素-SPI 复合物溶解性较低,溶液分层后受热易变性,且酸性 pH 值下,儿茶素与 SPI 结合度较低,未起到增大儿茶素-SPI复合物热稳定性的作用。中性条件下,儿茶素-SPI 复合物的变性温度由 69.42 ℃ 升高至 72.34 ℃,说明儿茶素增强了复合物热稳定性。碱性条件下,儿茶素-SPI 复合物变性温度显著升高至 157.09 ℃,且在 pH 值 8.5、9.5 的条件下第一峰值温度提高,第二峰值温度检测不到,表明碱性条件下,儿茶素与 SPI 交联程度增大,改变了 SPI 的结构,增大了复合物热稳定性。

表 2 pH 值对复合物热稳定性的影响

Tab. 2 Effect of pH value on thermal stability of complex

组别	t(第一峰值)/℃	ΔH	t(第二峰值)/℃	ΔH
pH3.5	58.72	50.56	71.93	60.17
pH4.5	58.78	50.53	72.04	63.75
pH5.5	64.54	51.47	74.54	68.35
pH6.5	64.89	51.36	85.54	80.57
pH7.0	72.34	60.46	98.34	94.55
pH7.5	127.65	169.65	147.53	206.47
pH8.5	142.67	200.95	—	—
pH9.5	157.09	340.58	—	—

“—”表示未检测。

2.3　pH 值对儿茶素-SPI 复合物结构的影响

图 1 是不同 pH 值下复合物紫外光谱。由图 1 可知，酸性环境下儿茶素-SPI 复合物的紫外吸收峰值显著低于碱性环境中的，说明 pH 值影响了儿茶素-SPI 复合物的构象。这可能是由于酸性环境使 SPI 结构发生聚集，使部分芳杂环疏水基团及芳香族氨基酸被包埋，且在 SPI 等电点附近，SPI 沉淀抑制了儿茶素与 SPI 的相互作用，阻碍了内部发色基团的暴露，导致紫外光谱峰值变小。碱性环境下，SPI 结构舒展，包埋在 SPI 结构内部的发色基团暴露，有利于儿茶素与 SPI 相互作用，这一结果与包埋率的结果相呼应。

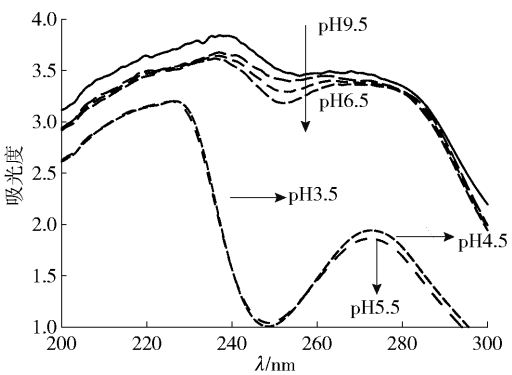


图 1　不同 pH 值对复合物紫外光谱的影响

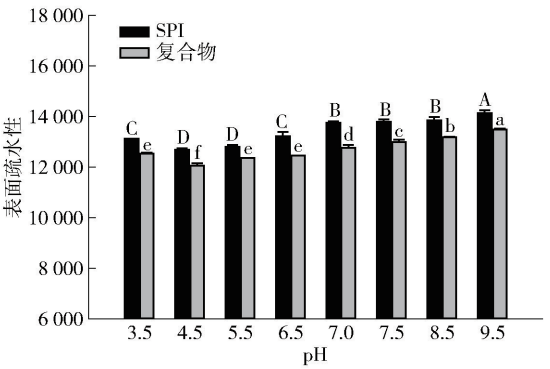
Fig. 1　Effect of ultraviolet spectrum of complex under different pH values

2.4　pH值对儿茶素-SPI 复合物表面疏水性的影响

不同 pH 值对儿茶素-SPI 复合物表面疏水性的影响如图 2。SPI、儿茶素-SPI 复合物表面疏水性均随着 pH 值的增大呈先下降后上升趋势，且在等电点附近达到最小值。这可能是由于酸性条件不利于 SPI 溶解，且在等电点附近溶解性最差，SPI 分子疏水基团被包埋，导致儿茶素-SPI 复合物疏水性较低，阻碍了儿茶素与 SPI 通过疏水作用结合。当 pH 值升高至碱性条件时，SPI 溶解性增大，且碱性环境下，SPI 分子结构展开，有利于大分子的解离，使疏水基团暴露游离在溶液中，增大溶液的表面疏水性。

2.5　pH 值对儿茶素-SPI 复合物二级结构的影响

圆二色光谱技术可分析儿茶素-SPI 复合物的二级结构，不同 pH 值下复合物各二级结构占比见表 3。由二级结构含量变化数据可知，随着 pH 值的增大，α-螺旋含量呈上升的趋势，β-折叠的含量在中性条件下表现出最高值，β-转角含量无显著变化



不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

图 2　不同 pH 值对复合物表面疏水性的影响

Fig. 2　Effect of different pH values on surface hydrophobicity of complex

($P>0.05$)，无规则卷曲含量呈下降趋势。酸性条件下复合物的疏水性基团被包埋起来，多肽链上羰基与氨基之间氢键作用较弱，α-螺旋结构不稳定，表现为 α-螺旋结构含量较少；而在碱性条件下，SPI 结构展开，多肽链内部的疏水基团暴露出来，增加 SPI 与儿茶素相互作用位点与程度，表现为疏水相互作用与氢键作用增强，α-螺旋含量增加。研究结果与王中江等[31]的相似，在中性条件下 SPI 带负电，降低溶液 pH 值，环境中的 H^+ 与所带的负电荷中和而产生静电作用，影响了氢键的稳定性，在静电相互作用及氢键稳定性改变的共同作用下导致 α-螺旋结构的丢失[32]，降低酸性条件下复合物的稳定性。碱性条件下，α-螺旋结构比较稳定，这可能是由于碱性条件下，儿茶素与 SPI 结合得更加紧密，二者相互作用主要为共价结合，复合体系结构稳定，这与碱性条件下荷载率高的结果相互佐证。

表 3　pH 值对复合物二级结构的影响

Tab. 3　Effect of pH value on secondary structure of complex　　%

组别	二级结构含量			
	α-螺旋	β-折叠	β-转角	无规则卷曲
SPI	21.43 ±0.12^{d}	27.27 ±0.06^{b}	22.40 ±0.10^{b}	29.50 ±0.00^{e}
pH3.5	15.67 ±0.06^{g}	27.02 ±0.06b^{c}	22.20 ±0.10^{b}	33.20 ±0.10^{a}
pH4.5	17.13 ±0.06^{f}	27.00 ±0.10b^{c}	22.90 ±0.00^{a}	33.00 ±0.10^{a}
pH5.5	17.40 ±0.10^{e}	26.87 ±0.06^{c}	22.60 ±0.10^{a}	33.10 ±0.10^{a}
pH6.5	17.53 ±0.06^{e}	27.05 ±0.10^{bc}	22.80 ±0.10^{a}	31.70 ±0.00^{b}
pH7.0	22.33 ±0.06^{c}	27.27 ±0.29^{ab}	22.73 ±0.06^{a}	28.80 ±0.10^{d}
pH7.5	22.57 ±0.06^{b}	26.13 ±0.15^{d}	22.27 ±0.35^{ab}	28.70 ±0.10^{d}
pH8.5	24.77 ±0.12^{a}	25.63 ±0.06^{e}	22.40 ±0.10^{a}	26.30 ±0.10^{e}
pH9.5	24.83 ±0.06^{a}	25.63 ±0.06^{e}	22.10 ±0.10^{b}	26.35 ±0.15^{e}

不同字母表示同列数据差异显著($P<0.05$)。

2.6 pH 值对儿茶素-SPI 复合物相互作用的影响

表 4 是儿茶素-SPI 复合物的荧光淬灭常数(K_q)、结合位点数(n)、结合常数(K_b)。已知动力学机制的最大动态淬灭常数为 2.0×10^{10} L/(mol·s),一般认为当荧光淬灭常数远远超过此数值时,二者间的淬灭不是通过碰撞或动态方式发生的,而是在基态下荧光基团和淬灭剂之间的静态机制下发生的[33]。由表 4 可知,不同 pH 值下,各处理组的 K_q 均大于 2.0×10^{10} L/(mol·s),儿茶素引起的 SPI 淬灭速率常数远大于最大动态淬灭速率常数的极限,因此,儿茶素对 SPI 的淬灭机制应为静态淬灭,表明儿茶素以静态淬灭方式与 SPI 结合,结合反应几乎是不可逆的[34]。然而当 pH 值为 3.5、4.5、5.5、6.5 时,K_{sv} 随温度的升高而增大,这是动态淬灭的重要标志,与先前认为的该过程为静态淬灭矛盾,该结果与张怀斌等[35]研究核黄素与牛血清蛋白相互作用的结果类似,即改变溶液离子浓度,K_q 的数量级不变,淬灭过程仍以静态淬灭为主。因此,推测此时儿茶素-SPI 复合物的结合和解离之间存在动态平衡,但此淬灭过程仍以静态淬灭为主。

表 4 SPI-儿茶素复合物的荧光淬灭常数、结合位点数、结合常数

Tab. 4 Fluorescence quenching constants, binding-site number and binding constants of catechin-SPI complex

组别	T/K	K_{sv}/(10^4 L·mol^{-1})	K_q/(10^{12} L·mol^{-1}·s^{-1})	R_1^2	n	K_b/(10^3 L·mol^{-1})	R_2^2
pH3.5	293	3.08	3.08	0.992 4	0.882 5	10.13	0.995 9
	310	3.15	3.15	0.995 7	0.790 9	4.12	0.997 9
pH4.5	293	3.00	3.00	0.998 2	0.910 5	14.22	0.996 7
	310	3.44	3.44	0.997 3	0.870 7	8.69	0.998 6
pH5.5	293	2.62	2.62	0.986 3	1.082 2	53.72	0.985 8
	310	3.70	3.70	0.998 1	0.872 8	10.52	0.996 3
pH6.5	293	2.79	2.79	0.988 6	0.953 9	17.83	0.995 5
	310	3.67	3.67	0.999 1	0.820 8	6.50	0.998 4
pH7.0	293	3.10	3.10	0.997 7	0.777 3	4.56	0.995 4
	310	2.91	2.91	0.997 1	0.799 8	5.01	0.995 9
pH7.5	293	3.64	3.64	0.984 8	0.802 5	4.65	0.998 2
	310	3.39	3.39	0.995 6	0.829 7	5.61	0.997 4
pH8.5	293	8.41	8.41	0.996 9	0.986 2	69.76	0.995 9
	310	8.25	8.25	0.990 9	1.059 0	149.42	0.997 5
pH9.5	293	11.40	11.40	0.972 8	1.089 5	239.06	0.991 2
	310	10.82	10.82	0.992 5	1.091 5	262.66	0.996 5

由表 4 可知,酸性条件下 K_b 随着温度的升高而降低,碱性条件下 K_b 呈现相反趋势,说明在碱性条件下升高温度更有利于儿茶素与 SPI 的相互作用,且当 pH 值为 8.5、9.5 时,儿茶素与 SPI 相互作用的结合位点接近为 1,而在荧光淬灭实验中,当结合位点等于或接近 1.0 时,表明只有一个多酚分子与一个蛋白质分子结合[34],因此这一结果表明儿茶素与 SPI 的结合比例接近于 1,这也与荷载率的结果相互佐证,即当 pH 值为 8.5、9.5 时,二者相互作用的结合能力也随之加强且荷载率达到 100%。酸性条件下 K_b 随着温度升高而降低归因于 2 点:一是酸性条件下,体系中存在不能溶解的 SPI 聚集颗粒,升温再次促进了体系的热聚集,从而抑制儿茶素与 SPI 的相互作用;二是酸性条件下,温度升高使儿茶素与 SPI 相互作用形成的儿茶素-SPI 复合物不稳定,导致结合常数与结合位点数均有所下降,这与热稳定性变化规律相互佐证。

表 5 是 pH 值对儿茶素与 SPI 相互作用热力学参数的影响。由表 5 可知,在不同 pH 值下,各处理组的 ΔG 均为负值,说明儿茶素与 SPI 的相互作用不受 pH 值影响,均为自发进行。而在不同 pH 值下,二者相互作用力有所不同。由表 5 可知,当 pH 值为 3.5、5.5、6.5 时,$\Delta H<0$,$\Delta S<0$,此时儿茶素与 SPI 的相互作用主要为静电作用力[26];当pH值为

表 5　pH 值对儿茶素与 SPI 相互作用热力学参数的影响

Tab. 5　Effect of pH on thermodynamic parameters of interaction between catechin and SPI

组别	T/K	ΔG/ (kJ·mol^{-1})	ΔH/ (kJ·mol^{-1})	ΔS/ (J·mol^{-1}·K^{-1})
pH3.5	293	-22.47	-39.99	-59.81
	310	-21.45		
pH4.5	293	-23.29	-21.89	4.80
	310	-23.38		
pH5.5	293	-26.53	-72.43	-156.64
	310	-23.87		
pH6.5	293	-23.84	-44.82	-71.59
	310	-22.63		
pH7.0	293	-20.57	8.38	98.80
	310	-22.25		
pH7.5	293	-20.53	4.17	84.30
	310	-21.96		
pH8.5	293	-27.17	33.84	208.20
	310	-30.71		
pH9.5	293	-30.17	4.18	117.24
	310	-32.16		

4.5 时，$\Delta H<0$，$\Delta S>0$，分子间作用力主要为氢键和范德华力；当溶液处于中性或碱性条件时，$\Delta H>0$，$\Delta S>0$，分子间作用力主要为疏水相互作用。结合表面疏水性的结果发现，酸性条件不利于 SPI 的溶解，且 pH 值在等电点附近时 SPI 溶解性最差，SPI 分子疏水基团被包埋，导致儿茶素-SPI 复合物疏水性较低，阻碍了儿茶素与 SPI 通过疏水作用相结合，因此表现为酸性条件下儿茶素与 SPI 依赖于静电作用力结合。当 pH 值升高至碱性条件，SPI 溶解性增大，且碱性环境下，SPI 分子结构展开，有利于大分子的解离，使疏水基团暴露游离在溶液中，增大溶液的表面疏水性，并且由于儿茶素具有疏水基团，将可能更有助于与 SPI 的非极性基团发生疏水相互作用。儿茶素可通过在碱性 pH 值下形成的酚基或醌，与蛋白质相互作用形成共价键[36]，因此表现为当 pH 值在中性或碱性条件时，儿茶素与 SPI 以疏水相互作用而结合。

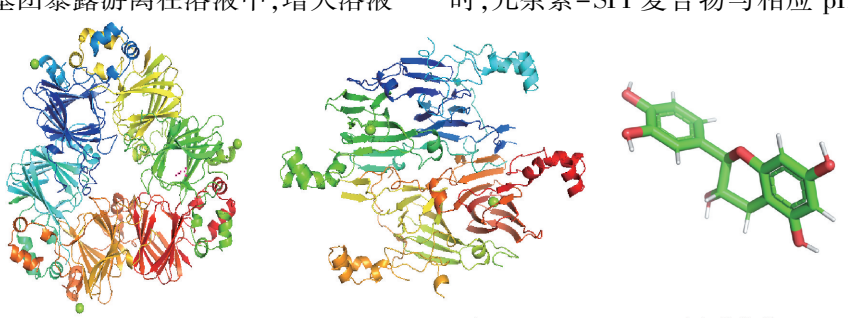
2.7　儿茶素-SPI 复合物分子对接分析

根据沉降系数不同，SPI 可分为 2S、7S、11S 和 15S 蛋白，其中 7S 和 11S 蛋白共占 SPI 的 70% 左右并严重影响 SPI 的功能性质，因此将 SPI 中的 7S、11S 蛋白分别与儿茶素进行分子对接[37]。图 3 是 7S 蛋白、11S 蛋白与儿茶素的结构，图 4、图 5 分别是 7S 蛋白、11S 蛋白与儿茶素的对接结果。由图 4 可知，在 7S 蛋白中有 3 个氨基酸残基参与了与儿茶素的对接，其中疏水性残基分别为 Ser275、Ala283、Gln158，它们彼此之间存在较强的疏水相互作用。由图 5 可知，在 11S 蛋白中有 2 个氨基酸残基参与了与儿茶素的对接，其中疏水性残基分别为 Gly242、Ser248。结果表明：SPI 与儿茶素之间形成了 7 个氢键，由此可以推断在儿茶素与 SPI 结合过程中，酚羟基与氨基酸残基通过氢键协助了两者之间的键合，这有利于配体小分子在蛋白活性位点上更好地发挥靶向作用，因此在儿茶素与 11S 蛋白和 7S 蛋白结合过程中疏水作用力发挥着主要作用，这一结果也与荧光光谱的结果一致，pH 值为中性条件下儿茶素与 SPI 相互作用方式主要为疏水相互作用。

2.8　pH值对儿茶素-SPI 复合物乳化性及乳状液的影响

2.8.1　pH值对儿茶素-SPI 复合物乳化性的影响

表 6 是 pH 值对 SPI 和复合物乳化活性及乳化稳定性的影响。由表 6 可知，在 pH 值为 3.5、6.5 时，儿茶素-SPI 复合物与相应 pH 值条件下 SPI 乳



(a) 7S蛋白　　(b) 11S蛋白　　(c) 儿茶素

图 3　7S、11S 蛋白与儿茶素的结构

Fig. 3　Structure of 7S protein, 11S protein and catechin

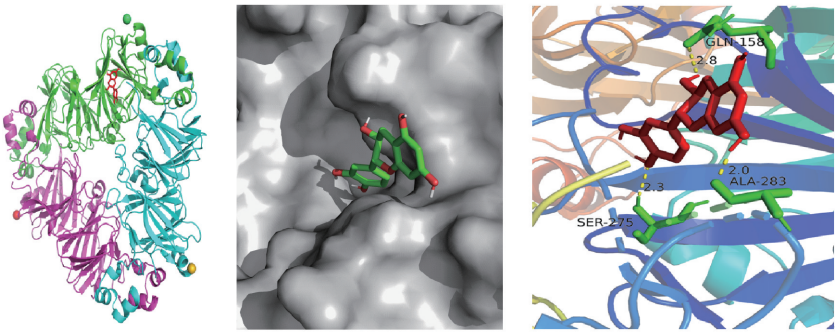


图 4　7S 蛋白与儿茶素的对接结果

Fig. 4　Docking result of 7S protein and catechin

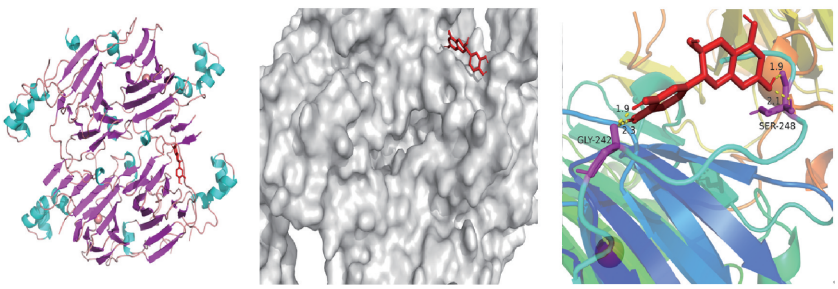


图 5　11S 蛋白与儿茶素的对接结果

Fig. 5　Docking result of 11S protein and catechin

化活性无显著差异($P>0.05$);其余 pH 值下,儿茶素-SPI 复合物乳化活性均显著大于对照组($P<0.05$)。随着 pH 值的增大,儿茶素-SPI 复合物乳化活性呈先降低后上升的趋势,在 SPI 等电点(pH 值 4.5)附近达到最小值;当 pH 值为碱性时,儿茶素-SPI 复合物乳化活性升高但无显著差异($P>0.05$)。这可能是由于酸性条件下,尤其是 SPI 等电点附近,SPI 及儿茶素-SPI 复合物大量聚沉,使溶液中结构致密的大分子颗粒增多,不利于乳液的形成;而碱性条件下,SPI 结构溶解性增大,与儿茶素相互作用程度加深,复合体系无不溶性聚集颗粒,有利于复合体系乳化性的增强。当 pH 值为 7.5 时,复合物乳化活性和乳化稳定性比同 pH 值下 SPI 的分别显著提高 7.70% 和 13.44%($P<0.05$)。理论上,pH 值逐渐增大,儿茶素-SPI 复合物结合度增强,体系乳化活性应随之增大,但由于 pH 值为碱性环境,SPI 与儿茶素之间结合度增大,且存在共价键的相互作用,使溶液中可溶性聚集体的含量增多,抑制儿茶素-SPI 复合物乳化活性的持续升高。此外,结合表 6 的结果可知,儿茶素可提高中性及碱性条件下 SPI 的乳化稳定性,说明儿茶素会掩盖部分蛋白质的解折叠现象,限制了蛋白质的运动,提高乳液稳定性并延长储藏时间[38]。此外,pH 值对儿茶素-SPI 复合物乳化性的影响与表面疏水性的变化趋势一致,说明儿茶素-SPI 复合物乳化性主要受到溶液表面疏水性大小的影响,pH 值的变化使儿茶素-SPI 复合物结构发生改变,从而影响复合物功能性质。

2.8.2　pH 值对儿茶素-SPI 乳化液滴分布的影响

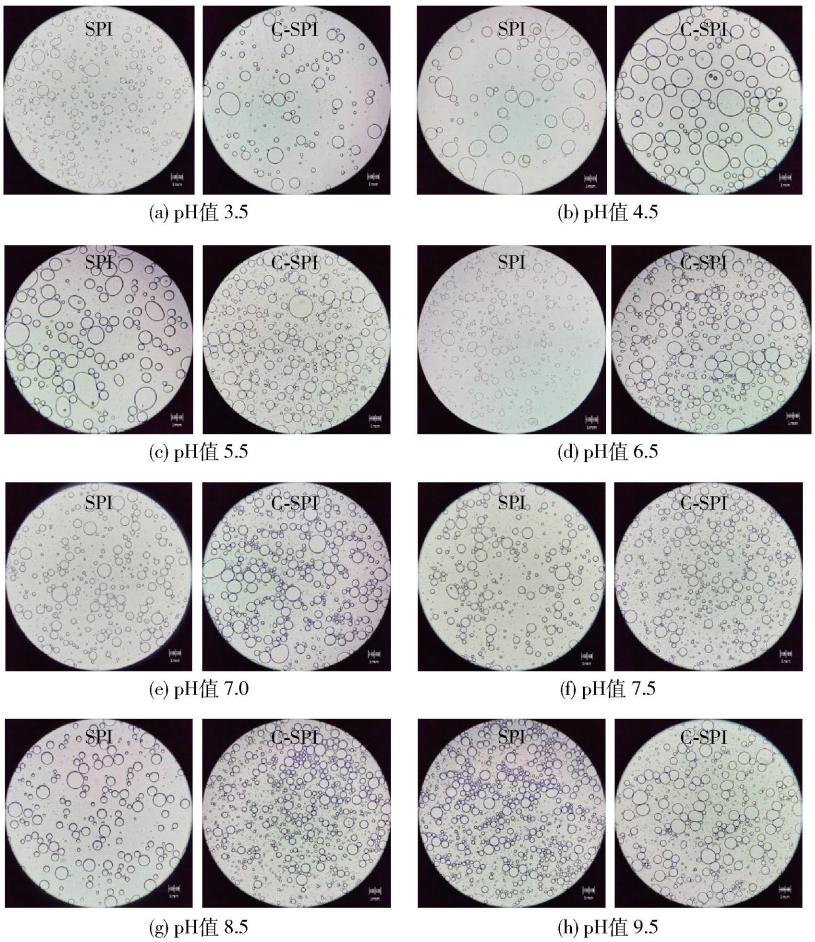
图 6 是不同 pH 值对复合体系乳状液的影响。由图 6 可知,复合体系在酸性环境中乳化液滴大小不一,乳状液均匀度较差;而在中性和碱性条件下,

表 6　pH 值对 SPI 和复合物乳化活性及乳化稳定性的影响

Tab. 6　Effect of pH value on emulsifying activity and emulsion stability of SPI and complex

组别	乳化活性		乳化稳定性	
	SPI	复合物	SPI	复合物
pH3.5	27.47 ±0.29^{ab}	26.94 ±0.28^{b}	10.23 ±0.18^{c}	10.36 ±0.09^{c}
pH4.5	18.41 ±0.70^{e}	23.19 ±0.00^{d}	4.16 ±0.10^{e}	4.28 ±0.20^{d}
pH5.5	17.24 ±0.81^{e}	24.57 ±0.53^{c}	9.59 ±0.08^{d}	9.59 ±0.13^{c}
pH6.5	25.47 ±0.26^{b}	24.77 ±0.38^{c}	11.12 ±0.12^{b}	13.27 ±0.13^{b}
pH7.0	28.04 ±1.45^{ab}	29.44 ±0.24^{a}	12.24 ±0.16^{a}	13.46 ±0.05^{ab}
pH7.5	27.78 ±0.23^{ab}	29.92 ±0.74^{a}	12.65 ±0.05^{a}	14.35 ±0.42^{a}
pH8.5	28.20 ±0.73^{a}	30.57 ±0.29^{a}	12.70 ±0.40^{a}	13.73 ±0.59^{ab}
pH9.5	27.49 ±0.73^{ab}	30.51 ±0.16^{a}	12.51 ±0.05^{a}	13.38 ±0.27^{ab}

不同字母表示同列数据差异显著($P<0.05$)。



C-SPI 为儿茶素-SPI 复合物。

图 6　不同 pH 值对复合物乳状液的影响

Fig. 6　Effect of different pH values on emulsion of complex

乳化液滴粒径较大，乳状液整体更加均匀。在 pH 值为 4.5 时，可清晰看到较大的乳化颗粒，且大小不一，这是因为蛋白质表面电荷接近于 0，复合体系的乳化颗粒容易聚集在一起，乳化颗粒的粒径较大。相同 pH 值下，与 SPI 组相比，复合体系的乳化颗粒聚集程度更高，乳化颗粒也较大。此结果也与乳化活性和乳化稳定性的结果一致。

3　结　论

本研究分别从儿茶素与 SPI 结合亲和力、相互作用机制及乳化性方面，研究了不同 pH 值处理对儿茶素与 SPI 相互作用的影响。结果发现，儿茶素与 SPI 在碱性环境中结合亲和力增强，这可能是由于碱性条件下二者相互作用存在共价结合。进一步深入探讨相互作用机制发现，pH 值的改变并不影响儿茶素对 SPI 的淬灭方式，二者之间仍以静态淬灭方式为主，且二者结合位点数均为 1 左右。当 pH 值为 3.5、5.5、6.5 时二者之间的相互作用力主要为静电作用力；当 pH 值为 4.5 时，主要为氢键和范德华力，当溶液处于中性或碱性条件时，主要为疏水相互作用。此外，碱性环境中复合体系 α-螺旋结构显著增多、表面疏水性增大。pH 值可通过影响复合体系的二、三级结构进而改善其功能性质，在碱性条件下儿茶素结构展开，与 SPI 进行共价结合，进而提高复合体系热稳定性和乳化性。

参考文献：

[1]　MA K K, GREIS M, LU J K, et al. Functional performance of plant proteins [J]. Foods (Basel, Switzerland), 2022, 11(4): 594.

[2]　MARTIN A H, CASTELLANI O, DE JONG G A, et al. Comparison of the functional properties of RuBisCO protein isolate extracted from sugar beet leaves with commer-

cial whey protein and soy protein isolates[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(4): 1568 – 1576.

[3] CHEN F P, LI B S, TANG C H. Nano complexation between curcumin and soy protein isolate: influence on curcumin stability/bioaccessibility and *in vitro* protein digestibility[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3559 – 3569.

[4] YE J P, DENG L P, WANG Y R, et al. Impact of rutin on the foaming properties of soybean protein: formation and characterization of flavonoid-protein complexes[J]. Food Chemistry, 2021, 362: 130238.

[5] CHEN S, ZHANG N, TANG C H. Influence of nano complexation with curcumin on emulsifying properties and emulsion oxidative stability of soy protein isolate at pH 3.0 and 7.0[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 102 – 112.

[6] CUI Z M, KONG X Z, CHEN Y M, et al. Effects of rutin incorporation on the physical and oxidative stability of soy protein-stabilized emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 41: 1 – 9.

[7] 丑述睿. 不同 pH 及超高压条件对大米/玉米淀粉–苹果多酚体系理化性质的影响机理研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020:15 – 16.
CHOU S R. Effect of pH and high hydrostatic pressure processing on physicochemical properties and mechanism of rice/maize starch-apple polyphenol[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020:15 – 16.

[8] 伏二伟, 马晓军, 吴燕, 等. 麦醇溶蛋白的单宁酸交联及对麦醇溶蛋白/麦谷蛋白共混液流变特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(9): 58 – 63.
FU E W, MA X J, WU Y, et al. Cross-linking of gliadin by tannic acid and its effect on rheological properties of blend spinning solution of gliadin/glutenin[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(9): 58 – 63.

[9] STRAUSS G, GIBSON S M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(1): 81 – 89.

[10] ZHANG X Q, DO M D, CASEY P, et al. Chemical cross-linking gelatin with natural phenolic compounds as studied by high-resolution NMR spectroscopy[J]. Biomacromolecules, 2010, 11(4): 1125 – 1132.

[11] 王团结, 冯志彪, 岳莹, 等. 茶多酚与大豆分离蛋白对复合乳化体系性质的影响[J]. 中国调味品, 2017, 42(4): 26 – 31.
WANG T J, FENG Z B, YUE Y, et al. Effect of tea polyphenols and soy protein isolate on property of the composite emulsion system[J]. China Condiment, 2017, 42(4): 26 – 31.

[12] JIA Z B, ZHENG M, TAO F, et al. Effect of covalent modification by (–)-epigallocatechin-3-gallate on physicochemical and functional properties of whey protein isolate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 305 – 310.

[13] 李金铭. 基于共价修饰的鸡蛋蛋白–儿茶素复合物制备及应用[D]. 长春: 吉林大学, 2022:49 – 59.
LI J M. Fabrication and application of egg protein-catechins conjugates based on covalent modification[D]. Changchun: Jilin University, 2022:49 – 50.

[14] 代世成, 连子腾, 马林智, 等. 超声预处理对大豆分离蛋白–儿茶素非共价/共价复合物结构及功能的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(1): 102 – 110.
DAI S C, LIAN Z T, MA L Z, et al. Effect of ultrasonic pretreatment on the structure and function of soybean protein isolate-catechin non-covalent/covalent complexes[J]. Food Science, 2022, 43(1): 102 – 110.

[15] 顾璐萍. 儿茶素–蛋清蛋白抗氧化性载体材料的制备、表征及其应用[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 74 – 75.
GU L P. Preparation, characteristics and application of antioxidant delivery system: catechin-egg white protein conjugates[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018: 74 – 75.

[16] SPERONI F, AÑÓN M C, DE LAMBALLERIE M. Effects of calcium and high pressure on soybean proteins: a calorimetric study[J]. Food Research International, 2010, 43(5): 1347 – 1355.

[17] 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.

[18] XIANG H, SUN-WATERHOUSE D, CUI C, et al. Modification of soy protein isolate by glutaminase for nano complexation with curcumin[J]. Food Chemistry, 2018, 268: 504 – 512.

[19] TANG C H, LI X R. Microencapsulation properties of soy protein isolate: influence of preheating and/or blending with lactose[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(3): 281 – 290.

[20] JIANG J, CHEN J, XIONG Y L. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid

and alkaline pH-shifting processes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(16): 7576 - 7583.

[21] 由耀辉, 熊林颖, 陈虹, 等. 单宁酸与大豆分离蛋白相互作用研究[J]. 中国油脂, 2019, 44(10): 55 - 59.
YOU Y H, XIONG L Y, CHEN H, et al. Interaction between tannic acid and soy protein isolate[J]. China Oils and Fats, 2019, 44(10): 55 - 59.

[22] 朱颖, 王中江, 李杨, 等. 花青素对大豆蛋白质二级结构影响的多重光谱分析[J]. 农业机械学报, 2018, 49(6): 368 - 374.
ZHU Y, WANG Z J, LI Y, et al. Effects of anthocyanins on the secondary structure of soybean protein isolate by multiplex spectroscopy[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(6): 368 - 374.

[23] TANG C H, CHOI S M, MA C Y. Study of thermal properties and heat-induced denaturation and aggregation of soy proteins by modulated differential scanning calorimetry[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2007, 40(2): 96 - 104.

[24] LI C, HUANG X J, PENG Q, et al. Physicochemical properties of peanut protein isolate-glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2014, 21(5): 1722 - 1727.

[25] 江连洲, 陈思, 李杨, 等. 大豆分离蛋白-花青素复合物的制备及其蛋白结构与功能性质分析[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 20 - 27.
JIANG L Z, CHEN S, LI Y, et al. Effects of complexation with anthocyanin on the structural and functional properties of denatured soybean protein[J]. Food Science, 2018, 39(10): 20 - 27.

[26] ROSS P D, SUBRAMANIAN S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20(11): 3096 - 3102.

[27] YU X, CAI X H, LUO L Y, et al. Influence of tea polyphenol and bovine serum albumin on tea cream formation by multiple spectroscopy methods and molecular docking[J]. Food Chemistry, 2020, 333: 127432.

[28] 胡淼, 杨秋萍, 郑环宇, 等. 非共价作用对球蛋白-花青素复合物结构特性的影响[J]. 大豆科技, 2020(5): 3 - 12.
HU M, YANG Q P, ZHENG H Y, et al. The effect of non-covalent interaction on the structural characteristics of globulin-anthocyanin complexes[J]. Soybean Science & Technology, 2020(5): 3 - 12.

[29] PAN Y, XIE Q T, ZHU J, et al. Study on the fabrication and *in vitro* digestion behavior of curcumin-loaded emulsions stabilized by succinylated whey protein hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2019, 287: 76 - 84.

[30] 郭健. 大豆蛋白热聚集行为控制及其结构表征的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012:1 - 2.
GUO J. Control of soy protein thermal aggregation behavior and structural characterization of soy protein aggregates[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012:1 - 2.

[31] 王中江, 江连洲, 魏冬旭, 等. pH 值对大豆分离蛋白构象及表面疏水性的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(11): 47 - 51.
WANG Z J, JIANG L Z, WEI D X, et al. Effect of pH on conformation and surface hydrophobicity of soybean protein isolate[J]. Food Science, 2012, 33(11): 47 - 51.

[32] LIU R, ZHAO S M, XIONG S B, et al. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values[J]. Meat Science, 2008, 80(3): 632 - 639.

[33] 王晨, 谢岩黎, 范亭亭. 花青素与小麦蛋白相互作用及对蛋白质结构的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 60 - 66.
WANG C, XIE Y L, FAN T T. Interactions of cyanidin-3-*O*-glucoside with gliadin and glutenin and their effects on protein structure[J]. Food Science, 2019, 40(20): 60 - 66.

[34] TANG C H. Nano complexation of proteins with curcumin: from interaction to nanoencapsulation (a review)[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 109: 106106.

[35] 张怀斌, 高宗华. 荧光光谱法研究核黄素与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 化学试剂, 2011, 33(9): 812 - 815.
ZHANG H B, GAO Z H. Interaction between riboflavin and BSA studied by fluorescence spectrum[J]. Chemical Reagents, 2011, 33(9): 812 - 815.

[36] 王启明. 基于 pH/氯化钠调控的麦醇溶蛋白—槲皮素复合物制备及其 Pickering 乳液特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020:8 - 9.
WANG Q M. Research on the fabrication of gliadin-quercetin complex and their characteristics of Pickering emulsion based on pH/sodium chloride regulation[D]. Chongqing: Southwest University, 2020:8 - 9.

[37] YANG Y X, WANG Q M, LEI L, et al. Molecular interaction of soybean glycinin and β-conglycinin with (-)-epigallocatechin gallate induced by pH changes[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106010.

[38] ZHAO J, LV W J, WANG J L, et al. Effects of tea polyphenols on the post-mortem integrity of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) fillet proteins[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2666 – 2674.

Effects of pH on Structure and Emulsibility of Catechin-Soy Protein Isolate Complex

ZHAO Juyang[1], YUAN Huiping[2], YAO Hengzhe[3], CHEN Yiyu[4], GAO Shiyong[1,*]

(1. *Postdoctoral Programme of Meteria Medical Institute*, *Harbin University of Commerce*, *Harbin* 150030, *China*;
2. *School of Food Science and Engineering*, *Zhengzhou University of Science and Technology*, *Zhengzhou* 450064, *China*;
3. *Culinary Art Department*, *Qingdao Vocational and Technical College of Hotel Management*, *Qingdao* 266100, *China*;
4. *College of Tourism and Cuisine*, *Harbin University of Commerce*, *Harbin* 150030, *China*)

Abstract: Soy protein isolate (SPI) was used as raw material to prepare protein complexes loaded with catechins under different pH conditions. The interaction mechanism was explained by analyzing thermal stability, fluorescence quenching type, binding site number, thermodynamic parameters, and secondary structure content by differential scanning calorimetry, ultraviolet-visible spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and circular dichroism spectroscopy. The binding affinity between catechin and SPI, and the emulsibility of the complexes were analyzed. The results showed that fluorescence quenching type of catechin on SPI under different pH was static quenching. Electrostatic interaction was the main force between catechin and SPI when treated under pH 3.5, 5.5 and 6.5. Additionally, hydrogen bonds and van der Waals forces were the mainly intermolecular forces for the complex under pH 4.5. Moreover, hydrophobic interactions played major roles in the interaction between catechin and SPI at pH 7.0, 7.5, 8.5 and 9.5. The thermal stability of the complex gradually increased with the increase of pH value. Furthermore, the SPI denaturation temperature of complex increased to 157.09 ℃ at pH 9.5. The emulsifying activity and emulsion stability of the complex at pH 7.5 were 7.70% and 13.44% which were significantly higher than those of the control group (SPI) under the same pH ($P < 0.05$). The catechin-SPI complex structure could be changed under different pH treatments. Thus, soybean protein food base with good emulsibility could be prepared by regulating the pH value.

Keywords: catechin; soy protein isolate; interaction; pH; emulsibility

(责任编辑:张逸群)