

# 不同 HLB 值非离子型表面活性剂与粘蛋白的相互作用

程欢, 唐传核

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 本文采用人工唾液模拟人体口腔唾液, 研究亲水亲油平衡 (HLB) 值依次递减的四种非离子型表面活性剂山梨醇酐月桂酸酯 (Span-20)、山梨糖醇酐单棕榈酸酯 (Span-40)、山梨醇酐单硬脂酸酯 (Span-60) 和山梨醇酐单油酸酯 (Span-80) 在口腔消化中与粘蛋白的相互作用。浊度、颗粒水合粒径与原子力显微镜测定结果表明, Span-20、Span-40 和 Span-60 与粘蛋白的相互作用强度与其 HLB 值呈负相关关系; 而 Span-80 的添加, 对粘蛋白颗粒粒径影响不大, 并有使其变小的趋势, 导致粘蛋白结构变得更加紧凑、无规则。内聚力的测定结果表明, 所用非离子型表面活性剂与粘蛋白之间的相互作用为非共价作用力, 主要依赖于疏水相互作用与氢键。本研究结果对食品工业开发新型的口感良好并有利健康的饮料具有一定的指导意义。

**关键词:** 粘蛋白; 非离子型表面活性剂; HLB 值; 疏水相互作用; 氢键

文章编号: 1673-9078(2018)09-64-69

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.9.011

## Interaction between Nonionic Surfactants with Different HLB Values and Mucin

CHENG Huan, TANG Chuan-he

(College of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** In this work, artificial saliva simulated human oral saliva was used to investigate the interaction between mucin and four non-ionic surfactants (Span-20, Span-40, Span-60 and Span-80 with decreasing hydrophilic-lipophilic balance (HLB) values) in the digestion in the oral cavity. The results of turbidity, particle hydration radius and atomic force microscopy (AFM) showed that interactions between Span-20, Span-40, Span-60 and mucin were inversely correlated with the HLB value; The addition of Span-80 had little effect on the particle size of mucin and tended to make it smaller, resulting in a more compact and irregular particles. Cohesion results indicated that the interaction between the non-ionic surfactants and mucin was non-covalent force, mainly relying on hydrophobic interactions and hydrogen bonds. The results of this work are helpful in developing a new type of good-taste and healthy drink in the food industry.

**Key words:** mucin; nonionic surfactants; HLB value; hydrophobic interactions; hydrogen bonds

粘蛋白 (mucins) 是一类高度水化的糖蛋白, 其分子的核心蛋白链, 由中间的糖基化区域和两端的非糖基化区域组成<sup>[1]</sup>。粘蛋白是粘膜层的主要成分, 具有保护、润滑人体内各种管腔, 细胞信号传导及转录调控, 吸收及包裹微生物和致病颗粒, 以及其他防御功能<sup>[2-4]</sup>。研究表明, 一些疾病的发生与粘蛋白有关。2017 年 8 月 16 日, 由德国马克斯普朗克研究所的 Thomas F. Meyer 博士和美国斯坦福大学医学院的研究人员合作, 在《Nature》上发文指出: 幽门螺杆菌可能通过诱导胃粘膜下方干细胞的过度增殖, 导致受感染患者的粘膜的特征性增厚, 进而诱导胃癌的发生

收稿日期: 2018-02-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31471695)

作者简介: 程欢 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物蛋白工程

通讯作者: 唐传核 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 植物蛋白质的开发与利用

<sup>[5]</sup>。由此可见, 粘蛋白对人体的健康有着至关重要的作用。

口腔是消化道的始端, 和胃肠道同属消化器官, 胃肠道是口腔环境在消化系统中的一种延伸, 而口腔粘膜与胃粘膜有相似的组织学特征。近年, 人体口腔唾液对口腔感官知觉方面的影响, 尤其是摄入的食品组分与唾液蛋白相互作用产生涩味的口感<sup>[6-9]</sup>, 引起了食品科学家的兴趣, 也引发研究者对唾液及其成分与食品组分相互作用的研究。大量研究表明, 食品中的组分, 如多酚, 可导致口腔产生涩味<sup>[8-11]</sup>; 乳清蛋白可引起口腔干燥<sup>[12-14]</sup>; 而乳清蛋白稳定的乳液使口腔产生乳脂状, 脂肪和厚度的感觉<sup>[15]</sup>; 溶菌酶稳定的乳液, 则能导致口腔产生干燥, 粗糙, 和涩味口感<sup>[15,16]</sup>。基于这些事实可知, 唾液是食品口腔加工的必需成分, 对感官知觉有着复杂的影响。在设计新产品时不仅要考虑产品的货架期, 也要考虑产品组分与唾液作用后

的感官体验。

Span 在食品中广泛使用,尤其在饮料中,如植物蛋白饮料,调制乳等,常常用作乳化剂。Span 安全、无毒、刺激性小<sup>[17]</sup>、且受酸碱盐的影响较小、优良乳化性能以及其它方面的特殊性能很好地满足了不同行业的生产和需求,因而成为日化及食品领域广受关注的表面活性剂类型<sup>[18]</sup>。但目前,人们对于食品中的组分 Span 系列非离子型表面活性剂的认识还不够深入,缺乏对 Span 系列非离子型表面活性剂与粘蛋白的相互作用及其对口腔感官影响的系统研究及报道。基于以上考虑,本研究的主要目标是探究常用的 Span 系列非离子型表面活性剂与粘蛋白相互作用的可能性,以期食品工业开发新型的具备良好口感并有利健康的饮料给出一些建议。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 材料与试剂

猪胃粘蛋白 (type II, 结合唾液酸约为 1%,) 购于美国 Sigma-Aldrich 公司; 非离子表面活性剂、山梨醇酐月桂酸酯 (Span-20)、山梨糖醇酐单棕榈酸酯 (Span-40)、山梨醇酐单硬脂酸酯 (Span-60)、山梨醇酐单油酸酯 (Span-80) 均由广州润华化工有限公司赠予; 尿素, 广东光华科技股份有限公司; 十二烷基硫酸钠, 上海伯奥生物技术有限公司; 其它化学试剂均为国产分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

Scientz-III 超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技有限公司; HH-4 数显恒温振荡器, 常州澳华仪器有限公司; 哈希 2100N 台式浊度仪, 美国 HACH 公司; UV754N 紫外可见分光光度计, 上海精科仪器有限公司; PHS-3C 精密 pH 计, 上海雷磁仪器厂; 78-1 磁力搅拌器, 常州澳华仪器有限公司; BCD-228UTM 冰箱, 合肥美的电冰箱有限公司; ME104E 分析天平, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司; Nanoscope 3A 原子力显微镜, 美国 Veeco 公司; Zetasizer Nano ZS 激光纳米粒度仪, 英国 Malvern 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 人工唾液的制备

称取一定量的粘蛋白 (0.25%, *m/V*) 分散于 pH 为 7 的人工唾液中<sup>[19]</sup>, 由于本实验不涉及淀粉的消化, 故未添加  $\alpha$ -淀粉酶。采用磁力搅拌 2 h 促进溶解, 用 1 mol/L NaOH 或 HCl 调节 pH 至 7.0, 加入两滴叠氮

化钠溶液 (0.02%, *m/V*) 抑制微生物生长, 然后在 4 °C 放置过夜使粘蛋白充分水化。贮藏之后在 8000 r/min 的转速下离心 10 min 去除不溶杂质, 置于 4 °C 冰箱中备用。

#### 1.2.2 非离子型表面活性剂的制备

Span-20 溶液: 称取一定量的 Span-20 分散于 pH 为 7 的 5 mM 磷酸缓冲液中, 配制浓度为 0.1% (*m/V*), 将置于烧杯中的 Span-20 溶液放入超声波细胞粉碎机中, 在 10 mm 探头、285 W 条件下超声处理 20 min, 直至充分分散, 待 Span-20 溶液在冰浴中恢复至室温后, 将其稀释为不同浓度 (0.1%, 0.08%, 0.06%, 0.05%, 0.04%, 0.03%, 0.02% 和 0.01%, *m/V*), 搅拌待用;

Span-40、Span-60 和 Span-80 溶液的制备方法同上, 并稀释为不同浓度备用。

#### 1.2.3 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物的制备

将一系列不同浓度的 Span-20、Span-40、Span-60 和 Span-80 溶液 (各自浓度均为 0.1%, 0.08%, 0.06%, 0.05%, 0.04%, 0.03%, 0.02% 和 0.01%, *m/V*), 在 37 °C, 振荡频率为 150 r/min 的摇床中, 与等体积的人工唾液 (含 0.25% (*m/V*) 粘蛋白) 混合, 并在摇床中振荡 25 min, 充分反应后的混合液于室温保存待测。

#### 1.2.4 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物浊度的测定

分别取 5 mL 反应后的混合液于试管中, 用哈希 2100 N 台式浊度仪测其浊度值 (NTU), 记为 NTU<sub>mixture</sub>。其中混合物的对照组有两个, 其一是人工唾液 (含 0.25% (*m/V*) 粘蛋白) 与等体积的 5 mM 磷酸缓冲液混合, 其二是非离子型表面活性剂溶液与等体积的人工唾液 (不含粘蛋白) 混合。两对照组在相同的条件下反应后, 测其浊度值分别记为 NTU<sub>mucin</sub>, NTU<sub>surfactant</sub>。

最终复合物的浊度值计算:

$$NTU = NTU_{mixture} - NTU_{mucin} - NTU_{surfactant}$$

所有测量值都是在室温条件下至少测定两次, 报告结果为超过三次读数的平均值。

#### 1.2.5 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物粒度的测定

粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物的粒度通过动态光散射 (DLS) 马尔文电位-纳米粒度仪 (Zetasizer Nano ZS) 来测定。测定复合物粒径之前, 含粘蛋白的人工唾液需要过膜 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 处理, 磷酸缓冲液也需要过膜 (0.22  $\mu\text{m}$ ) 处理。所有测量值都是在室温条件下至少测定两次, 报告结果为超过三次读数的平均值。

### 1.2.6 原子力显微镜 (AFM) 测量

原子力显微镜用以观察蛋白颗粒的形貌、大小等信息。AFM 观察采用轻敲模式 (Tapping Mode) 成像, 以及装有“G”型扫描探头并由 Nanoscope IIIa 控制器驱动的 Dimension 3000 显微镜。样品用相同的缓冲液稀释至大约 50 μg/mL, 涡旋 10 s 充分混匀后取 10 μL 稀释样品滴在新鲜剥离的云母片表面 (8×8 mm), 室温下静置过夜自然风干。扫描条件: 频率 300 kHz, 速率 1 Hz。使用 NanoScope Analysis Version 1.40 软件分析获得的图片。

### 1.2.7 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物内聚力的测定

粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物用变性剂 (6 mol/L urea、0.5% SDS) 处理表征其相互作用的内聚力, 所用粘蛋白浓度为 0.25% (m/V), 表面活性剂浓度 0.1% (m/V); 分别取 4.0 mL 混合物与 4.0 mL 等体积的变性剂混合, 涡旋 30 s 混匀后静置 60 min, 测定在 λ=600 nm 处的吸光度, 以纯水作为空白对照。

### 1.2.8 数据分析

采用 Origin 8.6 对数据进行画图, 所有数据均采用平均值 (Mean) ±标准差 (SD) 表示。采用 SPSS 13.0 软件进行一维方差分析 (one-way ANOVA), 以及置信区间为 95% 的显著性分析, 显著性分析通过 Tukey 的多范围检验, 显著性水平被认为是  $p < 0.05$ 。所有图表中采用相同的字母表示在  $p < 0.05$  水平差异不显著, 不同的字母表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物浊度的测定

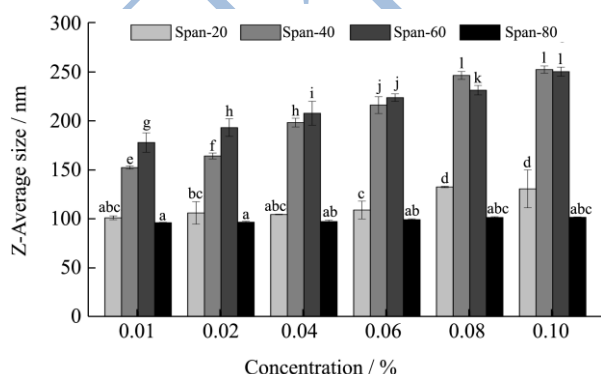


图2 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物平均粒径随变化

Fig.2 Average particle size of mucin-nonionic surfactant complex varies at different nonionic surfactant concentrations

注: 非离子型表面活性剂浓度 (c=0-0.1%, m/V), 粘蛋白 c=0.25% (m/V)

白 c=0.25% (m/V)

由图 1 可知, 粘蛋白与特定的非离子型表面活性剂 (Span-20、Span-40、Span-60 或 Span-80) 形成复合物的浊度值, 均随着相应非离子型表面活性剂浓度的增加而增大, 其中粘蛋白-Span-60 复合物浊度增大显著。在选定的浓度下, 不同 HLB 值的非离子型表面活性剂与粘蛋白形成复合物的浊度不同。Span-80, Span-60, Span-40 和 Span-20 的 HLB 值分别为 4.3、4.7、6.5、8.6。在浓度一定时, 随着 HLB 值的减小, Span-20, Span-40 和 Span-60 与粘蛋白形成的复合物浊度显著增加。Span-80 的 HLB 值低于 Span-60, 在相同浓度下, 粘蛋白-Span-80 的浊度值却明显低于粘蛋白-Span-60 的浊度值。并且随着浓度的增大, 粘蛋白-Span-80 的浊度值变化较小, 而粘蛋白-Span-60 的浊度值变化显著。粘蛋白分子既具有糖基化的亲水区又有疏水区, 同样属于两亲性分子, 而疏水作用表现显著<sup>[20]</sup>。而非离子型表面活性剂的疏水尾链主要影响非离子型表面活性剂与粘蛋白之间的疏水作用<sup>[21]</sup>。可能是由于 Span-80 极强的疏水性使得粘蛋白结构重叠的程度更大, 因此当表面活性剂浓度增加时浊度变化较小。

由此推测, 非离子型表面活性剂 (Span-20、Span-40、Span-60 或 Span-80) 与粘蛋白之间存在不同程度的相互作用, 才导致相应的复合物溶液浊度值发生不同程度的变化。

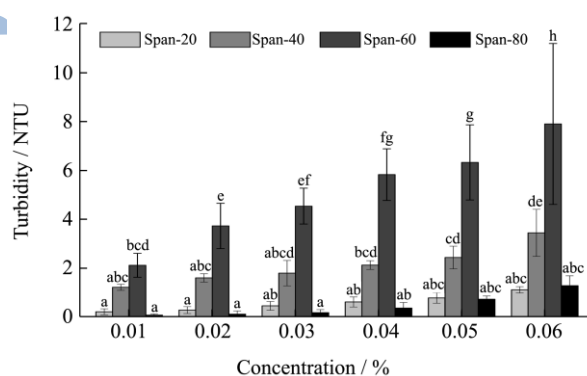


图1 不同浓度和HLB值的非离子型表面活性剂与粘蛋白形成的复合物的浊度

Fig.1 The turbidity of complexes which were formed between mucin and nonionic surfactants

注: 非离子型表面活性剂浓度 (c=0-0.06%, m/V), 粘蛋白 c=0.25% (m/V)

### 2.2 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物粒度的测定

不加入非离子型表面活性剂时, 粘蛋白平均粒径

约为 88 nm。Thongborisute 等<sup>[22]</sup>人所用猪胃粘蛋白 (type II) 的平均粒径为 90~100 nm, 与本实验的结果一致。由图 2 知, 在一定浓度下, 从 Span-20, Span-40 到 Span-60, 随着 HLB 值的减小, 粘蛋白与非离子型表面活性剂形成的复合物的平均粒径呈现依次增大的趋势, 其中粘蛋白-Span-60 复合物的平均粒径变化显著。即 Span-20、Span-40 和 Span-60 与粘蛋白的相互作用强度与其 HLB 值呈负相关关系。随着 Span-80 浓度从 0.01% 增加到 0.1%, 粘蛋白-Span-80 复合物的平均粒径变化较小, 其粒径分布图也呈现了粘蛋白颗粒减小的粒径分布。可能是由于加入 Span-80 后, 使粘蛋白由松散的颗粒结构逐渐变为紧凑的颗粒。类似的报道有 Nikogerorgos 等人报道了小分子量的聚乙烯亚胺导致粘蛋白从松散的结构变得更为紧凑<sup>[23]</sup>。还有 Jöbstl 等提出多酚与松散的蛋白结合, 导致蛋白质变小, 其结构变得更加紧凑, 更趋近于球形<sup>[9]</sup>。

### 2.3 不同非离子型表面活性剂诱导粘蛋白聚集颗粒的 AFM 微观形态

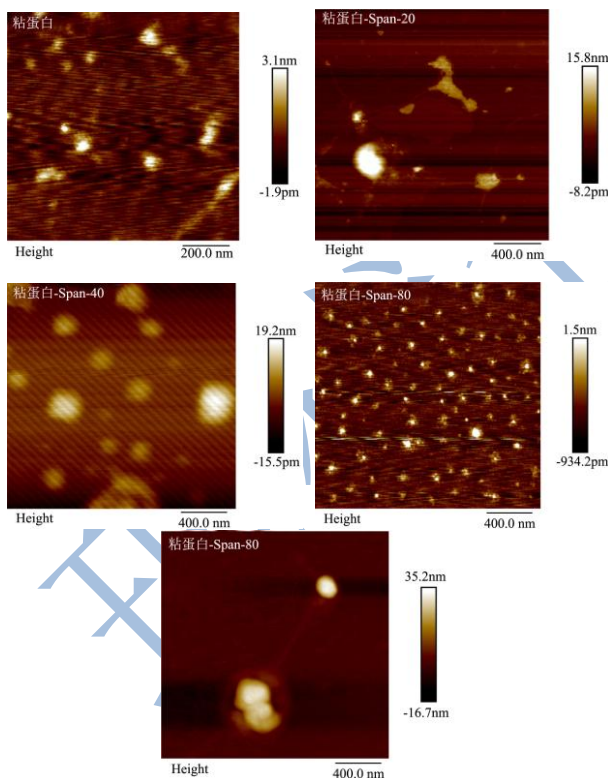


图 3 粘蛋白与不同非离子型表面活性剂相互作用后的原子力图

Fig.3 AFM images of various nonionic surfactants

注: Span-20、Span-40、Span-60 和 Span-80, c=0.01%, m/V; 粘蛋白 c=0.25% m/V

为进一步验证不同非离子型表面活性剂与粘蛋白

相互作用, 导致粘蛋白粒度分布不同的结果, 对不同非离子型表面活性剂作用后的粘蛋白进行 AFM 微观形态表征。图 3 中展示了添加不同非离子型表面活性剂 (Span-20、Span-40、Span-60 和 Span-80), 粘蛋白及其聚集体原子力微观图。从图 3 中可以看出, 在依次添加 Span-20、Span-40 和 Span-60 后, 粘蛋白颗粒的高度均展现不同程度的增大, 分别为 3.1~15.8 nm, 3.1~19.2 nm, 3.1~35.2 nm; 即随着 HLB 值的减小 (Span-20、Span-40、Span-60), 粘蛋白颗粒的簇聚情况加强。这与前面粒度结果相吻合, 即 Span-20、Span-40 和 Span-60 与粘蛋白的相互作用强度与其 HLB 值呈负相关关系。Jöbstl 等提出多酚与松散的蛋白结合, 导致蛋白质变小, 其结构变得更加紧凑, 更趋近于球形<sup>[9]</sup>。而在添加 Span-80 后, 粘蛋白颗粒的高度从 3.1 nm 降低为 1.5 nm; 这是由于 Span-80 具有超强的疏水性, Span-80 与粘蛋白接触, 从而诱导粘蛋白结构展开, 内部疏水基团暴露出来并与 Span-80 通过疏水相互作用紧密结合, 进而形成更大的疏水核心, 导致粘蛋白重叠时形成更为紧凑, 不规则的结构。这些颗粒聚集物在吸附到界面后可能由于内部作用力的强弱而发生不同的变化, 从而对其乳液的性质产生影响。

### 2.4 内聚力的测定

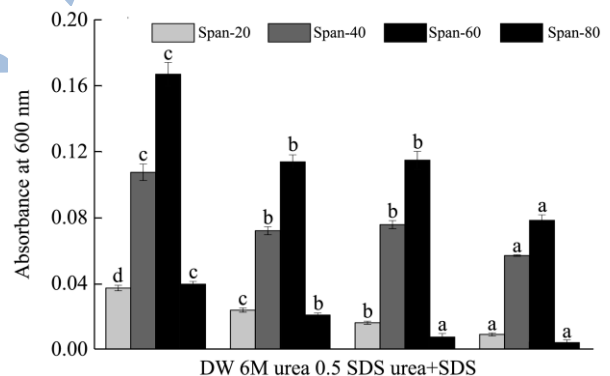


图 4 粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物在不同蛋白变性剂溶液处理后的浊度。

Fig.4 Influence of various protein-perturbing solvents on the turbidity of mucin-nonionic surfactant complex

注: 非离子型表面活性剂浓度 c=0.1% (m/V); 粘蛋白 c=0.25% (m/V)

为了明确维持粘蛋白-表面活性剂复合物颗粒内部作用力, 通过在不同的蛋白变性剂存在条件下颗粒分散液的浊度来反映。实验所采用的变性剂有 6 mol/L urea、0.5% SDS 以及它们同时存在的组合, 一般情况下认为 urea 和 SDS 分别能够破坏氢键、疏水相互作用<sup>[24,25]</sup>。首先由图 4 能够看到单独的 6 mol/L urea 和

0.5% SDS 与粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物等体积混合之后,粘蛋白-非离子型表面活性剂复合物的浊度均呈现不同程度的下降。而在两种变性剂共同作用于粘蛋白-表面活性剂复合物时,粘蛋白-表面活性剂复合物的浊度均显著降低。

粘蛋白分子具有独特结构。其一,粘蛋白分子的瓶刷状寡糖侧链含有大量羟基,能通过氢键作用形成水合层;其二,粘蛋白分子既具有糖基化的亲水区又有疏水区,属于两亲性分子,而疏水作用表现显著<sup>[20]</sup>。由此可知,粘蛋白分子能通过氢键作用和疏水相互作用与非离子型表面活性剂发生作用,进而对粘蛋白的聚集体大小产生影响。因此,可以合理的推测粘蛋白与 Span-20、Span-40、Span-60 或 Span-80 形成复合物的作用力包含疏水相互作用和氢键。

### 3 结论

3.1 浊度测定结果表明,在浓度一定时,粘蛋白-Span 复合物的浊度随着 HLB 值从 Span-20、Span-40 到 Span-60 的减小而显著增加;随着浓度的增加,粘蛋白-Span-60 复合物浊度显著增大,而粘蛋白-Span-80 复合物浊度变化较小。粒度测定结果表明,在浓度一定时,粘蛋白-Span 复合物平均粒径随着 HLB 值从 Span-20、Span-40 到 Span-60 的减小而逐渐增大,其中粘蛋白-Span-60 复合物的平均粒径变化显著,粘蛋白-Span-80 复合物平均粒径变化较小。即 Span-20、Span-40 和 Span-60 与粘蛋白形成复合物的浊度和平均粒径均与其 HLB 值呈负相关关系。

3.2 对于 Span-20、Span-40 和 Span-60,其诱导粘蛋白形成聚集体颗粒的大小也与其 HLB 值呈负相关关系,这均归因于粘蛋白与 Span 系列非离子型表面活性剂间的非共价作用力(氢键和疏水相互作用)。HLB 依次减小的 Span-20、Span-40 和 Span-60,表面活性剂的脂肪链长度依次增大。而 Span-80 与 Span-60 脂肪链长度相同,但是 Span-80 脂肪链中含有不饱和的碳碳双键,使得 Span-80 具有超强的疏水性。因而 Span-80 与粘蛋白接触,诱导粘蛋白结构展开而使其内部疏水基团暴露出来,并通过疏水相互作用紧密结合,进而形成更大的疏水核心,导致粘蛋白重叠时形成更为紧凑,不规则的结构。

### 参考文献

[1] Bansil R, Turner B S. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2006, 11(2): 164-170

[2] McGuckin M A, Lindán S K, Sutton P, et al. Mucin dynamics and enteric pathogens [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(4): 265-278

[3] Johansson M E V, Phillipson M, Petersson J, et al. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria [J]. *Gut Microbes*, 2010, 1(1): 51-54

[4] Bafna S, Kaur S, Batra S K. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells [J]. *Oncogene*, 2010, 29(20): 2893-2904

[5] Sigal M, Logan C Y, Kapalczynska M, et al. Stromal R-spondin orchestrates gastric epithelial stem cells and gland homeostasis [J]. *Nature*, 2017, 548(7668): 451-456

[6] Alice V, António M J, Fernanda C. Wine phenolics: looking for a smooth mouthfeel [J]. *SDRP Journal of Food Science & Technology*, 2016, 1(1): 1-9

[7] Laguna L, Bartolomé B, Moreno-Arribas M V. Mouthfeel perception of wine: Oral physiology, components and instrumental perception [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 59: 49-59

[8] Laguna L, Sarkar A. Oral tribology: update on the relevance to study astringency in wines [J]. *Tribology - Materials Surfaces & Interfaces*, 2017, 11(2): 116-123

[9] Jöbstl E, O'Connell J, Fairclough J P, et al. Molecular model for astringency produced by polyphenol/protein interactions [J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(3): 942-949

[10] Ying Lu, Anders Bennick. Interaction of tannin with human salivary proline-rich proteins [J]. *Archives of Oral Biology*, 1998, 43(9): 717-728

[11] Rossetti D, Yakubov G E, Stokes J R, et al. Interaction of human whole saliva and astringent dietary compounds investigated by interfacial shear rheology [J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(6): 1068-1078

[12] Hsein H, Garrait G, Beyssac E, et al. Whey protein mucoadhesive properties for oral drug delivery: Mucin-whey protein interaction and mucoadhesive bond strength [J]. *Colloids & Surfaces B Biointerfaces*, 2015, 136: 799-808

[13] Yea A, Ye J Z, Singh H. Potential role of the binding of whey proteins to human buccal cells on the perception of astringency in whey protein beverages [J]. *Physiology & Behavior*, 2012, 106(5): 645-650

[14] Vardhanabhuti B, Cox P W, Norton I T, et al. Lubricating properties of human whole saliva as affected by  $\beta$ -lactoglobulin [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(6): 1499-1506

[15] Vingerhoeds M H, Silletti E, Groot J D, et al. Relating the

- effect of saliva-induced emulsion flocculation on rheological properties and retention on the tongue surface with sensory perception [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(3): 773-785
- [16] Silletti E. When emulsions meet saliva: a physical-chemical, biochemical and sensory study [J]. *Wur Wageningen Ur*, 2008
- [17] Fang J, Venable R L. Conductivity study of the microemulsion system sodium dodecyl sulfate-hexylamine-heptane-water [J]. *Journal of Colloid & Interface Science*, 1987, 116(1): 269-277
- [18] 彭顺金,张贵军,陈正国,等.Span 及 Tween 的组成、性能、表征与应用[J].*表面活性剂工业*,1998,1:12-16  
PENG Shun-jin, ZHANG Gui-jun, CHEN Zheng-guo, et al. Composition, properties, characterization and application of Span and Tween [J]. *Surfactant Industry*, 1998, 1: 12-16
- [19] Gal J Y, Fovet Y, Adib-Yadzi M. About a synthetic saliva for in vitro studies [J]. *Talanta*, 2001, 53(6): 1103-1115
- [20] Coles J M, Chang D P, Zauscher S. Molecular mechanisms of aqueous boundary lubrication by mucinous glycoproteins [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2010, 15(6): 406-416
- [21] Arai H, Murata M, Shinoda K. The interaction between polymer and surfactant: The composition of the complex between polyvinylpyrrolidone and sodium alkyl sulfate as revealed by surface tension, dialysis, and solubilization [J]. *Journal of Colloid & Interface Science*, 1971, 37(1): 223-227
- [22] Thongborisute J, Takeuchi H. Evaluation of mucoadhesiveness of polymers by BIACORE method and mucin-particle method [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, 354(1-2): 204-209
- [23] Nikogeorgos N, Patil N J, Zappone B, et al. Interaction of porcine gastric mucin with various polycations and its influence on the boundary lubrication properties [J]. *Polymer*, 2016, 100: 158-168
- [24] Gezimati J, Creamer L K, Singh H. Heat-induced interactions and gelation of mixtures of beta-lactoglobulin and alpha-lactalbumin [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1997, 45(4): 1130-1136
- [25] Schmitt C, Moitzi C, Bovay C, et al. Internal structure and colloidal behaviour of covalent whey protein microgels obtained by heat treatment [J]. *Soft Matter*, 2010, 6(19): 4876-4884