非共价复合大豆肽与多酚复合物的结构表征及抗氧化活性分析

许泳钊[1]，刘芷萱[2]，邓泽群[2]，刘宏生[1*]

（1.华南理工大学食品科学与工程学院，广东广州 510640）（2.广东碧桂园学校，广东佛山 528300）

摘要：为了探究大豆肽（Soy Peptides, SPs）与红甜菜根多酚抗氧化物（Antioxidant of Beetroot Extracts, AOBEs）形成非共价 SPs-AOBEs 复合物的理化性质影响，对其粒度分布、电位、紫外吸收特性和抗氧化活性进行研究。采用粒径、Zeta 电位、紫外吸收等方法探究 SPs 和 AOBEs 复合过程的粒度变化和复合状态，通过 $ABTS^{+\cdot}$ 清除活性、·OH 清除活性和铁还原力体外抗氧化活性实验，评价 SPs-AOBEs 复合物的抗氧化活性。结果表明，SPs-AOBEs 复合物的粒径与单一体系下的 SPs 和 AOBEs 相比显著减小（$P<0.05$），且复合物粒径随 AOBEs 添加比例增大先减小后增大，当 SPs 和 AOBEs 的质量比在 4:1 特定比例下形成的复合物粒径最小（158.50 nm），两者的绝对 Zeta 电位值（15.33 mV）最高。此外，SPs-AOBEs 复合物的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除活性、·OH 清除活性和铁还原力抗氧化活性随多酚质量浓度的增加而增加，在质量比 4:1 复合下清除活性为 59.78%、50.97% 和 45.62%。结论，该研究制备的 SPs-AOBEs 粒径分布均匀，稳定性及抗氧化活性良好，为抗氧化功能性食品的开发和应用提供理论基础。

关键词：大豆肽－多酚复合物；非共价复合；结构表征；抗氧化活性

文章编号：1673-9078(2026)10-254-261 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.1207

Structural Characterization and Antioxidant Activity Analysis of Non-covalent Complexes of Soybean Peptides and Polyphenols

XU Yongzhao[1], LIU Zhixuan[2], DENG Zequn[2], LIU Hongsheng[1*]

(1.College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)
(2.Guangdong Country Garden School, Foshan 528300, China)

Abstract: To characterize the physicochemical properties of non-covalent SP-AOBE complexes formed between soybean peptides (SPs) and antioxidative phenols from beetroot extracts (AOBEs), the particle size distribution, potential, ultraviolet (UV) absorption characteristics, and antioxidant activity of the complexes were examined. Particle size changes and complexation states during the formation of SP-AOBE complexes were examined using particle size analysis, Zeta potential measurement, and UV absorption spectroscopy. *In vitro* antioxidant capacity of the complexes was assessed using $ABTS^{+\cdot}$ scavenging activity, hydroxyl radical (·OH) scavenging activity, and ferric reducing power. The results showed a decrease in particle size for the SPs-AOBE complexes compared with SPs or AOBEs alone ($P<0.05$). With increasing AOBE ratio, particle size initially decreased then increased. The smallest particle size (158.50 nm) and highest absolute Zeta potential value (15.33 mV) for complexes were obtained at an SP-AOBEs mass ratio of 4:1. Upon polyphenol addition, there was a concentration-dependent increase in antioxidant activity measured by ABTS scavenging activity (59.78%), ·OH scavenging activity (50.97%), and ferric reducing power (45.62%), peaking at a SP-AOBE mass ratio of 4:1. In conclusion, the SPs-AOBE complexes exhibited uniform particle size distribution, good stability,

收稿日期：2025-08-22；修回日期：2025-09-26；接受日期：2025-10-12

基金项目：广州市科技计划项目（2024B03j1270）

作者简介：许泳钊（1997-），男，博士研究生，研究方向：食品科学，E-mail：fexuyongzhao@mail.scut.edu.cn；共同第一作者：刘芷萱（2009-），女，学生，研究方向：食品工艺开发，E-mail：joannalzx@126.com

通讯作者：刘宏生（1977-），男，博士，教授，研究方向：功能食品，E-mail：liuhongsheng@scut.edu.cn

and enhanced antioxidant activity, thus providing a theoretical foundation for the development and application of antioxidant functional foods.

Key words: soybean peptide-polyphenol complexes; non-covalent complexation; structural characterization; antioxidant activity

引文格式：

许泳钊,刘芷萱,邓泽群,等.非共价复合大豆肽与多酚复合物的结构表征及抗氧化活性分析[J].现代食品科技,2026,42(10): 254-261.

XU Yongzhao, LIU Zhixuan, DENG Zequn, et al. Structural characterization and antioxidant activity analysis of non-covalent complexes of soybean peptides and polyphenols [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(10): 254-261.

氧化应激是指体内氧化与抗氧化失衡的一种状态，已被证实与心脑血管疾病、神经退行性疾病等多种慢病的发生与发展进程相关[1]。近年来，在功能性食品研究领域中，天然抗氧化剂因其高安全性、低毒副作用而受到广泛关注。红甜菜根抗氧化物提取物属于常见的食品级功能多酚，其主要成分为红甜菜素，可以捕获自由基和抑制氧化应激反应从而具有良好的抗氧化活性[2]，而甜菜红素也是少数几种被美国食品药品监督管理局 FDA 批准用于食品、化妆品中的天然添加剂[3]；大豆肽则源自大豆蛋白水解，利用生物可控酶解技术从大豆定向释放的抗氧化大豆肽，可通过激活抗氧化酶系统、抑制氧化应激反应和清除自由基等发挥抗氧化活性[4]，因其优益的抗氧化生物活性与营养价值，在功能性食品加工体系中备受关注。然而，大豆肽和食品多酚本身稳定性较差，其溶液体系易发生氧化降解，且容易蓄积沉淀，限制了其在功能食品产业中应用。因此，构建一种兼具高稳定性与协同抗氧化活性的复合体系，成为当前功能性食品研究中的关键难点。

多酚中的羟基可与蛋白质及肽类分子通过 π-π 堆积、氢键和疏水互作等形式形成非共价复合物，从而调控其结构并改善其理化特性[5]。多酚的浓度和类型也会对肽－酚非复合物的结合位点进而影响其结构和性质。研究表明，蛋白质中疏水基团的暴露促进了嵌入疏水腔内的槲皮素分子之间的相互作用[6]，槲皮素结合等效物的数量、颗粒大小、电位、抗氧化活性和蛋白－槲皮素复合物的生物利用度随着槲皮素浓度的增加而显著提高[6]。然而，多酚与蛋白质之间的相互作用也可能对多酚的生物利用度产生负面影响。例如，绿原酸和分离乳清蛋白之间的互作可能会削弱绿原酸与酶活性位点之间的氢键[7]，从而导致绿原酸的生物利用度降低。另外，将 50 μmol·L^{-1} 低浓度水平的儿茶素与肽进行复合时，多酚的引入对肽的亮氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸质子共振处较为明显，而其它质子信号不受多酚存在的影响，当多酚浓度增加到 100 μmol·L^{-1} 以上时，大多数肽基团上质子共振开始小范围化学位移扰动[8]。因此，对食源性多酚与抗氧化性大豆肽进行特定浓度下的协同复合，有望同时提升其稳定性和抗氧化性能。但目前公开文献中鲜有报道将大豆肽与食品多酚协同构建复合物并探究其结构及功能性变化的相关研究。

基于上述问题，本研究基于实验室前期制备的具有抗氧化活性大豆肽，与常见的食品多酚进行非共价复合，研究其相互作用和抗氧化性能，为大豆肽作为功能因子在食品配料及食品加工产业中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

红甜菜根抗氧化物，奇华顿食用香精香料（上海）有限公司；大豆分离蛋白，广州态好生物科技有限公司；复合蛋白酶，南宁庞博生物工程有限公司；2,2-联氮-二 (3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐（2,2′-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)，ABTS），维生素 C（Vitamin C, Vc）、谷胱甘肽、硫酸亚铁、三氯乙酸，上海麦克林生化科技有限公司；过硫酸钾，上海源叶生物科技有限公司；双氧水，上海穗试公司；水杨酸，上海阿拉丁生化科技有限公司；氯化铁、无水乙醇、亚铁氰化钾，天津市大茂化学试剂厂；PBS 干粉，武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.2 主要设备仪器

HH-4 数显恒温水浴锅，常州普天仪器制造有限公司；SHA-B 恒温水浴摇床，博纳科技品牌的水浴摇床；Vivaflow® 切向流过滤膜包（3 kDa），苏州纳微科技股份有限公司；H2050R 高速冷冻离心机，长沙湘仪离心机仪器有限公；BSA124S 万分之一电子天平，德国赛多利斯集团；Challenge dream 3P 全自动超滤膜分离系统，成器智造（北京）科技有限公司；SCIENTZ-12N 冻干机，宁波新芝生物科技股份有限公

司；Malvern Zetasizer 3000 粒度及 Zeta 电位分析仪，Agilent BioTek Synergy Neo2 Hybrid 多功能微孔板检测仪，安捷伦科技（中国）有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 大豆多肽的制备

根据前期试验[4]进行调整，取 10 g 大豆分离蛋白粉末，加入 100 mL 蒸馏水；按蛋白粉质量计，加入质量分数为 1% 的枯草芽孢杆菌碱性蛋白酶和质量分数为 1% 中性复合蛋白酶，酶解 4 h 后于沸水浴中灭酶 10 min，酶解液于 8 000 r·min^{-1} 离心 10 min，取上清液，使用截留分子量为 3 000 Da 的超滤膜进行超滤，得到超滤浓缩液即为 SPs 溶液，冻干成粉，-20 ℃保存。经蛋白含量测定其蛋白质量分数为 92.75%。

1.3.2 SPs-AOBEs复合物的制备

参考俞瑜媛等[9]的方法并适当修改。称取 4.0 g 的 SPs 粉末溶解在 20 mL 蒸馏水中，混合均匀获得大豆肽溶液，称取 7.5、15、30、60、120 和 240 mg AOBEs 多酚粉末分别溶解在 4.4 mL 蒸馏水中，混合均匀分别获得不同质量浓度的 AOBEs 多酚溶液，将 0.6 mL SPs 溶液缓慢注入不同质量浓度多酚溶液中，获得 SPs 和多酚的质量比为 16:1、8:1、4:1、2:1、1:1、1:2 的 SPs-AOBEs 混合物，将混合溶液在 28 ℃下以 120 r·min^{-1} 转速避光振荡 180 min，获得 SPs-AOBEs 复合物溶液，低温 4 ℃保存待测。

1.3.3 平均粒径、多不分散性指数和Zeta-电位分析

样品稀释至合适质量浓度后测试 3 次，取平均值。使用 Malvern Zetasizer 3000 对样品溶液的粒径进行检测，测试温度为 25 ℃，折射率设置为 1.33，测试参数包括平均粒径、多分散性指数（Polydispersity Index, PDI）和 Zeta-电位测定，用于表征颗粒的大小、分布均匀性和表面电荷分布[10]。所有样品在 25 ℃下平衡 60 s 后测定。

1.3.4 紫外光谱测定

参考 Reinmuth 等[11]的方法并进行适当调整。SPs、AOBEs 和 SPs-AOBEs 复合物样品使用蒸馏水稀释 15 倍，移取 200 μL 稀释后的样品至 96-UV 孔板上，使用 Neo2 多功能酶标仪在 λ_{280} 下进行紫外测定，每个样品设置 5 个平行，并以蒸馏水作为空白对照。

1.3.5 抗氧化性分析

1.3.5.1 ABTS$^+$ 自由基清除活性

用超纯水配制 2.45 mmol·L^{-1} 的过硫酸钾溶液及 7 mmol·L^{-1} 的 ABTS 溶液，并以质量比为 1:1 混合均匀配成原液，于室温避光过夜静置，使用时用超纯水将稀释为 ABTS 工作液，要求其在 734 nm 处的吸光值为 0.70±0.02。将样品稀释成 1 mg·mL^{-1}，取 20 μL，加入稀释后的 ABTS$^+$ 溶液 200 μL，避光反应 6 min 后在 734 nm 处测定吸光度 A_1，空白组以蒸馏水替代 ABTS$^+$ 自由基溶液，测定吸光度 A_2，对照组以蒸馏水替代样品，测定吸光度 A_0，阳性对照为谷胱甘肽。清除率按如下公式计算：

$$CR=(1-\frac{A_1-A_2}{A_0})\times 100\% \quad (1)$$

式中：

CR——清除率，%；

A_0——蒸馏水 +ABTS 工作液的吸光值，Abs；

A_1——样品 +ABTS 工作液的吸光值，Abs；

A_2——样品 + 不含 ABTS 工作液的吸光值，Abs。

1.3.5.2 ·OH 清除活性

用超纯水配置 8 mmol·L^{-1} $FeSO_4$ 溶液和质量分数 1% 的 H_2O_2，用无水乙醇配置 6 mmol·L^{-1} 水杨酸－乙醇溶液，室温避光保存待用。将样品稀释成 1 mg·mL^{-1}，在 96 孔板中依次加入 50 μL 样品溶液、50 μL $FeSO_4$ 和 50 μL H_2O_2，静置反应 10 min，随即加入 50 μL 水杨酸－乙醇溶液，振匀 2 min，并于 37 ℃避光反应 30 min。以等体积蒸馏水代替样品加入到作为对照组。以蒸馏水代替 $FeSO_4$、H_2O_2、水杨酸－乙醇溶液作为样品空白。用酶标仪在 510 nm 下测定吸光度，并测定相同质量浓度 SPs、多酚溶液的 ·OH 自由基清除活性。

$$CR=(1-\frac{A_1-A_2}{A_0})\times 100\% \quad (2)$$

式中：

CR——清除率，%；

A_1——样品组的吸光度，Abs；

A_2——样品空白组的吸光度，Abs；

A_0——对照组的吸光度，Abs。

1.3.5.3 铁还原力测定

铁还原力基于样品还原 Fe^{3+} 至 Fe^{2+} 的能力测定。取适量溶液样品进行稀释，在 1.5 mL EP 管中加入 200 μL 样品、200 μL 磷酸盐缓冲液（0.2 mol·L^{-1}，pH 值为 6.6）和 200 μL 质量分数 1% 的铁氰化钾溶液，混合均匀后在 50 ℃水浴中反应 20 min。反应后，迅速加入 200 μL 质量分数 10% 的三氯乙酸溶液终止反应，然后 12 000 r·min^{-1} 离心 10 min。在 96 孔板中加入 90 μL 上清液、90 μL 蒸馏水和 10 μL 质量分数 0.1% 的氯化铁溶液，混合均匀，在 700 nm 波长下测量并记录吸光度，同时测定相同质量浓度 SPs 和 AOBEs

溶液的铁还原力。标准品对照为 Vc，其质量浓度范围为 0.02~1.60 mg·mL^{-1}。绘制的 Vc 标准曲线方程为：y=0.171 9x+0.078 1，R^2=0.999。

1.4 数据分析

所有试验均至少重复三次，结果以平均数 ± 标准差（Mean±SD）表示，利用 SPSS Statistics 软件采用单因素方差分析法进行显著性分析，不同小写字母表示显著差异（P＜0.05）。

2 结果与讨论

2.1 SPs和AOBEs复合物的粒径和PDI分布

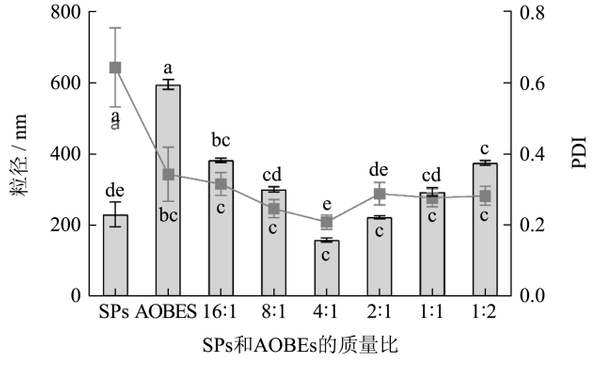


图 1 SPs 和 AOBEs 复合物的粒径

Fig.1 Particle size of SPs and AOBEs complexes

注：不同小写字母表示不同比例复合样品粒径及分散性指数测定值的差异显著（P＜0.05）。

图 1 显示了 SPs 和 AOBEs 在不同比例复合条件下获得复合物的粒径分布和 PDI 变化，其中 AOBEs 的粒径最大，达到 595.26 nm。SPs和 AOBEs 通过适当比例复合后，SPs-AOBEs 复合物的粒径较 AOBEs 更小，且随 AOBEs 添加比例减小先减小而后增大，这与俞瑜媛等[9]研究发现的藜麦多肽与竹叶抗氧化物形成肽－酚复合物的粒径分布规律基本相似。此外，当 SPs和 AOBEs 的质量比为 4:1 时，SPs-AOBEs 复合物粒径（158.50 nm）显著小于 SPs（230.63 nm）和 AOBEs（595.26 nm）的粒径（P＜0.05），表明该比例下的非共价复合显著改变了复合物颗粒的组装稳定过程。另一方面，与粒径分布一致，各复合物的 PDI 也随 AOBEs 添加比例减小先降低而后升高，且在当 SPs 和 AOBEs 的质量比为 4:1 时其复合物的 PDI（0.21）最小，显著低于 SPs（0.64）和 AOBEs（0.34）（P＜0.05），说明该比例下体系的稳定性和分散性最优。这一趋势表明 SPs 在适当比例下能够有效抑制复合物粒子团聚，改善分散性。研究表明，非共价复合体系中多酚的浓度可影响肽与酚之间的结合位点，进而影响肽酚复合物的粒径等结构性质[12]。一般而言，随着多肽与多酚比例的降低，多酚上的羟基等官能团先与肽的特定位点结合，然后是肽－酚之间的非共价互作。另外，在乙醇水溶液体系中，3、4 和 5 mmol·L^{-1} 的 EGCG 多酚均可以改变玉米醇溶蛋白胶粒（3 mg·mL^{-1}）原先的结构，并重新紧密重组装，使得胶粒的粒径显著减小（P＜0.05）而形成新的 EGCG- 谷蛋白复合物[13]，这一定程度支持了 SPs-AOBEs 复合物的粒径小于单一化合物的结果。

2.2 SPs和AOBEs复合物的Zeta电位分析

Zeta 电位的变化直接反映了颗粒表面电荷分布及其稳定性[10]。当多酚与 SPs 接触时，可能通过氢键、疏水相互作用及静电吸引等多种非共价作用结合于 SPs 表面，导致表面电荷密度发生改变。一般而言，Zeta 电位绝对值越大，胶体体系的分散稳定性越好。如图 2 所示，SPs 和 AOBEs 复合物的 Zeta 电位绝对值随复合比例的变化呈较为明显差异（P＞0.05），其复合物的电位较 SPs 和 AOBEs 单独存在时更加稳定，且随 AOBEs 添加比例减小先升高而后降低，这与粒径分布和 PDI 变化趋势相符。若 Zeta 电位绝对值提高，体系的静电斥力增强，有利于抑制颗粒聚集；反之则可能导致胶体稳定性下降。当 SPs 和 AOBEs 的质量比在 16:1~8:1 的高比例复合时，Zeta 电位与 SPs 和 AOBEs 的电位值相对接近，表明此时 AOBEs 对胶体表面电荷的影响有限。随着多酚比例的增加，Zeta 电位绝对值升高，反映出 SPs与 AOBEs 互作能力增强。曾学而等[14]研究以酪蛋白胶束为载体，制备了酪蛋白胶束－红甜菜酚复合物，当红甜菜酚浓度从 1 mmol·L^{-1} 增加至 5 mmol·L^{-1}，复合物 Zeta 电位的绝对值随着红甜菜酚浓度的增大而增大，这与 SPs-AOBEs 复合物的结果相似。当 SPs 与 AOBEs 的质量比在 4:1 时，复合物的 Zeta 电位绝对值最高，达到 15.33 mV，表明此比例下互作效应最为明显，可能是多酚羟基通过静电作用、氢键改变 SPs 表面的电荷密度，以较高密度在 SPs 上形成吸附层，从而显著改变表面电荷分布，改变了复合物颗粒的表面电位[15]。然而，该比例下复合物的绝对电位值与 SPs和 AOBEs 对比并无显著性差异（P＞0.05），主要是与 SPs 和 AOBEs 本身颗粒存在一定的聚集沉淀导致的方差过大有关。另一方面，AOBEs 主要成分为甜菜红素，其极性和可解离基团数量相对较少，且分子较大，表面电荷贡献也相对有限[14]。本研究结果提示，通过调控 SPs 与特定多酚的复合比例，

可以有效改变体系的表面电荷特性，从而影响其分散稳定性。

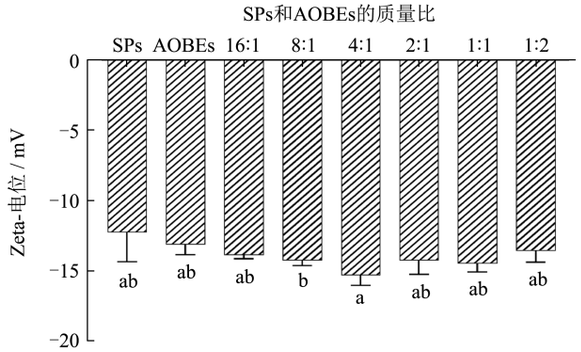


图 2 SPs和 AOBEs 复合物 Zeta 电位

Fig.2 Zeta potential of SPs and AOBEs complexes

注：不同小写字母表示不同比例复合样品 Zeta 电位测定值的差异显著（$P<0.05$）。

2.3 280 nm紫外吸收差异分析

多种非共价互作可能参与了肽和多酚复合物的形成，为进一步研究 SPs 和多酚间的互作类型，如图 3 所示，在 280 nm 紫外波长下，测定 SPs 和多酚复合物的紫外吸收值。λ_{280} 对应酚羟基及多肽中酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸等芳香族氨基酸的特征吸收峰[16]。结果显示，随多酚添加比例的增加，其 λ_{280} 持续降低并趋于平稳，尤其是当多酚添加的浓度较低（16:1~4:1）时，各复合物 λ_{280} 差异最大，该波段下的吸收光下降区间最为明显（$P<0.05$），从而 λ_{280} 的降幅更为显著，AOBEs中甜菜素中的芳香环结构及共轭体系可与氨基酸苯环形成的 π-π 堆积作用，可能是造成 280 nm 下紫外强效屏蔽猝灭效应的原因之一[17]。另外，当 SPs 与 AOBEs 的质量比为 4:1 时，复合物 λ_{280} 趋于稳定，且随着多酚比例的增加（2:1~1:2）并无显著性差异（$P>0.05$），提示复合物在肽酚比例为 4:1 发生互作反应最为明显。AOBEs 中的羟基对 SPs 中的芳香族氨基酸形成的强效屏蔽猝灭效应，可能是肽酚的疏水相互作用改变了芳香族氨基酸的微环境或引起分子间堆积效[5]，Li 等[18]研究发现随着葡萄籽原花青素的添加浓度的增加，玉米醇溶蛋白水解物的荧光强度呈规律下降趋势，并证实是原花青素引起的酪氨酸的静态猝灭。Su 等[19]研究了核桃抗氧化肽和酚类化合物的非共价复合，加入核桃酚类化合物后，核桃蛋白水解产物中的色氨酸被高度猝灭，表明疏水相互作用在这两种聚合物之间起关键作用，这也提示 SPs 和 AOBEs 的互作可能跟疏水作用有关。

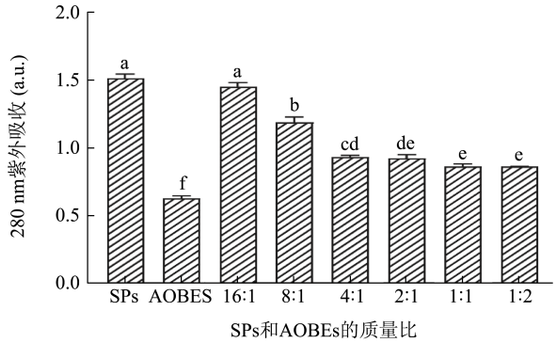


图 3 SPs 和 AOBEs 复合物在 280 nm 下的紫外吸收值

Fig.3 The ultraviolet absorption values of SPs and AOBEs complexes at 280 nm

注：不同小写字母表示不同比例复合样品在 280 nm 紫外吸收测定值的差异显著（$P<0.05$）。

2.4 抗氧化活性分析

2.4.1 ·OH清除活性分析

多肽－多酚复合物的抗氧化活性已系统性地利用体外测定实验进行了研究。通常，多酚因其高含量的活性羟基，比其相应的多肽偶联物具有更高的抗氧化活性潜力，而后者的抗氧化活性则高于多肽[20]。·OH 是由活性氧 ROS 转化产生的反应性最强的自由基，样品中羟基、巯基、芳香族残基等具有供氢能力或电子转移能力的基团可与 ·OH 反应，从而清除自由基[21]。图 4 为不同复合比例下 SPs-AOBEs 复合物的 ·OH 清除率活性，AOBEs 和 SPs-AOBEs 复合物的 ·OH 清除率随着多酚添加的比例增加而升高。然而，当低浓度多酚的条件下，如 SPs:AOBEs 的质量比例在 16:1~1:1 时，SPs-AOBEs 复合物的 ·OH 清除率与 SPs 并没显著性差异（$P>0.05$），仅有当 SPs:AOBEs 的质量比例在 1:2 时其 ·OH 清除为 67.61%，显著优于 SPs 的 41.72%，可能是 AOBEs 中主要成分甜菜红素的空间位阻较大，限制了其与自由基或金属离子的作用效率[5]。另外，仅当 SPs:AOBEs 的质量比例为 4:1 时，SPs-AOBEs 复合物的 ·OH 清除率为 50.97%，显著优于 AOBEs 组（32.91%，$P<0.05$），表明该复合比例下获得的 SPs-AOBEs 复合物的 ·OH 清除能力得到显著增强，SPs 与 AOBEs 的结合可能形成抗氧化协同效应。于等研究了芝麻酚能与 7S 蛋白通过非共价结合形成复合物，且芝麻酚与 7S 蛋白质量比为 8:100 时结合最紧密，其乳化性及乳化稳定性等功能特性显著升高[22]，提示 SPs-AOBEs 在质量比 4:1 非共价复合下，

通过构象改变暴露更多活性基团，其供氢能力、自由基清除活性及金属离子络合能力进一步增强，提升了其抗氧化功能特性。

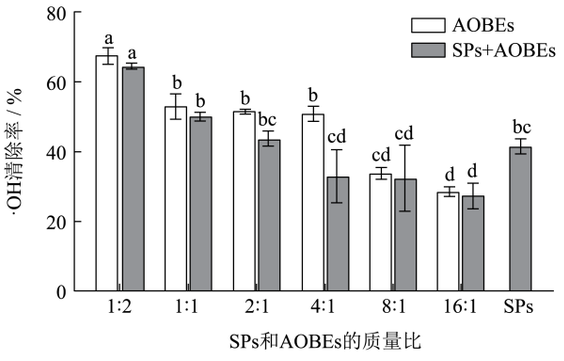


图 4 SPs-AOBEs 复合物的 ·OH 清除活性分析

Fig.4 Analysis of ·OH scavenging activity of SPs-AOBEs complexes

注：不同复合比例下 SPs-AOBEs 的 ·OH清除率；不同小写字母表示不同复合比例下 ·OH 清除率测定值的差异显著（$P<0.05$）。

2.4.2 铁还原力活性分析

铁还原测定是测量在抗氧化剂存在的情况下，三价铁离子转化为二价铁离子的能力[20]。由图 5 可知，SPs 的还原能力为 19.07%，但 SPs 与 AOBEs 非共价复合后，SPs-AOBEs 复合物的还原能力增强，且总体趋势随着多酚添加量的增加而增大。当 SPs 和 AOBEs 的质量比在 16:1~1:2 时，SPs-AOBEs 复合物的铁还原力为 37.27% 至 60.71%，较同浓度下 AOBEs 的铁还原力活性显著更高（$P<0.05$），且当 SPs 和 AOBEs 的质量比为 4:1 时，复合物的铁还原力显著高于同浓度下的多酚溶液（$P<0.05$）。此外，在 SPs 和 AOBEs 的质量比在 16:1~1:2 时比例下获得的 SPs-AOBEs 复合物，其铁还原力活性方差较小，明显小于同比例下的多酚溶液和 SPs 对照，提示其复合状态使得体系颗粒的抗氧化状态更加稳定。Chen 等[23]制备的南瓜子蛋白和邻苯三酚复合物，当邻苯三酚浓度增加时，其复合物的还原力显著增加（$P<0.05$）。研究表明，扁豆分离蛋白与植物多酚（槲皮素、芦丁、鞣花酸）偶联，并证实其复合物的还原力优于多酚，表明其复合物间存在协同作用[24]。多酚的浓度和类型会影响蛋白质 – 多酚复合物的抗氧化活性，Liu 等[25]制备了乳清分离蛋白和四种多酚（EGCG、槲皮素、芹菜素和柚皮素）的复合物，与乳清分离蛋白相比，其铁还原力提高 62.52%、31.92%、16.95% 和 16.54%[25]，这与 SPs-AOBEs 复合物的铁还原力结果趋势相似。

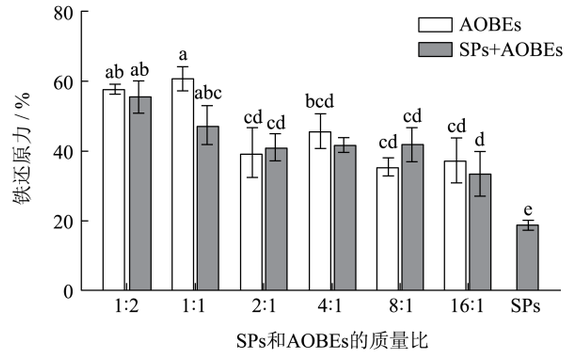


图 5 SPs-AOBEs 复合物的铁还原力活性分析

Fig.5 Analysis of iron reduction activity of SPs-AOBEs complexes

注：不同复合比例下 SPs-AOBEs 的铁还原力分析；不同小写字母表示不同复合比例下铁还原力测定值的差异显著（$P<0.05$）。

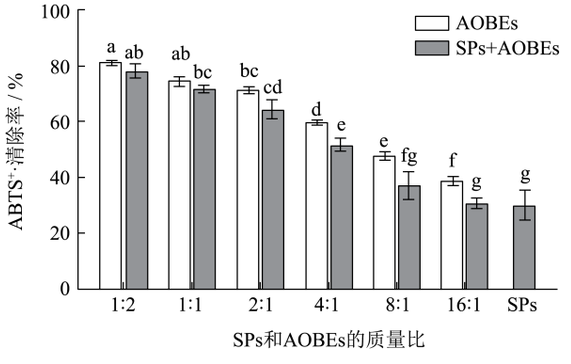


图 6 SPs-AOBEs 复合物的 ABTS 清除活性分析

Fig.6 Analysis of ABTS scavenging activity of SPs-AOBEs complexes

注：不同复合比例下 SPs-AOBEs 的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除率；不同小写字母表示不同复合比例下 $ABTS^{+\cdot}$ 清除测定值的差异显著（$P<0.05$）。

2.4.3 $ABTS^{+\cdot}$清除率活性

ABTS 在过硫酸钾氧化剂作用下形成稳定的绿色阳离子自由基 $ABTS^{+\cdot}$，在 734 nm 处有特征吸收峰，样品中的抗氧化活性物质可通过供氢或电子转移还原 $ABTS^{+\cdot}$，使其褪色，吸收值降低，以评估其抗氧化活性[26]。不同复合比例下，SPs-AOBEs 复合物的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除活性变化趋势接近，表现为随多酚添加比例的增加而对自由基清除能力逐步提高，这一趋势与 ·OH 清除率和铁还原活性基本相似。此外，SPs-AOBEs 复合物的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除活性比同比例下的 AOBEs 更强，且显著高于 SPs 的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除能力（$P<0.05$）。当 SPs 和 AOBEs 的质量比在 2:1~1:2 时，SPs-AOBEs 复合物的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除率显著高于

SPs（$P<0.05$），但随多酚比例的增加各复合物间并无显著性差异（$P>0.05$），且与同比例下的 AOBEs 相比也无显著性差异（$P>0.05$）。研究表明，多酚的浓度和种类也会影响蛋白质－多酚复合物的抗氧化活性，尤其是当多酚的比例较高时，主要归因于多酚与生物蛋白相互作用对多酚抗氧化活性的掩蔽作用，从而降低其抗氧化活性[27]。当甘草酸：β-乳球蛋白的比例为 300:1 时，其抗氧化活性显著降低[27]。此外，当低质量浓度多酚比例存在的条件下，如 SPs 和 AOBEs 的质量比在 16:1~4:1 时，复合物 $ABTS^{+\cdot}$ 清除活性显著高于同比例多酚对照组。Liu 等[25]制备了乳清分离蛋白和 EGCG、槲皮素、芹菜素和柚皮素四种多酚的复合物，与乳清分离蛋白相比，其 $ABTS^{+\cdot}$ 清除提高 37.99%、29.09%、13.53% 和 19.20%[25]。Chen 等[28]研究了低质量浓度下的氧化单宁酸（OTA）和氧化绿原酸（OCA）对猪血浆蛋白水解物（PPPH）的抗氧化活性。结果显示，与单独的 PPPH 相比，PPPH 与 OTA、OCA 之间的相互作用表现出更强的 DPPH 和 $ABTS^{+\cdot}$ 自由基清除能力、还原能力活性，这可能在低多酚比例形成的非共价配合物表现出更强的协同抗氧化活性有关。综上，SPs 和 AOBEs 在适当比例下进行非共价复合，可显著提高复合物的抗氧化功能活性。

3 结论

本研究将大豆肽 SPs 和食品红甜菜根多酚 AOBEs 进行非共价互作形成 SPs-AOBEs 复合物，并进一步研究其粒度分布、电位特性和体外抗氧化性活性。研究结果发现，SPs 与 AOBEs 的非共价复合可引起复合颗粒自组装，其粒径降低，Zeta 电位提高，分散性和稳定性更高。随 AOBEs 添加比例的增加，其复合物的抗氧化活性有上升趋势，且当 SPs-AOBEs 复合物在适当的低质量浓度多酚比例下，其复合物的 $ABTS^{+\cdot}$ 清除率、·OH 清除率和铁还原力相较于 SPs 和同质量浓度下的 AOBEs 多酚显著提高，表现出更好的协同抗氧化活性。本研究的发现为功能性多肽的应用提供了新的理论依据，为其在功能食品产业中的开发和应用提供参考。

参考文献

[1] XIANG X, QING Y L, LI S, et al. The study of single-cell dynamics contributes to the evaluation of food-derived antioxidant capacity [J]. eFood, 2023, 4(1): e66.

[2] MITHUN R, SHUBHAM J K, JOHRA K, et al. Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanism(s) of action [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 806470.

[3] DELGADO-VARGAS F, JIMÉNEZ A R, PAREDES-LÓPEZ O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability [J]. Critical Reviews in Food Technology, 2000, 40(3): 173-289.

[4] XU Z Z, AMAKYE W K, REN Z Y, et al. Soy peptide supplementation mitigates undernutrition through reprogramming hepatic metabolism in a novel undernourished non-human primate model [J]. Advance Science, 2024, 11(29): e2306890.

[5] LIN D Q, SUN L C, HUO W S, et al. Improved functionality and safety of peptides by the formation of peptide-polyphenol complexes [J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 141: 104193.

[6] HUANG S Y, ZHANG J, ZHU R Y, et al. Non-covalent interaction of millettia specisoa protein and quercetin: mechanism and physicochemical property [J]. Food Bioscience, 2025, 63: 105711.

[7] MENG R, FENG R, WU S J, et al. New insights into rice starch-gallic acid-whey protein isolate interactions: effects of multiscale structural evolution and enzyme activity on starch digestibility [J]. Carbohydrate Polymers, 2025, 350: 123039.

[8] DIAS R, BRAS N F, PEREZ-GREGORIO M, et al. A multi-spectroscopic study on the interaction of food polyphenols with a bioactive gluten peptide: from chemistry to biological implications [J]. Food Chemistry, 2019, 299(30): 125051.

[9] 俞瑜媛,周青青,周柳莎,等.藜麦多肽与食品多酚复合物的制备,表征及功能性研究[J].中国食品学报,2024,24(6):83-96.

[10] XU Y Z, AMAKYE W K, XIAO G H, et al. Intestinal absorptivity-increasing effects of sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl) amino]-caprylate on food-derived bioactive peptide [J]. Food Chemistry, 2023, 401: 134059.

[11] REINMUTH-SELZLE K, TCHIPILOV T, BACKES A T, et al. Determination of the protein content of complex samples by aromatic amino acid analysis, liquid chromatography-UV absorbance, and colorimetry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2022, 414(15): 4457-4470.

[12] SU G W, CHEN J Q, HUANG L, et al. Effects of walnut seed coat polyphenols on walnut protein hydrolysates: Structural alterations, hydrolysis efficiency, and acetylcholinesterase inhibitory capacity [J]. Food Chemistry, 2024, 437(1): 137905.

[13] CHEN X J, ZHOU B, GAO J, et al. EGCG-decorated zein complex particles: relationship to synergistic interfacial properties [J]. Colloids and Surfaces, A Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 652(5):129879.

[14] 曾学而,柯发辉,杨敏,等.酪蛋白胶束与甜菜红素相互作用及其复合物性质研究[J].食品与发酵工业,2025,51(18):127-135.

[15] 任尧.环肽/酚酸构建抗氧化纳米颗粒及体内生物利用形式研究.[D].成都:四川大学,2021.

[16] XU Y Z, NIE S Y, WANG M, et al. Walnut-derived peptide ppknw alleviate polystyrene microparticles-induced growth inhibition of *Lactobacillus rhamnosus* GG [J]. Food Bioscience, 2023, 53: 102528.

[17] 唐玲,孙思琦,闫桦,等.甜菜红素提取与纯化技术的研究进展[J].中国农学通报,2022,38(28):136-142.

[18] LI Z Z, LEI L, HUO M X, et al. Interactions and complex stabilities of grape seed procyanidins with zein hydrolysate [J]. International

Journal of Food Science & Technology, 2021, 56(1): 269-277.

[19] SU S W, WAN Y L, GUO S T, et al. Effect of peptide-phenolic interaction on the antioxidant capacity of walnut protein hydrolysates [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(2): 508-515.

[20] SUN X H, SARTESHNIZI R A, UDENIGWE C C. Recent advances in protein-polyphenol interactions focusing on structural properties related to antioxidant activities [J]. Current Opinion in Food Science, 2022, 45: 100840.

[21] ZU X Y, GUO L, ZHOU Z, et al. Antioxidant and anti-blackening dual-function silver carp scale peptides: *in vitro* studies and molecular mechanism [J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 224: 117857.

[22] 于欣淼,王玉堂,刘飞.大豆7S蛋白-芝麻酚非共价复合物结构及功能性质研究[J].中国乳品工业,2025,53(7):11-16.

[23] CHEN Y, WANG B Y, WANG J M, et al. Effect of pyrogallic acid (1,2,3-benzenetriol) polyphenol-protein covalent conjugation reaction degree on structure and antioxidant properties of pumpkin (*Cucurbita* sp.) seed protein isolate [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 109: 443-449.

[24] SAAKSHI P, JASON M, RAMASWAMI S, et al. Structure-functionality of lentil protein-polyphenol conjugates [J] Food Chemistry, 2022, 367: 130603.

[25] LIU X J, SONG Q, LI X, et al. Effects of different dietary polyphenols on conformational changes and functional properties of protein-polyphenol covalent complexes [J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130071.

[26] WANG M, SUN X Y, LUO W, et al. Characterization and analysis of antioxidant activity of walnut-derived pentapeptide PW5 via nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128047.

[27] CIANCIOSI D, FORBES-HERNANDEZ T Y, REGOLO L, et al. The reciprocal interaction between polyphenols and other dietary compounds: impact on bioavailability, antioxidant capacity and other physico-chemical and nutritional parameters [J]. Food Chemistry, 2022, 375: 131904.

[28] CHEN Y C, JIANG S, CHEN Q, et al. Antioxidant activities and emulsifying properties of porcine plasma protein hydrolysates modified by oxidized tannic acid and oxidized chlorogenic acid [J]. Process Biochemistry, 2019, 79: 105-113.