张蔷, 张莹, 吕博, 等. β-伴大豆球蛋白-黑木耳多糖复合物的理化性质 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 68−76. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040013

ZHANG Qiang, ZHANG Ying, LÜ Bo, et al. Physicochemical Properties of β-Conglycinin-*Auricularia auricula* Polysaccharide Complexes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 68−76. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040013

·研究与探讨·

β-伴大豆球蛋白-黑木耳多糖复合物的理化性质

张　蔷[1,2], 张　莹[1,2], 吕　博[1,2], 王朝辉[1,2], 于寒松[1,2,*]

（1.吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118;
2.国家大豆产业技术体系加工研究室, 吉林长春 130118）

摘　要: 为促进 β-伴大豆球蛋白（β-conglycinin，7S）在食品工业中的开发与利用，本研究以 β-伴大豆球蛋白和黑木耳多糖（*Auricularia auricula* polysaccharide，AAP）为原料，物理混合和糖基化反应制备 7S-AAP 非共价/共价复合物，通过十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）和傅里叶变换红外光谱（FT-IR）验证 7S-AAP 非共价/共价复合物的生成，测定 7S-AAP 非共价/共价复合物的溶解性、表面疏水性、乳化性、起泡性及抗氧化性，评价复合物的理化性质。结果表明，7S-AAP 非共价复合物与 7S 在分子组成上无显著差异，共价复合物通过羰基和氨基的结合形成可溶性大分子复合物，证实了糖基化反应的发生，7S-AAP 非共价/共价复合物制备成功。当 AAP 质量浓度为 1% 时，7S-AAP 共价复合物具有最高的溶解性（69.26%±2.98%）、起泡性（149.00%±5.57%）和泡沫稳定性（88.06%±2.59%）、乳化性（81.05±1.00 m^2/g）和乳化稳定性（64.53±0.50 min）、DPPH 自由基清除率（45.83%±1.99%）和 $ABTS^+$自由基清除率（50.77%±1.44%），与 7S 组相比，7S-AAP 共价复合物的表面疏水性显著降低（$P<0.05$）。本研究结果表明，7S-AAP 复合物的理化性质会随着 AAP 浓度的增大而增强，而共价复合物的作用效果优于非共价复合物。研究结果为 7S 蛋白的加工及蛋白-多糖体系在食品工业中的应用提供了理论支持。

关键词: β-伴大豆球蛋白, 黑木耳多糖, 理化性质, 物理混合, 糖基化反应

中图分类号: TS214.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)08−0068−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040013

本文网刊:

Physicochemical Properties of β-Conglycinin-*Auricularia auricula* Polysaccharide Complexes

ZHANG Qiang[1,2], ZHANG Ying[1,2], LÜ Bo[1,2], WANG Zhaohui[1,2], YU Hansong[1,2,*]

（1.College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
2.Division of Soybean Processing, Soybean Research & Development Center, Chinese Agricul-tural Research System, Changchun 130118, China）

Abstract: To promote the development and utilization of β-conglycinin (7S) in the food industry, this study employed β-conglycinin and *Auricularia auricula* polysaccharide (AAP) as raw materials to prepare 7S-AAP non-covalent and covalent complexes via physical mixing and glycosylation reactions. The generation of 7S-AAP non-covalent/covalent complexes was verified by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). Furthermore, the physicochemical properties of the 7S-AAP non-covalent and covalent complexes were evaluated by assessing their solubility, surface hydrophobicity, emulsifying capacity, foaming capacity, and antioxidant activity. Results demonstrated that there was no significant difference in molecular composition between the 7S-AAP non-covalent complex and the native 7S protein. In contrast, the covalent complex formed a soluble macromolecular

收稿日期: 2025−04−03

基金项目: 国家大豆产业技术体系重点任务（CARS-04）。

作者简介: 张蔷（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 大豆精深加工及副产物的综合利用, E-mail: zhangqiang201220@163.com。

*** 通信作者:** 于寒松（1979−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 大豆精深加工及副产物的综合利用, E-mail: yuhansong@163.com。

structure through the reaction of carbonyl and amino groups, confirming the occurrence of glycosylation and the successful synthesis of 7S-AAP non-covalent and covalent complexes. When the AAP concentration was 1%, the 7S-AAP covalent complex had the highest solubility (69.26%±2.98%), foaming capacity (149.00%±5.57%), foam stability (88.06%±2.59%), emulsifying activity (81.05±1.00 m^2/g), emulsifying stability (64.53±0.50 min), DPPH radical scavenging rate (45.83%±1.99%), and $ABTS^+$ radical scavenging rate (50.77%±1.44%). Compared with the 7S group, the surface hydrophobicity of the 7S-AAP covalent complex was significantly reduced (P<0.05). This study revealed that the physicochemical properties of 7S-AAP complexes improved with increasing AAP concentration, and the covalent complex outperformed the non-covalent complex in terms of functional properties. These findings provide theoretical support for the processing of 7S protein and the application of protein-polysaccharide systems in the food industry.

Key words: β-conglycinin; *Auricularia auricula* polysaccharide; physicochemical properties; physical mixing; glycosylation reaction

蛋白质和多糖是具有良好功能特性的天然活性物质，在食品加工领域得到了广泛应用。β-伴大豆球蛋白（β-conglycinin, 7S）是大豆蛋白的重要组分之一，具有良好的营养价值及加工适应性。其两亲性的功能特点，使 7S 具有良好的界面活性，如起泡性和乳化性[1]。然而其结构和功能特性容易受到环境因素的影响，发生变性或聚集，限制了它们在食品工业中的应用。黑木耳是一种富含丰富的营养元素的真菌，在东北地区被广泛种植。其多糖成分因独特的理化性质与生物活性备受关注[2]。黑木耳多糖（*Auricularia auricula* polysaccharide, AAP）分子表面富含亲水性侧链基团，这种结构特性赋予其优良的水溶性特征。黑木耳多糖具有独特的粘性，常作为增稠剂和稳定剂添加在食品中改善其加工特性[3]。

多糖可以通过非共价/共价作用修饰蛋白质，从而改变蛋白质的理化性质，如溶解性、乳化性、起泡性等[4]。大量研究表明，多糖和蛋白质之间的相互作用不仅可以改变蛋白质的空间结构，还可以赋予蛋白质更优越的理化及功能特性[5]。包怡红等[6] 通过美拉德反应制备黑木耳多糖-大豆蛋白复合物，发现复合物的乳化活性，溶解度和热稳定性均有所提升。Zhang 等[7] 采用木耳多糖和乳清分离蛋白制备复合凝胶，形成的凝胶表现出优异的持水能力、凝胶硬度、弹性和热稳定性。Xu 等[8] 通过乳清分离蛋白和海藻酸钠的静电相互作用使复合物的粘度和界面吸附能力提升，显著增加了复合物的泡沫稳定性。Zhang 等[9] 研究发现乳清分离蛋白与 *Mesona chinensis* 多糖通过糖基化反应复合后，复合物表面的羟基数量会增加，从而增强其抗氧化能力。Hu 等[10] 通过美拉德湿法反应制备出大豆分离蛋白-杏鲍菇多糖复合物，复合物表现出更好的溶解性、乳化性及乳化稳定性。本研究基于非共价及共价修饰共同探究不同质量浓度的 AAP 对 7S 蛋白的理化性质的影响，对 7S-AAP 复合物的溶解度、乳化性、起泡性、抗氧化性指标进行分析，旨在为提高蛋白-多糖复合体系在食品工业中的应用提供理论参考。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

‘东农 47 号’大豆　东北农业大学提供；黑木耳　中国吉林汪清县；SDS-PAGE 凝胶试剂盒 P0012A　上海碧云天生物技术有限公司；三色预染蛋白 Marker WJ103　上海雅酶生物医药科技有限公司；考马斯亮蓝 G-250 C8420　北京索莱宝科技有限公司；8-苯氨基-1-奈酚磺酸（ANS）A1028　美国 Sigma 有限公司；ABTS S19198 试剂盒、DPPH B25609 试剂盒　上海源叶生物科技有限公司；过硫酸钾 P292964　上海阿拉丁生化科技股份有限公司；其他试剂均为分析纯级别。

GTR320A 高速台式冷冻离心机　湖南可成仪器设备有限公司；FDU-7006 冷冻干燥器　韩国 OPERON 公司；iBright CL1000 凝胶成像仪、iS20 傅里叶变换红外光谱仪　赛默飞世尔科技公司；Alliance e2695 高效液相色谱仪　美国沃特斯公司；VICTOR NivoTM 荧光酶标仪　珀金埃尔默企业管理有限公司；Tissue-Tearor 手持高速剪切机　北京九州晟欣科技有限公司；Q2000差示扫描量热仪　美国 TA 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　β-伴大豆球蛋白的提取　将‘东农 47 号’大豆粉碎过 60 目筛，按照 1∶5（g/mL）的比例将大豆粉与丙酮混合，磁力搅拌 45 min 后静置至大豆粉沉于底部，弃去上清液，重复操作上述流程，到上清液变为无色，将脱脂大豆粉置于通风橱内晾干。按照 1∶15（g/mL）的比例将脱脂大豆粉与去离子水混匀，将溶液 pH 调至 7.5，9000 r/min 离心 20 min，加入 $NaHSO_3$（0.98 g/L）于上清液中，将溶液 pH 调至 6.4 后 4 ℃过夜，6500 r/min 离心 30 min。上清液加入固体 NaCl 至终浓度 0.25 mol/L，调节溶液 pH 至 5.0，搅拌后 9000 r/min离心 30 min；将上清液用 2 倍去离子水稀释，将 pH 调至 4.8，再次离心并将沉淀物溶解，4 ℃ 透析 48 h，冷冻干燥得到 β-伴大豆球蛋白（7S）[11]。

1.2.2　黑木耳多糖的提取及分析

1.2.2.1　黑木耳多糖的提取　将黑木耳洗净，干燥粉

碎过 60 目筛。按黑木耳粉与去离子水 1∶80 的固液比, 在 90 ℃ 下进行 4 h 浸提。提取完成后, 将混合液在 4000 r/min 下离心 10 min, 取上清液中加入 3 倍体积的 95% 乙醇溶液, 4 ℃ 静置 12 h。采用正丁醇∶氯仿=1∶4(v/v)配制 Savage 试剂, 与上清液按 1∶4(v/v)搅拌混合以除去蛋白, 直到没有分层。4000 r/min 离心 10 min 后用旋转蒸发器浓缩, 4 ℃ 透析 48 h, 冷冻干燥获得纯化后的黑木耳多糖(AAP)[12]。

1.2.2.2 黑木耳多糖含量测定 采用苯酚-硫酸比色法检测黑木耳多糖含量[13]。根据样品的吸光度计算多糖含量。

1.2.2.3 黑木耳多糖的单糖组成测定 将 2 mg AAP 在 80 ℃ 下用 2 mol/L 的盐酸-甲醇溶液水解 16 h, 用 2 mol/L 三氯乙酸溶液在 120 ℃ 下水解 1 h, 得到的水解物用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)进行衍生处理。然后采用高效液相色谱法(HPLC)测定 AAP 的单糖组成。液相色谱条件如下: 色谱柱为 COSMOSIL $5C_{18}$-PAQ(4.6 mm×250 mm), 流动相为磷酸盐缓冲液∶乙腈=82∶18, 流速为 0.5 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样体积为 20 μL, 检测波长为 245 nm[14]。

1.2.3 7S-AAP 非共价/共价复合物的制备 通过物理混合的方式制备 7S-AAP 非共价复合物[15]。配制质量浓度为 1%(w/v)的 7S 溶液, 室温下搅拌 2 h 后, 将 AAP 粉末按不同质量浓度 0.25%、0.5%、1%(w/v)溶于 7S 溶液中, 室温下搅拌 2 h 后, 4 ℃ 过夜水合, 冷冻干燥得到 7S-AAP 非共价复合物, 分别命名为 $N_{0.25}$、$N_{0.5}$、N_1。

参照王敬怡[16] 的方法稍加修改, 通过糖基化反应制备 7S-AAP 共价复合物。配制质量浓度为 1%(w/v)的 7S 溶液, 室温下搅拌 2 h 后, 将 AAP 粉末按不同质量浓度 0.25%、0.5%、1%(w/v)溶于 7S 溶液中, pH 调节至 10.0, 在 45 ℃ 下反应 4 h 后, 立即在冰水浴中冷却以终止反应。然后将所得的 7S-AAP 共价复合物在 4 ℃ 下透析 48 h, 冷冻干燥获得 7S-AAP 共价复合物, 分别命名为 $C_{0.25}$、$C_{0.5}$、C_1。

1.2.4 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE) 称取 10 mg 的 7S、$N_{0.25}$、$N_{0.5}$、N_1、$C_{0.25}$、$C_{0.5}$、C_1 七种样品粉末溶于 1 mL 上样缓冲液中, 加入 20 μL β-巯基乙醇, 100 ℃ 下沸水煮 10 min 后离心(3000 r/min, 5 min, 4 ℃)。将 10 μL 样品加入电泳槽中进行电泳, 在 80 V 运行 20 min, 120 V 运行 1 h。使用考马斯亮蓝 G-250 染色液将凝胶染色, 用含有 40% 冰醋酸溶液的脱色液对凝胶进行脱色, 最后将凝胶在凝胶成像仪中成像。用 Image J 软件分析条带灰度值[17]。

1.2.5 傅里叶变换红外光谱的测定 将样品粉末与溴化钾按 1∶100(w/w)的比例混合后压片。以 4 cm^{-1} 的分辨率在 4000~400 cm^{-1} 范围内进行扫描, 每个样品扫描 32 次, 溴化钾粉末为空白对照。

1.2.6 溶解度的测定 将样品粉末溶解于磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH=7)中制成 1 mg/mL 的溶液。磁力搅拌 1 h 使样品充分溶解, 离心(10000 r/min, 30 min)得到上清液。以牛血清蛋白为标准曲线, 取样品上清液, 用 Lowry 法测定蛋白质溶解度[18]。

1.2.7 表面疏水性的测定 通过 8-苯氨基-1-萘酚磺酸(ANS)荧光探针测量样品的表面疏水性(H_0)[19], 将样品粉末溶解于磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH=7)中制成 0.5 mg/mL 的样品溶液, 磁力搅拌 1 h, 并梯度稀释以获得浓度为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 的样品溶液。将 20 μL ANS(8 mmol/L)加入 4 mL 不同浓度的样品溶液中。涡旋混匀溶液, 避光静置 5 min, 用酶标仪测定样品的荧光强度, 测定的激发波长为 390 nm, 发射波长为 470 nm, 狭缝宽度为 5 nm, 通过最大荧光强度相对于蛋白质浓度的线性方程得到斜率 H_0。

1.2.8 乳化性和乳化稳定性的测定 将样品粉末溶解于磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH=7)中制成 2 mg/mL 的溶液。取 2 mL 大豆油与 8 mL 样品溶液充分混合, 采用高速剪切机在 10000 r/min 下剪切 3 min 均质化。从容器底部移取 50 μL 乳液, 加入到 5 mL 浓度为 0.1%(w/v)的 SDS 溶液中。静置 10 min, 重复相同的取样和处理步骤。利用紫外-可见分光光度计在 500 nm 波长处测定各样品的吸光度值[20]。乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)的计算公式如下所示:

$$EAI(m^2/g) = \frac{2\times 2.303\times A_0}{(C\times 10^4\times(1-\Phi))\times D} \quad 式(1)$$

$$ESI(min) = \frac{A_0\times 10}{A_0 - A_{10}} \quad 式(2)$$

式中: A_0 和 A_{10} 分别为 0 和 10 min 的吸光度; C 为蛋白质的浓度, g/mL; Φ 为油相的比值(0.2); D 为溶液稀释倍数。

1.2.9 起泡性和泡沫稳定性的测定 将样品粉末溶解于磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH=7)中制成 2 mg/mL 的溶液。将 20 mL 样品置于 50 mL 离心管中, 使用高速剪切机在 10000 r/min 下均质 3 min 使溶液起泡, 均质后立即量取泡沫体积 V_1, 静止 30 min 后量取泡沫体积 V_{30}[21]。起泡性(FA)和泡沫稳定性(FS)的计算公式如下:

$$FA(\%) = \frac{V_1 - V_0}{V_0}\times 100 \quad 式(3)$$

$$FS(\%) = \frac{V_{30} - V_0}{V_1 - V_0}\times 100 \quad 式(4)$$

式中: V_0 为溶液体积; V_1 为初始液面高度; V_{30} 为静置 30 min 后的液面高度。

1.2.10　抗氧化性的测定

1.2.10.1　DPPH 自由基清除能力的测定　用无水乙醇配制 0.1 mmol/L DPPH 溶液，取 2 mL 浓度为 0.5 mg/mL 的样品溶液与 2 mL 的 DPPH 溶液混合，避光反应 40 min 后，使用酶标仪在 517 nm 处检测其吸光度[9]。DPPH 自由基清除能力计算公式如下所示：

$$\text{DPPH自由基清除能力}(\%)=\left(1-\frac{A}{A_0}\right)\times 100 \quad \text{式（5）}$$

式中：A 是样品在 517 nm 处的吸光度；A_0 是空白组在 517 nm 处的吸光度。

1.2.10.2　$ABTS^+$自由基清除能力的测定　取 7 mmol/L ABTS 与 2.5 mmol 过硫酸钾避光反应 16 h。用 PBS 稀释反应后的 ABTS 储备液，使溶液在 734 nm 波长处吸光度为 0.70±0.02。将 3 mL 的 ABTS 溶液与 0.4 mL 的样品溶液混合，避光反应 40 min。检测溶液在 734 nm 处的吸光度。$ABTS^+$自由基清除能力计算公式如下所示：

$$ABTS^+\text{自由基清除能力}(\%)=\left(1-\frac{A_1}{A_2}\right)\times 100$$

式（6）

式中：A_1 是样品在 734 nm 处的吸光度；A_2 是空白组在 734 nm 处的吸光度。

1.3　数据处理

所有试验均重复 3 次，以平均值±标准差表示结果。采用 IBM SPSS 24 软件分析 ANOVA 差异显著性，$P<0.05$ 为差异显著，使用 Origin 2019 和 Graphpad Prism 8.0.2 分析数据并作图。

2　结果与分析

2.1　7S 的亚基组成及含量

7S 蛋白的 SDS-PAGE 如图 1A 所示，可以清楚地看到 α'、α 和 β 亚基条带，确定经碱溶酸沉法提取的蛋白为 7S。根据 Image J 的分析结果，α'、α 和 β 亚基分别占样品中总蛋白的 25.68%±0.43%、29.75%±0.82% 和 20.30%±0.79%，提取的 7S 占总蛋白的 75.73%±0.68%。

2.2　黑木耳多糖的总糖含量及单糖组成

根据测得的吸光度和葡萄糖浓度绘制葡萄糖标准曲线，线性回归方程为 y=0.8604x+0.21，决定系数 R^2=0.9972。代入方程计算得到经提取纯化后的多糖含量为 76.35%±0.64%。

单糖作为构成多糖的基本结构元素，其组成直接决定多糖的分子架构和理化特性。采用液相色谱法测定 AAP 的单糖组成如表 1 所示，其中甘露糖和葡萄糖含量最多，相关研究表明黑木耳多糖主要由甘露糖与葡萄糖组成[22]，本实验结果与之相一致。

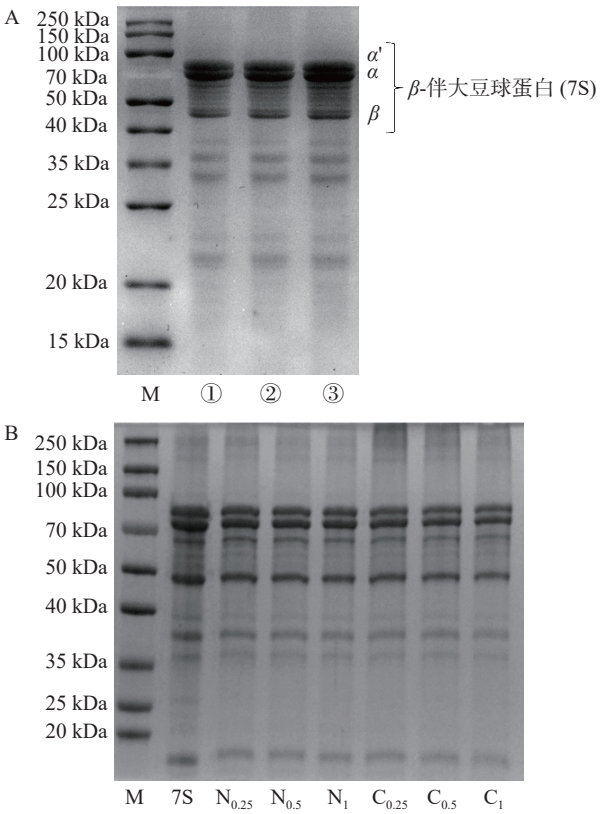


图 1　7S（A）、7S-AAP 非共价/共价复合物（B）的 SDS-PAGE 图

Fig.1　SDS-PAGE plots of 7S (A), 7S-AAP non-covalent/covalent complexes (B)

注：M 为 Marker 条带，①、②、③：7S 的三组平行条带。$N_{0.25}$：AAP 质量浓度为 0.25% 的非共价复合物；$N_{0.5}$：AAP 质量浓度为 0.5% 的非共价复合物；N_1：AAP 质量浓度为 1% 的非共价复合物；$C_{0.25}$：AAP 质量浓度为 0.25% 的共价复合物；$C_{0.5}$：AAP 质量浓度为 0.5% 的共价复合物；C_1：AAP 质量浓度为 1% 的共价复合物。

2.3　SDS-PAGE 分析

通过 SDS-PAGE 分析蛋白质分子组成的变化，图 1B 显示了 7S、7S-AAP 非共价复合物和共价复合物的 SDS-PAGE 图。从图 1B 中可以看出非共价复合物的亚基组成与 7S 并无显著差别，说明物理混合并未使 7S 和 AAP 之间发生共价结合反应[23]。共价复合物条带在 250 kDa 处出现了比 7S 和非共价复合物更暗的条带，说明 7S 与 AAP 发生共价交联反应生成了更高分子量的复合物，这种现象与之前的研究结果一致[24−25]。同时非共价复合物和共价复合物的亚基条带相比于 7S 条带颜色变浅，可能是由于 AAP 覆盖在 7S 表面导致考马斯亮蓝与 7S 结合减少。

表 1　单糖组成及含量（%）

Table 1　Monosaccharide composition and content (%)

甘露糖	葡萄糖醛酸	半乳糖醛酸	葡萄糖	半乳糖	木糖	岩藻糖
52.57±2.78	4.68±1.91	0.61±0.25	34.72±3.71	1.95±0.31	4.56±0.89	0.90±0.84

2.4 傅里叶变换红外光谱分析

通过傅里叶变换红外光谱分析 7S 与 AAP 分子间的相互作用力及官能团的变化。如图 2 所示，波数在 3200~3500 cm^{-1} 处为酰胺 A 带，对应 O-H、N-H 的伸缩振动；波数在 1600~1700 cm^{-1} 处为酰胺 I 带，对应 C=O 的伸缩振动，波数在 1500~1600 cm^{-1} 为酰胺Ⅱ带，对应 N-H 弯曲和 C-N 伸缩振动[26]。

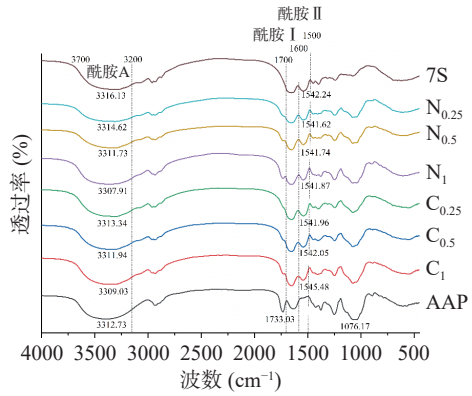


图 2 7S-AAP 非共价/共价复合物的傅里叶红外光谱图

Fig.2 FT-IR spectra of 7S-AAP non-covalent/covalent complexes

非共价复合物在酰胺 A 带处的吸收峰向低波数处移动，表明多糖的加入引入了羟基，增强了 7S 与 AAP 之间氢键的作用。共价复合物在此处吸收峰向低波数处移动，表明 7S 的氨基与 AAP 的羰基结合形成 C-N 共价键发生伸缩振动，说明 AAP 通过共价键的形式与 7S 蛋白结合，这种反应使 1733 cm^{-1} 处 AAP 中羰基与羧基的 C=O 伸缩振动受到影响，导致共价复合物在此处的吸收峰消失[15]。共价复合物在酰胺 II 带处的偏移表明共价交联反应生成 C-N 共价键。1000~1200 cm^{-1} 波数处为多糖分子中糖链的特征峰，该处特征峰的移动是由糖分子中 C-O-C 糖苷键伸缩振动引起[27]，在 1076 cm^{-1} 处 7S 与非共价复合物几乎不存在吸收峰，而在共价复合物中出现了吸收峰，这可能是由生成的糖基化反应产物引起的，证实了共价交联反应的发生[28]。

2.5 7S-AAP 复合物的溶解性分析

溶解性是蛋白质的主要功能特性，对蛋白质在加工过程中的乳化性，发泡性、凝胶性等都有很大影响。图 3 显示了添加不同质量浓度 AAP 的 7S、7S-AAP 非共价/共价复合物的溶解性。与 7S 相比，7S-AAP 非共价/共价复合物的溶解度都随着多糖浓度的增加显著增大(P<0.05)，当 AAP 添加量为 1% 时，分别提高了约 25.23% 和 33.97%。可能是由于多糖的加入引入了大量亲水基团(如-OH、-COOH)，增强了蛋白质中氢键的作用，促进了蛋白与水分子的相互作用[29]。7S 与 AAP 都带有净负电荷，非共价复合物通过静电排斥及疏水相互作用将羟基引入蛋白质表面，覆盖了疏水区域，减小了疏水基团的数量从而抑制蛋白质的聚集[30]。7S-AAP 共价复合发生共价交联反应形成的可溶性大分子复合物结合了更多的亲水性羟基，增加了复合物的水合能力。并且共价交联使蛋白质结构更松散，亲水区域暴露，极性侧链的水合能力增强，从而增大溶解度。

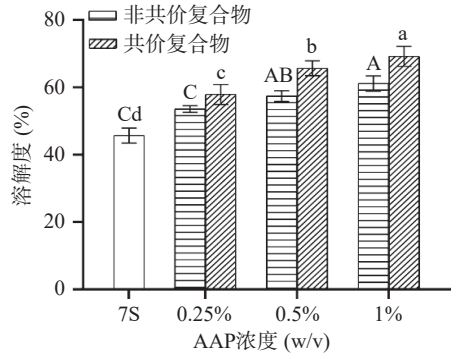


图 3 7S-AAP 非共价/共价复合物的溶解性分析

Fig.3 Solubility analysis of 7S-AAP non-covalent/covalent complexes

注：图中不同大写字母表示 7S 组与 7S-AAP 非共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)，不同小写字母表示 7S 组与 7S-AAP 共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)。

2.6 7S-AAP 复合物的表面疏水性分析

表面疏水性反映了暴露在蛋白质表面的疏水基团数量，表面疏水性的变化影响着蛋白质的结构和界面性质。如图 4 显示了添加不同质量浓度 AAP 的 7S、7S-AAP 非共价/共价复合物的表面疏水性。与 7S 组相比，AAP 的加入显著降低了 7S 的表面疏水性(P<0.05)，随着 AAP 浓度的增大，更多的亲水性多糖覆盖在复合物表面，使暴露在复合物表面的疏水基团数量减小[31]。并且 7S 与 AAP 相互作用产生的空间位阻效应阻碍了 ANS 荧光探针与蛋白质内疏水基团的结合，降低了表面疏水性[32]。此外，共价复合物的 H_0 显著降低可能是由于 7S 中的氨基与 AAP 的羰基通过糖基化反应进行共价相互作用，增加了暴露在复合物表面的亲水性羟基[33]，从而降低了表面疏水性。

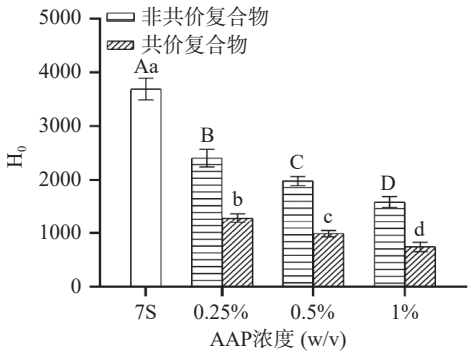


图 4 7S-AAP 非共价/共价复合物的表面疏水性分析

Fig.4 Surface hydrophobicity analysis of 7S-AAP non-covalent/ covalent complexes

注：图中不同大写字母表示 7S 组与 7S-AAP 非共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)，不同小写字母表示 7S 组与 7S-AAP 共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)。

2.7　7S-AAP 复合物的乳化活性与乳化稳定性分析

乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)是表示蛋白质乳化能力的两个重要指标。如图 5 显示了添加不同质量浓度 AAP 的 7S、7S-AAP 非共价/共价复合物的 EAI(A)和 ESI(B)图。EAI 是指蛋白质在油-水界面快速吸附，并形成界面膜的能力，ESI 是指维持油水界面的平衡，不被外力条件所分离或絮凝的能力[34]。大豆蛋白由于其两亲性的性质，常被用作乳化剂，可以吸附在油水界面，降低界面张力并促进乳液的形成和稳定。多糖通常具有亲水性，可以增加溶液的粘度，并通过空间位阻使乳液保持稳定。

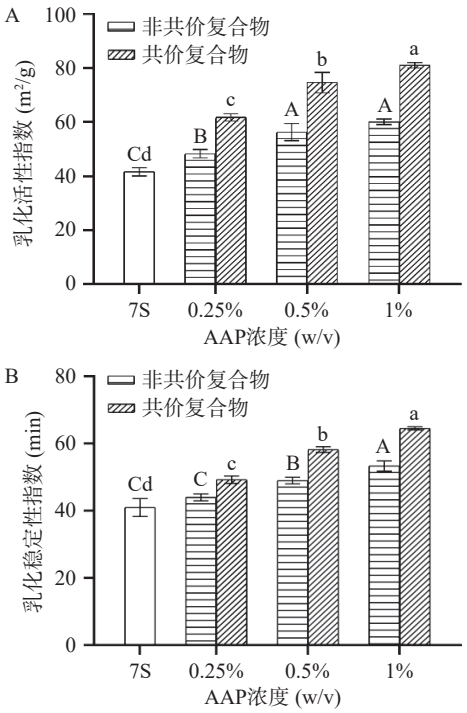


图 5　7S-AAP 非共价/共价复合物的乳化活性(A)、乳化稳定性(B)分析

Fig.5　Emulsification (A) and emulsion stability (B) analysis of 7S-AAP non-covalent/covalent complexes

注：图中不同大写字母表示 7S 组与 7S-AAP 非共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)，不同小写字母表示 7S 组与 7S-AAP 共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)。

与 7S 组相比，7S-AAP 非共价/共价复合物的乳化性能均随着多糖的加入而显著增大(P<0.05)。当 AAP 添加量为 1% 时，非共价复合物和共价复合物的乳化活性分别提高了约 30.67% 和 48.59%，乳化稳定性分别提高了约 23.12% 和 36.46%，共价复合物的乳化性能更好。7S 与 AAP 复合后，复合物在油-水界面上形成了更稳定的吸附层，降低界面张力，增强了 7S-AAP 复合物的乳化性，并且多糖的加入使得溶液的粘度增加，减缓了液滴移动速率，也使乳化稳定性增强。蛋白与多糖之间所产生的空间位阻使多糖链向外延伸，并形成一道物理屏障，使 7S-AAP 非共价复合物的 ESI 增强[35]。7S 与 AAP 之间的共价交联使得蛋白质的结构展开，变得更加无序，疏松多孔的结构使共价复合物油水界面吸附能力提升，复合物更有效的吸附在油滴表面形成更加紧密的界面膜[36]，增强了 7S-AAP 共价复合物的乳化性。此外，可溶性大分子聚集体的形成可以增加油-水界面处的蛋白质疏水性，从而增强了 7S-AAP 共价复合物乳化稳定性[37]。

2.8　7S-AAP 复合物的起泡性与泡沫稳定性分析

蛋白质的起泡能力在充气食品(如蛋糕、冰淇淋、奶油等)的加工过程中是重要影响因素。起泡性(FA)是表示蛋白质在剪切过程中产生泡沫的能力，泡沫稳定性(FC)是维持泡沫结构不被破坏的能力。图 6 显示了添加不同质量浓度 AAP 的 7S、7S-AAP 非共价/共价复合物的 FA(图 6A)和 FC(图 6B)。与 7S 相比，AAP 的加入使非共价复合物和共价复合物的起泡性和泡沫稳定性均显著增大(P<0.05)，当 AAP 添加量为 1% 时，非共价复合物和共价复合物的起泡性分别提高了约 46.18% 和 57.5%，泡沫稳定性分别提高了约 36.53% 和 45.46%，共价复合物的起泡性与泡沫稳定性更好。

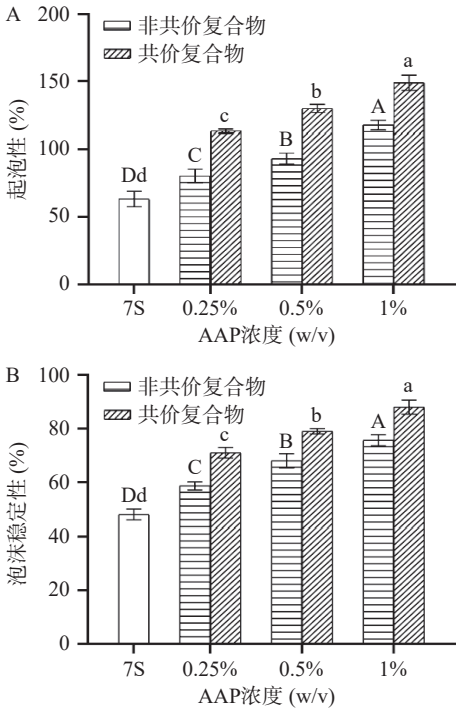


图 6　7S-AAP 非共价/共价复合物的起泡性(A)、泡沫稳定性(B)分析

Fig.6　Foaming (A) and foam stability (B) analysis of 7S-AAP non-covalent/covalent complexes

注：图中不同大写字母表示 7S 组与 7S-AAP 非共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)，不同小写字母表示 7S 组与 7S-AAP 共价复合物之间存在差异显著性(P<0.05)。

多糖的加入可能增加溶液的粘度，减缓液膜排液，从而增强起泡性能[38]。非共价复合物通过静电排斥作用减少泡沫的合并，促进泡沫形成，从而提高起泡性[25]，并且静电排斥和空间位阻作用使复合物形成了多层界面膜，在界面处形成更稳定的吸附层，提高泡沫稳定性。糖基化反应使共价复合物的无序化结

构增加，使蛋白质更容易吸附在气-液界面，降低表面张力，从而提高起泡性。同时，糖基化反应增加了更多羟基含量高的复合物，增强了蛋白质分子间的静电力，从而增加了界面强度，提高泡沫稳定性[39]。

2.9 7S-AAP 复合物的抗氧化性分析

DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除率是检测抗氧化性的常用指标。如图 7 显示了添加不同质量浓度 AAP 的 7S、7S-AAP 非共价/共价复合物的 DPPH（图 7A）和 $ABTS^+$（图 7B）自由基清除率。与 7S 组相比，7S-AAP 非共价复合物和共价复合物的抗氧化性均随着 AAP 的加入而显著增大（$P<0.05$）。当 AAP 添加量为 1% 时，7S-AAP 非共价复合物的 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除率分别提高了约 56.51% 和 45.38%，7S-AAP 共价复合物的 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除率分别提高了约 65.04% 和 54.56%，共价复合物具有更高的抗氧化性。由于 AAP 具有良好的抗氧化性，AAP 分子中含有大量羟基和羧基，可以通过引入 H^+的方式直接中和自由基，中断自由基链式反应，从而提高 7S-AAP 复合物的抗氧化性[40]。研究表明糖基化反应的产物和中间体可以通过提供 H^+的方式破坏自由基链式反应，从而提高 7S-AAP共价复合物抗氧化性[41]。

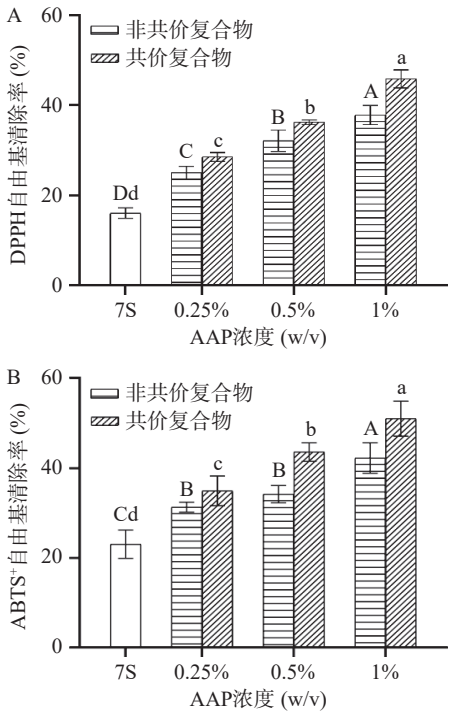


图 7 7S-AAP 非共价/共价复合物的 DPPH·（A）、$ABTS^{·+}$（B）清除能力结果

Fig.7 Results of DPPH· (A), $ABTS^{·+}$ (B) scavenging capacity of 7S-AAP non-covalent/covalent complexes

注：图中不同大写字母表示 7S 组与 7S-AAP 非共价复合物之间存在差异显著性（$P<0.05$），不同小写字母表示 7S 组与 7S-AAP 共价复合物之间存在差异显著性（$P<0.05$）。

3 结论

本研究基于非共价及共价修饰共同探究不同质量浓度的 AAP 对 7S 的理化性质与功能特性的影响，SDS-PAGE 和 FT-IR 结果显示 7S-AAP 非共价复合物与 7S 在分子组成上无显著差异，共价复合物通过羰基和氨基的结合形成可溶性大分子复合物，证实了糖基化反应的发生。相比于 7S，7S-AAP 复合物的理化特性会随着多糖浓度的增大而增强，当 AAP 浓度为 1% 时，7S-AAP 复合物的溶解性、乳化性及乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性、抗氧化性均达到最优，表面疏水性降至最低，而共价复合物的作用效果优于非共价复合物。大量研究证实蛋白与多糖形成的复合物不仅在理化性质上有所提升，在功能特性上也具有改善作用，前期已有研究证明 7S 可以通过激活腺苷酸活化激酶（AMPKα）通路途径发挥其降血脂活性[42]，AAP 的降血脂活性也已得到大量证实，因此推测 7S-AAP 具有协同调节脂质代谢的功能特性，需要通过更多的体内或体外试验来验证 7S-AAP 复合物的降血脂功能特性。研究结果拓宽了 7S 在食品加工领域的利用率，为开发蛋白-多糖复合型食品奠定了充分的理论依据，并且推测 7S-AAP 复合物可以作为一种潜在的功能性食品原料应用于食品工业中。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 于寒松，单单单，吕博，等. 大豆 β-伴大豆球蛋白和大豆球蛋白的研究现状及未来发展趋势[J]. 吉林农业大学学报，2024，46(6)：923−937. [YU Hansong, SAN Shandan, LU Bo, et al. Research status and future development trend of soybean β-conglycinin and glycinin[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2024, 46(6): 923−937.]

[2] 李庆伟，周益帆，岳童，等. 黑木耳的功能活性多糖制备及生理活性的研究进展[J]. 分子植物育种，2025，23(1)：264−271. [LI Qingwei, ZHOU Yifan, YUE Tong, et al. Research progress on preparation and physiological activity of functional active polysaccharides from *Auricularia auricula*[J]. Molecular Plant Breeding, 2025, 23(1): 264−271.]

[3] 林怡辰. 黑木耳多糖硒对酒精性肝损伤的预防作用及其机制探究[D]. 福州：福建农林大学，2022. [LIN Yichen. Preventive effect of *Auricularia auricula* selenium polysaccharide on alcoholic liverinjury and its mechanism[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2022.]

[4] 张迪，付美玲，费丛璇，等. 多糖—植物蛋白复合物的制备及特性研究进展[J]. 食品与机械，2024，40(4)：227−232. [ZHANG Di, FU Meiling, FEI Congxuan, et al. Research progress on preparation and characteristics of polysaccharide plant protein complex[J]. Food and Machinery, 2024, 40(4): 227−232.]

[5] de OLIVEIRA F C, dos REIS COIMBRA J S, de OLIVEIRA E B, et al. Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(7): 1108−1125.

[6] 包怡红，邓启，伊文慧. 黑木耳多糖——大豆蛋白复合物的制备及其功能物性研究[J]. 食品与机械，2014，30(6)：47−53.

［BAO Yihong, DENG Qi, YI Wenhui. Study on preparation and functional properties of compounds mixed with auricularia auricula polysaccharide（AAP）-soybean protein conjugates[J]. Food and Machinery, 2014, 30(6): 47−53.］

［7］ ZHANG Yue, ZHANG Zheng, FU Yuan, et al. Effects of different ph on properties of heat-induced *Auricularia auricula*-judae polysaccharide-whey protein isolate composite gels[J]. Food Structure, 2023, 36: 100317.

［8］ XU Yao, YANG Nan, YANG Jixin, et al. Protein/polysaccharide intramolecular electrostatic complex as superior food-grade foaming agent[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105474.

［9］ ZHANG Jiahui, QI Xin, SHEN Mingyue, et al. Antioxidant stability and *in vitro* digestion of β-carotene-loaded oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate-*Mesona* chinensis polysaccharide conjugates[J]. Food Research International, 2023, 174: 113584.

［10］ HU Qiuhui, WU Yiliang, ZHONG Lei, et al. *In vitro* digestion and cellular antioxidant activity of β-carotene-loaded emulsion stabilized by soy protein isolate-*Pleurotus eryngii* polysaccharide conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 106340.

［11］ 于寒松, 季雷, 李佳芯, 等. β-伴大豆球蛋白-原花青素 B2 复合物的制备及其应用：CN114685638A[P]. 2022-07-01.［YU Hansong, JI Lei, LI Jiaxin, et al. Preparation of β-associated soybean globulin-proanthocyanidin B2 complex and its application: CN114685638A[P]. 2022-07-01.］

［12］ 裴斐, 李文, 杜逸飞, 等. 黑木耳多糖对全麦鲜湿面条的品质改善作用[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 96−104.［PEI Fei, LI Wen, DU Yifei, et al. Effect of *Auricularia auricula* polysaccharide on the quality improvement of fresh wet whole wheat noodles[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 96−104.］

［13］ WEI Qiang, ZHANG Yihan. Ultrasound-assisted polysaccharide extraction from *Cercis chinensis* and properites, antioxidant activity of polysaccharide[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 96: 106422.

［14］ 耿敏, 李晓婧, 王嘉怿, 等. 食用菌姬松茸多糖的分离纯化及结构分析[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2024, 56(1): 115−124.［GENG Min, LI Xiaojing, WANG Jiayi, et al. Isolation, purification and structural analysis of *Agaricus blazei* Murrill polysaccharides from edible fungi[J]. Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition), 2024, 56(1): 115−124.］

［15］ KE Chuxin, ZHANG Shaoqi, YANG Xiaoyu, et al. Comparative study of Maillard reaction and blending between soybean protein isolate and soluble soybean polysaccharide: Physicochemical, structure and functional properties[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 282: 137101.

［16］ 王敬怡. 大豆分离蛋白、大豆肽与人参多糖糖基化反应及产物特性的比较研究[D]. 长春：吉林农业大学, 2022.［WANG Jingyi. Comparative study on glycosylation reaction and product properties of soybean protein isolate, soybean peptide and ginseng polysaccharide[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2022.］

［17］ SHEN Guanghui, ZHENG Lijun, LI Shanshan, et al. The role of soy protein degradation caused by spoilage *Bacillus amyloliquefaciens* in texture deterioration of Yuba, a soy product[J]. Lwt, 2020, 123: 109108.

［18］ SUI Xiaonan, BI Shuang, QI Baokun, et al. Impact of ultrasonic treatment on an emulsion system stabilized with soybean protein isolate and lecithin: Its emulsifying property and emulsion stability[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 727−734.

［19］ WU Sihong, XIA Jiujie, WEI Zhengxun, et al. Preparation, characterization, and foaming properties of soy protein nanoparticles by the cross-linking reaction induced by microbial transglutaminase[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 140: 108627.

［20］ 郑环宇, 孔洋, 郑丽, 等. 大豆蛋白-多糖复合物结构与性能及其稳定性研究[J]. 农业机械学报, 2022, 53(6): 406−415.［ZHENG Huanyu, KONG Yang, ZHENG Li, et al. Effect of soybean protein-polysaccharides complexes on structure, properties and stability[J]. Journal of Agricultural Machinery, 2022, 53(6): 406−415.］

［21］ 熊挺, 黄贵秋. 大豆分离蛋白-阴离子多糖复合体系起泡性能研究[J]. 农业机械, 2011(17): 61−64.［XIONG Zheng, HUANG Guiqiu. Foaming performance of soybean isolate protein-anionic polysaccharide composite system[J]. Agricultural Machinery, 2011(17): 61−64.］

［22］ CHEN Nana, ZHANG Hao, ZONG Xin, et al. Polysaccharides from *Auricularia auricula*: Preparation, structural features and biological activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 247: 116750.

［23］ 赵洪雷, 吕亚楠, 纵大干, 等. 酪蛋白-多糖共价复合物的结构表征及乳化特性研究[J]. 食品工业科技, 2025, 46(19): 175−182.［ZHAO Honglei, LÜ Yanan, ZONG Dagan, et al. Structural characterization and emulsifying properties of casein-polysaccharide covalent complexes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(19): 175−182.］

［24］ MA Xiaobin, CHEN Weijun, YAN Tianyi, et al. Comparison of *Citrus* pectin and apple pectin in conjugation with soy protein isolate（SPI）under controlled dry-heating conditions[J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125501.

［25］ LAVAEI Y, VARIDI M, NOOSHKAM M. Gellan gum conjugation with soy protein *via* Maillard-driven molecular interactions and subsequent clustering lead to conjugates with tuned technological functionality[J]. Food Chemistry: X, 2022, 15: 100408.

［26］ ZHAO Chengbin, YIN Huanhuan, YAN Jiannan, et al. Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 106278.

［27］ LIU Jianhua, RU Qiaomei, DING Yuting. Glycation a promising method for food protein modification: Physicochemical properties and structure, a review[J]. Food Research International, 2012, 49(1): 170−183.

［28］ NOOSHKAM M, MADADLOU A. Maillard conjugation of lactulose with potentially bioactive peptides[J]. Food Chemistry, 2016, 192: 831−836.

［29］ PIRESTANI S, NASIRPOUR A, KERAMAT J, et al. Preparation of chemically modified canola protein isolate with gum Arabic by means of Maillard reaction under wet-heating conditions[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 201−207.

［30］ ZHANG Zhao, CHEN Wenchao, ZHOU Xin, et al. Astaxanthin-loaded emulsion gels stabilized by Maillard reaction products of whey protein and flaxseed gum: Physicochemical characterization and *in vitro* digestibility[J]. Food Research International, 2021, 144: 110321.

［31］ XU Yanteng, LIU Lingling. Structural and functional properties of soy protein isolates modified by soy soluble polysaccharides [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(38): 7275−7284.

［32］ ZHAO Chengbin, ZHOU Linyi, LIU Jinyang, et al. Effect of ultrasonic pretreatment on physicochemical characteristics and rheological properties of soy protein/sugar Maillard reaction products

[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(5): 2342−2351.
[33] MU Lixia, ZHAO Mouming, YANG Bao, et al. Effect of ultrasonic treatment on the graft reaction between soy protein isolate and gum *Acacia* and on the physicochemical properties of conjugates[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(7): 4494−4499.
[34] KE Chuxin, LI Liang. Influence mechanism of polysaccharides induced Maillard reaction on plant proteins structure and functional properties: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 302: 120430.
[35] LOPES-DA-SILVA J A, MONTEIRO S R. Gelling and emulsifying properties of soy protein hydrolysates in the presence of a neutral polysaccharide[J]. Food Chemistry, 2019, 294: 216−223.
[36] QU Wenjuan, ZHANG Xinxin, HAN Xiao, et al. Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 329−337.
[37] GAO Kun, CHANG Liuyi, XU Yixiang, et al. Water-soluble fraction of pea protein isolate is critical for the functionality of protein-glucose conjugates obtained via wet-heating Maillard reaction [J]. Food Research International, 2023, 174: 113503.
[38] HE Wen, XIAO Nanhai, ZHAO Yan, et al. Effect of polysaccharides on the functional properties of egg white protein: A review[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(3): 656−666.
[39] WEN Chaoting, ZHANG Jixian, QIN Wei, et al. Structure and functional properties of soy protein isolate-lentinan conjugates obtained in Maillard reaction by slit divergent ultrasonic assisted wet heating and the stability of oil-in-water emulsions[J]. Food Chemistry, 2020, 331: 127374.
[40] LI Min, LI Weicheng, LI Dongyu, et al. Structure characterization, antioxidant capacity, rheological characteristics and expression of biosynthetic genes of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. lactis IMAU11823[J]. Food Chemistry, 2022, 384: 132566.
[41] LI Zhenghao, JIANG Hua, GUO Min, et al. Effect of various oligosaccharides on casein solubility and other functional properties: Via Maillard reaction[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 259: 129148.
[42] FU Hongling, SHAN Dandan, LI Jiaxin, et al. Potential functionality of β-conglycinin with subunit deficiencies: Soy protein may regulate glucose and lipid metabolism[J]. Food & Function, 2022, 13(23): 12291−12302.