罗芳, 李书艺, 祝振洲, 等. 超声辅助处理对大米蛋白-阿魏酸复合物结构和功能特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(11): 149−155. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060036

LUO Fang, LI Shuyi, ZHU Zhenzhou, et al. Effects of Ultrasound-assisted Treatment on the Structural and Functional Properties of Rice Protein-Ferulic Acid Complex[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(11): 149−155. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060036

· 研究与探讨 ·

超声辅助处理对大米蛋白-阿魏酸复合物结构和功能特性的影响

罗　芳[1,2], 李书艺[1,*], 祝振洲[1], 隋　勇[2], 施建斌[2], 熊　添[2], 梅　新[2,*]

（1.武汉轻工大学硒科学与工程现代产业学院, 湖北武汉 430023;
2.农业农村部农产品冷链物流技术重点实验室, 特色农产品资源挖掘与高质利用湖北省重点实验室, 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064）

摘　要: 本文采用超声辅助制备大米蛋白（RP）与阿魏酸（FA）共价/非共价复合物，通过多酚接枝当量、巯基含量及紫外、荧光和傅里叶红外光谱分析表征复合物结构，并评价复合物的溶解度、表面疏水性和抗氧化活性。结果表明：超声辅助共价复合物多酚接枝当量最高，达到 25.49 μg FA/mg，与 FA 复合降低了 RP 荧光强度，RP 与 FA 的复合物经超声辅助处理后，其荧光强度增强。相比于非超声处理，超声辅助处理 RP 与 FA 共价与非共价复合物的 α-螺旋相对含量分别降低 5.46% 和 3.41%；蛋白溶解度分别提升 25.85% 和 8.13%；DPPH 自由基清除能力分别提高 9.75% 和 3.72%；$ABTS^+$自由基清除能力分别提高 10.45% 和 2.06%。超声辅助可显著促进 RP 与 FA 的复合，改变复合物结构并提升其功能特性，为大米蛋白-多酚复合物在食品抗氧化剂、功能基料等领域的应用提供了技术参考和理论支撑。

关键词: 大米蛋白, 阿魏酸, 超声处理, 功能特性, 结构

中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)11−0149−07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060036

本文网刊:

Effects of Ultrasound-assisted Treatment on the Structural and Functional Properties of Rice Protein-Ferulic Acid Complex

LUO Fang[1,2], LI Shuyi[1,*], ZHU Zhenzhou[1], SUI Yong[2], SHI Jianbin[2], XIONG Tian[2], MEI Xin[2,*]

（1.College of Modern Industry of Selenium Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;
2.Key Laboratory of Cold Chain Logistics Technology for Agro-product, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Hubei Key Laboratory of Characteristic Resources and Utilization, Institute of Agro-product Processing and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China）

Abstract: This study investigated the preparation of rice protein (RP)-ferulic acid (FA) complex via ultrasound-assisted treatment, exploring both covalent and non-covalent interactions. The structure of these complexes was characterized using polyphenol grafting equivalents, sulfhydryl content analysis, UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy. Furthermore, the solubility, surface hydrophobicity, and antioxidant activity of the complexes were evaluated. The results demonstrated that the ultrasound-assisted covalent complex exhibited the highest polyphenol grafting equivalent, reaching 25.49 μg FA/mg. Complexation with FA reduced the fluorescence intensity of RP, whereas the ultrasound-assisted treatment of the RP-FA complex led to an enhancement in RP fluorescence. Compared to

收稿日期: 2025−06−05

基金项目: 湖北省重点研发计划项目（2023BBB101）; 湖北省优秀中青年科技创新团队（T2020012）。

作者简介: 罗芳（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工, E-mail: luofang1017@126.com。

*** 通信作者:** 李书艺（1987−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全, E-mail: lishuyisz@sina.com。

梅新（1978−）, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 粮食加工及副产物利用, E-mail: meixin0898@163.com。

non-ultrasonic treatment, ultrasound processing decreased the relative content of α-helix by 5.46% and 3.41% for covalent and non-covalent complexes, respectively. In addition, protein solubility was enhanced by 25.85% and 8.13% for covalent and non-covalent complexes prepared by ultrasound processing, respectively. Both DPPH and $ABTS^+$ free radical scavenging abilities were significantly improved, with increases of 9.75% and 3.72% for DPPH and 10.45% and 2.06% for $ABTS^+$, respectively, for covalent and non-covalent complexes after ultrasound treatment. Ultrasonic-assisted treatment significantly promoted the complexation of RP and FA, altered the structure of the complexes, and enhanced their functional properties, providing technical references and theoretical support for the application of rice protein-phenol complexes in fields such as food antioxidants and functional ingredients.

Key words: rice protein; ferulic acid; ultrasound treatment; functional properties; structure

大米蛋白(Rice Protein, RP)是一种优质且无麸质的植物蛋白, 必需氨基酸种类齐全, 具有较高的营养价值[1]。RP 主要由谷蛋白、醇溶蛋白、白蛋白以及球蛋白等组成, 其中谷蛋白的含量最高(约占总蛋白含量 80%)。研究表明, RP 在中性和酸性环境下的溶解度较低, 且未经水解 RP 抗氧化活性较低[2], 极大地限制 RP 在食品工业中的应用范围[3]。因此, 改善 RP 的结构和功能特性, 拓宽 RP 的应用范围具有重要的意义。

蛋白质和多酚主要通过共价和非共价两种方式结合进而诱导蛋白质构象发生改变, 并对其溶解性、乳化性及稳定性等功能特性产生影响[4]。共价相互作用是一种不可逆的相互作用, 在碱性条件下, 多酚可与蛋白质上的氨基酸残基共价结合, 特别是赖氨酸、半胱氨酸和色氨酸残基[5]。非共价主要是蛋白质与小分子之间通过表面疏水力、氢键和范德华力结合[6]。Jiang 等[7] 将绿原酸通过非共价相互作用与乳清蛋白及酪蛋白结合, 复合物溶解性、起泡性和抗氧化活性明显高于乳清蛋白及酪蛋白; 花生蛋白与多酚的共价结合可显著降低花生蛋白的过敏性, 并增强其乳化、发泡特性以及溶解度和抗氧化活性[8]; Chen 等[9] 发现大豆蛋白与阿魏酸非共价结合可以有效改善大豆蛋白的界面特性。蛋白质与多酚互作已成为改变蛋白质功能特性的重要手段之一。目前, 蛋白-多酚复合物制备方法存在效率低和反应时间长等缺点, 限制了这些功能组分的大规模商业化生产和应用[10]。超声辅助可以提高蛋白-多酚结合的反应效率, 通过机械剪切、空化效应和热效应使蛋白质空间结构展开, 增加蛋白质与多酚分子接触反应的机会, 从而增强蛋白质分子与多酚的结合能力, 提高蛋白质的抗氧化能力[11]。阿魏酸(Ferulic Acid, FA)具有调节脂质代谢、抗氧化、抗炎以及抑制细胞凋亡等多种生理功效[12]。研究表明, 阿魏酸可以与卵清蛋白非共价结合, 从而改善蛋白质的结构和发泡性能[13]。目前已有诸多有关多酚复合改性蛋白的研究, 但通过超声辅助大米蛋白-多酚复合改善蛋白质功能特性鲜有报道。

基于此, 本研究利用超声辅助处理制备大米蛋白-阿魏酸共价/非共价复合物(RP-FA), 并采用光谱分析、溶解度和抗氧化活性测定, 研究多酚复合对大米蛋白结构和功能特性的影响, 为大米蛋白稳态利用及营养健康产品开发提供理论支撑。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

大米蛋白　无锡金农生物科技有限公司; 阿魏酸　纯度 99%、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)　纯度≥99%, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)　色谱纯, 上海源叶生物科技有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)(色谱纯)、抗坏血酸(分析纯)　美国 Sigma 公司; 福林酚试剂、碳酸钠、三羧甲基氨基甲烷(Tris)、氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾　分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 甘氨酸　纯度 99%, 德国 Biofroxx 有限公司。

722N 可见分光光度计　上海仪电仪器有限公司; F4700 荧光分光光度计　日立分析仪器有限公司; SCIENTZ-ⅡD 超声细胞粉碎机　宁波新芝生物科技有限公司; Alpha Ⅱ傅里叶变换红外光谱仪　德国 Bruker 公司; SN-MS-6D 多联磁力搅拌器　上海尚仪仪器设备有限公司; UV-2800A 紫外可见分光光度计　尤尼柯上海仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 RP-FA 复合物的制备　共价复合物制备参考 Yan 等[14] 的方法并稍作修改, 取 2.0 g RP 溶于 100 mL 去离子水中, 常温下磁力搅拌 2 h, 4 ℃ 下过夜水合, 取 100 mL 上清液并加入 20 mg FA, 充分混合后调节 pH 为 9.0, 此溶液一部分直接磁力搅拌, 得 CRP-FA 溶液, 另一部分超声(450 W, 15 min)后磁力搅拌, 得 CRP-FA-US 溶液。非共价复合物制备参考 Shi 等[15] 的方法稍作修改, 如共价复合物中方法制备 RP 与 FA 混合溶液, 调节 pH 为 5.5, 一部分直接磁力搅拌, 得 NRP-FA 溶液, 一部分超声处理(450 W, 15 min)后继续磁力搅拌, 得 NRP-FA-US 溶液。将上述共价和非共价复合物于 4 ℃ 下透析(透析袋截留分子量 8000 Da)48 h , 截留物冷冻干燥备用。

1.2.2 复合物中多酚接枝当量的测定　复合物中多酚接枝当量测定参考 He 等[16] 方法, 取 0.5 mL 福林酚试剂与 0.5 mL 浓度为 1 mg/mL 的复合物溶液充分混合, 后加入 2 mL 浓度为 7.5%(w/v)的 Na_2CO_3 溶液, 混合液于室温静置 1 h 后记录其 760 nm 下吸光值。以 FA 为标准品, 制作 FA 浓度与吸光值的标

准曲线，标准曲线为 y=8.4778x+0.0456，R^2=0.9951，通过标准曲线计算复合物的多酚接枝当量（以 μg FA/mg 表示）。

1.2.3　蛋白质及复合物中游离巯基测定　蛋白质及复合物中游离巯基测定参考 Yan 等[17] 的方法，将 RP、复合物分别溶解于 Tris 甘氨酸缓冲液中，配制成浓度为 0.5 mg/mL 的样品溶液。取 50 μL DTNB 溶液与 4 mL 的样品溶液充分混合，并避光贮存 1 h 后记录其 412 nm 下的吸光值，蛋白质及复合物中巯基含量计算公式如下：

$$\text{巯基含量}(\mu\text{mol/g}) = \frac{75.53\times A_{412}\times D}{C}$$

式中：C 为样品浓度，mg/mL；D 为溶液稀释倍数；75.53 为摩尔吸光系数。

1.2.4　结构表征

1.2.4.1　紫外光谱分析　制备 0.25 mg/mL 蛋白质及复合物溶液于 220~300 nm 范围内以 1000 nm/min 扫描速度和 0.5 nm 的扫描间隔，进行紫外光谱分析。

1.2.4.2　傅里叶变换红外光谱分析　采用傅里叶变换红外光谱仪（Fourier Transform Infrared Spectrometer，FTIR），蛋白质及复合物在波数 4000~500 cm^{-1}、分辨率 4 cm^{-1} 下测定，时间分辨频谱 500 ps，信噪比 40000∶1，扫描次数 32 次，采用 PeakFit 4.12 与 Omnic 软件分析数据作图[18]。

1.2.4.3　荧光光谱分析　蛋白质及复合物溶液浓度为 1.0 mg/mL，激发波长为 280 nm，发射波长为 300~500 nm，狭缝宽度为 5 nm，扫描速率为 6000 nm/min[19]。

1.2.5　表面疏水性分析（H_0）　表面疏水性分析参照 Haskard 等[20] 描述的方法，取一定量蛋白质或复合物与 PBS 缓冲溶液（10 mmol/L，pH7.0）混合制备不同浓度样品溶液。取 10 μL ANS 溶液（8 mmol/L）分别与 2 mL 不同浓度样品溶液混合，避光放置 10 min 后检测其荧光强度，制作荧光强度与样品浓度曲线，其初始斜率即为 H_0。荧光激发和发射波长分别为 390 nm 和 470 nm，狭缝均为 5 nm。

1.2.6　蛋白质及复合物溶解度测定　取 40 mg 蛋白质或复合物与 100 mL 去离子水充分混合，后于 6000 r/min 下离心 30 min，考马斯亮蓝法测定上清液中蛋白质含量[21]，溶解度计算公式如下：

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{m_1}{m_2}\times 100$$

式中：m_1 为溶液中大米蛋白含量（mg）；m_2 为大米蛋白总含量（mg）。

1.2.7　抗氧化活性测定

1.2.7.1　DPPH 自由基清除活性　DPPH 自由基清除活性测定参照 Zhang 等[22] 方法，制备 0.2 mmol/L DPPH 乙醇溶液。将 2 mL DPPH 乙醇溶液（0.2 mmol/L）分别与 2 mL 蛋白质及复合物溶液（1 mg/mL）混合，黑暗中放置 30 min 后记录 517 nm 处吸光值。以抗坏血酸绘制标准曲线（y=40.656x−0.2104，R^2=0.9984），样品 DPPH 自由基清除能力以 g V_C 当量/100 g 表示，样品清除活性计算公式如下：

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right)\times 100$$

式中：A_0 为空白样品的吸光度，A_i 为样品的吸光度，A_j 为空白试剂的吸光度。

1.2.7.2　$ABTS^+$自由基清除活性　$ABTS^+$自由基清除活性测定参照 Re 等[23] 的方法并略加修改，取 2 mL 蛋白质或复合物溶液（1 mg/mL）与 2 mL ABTS 溶液混合，室温避光反应 6 min 后记录其 734 nm 处吸光值。以抗坏血酸为对照，制作标准曲线（y=109.2x+18.58，R^2=0.9914），计算 $ABTS^+$自由基清除能力，以 g V_C 当量/100 g 表示，样品清除活性计算公式如下：

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right)\times 100$$

式中：A_0 为空白样品的吸光度，A_i 为样品的吸光度，A_j 为空白试剂的吸光度。

1.3　数据处理

所有实验均重复 3 次，结果采用平均值±标准差表示，用 IBM SPASS Statistic 26 将实验数据进行正态分布检验，对符合正态分布的数据进行单因素 ANOVO 检验，P<0.05 具有统计学意义，采用 Origin 2019b 32-bit 绘图。

2　结果与分析

2.1　大米蛋白-阿魏酸复合物的多酚接枝当量

如图 1 所示，RP 共价结合多酚接枝当量显著高于非共价结合（P<0.05）；相同结合方式下，超声辅助处理可明显提升复合物中多酚接枝当量，CRP-FA、NRP-FA、CRP-FA-US、NRP-FA-US 的多酚接枝当量分别为 22.81、18.36、25.49、20.45 μg FA/mg。超声辅助共价结合复合物多酚接枝当量较未超声处理的共价复合物提高了 11.75%。研究表明，碱处理可破坏蛋白质空间结构，使其暴露出更多的多酚结合位

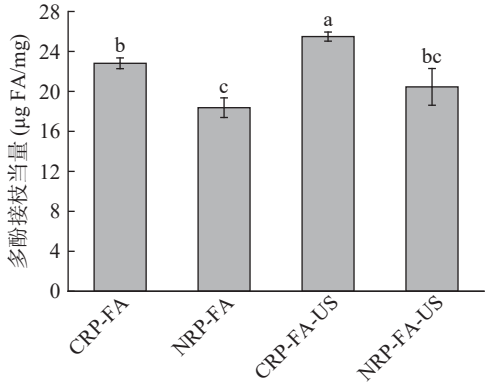


图 1　大米蛋白-阿魏酸复合物的多酚接枝当量

Fig.1　Polyphenol grafting equivalent of RP-FA complexes

注：不同字母表示差异显著（P<0.05），图 2、图 6~图 7 同。

点，从而提高蛋白质与多酚共价结合的接枝当量[24]，此外，超声所引发空化和机械效应产生了大量羟基自由基，这些自由基与蛋白质中的氨基或巯基等位点的氢原子发生反应，从而使 FA 的苯环和蛋白质形成 C-N 或 C-S 共价键，诱导 RP 和 FA 形成更稳定的共价复合物[25]。这与 Zheng 等[26] 研究的超声辅助自由基修饰可以提高卵清蛋白-表没食子儿茶素没食子酸酯的接枝效率一致。

2.2 大米蛋白-阿魏酸复合物的游离巯基含量

复合物的游离巯基测定结果如图 2 所示，相比 RP，复合物中游离巯基含量均显著降低（$P<0.05$）。相比于非共价复合物，共价复合物中游离巯基含量下降幅度更大，这可能是因为 FA 中的苯环与蛋白质分子上的氨基或巯基相互作用最终形成 C-N 或 C-S 共价键，导致蛋白质中游离巯基含量下降[26]。相同结合方式下，超声辅助的复合物游离巯基含量高于非超声处理；超声处理下，非共价复合物游离巯基含量较高，达 1.90 μmol SH/g，这可能是由于复合物形成过程中 RP 空间结构变化、聚集体解离以及超声处理导致游离巯基暴露量增多[27]。Chen 等[28] 的研究亦表明，超声辅助蛋白质的多酚修饰过程中，蛋白质空间结构发生变化，导致疏水基团暴露增加游离巯基含量。

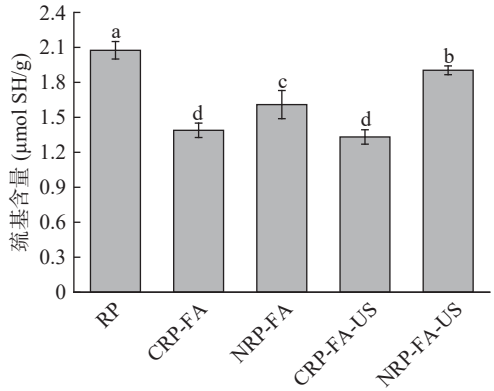


图 2 大米蛋白-阿魏酸复合物巯基含量

Fig.2 Sulfhydryl content of RP-FA complexes

2.3 结构表征

2.3.1 大米蛋白-阿魏酸复合物的紫外光谱分析 紫外光谱可用于评估由酚类物质和蛋白质之间的相互作用引起的蛋白质氨基酸残基微环境的变化[29]。如图 3 所示，RP 在 265 nm 处的特征吸收峰，与苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸残基有关。相比于 RP，复合物的紫外吸收强度均有所提高，且最大吸收波长均出现明显蓝移。共价复合物的紫外吸收强度大于非共价复合物；相同结合方式下，超声辅助的复合物紫外吸收强度更高，这可能是由于 FA 的亲水性羟基与蛋白质疏水基团间的相互作用，以及超声处理过程中芳香族氨基酸的暴露，提升了微环境的亲水性[26]。

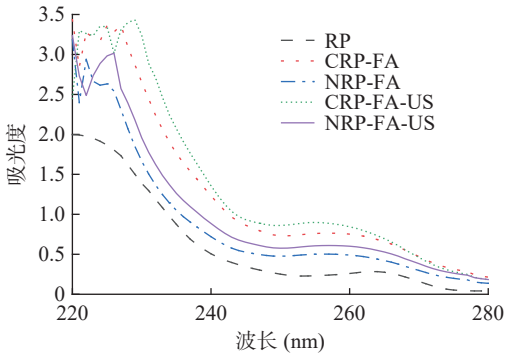


图 3 大米蛋白-阿魏酸复合物的紫外光谱结果

Fig.3 UV spectral results of RP-FA complexes

2.3.2 大米蛋白-阿魏酸复合物的红外光谱分析 如图 4 所示，相比于 RP，复合物的峰位置和峰强度发生明显变化。复合物在酰胺 A 带（3600~3100 cm^{-1}）发生红移，尤其是 CRP-FA 和 CRP-FA-US，其酰胺 A 带红移最为明显，达 3271.75 cm^{-1} 和 3272.61 cm^{-1}，说明多酚接枝和超声处理的双重作用导致蛋白质结构重排和构象变化。Xue 等[30] 的研究发现，超声处理谷蛋白与多酚混合和偶联会促进酰胺 A 带的轻微红移，这与本研究结果一致，均证实了超声处理促进了蛋白质-多酚复合物酰胺 A 带红移。

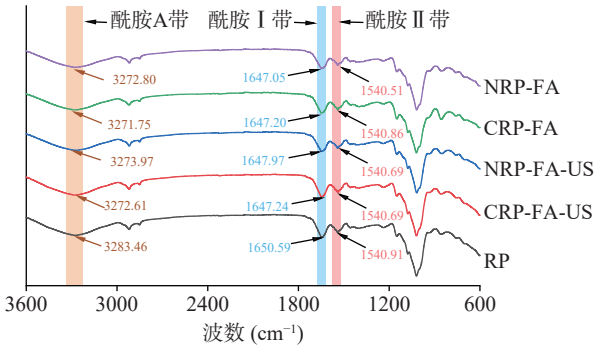


图 4 大米蛋白-阿魏酸复合物红外光谱结果

Fig.4 Infrared spectroscopic results of RP-FA complexes

蛋白质中肽主链的 C-O 拉伸振动可以提供有关不同二级结构的数据。FTIR 光谱在酰胺Ⅰ带（1600~1700 cm^{-1}）通过分峰拟合的二级结构相对含量如表 1 所示，相比于 RP，复合物中 α-螺旋和 β-转角的相对含量均显著降低，而 β-折叠的相对含量显著升高（$P<0.05$）。相比于非共价复合物，共价复合物的 α-螺旋相对含量较低、β-折叠相对含量较高，说明共价复合物二级结构变化较非共价复合物更明显[31]。相同结合方式下，超声辅助处理复合物 α-螺旋的相对含量低于非超声处理，CRP-FA-US 和 NRP-FA-US 的 α-螺旋的相对含量相较 CRP-FA 和 NRP-FA 分别下降了 5.46% 和 3.41%，说明超声会进一步降低复合物 α-螺旋的相对含量，这种变化可能是由羟基自由基的产生和超声波的空化效应引起的，这与 Zheng 等[32] 的研究结果一致。

表 1　大米蛋白-阿魏酸复合物的二级结构相对含量
Table 1　Relative content of secondary structures in RP-FA complexes

样品	α-螺旋相对含量(%)	β-折叠相对含量(%)	β-转角相对含量(%)	无规卷曲相对含量(%)
RP	20.99±0.15^{a}	29.10±0.46^{c}	28.60±0.91^{a}	21.31±0.37^{a}
CRP-FA	18.85±0.08^{bc}	35.94±0.73^{a}	25.69±0.30^{b}	19.17±0.49^{a}
NRP-FA	19.03±0.24^{b}	33.61±0.39^{b}	25.31±1.61^{b}	22.06±1.67^{a}
CRP-FA-US	17.82±0.58^{c}	35.46±0.49^{a}	25.84±0.08^{b}	21.95±0.57^{a}
NRP-FA-US	18.38±0.33^{bc}	35.42±0.13^{a}	25.73±0.17^{b}	20.01±1.11^{a}

注：同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

2.3.3　大米蛋白-阿魏酸复合物的荧光光谱分析　如图 5 所示，RP 表现出最强的荧光强度，最大发射波长在 351 nm 处，相较于 RP，复合物的荧光强度显著降低并发生蓝移(CRP-FA：347 nm、NRP-FA：348 nm、CRP-FA-US：347 nm、NRP-FA-US：348 nm)。共价复合物的荧光强度显著低于非共价复合物，且荧光发射峰蓝移更明显，这可能是由于蛋白质疏水基团参与共价结合，导致暴露于亲水环境中色氨酸残基数量增多，进而降低荧光强度[33]。相同结合方式下，超声处理复合物荧光强度高于非超声处理，这与超声处理产生的空化效应有关，在空化效应的影响下，蛋白质分子内部极性微环境发生改变，致使蛋白质的结构松散，色氨酸残基暴露，荧光强度升高[34]。

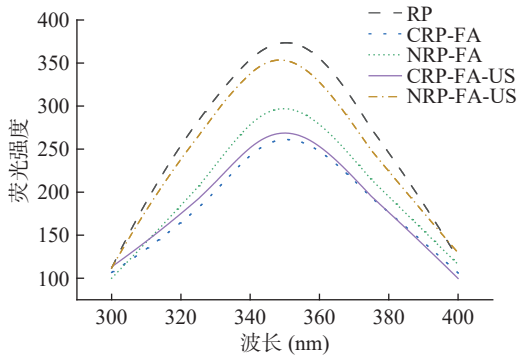


图 5　大米蛋白-阿魏酸复合物的荧光光谱
Fig.5　Fluorescence spectrum of RP-FA complexes

2.4　大米蛋白-阿魏酸复合物的表面疏水性

H_0 反映了极性水性环境中蛋白质分子表面疏水基团的数量，与蛋白质的表面功能特性密切相关[35]。如图 6 所示，相比于 RP，复合物 H_0 均显著降低(P<0.05)，这可能是由于蛋白质的疏水性氨基酸残基与多酚极性或非极性组分主要通过疏水相互作用结合。其中共价复合物的 H_0 显著低于非共价复合物(P<0.05)，这可能是由于 FA 的酚羟基通过共价键结合，使其与 RP 的结合率更高，导致表面疏水基团暴露减少[36]。与未超声辅助处理的复合物相比，超声辅助处理的共价复合物的 H_0 进一步降低，这可能归因于蛋白与多酚的结合增加[37]。

2.5　大米蛋白-阿魏酸复合物的溶解度

如图 7 所示，复合物溶解度均显著高于 RP(P<0.05)；共价复合物溶解度显著高于相同处理下非共价复合物；相比于非超声辅助处理复合物，超声辅助处理 RP 共价与非共价复合物的蛋白溶解度分别提升了 25.85% 和 8.13%，CRP-FA-US 溶解度最高，达 70.30%。研究表明，超声产生的空化气泡和强剪切作用，导致蛋白质分子解离并诱导其结构展开[38]，这种结构变化增强蛋白质与多酚相互作用，复合物中亲水性羟基数量增多，从而提高了复合物的水溶性[7]；此外，酚羟基通过相互作用力诱导蛋白质结构发生变化，蛋白质内部亲水、疏水基团同时暴露出来，FA 和疏水基团之间的相互作用会促进 FA 和 RP 的络合，进而增加了 RP 的溶解度[39]。

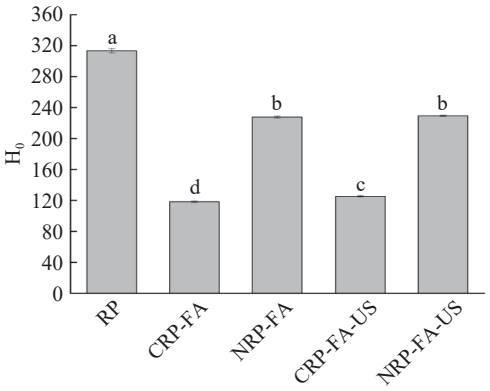


图 6　大米蛋白-阿魏酸复合物的表面疏水性
Fig.6　Surface hydrophobicity of RP-FA complexes

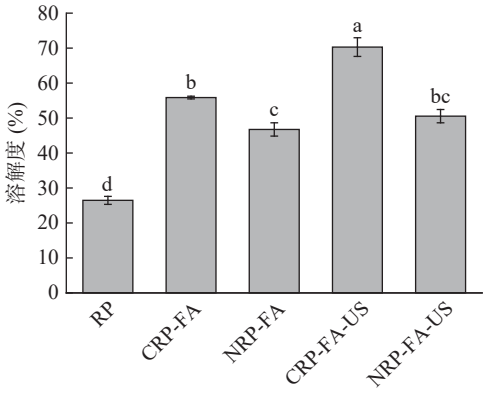


图 7　大米蛋白-阿魏酸复合物的溶解度
Fig.7　Solubility of RP-FA complexes

2.6　大米蛋白-阿魏酸复合物的抗氧化活性

如图 8 所示，复合物抗氧化活性显著高于 RP(P<0.05)，相比于 RP，CRP-FA、NRP-FA、CRP-FA-US 和 NRP-FA-US 的 DPPH 自由基清除能力分别提升了 71.20%、52.93%、87.88% 和 58.62%；$ABTS^{+}$ 自由基清除能力分别提升了 29.53%、29.30%、42.94% 和 31.97%。相比于非超声辅助处理复合物，超声辅助处理 RP 共价与非共价复合物的 DPPH 自由基清除能力分别提高了 9.75% 和 3.72%；$ABTS^{+}$ 自由基清除能力分别提高了 10.45% 和 2.06%。超声处理可显著提升 RP-FA 的抗氧化活性，共价复合物抗氧化活性高于相同处理下非共价复合物，CRP-

FA-US 的 DPPH 和 ABTS$^+$自由基清除能力均最高，分别达 1.81 g V_C 当量/100 g 和 0.55 g V_C 当量/100 g，这可能与超声促进 RP 和 FA 的共价结合以及 FA 结合当量高有关。Geng 等[40] 采用超声辅助制备大豆分离蛋白与表没食子儿茶素-3-没食子酸酯复合物，发现超声可提高复合物的 ABTS$^+$和 DPPH 自由基清除能力。

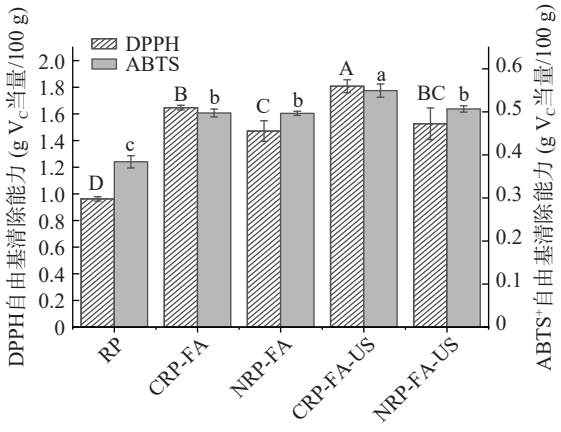


图 8 大米蛋白-阿魏酸复合物的抗氧化活性

Fig.8 Antioxidant activity of RP-FA complexes

注：不同大写字母表示样品的 DPPH 自由基清除能力差异显著(P<0.05)，不同小写字母表示样品的 ABTS$^+$自由基清除能力差异显著(P<0.05)。

3 结论

本研究通过超声辅助处理制备大米蛋白-阿魏酸复合物，并分析其结构与功能特性，结果表明，超声辅助可明显改变复合物结构，改善其功能特性。超声辅助共价结合复合物多酚接枝当量高达 25.49 μg FA/mg，较未超声共价结合复合物(22.81 μg FA/mg)提高了 11.75%。相同结合方式下，超声辅助处理复合物 α-螺旋的相对含量低于非超声处理，CRP-FA-US 和 NRP-FA-US 的 α-螺旋的相对含量相较 CRP-FA 和 NRP-FA 分别下降了 5.46% 和 3.41%。相比于 RP，复合物的表面疏水性显著降低，溶解度显著升高(P<0.05)，超声辅助共价复合物表面疏水性最低，溶解度最高(70.30%)。超声辅助共价结合的复合物抗氧化活性突出，DPPH 和 ABTS$^+$自由基清除能力分别为 1.81 g V_C 当量/100 g 和 0.55 g V_C 当量/100 g，较 RP 分别提高 87.88% 和 42.94%。总之，超声作为辅助手段，在赋予非共价/共价大米蛋白-阿魏酸复合物特征空间结构的同时，还提高复合物溶解度，增强其抗氧化活性，为大米蛋白-多酚复合物高效制备以及大米蛋白高效利用提供理论依据。

© 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] WEN Li, HUANG Lu, LI Yiwei, et al. New peptides with immunomodulatory activity identified from rice proteins through peptidomic and *in silico* analysis[J]. Food Chemistry, 2021, 364: 130357.

[2] SHIH F F. An update on the processing of high-protein rice products[J]. Nahrung, 2003, 47(6): 420−424.

[3] 王程, 王悦, 隋春红, 等. 硒化大米蛋白抗氧化性活性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(10): 165−170. [WANG Cheng, WANG Yue, SUI Chunhong, et al. Preparation of selenide rice proteins and their antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(10): 165−170.]

[4] 王远利, 康心蕊, 陶亮, 等. 蛋白质与多酚的互作机制及其应用[J]. 中国食品学报, 2024, 24(2): 357−372. [WANG Yuanli, KANG Xinrui, TAO Liang, et al. The interaction mechanism between protein and polyphenol and its application[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(2): 357−372.]

[5] KEPPLER J K, SCHWARZ K, van der GOOT A J. Covalent modification of food proteins by plant-based ingredients (polyphenols and organosulphur compounds): A commonplace reaction with novel utilization potential[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 101: 38−49.

[6] ZHANG Yanjie, ZHANG Na, ZHAO Xinhuai. The non-covalent interaction between two polyphenols and caseinate as affected by two types of enzymatic protein crosslinking[J]. Food Chemistry, 2021, 364: 130375.

[7] JIANG Jiang, ZHANG Zhipeng, ZHAO Jing, et al. The effect of non-covalent interaction of chlorogenic acid with whey protein and casein on physicochemical and radical-scavenging activity of *in vitro* protein digests[J]. Food Chemistry, 2018, 268: 334−341.

[8] HE Weiyi, HE Kan, LIU Xiaoyu, et al. Modulating the allergenicity and functional properties of peanut protein by covalent conjugation with polyphenols[J]. Food Chemistry, 2023, 415: 135733.

[9] CHEN Yurou, ZHANG Mengyue, LAN Yuhan, et al. Enhancing soy protein isolate flexibility through non-covalent ferulic acid modification: Implications for interfacial characteristics and protein-based emulsion performance[J]. Food Structure, 2024, 42: 100400.

[10] ZHANG Sairui, LI Xueqi, YAN Xiaojia, et al. Ultrasound-assisted preparation of lactoferrin-EGCG conjugates and their application in forming and stabilizing algae oil emulsions[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 89: 106110.

[11] TANG Shiqi, DU Qiuhan, FU Zhen. Ultrasonic treatment on physicochemical properties of water-soluble protein from *Moringa oleifera* seed[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 71: 105357.

[12] 李宏超, 王如心, 王文文, 等. 阿魏酸的生理功能及其在动物生产中的应用[J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(12): 48−52. [LI Hongchao, WANG Ruxin, WANG Wenwen, et al. Biological function of ferulic acid and its application in animal production[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2024, 60(12): 48−52.]

[13] CHANG Kefei, LIU Jingbo, JIANG Wei, et al. Ferulic acid-ovalbumin protein nanoparticles: Structure and foaming behavior[J]. Food Research International, 2020, 136: 109311.

[14] YAN Shizhang, WANG Qi, YU Jiaye, et al. Ultrasound-assisted preparation of protein-polyphenol conjugates and their structural and functional characteristics[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 100: 106645.

[15] SHI Wenyi, XIE Hexiang, OUYANG Kefan, et al. The effect of rice protein-polyphenols covalent and non-covalent interactions on the structure, functionality and *in vitro* digestion properties of rice protein[J]. Food Chemistry, 2024, 450: 139241.

［16］ HE Li, XU Honggao, LIU Xuan, et al. Identification of phenolic compounds from pomegranate（*Punica granatum* L.）seed residues and investigation into their antioxidant capacities by HPLC-$ABTS^+$ assay[J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1161−1167.
［17］ YAN Shizhang, YAO Yuxue, XIE Xuan, et al. Comparison of the physical stabilities and oxidation of lipids and proteins in natural and polyphenol-modified soybean protein isolate-stabilized emulsions[J]. Food Research International, 2022, 162: 112066.
［18］ WANG Peng, WANG Yawen, DU Jing, et al. Effect of cold plasma treatment of sunflower seed protein modification on its structural and functional properties and its mechanism[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 155: 110175.
［19］ MA Xiaobin, HOU Furong, ZHAO Huanhuan, et al. Conjugation of soy protein isolate（SPI）with pectin by ultrasound treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106056.
［20］ HASKARD C A, LI-CHAN E C Y. Hydrophobicity of bovine serum albumin and ovalbumin determined using uncharged（PRODAN）and anionic（ANS^-）fluorescent probes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(7): 2671−2677.
［21］ 王孝平, 邢树礼. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量的研究[J]. 天津化工, 2009, 23(3): 40−42. ［WANG Xiaoping, XING Shuli. Determination of protein guantitation using the method of coomassie brilliant blue[J]. Tianjin Chemical Industry, 2009, 23(3): 40−42.］
［22］ ZHANG W, HUANG J, WANG W, et al. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 93: 448−458.
［23］ RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9−10): 1231−1237.
［24］ HU H WU J H, LI-CHAN E C Y, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate（SPI）dispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 647−655.
［25］ WANG J, WANG J, KRANTHI V S, et al. Influence of high-intensity ultrasound on the IgE binding capacity of Act d 2 allergen, secondary structure, and *in-vitro* digestibility of kiwifruit proteins[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 71: 105409.
［26］ ZHENG Yimei, CHEN Boyu, HUANG Xuanxiang, et al. Ultrasound-assisted free radical modification on the structural and functional properties of ovalbumin-epigallocatechin gallate（EGCG）conjugates[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 95: 106396.
［27］ YAN Shizhang, XU Jingwen, ZHANG Shuang, et al. Effects of flexibility and surface hydrophobicity on emulsifying properties: Ultrasound-treated soybean protein isolate[J]. LWT, 2021, 142: 110881.
［28］ CHEN Jiahui, ZHANG Xing, FU Mengying, et al. Ultrasound-assisted covalent reaction of myofibrillar protein: The improvement of functional properties and its potential mechanism[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 76: 105652.
［29］ HAN S, CUI F Z, MCCLEMENTS D J, et al. Structural characterization and evaluation of interfacial properties of pea protein isolate-EGCG molecular complexes[J]. Foods, 2022, 11(18): 2895.
［30］ XUE Feng, XIE Yuran, LI Chen, et al. Prevention of frozen-dough from deterioration with incorporation of glutenin-polyphenols conjugates prepared by ultrasound[J]. LWT, 2021, 151: 112141.
［31］ SUI Xiaonan, SUN Hongbo, QI Baokun, et al. Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: Focus on covalent and non-covalent interactions[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 871−878.
［32］ ZHENG T, LI X H, TAHA A, et al. Effect of high intensity ultrasound on the structure and physicochemical properties of soy protein isolates produced by different denaturation methods[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 97: 105216.
［33］ YAN Shizhang, XIE Fengying, ZHANG Shuang, et al. Effects of soybean protein isolate-polyphenol conjugate formation on the protein structure and emulsifying properties: Protein-polyphenol emulsification performance in the presence of chitosan[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2021, 609: 125641.
［34］ LI Suyun, YANG Xue, ZHANG Yanyan, et al. Effects of ultrasound and ultrasound assisted alkaline pretreatments on the enzymolysis and structural characteristics of rice protein[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 31: 20−28.
［35］ ZHAO Chengbin, MIAO Zhenchi, QI Qi, et al. Interactions of soy protein isolate with common and waxy corn starches and their effects on acid-induced cold gelation properties of complexes[J]. Food Chemistry: X, 2023, 18: 100671.
［36］ YOU Juan, LUO Yongkang, WU Jianping. Conjugation of ovotransferrin with catechin shows improved antioxidant activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(12): 2581−2587.
［37］ GUO Na, YE Shuang, ZHOU Ganghua, et al. Effect of ultrasound treatment on interactions of whey protein isolate with rutin[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 95: 106387.
［38］ ARZENI C, MARTÍNEZ K, ZEMA P, et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 108(3): 463−472.
［39］ CHEN Jiahui, ZHANG Xing, CHEN Xing, et al. Phenolic modification of myofibrillar protein enhanced by ultrasound: The structure of phenol matters[J]. Food Chemistry, 2022, 386: 132662.
［40］ GENG Mengjie, FENG Xumei, YANG Haodong, et al. Comparison of soy protein isolate-(−)-epigallocatechin gallate complexes prepared by mixing, chemical polymerization, and ultrasound treatment[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 90: 106172.