张密霞, 王志敏, 赵翠松, 等. 超声预处理对乳清蛋白结构修饰及其发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 52−59. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030249
ZHANG Mixia, WANG Zhimin, ZHAO Cuisong, et al. Ultrasonic-induced Structural Modification of Whey Protein and Effect on α-Glucosidase Inhibitory Activity of Fermentation Products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 52−59. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030249

· 研究与探讨 ·

超声预处理对乳清蛋白结构修饰及其发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响

张密霞, 王志敏, 赵翠松, 袁　欣, 马春丽*
（东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030）

摘　要: 为了提高乳清蛋白水解产物的生物利用度，探究不同超声功率处理（100、200、300、400 W）对乳清蛋白结构特性及其发酵产物水解度、肽含量和 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响。结果表明，适度的超声可以使乳清蛋白结构展开，与未超声相比，300 W、25 min 的超声条件使乳清蛋白的内源荧光强度达到最大值，平均粒径降低了 62%（P<0.05），表面疏水性及游离巯基数量分别提高了 35%、36%，α-螺旋、β-折叠分别降低了 42% 和 20%，β-转角、无规则卷曲分别提高了 26% 和 77%（P<0.05）；扫描电镜显示乳清蛋白结构从边缘粗糙的大体积片状结构变为边缘光滑的碎片状结构。利用 *Lactiplantibacillus plantarum* C11 对超声处理后乳清蛋白进行发酵，与未超声发酵乳清蛋白相比，水解度，肽含量以及 α-葡萄糖苷酶抑制率分别提高了 26%、15% 和 32%（P<0.05）。适度的超声预处理能够增强乳清蛋白发酵产物的 α-葡萄糖苷酶抑制活性，这为增效制备乳清蛋白生物活性肽提供了新的策略。

关键词: 超声, 乳清蛋白, 发酵, 结构, α-葡萄糖苷酶抑制活性
中图分类号: TS209　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0052−08
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030249　　本文网刊:

Ultrasonic-induced Structural Modification of Whey Protein and Effect on α-Glucosidase Inhibitory Activity of Fermentation Products

ZHANG Mixia, WANG Zhimin, ZHAO Cuisong, YUAN Xin, MA Chunli*
（College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China）

Abstract: To improve the bioavailability of whey protein hydrolysates, the effects of different ultrasonic power treatments (100, 200, 300, 400 W) on the structural characteristics of whey protein were investigated, along with their effect on the degree of hydrolysis, peptide content, and α-glucosidase inhibitory activity of the hydrolysates. The results demonstrated that moderate ultrasound treatment expanded the whey protein structure. Compared to the untreated sample, at 300 W for 25 min, the intrinsic fluorescence intensity reached its peak, and the average particle size decreased by 62% (P<0.05). Additionally, surface hydrophobicity and free sulfhydryl content increased by 35% and 36%, respectively. Secondary structure analysis revealed a reduction in α-helix (42%) and β-sheet (20%) content, while β-turn and random coil increased by 26% and 77% (P<0.05), respectively. Scanning electron microscopy (SEM) further confirmed structural changes, showed a transition from large, rough-edged sheets to smaller, smooth-edged fragments. *Lactiplantibacillus plantarum* C11 was used to ferment whey protein after ultrasonic treatment. Compared with non-ultrasonic fermented whey protein, the degree of hydrolysis, peptide content and α-glucosidase inhibition rate were increased by 26%, 15% and 32% (P<0.05), respectively. Moderate ultrasonic pretreatment can enhance the α-glucosidase inhibitory activity of whey protein fermentation products, which provides a new strategy for synergistic preparation of whey protein bioactive peptides.

Key words: ultrasound; whey protein; fermentation; structure; α-glucosidase inhibitory activity

收稿日期: 2025−03−18
基金项目: 黑龙江省自然科学基金（LH2024C031）。
作者简介: 张密霞（1998−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 畜产品加工工程, E-mail: zzmmxx02628@163.com。
*** 通信作者:** 马春丽（1978−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 畜产品加工工程, E-mail: machunli8@163.com。

糖尿病在当代社会已经严重影响到人类健康，需要受到全面重视并采取措施进行预防和治疗[1]。预计到 2045 年，受到糖尿病影响的人数将达到 7.83 亿[2]。α-葡萄糖苷酶是一种存在于人体小肠上皮的水解酶，能对 α-(1,4)-糖苷键进行特异性水解，释放出人体易于吸收的葡萄糖，引起血糖上升[3]。抑制 α-葡萄糖苷酶活性可明显降低碳水化合物的消化与吸收，有效调节血糖水平的变化，成为治疗糖尿病的重要方法。目前市面上具有 α-葡萄糖苷酶抑制活性的药物主要包括阿卡波糖、伏格列波糖和米格列醇等，这类药物会带来严重的腹泻，呕吐等胃肠道副作用[4−5]，因此从天然来源中寻找经济效益高且副作用小的降糖成分受到了广泛关注。

乳清蛋白作为公认的优质蛋白来源，其必需氨基酸组成均衡且生物利用率高，通过可控水解可释放具有 α-葡萄糖苷酶抑制活性[6]、抗氧化活性[7] 等功能的生物活性肽。但乳清蛋白致密的三维空间结构制约其酶解效率。超声技术作为一种新兴物理改性方法，通过空化效应引发的局部高压冲击波及剪切效应，可有效解聚乳清蛋白的致密结构[8]。目前对于超声波改性蛋白主要集中于理化性质及功能特性的研究[9]，对于超声预处理后发酵乳清蛋白增效制备生物活性肽的相关研究较少。因此本研究用不同超声功率预处理乳清蛋白，通过测定粒径、电位、表面疏水性等相关理化性质观察乳清蛋白结构的变化；对超声后的乳清蛋白进行发酵，测定发酵产物的水解度，肽含量和 α-葡萄糖苷酶抑制活性，探究超声预处理对乳清蛋白发酵产物水解情况的影响，为乳清蛋白高效制备生物活性肽提供理论支持。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

乳清浓缩蛋白 WPC 80、对硝基苯-α-D-吡喃葡萄糖苷（PNPG）　上海麦克林生化科技有限公司；*Lactiplantibacillus plantarum* C11　保藏于东北农业大学实验室；邻苯二甲醛（OPA）　北京博奥拓达科技有限公司；十二烷基硫酸钠（SDS）　天津市瑞金特化学品有限公司；α-葡萄糖苷酶（AG）、二硫代硝基苯甲酸（DTNB）　上海源叶生物科技有限公司；8-苯氨基-1-萘磺酸（8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid, ANS）　上海阿拉丁生物化学科技股份有限公司；其他试剂均为分析纯。

UV-2600 分光光度计　岛津仪器（苏州）有限公司；JY98-IIN 超声细胞破碎仪　宁波新芝生物科技股份有限公司；RF-6000 荧光分光光度计　日本岛津仪器有限公司；NANO ZS90 纳米粒度仪及 Zeta 电位分析仪　美国马尔文帕纳科技有限公司；SpectraMax i3x 酶标仪　美国美谷分子仪器（上海）有限公司；3K15 冷冻离心机　德国 Sigma 有限公司；JW-FD-18S 真空冷冻干燥机　上海锦玟仪器设备有限公司；S-3400N 扫描电子显微镜　日本日立公司。

1.2　实验方法

1.2.1　超声改性乳清蛋白　取乳清浓缩蛋白 WPC 80 溶于 0.02 mol/L pH7.0 的磷酸盐缓冲液，制成 50 mg/mL 的乳清蛋白溶液。在超声频率 20 kHz，功率分别为 0、100、200、300、400 W 下处理 25 min，超声模式：超声 2 s，间歇 2 s。样品冷冻干燥保存备用。

1.2.2　粒径与 Zeta 电位的测定　参照 Jambrak 等[10] 的方法，将不同超声预处理的乳清蛋白样品溶液稀释到 0.5 mg/mL，常温条件下用纳米粒度仪测定样品溶液的电位和粒径。

1.2.3　表面疏水性的测定　采用 Kato 等[11] 的步骤并稍作修改。样品分别稀释为 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mg/mL。将 20 μL 8.0 mmol/L 的 ANS 加入 5 mL 的蛋白溶液中，反应在室温下避光进行 15 min。用荧光分光光度计测定样品荧光强度，激发波长和发射波长分别为 390 和 470 nm，狭缝宽度为 5 nm。以荧光强度对蛋白质浓度作图，初始斜率即蛋白质的表面疏水性（H_0）。

1.2.4　内源荧光光谱的测定　内源荧光光谱参照 Abadía-García 等[12] 的方法进行测定并稍作修改。通过荧光光谱仪测定乳清蛋白荧光光谱。将不同超声处理的乳清蛋白用 0.01 mol/L pH7.0 磷酸盐缓冲液稀释为 0.5 mg/mL 的溶液。以 λ_{ex}=290 nm 为激发波长，在 300~460 nm 范围内进行扫描，狭缝宽度为 5 nm，进行荧光光谱测定。

1.2.5　游离巯基的测定　参照马爽[13] 的方法并稍作修改。将 500 μL 5 mg/mL 的样品、2.5 mL Tris-甘氨酸溶液（0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L 甘氨酸和 4 mmol/L EDTA）和 20 μL Ellman 试剂（4 mg DTNB 溶解到 1 mL 的 Tris-甘氨酸缓冲液）混合，室温下避光反应 15 min，在 412 nm 波长下测定吸光度，根据公式计算游离巯基含量。

$$SH(\mu mol/g) = \frac{73.53 \times A_{412} \times D}{C}$$

其中：D 为稀释倍数；C 为稀释蛋白浓度（mg/mL）；A_{412} 为样品的吸光度。

1.2.6　傅里叶变换红外光谱的测定　傅里叶红外光谱的测定参照 Shan 等[14] 的方法进行测定并稍作修改。取 2 mg 冷冻干燥后的乳清蛋白粉末样品，加 200 mg 溴化钾（KBr），于玛瑙研钵内充分研磨后压片，在 4000~400 cm^{-1} 区间用傅里叶红外光谱仪扫描。光谱数据使用 OMNIC 8.0 软件进行分析，Peak Fit Version 4.12 软件对蛋白质二级结构进行分析，根据 1700~1600 cm^{-1} 的指定条带相对面积计算二级结构各部分含量。

1.2.7　微观结构的表征　取适量未超声以及超声处理后的冻干乳清蛋白粉末样品放在导电胶表面，喷金后，利用扫描电子显微镜（SEM）在 5 kV 电压和

1000 的放大倍数下观察各乳清蛋白样品的微观结构形态

1.2.8 超声预处理对发酵乳清蛋白水解情况的影响

50 mg/mL 的乳清蛋白溶液，以 300 W、25 min 的超声条件进行超声处理。将未超声和超声处理乳清蛋白样品于 95 ℃，15 min 条件下进行灭菌处理后，37 ℃ 下发酵 48 h，制备实验组：单一发酵组、超声结合发酵组，以仅超声乳清蛋白溶液作为对照组。进行水解度，肽含量和 α-葡萄糖苷酶抑制率的测定。

1.2.8.1 乳清蛋白发酵产物水解度的测定 采用邻苯二甲醛（OPA）法[15] 测定样品的水解度，并稍作修改。在 10 mL 离心管中加入 1 mL 样品和 2 mL 蒸馏水，混匀后再加入 5 mL 0.75 mol/L 三氯乙酸（TCA）溶液，混匀后静置 l0 min，5000×g 离心 10 min，取上清液 1 mL 加入到 7.5 mL 的 OPA 试剂中，混匀后室温下避光反应 2 min，于 340 nm 测定吸光度值，计算样品的水解度。

$$DH(\%) = \frac{Y_1 - Y_2}{h_{tot}} \times 100$$

其中，Y_1：样品水解后游离氨基含量（mmol/g）；Y_2：样品水解前游离氨基含量（mmol/g）；h_{tot}：蛋白肽键含量（mmol/g），每克乳清蛋白所含总肽键数为 8。

1.2.8.2 乳清蛋白发酵产物肽含量的测定 多肽含量的测定采用双缩脲法[16]。向乳清蛋白样品中加入相同体积的 10% 三氯乙酸（TCA）溶液，室温反应 30 min 后在 5000×g 下离心 15 min 并保留上清液，将 1 mL 上清液与 4 mL 双缩脲试剂混匀，反应 30 min 后于 540 nm 处测定吸光度，计算样品中的多肽含量。

1.2.8.3 乳清蛋白发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制率的测定 根据张欣格[17] 的方法并略作修改测定 α-葡萄糖苷酶抑制率。各试剂的添加量如表 1 所示。

表 1 测定 α-葡萄糖苷酶抑制率所需试剂添加量（mL）

Table 1 Dosage of reagents required for determination of α-glucosidase inhibition rate (mL)

试剂	PBS代替酶与样品组	PBS代替样品组	PBS代替酶组	样品组
磷酸盐缓冲液（PBS）	80	70	60	50
PNPG	20	20	20	20
α-葡萄糖苷酶溶液	0	10	0	10
样品溶液	0	0	20	20
碳酸钠溶液	20	20	20	20

首先加入 0.2 mol/L pH6.8 PBS，然后加 0.2 U/mL α-葡萄糖苷酶溶液以及样品溶液，37 ℃ 反应 15 min 后，加浓度为 2.5 mmoL/mL 的对硝基苯-α-D-吡喃葡萄糖苷溶液（PNPG），37 ℃ 反应 30 min 后加入 0.2 mol/L Na_2CO_3 溶液终止反应，并于 405 nm 波长下测定吸光度。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = \frac{(A_c - A_b) - (A_s - A_d)}{A_c - A_b} \times 100$$

其中，A_c：PBS 代替样品组吸光度；A_b：PBS 代替酶与样品组吸光度；A_s：样品组吸光度；A_d：PBS 代替酶组吸光度。

1.3 数据处理

所有实验进行三次测定，数据以平均值±标准差的形式表示；使用 IBM SPSS Statistics 24 的 ANOVA 方差分析和 Duncan 多重检验对实验数据进行统计分析，$P<0.05$ 时表示数据之间存在显著性差异，使用 Origin 2024 软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 超声功率对乳清蛋白粒径与 Zeta 电位的影响

蛋白质的粒径大小与其功能属性密切相关。不同超声功率对乳清蛋白粒径的影响如图 1 所示。未超声的乳清蛋白的平均粒径为 591.2 nm，经过不同超声功率处理的乳清蛋白的平均粒径均显著低于未超声组（$P<0.05$），超声产生的剪切力和湍流力可以破坏乳清蛋白的非共价键，破坏蛋白的致密结构，使乳清蛋白解聚，显著降低乳清蛋白的粒径[18]。随着超声功率增加，乳清蛋白的平均粒径先降低后增加（$P<0.05$），在 300 W 达到最低，为 226.5 nm，与对照相比降低了 62%（$P<0.05$）。400 W 时粒径又增加到 257.9 nm，这可能是由于过度超声引起蛋白质分子的运动加速，增加分子间的碰撞，促进了蛋白质分子聚集的产生，这一结果与 Jambrak 等[10] 对乳清蛋白的研究结果一致，结果表明，适当的超声能显著降低乳清蛋白分子的粒径。

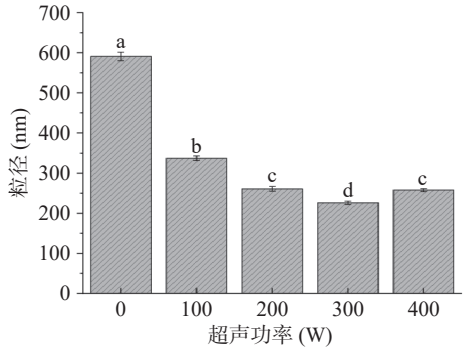


图 1 超声功率对乳清蛋白粒径的影响

Fig.1 Effects of ultrasonic power on particle size of whey protein

注：图中小写字母不同代表存在显著性差异（$P<0.05$），图 2~图 3、图 5、图 7 同。

粒子的表面电荷不仅在其稳定性中起关键作用，还会诱导与其他粒子的相互作用[19]。乳清蛋白表面电位呈现负值，这主要归因于蛋白质表面暴露的氨基酸基团产生的负电荷，Zeta 电位绝对值越大，说明蛋白分子表面静电斥力越大，蛋白质体系越稳定[20]。超声功率对乳清蛋白 Zeta 电位的影响如图 2 所示。未经超声处理的乳清蛋白的 Zeta 电位绝对值为

29.4 mV，和对照组相比，不同条件超声处理的乳清蛋白的表面电位绝对值均显著增加（P<0.05）。超声功率为 300 W，乳清蛋白的表面电位绝对值最大，为 36.1 mV。表面电位绝对值的增加可能是超声产生的空化效应和机械效应，使乳清蛋白聚集解离，蛋白质构象发生变化，更多带负电荷的残基暴露在蛋白质表面[21]。与 Shen 等[19] 研究结果一致，超声处理使乳清蛋白表面电位绝对值增加。

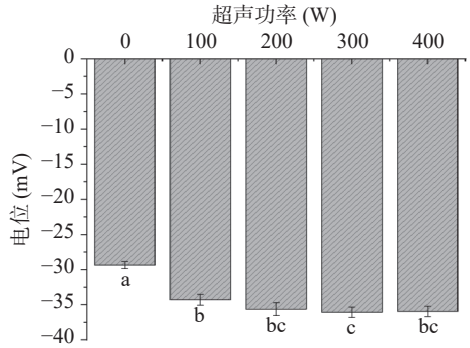


图 2　超声功率对乳清蛋白电位的影响

Fig.2　Effects of ultrasound power on Zeta of whey protein

2.2　超声功率对乳清蛋白表面疏水性的影响

表面疏水性（H_0）是指分子表面所带疏水残基的数量，可以反映蛋白分子表面疏水残基的暴露情况[22]。如图 3 所示，与未超声组相比，经超声诱导后乳清蛋白的表面疏水性显著提升（P<0.05），超声引发疏水残基从分子核心区向表面迁移，增加了乳清蛋白的表面疏水性。这与 Yao 等[23] 的研究结果一致。在本研究中，超声时间一定，功率参数与蛋白质表面疏水基团分布呈现倒 U 型构效关系（P<0.05），在 300 W 25 min 时达到最高值，与未超声相比提高了 35%。超声功率进一步增加使蛋白质再次发生聚集，疏水残基随之重新包覆在蛋白质中，造成疏水性降低[24]。Jiang 等[25] 发现高功率，长时间超声会使黑豆蛋白结构重新聚集，表面疏水性降低，本研究结果与之一致。

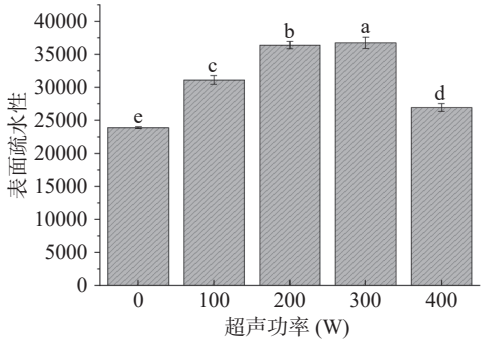


图 3　超声功率对乳清蛋白表面疏水性的影响

Fig.3　Effects of ultrasonic power on surface hydrophobicity of whey protein

2.3　超声功率对乳清蛋白内源荧光光谱的影响

内源性荧光光谱主要用于表征氨基酸残基中着色基团的相互作用，所以可以通过表征内源荧光光谱观察蛋白质的三级结构变化。如图 4 所示，与未经过超声处理的乳清蛋白相比，超声处理乳清蛋白的荧光强度均明显增加，但是超声处理只引起了荧光强度的变化，并没有引起显著的红移或是蓝移。表明超声处理改变了乳清蛋白样品的色氨酸残基周围局部区域的构象。超声时间一定，荧光强度随着超声功率的增加呈现先增加后减少的趋势，在 300 W 25 min 达到最大值。超声处理使蛋白质内部更多的色氨酸残基暴露，荧光强度上升[26]。与 300 W 超声处理相比，荧光强度的下降可能是因为高强度，长时间超声使蛋白质结构重新发生变化，通过疏水相互作用使蛋白质的结构重新聚集，色氨酸被重新包裹在蛋白质内部，荧光强度下降。Jin 等[27]报道，高强度的超声条件导致荞麦分离蛋白荧光强度下降，本研究结果与之相似。

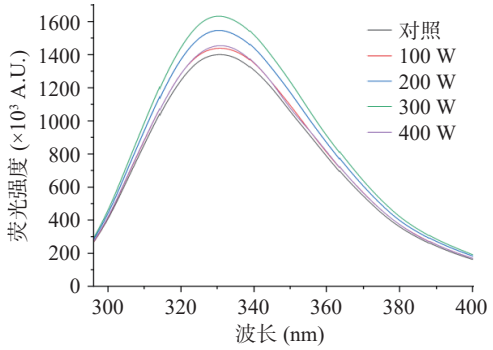


图 4　超声功率对乳清蛋白内源荧光光谱的影响

Fig.4　Effects of ultrasonic power on endogenous fluorescence spectrum of whey protein

2.4　超声功率对乳清蛋白游离巯基含量的影响

游离巯基（RSH）是主要位于蛋白质分子表面的一类基团，可参与形成非共价键，对蛋白质的结构产生重要影响。超声对乳清蛋白游离巯基含量变化如图 5 所示。与对照相比，超声处理后乳清蛋白的游离巯基含量显著增加，并且随着超声功率的增加呈现先增加后下降的趋势（P<0.05），300 W 25 min 时游离巯基含量最高，较对照组提高了 36%（P<0.05）。这可能是由于适度的超声能够诱导蛋白质构象的解

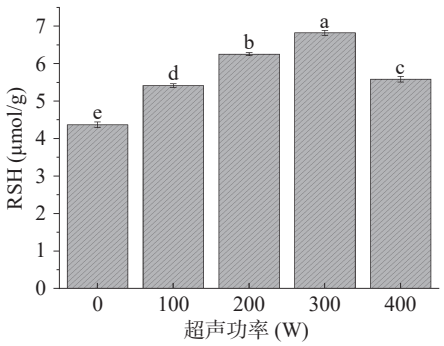


图 5　超声功率对乳清蛋白游离巯基（RSH）含量的影响

Fig.5　Effects of ultrasonic power on reactive sulfhydryl content (RSH) of whey protein

折叠，导致嵌入蛋白质分子内的游离巯基暴露出来。然而，过度的超声会导致蛋白质再次发生聚合，从而使暴露在外的巯基重新被埋藏到分子内部，或者形成二硫键进而导致游离巯基数量降低[28]。

2.5 超声功率对乳清蛋白傅里叶变换红外光谱的影响

通过傅里叶变换红外光谱可以对乳清蛋白官能团和二级结构的变化进行分析。结果如图 6 所示，乳清蛋白在 4000~400 cm^{-1} 范围内出现了一系列特征峰。不同超声条件处理的乳清蛋白溶液具有相似的 FTIR 曲线，说明超声处理并没有改变乳清蛋白的骨架结构[29]。在酰胺 I 带（1600~1700 cm^{-1}）出现两个特征峰，且与未超声处理相比，除了 400 W 25 min，其他组均出现轻微红移，可能与超声处理导致 C=O 的伸缩振动有关，可用来表征蛋白质二级结构（α-螺旋、β-折叠、β-转角、无规则卷曲）的变化[30]。

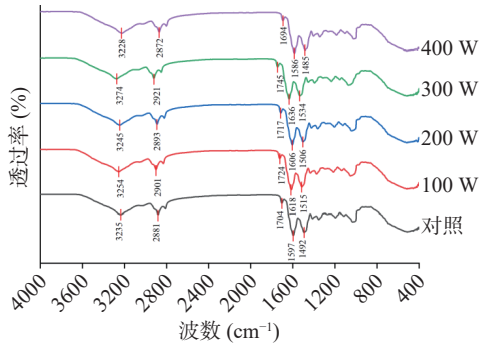


图 6 超声功率对乳清蛋白傅里叶变换红外光谱的影响

Fig.6 Effects of ultrasound power on Fourier transform infrared

图 7 显示了经过去卷积分析，二阶导数拟合以及吸光度分析得出的不同超声功率处理乳清蛋白后，二级结构含量变化。与未经超声处理的乳清蛋白溶液相比，经过超声处理的乳清蛋白溶液的 α-螺旋和 β-折叠均显著降低（$P<0.05$），β-转角、无规则卷曲的含量显著增加（$P<0.05$）。在 300 W 25min 时，α-螺旋和 β-折叠的含量最低为 16% 与 27%，较对照分别降低了 42% 和 20%，β-转角、无规则卷曲的含量最高，为 30% 和 27%，与对照相比分别提高了 26% 和 77%。造成这种结果是因为超声处理改变了蛋白质的二级结构，空化效应产生的高能量和机械力破坏了原有分子间的相互作用力，使乳清蛋白的二级结构展开，使 α-螺旋和 β-折叠转变为 β-转角、无规则卷曲[31]。胡锦瑞等[32] 也发现，超声预处理会引起绿豆蛋白的 α-螺旋、β-折叠、β-转角和无规则卷曲含量的变化，同时超声辅助酶解处理组与单独酶解处理组相比，α-螺旋和 β-折叠含量显著降低，β-转角和无规则卷曲含量显著增加。

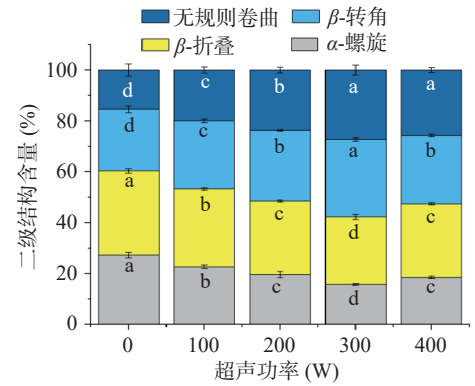


图 7 超声功率对乳清蛋白二级结构含量的影响

Fig.7 Effects of ultrasound power on second structure content of whey protein

2.6 超声功率对乳清蛋白微观结构的影响

图 8 显示了未经超声处理和超声处理的乳清蛋白的形态特征。超声处理使乳清蛋白微观结构发生了明显改变。未经处理的乳清蛋白边缘粗糙且呈较大体积的片层状，经过超声处理的乳清蛋白呈现不规则碎片状，且边缘光滑。同样值得注意的是，随着功率的增加，在 400 W 25 min 时，乳清蛋白的微观结构重新形成了较大的聚集体，这些结果与之前粒径变化结果一致。过度超声会使乳清蛋白的小分子重新聚集起来，促使乳清蛋白分子之间展开并暴露游离巯基和疏水基团相互作用形成更大的聚集体[28]。Zhu 等[33] 发现在 600 W 功率下，处理 30 min 的样品比处理 15 min 的样品形成的碎片更大，本文的结果与之类似。

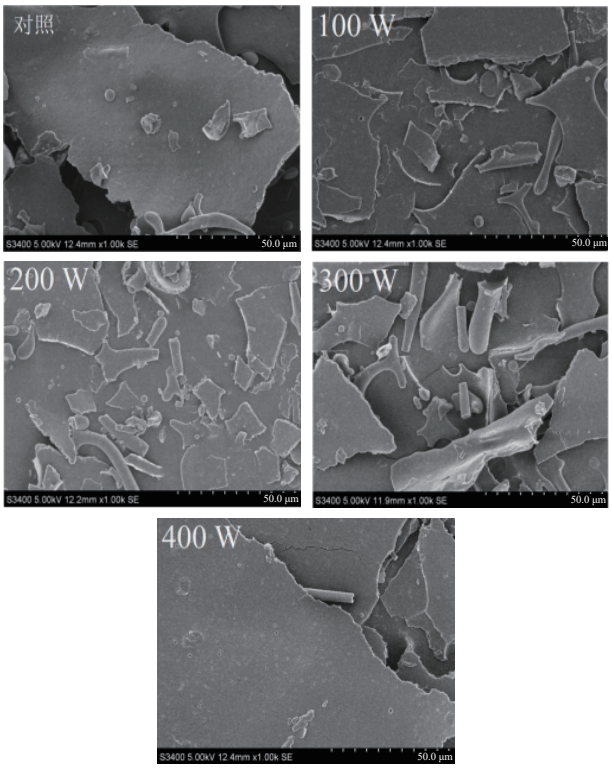


图 8 超声功率对乳清蛋白扫描电镜的影响（50 μm）

Fig.8 Effects of ultrasonic power on scanning electron microscope of whey protein (50 μm)

2.7 超声预处理对乳清蛋白发酵产物水解度和肽含量的影响

图 9 和图 10 分别为超声预处理对乳清蛋白发

酵产物水解度和肽含量的影响。结果表明，与仅超声乳清蛋白组相比，未超声发酵以及超声预处理发酵乳清蛋白均显著提高了其发酵产物的水解度与肽含量（P<0.05）。超声预处理乳清蛋白发酵产物的水解度为 29.4%，较单一发酵提高了 26%（P<0.05）。肽含量为 4.1 mg/mL，相比于单一发酵提高了 15%（P<0.05）。由于超声的机械作用破坏了蛋白质的非共价结合力，使乳清蛋白结构展开，更多水解位点暴露，菌株发酵产生的蛋白酶能更多与乳清蛋白的水解位点结合，蛋白酶可及性增加，使蛋白水解程度提高，肽含量增加。Pipaliya 等[34] 研究超声辅助酶解对脱脂小麦胚芽粕进行预处理，然后用枯草芽孢杆菌和安琪酵母进行发酵，使小麦胚芽粕肽含量得到提高，本研究结果与之类似。

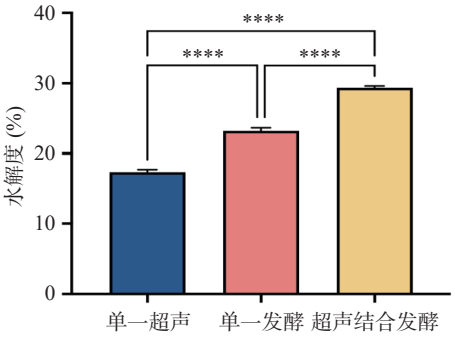


图 9　超声预处理对乳清蛋白发酵产物水解度的影响

Fig.9　Effects of ultrasonic pretreatment on the degree of hydrolysis of whey protein fermentation products

注：****代表差异极显著（P<0.0001）。

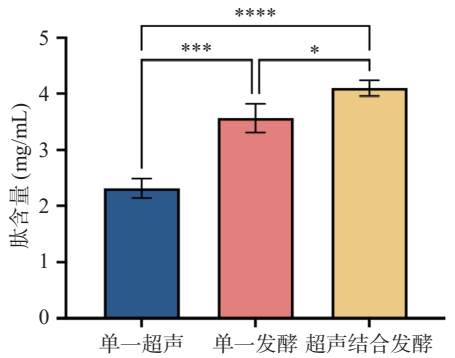


图 10　超声预处理对乳清蛋白发酵产物肽含量的影响

Fig.10　Effects of ultrasonic pretreatment on peptide content of whey protein fermentation products

注：图中*代表 P<0.05；***代表 P<0.001；****代表 P<0.0001，图 11 同。

2.8　超声预处理对乳清蛋白发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响

图 11 为超声预处理对乳清蛋白发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制率的变化。与单一超声相比，单一发酵以及超声结合发酵均显著提高了乳清蛋白发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制率（P<0.05），超声预处理乳清蛋白发酵产物具有最高 α-葡萄糖苷酶抑制率，为 41.3%（P<0.05）。相比于单一发酵，乳清蛋白发酵产物提高了 32%（P<0.05）。超声增加乳清蛋白疏水口袋的展开，先前的研究表明，疏水氨基酸的存在更有可能与 α-葡萄糖苷酶活性口袋中的氨基酸形成氢键，对 α-葡萄糖苷酶表现出更好的 α-葡萄糖苷酶抑制活性[35]。超声可以改变蛋白质的结构，包括疏水基团的暴露、二级结构的重新分布以及微观结构的变化，这些结构的修饰可以暴露更多的水解位点，提高酶的可及性[36]。因此推测超声处理后 α-葡萄糖苷酶抑制活性的上升是蛋白分子的结构修饰和解折叠导致某些特定氨基酸的暴露以及分子间相互作用发生变化引起的蛋白质水解作用增加引起的。

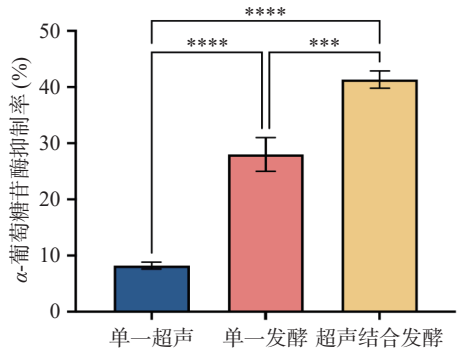


图 11　超声预处理对乳清蛋白发酵产物 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响

Fig.11　Effects of ultrasonic pretreatment on α-glucosidase inhibition rate of whey protein fermentation products

3　结论

本研究探讨了不同功率超声预处理对乳清蛋白结构特性及其发酵产物水解度、肽含量以及 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响，通过测定不同超声功率处理后乳清蛋白的相关理化性质，发现适当超声处理能改变乳清蛋白二级与三级结构，在 300 W、25 min 时，乳清蛋白结构得到显著改善，粒径最小，荧光强度达到最大值，表面疏水性及游离巯基数量较对照相比分别提高 35%、36%；α-螺旋、β-折叠较对照分别降低了 42% 和 20%，β-转角、无规则卷曲与对照相比分别提高了 26% 和 77%。在此条件下对乳清蛋白进行发酵，乳清蛋白发酵产物的水解度，肽含量以及 α-葡萄糖苷酶抑制活性均显著上升（P<0.05），与单一发酵相比分别提高了 26%、15% 和 32%。超声预处理发酵乳清蛋白提高了发酵产物的 α-葡萄糖苷酶抑制活性，表明适度的超声预处理能够增强乳清蛋白发酵产物的 α-葡萄糖苷酶抑制活性。但还应该对乳清蛋白发酵产物进行分离纯化以及体外和体内实验研究，以确定乳清蛋白发酵产物中生物活性肽的具体降糖机制。

© 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] FAN Yaozhu, WANG Xuefeng, LI Yiyan, et al. Amelioration

of hypoglycemic peptide MoHpP-2 from *Moringa oleifera* seeds in C2C12/IR cells and type 2 diabetes mellitus mice[J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105435.

[2] HAN Guixin, XU Yuxian, LI Jiayu, et al. Hypoglycemic peptide preparation from *Bacillus subtilis* fermented with *Pyropia*: Identification, molecular docking, and *in vivo* confirmation[J]. Food Chemistry, 2025, 463(Pt 1): 141096.

[3] LORDAN S, SMYTH T J, SOLER-VILA A, et al. The *α*-amylase and *α*-glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2170−2176.

[4] DIN U N K, GANESAN A. Efficacy and cardiovascular safety of *α*-glucosidase inhibitors[J]. Current Drug Safety, 2020, 16(2): 122−128.

[5] ZHAO Mingxuan, WU Jinlian, DONG Lichun, et al. Bioequivalence study of miglitol orally disintegrating tablets in healthy Chinese volunteers under fasting condition based on pharmacodynamic and pharmacokinetic parameters[J]. Clinical Pharmacology in Drug Development, 2023, 12(11): 1089−1098.

[6] PIPALIYA R, BASAIAWMOIT B, SAKURE A A, et al. Peptidomics and molecular dynamics on bioactive peptides produced and characterized from the fermented whey of "Panchali" sheep of West India[J]. Food Chemistry, 2025, 468: 142466.

[7] KHEROUFI A, BRASSESCO M E, CAMPOS D A, et al. Functional properties of peptides obtained from whey proteins by ficin extract hydrolysis[J]. Food Bioscience, 2022, 47: 101707.

[8] MUSHTAQ M, AYOUB A, BANDAY J A, et al. Nano-reduction of whey protein using ultra-sonication as a novel approach to improve its applicability in food industry[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2025, 114: 107230.

[9] DINESHBHAI C K, BASAIAWMOIT B, SAKURE A A, et al. Exploring the potential of *Lactobacillus* and *Saccharomyces* for biofunctionalities and the release of bioactive peptides from whey protein fermentate[J]. Food Bioscience, 2022, 48: 101758.

[10] JAMBRAK A R, MASON T J, LELAS V, et al. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 121: 15−23.

[11] KATO A, NAKAI S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure, 1980, 624(1): 13−20.

[12] ABADÍA-GARCÍA L, CASTAÑO-TOSTADO E, CARDADOR-MARTÍNEZ A, et al. Production of ACE inhibitory peptides from whey proteins modified by high intensity ultrasound using bromelain[J]. Foods, 2021, 10(9): 2099.

[13] 马爽. 高强度超声对乳清蛋白的结构及功能特性影响研究[D]. 长春: 吉林大学, 2018. [MA Shuang. Effects of ultrasound treatment on structure and functional properties of whey protein[D]. Changchun: Jilin University, 2018.]

[14] SHAN Yuanyuan, TANG Dengyu, WANG Rong, et al. Rheological and structural properties of ovomucin from chicken eggs with different interior quality[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105393.

[15] 舒琴, 赵文俊, 刘思宇, 等. 超声波协同马克思克鲁维酵母 Z17 胞内粗酶处理降低乳清蛋白的致敏性[J]. 中国食品学报, 2022, 22(2): 11−22. [SHU Qin, ZHAO Wenjun, LIU Siyu, et al. Reduction of whey protein antigenicity by intracellular crude enzyme treatment of *Kluyveromyces marxianus* Z17 combined with ultrasound treatment[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(2): 11−22.]

[16] 张玲, 石彩文, 肖凯军, 等. 双缩脲法测定罗非鱼源胶原蛋白肽含量的改良及应用评价[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 234−240. [ZHANG Ling, SHI Caiwen, XIAO Kaijun, et al. Improvement and application of biuret method for determination of collagen peptide from tilapia[J]. Food Science, 2019, 40(20): 234−240.]

[17] 张欣格. 绵羊乳清蛋白 *α*-glucosidase 抑制肽与 DPP-Ⅳ抑制肽的筛选及抑制机理研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021. [ZHANG Xinge. Isolation and inhibition and mechanism of peptides against *α*-glucosidase and DPP-Ⅳ from sheep whey protein [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2021.]

[18] CHEN Xiaoxia, WEI Lusha, MAO Yazhou, et al. A comparative study of ultrasound and thermal processing: Effects on goat milk stability and protein structure[J]. Journal of Dairy Science, 2025, 108(4): 3273−3286.

[19] SHEN Xue, FANG Tianqi, GAO Feng, et al. Effects of ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre- and post-thermal aggregation[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 668−676.

[20] ZHANG Xuan, YAN Dongmei, QIU Wenjuan, et al. Corrigendum to "Effects of ultrasound combined with pH shift modification on functional and structural properties of peanut proteins" [Int. J. Biol. Macromol. 283 (2024) 137874][J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 284(Pt 1): 138184.

[21] PANG Lidong, LIU Ming, CHEN Chen, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the structure, IgE binding capacity, functional properties and bioactivity of whey protein hydrolysates *via* multispectroscopy and peptidomics revealed[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 110: 107025.

[22] WANG Xipeng, WANG Cunfang, MA Mengjia, et al. Investigating the impact of ultrasound-assisted treatment on the crafting of mulberry leaf protein and whey isolate complex: A comprehensive analysis of structure and functionality[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 108: 106983.

[23] YAO Kun, XIA Yu, GAO Hao, et al. Influence of ultrasonic power and ultrasonic time on the physicochemical and functional properties of whey protein isolate[J]. International Journal of Food Engineering, 2019, 15(3-4): 20170370.

[24] RESENDIZ-VAZQUEZ J A, ULLOA J A, URÍAS-SILVAS J E, et al. Effect of high-intensity ultrasound on the technofunctional properties and structure of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed protein isolate[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 37: 436−444.

[25] JIANG Lianzhou, WANG Jing, LI Yang, et al. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates[J]. Food Research International, 2014, 62: 595−601.

[26] ZHANG Wenjuan, ZHAO Panpan, LI Jinzhe, et al. Effects of ultrasound synergized with microwave on structure and functional properties of transglutaminase-crosslinked whey protein isolate[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 83: 105935.

[27] JIN J, OKAGU O D, YAGOUB A E A, et al. Effects of sonication on the *in vitro* digestibility and structural properties of buckwheat protein isolates[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 70: 105348.

[28] 王进英, 冶梓芩, 马金鸽, 等. 超声改性对菜籽分离蛋白和亚麻分离蛋白品质特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(19): 199−206. [WANG Jinying, YE Ziqin, MA Jinge, et al. Effects of ultrasound modification on quality properties of canola protein isolate and flaxseed protein isolate[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(19): 199−206.]

[29] LOUSHIGAM G, SHANMUGAM A. Modifications to func-

tional and biological properties of proteins of cowpea pulse crop by ultrasound-assisted extraction[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 97: 106448.

[30] GAO Kun, ZHA Fengchao, YANG Zhongyu, et al. Structure characteristics and functionality of water-soluble fraction from high-intensity ultrasound treated pea protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 125: 107409.

[31] LI Haijing, HU Yifan, ZHAO Xinhuai, et al. Effects of different ultrasound powers on the structure and stability of protein from sea cucumber gonad[J]. LWT, 2021, 137: 110403.

[32] 胡锦瑞, 曹荣安, 陈洪生, 等. 超声辅助酶解对绿豆肽结构和抗氧化性的影响[J]. 中国食品学报, 2025, 25(1): 239−251. [HU Jinrui, CAO Rongan, CHEN Hongsheng, et al. Impact of ultrasound-assisted enzymatic digestion on the structure and antioxidant properties of mung bean peptides[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(1): 239−251.]

[33] ZHU Zhenbao, ZHU Weiduo, YI Jianhua, et al. Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate[J]. Food Research International, 2018, 106: 853−861.

[34] PIPALIYA R, BASAIAWMOIT B, SAKURE A A, et al. Peptidomics-based identification of antihypertensive and antidiabetic peptides from sheep milk fermented using *Limosilactobacillus fermentum* KGL4 MTCC 25515 with anti-inflammatory activity: *In silico*, *in vitro*, and molecular docking studies[J]. Frontiers in Chemistry, 2024, 12: 1389846.

[35] NGUYEN T M P, LEE Y K, ZHOU W B. Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by highintensity ultrasound[J]. International Dairy Journal, 2009, 19(6−7): 410−416.

[36] ZHANG Yanyan, WANG Bei, ZHOU Cunshan, et al. Surface topography, nano-mechanics and secondary structure of wheat gluten pretreated by alternate dual-frequency ultrasound and the correlation to enzymolysis[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 31: 267−275.