张天宇, 谢焕, 李春梅, 等. 超声辅助湿法糖基化改性核桃粕蛋白的制备及性能分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(12): 46−55. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070235
ZHANG Tianyu, XIE Huan, LI Chunmei, et al. Preparation and Performance Analysis of Walnut Meal Protein Modified by Ultrasound-assisted Wet Glycosylation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(12): 46−55. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070235

·特邀主编专栏—植物基食品原料基础研究、前沿技术创新及其健康绿色产品开发（客座主编：于寒松、张健、李健）·

超声辅助湿法糖基化改性核桃粕蛋白的制备及性能分析

张天宇[1], 谢　焕[1], 李春梅[1], 周雨亭[2], 刘曼丽[1,2,*]
（1.新疆理工学院食品安全与营养实验教学示范中心, 新疆阿克苏 843100;
2.新疆黑木耳工程技术研究中心, 新疆阿克苏 843100）

摘　要: 为开发功能性核桃粕蛋白-多糖复合物，以提升核桃粕蛋白的资源利用率并扩大其应用。本文以核桃粕与黑木耳多糖为原料，采用超声辅助湿法糖基化对核桃粕蛋白进行改性，首先考察超声功率、pH、超声时间、核桃粕蛋白与黑木耳多糖质量比对核桃粕蛋白接枝度与褐变程度的影响，并进行响应面试验以确定最佳制备工艺，随后对改性后的核桃粕蛋白进行性能研究。结果表明：核桃粕蛋白与黑木耳多糖质量比为 1:2，反应温度 80 ℃，pH9.60、超声功率 295 W、超声时间 9.6 min 时，接枝度为 48.60%，与预测值相差不大。由聚丙烯酰胺电泳分析得知，通过超声辅助湿法美拉德反应成功制备核桃粕蛋白糖基化产物。扫描电镜表明，改性后核桃粕蛋白粒径尺寸减小，呈现球状微粒形态。超声辅助湿法糖基化改性核桃粕蛋白溶解度、持水性、乳化性分别是未改性蛋白的 1.61 倍、2.25 倍、1.62 倍。超声辅助湿法糖基化改性核桃粕蛋白溶解度与持水性分别是湿法糖基化改性核桃粕蛋白的 1.12 倍、1.65 倍，乳化稳定性略高（P<0.05）。该实验为提高核桃粕蛋白资源利用率，拓展其应用提供一定参考。

关键词: 核桃粕蛋白, 黑木耳多糖, 超声, 糖基化, 功能特性, 结构表征
中图分类号: TS209　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)12−0046−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070235
本文网刊:

Preparation and Performance Analysis of Walnut Meal Protein Modified by Ultrasound-assisted Wet Glycosylation

ZHANG Tianyu[1], XIE Huan[1], LI Chunmei[1], ZHOU Yuting[2], LIU Manli[1,2,*]
（1.Experimental Teaching Demonstration Center of Food Safety and Nutrition, Xinjiang Institute of Technology, Aksu 843100, China;
2.Xinjiang Auricularia Engineering Technology Research Center, Aksu 843100, China）

Abstract: To develop a functional walnut meal protein-polysaccharide complex for improving the resource utilization of walnut meal protein and expanding its applications, this study focused on the modification of walnut meal protein via ultrasound-assisted wet glycosylation. And the walnut meal and black fungus polysaccharid were used as raw material, the effects of key process parameters—including ultrasound power, pH, ultrasound duration, and the mass ratio of walnut meal protein to black fungus polysaccharide—on the grafting degree and browning level of walnut meal protein were first investigated, response surface methodology (RSM) was then employed to optimize the preparation process and determine the optimal conditions. Subsequently, the functional properties of the modified walnut meal protein were systematically deter-

收稿日期: 2025−07−18
基金项目: 新疆维吾尔自治区教育厅高校科研项目（XJEDU2023P153）。
作者简介: 张天宇（2001−）, 男, 本科, 研究方向: 食品营养与检验教育, E-mail: 15596681721@163.com。
*** 通信作者:** 刘曼丽（1997−）, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品化学与营养学, E-mail: liumanli97@163.com。

mined. The results showed that under the optimal conditions—mass ratio of walnut meal protein to black fungus polysaccharide of 1∶2, reaction temperature of 80 ℃, pH of 9.60, ultrasound power of 295 W, and ultrasound time of 9.6 min—the grafting degree reached 48.60%, which was in close agreement with the predicted value. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) analysis confirmed the successful preparation of walnut meal protein glycosylation products via ultrasound-assisted wet Maillard reaction. Scanning electron microscopy (SEM) observations revealed that the modified walnut meal protein exhibited a reduced particle size and a spherical micro-particle morphology. Functional property assays showed that the solubility, water-holding capacity, and emulsifying activity of the ultrasound-assisted wet glycosylation-modified walnut meal protein were 1.61-fold, 2.25-fold, and 1.62-fold those of the unmodified protein, respectively. Compared with the wet glycosylation-modified counterpart, the ultrasound-assisted modified protein displayed 1.12-fold higher solubility, 1.65-fold higher water-holding capacity, and slightly improved emulsifying stability (P<0.05). This study provides a theoretical and technical reference for improving the resource utilization of walnut meal protein and broadening its industrial applications.

Key words: walnut meal protein; black fungus polysaccharide; ultrasound; glycosylation; functional properties; structural characterization

核桃是世界上种植最广泛的坚果之一，我国是世界上最大的核桃生产国[1]。阿克苏地区是新疆核桃产业主产区，截至 2023 年，种植总面积为 16.79 万/hm^2，总产量达 55.01 万/t[2]。核桃中油脂含量高达 62%~68%，其中单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量最高[3]。除核桃油外，核桃还含有 24% 蛋白质、12%~16% 碳水化合物、1.5%~2.0% 纤维素和 1.7%~2.0% 矿物质[4]。核桃中优质植物蛋白，是促进大脑活性和减缓衰老的健康蛋白[5]。核桃粕（Walnut-dregs）是核桃榨油后得到的主要副产物，目前核桃粕综合利用率低，多用作肥料、饲料，仅有少部分用作生产蛋白粉等初级产品。这是由于核桃粕中核桃粕蛋白（Walnut meal protein, WMP）在水溶液中溶解性较差，限制其在食品工业中应用，造成核桃粕资源浪费，因此有必要对 WMP 深入研究，提高 WMP 溶解度，充分利用 WMP 资源，提高其经济价值。

糖基化作为一种常用、简洁有效的蛋白质修饰方法，能高效地修饰蛋白质特性[6]。目前，蛋白质糖基化方法主要包括干热法、湿热法[7]。干热法糖基化具有操作简单，反应条件容易控制，但反应时间较长[8]。湿热法糖基化具有反应时间短，反应迅速，但反应较为剧烈不易控制，反应产物接枝度较低[9]。超声作为一种非热加工技术，可通过物理手段对蛋白质进行表面修饰，破坏蛋白质分子间二硫键或非共价键，导致蛋白质分子聚集或高级结构发生变化，从而提高蛋白质功能特性，是一条“绿色”、“低碳”新途径。目前已广泛用于食品、医疗等领域[10−12]。李素云等[13] 比较研究超声波和非超声波对小麦蛋白接枝产物的影响，发现在较低超声波强度下，所制得接枝产物具有较好稳定性。除此之外，在玉米醇溶蛋白[14]、酪蛋白[15] 应用研究中发现，适当采用超声辅助优化蛋白质与糖接枝改性，可提高其接枝度，且糖基化产物功能性质均有所改善，但目前对于 WMP 超声辅助湿法糖基化却未见报道。

黑木耳（*Auricularia auricula*）是一种药食同源真菌，其主要活性成分为多糖，其多糖水溶性和药理活性亦相应较高。黑木耳多糖（*Auricularia auricula* polysaccharide, AAP）是一种结构复杂的酸性杂多糖，在其基本结构特征中 AAP 并非单一结构的分子，而是一个由多种单糖以复杂方式连接而成的、具有特定主链和支链结构的酸性杂多糖混合物[16]。相关研究表明 AAP 具有抗氧化、抗癌、提高免疫等多种功能活性，其生物活性取决于它们的结构特征，包括单糖组成、糖苷键类型、分支结构和构象特征等[17]，借鉴糖基化肽的研究经验[18]，开发将 AAP 共价连接到特定蛋白质上的方法。

因此，本研究选用 WMP、AAP 为原料，采用超声辅助湿法糖基化对 WMP 进行改性处理。以接枝度为指标设定多种单因素实验，后通过响应面分析确定超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白（Ultrasonic-walnut meal protein-*Auricularia auricula* polysaccharide, Ult-WMP-AAP）最佳工艺，并对其进行电泳、电镜分析确定其分子量及结构，后对其溶解度、持水性、乳化性、乳化稳定性功能特性进行测定，以评价改性效果。本研究旨在通过超声辅助湿法糖基化改性提高 WMP 综合开发利用率，为核桃粕食品加工和利用提供有力支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

核桃粕　阿克苏浙疆果业有限公司；AAP（≥80%）　蒲城国豪生物科技有限公司；牛血清蛋白　上海麦克林生化科技股份有限公司；考马斯亮蓝 G_{250}、考马斯亮蓝 R_{250}　北京索莱宝科技有限公司；所有有机试剂均为国产分析纯。

SCIENTZ-IID 超声波细胞粉碎机　宁波新芝生物科技股份有限公司；K110 全自动凯氏定氮仪　山东海能科学仪器有限公司；DYY-8C 型电泳仪电源　北京六一生物科技有限公司；HX-10-50B 实验型冷冻干燥机　上海沪析实业有限公司；UV759 紫外可见分光光度计　上海佑科仪器仪表有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　核桃粕原料成分分析检测　蛋白质采用凯氏

定氮法, 参考 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》; 脂肪采用索氏抽提法, 参考 GB 5009.6-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》; 水分采用直接干燥法, 参考 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》。

1.2.2 核桃粕蛋白提取 参考代暘鑫等[19] 和 Tao 等[20] 的方法并稍作改动。取 10 g 核桃粕, 使用蒸馏水配制为 0.03 g/100 mL 核桃粕溶液, 水浴搅拌(30 min, 室温), 调 pH 为 9, 40 ℃ 下水浴搅拌 120 min, 超声处理 90 min(40 kHz, 功率 100 W, 室温)后调 pH 至 7.0 终止反应, 以 4000 r/min 离心 10 min 收集上清液, 后冷冻干燥 48 h, 得到 WMP 置于−18 ℃ 冰箱备用。

1.2.3 超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白制备 参考陈宇等[21] 和孙乾等[22] 的方法并稍作改动。使用蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 将 WMP 与 AAP 以一定质量之比添加到 WMP 溶液中, 室温下搅拌 0.5 h, 调节 pH 为 9.0, 80 ℃ 水浴加热磁力搅拌 1 h。然后置于超声波反应器中, 在一定功率, 一定时长的条件下进行超声处理, 后调 pH 至 7.0 终止反应, 冷冻干燥 48 h, 即得到 Ult-WMP-AAP 置于−18 ℃ 冰箱备用。使用蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 将 AAP 按照一定比例添加到 WMP 溶液中, 室温下搅拌 0.5 h, 调节 pH 为 9.0, 80 ℃ 水浴加热磁力搅拌 1 h, 待冷却后调 pH 至 7.0 终止反应, 冷冻干燥 48 h, 即得到湿法糖基化改性核桃粕蛋白(Walnut meal protein-*Auricularia auricula* polysaccharide, WMP-AAP)放于−18 ℃ 冰箱备用。蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 将 WMP 与 AAP 以一定质量之比物理混合, 室温下搅拌 0.5 h, 冷冻干燥 48 h, 即得 WMP 与 AAP 物理混合物(Mix-walnut meal protein-*Auricularia auricula* polysaccharide, Mix-WMP-AAP)放于−18 ℃ 冰箱备用。

1.2.4 单因素实验

1.2.4.1 超声功率对超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白产物制备的影响 蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 按照 WMP 与 AAP 质量之比 1∶1 添加到 WMP 溶液中, 室温下搅拌 0.5 h, 调 pH 为 9.0, 水浴加热伴磁力搅拌(反应温度 80 ℃)1 h, 接着置于超声波反应器中, 在 100、200、300、400、500 W 的超声条件下反应 8 min, 超声处理脉冲模式为开启 3 s、关闭 2 s, 后调 pH 至 7.0 终止反应, 冷冻干燥 48 h, 确定反应条件较佳值。

1.2.4.2 pH 对超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白产物制备的影响 蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 按照 WMP 与 AAP 质量之比 1∶1 添加到 WMP 溶液中, 室温下搅拌 0.5 h, 调 pH 为 7、8、9、10、11, 水浴加热伴磁力搅拌(反应温度 80 ℃)1 h, 接着置于超声波反应器中, 在超声 300 W 的条件下反应 8 min, 超声处理脉冲模式为开启 3 s、关闭 2 s, 后调 pH 至 7.0 终止反应, 冷冻干燥 48 h, 确定反应条件较佳值。

1.2.4.3 超声处理时长对超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白产物制备的影响 蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 按照 WMP 与 AAP 质量之比 1∶1 添加到 WMP 溶液中, 室温下搅拌 0.5 h, 调 pH 为 9.0, 水浴加热伴磁力搅拌(反应温度 80 ℃)1 h, 接着置于超声波反应器中, 在超声 300 W 的条件下反应 4、6、8、10、12 min, 超声处理脉冲模式为开启 3 s、关闭 2 s, 后调 pH 至 7.0 终止反应, 冷冻干燥 48 h, 确定反应条件较佳值。

1.2.4.4 WMP 和 AAP 质量之比对超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白产物制备的影响 蒸馏水配制质量浓度为 60 g/L WMP 溶液, 按照 WMP 与 AAP 质量之比(3∶1、2∶1、1∶1、1∶2、1∶3)添加到 WMP 溶液中, 室温下搅拌 0.5 h, 调 pH 为 9.0, 水浴加热伴磁力搅拌(反应温度 80 ℃)1 h, 接着置于超声波反应器中, 在超声 300 W 的条件下反应 8 min, 超声处理脉冲模式为开启 3 s、关闭 2 s, 后调 pH 至7.0 终止反应, 冷冻干燥 48 h, 确定反应条件较佳值。

1.2.5 响应面试验 在单因素实验基础上, 以 pH(X_1)、超声功率(X_2)、超声时间(X_3), 3 个影响显著因素为自变量, WMP 与 AAP 接枝度(Y)为响应值, 因素水平设计见表 1。

表 1 响应面因素水平设计

Table 1 Factor and level design for response surface methodology

水平	因素		
	X_1: pH	X_2: 超声功率(W)	X_3: 超声时间(min)
1	8	200	8
0	9	300	10
−1	10	400	12

1.2.6 接枝度(Grafting degree, DG)测定 参考 Tao 等[20] 方法采用邻苯二甲醛比色法, 并稍做改动。吸取 200 μL 待测样品溶液(15 g/mL)加入 4.0 mL OPA 试剂, 在 35 ℃ 水浴中反应 2 min, 在 340 nm 处测量吸光度 A_{340}。以蒸馏水替代样品作为试剂空白[23]。按公式(1)计算:

$$接枝度(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad 式(1)$$

式中: A_0 为接枝反应前溶液吸光度; A_1 为接枝反应后溶液吸光度。

1.2.7 褐变程度测定 参考孙乾等[22] 方法, 并稍做改动。取 2 mL 待测样品溶液(15 mg/mL)加入 2 mL 稀释液(0.10 g/100 mL SDS 溶液(含 10%(W/W)SDS)和 0.05 mol/L 硼砂), 磁力搅拌 20 min, 在 420 nm 下测定吸光度 A_{420}, 以稀释液作空白对照组。

1.2.8 SDS-PAGE 凝胶电泳 参考 Yu 等[24] 方法。配制 12% 分离胶, 5% 浓缩胶, 将 10 μL 待测样品加

入凝胶泳道内，样品在浓缩胶时电压为 80 V，进入分离胶后电压为 120 V。电泳结束，进行染色及脱色。直至底色基本脱去，条带清晰后拍照、存档并保存结果。

1.2.9　微观结构分析　将蛋白样品固定在双面导电胶上，后样品表面喷涂电镀层，喷金厚度约 10 nm，在电压为 10 kV，放大倍数为 1500 倍下进行扫描拍照。

1.2.10　功能特性测定

1.2.10.1　标准曲线制作及蛋白质含量测定　参考柳荫等[25]方法稍作改动。配制 0.10 mg/mL 蛋白溶液，等量分为六份。取 6 支试管编号，按次序分别加入 0、0.20、0.40、0.60、0.80 和 1 mL 标准牛血清白蛋白(BSA)溶液和加蒸馏水补足 1 mL，后每支试管加入 5 mL 考马斯亮蓝 G_{250} 溶液，振荡混匀后避光静置 5 min，在 595 nm 处测定吸光度，并绘制标准曲线。得回归方程：y=7.9386x+0.0142，R^2=0.9960。

1.2.10.2　溶解度测定　参考 Horax 等[26]方法稍作改动。配制 10 g/L 蛋白溶液。4500 r/min 离心 15 min，取上清液，依次加入 5 mL 考马斯亮蓝 G_{250}、50 μL 去离子水，振荡混匀，放置 10 min，在波长 595 nm 处测定吸光度。按公式(2)计算：

$$溶解度(\%)=\frac{上清液蛋白质含量}{样品中蛋白质含量}\times 100 \qquad 式（2）$$

1.2.10.3　持水性测定　参考 Paredes-López 等[27]方法稍作改动。准确称取 0.10 g 蛋白样品记为 m_0，置离心管中，记录总质量 m_1，添加 10 mL 去离子水，离心(4500 r/min，15 min)，记录此时总质量 m_2。按公式(3)计算：

$$持水性(g/g)=\frac{m_2-m_1}{m_0} \qquad 式（3）$$

式中：m_0 表示蛋白样品质量，g；m_1 表示离心管与蛋白样品总质量，g；m_2 表示离心管与沉淀物质量，g。

1.2.10.4　乳化性及乳化稳定性的测定　参考于勇[28]方法稍作改动。用去离子水配制 30 mL 的 1 mg/mL 蛋白溶液，后向蛋白溶液中加入 6 mL 的大豆油(样品蛋白溶液与大豆油 5∶1 混合)。用高速剪切分散乳化机以 10000 r/min 的速度搅打 2 min，搅打完成后从静置 0 min 与 10 min 的乳化液底部吸取 50 μL 样品液加入到 5 mL 的稀释液(0.1 g/100 mL SDS)中，快速混匀后立刻置于 500 nm 下测量吸光度 A_0 与 A_1，以 SDS 溶液为空白。乳化性(EAI)用 A_0 表示，乳化稳定性(ESI)用公式(4)计算：

$$乳化稳定性(\%)=\frac{A_1}{A_0}\times 100 \qquad 式（4）$$

式中：A_0 为 0 min 时样液的吸光度；A_1 为 10 min 时样液的吸光度。

1.3　数据处理

所有实验均设置 3 次平行，结果以平均值±标准偏差表示。采用 SPSS 统计软件进行单因素 ANOVA 分析(P<0.05 时表示组间差异显著)。

2　结果与分析

2.1　核桃粕基本成分含量测定结果分析

经测定可知，核桃粕原料的蛋白质含量在 64.148%±0.12%，水分含量在 11.390±0.008 g/100 g，脂肪含量在 1.38±0.243 g/100 g。与代暘鑫等[19]所测脱脂核桃粕蛋白质、水分、脂肪含量相近，确定本实验原料核桃粕已经过脱脂工艺处理，便于进行后续实验。

2.2　单因素实验结果分析

2.2.1　不同反应条件对接枝度和褐变程度的影响

如图 1 所示，随着超声功率升高，接枝度先上升后下降，当超声功率为 300 W 时达到最大接枝度 43.58%。这是由于超声波可以使游离氨基增多，加速 AAP 和 WMP 发生碰撞，从而提升接枝度[29]。但随着超声功率从 300 W 增大至 500 W 时接枝度降低。这是由于超声波功率过大会引起蛋白分子再团聚，从而减少游离氨基，降低接枝效果[30]。并且在 300 W 时褐变程度(420 nm 处吸光度)最低达到 1.60。基于该结果，为优化反应条件，后续实验选定 300 W 作为最佳超声功率参数。

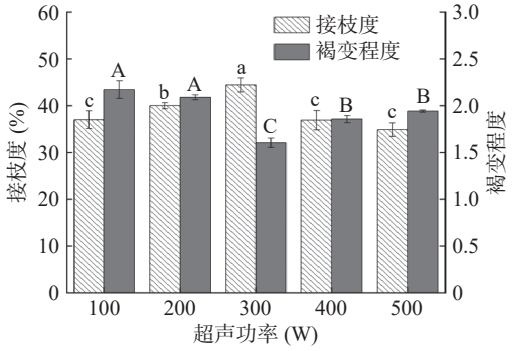


图 1　不同超声功率对接枝度和褐变程度的影响

Fig.1　Effects of different ultrasonic powers on grafting and browning degree

注：不同字母代表数据间具有显著性差异(P<0.05)，而相同字母则代表数据间不具有显著性差异(P>0.05)，图 2~图 4 同。

如图 2 所示，随着 pH 升高，接枝度先上升后下降，pH9 时，WMP 与 APP 反应达到最大接枝度 44.44%。其原因是糖基化反应是一种碱催化反应，随着溶液 pH 上升至偏碱性则促进糖基化反应的进行，接枝度上升。但碱性过强则会引起蛋白质发生脱氨、脱羧和肽键断裂，使蛋白质立体结构会发生变性阻碍反应进行，不利于接枝反应的进行[31]。褐变程度表明，在 pH 为 9 时，420 nm 处所对应的吸光度最小达到 1.60。基于该结果，为选取接枝度适宜且有害化合物形成较少的反应条件，选择最适 pH 为 9 进行后续实验。

如图 3 所示，随着超声时间增加，接枝度呈先上升后下降趋势，在超声时间为 10 min 时接枝度达到

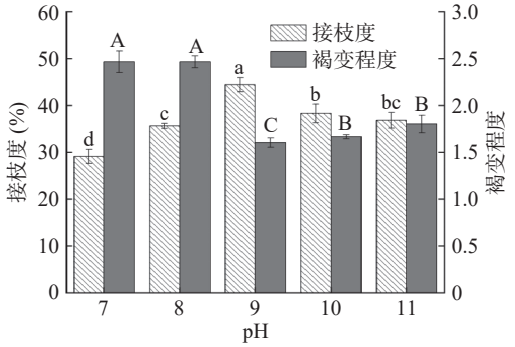


图 2 不同 pH 对接枝度和褐变程度的影响

Fig.2 Effects of different pH on grafting and browning degree

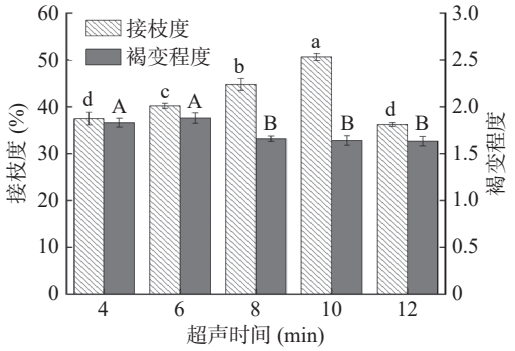


图 3 不同超声时间对接枝度和褐变程度的影响

Fig.3 Effects of different ultrasonic times on grafting and browning degree

最高 51.41%。这是由于适宜的超声会使得 WMP 内氨基暴露, 与糖类物质碰撞机率增加, 从而提高接枝度。但当超声波持续时间过长, 可能由于超声造成 WMP 部分肽链断裂, 暴露出来 WMP 的疏水性基团增多, 造成蛋白质展开的肽链重新聚集, 使可用的自由氨基重新被包埋, 导致接枝度降低[32]。接枝度随着超声时间的增加在达到峰值后下降, 这与刘昀等[33]在超声波辅助马铃薯蛋白糖基化反应研究的结果相似。当超声时间 10 min 时, 反应褐变程度(420 nm 处吸光度)最低 1.64, 这是由于在超声作用下进行糖基化反应可以有效降低反应褐变程度[30]。但在 8、10、12 min 褐变程度未发生明显变化, 孙红[34] 在对白果蛋白进行超声波结合糖基化处理的研究中也同样出现在适当超声时间的糖基化反应条件下无明显的褐变程度变化。因此为了能达到较好的接枝效果, 又能有效地降低褐变程度, 故选择超声时间为 10 min 进行后续实验。

如图 4 所示, 随着 WMP 与 AAP 质量之比由 3:1 变化至 1:3, 接枝度由 27.16% 上升至最高 55%, 具有显著(P<0.05)上升趋势。这可能存在两个原因, 一是由于在适当 WMP 浓度范围内, 糖的比例的增加提高了 WMP 自由氨基与 AAP 还原末端的羰基之间的接触机率, 使接枝度上升, 反应向更有利的方向进行[35]。二是由于超声波产生的空穴效应可使 WMP 结构松散, 导致 WMP 中更多自由氨基暴露, 可以更容易与 AAP 接触, 从而使得接枝度上升[36]。同时随

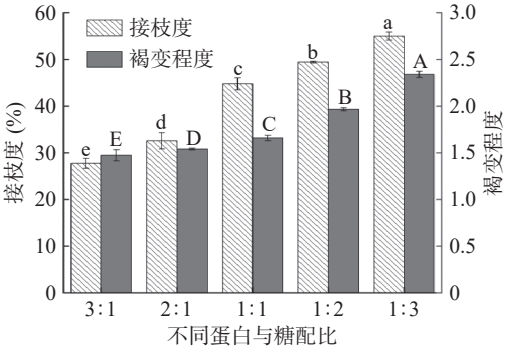


图 4 不同蛋白与糖配比条件对接枝度和褐变程度的影响

Fig.4 Effects of different protein-to-sugar ratio conditions on grafting and browning degree

着溶液中 AAP 含量增加, 褐变程度(420 nm 处吸光度)也由 1.47 而逐渐提高至 2.33。随着 AAP 的不断增加, 加剧焦糖化反应, 导致溶液颜色不断加深, 褐变程度增加。这与孙红[34] 在对白果蛋白进行超声波结合糖基化处理的研究结论一致。因此为了能达到较好的接枝效果, 又能有效地降低褐变程度, 故选用当 WMP 与 AAP 质量比为 1:2 进行后续实验。

2.3 响应面试验结果

2.3.1 响应面设计试验结果 以蛋白与糖质量之比 1:2 进行优化筛选 pH、超声功率和超声时间, 其响应面试验设计及结果见表 2。

表 2 Box-Behnken 试验方案及结果

Table 2 Design and result of Box-Behnken experimen

实验号	X_1 pH	X_2 超声功率(W)	X_3 超声时间(min)	Y接枝度(%)
1	1	0	1	43.33
2	0	−1	1	47.03
3	−1	0	−1	43.12
4	1	−1	0	45.67
5	1	1	0	44.65
6	−1	1	0	46.29
7	−1	0	1	46.97
8	0	0	0	50.02
9	0	0	0	50.14
10	0	1	1	46.09
11	0	0	0	50.57
12	0	1	−1	46.76
13	0	−1	−1	45.37
14	0	0	0	50.34
15	−1	−1	0	44.05
16	1	0	−1	46.04
17	0	0	0	50.08

2.3.2 回归方程及显著性检验 利用 Design-Expert13.0 进行二次多项回归拟合, 可得 pH(X_1)、超声功率(X_2)、超声时间(X_3)与响应值接枝度(Y)的关系。其多元二次回归方程为: $Y=50.23-0.0925X_1+0.2088X_2+0.2663X_3-0.8150X_1X_2-1.64X_1X_3-0.5825X_2X_3-3.26X_1^2-1.81X_2^2-2.11X_3^2$。

由表 3 方差分析结果可知, 模型的一次项 X_2、X_3 对响应值的影响显著, X_1 不显著。所考察的因素显著性排序为: $X_3>X_2>X_1$。模型 P<0.0001, 表

表 3　回归模型系数检验

Table 3　Parameter estimation of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	101.15	9	11.24	231.00	<0.0001	极显著
X_1-pH	0.0684	1	0.0684	1.41	0.2743	
X_2-超声功率	0.3486	1	0.3486	7.17	0.0317	*
X_3-超声时间	0.5671	1	0.5671	11.66	0.0112	*
X_1X_2	2.66	1	2.66	54.61	0.0002	**
X_1X_3	10.76	1	10.76	221.12	<0.0001	***
X_2X_3	1.36	1	1.36	27.90	0.0011	**
X_1^2	44.64	1	44.64	917.61	<0.0001	***
X_2^2	13.78	1	13.78	283.13	<0.0001	***
X_3^2	18.72	1	18.72	384.83	<0.0001	***
残差	0.3406	7	0.0487			
失拟	0.1382	3	0.0461	0.9102	0.5112	不显著
误差	0.2024	4	0.0506			
总差异	101.49	16				

注：*表示显著（P<0.05），**表示非常显著（P<0.01），***表示极显著（P<0.0001）。

明该模型极显著，决定系数 R^2=0.9966，模型失拟项 0.5112>0.05，表明方程拟合度高，用此数学模型优化 pH、超声功率、超声时间对 WMP 与 AAP 接枝度的影响是可行的。X_1X_2 交互作用对响应值影响的 P<0.01，为非常显著，X_1X_3 交互作用对响应值影响的 P<0.0001，为极显著，X_2X_3 交互作用对响应值影响的 P<0.01，为非常显著。因此实验结果所建立的数学模型对超声辅助核桃粕蛋白糖基化反应具有良好的拟合效果，可以用于核桃饼粕中蛋白质的超声改性。由图 5~图 7 可知，交互项 X_1X_2、X_1X_3、X_2X_3 的等高线图呈椭圆形，且 3D 响应面图具有比较陡的曲面坡度，表明 pH 和超声功率、pH 和超声时间、超声功率和超声时间对响应值的影响均存在明显交互作用。通过观察图 5~图 7 中等高线之间间隔的紧密程度以及整体形状，可推断出 pH 与超声时间的交互作用较 pH 与超声功率的交互作用更为显著，且明显强于超声功率与超声时间之间的交互作用，其对接枝度的影响最大。这与方差分析的结果相吻合。说明交互作用强弱顺序为 X_1X_3>X_1X_2>X_2X_3。

2.3.3　最佳糖基化工艺参数　试验获得的最佳工艺参数组合为：pH9.60、超声功率 294.91 W、超声时间 9.67 min，此条件下模型预测的 Ult-WMP-AAP 接枝度为 49.05%。基于上述优化结果，为便于实际

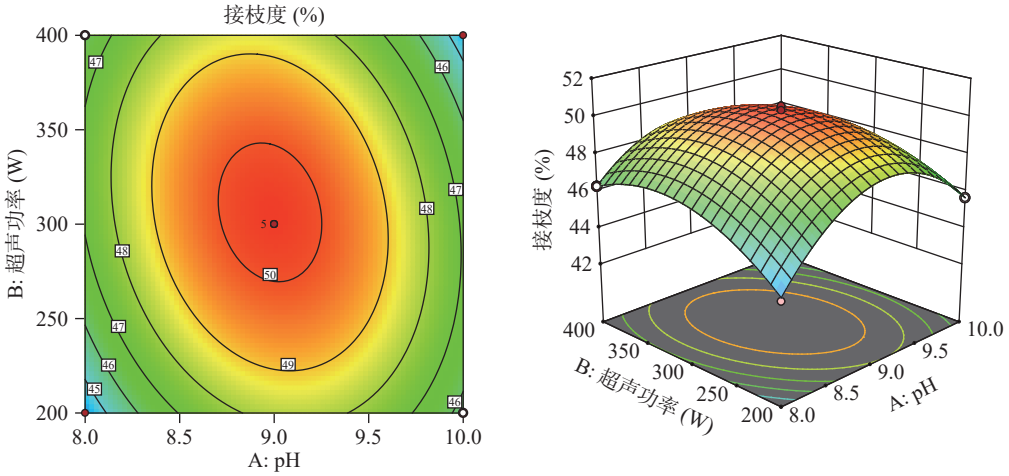


图 5　pH 与超声功率对接枝度的影响

Fig.5　Effect of pH and ultrasonic power on grafting degree

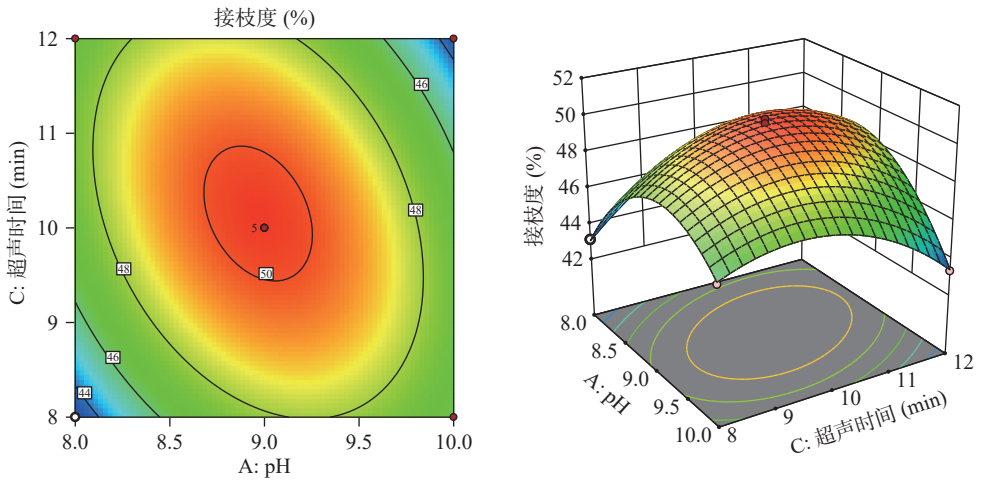


图 6　超声时间与 pH 对接枝度的影响

Fig.6　Effect of ultrasonic time and pH on grafting degree

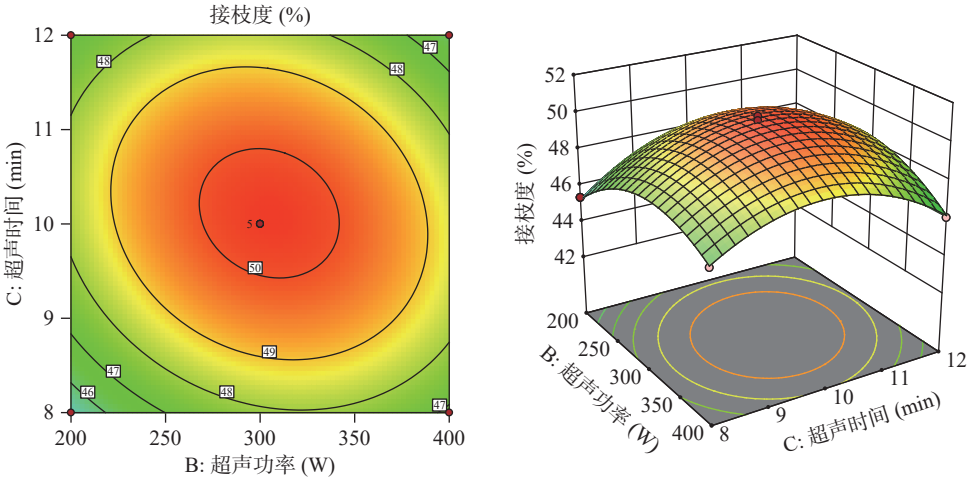


图 7　超声功率与超声时间对接枝度的影响

Fig.7　Effect of ultrasonic power and ultrasonic time on grafting degree

操作，验证试验在 pH9.60、超声功率 295 W、超声时间 9.6 min 的工艺条件下进行，共开展三次重复实验。实测接枝度的平均值为 48.60%±2.0%，达到预测值的 99.06%。结果表明，该模型对 Ult-WMP-AAP 工艺参数具有良好的预测能力，可用于工艺过程的优化与控制。

2.4　超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白的 SDS-PAGE 结果分析

如图 8 所示，泳道 2 中 WMP 分子质量主要分布在 14.4~66.2 kDa 范围内，而物理混合条件下泳道 3 也展现与之相符特征，表明其并未出现蛋白多糖聚合物。泳道 4 中 WMP-AAP 和泳道 5 中 Ult-WMP-AAP 相比泳道 2 中 WMP 有轻微上移，在浓缩胶与分离胶交界处出现拖尾现象生成新的染色条带，并在 245~180 kDa 附近条带颜色加深，且 Ult-WMP-AAP 较 WMP-AAP 电泳条带出现明显上移。这表明在湿法糖基化和超声辅助湿法糖基化条件下 WMP 与 AAP 形成较大分子质量聚合物，糖基化后 WMP 分子质量得到增加，WMP 与 AAP 发生共价结合形成高分子糖蛋白聚合物，也说明超声处理能更有效辅助 WMP 糖基化，这与卜单等[37] 研究得出蛋白与糖分子形成共价键，糖基化后的蛋白分子质量增加的结果相似。

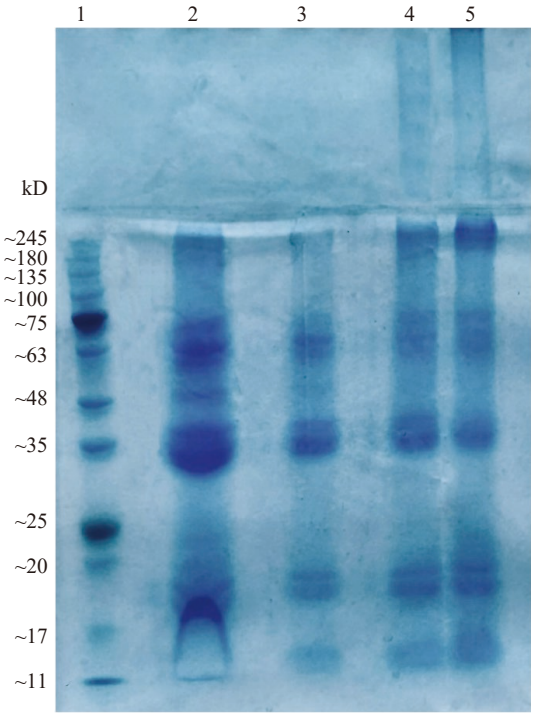


图 8　核桃粕蛋白改性前后的 SDS-PAGE 表征

Fig.8　SDS-PAGE characterization of walnut meal protein before and after modification

注：泳道 1 为 Maker 蛋白，泳道 2 为 WMP，泳道 3 为 Mix-WMP-AAP，泳道 4 为 WMP-AAP，泳道 5 为 Ult-WMP-AAP。

2.5　超声辅助湿法糖基化核桃粕蛋白的微观形貌观察

由图 9 可知，WMP 为片状或球状不规则碎片，整体呈弥散性聚集状态。WMP-AAP 形成大的片状结构，可能是因多糖与 WMP 共价结合形成更大更厚的片状结构，这与孙乾等[22] 研究结果相似。WMP-AAP 相较 Ult-WMP-AAP 可能是由于超声作用使得形成的共价复合物形状和粒径减小，形成均匀球状微粒，这与刘宇轩[15] 和左中钰[38] 研究结果相似，这种分子之间聚集较少，更有利接枝反应发生，有助蛋白质溶解度、水合能力提升。

2.6　超声辅助湿法糖基化修饰对核桃粕蛋白性能的影响分析

如表 4 所示，WMP-AAP 的溶解度是 WMP 的 1.44 倍，持水性是 WMP 的 1.36 倍。Ult-WMP-AAP 的溶解度是 WMP 的 1.61 倍，持水性是 WMP 的 2.25 倍。表明湿法糖基化改性与超声辅助湿法糖基化改性都有效改善 WMP 溶解度和持水性。这主要是由于在该体系中引入亲水性多糖能够与蛋白形成共价键结合，从而提高蛋白质和水分子相互作用[39]。Ult-WMP-AAP 与 WMP-AAP 相比，超声辅助优化后的 Ult-WMP-AAP 溶解度与持水性分别是 WMP-AAP 的 1.12 倍、1.65 倍。这表明超声辅助湿法糖基

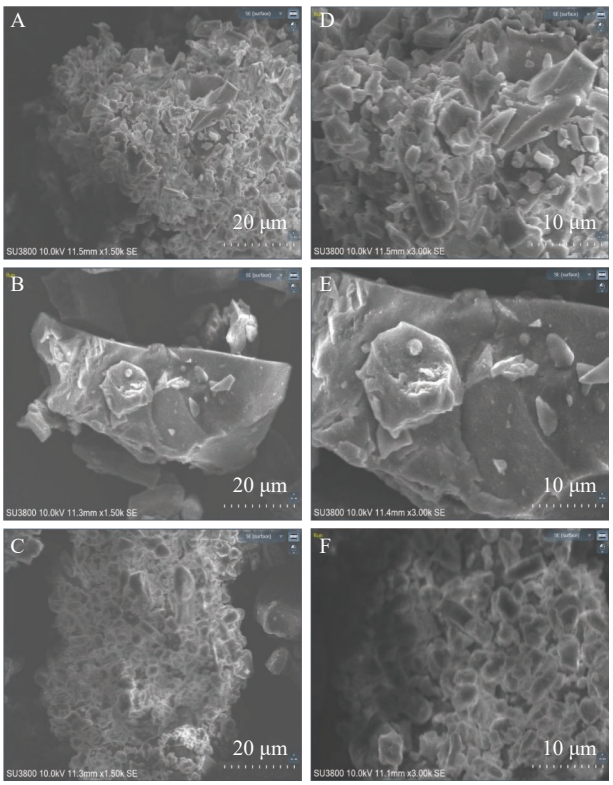


图 9　核桃粕蛋白改性前后微观形貌的表征

Fig.9　Characterization of microstructural morphology of walnut meal protein before and after modification

注：A 和 D 为 WMP；B 和 E 为 WMP-AAP；C 和 F 为 Ult-WMP-AAP；左图标尺 20 μm，右图标尺 10 μm。

化改性核桃粕蛋白能显著改善 WMP 溶解度与持水性，这得益于在超声条件下，WMP 分子结构变得疏松，增加了其与亲水性多糖基团之间的碰撞机率，从而提高了接枝度引入更多亲水基团[32]，并且形成的空间位阻有效抑制了 WMP 分子的聚集，进而提高 WMP 溶解度[40]。在蛋白溶解度相关研究中，韩莛璐[41] 通过高频振动的超声波处理改变酪蛋白的结构和颗粒大小，从而让酪蛋白的胶束颗粒变小和变疏松，酪蛋白更容易在水中分散，最终影响蛋白质的溶解度。同样张玉茹等[14] 通过制备超声处理玉米醇溶蛋白-葡聚糖美拉德反应产物，也得出超声辅助湿法糖基化改性比湿法糖基化改性溶解度提升更多的结果，本研究结果都与这些结果相似。在蛋白持水性相关研究中，赵城彬等[42] 研究发现在超声预处理麦芽糖与大豆分离蛋白糖基化反应时会引入更多的羟基，使糖基化蛋白复合物具有更高的亲水性，这也可能有利于糖基化蛋白与水分子的相互作用，从而改善凝胶持水性。分析上述数据也可发现 Ult-WMP-AAP 与 WMP-AAP 的乳化性是未改性的 WMP 的 1.62 倍与 1.60 倍，表明改性后 WMP 作为快速吸附到水-油界面的表面活性剂的能力有所提升。值得注意的是，Ult-WMP-AAP 乳化性提升能力较强，这是因为美拉德反应使黑木耳多糖亲水基团接枝到 WMP 的空间结构上，并且超声条件下 WMP 粒径更小，暴露更多疏水基团，共价接枝更多黑木耳多糖，这些使蛋白具有更好的乳化效果，最终改善了蛋白质的亲水/疏水平衡[43]，提高 WMP 的界面迁移速率，从而促进乳化性增强[44]。这与孙乾等[22] 在研究核桃谷蛋白时的结果相似。造成这种现象的原因可能有两个，一是改性蛋白的接枝物表面疏水性的降低削弱了其与油相分子之间的疏水相互作用强度，从而导致 ESI 降低；二是黑木耳多糖的电中性导致蛋白核心的静电排斥作用大幅减弱，这种负面影响，超过了黑木耳多糖通过增强空间位阻效应来缓解蛋白质聚集的正面作用，最终改性蛋白防止乳液液滴聚集的能力降低[14]。

表 4　核桃粕蛋白改性前后的功能特性比较

Table 4　Comparison of functional properties of walnut meal protein before and after modification

样品	溶解度(%)	持水性(g/g)	乳化性	乳化稳定性(%)
WMP	51.067±6.395^{b}	0.883±0.023^{c}	0.199±0.049^{b}	0.816±0.021^{a}
Mix-WMP-AAP	49.832±4.662^{b}	0.300±0.033^{d}	0.142±0.019^{c}	0.610±0.152^{b}
WMP-AAP	73.695±6.746^{a}	1.203±0.096^{b}	0.319±0.016^{a}	0.649±0.037^{b}
Ult-WMP-AAP	82.343±6.152^{a}	1.986±0.049^{a}	0.323±0.024^{a}	0.692±0.028^{ab}

注：结果表示为平均值±标准偏差，同列均值有相同字母上标则表示差异不显著(P>0.05)；同列均值没有相同字母上标表示差异显著(P<0.05)。

3　结论

本研究通过超声辅助湿法糖基化法调控 WMP 与 AAP 发生糖基化反应，实现对 WMP 修饰改性。通过单因素与响应面试验，最终确定最佳反应条件为：WMP 与 AAP 质量比为 1∶2，反应温度 80 ℃，磁力搅拌 110 min，超声功率 295 W，超声时间 9.6 min，pH9.60。在此条件下进行实验，达到预测值的 99.06%。SDS-PAGE 与扫描电镜结果表明糖基化改性后，WMP 与 AAP 发生共价结合形成高分子糖蛋白聚合物，且由于超声作用使得形成的共价复合物形状和粒径减小，形成均匀球状微粒，WMP 蛋白结构发生变化。Ult-WMP-AAP 溶解度和持水性分别是 WMP 的 1.61 倍、2.25 倍。Ult-WMP-AAP 与 WMP-AAP 相比，Ult-WMP-AAP 溶解度和持水性分别是 WMP-AAP 的 1.12 倍、1.65 倍。Ult-WMP-AAP 与 WMP-AAP 乳化性是 WMP 的 1.62 倍与 1.60 倍，两者乳化稳定性较 WMP 降低 0.124 与 0.167。结果表明，超声辅助湿法糖基化改性方法可行，能有效拓展 WMP 的应用领域，为开发 WMP 提供新的启发和思路。但核桃粕蛋白提取率较低，导致核桃粕蛋白提取周期较长。因此还需对核桃粕蛋白

的提取技术进行更加深入的探究，丰富核桃粕蛋白在食品行业中的多元化应用与高值化规模化生产。

© 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] 曹卓, 王明娟, 孙治国, 等. 温宿县核桃产业发展现状与展望[J]. 农业展望, 2022, 18(5): 72−76. [CAO Zhuo, WANG Mingjuan, SUN Zhiguo, et al. Development status and prospects of walnut industry in Wensu County[J]. Agricultural Outlook, 2022, 18(5): 72−76.]

[2] 邓浩, 王先玉, 王友燕, 等. 新疆阿克苏地区核桃产业绿色发展水平评价[J]. 安徽农业科学, 2025, 53(6): 201−206. [DENG Hao, WANG Xianyu, WANG Youyan, et al. Evaluation of green development level of walnut industry in Aksu Prefecture, Xinjiang[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2025, 53(6): 201−206.]

[3] 龚娣, 陈程莉, 常馨月, 等. 核桃油氧化及抗氧化调控研究进展[J]. 中国油脂, 2021, 46(5): 58−62. [GONG Di, CHEN Chengli, CHANG Xinyue, et al. Research progress on oxidation and antioxidant regulation of walnut oil[J]. China Oils and Fats, 2021, 46(5): 58−62.]

[4] GAO P, LIU R, JIN Q, et al. Effects of processing methods on the chemical composition and antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.) oil[J]. LWT, 2021, 135: 109958.

[5] JIN F, WANG Y, TANG H, et al. Limited hydrolysis of dehulled walnut (*Juglans regia* L.) proteins using trypsin: Functional properties and structural characteristics[J]. LWT, 2020, 133: 110035.

[6] ZHANG Q, LI L, LAN Q, et al. Protein glycosylation: A promising way to modify the functional properties and extend the application in food system[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59(15): 2506−2533.

[7] 冯思瑞. 多糖复合和糖基化改性对大豆分离蛋白的结构、物化特性及乳化功能的影响[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2022. [FENG Sirui. Effects of polysaccharide complexation and glycosylation modification on structure, physicochemical properties and emulsifying functionality of soybean protein isolate[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2022.]

[8] ULLAH S F, KHAN N M, ALI F, et al. Effects of Maillard reaction on physicochemical and functional properties of walnut protein isolate[J]. Food Science and Biotechnology, 2019, 28: 1391−1399.

[9] 张玥, 薛雨菲, 李芳, 等. 糖基化修饰对核桃谷蛋白结构和功能特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(17): 60−66. [ZHANG Yue, XUE Yufei, LI Fang, et al. Effect of glycosylation modification on structure and functional properties of walnut gluten[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(17): 60−66.]

[10] BHARGAVA N, MOR R S, KUMAR K, et al. Advances in application of ultrasound in food processing: A review[J]. Ultrasonics sonochemistry, 2021, 70: 105293.

[11] De OLIVEIRA A P H, OMURA M H, BARBOSA É A A, et al. Combined adjustment of pH and ultrasound treatments modify techno-functionalities of pea protein concentrates[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2020, 603: 125156.

[12] GHARIBZAHEDI S M T, SMITH B. The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 98: 107−116.

[13] 李素云, 刘兴丽, 张艳艳, 等. 超声预处理小麦蛋白与壳聚糖复合物胶体稳定性研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(11): 51−54. [LI Suyun, LIU Xingli, ZHANG Yanyan, et al. Study on colloidal stability of ultrasound pretreated wheat protein-chitosan complex [J]. China Condiment, 2019, 44(11): 51−54.]

[14] 张玉茹, 朱秀灵, 戴清源, 等. 超声辅助美拉德反应制备玉米醇溶蛋白-葡聚糖接枝物的特性[J]. 食品工业科技, 2026, 47(2): 144-156. [ZHANG Yuru, ZHU Xiuling, DAI Qingyuan, et al. Characteristics of zein-dextran graft prepared by ultrasound-assisted Maillard reaction[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(2): 144-156.]

[15] 刘宇轩. 超声波制备蛋白质-多糖复合物乳状液技术研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2022. [LIU Yuxuan. Study on technology of preparing protein-polysaccharide compound emulsion by ultrasound[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2022.]

[16] 张倩, 刘宇, 戴晓婧, 等. 黑木耳多糖结构分析及其保护肝细胞氧化损伤活性[J]. 菌物研究, 2021, 19(3): 170−176. [ZHANG Qian, LIU Yu, DAI Xiaojing, et al. Structural analysis of polysaccharides from *Auricularia auricula* and their protective activity against oxidative damage in hepatocytes[J]. Journal of Fungal Research, 2021, 19(3): 170−176.]

[17] 陈玥彤, 张闪闪, 李文意, 等. 黑木耳多糖的磷酸化修饰结构表征及体外降糖活性[J]. 食品科学, 2022, 43(8): 29−35. [CHEN Yuetong, ZHANG Shanshan, LI Wenyi, et al. Structural characterization and *in vitro* hypoglycemic activity of phosphorylated *Auricularia auricula* polysaccharide[J]. Food Science, 2022, 43(8): 29−35.]

[18] 吴颖, 屈婷敏, 文诗雨, 等. 糖基化肽的制备、结构表征及生物活性研究进展[J]. 食品与机械, 2023, 39(8): 192−198,217. [WU Ying, QU Tingmin, WEN Shiyu, et al. Research progress on preparation, structural characterization and bioactivity of glycosylated peptides[J]. Food & Machinery, 2023, 39(8): 192−198,217.]

[19] 代旸鑫, 徐莹, 毕爽, 等. 核桃粕蛋白提取纯化工艺优化及其功能性质分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 241−252. [DAI Yangxin, XU Ying, BI Shuang, et al. Optimization of extraction and purification process of walnut meal protein and analysis of its functional properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(2): 241−252.]

[20] TAO K W C, SATHE S K. Walnuts: Proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein *in vitro* digestibility[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80: 1393−1401.

[21] 陈宇, 曹诗诺, 沈乙杰, 等. 糖基化改性制备核桃分离蛋白-菊粉共轭物及其性质分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(18): 268−275. [CHEN Yu, CAO Shinuo, SHEN Yijie, et al. Preparation and properties analysis of walnut protein isolate-inulin conjugate by glycosylation modification[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(18): 268−275.]

[22] 孙乾, 张爱琴, 薛雨菲, 等. 化学改性对核桃谷蛋白结构表征及功能特性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 87−93. [SUN Q, ZHANG A Q, XUE Y F, et al. Effect of chemical modification on structure characterization and functional properties of walnut glutelin[J]. Food Science, 2019, 40(20): 87−93.]

[23] JIANG W, WANG Y, MA C, et al. Pea protein isolate-inulin conjugates prepared by pH-shift treatment and ultrasonic-enhanced glycosylation: Structural and functional properties[J]. Food Chemistry, 2022, 384: 132511.

［24］ YU X X, LIU C, LU M H, et al. Impact of enzymatic hydrolysis followed by transglutaminase-induced cross-linking on decreasing antigenicity and reserving partial interfacial properties of whey protein isolate[J]. Food & Function, 2019, 10(3): 1653−1660.
［25］ 柳荫, 吴凤智, 陈龙, 等. 考马斯亮蓝法测定核桃水溶性蛋白含量的研究[J]. 中国酿造, 2013, 32(12): 131−133. ［LIU Yin, WU Fengzhi, CHEN Long, et al. Determination of water-soluble protein content in walnut by Coomassie brilliant blue method[J]. China Brewing, 2013, 32(12): 131−133.］
［26］ HORAX R, HETTIARACHCHY N, KANNAN A, et al. Protein extraction optimisation, characterisation, and functionalities of protein isolate from bitter melon (*Momordica charantia*) seed[J]. Food chemistry, 2011, 124(2): 545−550.
［27］ PAREDES-LÓPEZ O, ORDORICA-FALOMIR C, OLIVARES-VÁZQUEZ M R. Chickpea protein isolates: Physicochemical, functional and nutritional characterization[J]. Journal of Food Science, 1991, 56(3): 726−729.
［28］ 于勇. 马铃薯蛋白水解物-葡聚糖共聚物的制备及乳化性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018. ［YU Yong. Preparation and emulsifying properties of potato protein hydrolysate-dextran conjugate[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.］
［29］ LIU X, YANG Q, YANG M, et al. Ultrasound-assisted Maillard reaction of ovalbumin/xylose: The enhancement of functional properties and its mechanism[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 73: 105477.
［30］ 刘兴丽, 魏莹莹, 沈力, 等. 超声-糖基化改性对马铃薯蛋白功能特性及结构特性的影响[J]. 食品科技, 2022, 47(12): 228−233. ［LIU X L, WEI Y Y, SHEN L, et al. Effect of ultrasound-glycosylation modification on functional and structural properties of potato protein[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(12): 228−233.］
［31］ ZHANG C, LI D, ZHANG J, et al. Mutations in ABCB6 cause dyschromatosis universalis hereditaria[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2013, 133(9): 2221−2228.
［32］ MOREL M H, DEHLON P, AUTRAN J C, et al. Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography[J]. Cereal Chemistry, 2000, 77(5): 685−691.
［33］ 刘昀, 张轶, 任海伟. 响应面优化超声波辅助马铃薯蛋白糖基化反应[J]. 食品工业, 2017, 38(10): 27−30. ［LIU Y, ZHANG Y, REN H W. Response surface optimization of ultrasonic-assisted glycosylation reaction of potato protein[J]. Food Industry, 2017, 38(10): 27−30.］
［34］ 孙红. 超声波处理结合糖基化反应降低白果蛋白致敏性的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2019. ［SUN Hong. Study on the reduction of ginkgo protein allergenicity by ultrasonic treatment combined with glycosylation reaction[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019.］
［35］ 孙江. 超声波辅助燕麦蛋白糖接枝改性及其功能特性的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015. ［SUN Jiang. Study on ultrasound-assisted glycosylation modification of oat protein and its functional properties[D]. Changchun: Agricultural University, 2015.］
［36］ 李玉琼, 王长远, 全越, 等. 响应面法优化超声辅助芸豆蛋白糖基化反应[J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29(5): 538−547. ［LI Yuqiong, WANG Changyuan, QUAN Yue, et al. Optimization of ultrasound-assisted glycosylation reaction of kidney bean protein by response surface methodology[J]. Chinese Journal of Biologicals, 2016, 29(5): 538−547.］
［37］ 卜单, 涂宗财, 刘光宪, 等. 不同还原糖糖基化对超声波预处理 α-乳白蛋白结构和抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(24): 1−6. ［BU D, TU Z C, LIU G X, et al. Effects of glycosylation with different reducing sugars on structure and antioxidant activity of ultrasonic-pretreated α-Lactalbumin[J]. Food Science, 2022, 43(24): 1−6.］
［38］ 左中钰. 超声处理对藜麦蛋白微粒性质的影响及高内相乳液的构建[D]. 无锡: 江南大学, 2022. ［ZUO Zhongyu. Effect of ultrasonic treatment on properties of quinoa protein particles and construction of high internal phase emulsions[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.］
［39］ KIM D Y, SHIN W S. Functional improvements in bovine serum albumin–fucoidan conjugate through the Maillard reaction [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 974−981.
［40］ 张斌成, 陆佳伟, 李燕苹, 等. 糖基化蛋白质的功能特性及应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2025, 46(17): 480. ［ZHANG Bincheng, LU Jiawei, LI Yanping, et al. Research progress on functional properties and applications of glycosylated proteins[J]. Food Industry Science and Technology, 2025, 46(17): 480.］
［41］ 韩莛璐. 高压均质和超声处理对酪蛋白和乳清蛋白结构及功能特性的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2020. ［HAN Tinglu. Effects of high-pressure homogenization and ultrasonic treatment on the structure and functional properties of casein and whey protein[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2020.］
［42］ 赵城彬, 许秀颖, 刘景圣, 等. 超声预处理对大豆分离蛋白糖基化复合物酸诱导凝胶性质的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 123−129. ［ZHAO Chengbin, XU Xiuying, LIU Jingsheng, et al. Effect of ultrasonic pretreatment on acid-induced gel properties of glycosylated soybean protein isolate complexes[J]. Food Science, 2019, 40(1): 123−12.］
［43］ 刘沛龙, 刘昆仑. 花生蛋白糖基化修饰及其应用的研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2023, 44(5): 1−9. ［LIU Peilong, LIU Kunlun. Research progress on glycosylation modification of peanut protein and its applications[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2023, 44(5): 1−9.］
［44］ 李可, 孙立雪, 王琳梦, 等. 超声波处理对类 PSE 鸡肉肌浆蛋白的结构性质和乳化性能影响[J]. 食品科学, 2024, 45(12): 220−228. ［LI Ke, SUN Lixue, WANG Linmeng, et al. Effects of ultrasound treatment on the structural properties and emulsifying performance of myofibrillar proteins from PSE-like chicken meat[J]. Food Science, 2024, 45(12): 220−228.］