龙丽伟, 杜思琪, 桑亚新, 等. 黄粉虫蛋白糖基化产物的制备及其结构与功能特性的研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(16): 106−117. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070368

LONG Liwei, DU Siqi, SANG Yaxin, et al. Preparation of Glycosylation Products of *Tenebrio molitor* Protein and Study on Structure and Functional Characteristics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(16): 106−117. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070368

·研究与探讨·

黄粉虫蛋白糖基化产物的制备及其结构与功能特性的研究

龙丽伟, 杜思琪, 桑亚新, 于文龙*, 王向红*

（河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000）

摘　要: 为改善黄粉虫蛋白（*Tenebrio molitor* protein isolate，TPI）的功能性质，提高其在食品工业中的应用可行性，本研究以低聚木糖（Xylo-oligosaccharides，XOS）与黄粉虫蛋白粉为原料，优化糖基化反应条件，并对黄粉虫蛋白-低聚木糖接枝物（*Tenebrio molitor* protein isolate glycosylated with xylo-oligosaccharides polysaccharide，TPIX）进行结构与功能特性研究。以接枝度和褐变程度为评价指标，通过单因素实验筛选影响 TPI 与 XOS 糖基化反应的条件；利用傅里叶红外光谱技术、内源性荧光光谱技术和扫描电镜技术分析 TPIX 结构，并从起泡性、乳化性、抗氧化性和体外消化性方面对 TPIX 进行功能评价。结果表明，筛选后的 TPI 与 XOS 糖基化反应最佳条件：TPI 与 XOS 的质量比为 1∶2、反应体系 pH 为 9.0、反应温度 85 ℃、反应时间 90 min，在该条件下，TPIX 的接枝度为 32.24%，褐变程度为 0.078。结构分析表明，发生糖基化反应后，TPI 和 XOS 的原有结构明显改变，蛋白质表面疏水性降低，证实了 TPI 与 XOS 通过糖基化反应生成了糖基化产物 TPIX。在相同条件下，TPIX 对 DPPH 自由基、$ABTS^+$自由基和羟自由基清除率分别相对提升了 57.85%、74.17%、和 10.27%。TPIX 的起泡性、乳化活性均显著（$P<0.05$）高于 TPI，而泡沫稳定性、乳化稳定性和体外消化性均有所降低，分别相对降低了 62.1%、40.08% 以及 13.39%。该研究通过优化 TPI 与 XOS 糖基化反应条件，获得的糖基化产物具有较好的起泡性、乳化性和抗氧化性，对 TPI 在食品行业中的应用提供了理论依据。

关键词: 黄粉虫蛋白, 糖基化改性, 结构, 抗氧化性, 功能特性

中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)16−0106−12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070368

本文网刊:

Preparation of Glycosylation Products of *Tenebrio molitor* Protein and Study on Structure and Functional Characteristics

LONG Liwei，DU Siqi，SANG Yaxin，YU Wenlong*，WANG Xianghong*

（College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China）

Abstract: In order to improve the functional properties of *Tenebrio molitor* protein isolate (TPI) and to increase the feasibility of its application in the food industry, in this study, xylo-oligosaccharides (XOS) and *Tenebrio molitor* protein powder were used as raw materials to optimize the glycosylation reaction conditions, and the structural and functional properties of the *Tenebrio molitor* protein isolate glycosylated with xylo-oligosaccharides polysaccharide (TPIX) were investigated. Taking the grafting degree and browning degree as evaluation indicators, the glycosylation conditions were screened through single-factor experiments. The structural properties of TPIX were analyzed by Fourier-transform infrared spectroscopy, endogenous fluorescence spectroscopy, and scanning electron microscopy. Functional properties, including foaming, emulsification, antioxidant activity, and *in vitro* digestibility, were also evaluated. The results showed that optimal

收稿日期: 2025−07−30

基金项目: 河北省高等学校科学研究项目（QN2023039）;“十四五”国家重点研发计划项目（2022YFD1600400）。

作者简介: 龙丽伟（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: 277011498@qq.com。

*** 通信作者:** 于文龙（1992−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: yuwenlong0810@163.com。

王向红（1973−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: wangxianghong73@sina.com。

glycosylation conditions were determined as follows: The mass ratio of TPI to XOS was 1∶2, the pH was 9.0, the heating temperature was 85 ℃, and the heating time was 90 min. Under these conditions, the grafting degree and browning degree reached 32.24% and 0.078, respectively. Structural analysis confirmed significant conformational changes in TPI and XOS after glycosylation, along with a reduction in surface hydrophobicity, indicating the successful formation of the glycosylation product TPIX. Functionally, TPIX exhibited enhanced antioxidant activity, with DPPH, $ABTS^+$ and hydroxyl radicals scavenging rates relatively increased by 57.85%, 74.17%, and 10.27%, respectively, compared with TPI under the same conditions. Foaming capacity and emulsifying activity were also significantly improved (P<0.05), although foaming stability, emulsifying stability and *in vitro* digestibility relatively decreased, by 62.1%, 40.08% and 13.39%, respectively. This study optimized the glycosylation reaction conditions between TPI and XOS. The resulting glycation products exhibited favorable foaming, emulsifying, and antioxidant properties, thereby providing a theoretical basis for the application of TPI in the food industry.

Key words: *Tenebrio molitor* isolate protein; glycosylation modification; structure; oxidation resistant; functional characteristics

随着全球人口和人均收入的增加，人们对高蛋白食品的需求也相应增加，预计到 2050 年，全球对蛋白质的需求预计翻一番[1]，为满足消费者对高蛋白食物的需求，现需寻找除肉类之外的优质蛋白来源。而昆虫作为新型食品，养殖过程简单，对水、土地和能源的需要比传统动物需要的相对较少，因此已被提议作为蛋白质来源的替代，其中黄粉虫是最广为人知的可食用昆虫物种之一，作为一种很有前途的替代蛋白质来源而备受关注。

黄粉虫原产于北美洲，富含多种营养成分，因此又称面包虫。粗蛋白含量高达 56.58%[2]，富含多种人体必需氨基酸，如亮氨酸、缬氨酸和赖氨酸等，具有促进健康、增强免疫力、抗炎、抗氧化、降血脂等多项功效[3−5]，被视为一种极好的蛋白质、维生素和矿物质来源，可以替代传统的动物蛋白来源。黄粉虫带生产效率高，与传统牲畜相比，需要的空间和饲料要少得多，具有环境和经济优势[2]。欧洲食品安全委员会通过第 2015/2283 号法规，授权在人类食用的食品中使用黄粉虫幼虫，并保证其安全性[6]。

然而，部分消费者对昆虫存在畏惧、厌恶心理，且黄粉虫并非传统食物，人们缺乏食用习惯，因此消费者不愿食用黄粉虫蛋白（*Tenebrio molitor* isolate，TPI）仍然是一个重大障碍。为了提高接受度，可以提取黄粉虫蛋白粉并以不可见的形式掺入食品中，或者对其加工、改性、优化口味，从而提高消费者的接受度。目前，蛋白质糖基化是一种常见的蛋白质修饰方法。

蛋白质的糖基化改性有多种途径，美拉德反应（Maillard reaction）是其中主要方式之一，它是蛋白质的氨基和碳水化合物的羰基在加热条件下即可发生的非酶褐变反应，且接枝产物具有一定的安全性及可操控性。通过该方法获得的蛋白-糖共价配合物具有更好的疏水性、发泡能力、乳化性能以及抗氧化性，对生物活性物质的递送效果影响显著。徐雪晗等[7]利用改性玉米醇溶蛋白作为壁材包埋藻油，对包埋后藻油的储藏稳定性进行分析，并对其货架期进行预测，结果表明，改性后的玉米醇溶蛋白包埋的藻油二十二碳六烯酸保留率为 96.95%。张斌等[8]采用亲水性多糖亚麻籽胶糖基化改性核桃分离蛋白，相较于核桃分离蛋白，起泡性提高 1.72 倍。Liu 等[9]也研究鹰嘴豆蛋白与柑橘果胶进行糖基化反应，发现经改性后的蛋白表现出更好的乳化性能。综上，糖基化改性是改善蛋白性质的有效途径。目前针对 TPI 与糖类物质通过美拉德反应生成共价复合物的相关研究较为有限，特别是在制备工艺、结构特征及其功能特性等方面的系统性研究尚未充分开展。

本研究以 TPI 为研究对象，通过以低聚木糖（Xylo-oligosaccharides，XOS）和 TPI 为底物对糖基化反应条件进行优化，进一步探究经低聚木糖对黄粉虫蛋白改性后结构和功能的影响，旨在为黄粉虫蛋白质作为新型食品原料的产业化开发提供科学支撑，为相关食品加工技术创新奠定理论基础。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

黄粉虫蛋白粉（蛋白含量 80.0%）　西安君泰生物科技有限公司；低聚木糖（纯度为 95%）、大豆油　益海嘉里食品营销有限公司；透析袋（截留分子量 8000~14000 Da）、5,5'-二硫基-2,2-硝基苯甲酸（DTNB）（纯度为 98%）、2,2'-联氮-双（3-乙基苯并噻唑-6-磺酸）二铵盐（$ABTS^+$）（纯度为 98%）、2,2-联苯基-1-苦基肼基（DPPH）（纯度为 98%）、胃蛋白酶（效价 1∶15000）、胰蛋白酶（效价 1∶250）、猪胆盐（胆酸含量≥60%）　上海源叶生物科技有限公司；其他化学试剂均为分析纯。

UV-2800A 紫外可见分光光度计　尤尼柯（上海）仪器有限公司；FD5-2.5 型真空冷冻干燥机　SIM 仪器有限公司；1500-823 型酶标仪　赛默飞世尔科技有限公司；ALPHA FT-IR 红外光谱仪　德国布鲁克公司；F-320 荧光分光光度计　天津港东科技股份有限公司；Regulus 8230 高分辨冷场发射扫描电镜　日本日立公司；KH30R-Ⅱ高速冷冻离心机　湖南凯达科学仪器有限公司；FSH-2A 可调高速匀浆机　上海化科实验器材有限公司；K9840 自动凯式定氮仪　海能未来技术集团股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 糖基化黄粉虫蛋白的制备 黄粉虫蛋白-低聚木糖接枝物(*Tenebrio molitor* protein isolate glycosylated with xylo-oligosaccharides polysaccharide, TPIX)的制备采用湿法糖基化法[10]。将黄粉虫蛋白粉和低聚木糖以不同比例溶解于超纯水中,配制成 2% 的蛋白粉溶液,然后在室温下用磁力搅拌器搅拌 3 h,通过小心地加入 0.10 mol/L 的 HCl 或 NaOH 来调节溶液的 pH,在 4 ℃ 下水合过夜。将溶液在不同温度下进行水浴,随后立即转移至冰水浴中快速冷却 5 min 以终止反应。反应结束后,将部分样品分装后置于 4 ℃ 冷藏环境中保存,用于后续接枝度及褐变程度的测定,剩余反应液经透析纯化后进行冷冻干燥制备 TPIX 产物粉末。以未处理的 TPI、相同条件下加热的黄粉虫蛋白粉(Heat-treated *Tenebrio molitor* protein isolate, TPIH)和相同质量比例的黄粉虫蛋白粉与低聚木糖混合物(TPI-XOS Mixture, MIX)为对照,用于后续结构和功能特性的测定。

1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 不同蛋白粉与糖质量比制备 TPIX 选取黄粉虫蛋白粉和低聚木糖 2∶1、1∶1、1∶2、1∶3、1∶4 的比例,pH 为 8.0,温度为 85 ℃,加热时间为 90 min 制备 TPIX,探究蛋白粉与糖质量比对 TPIX 接枝度和褐变程度的影响。

1.2.2.2 不同 pH 条件下制备 TPIX 选取混合物 pH 为 7.0、8.0、9.0、10.0、11.0,蛋白粉和糖的比例为 1∶2、温度为 85 ℃,加热时间为 90 min 制备 TPIX,探究不同 pH 对 TPIX 接枝度和褐变程度的影响。

1.2.2.3 不同反应温度条件下制备 TPIX 选取加热温度为 65、75、85、95 ℃,蛋白粉和糖的比例为 1∶2、pH 为 9.0,加热时间为 90 min 制备 TPIX,探究不同反应温度对 TPIX 接枝度和褐变程度的影响。

1.2.2.4 不同反应时间条件下制备 TPIX 选取加热时间为 0、30、60、90、120、150 min,蛋白粉和糖的比例为 1∶2、pH 为 9.0,加热温度为 85 ℃ 制备 TPIX,探究不同反应时间对 TPIX 接枝度和褐变程度的影响。

1.2.3 接枝度的测定 根据 Guan 等[11] 的方法,并稍作修改,通过邻苯二甲醛(o-Phthaldialdehyde, OPA)法测定糖基化产物的接枝度。首先称取 OPA 40 mg 溶于 1 mL 甲醇中,完全溶解后,依次加入 25 mL 0.1 mol/L 硼砂溶液、5 mL 10% 十二烷基硫酸钠及 100 μL *β*-巯基乙醇;混合均匀后用纯水定容至 50 mL,配好的 OPA 溶液应即配即用。准确量取 150 μL 糖基化产物溶液,加入 3 mL OPA 溶液,振荡混合均匀,在 35 ℃ 下孵育 2 min,将孵化好的溶液采用紫外分光光度计在 340 nm 处测定吸光度,同时用蒸馏水代替样品溶液作为对照,根据吸光度的变化计算接枝度。参照公式(1)计算接枝度(DG):

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

式中:A_0 是样品反应前的吸光度;A_1 是样品反应后的吸光度。

1.2.4 褐变程度的测定 取 1.0 mL 糖基化产物溶液加入 2.0 mL 稀释液(含 10% SDS 和 0.05 mol/L 硼砂),在 420 nm 下测定吸光值,褐变指数表示为 A_{420}[12]。

1.2.5 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)的测定 参考田洋等[13] 的方法略作修改。将待检测粉末样品和 KBr 按照 1∶100 的质量比混合均匀,研磨后压制成薄片,在 4000~400 cm^{-1} 的扫描范围内,以 4 cm^{-1} 的分辨率、32 次的扫描次数进行测定。通过傅里叶去卷积与二阶导数处理红外光谱酰胺 I 带(1600~1700 cm^{-1}),分析蛋白质二级结构的变化。

1.2.6 内源荧光光谱的测定 将待测蛋白粉样品充分分散在浓度为 0.01 mol/L、pH 为 7.0 的磷酸盐缓冲液(PBS)中,在激发波长设定为 280 nm(狭缝宽度 5 nm)、发射光谱扫描范围 300~500 nm、扫描速度 10 $nm \cdot s^{-1}$ 的条件下,对其荧光强度进行测定[14]。

1.2.7 扫描电子显微镜(SEM)的测定 采用真空镀膜技术对冻干蛋白粉样品进行预处理,首先将其均匀固定在导电样品台上,再通过离子溅射仪在其表面沉积一层厚度均匀的金钯合金导电层(60:40)。设置电子束加速电压为 3.0 kV,选择 200 倍放大倍数对样品表面微观形貌特征进行观察。

1.2.8 游离巯基的测定 采用 Ellman 法[15] 测定游离巯基的含量。Ellman 试剂制备方法如下:称取 40 mg DTNB 试剂,溶解于 10 mL 预先配制的 Tris-甘氨酸缓冲体系(含 0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L 甘氨酸、4 mmol/L EDTA, pH8.0±0.1)中。取 1 mL 待测蛋白溶液(4 mg/mL)与 9 mL 配制好的缓冲液充分混匀后,移取 4.5 mL 混合液加入 0.5 mL DTNB 显色剂。将混合液置于避光条件下室温孵育 30 min 后以 5000 r/min 处理 15 min,收集上清液于 412 nm 波长处测定吸光值。参照公式(2)计算游离巯基的含量:

$$\text{游离巯基}(\mu mol/g) = \frac{A_{412} \times 73.53 \times D}{c} \quad \text{式(2)}$$

式中:73.53 由 $10^6/(1.36\times10^4)$ 计算;1.36×10^4:摩尔消光系数($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$);D:稀释倍数;c:蛋白浓度(mg/mL)。

1.2.9 表面疏水性的测定 参照王勇[16] 的方法,量取 1 mL 浓度为 10 mg/mL 的蛋白粉溶液,向其中加入 20 μL 浓度为 1 mg/mL 的溴酚蓝溶液,充分混匀后在室温环境下放置 10 min。在 4 ℃ 条件下以 5000 r/min 的转速离心 10 min,取离心所得的上清液稀释 10 倍,在 595 nm 波长处测定其吸光值,同时以稀释液作为空白对照。表面疏水性的计算参照公式(3):

$$溴酚蓝结合量(\mu g) = 200 \times \frac{A_0 - A_s}{A_0}$$　　式（3）

式中：A_0：空白在 595 nm 的吸光度；As：样品在 595 nm 的吸光度。

1.2.10　起泡性及泡沫稳定性的测定　参考 Yao 等[17] 的方法，并稍作修改。配制 5 mg/mL 的样品溶液于试管中，记录样品溶液的高度。10000 r/min 高速均质 1 min，立即记录溶液的高度。静置 30 min 后，再次记录样品高度。参照公式(4)、公式(5)计算起泡能力（Foaming capacity，FC）和泡沫稳定性（Foam stability，FS）：

$$FC(\%) = \frac{h_1 - h_0}{h_0} \times 100$$　　式（4）

$$FS(\%) = \frac{h_2 - h_0}{h_0} \times 100$$　　式（5）

式中：h_0：涡旋前的高度；h_1：涡旋后的高度；h_2：静置 30 min 后的高度。

1.2.11　乳化活性及乳化稳定性的测定　参考 Wang 等[18] 的方法，并稍作修改。取 2 mL 大豆油与 6 mL 浓度为 5 mg/mL 的样品溶液进行混合，采用高速均质技术（10000 r/min）对样品进行持续 1 min 的乳化处理。在均质完成后的 0 min 和静置 10 min 后，使用微量移液器从试管底部精准吸取 50 μL 乳状液样品，用 5 mL 含 0.1%(w/v)SDS 溶液对其进行 100 倍稀释，充分混匀后立即在 500 nm 波长下测定其吸光值，用于评估乳液稳定性。乳化活性（Emulsifying activity index，EAI）和乳化稳定性（Emulsion stability index，ESI）分别根据公式(6)和公式(7)进行计算：

$$EAI(m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times D}{c \times \varphi \times L \times 10000}$$　　式（6）

$$ESI(min) = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}}$$　　式（7）

式中：A_0：乳液在 0 min 的吸光度；A_{10}：静置 10 min 的吸光度；D：稀释倍数；c：蛋白质浓度(g/mL)；φ：油相体积分数；L：比色皿光径。

1.2.12　抗氧化性的测定

1.2.12.1　DPPH 自由基清除率的测定　参考王楠等[19] 的方法并做适当修改。量取 2 mL 浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液与 2 mL 浓度为 5 mg/mL 的样品溶液，将两者混合并摇匀，在避光环境下静置 30 min，于 517 nm 波长处测定吸光度。实验中以无水乙醇替代 DPPH 溶液作为空白对照，DPPH 自由基清除率的计算参照公式(8)：

$$DPPH自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$　　式（8）

式中：A_0：空白在 517 nm 的吸光度；A_1：样品在 517 nm 的吸光度；A_2：对照在 517 nm 的吸光度。

1.2.12.2　$ABTS^+$自由基清除率的测定　采用 Zhang 等[20] 的方法进行测定。先分别制备 4 mg/mL ABTS 储备液和 1 mg/mL 的过硫酸钾（$K_2S_2O_8$）溶液，将配制好的溶液按等体积比例混合，避光条件下静置反应 15 h 以生成 ABTS 阳离子自由基（$ABTS^{+\cdot}$），临用前用 0.01 mol/L PBS 调节混合液吸光值，使其在 734 nm 波长处的读数为 0.70±0.02，制得标准工作液。测定时取 200 μL 待测样品溶液（5 mg/mL）与 3 mL ABTS 工作液涡旋混匀，避光反应 5 min 后立即测定 734 nm 处的吸光值。同时设置空白对照组，以等体积超纯水代替样品溶液进行平行测定。$ABTS^+$自由基清除率的计算参照公式(9)：

$$ABTS^+自由基清除率(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$　　式（9）

式中：A_0：对照在 734 nm 处测定的吸光度；A_1：样品在 734 nm 处测定的吸光度。

1.2.12.3　羟自由基清除率的测定　参照徐雪晗等[7] 的方法进行测定。向试管中依次加入 1 mL 浓度为 5 mg/mL 的样品溶液、1 mL 浓度为 9 mmol/L 的水杨酸溶液与 1 mL 浓度为 9 mmol/L 的硫酸亚铁溶液，然后添加 1 mL 浓度为 9 mmol/L 的过氧化氢溶液，充分混合后，在避光环境下于 37 ℃ 水浴中静置 30 min 后以 4000 r/min 的转速离心 10 min，取离心后的上清液，在 510 nm 波长处测定其吸光度。实验设置两组对照，一组以去离子水替代过氧化氢作为对照样，另一组以去离子水替代样品作为空白样。羟自由基清除率的计算参照公式(10)：

$$羟自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$　式（10）

式中：A_0：空白在 510 nm 的吸光度；A_1：样品在 510 nm 的吸光度；A_2：对照在 510 nm 的吸光度。

1.2.13　体外消化性的测定　参考 Minekus 等[21] 体外消化模型，并稍作修改。根据表 1 所示的组分比例，准确称取各试剂配制缓冲体系，将六种组分溶液充分混匀后，用去离子水定容至 400 mL，制备得到 1.25×消化液母液。

表 1　体外模拟消化液配方

Table 1　Formula of simulated digestive solution *in vitro*

成分	储备液浓度（mol/L）	模拟胃液（SGF）体积(mL)	模拟肠液（SIF）体积(mL)
KCl	0.5	6.9	6.8
KH_2PO_4	0.5	0.9	0.8
$NaHCO_3$	1	12.5	42.5
NaCl	2	11.8	9.6
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0.15	0.4	1.1
$(NH_4)_2CO_3$	0.5	0.5	–

参考迟晓君等[22] 的方法进行模拟胃消化阶段。首先配制胃消化液：将 150 mL（1%）样品溶液与 7.5 μL 0.3 mol/L $CaCl_2$ 加入到 120 mL SGF 中，调 pH 至 3，用蒸馏水补至 150 mL，再加入 60 mg 胃蛋白酶（1∶15000），将待测溶液与胃消化液以 1∶1 的比

例混合均匀，放入振荡培养箱中，于 37 ℃、135 r/min 振荡消化 2 h。

参考马寅龙等[23]的方法进行模拟肠消化阶段。配制肠消化液：量取 20 μL 0.3 mol/L $CaCl_2$ 和 1.221 g 猪胆盐加入到 120 mL SIF 中，调 pH 至 7，用蒸馏水补至 150 mL，再加入 120 mg 胰蛋白酶（1∶250），将胃消化产物与肠消化液以 1∶1 的比例混合均匀，放入振荡培养箱中，在 37 ℃、135 r/min 振荡消化 2 h。

期间间隔 30 min 取样后对消化液进行沸水浴 5 min 以终止消化，于 4 ℃ 储存。

蛋白质体外消化率的测定参照王智慧等[24]的方法，取上清液后用凯氏定氮法测定可溶性蛋白的含量。参照公式(11)计算蛋白质消化率：

$$\text{蛋白质消化率}(\%) = \frac{\text{初始上清液蛋白含量} - \text{消化后上清液蛋白含量}}{\text{初始上清液蛋白含量}} \times 100 \quad \text{式（11）}$$

1.3 数据处理

本研究采用三重复实验设计，所有测定结果均以均值±标准差（Mean±SD）形式呈现。运用 SPSS Statistics 27 统计软件进行方差分析（ANOVA），结合 Microsoft Excel 2019 完成数据处理，以 $P<0.05$ 表示数据存在显著差异，图表采用 Origin 2024 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 糖基化黄粉虫蛋白的接枝度和褐变程度

2.1.1 底物配比对黄粉虫蛋白糖基化反应程度的影响 如图 1A 所示，TPIX 的接枝度随 XOS 占比的增加呈现先增加后降低的趋势。当两者比例为 1:2 时接枝度达到峰值（33.66%±0.83%）。说明在此比例下 TPI 的游离氨基与 XOS 中的还原性末端羰基达到更为理想的结合状态[25]。但是当添加 TPI:XOS 质量比为 1:4 时，接枝度显著下降（$P<0.05$），可能是因为过量 XOS 导致蛋白质分子聚集，形成空间位阻，同时分子间疏水相互作用增强抑制糖基化反应，从而影响接枝效率。

Maillard reaction 在反应初期生成呋喃类化合物及其衍生物，这些中间产物通过聚合、缩合等系列反应最终形成类黑精等褐色物质，使反应后褐变度上升[26]，在 420 nm 处的吸光度测量值可描述美拉德反应后期物质变化的程度。通过图 1B 可知，在 TPI 与 XOS 质量比为 2∶1~1∶1 的条件下，所得 TPIX 褐变程度处于相对较低水平，随 XOS 占比的增加，TPIX 褐变度呈现逐渐升高的趋势，这可能由于过量的 XOS 降解产物与美拉德反应的中间产物进一步发生聚合、氧化反应，持续生成类黑精。综上，本研究选择质量比（1∶2，w/w）作为后续糖基化反应的标准条件。

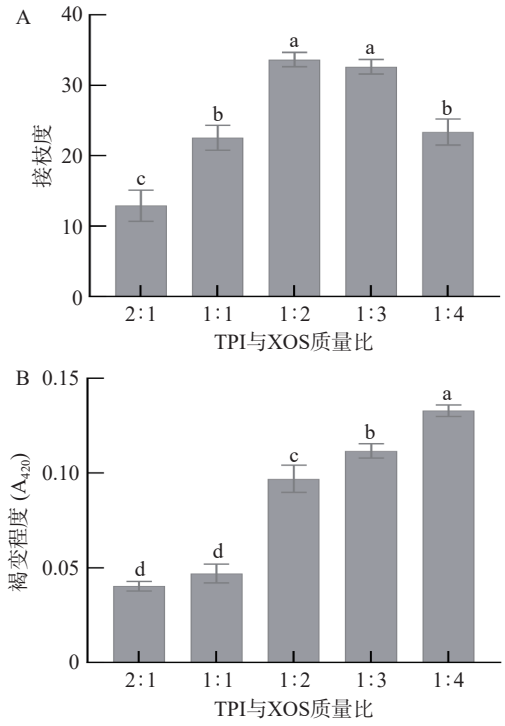


图 1 底物配比对 TPIX 接枝度（A）和褐变程度（B）的影响

Fig.1 Effect of substrate ratio on TPIX grafting degree (A) and browning degree (B)

注：不同字母表示组间差异显著（$P<0.05$），图 2~图 5、图 8~图 12 同。

2.1.2 pH 对黄粉虫蛋白糖基化反应程度的影响 由图 2A 可知，在 pH7.0~11.0 范围内，TPIX的接枝度整体呈上升趋势，在 pH7.0~9.0 范围内，接枝度增幅最为显著（$P<0.05$），在 pH9.0 时达到 30.46%±1.24%；

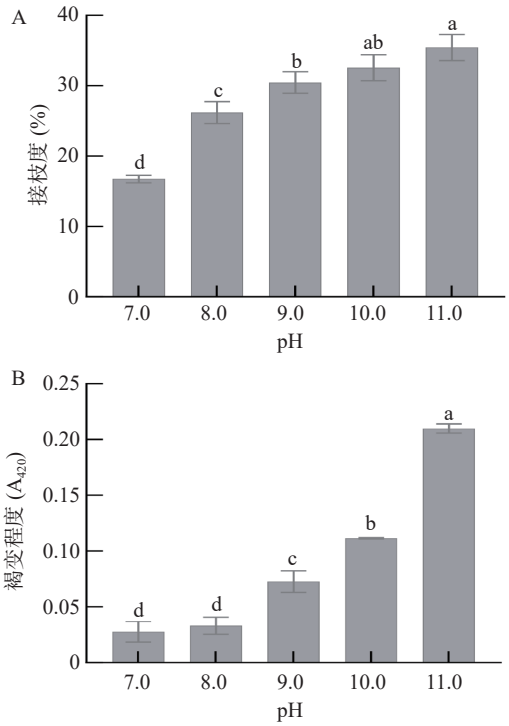


图 2 pH 对 TPIX 接枝度（A）和褐变程度（B）的影响

Fig.2 Effects of pH on the grafting degree (A) and browning degree (B) of TPIX

当 pH 继续升高，接枝度增幅明显趋缓，在 pH 为 11.0 时达到最高值，且 pH10.0 与 pH9.0 之间无显著性差异（P>0.05）。这主要是因为碱性条件有利于蛋白质分子中氨基的解离，同时糖分子的羰基发生异构化形成烯醇式结构，更易与蛋白质中的氨基发生反应，从而促进接枝度升高；但过高的碱性环境可能对蛋白质空间结构产生影响，导致反应效率的提升趋于平缓。由图 2B 可知，TPIX 的褐变程度（A_{420}）随 pH 升高而持续加剧，当 pH 由 8.0 升至 9.0 时，A_{420} 显著升高（P<0.05）；当 pH 超过 9.0后，褐变程度呈急剧上升趋势，A_{420} 大幅增加。这是由于极端碱性条件下美拉德反应后期有色物质的快速生成及非酶促褐变反应加剧。综合来看，在 pH为 9.0 的条件下，获得较高的接枝度和较低的褐变强度，因此后续试验将反应的 pH 确定为 9.0。

2.1.3　加热温度对黄粉虫蛋白糖基化反应程度的影响　如图 3A 所示，TPIX 的接枝度随加热温度的升高呈现先上升后下降的趋势（P<0.05），并在 85 ℃ 时达到峰值（29.35%±1.99%），可能是由于适当升高温度能够加快蛋白质和糖分子的运动速度，增加其碰撞频率同时高温为糖基化反应提供能量，从而接枝度升高；而过度高温加热使 TPI 空间结构改变，蛋白质发生变性，其结构松散、混乱，导致氨基位点被掩盖或破坏，因此接枝度降低。由图 3B 可知，TPIX 的褐变程度随加热温度上升而显著增强（P<0.05），当温度升至 95 ℃ 时，褐变程度急剧上升，这可能是因为高温条件下长时间反应产生丙烯酰胺等有害物质[27]，从而导致褐变程度加深，不利于实际生产应用，而在 85 ℃ 时，褐变程度相对较低。因此后续实验选择 85 ℃ 作为糖基化反应的最适温度，确保糖基化产物具备较高的接枝度和较低的褐变程度。

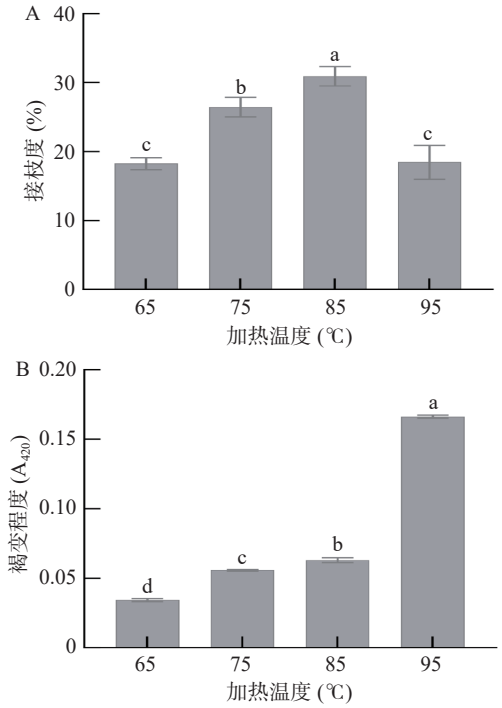


图 3　加热温度对 TPIX 接枝度（A）和褐变程度（B）的影响

Fig.3　Effects of heating temperature on the grafting degree (A) and browning degree (B) of TPIX

2.1.4　加热时间对黄粉虫蛋白糖基化反应程度的影响　由图 4A 可知，当加热时间从 0 到 90 min 时，共价物 TPIX 的接枝度持续升高，在 90 min 时达到最高 DG（32.24%±0.76%），可能是因为糖基化反应会经历多个中间步骤，形成多种中间产物，加热时间越长越有利于这些中间产物进一步转化为糖基化产物，使得接枝度升高；然而随加热时间进一步延长，接枝度未呈现明显增加趋势。由图 4B 可知，随着加热时间增加，TPIX 的褐变程度（A_{420}）总体呈现显著（P<0.05）升高的趋势，这是因为美拉德反应生成的糠醛和其衍生物之间会发生相互聚合而生成深褐色物质，从而导致其褐变程度（A_{420}）上升[28]。而加热时间为 90 min 时，褐变程度（A_{420}）相对较低（0.078±0.005）。因此，结果表明最适加热时间为 90 min。

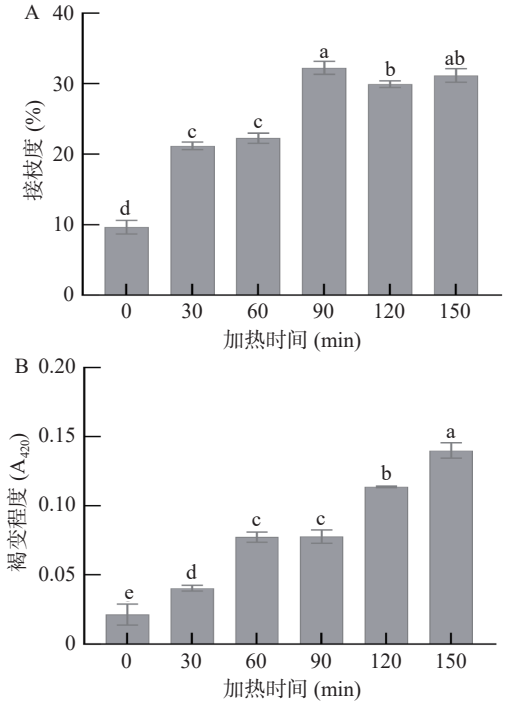


图 4　加热时间对 TPIX 接枝度（A）和褐变程度（B）的影响

Fig.4　Effects of heating time on the grafting degree (A) and browning degree (B) of TPIX

2.2　糖基化改性对 TPI 结构特性的影响

2.2.1　糖基化改性对 TPI 红外光谱的影响　蛋白质与碳水化合物相互作用后发生的结构变化可以通过 FTIR 来分析阐明。如图 5A 所示，TPI 在 FTIR 光谱中表现出正常的蛋白质特征，在 1653 cm^{-1}（酰胺Ⅰ）、1542 cm^{-1}（酰胺Ⅱ）和 1332 cm^{-1}（酰胺Ⅲ）附近有三个特征吸收带，分别与 C=O 拉伸、N-H 弯曲和 C-N 拉伸有关[29]。而经过糖基化反应处理后，TPIX 的酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III 的吸收峰均发生不同程度的位移，且吸收强度有所增强，这可能是美拉德反应中

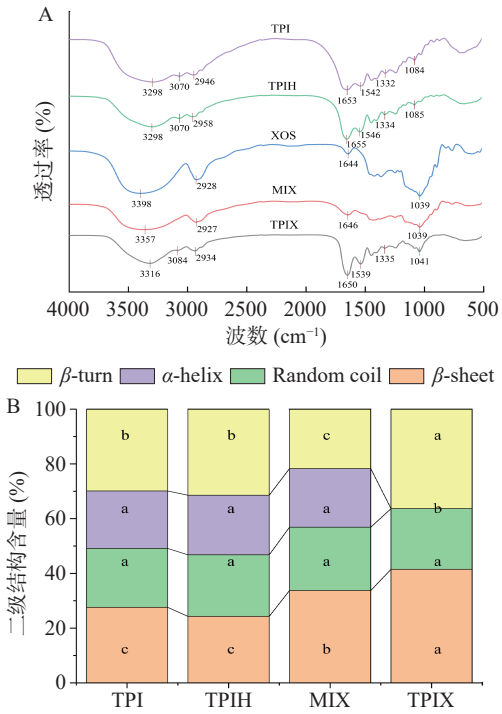


图 5 不同处理对 TPI 红外光谱(A)和二级结构含量(B)的影响

Fig.5 Effects of different treatments on the infrared spectra (A) and secondary structure content (B) of TPI

低聚木糖与蛋白的游离氨基相互作用的结果[30]。在 3298 cm^{-1} 附近，酰胺 A 基团(3500~3200 cm^{-1})的吸收峰与 N-H、O-H 和 C-H 键的拉伸有关[31]，证实了氢键的参与，与 TPI 相比，TPIX 处吸收峰出现红移，表明糖基化可能消耗了分子间氢键。在 3070 cm^{-1} 附近，酰胺 B 基团(3100~2900 cm^{-1})的吸收峰对应于蛋白质的 C-H 拉伸振动[31]。碳水化合物的特征峰位于 1180~953 cm^{-1} 的范围内，在美拉德反应之后，蛋白质的吸收峰发生了变化，从 1084 cm^{-1} 移动到 1041 cm^{-1}，可能是因为蛋白质与大量低聚木糖分子结合，从而改变蛋白质的结构，增加糖基化产物中氢键的数量[32]。

由图 5B 可知，经糖基化改性后的 TPIX，α-螺旋含量显著降低($P<0.05$)，β-折叠含量显著增加($P<0.05$)。与 TPI 相比，TPIX 的 α-螺旋含量完全消失，β-转角含量略有增加(从 30% 到 36%)，无规卷曲含量无变化，β-折叠含量显著增加，从 28% 增加到 42%。这表明蛋白质糖基化对蛋白质二级结构的变化有显著影响，促进了 α-螺旋向 β-折叠的转变，并且以有序结构为主。

综上所述，糖基化通过美拉德反应消耗部分官能团生成新的物质，显著影响了黄粉虫蛋白的内部结构。

2.2.2 糖基化改性对 TPI 荧光光谱的影响 利用内源性荧光光谱可以测定 TPI 的三级结构。如图 6 所示，与 TPI 相比，TPIX 的荧光强度明显降低，并且发生明显的红移，从 320 nm 移动到 410 nm 附近。这一方面是由于低聚木糖具有亲水性，与蛋白质相互作用后导致空间结构发生改变，使蛋白分子内部的色氨酸基团暴露出来，增强蛋白质溶液的极性环境，从而降低荧光强度[33]；另一方面，低聚木糖的存在对蛋白质的色氨酸残基产生了屏蔽作用，且糖链与蛋白质共价结合的屏蔽作用比非共价结合的屏蔽作用更强[34−36]。此外，TPIH 与 TPI 荧光强度几乎一致，表明仅加热并未改变蛋白质的三级结构；MIX 的荧光强度要高于经糖基化改性后的样品，说明 TPI 与 XOS 的简单混合糖基化程度相对较低。因此，TPI 与 XOS 发生美拉德反应，形成了具有较强捕获发色团能力的 TPIX，说明美拉德反应显著影响了蛋白的三级结构。

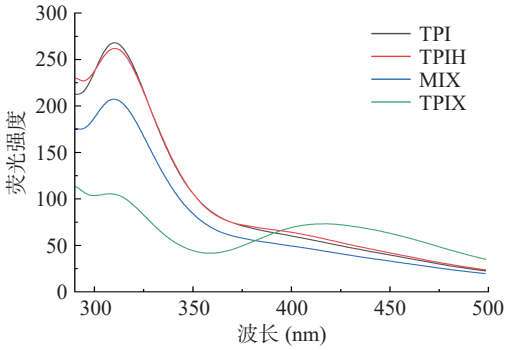


图 6 不同处理对 TPI 内源性荧光光谱的影响

Fig.6 Effects of different treatments on the endogenous fluorescence spectra of TPI

2.2.3 糖基化改性对 TPI 微观结构的影响 扫描电子显微镜结果能直观反映样品的表面形貌和微观结构。如图 7 所示，TPI 呈现出大小不一的球状颗粒紧密排列的结构，说明结构未被破坏。经高温加热后，TPIH 结构松散、球形结构减少，破碎颗粒较多，说明蛋白质的微观结构发生了变化。这表明，在接糖过程中，蛋白质与木糖的相互作用可能诱导了蛋白质聚集，形成了更大的聚合物。XOS 的表面形态呈零散且细碎的块状，这种结构特点使其更易附着在 TPI 上。经过物理混合后 TPI 的结构被破坏但是仍存在部分球状结构，表明简单的物理混合对 TPI 结构的破坏程度低于糖基化处理的破坏程度。TPIX 共价

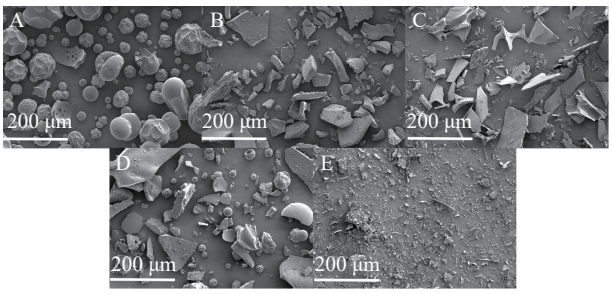


图 7 不同处理对 TPI 微观结构的影响

Fig.7 Effect of different treatments on the microstructure of TPI

注：A：TPI；B：TPIH；C：XOS；D：MIX；E：TPIX。

交联后表面结构发生了显著变化，变得松散多孔，呈现更多的褶皱。这是由于 TPI 与 XOS 紧密结合，导致不均匀和累积结构的形成并且蛋白质的空间结构扩展变形。

2.2.4　糖基化改性对 TPI 游离巯基的影响　巯基是蛋白质糖基化改性中的关键活性官能团，对于反应蛋白质结构的变化至关重要[37]。当巯基被氧化形成二硫键时，蛋白质分子之间的交联增加，从而影响乳化性能，并能反映出一定程度的抗氧化活性[31]。图 8 呈现出不同处理的蛋白质的游离巯基含量的变化。与 TPI 相比，TPIH 中游离巯基的含量略高，但并无显著变化，而 TPI 与 XOS 仅物理混合的 MIX 和糖基化改性的 TPIX 的巯基含量显著增加（P<0.05），其中 TPIX 中游离巯基含量大幅增加。可检测到的游离巯基是源于蛋白质内部结构遭到破坏后原本隐藏的巯基暴露并经氧化形成二硫键这一过程，在反应持续推进的过程中，XOS 会促使 TPI 分子结构打开，导致其内部基团暴露进而使游离巯基含量上升[31]。Ruan 等[38] 研究的藜麦蛋白通过透明质酸诱导的羰基化反应后游离巯基含量显著上升（P<0.05）。此外，游离巯基含量的增加使得蛋白质空间结构更加松散，刚性程度降低，使 TPIX 具有更加优异的起泡能力和乳化能力[39]。

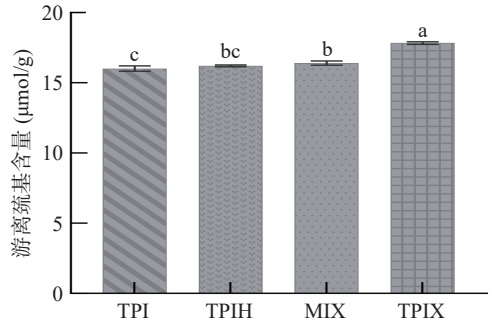


图 8　不同处理对 TPI 游离巯基含量的影响

Fig.8　Effects of different treatments on the content of free thiol groups of TPI

2.2.5　糖基化改性对 TPI 疏水性的影响　溴酚蓝是蛋白质上疏水位点的可见吸光度探针[40]，溴酚蓝结合量越高，疏水性越大。经不同处理下对 TPI 表面疏水性的影响如图 9 所示，天然的 TPI 与溴酚蓝结合量为 22.22 μg，TPIH、MIX、TPIX 与溴酚蓝结合量分别为 17.56、20.43、5.38 μg。与 TPI 相比，表明加热和物理混合不会显著影响蛋白质的表面疏水性，也说明 XOS 没有与 TPI 疏水性基团发生反应，也没有使 TPI 暴露出更多的疏水性基团。糖基化改性后的 TPI 的表面疏水性显著降低（P<0.05），表明糖基化改变了蛋白的空间结构，在糖基化过程中 XOS 与蛋白质的共价结合显示出一定数量的亲水性基团，产生位阻，增强 TPIX 的亲水性，从而降低了疏水性的比例。贾伟祎等[41] 也发现经低聚木糖改性后的蛋白质表面疏水性显著降低。

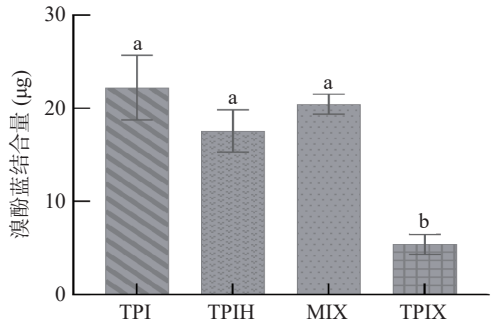


图 9　不同处理对 TPI 表面疏水性的影响

Fig.9　Effects of different treatments on the surface hydrophobicity of TPI

2.3　糖基化改性对 TPI 功能特性的影响

2.3.1　糖基化改性对 TPI 起泡性及泡沫稳定性的影响　糖基化改性对 TPI 起泡能力及泡沫稳定性的影响结果如图 10 所示，其变化结果与巯基含量的结果基本一致。未处理的 TPI 的起泡能力和泡沫稳定性分别为 38.54% 和 30.21%，而经加热后起泡能力和泡沫稳定性分别降低至 25% 和 13.54%。可能是因为高温加热后蛋白质相互聚集导致变性，蛋白体系中以疏水相互作用占据主导地位，气液界面的蛋白质含量减少，进而引起起泡能力及泡沫稳定性下降[42]。相较于 TPI，经低聚木糖糖基化后 TPIX 起泡能力提高到 73.96%，而泡沫稳定性相对降低了 62.1%，这可能是因为黄粉虫蛋白与低聚木糖糖基化产生了柔韧、松散的构象，使蛋白质的结构变得更加伸展和灵活，这种构象有利于蛋白质在气-液界面上快速吸附和定向排列，从而促进泡沫的形成[43]。因此糖基化处理有利于提升 TPI 在食品体系中的应用价值。

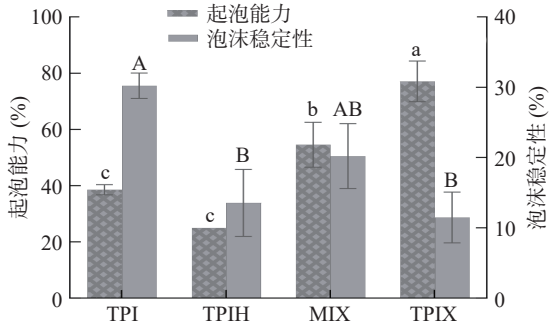


图 10　不同处理对 TPI 起泡性的影响

Fig.10　Effects of different treatments on the foaming property of TPI

2.3.2　糖基化改性对 TPI 乳化活性及乳化稳定性的影响　乳化活性和乳化稳定性是表征蛋白质乳化性能的两个重要指标。乳化特性与表面疏水性和巯基含量密切相关，前者代表了蛋白质吸附在界面上的能力，而后者代表了蛋白质赋予乳液强度的能力，使它们能够在一定时间内抵抗结构变化[44]。如图 11 所示，TPI 的乳化活性和乳化稳定性分别为 3.58 m^2/g 和 48.28 min，经加热后乳化活性指数显著升高（P<0.05）至 7.55 m^2/g，而乳化稳定性降低至 32.09 min。

这一现象可能归因于热处理诱导的蛋白质分子量增加，有利于增加界面膜的黏弹性，且连续相中蛋白分子量大，会增加乳液体系黏度，从而增加了乳化活性；而乳化稳定性是由两亲性特征决定的，其中序列内氨基酸的亲水/疏水分布与蛋白质的吸附能力明显相关，过量亲水或疏水基团会导致界面吸附能力降低，会将蛋白质限制在单相（水/油），从而降低乳化稳定性[45]。与 TPI 相比，TPIX 乳化活性提升到 9.38 m^2/g，乳化稳定性相对降低了 40.08%，这种变化可能是由于蛋白质中的疏水基团和赖氨酸残基暴露在表面，进而与碳水化合物的羰基反应，这有助于系统在疏水基团和亲水基团之间实现新的平衡，促进乳液的形成[46]。而乳化稳定性减少可能是由于糖基化的过度反应，导致蛋白质和糖变性并改变它们的静电相互作用，从而降低了偶联物维持乳液的能力[47−48]。

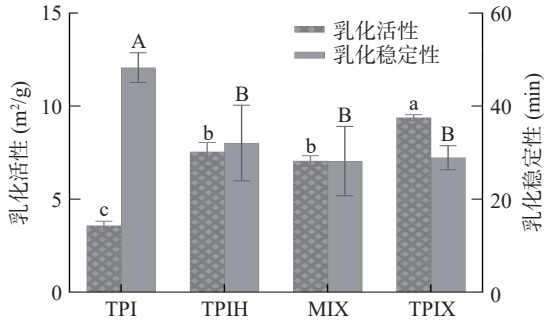


图 11 不同处理对 TPI 乳化性的影响

Fig.11 Effects of different treatments on the emulsifying property of TPI

2.3.3 糖基化改性对 TPI 抗氧化性的影响 图 12 分别显示了不同处理对 TPI 的 DPPH 自由基清除率（A）、$ABTS^+$自由基清除率（B）和羟自由基清除率（C）的影响。通过图 12 可以发现 XOS 的加入可以增强 TPI 的抗氧化特性，这可能是因为有美拉德反应产物类黑精和 Amadori 化合物的生成[49]。由图 12A 可知 TPIX 的 DPPH 自由基清除力显著（$P<0.05$）超过了未处理的 TPI 和 TPI 与 XOS 物理混合物，由 38.32%、41.88% 提升到 60.49%。Yuan 等[50] 发现，由酪蛋白肽和葡萄糖形成的糖基化产物也表现出较强的 DPPH 自由基清除能力。这种增强可能归因于具有抗氧化能力的糖基化中间产物羟甲基糠醛的降解，羟基和吡咯基团、各种杂环和芳香结构以及氢原子可用性的增加等[49]。通过图 12B、图 12C 可知，糖基化产物 TPIX 对 $ABTS^+$自由基和羟自由基的清除能力与 DPPH 自由基清除活性呈现一致的变化规律，均高于未糖基化的 TPI。与 TPI 相比，TPIX 的 $ABTS^+$自由基清除率、DPPH 自由基清除率和羟自由基清除率分别相对提升了 74.17%、57.85% 和 10.27%，表明糖基化修饰显著提升了抗氧化性能，且对不同自由基的增强效果具有选择性（$ABTS^+$自由基>DPPH 自由基>羟自由基）。因此，TPIX 可作为高效、安全的天然抗氧化剂，在肉制品保鲜、油脂抗氧化等食品加工领域展现出重要的应用价值，具有广阔应用前景。

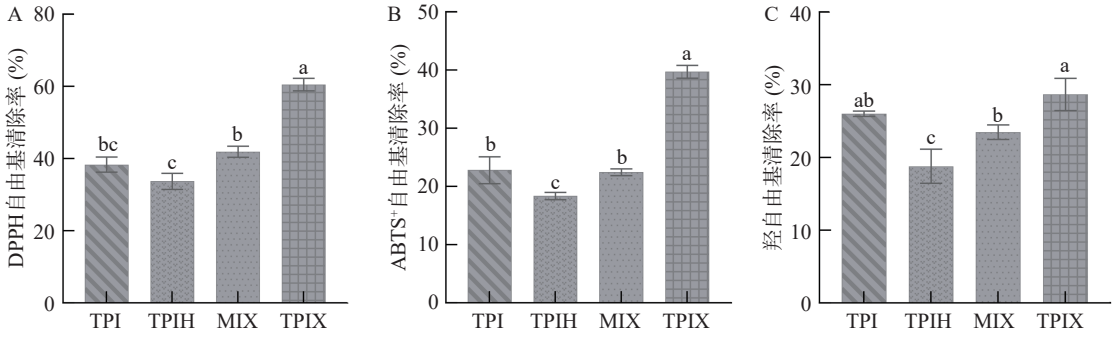


图 12 不同处理对 TPI 抗氧化性的影响

Fig.12 Effects of different treatments on the antioxidant properties of TPI

2.3.4 糖基化改性对 TPI 体外消化性的影响 实验分析了不同处理下黄粉虫蛋白溶液经胃和肠消化后蛋白质消化率的变化，结果如图 13 所示。随着消化时间的延长，TPIX 和 TPI 的蛋白质消化率逐渐上升，TPIX 的胃蛋白酶消化能力低于 TPI，经胃消化 2 h 后，TPI 和 TPIX 的蛋白质消化率分别提高到 6.21% 和 4.97%。经肠消化阶段后，TPI 的消化率从 6.21% 增加到 58.65%，TPIX 蛋白消化率从 4.97% 增加到 51.72%。结果表明，TPIX 蛋白质消化性低于 TPI（$P<0.05$），相较于 TPI 降低了 13.39%，这可能是由于低聚木糖提供的空间位阻阻碍了蛋白酶对 TPIX 的识别[51]，从而阻碍了 TPIX 的水解。

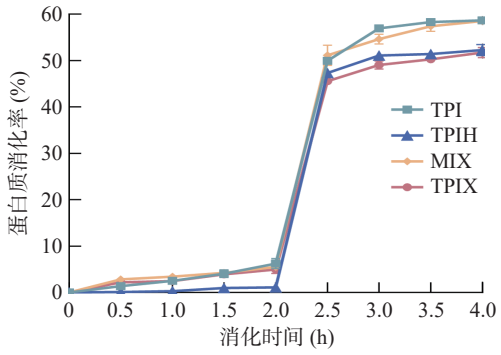


图 13 不同处理对 TPI 体外消化性的影响

Fig.13 Effects of different treatments on the digestibility of TPI *in vitro*

3　结论

本研究以黄粉虫蛋白粉为原料，对低聚木糖与黄粉虫蛋白糖基化反应条件进行探究，以接枝度和褐变程度为指标，系统优化确立黄粉虫蛋白-低聚木糖复合物制备的最适反应条件，并深入研究其结构特征与功能特性变化。结果表明：当黄粉虫蛋白粉与低聚木糖的质量比为 1∶2、反应体系 pH 为 9.0、反应温度 85 ℃、反应时间 90 min 时，所得糖基化产物展现出高接枝度和低褐变程度，分别为 32.24% 和 0.078；通过对 FTIR、内源性荧光光谱、SEM、游离巯基含量分析，表明糖基化改性可以改变蛋白质的二级和三级结构，并改变蛋白质的微观结构。在功能特性方面，经糖基化改性后的黄粉虫蛋白粉的起泡性、乳化活性和抗氧化性显著提高，表面疏水性降低，但其泡沫稳定性、乳化稳定性和消化性能均降低。该研究结果为黄粉虫蛋白粉作为食品配料用于蛋白饮料、乳液和泡沫食品中奠定基础，为后续黄粉虫蛋白结构特性和功能活性的研究提供了基础，同时也拓宽了糖基化改性的应用范围；也进一步为今后昆虫蛋白的修饰提供了理论基础。

© 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］ HONG Jinsu, HAN T, KIM Y Y. Mealworm (*Tenebrio molitor* Larvae) as an alternative protein source for monogastric animal: A review[J]. Animals, 2020, 10(11): 2068.

［2］ RUMPOLD B A, SCHLÜTER O K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2013, 57(5): 802−823.

［3］ GONZALEZ-DELa ROSA T, MONTSERRAT-DELa PAZ S, RIVERO-PINO F. Production, characterisation, and biological properties of *Tenebrio molitor*-derived oligopeptides[J]. Food Chemistry, 2024, 450: 139400.

［4］ NONGONIERMA A B, FITZGERALD R J. Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: A review[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2017, 43: 239−252.

［5］ ZIELIŃSKA E, BARANIAK B, KARAŚ M. Identification of antioxidant and anti-inflammatory peptides obtained by simulated gastrointestinal digestion of three edible insects species (*Gryllodes sigillatus, Tenebrio* molitor, *Schistocerca* gragaria)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(11): 2542−2551.

［6］ EFSA PANEL ON NUTRITION N F, ALLERGENS F, TURCK D, et al. Safety of frozen and dried forms of whole yellow mealworm (*Tenebrio molitor* Larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283[J]. EFSA Journal, 2025, 23(1): e9155.

［7］ 徐雪晗, 张慧君, 李萍, 等. 玉米醇溶蛋白糖基化产物对 DHA 微胶囊氧化稳定性的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(12): 68−77. ［XU Xuehan, ZHANG Huijun, LI Ping, et al. Effects of zein glycosylation products on the oxidation stability of docosahexaenoic acid microcapsules[J]. Food Science, 2024, 45(12): 68−77.］

［8］ 张斌, 李聪方, 杨莉, 等. 亚麻籽胶糖基化改性核桃蛋白及性质分析[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(12): 88−96. ［ZHANG Bin, LI Congfang, YANG Li, et al. Modification of walnut protein by glycosylation of linseed gum and analysis of its properties[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(12): 88−96.］

［9］ LIU Yibo, GUO Xiaobing, FAN Xuemei, et al. Improving the emulsifying properties and oil–water interfacial behaviors of chickpea protein isolates through Maillard reaction with *Citrus* pectin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 283: 137671.

［10］ YIN Baoru, WANG Chaonan, LIU Zhijia, et al. Peptide-polysaccharide conjugates with adjustable hydrophilicity/hydrophobicity as green and pH sensitive emulsifiers[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 120−129.

［11］ GUAN Junjun, QIU Aiyong, LIU Xiaoya, et al. Microwave improvement of soy protein isolate–saccharide graft reactions[J]. Food Chemistry, 2006, 97(4): 577−585.

［12］ 张志颖, 张琳璐, 白英, 等. 亚麻籽胶-乳清蛋白改性物的制备及抗氧化性[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(1): 146−153. ［ZHANG Zhiying, ZHANG Linlu, BAI Ying, et al. Preparation and antioxidant activity of flaxseed gum-whey protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(1): 146−153.］

［13］ 田洋, 汤木果, 周艳, 等. 不同分子质量糖基化核桃肽的制备及功能特性分析[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 205−214. ［TIAN Yang, TANG Muguo, ZHOU Yan, et al. Preparation and functional properties of glycosylated walnut peptides with different molecular masses[J]. Food Science, 2023, 44(10): 205−214.］

［14］ XU Haining, PAN Jiayin, DABBOUR M, et al. Synergistic effects of pH shift and heat treatment on solubility, physicochemical and structural properties, and lysinoalanine formation in silkworm *Pupa protein* isolates[J]. Food Research International, 2023, 165: 112554.

［15］ PEZESHK S, REZAEI M, HOSSEINI H, et al. Impact of pH-shift processing combined with ultrasonication on structural and functional properties of proteins isolated from rainbow trout by-products[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 118: 106768.

［16］ 王勇. 磷酸化和糖基化修饰对鱼明胶功能特性和消化特性作用与机制研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2023. ［WANG Yong. Study on the phosphorylation and glycosylation modification on the functional and digestive properties of fish gelatin and its mechanism[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2023.］

［17］ YAO Shunyu, LI Wu, WU Yue, et al. The impact of high-intensity ultrasound-assisted extraction on the structural and functional properties of hempseed protein isolate (HPI)[J]. Foods, 2023, 12(2): 348.

［18］ WANG Feng, ZHANG Yizhong, XU Ling, et al. An efficient ultrasound-assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities[J]. LWT, 2020, 127: 109348.

［19］ 王楠, 章涵钰, 楼博, 等. 甲鱼抗氧化肽对非酶糖基化反应及其终产物的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(2): 58−64. ［WANG Nan, ZHANG Hanyu, LOU Bo, et al. Inhibitory effect of antioxidant peptides of turtle on non-enzymatic gluco-sylation and its end products[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science

and Technology, 2022, 22(2): 58−64.]
[20] ZHANG Xinliu, GAO Hao, WANG Chunyan, et al. Characterization and comparison of the structure and antioxidant activity of glycosylated whey peptides from two pathways[J]. Food Chemistry, 2018, 257: 279−288.
[21] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food–an international consensus[J]. Food & Function, 2014, 5(6): 1113−1124.
[22] 迟晓君, 王璇, 张大鹏, 等. 黄粉虫蛋白粉成分分析及体外模拟消化功效评价[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2023, 54(5): 683−690. [CHI Xiaojun, WANG Xuan, ZHANG Dapeng, et al. Protein powder components in *Tenebrio molitor* L. and evaluation on simulated digestion *in vitro*[J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2023, 54(5): 683−690.]
[23] 马寅龙, 郭锐斌, 孔祥丽, 等. 超高压对乳清浓缩蛋白结构的影响及其体外模拟消化产物的功能性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 93−104. [MA Yinlong, GUO Ruibin, KONG Xiangli, et al. Effect of ultra high pressure on the structure of whey protein concentrate and functional analysis of simulated digestion products *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 93−104.]
[24] 王智慧, 刘煊, 肖天雨, 等. 超高压与超声处理对克氏原螯虾微观结构、蛋白质氧化及消化特性的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(24): 117−127. [WANG Zhihui, LIU Xuan, XIAO Tianyu, et al. Effects of ultrahigh pressure and ultrasound treatment on the microstructure, protein oxidation, and digestive properties of *Procambarus clarkii*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(24): 117−127.]
[25] DONG Shiyuan, WEI Binbin, CHEN Bingcan, et al. Chemical and antioxidant properties of casein peptide and its glucose Maillard reaction products in fish oil-in-water emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(24): 13311−13317.
[26] 任娟蕊, 金丽娜, 赵习爱, 等. 糖基化改性对亚麻籽蛋白理化性质的研究[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(10): 118−127. [REN Juanrui, JIN Lina, ZHAO Xiai, et al. Physicochemical properties of flaxseed protein by glycosylation modification[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(10): 118−127.]
[27] WU Benyang, CHAI Xiaoyan, HE Aiming, et al. Inhibition of acrylamide toxicity *in vivo* by arginine-glucose Maillard reaction products[J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 154: 112315.
[28] CHENG Yunhui, TANG Wenjuan, XU Zhou, et al. Structure and functional properties of rice protein–dextran conjugates prepared by the Maillard reaction[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(2): 372−380.
[29] ZHANG Zijia, WANG Bo, ADHIKARI B. Maillard reaction between pea protein isolate and maltodextrin via wet-heating route for emulsion stabilisation[J]. Future Foods, 2022, 6: 100193.
[30] YAO Lili, WANG Ying, HE Yangyang, et al. Pickering emulsions stabilized by conjugated zein-soybean polysaccharides nanoparticles: Fabrication, characterization and functional performance[J]. Polymers, 2023, 15(23): 4474.
[31] PAN Jiayin, XU Haining, DABBOUR M, et al. Effect of alkaline pH-shifting process on extraction rate, structural, and functional properties of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae protein[J]. LWT, 2023, 185: 115180.
[32] QU Wenjuan, ZHANG Xinxin, CHEN Weiyu, et al. Effects of ultrasonic and graft treatments on grafting degree, structure, functionality, and digestibility of rapeseed protein isolate-dextran conjugates[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2018, 42: 250−259.
[33] LI Chen, HUANG Xingjian, PENG Qiang, et al. Physicochemical properties of peanut protein isolate–glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2014, 21(5): 1722−1727.
[34] 陈思如. 低聚木糖糖基化改性酪蛋白的功能特性及应用[D]. 长春: 吉林大学, 2022. [CHEN Siru. Functional properties and application of xylo-oligosaccharide modified casein[D]. Changchun: Jilin University, 2022.]
[35] 赵洪雷, 吕亚楠, 纵大千, 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.]
[36] 朱秀清, 杜晓倩, 胡森, 等. 大豆分离蛋白-葡聚糖非共价聚合物结构及功能性研究[J]. 农业机械学报, 2022, 53(1): 398−405. [ZHU Xiuqing, DU Xiaoqian, HU Miao, et al. Structure and functional properties of soybean protein isolate-dextran non-covalent polymer[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2022, 53(1): 398−405.]
[37] WU Shanshan, HAN Wei, CHENG Yanfen, et al. Transglutaminase-catalyzed glycosylation improved physicochemical and functional properties of *Lentinus edodes* protein fraction[J]. Foods, 2023, 12(9): 1849.
[38] RUAN Yuyue, FAN Shasha, JING Kaini, et al. Structural and functional modifications of quinoa protein *via* hyaluronic acid-induced Maillard reaction[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 298: 139940.
[39] 罗洲. 糖基化修饰对牛乳铁蛋白结构和功能特性的影响研究[D]. 成都: 成都大学, 2024. [LUO Zhou. The impact of glycosylation modification on the structure and functional properties of bovine lactoferrin[D]. Chengdu: Chengdu University, 2024.]
[40] CHELH I, GATELLIER P, SANTÉ-LHOUTELLIER V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination[J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681−683.
[41] 贾伟祎, 李甜甜, 郑思羽, 等. 糖基化改性对鹰嘴豆分离蛋白结构及功能性质的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(15): 115−125. [JIA Weiyi, LI Tiantian, ZHENG Siyu, et al. Effect of glycosylation modification on the structure of chickpea protein isolate and functional properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(15): 115−125.]
[42] 李乐园. 不同热处理对驴乳及其乳清蛋白结构和加工特性的影响[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2023. [LI Leyuan. Effects of different heat treatments on the structure and processing characteristics of donkey milk and its whey protein[D]. Shenyang: Liaoning University, 2023.]
[43] CORZO-MARTÍNEZ M, CARRERA SÁNCHEZ C, MORENO F J, et al. Interfacial and foaming properties of bovine *β*-lactoglobulin: Galactose Maillard conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 27(2): 438−447.
[44] BURGER T G, ZHANG Yue. Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 86: 25−33.
[45] RAHALI V, CHOBERT J M, HAERTLÉ T, et al. Emulsifi-

cation of chemical and enzymatic hydrolysates of beta-lactoglobulin: Characterization of the peptides adsorbed at the interface[J]. Die Nahrung, 2000, 44(2): 89−95.

[46] DONG Xuyan, DU Shanshan, DENG Qianchun, et al. Study on the antioxidant activity and emulsifying properties of flaxseed gum-whey protein isolate conjugates prepared by Maillard reaction [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 153: 1157−1164.

[47] CHEN Kai, ZHANG Min, WANG Dayuan, et al. Development of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolate-gum Arabic conjugates via ultrasound-assisted wet heating for spice essential oils emulsification: Effects on water solubility, bioactivity, and sensory stimulation[J]. Food Chemistry, 2024, 431: 137001.

[48] CHAILANGKA A, SEESURIYACHAN P, WANGTUEAI S, et al. Cricket protein conjugated with different degrees of polymerization saccharides by Maillard reaction as a novel functional ingredient[J]. Food Chemistry, 2022, 395: 133594.

[49] NOOSHKAM M, VARIDI M. Maillard conjugate-based delivery systems for the encapsulation, protection, and controlled release of nutraceuticals and food bioactive ingredients: A review[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105389.

[50] YUAN Meng, CAO Yu, ZHENG Haoyang, et al. Structural and functional properties of Maillard-reacted casein phosphopeptides with different carbohydrates[J]. Food Science and Biotechnology, 2024, 33(7): 1603−1614.

[51] SÁNCHEZ-TERRÓN G, MORCUENDE D, MARTÍNEZ R, et al. Glucose boosts protein oxidation/nitration during simulated gastric digestion of myofibrillar proteins by creating a severe pro-oxidative environment[J]. Food Chemistry, 2022, 397: 133805.