

加工条件对核桃蛋白质溶出率的影响

鹿旭, 华欲飞, 陈业明, 张彩猛, 孔祥珍* (江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要 [目的]探讨加工条件对核桃蛋白溶出率的影响,为利用核桃蛋白以及核桃乳的加工工艺提供依据。[方法]以脱脂核桃粉为原料,研究了高速剪切、pH和加热这3种加工条件对核桃蛋白溶出率的影响。[结果]核桃蛋白在碱性pH中蛋白溶出率较高,热处理可以增大蛋白溶出率,增加高速剪切时间和提高剪切温度均可以使核桃蛋白溶出率增大。相同pH下,核桃蛋白经过高温剪切可以增大蛋白溶出率,pH 7.0条件下60℃剪切5 min,蛋白溶出率由5.67%增加到16.45%;pH 8.0条件下60℃剪切5 min,蛋白溶出率由24.33%增加到62.81%;pH 9.0条件下60℃剪切5 min,蛋白溶出率由50.93%增加到76.65%;pH 10.0条件下80℃剪切5 min,蛋白溶出率由57.87%增加到78.67%。[结论]经过电泳分析得知,高速剪切可以使原本不溶的核桃谷蛋白溶出,使核桃乳稳定。

关键词 核桃蛋白质;高速剪切;pH;加热温度;溶出率

中图分类号 TS 255 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)13-0155-05

Effect of Processing Conditions on the Dissolution Rate of Walnut Protein

LU Xu, HUA Yu-fei, CHEN Ye-ming et al (School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122)

Abstract [Objective] The influence of processing conditions on walnut protein dissolution rate was discussed, so as to provide basis for walnut protein and walnut milk processing technology. [Method] With skimmed walnut powder as raw material, the high speed shearing, pH and heating these three kinds of the effect of processing conditions on the walnut protein dissolution rate were investigated. [Result] The dissolution rate of the walnut protein in alkaline pH was high, the heat treatment could increase the protein dissolution rate, and the walnut protein dissolution rate increased with increasing the shear time and temperature of high shearing. At the same pH, the protein dissolution rate of walnut protein was increased after high speed shear at high temperature, under the condition of pH 7.0, shearing at 60℃ for 5 min, the protein dissolution rate of the walnut protein increased from 5.67% to 16.45%; under the condition of pH 8.0, shearing at 60℃ for 5 min, the protein dissolution rate of the walnut protein increased from 24.33% to 62.81%; under the condition of pH 9.0, shearing at 60℃ for 5 min, protein dissolution rate of the walnut protein increased from 50.93% to 76.65%; under the condition of pH 10.0 shearing at 80℃ for 5 min, protein dissolution rate of the walnut protein increased from 57.87% to 78.67%. [Conclusion] After electrophoresis analysis, it was found that the high speed shear could dissolve the original insoluble walnut gluten, and enabling the stability of walnut milk.

Key words Walnut protein; High speed shearing; pH; Heating temperature; Dissolution rate

核桃是四大坚果之一,在我国栽培历史悠久,种植面积也比较广泛,我国核桃的种植面积和产量均居世界之首^[1-2]。核桃中的蛋白质和脂肪含量较高,并且营养成分丰富,其药用价值也逐渐被开发利用^[3]。核桃仁中蛋白质含量高达15%~20%,属于优质的植物蛋白,被广泛应用到核桃乳等产品的加工制作中^[4-5]。由于核桃蛋白主要由谷蛋白构成,谷蛋白不溶于水,溶于碱液,水溶性差,因此限制了核桃蛋白在食品中的应用。

蛋白质的溶解性是指蛋白质在水中的溶解能力,在食品加工中具有重要作用。关于核桃蛋白功能性质的研究也较多集中在蛋白的溶解性方面。崔莉等^[6]对核桃分离蛋白在不同pH条件下的溶解性进行了研究,结果表明核桃蛋白的溶解性在pH 5.0左右时最差。Szetao等^[7]对不同pH条件下脱脂核桃粉的溶解性进行了研究,发现核桃蛋白的溶解性在pH 4.0时最差,随着pH升高,核桃蛋白的溶解性逐渐增加。姜莉^[8]研究了温度对核桃蛋白溶解性的影响,发现核桃蛋白在55℃时溶解性达到最大值,继续升高温度溶解性会逐渐下降。

大部分未经改性的天然蛋白质在生产加工中不能充分发挥其功能性质,因此通常运用一些改性手段使蛋白质的功能性质得以改善,进而提高蛋白质的利用率。一些物理方法

如机械振荡、高压均质和热反应等均可以对蛋白质进行改性^[9]。化学改性是使用化学试剂对蛋白质进行结构修饰,使蛋白质内部的化学键发生断裂、重组,或者引入其他功能基团。pH对核桃蛋白的溶解性影响较大,在碱性条件下更有利于提高蛋白质的溶解性^[6]。目前在安全性上被大众所接受的且广泛应用在工业中的化学改性是酸碱处理,盐酸和氢氧化钠是常用的pH调节剂^[9]。

高速剪切是一种均质化技术,可以提高产品的提取率,效果好且耗能低,因此在有效成分的分离提取中应用广泛^[10]。张彩猛等^[11]将高速剪切技术应用到醇法大豆浓缩蛋白中对其进行改性研究,结果表明,经过高速剪切处理后大豆浓缩蛋白的溶解性提高。而高速剪切技术在核桃蛋白提取中的应用尚未见报道。调节pH、加热、剪切是核桃乳制备过程中常见的加工工艺。笔者以脱脂核桃粉为原料,探讨pH、加热温度、高速剪切条件对核桃蛋白溶出率的影响,为进一步利用核桃蛋白生产核桃乳的加工工艺提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 原料与主要试剂:核桃仁,购于缤果世家网店,属云南大理生核桃仁;氢氧化钠、碳酸氢钠、浓盐酸、石油醚、无水乙醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、叠氮钠、硫酸铜、硫酸钾、乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、牛血清蛋白(BSA)、十二烷基硫酸钠(SDS)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、β-巯基乙醇(β-ME)、甘氨酸、三氯乙酸(TCA)、过硫酸铵和考马斯亮蓝G-250均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;2,2'-联喹啉-4,4'-二二钠甲酸(BCA),苏州亚科科技股份

作者简介 鹿旭(1992—),女,山东菏泽人,硕士研究生,研究方向:油脂与植物蛋白。*通讯作者,副教授,博士,从事油脂与植物蛋白研究。

收稿日期 2018-02-02

有限公司。

主要仪器:K9840 自动凯氏定氮仪,济南海能仪器有限公司;pH计、电子天平、AB204-N型分析天平,梅特勒-托利多有限公司;LGJ-18 冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂;磁力搅拌器,上海弗鲁克流体机械制造有限公司;Himac CR21GII型冷冻离心机,日本 HITACHI 公司;FA25 型高速剪切机,弗鲁克流体机械制造有限公司;UV-2100 型紫外分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;数显恒温水浴锅,金坛荣华仪器制造有限公司;DYY-8C 型垂直电泳仪,北京市六一仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 核桃脱脂粉的制备。将核桃仁去皮后用打浆机打浆、胶体磨磨浆后得到核桃浆,冷冻干燥。将冻干后的核桃浆与石油醚以料液比 1:5 (W/V) 混合,充分混匀搅拌 1 h 后进行抽滤,收集抽滤后所得残渣再次脱脂,直至滤液无色透明,收集残渣放在通风橱内挥干溶剂,将所得的核桃脱脂粉于 4 °C 保存备用。

1.2.2 核桃蛋白的分级分离。核桃蛋白组分的分离提取方法参照毛晓英等^[12]、Osborne^[13]和 Sztetov^[7]的方法略微改动。核桃中谷蛋白、球蛋白、清蛋白和醇溶蛋白的分离提取按照图 1 所示的方法进行。为了充分提取核桃中各蛋白组分,每个提取步骤重复 2 次,然后将各蛋白组分离心后的清液于 4 °C 下透析 48 h 后冻干,将所得的蛋白冻干粉于 4 °C 保存备用。

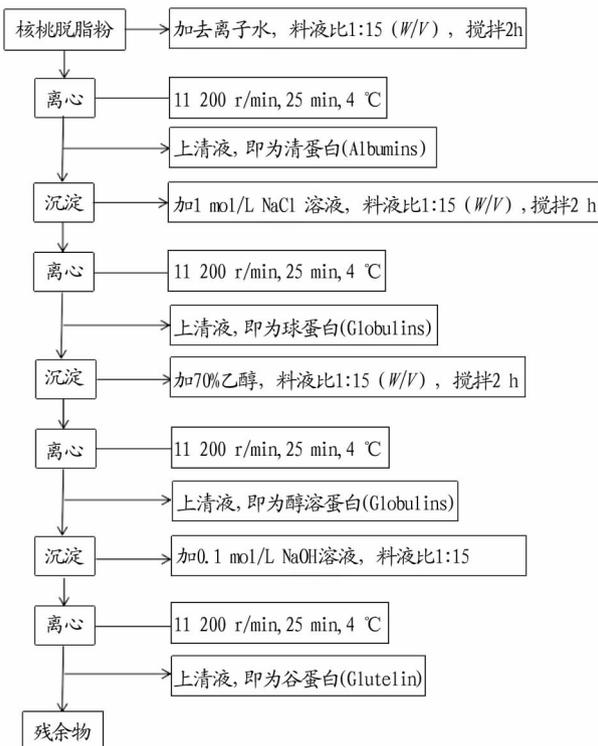


图 1 核桃蛋白分级分离方法

Fig. 1 Method of walnut protein component separation

1.2.3 不同 pH 核桃蛋白样品的制备。称取适量脱脂粉,与去离子水以料液比 1:30 (W/V) 混合,室温下充分混匀搅拌。

调节溶液的 pH 分别为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 和 12.0,搅拌提取 2 h。

1.2.4 不同加热温度核桃蛋白样品的制备。称取适量脱脂粉,与去离子水以料液比 1:30 (W/V) 混合,室温下充分混匀搅拌。调节溶液的 pH 为 7.0,搅拌提取 2 h,分别在温度 20、40、60、80、100 和 121 °C 热处理 20 min,之后冷却至室温。

1.2.5 不同剪切时间核桃蛋白样品的制备。称取适量脱脂粉,与去离子水以料液比 1:30 (W/V) 混合,室温下充分混匀搅拌。分别调节溶液的 pH 为 7.0、8.0、9.0、10.0,搅拌提取 2 h。之后分别用高速剪切机在室温下 10 000 r/min 剪切 2、4、6、8、10 min。

1.2.6 不同剪切温度核桃蛋白样品的制备。称取适量脱脂粉,与去离子水以料液比 1:30 (W/V) 混合,室温下充分混匀搅拌。分别调节溶液的 pH 为 7.0、8.0、9.0、10.0,搅拌提取 2 h。之后分别用高速剪切机在 20、40、60、80 °C 温度下 10 000 r/min 剪切 5 min。

1.2.7 蛋白溶出率的测定。将制备好的核桃蛋白样品在 4 °C 下以 11 200 r/min 离心 25 min。取一定量的上清液采用 BCA 法测定蛋白质含量(以牛血清蛋白为标准蛋白),蛋白质溶出率的计算公式如下。

$$\text{蛋白质溶出率(\%)} = \frac{\text{清液蛋白质含量} \times \text{清液体积}}{\text{脱脂粉蛋白质含量} \times \text{脱脂粉取样量}} \times 100$$

1.2.8 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。核桃蛋白组分的凝胶电泳参照沈敏江的方法略微改动^[14]。电泳中分离胶和浓缩胶的浓度分别为 12.5% 和 4.0%。将样品溶于样品溶解液中,使蛋白浓度为 2 mg/mL,再加入 1% 溴酚蓝,还原性 SDS-PAGE 需要在其中加入 2% 巯基乙醇,沸水浴加热 5 min 后 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液进样 10 μL。分别用考马斯亮蓝 G-250 和去离子水对凝胶进行染色和脱色。

1.2.9 核桃蛋白乳液的制备。称取适量脱脂粉,与去离子水混匀使蛋白浓度为 0.6%,分别调节溶液的 pH 为 7.0、8.0,室温下充分混匀搅拌,加入 2.0% 大豆油,60 °C 剪切 5 min 使蛋白和油充分乳化。

1.2.10 核桃蛋白乳液的微观结构。将制备好的核桃蛋白乳液摇匀后取 10 μL 滴加到载玻片上,缓慢盖好盖玻片避免产生气泡,然后用普通光学显微镜放大 100 倍进行观察。

1.3 统计分析 每个样品测定 3 次平行,试验数据用平均值 ± 标准偏差来表示,作图工具为 Origin 8.5。

2 结果与分析

2.1 核桃蛋白和蛋白组分 核桃蛋白的组分及比例如表 1 所示。由表 1 可以看出,核桃中主要包含 4 种蛋白,分别是谷蛋白、球蛋白、清蛋白和醇溶蛋白,所占比例分别为 58.80%、24.28%、8.01% 和 0.08%,还有 8.84% 是残余蛋白。核桃蛋白中谷蛋白所占的比例最大,接近 60%;其次是球蛋白,所占比例接近 25%;核桃蛋白中清蛋白和醇溶蛋白所占比例较小。这与毛晓英等^[12]对核桃蛋白质及其分离组分的

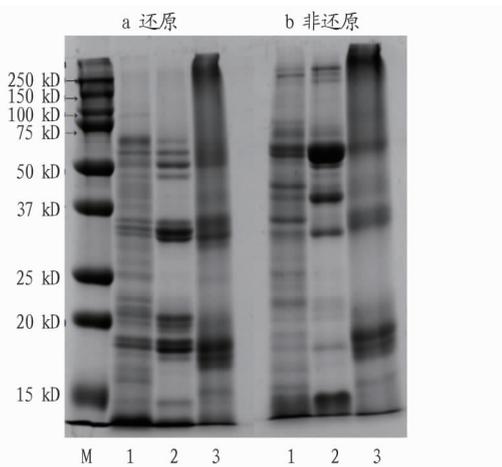
分析得到的结果类似。

表 1 核桃蛋白组分及比例

Table 1 Walnut protein components and proportions

| 序号 No. | 蛋白种类 Protein species | 所占比例 Proportion // % |
|-----------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | 清蛋白 | 8.01 ± 0.07 |
| 2 | 球蛋白 | 24.28 ± 0.15 |
| 3 | 醇溶蛋白 | 0.08 ± 0.01 |
| 4 | 谷蛋白 | 58.80 ± 0.26 |
| 5 | 残余蛋白 | 8.84 ± 0.11 |

由于核桃醇溶蛋白含量非常少,所以选取清蛋白、球蛋白和谷蛋白对核桃蛋白进行 SDS-PAGE 电泳分析,目的是为了得到核桃蛋白组分的分子量分布情况,结果如图 2 所示。清蛋白的分子量分布范围比较广,非还原状态下分子量在 10~250 kD 范围内都有分布,还原状态下分子量分布在 10~100 kDa,说明清蛋白分子间的巯基二硫键在还原状态下被打断。球蛋白在非还原状态下分子量主要在 10~15、32~34、38~40、50~70 kD 4 个区间,同时在 18~22、200~270 kD 也有蛋白分布;还原状态下分子量主要分布在 17~20、32~35、45~73 kD,其中 45~73 kD 的蛋白条带为 4 个单独分开的条带,200~270 kD 的蛋白条带消失。谷蛋白的电泳条带颜色比较深,在非还原状态下分子量主要集中在 17~19、33~35、55~70 和大于 250 kD 的区域;在还原状态下分子量主要集中在 16~19、30~35、50~55 和大于 250 kD 的区域,并且还原与非还原电泳条带在大于 250 kD 处的颜色都较深,说明谷蛋白多为分子量比较大的蛋白。



注:泳道 1~3 分别对应清蛋白、球蛋白和谷蛋白

Note: Lane 1~3 corresponding to albumin, globulin and glutelin

图 2 核桃蛋白组分的 SDS-PAGE

Fig. 2 SDS-PAGE of walnut protein fractions

2.2 pH 对核桃蛋白质溶出率的影响 由图 3 可以看出,在 pH 2.0~12.0 蛋白质的溶出率有显著差异。核桃蛋白质在中性和酸性 pH 中溶出率比较低,在 pH 2.0~5.0,随着 pH 增加,蛋白溶出率由 27.02% 减少到 7.04%;在 pH 5.0~7.0,蛋白溶出率都低于 10%。在碱性条件下,随着 pH 的升高,蛋白质的溶出率逐渐提高。在 pH 为 8.0 时,蛋白质溶出率

为 24.33%,到 pH 为 11.0 时,溶出率达 73.19%,随后溶出率增加缓慢,到 pH 12.0 时,溶出率达 78.37%。由于谷蛋白是核桃蛋白的主要组成成分,因此在碱性条件下由于大部分谷蛋白溶出,所以核桃蛋白的溶出率较高。

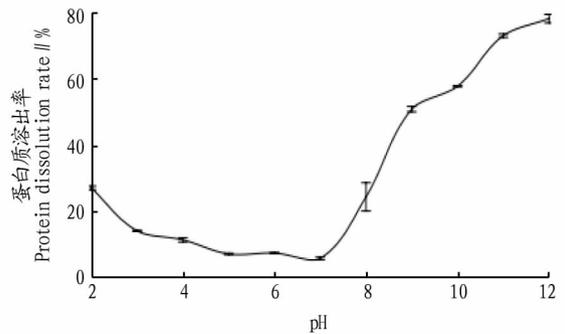


图 3 pH 对核桃蛋白质溶出率的影响

Fig. 3 Effect of pH on walnut protein dissolution

2.3 加热温度对核桃蛋白质溶出率的影响 由图 4 可以看出,在 20 °C 时核桃蛋白溶出率为 5.58%,随着加热温度的升高,核桃蛋白溶出率增大。当温度在 40~100 °C 时,核桃蛋白溶出率差异不大。40 °C 时蛋白质溶出率为 11.89%;当温度升至 60 °C 时,蛋白质溶出率略微增加,溶出率为 12.51%;当温度达到 80 °C 时,蛋白质溶出率略微下降,溶出率为 11.57%;100 °C 时,蛋白溶出率又略微增加至 12.46%;当温度继续升高到 121 °C 时,蛋白溶出率达到 16.36%,比 20 °C 时蛋白溶出率提高了 10.78 百分点,比 40~100 °C 时蛋白溶出率提高了 3.85~4.47 百分点。这可能是由于在热处理的过程中蛋白质的共价键被部分打开,因此改善了溶解性^[15]。

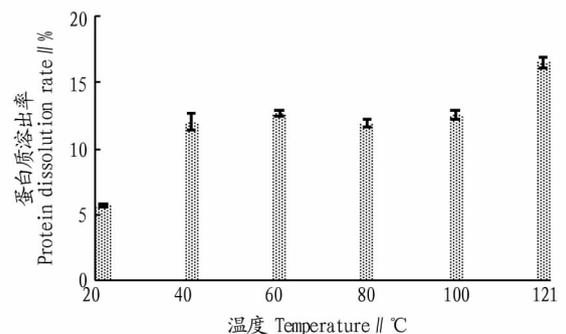


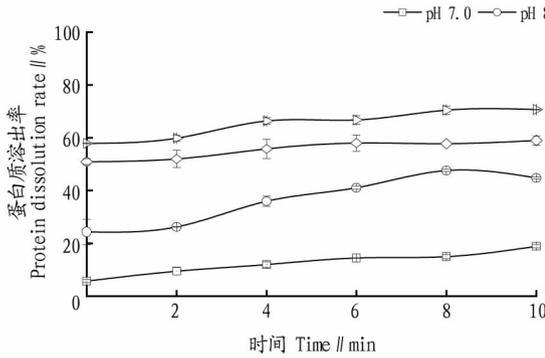
图 4 加热温度对核桃蛋白质溶出率的影响

Fig. 4 Effect of heating temperature on walnut protein dissolution

2.4 高速剪切对核桃蛋白质溶出率的影响 高速剪切可以使蛋白与蛋白之间相互挤压,在外力的作用下减小蛋白质粒径,增大其表面积^[16]。由于在高速剪切的过程中蛋白质颗粒间的共价键会被破坏,所以使蛋白质的溶解度增加。为了研究高速剪切对核桃蛋白质溶出率的影响,分别选取 pH 7.0~10.0 和 20~80 °C 范围对核桃蛋白的溶出率进行考察,防止在过酸、过碱和高温条件下对蛋白质的性质和营养价值造成破坏,以便应用到核桃蛋白的实际加工中。

剪切时间对核桃蛋白溶出率的影响如图 5a 所示。可以看出,蛋白溶出率随剪切时间的增加而增大。pH 7.0 条件

下,未剪切时溶出率为5.67%,剪切10 min后溶出率增加到18.89%,提高了13.22个百分点;pH 8.0条件下,未剪切时溶出率为24.33%,剪切8 min后溶出率达到47.61%,提高了23.28个百分点;pH 9.0条件下,未剪切时溶出率为50.93%,剪切10 min后溶出率增加到58.97%,提高了8.04百分点;



pH 10.0条件下,未剪切时溶出率为57.87%,剪切10min后溶出率增加到70.67%,提高了12.80百分点。由此可以得出,增加剪切时间可以促进核桃蛋白质溶出,但相对于pH而言,在剪切时提高蛋白质溶液的pH比增加剪切时间对蛋白的增溶效果更显著。

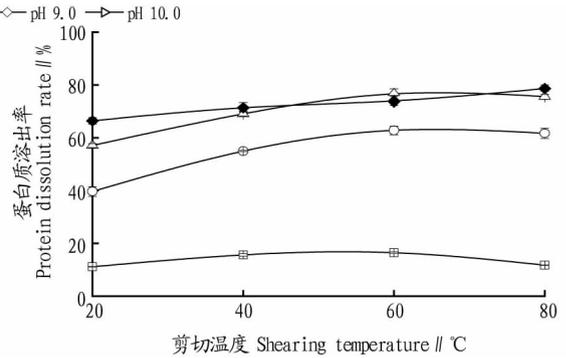


图5 高速剪切对核桃蛋白质溶出率的影响

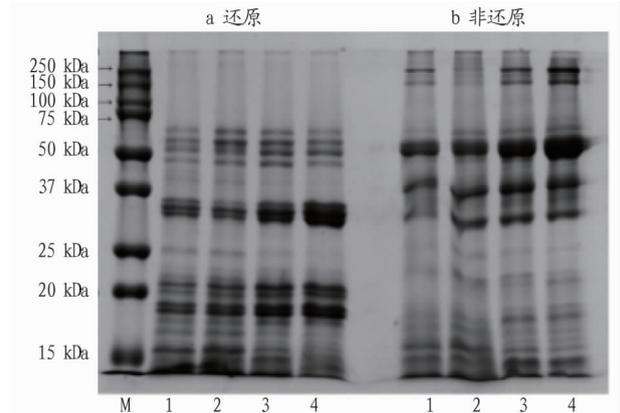
Fig.5 Effect of high-speed shearing on walnut protein dissolution

剪切温度对核桃蛋白溶出率的影响如图5b所示。可以看出,pH 7.0条件下,核桃蛋白经过60℃剪切5 min后,蛋白溶出率由5.67%增加到16.45%,提高了10.78百分点;pH 8.0条件下,核桃蛋白经过60℃剪切5 min后,蛋白溶出率由24.33%增加到62.81%,提高了34.48百分点;pH 9.0条件下,核桃蛋白经过60℃剪切5 min后,蛋白溶出率由50.93%增加到76.65%,提高了25.72百分点;pH 10.0条件下,核桃蛋白经过80℃剪切5 min后,蛋白溶出率由57.87%增加到78.67%,提高了20.80百分点。由此可以得出,升高剪切温度可以促进核桃蛋白质溶出,但相对于pH而言,在剪切时提高蛋白质溶液的pH比升高剪切温度对蛋白的增溶效果更显著。

2.5 高温剪切对溶出核桃蛋白质 SDS - PAGE 条带的影响 为了考察在中性条件下和在碱性条件下高温剪切后溶出蛋白的差异,分别选取pH 7.0、8.0高温剪切前后溶出的核桃蛋白质进行电泳分析,结果如图6所示。不同分子量下还原电泳各泳道蛋白比例见表2。可以看出,在还原状态下,pH 7.0高温剪切后溶出的蛋白(图6 a 泳道2)在分子量50~75 kD的比例增加,由21.01%增加到36.10%,增加了15.09百分点;在分子量18~21 kD的比例增加,由32.57%增加到34.30%,增加了1.73百分点。pH 8.0高温剪切后溶出的蛋白(图6 a 泳道4)在分子量30~35 kD的比例增加,由32.72%增加到45.81%,增加了13.09百分点;在分子量18~21 kD的比例增加,由29.01%增加到29.30%,增加了0.29百分点。条带颜色加深的区域对应的蛋白既有清蛋白、球蛋白,又有谷蛋白,但只有清蛋白和球蛋白2种蛋白不足以使蛋白的比例增加如此多,说明谷蛋白同样起到了作用,由此推测高温剪切可以使谷蛋白增溶。

2.6 核桃蛋白质的乳化性 为了将高速剪切工艺应用到核桃蛋白的实际加工中,分别对中性条件下和碱性条件下高温剪切后蛋白的乳化性进行考察,其中碱性条件以pH 8.0高

温剪切后溶出的蛋白为代表。图7为pH 7.0、8.0条件下60℃剪切5 min后核桃蛋白质的乳化性。由显微图片可以



注:M. 标准蛋白;1. pH 7.0 高温剪切前溶出的蛋白;2. pH 7.0 高温剪切后溶出的蛋白;3. pH 8.0 高温剪切前溶出的蛋白;4. pH 8.0 高温剪切后溶出的蛋白

Note: M. Standard protein; 1. pH 7.0 protein before high temperature shearing; 2. pH 7.0 soluble protein after high temperature shear; 3. pH 8.0 protein before high temperature shearing; 4. pH 8.0 soluble protein after high temperature shear

图6 高温剪切前后核桃溶出蛋白的 SDS - PAGE

Fig.6 SDS - PAGE of walnut protein before and after shearing at high temperature

表2 还原电泳各泳道蛋白比例

Table 2 Restore electrophoresis of each lane protein ratio

| 分子量 Molecular weight KD | 泳道 a1 Lane a1 % | 泳道 a2 Lane a2 % | 泳道 a3 Lane a3 % | 泳道 a4 Lane a4 % |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 50~75 | 21.01 | 36.10 | 30.86 | 23.26 |
| 30~35 | 30.67 | 26.00 | 32.72 | 45.81 |
| 25 | 1.89 | 1.81 | 0.93 | 0.00 |
| 18~21 | 32.57 | 34.30 | 29.01 | 29.30 |
| 15~16 | 13.87 | 8.30 | 6.48 | 1.63 |

看出,pH 7.0 高温剪切制备的核桃蛋白乳状液的乳化性不好,蛋白和油滴之间形成了聚集体,且有很多小油滴在聚集后融合成大油滴;pH 8.0 高温剪切制备的核桃蛋白乳状液的

乳化性较好,显微图片中无大量聚集体出现,蛋白和油分散的较均匀。由此说明,高速剪切对核桃蛋白的乳化作用在碱性条件下好于在中性条件下。

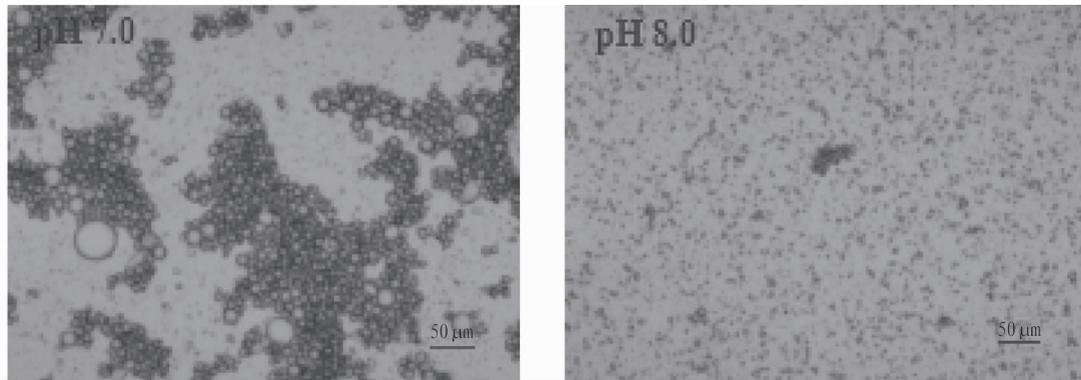


图7 核桃蛋白质的乳化性

Fig.7 Walnut protein emulsification

3 结论

核桃蛋白中,清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的含量分别为 8.01%、24.28%、0.08% 和 58.80%,核桃中主要蛋白成分是谷蛋白。核桃蛋白在中性和酸性 pH 中溶出率比较低,在碱性 pH 中溶出率比较高,在 pH 2.0~5.0,随着 pH 增加,蛋白溶出率由 27.02% 减少到 7.04%;在 pH 5.0~7.0,蛋白溶出率都低于 10%;在 pH 8.0~12.0,随着 pH 增加,蛋白溶出率由 24.33% 增加到 78.37%。核桃蛋白在经过加热之后,可以增加它的蛋白溶出率,当温度由 20℃ 升高到 121℃,蛋白溶出率由 5.58% 增加到 16.36%。高温剪切可以使核桃蛋白增溶,在 pH 7.0、8.0、9.0、10.0 条件下,经过高温剪切的蛋白溶出率均比未经高温剪切的蛋白溶出率高。pH 7.0 条件下,核桃蛋白在 60℃ 剪切 5 min 后,蛋白溶出率由 5.67% 增加到 16.45%;pH 8.0 条件下,核桃蛋白在 60℃ 剪切 5 min 后,蛋白溶出率由 24.33% 增加到 62.81%;pH 9.0 条件下,核桃蛋白在 60℃ 剪切 5 min 后,蛋白溶出率由 50.93% 增加到 76.65%;pH 10.0 条件下,核桃蛋白在 80℃ 剪切 5 min 后,蛋白溶出率由 57.87% 增加到 78.67%。通过电泳分析高速剪切前后溶出的蛋白得知,高速剪切可以使原本不溶的核桃谷蛋白溶出。将该工艺应用到核桃乳的制备中,可以提高核桃蛋白的乳化性,促进核桃乳稳定。

参考文献

[1] MARTÍNEZ M L, MAESTRI D M. Oil chemical variation in walnut (*Juglans regia* L.) genotypes grown in Argentina[J]. European journal of lipid science & technology, 2008, 110(12): 1183-1189.

[2] 杨金枝,陈锦屏. 核桃资源的综合开发利用[J]. 食品与药品, 2007, 9(4): 71-73.

[3] SAVAGE G P. Chemical composition of walnuts (*Juglans regia* L.) grown in New Zealand[J]. Plant foods for human nutrition, 2001, 56(1): 75-82.

[4] PEREIRA J A, OLIVEIRA I, SOUSA A, et al. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars[J]. Food & chemical toxicology, 2008, 46(6): 2103-2111.

[5] 陆俊,赵安琪,成策,等. 核桃营养成分与生理活性及开发利用[J]. 食品与机械, 2014(6): 238-242.

[6] 崔莉,葛文光. 核桃蛋白质功能性质的研究[J]. 宁夏农学院学报, 1999, 21(4): 44-48, 51.

[7] SZETAO K W C, SATHE S K. Walnuts (*Juglans regia* L.): Proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein *in vitro* digestibility[J]. Journal of the science of food & agriculture, 2000, 80(9): 1393-1401.

[8] 姜莉. 核桃渣制备核桃蛋白和多肽的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.

[9] 臧学丽,刘娟. 大豆分离蛋白改性技术的研究进展[J]. 吉林农业, 2018(1): 62.

[10] 沈培玉,吴红霞,张裕中. 基于高剪切技术的甜玉米粒粉碎实验研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 268-270.

[11] 张彩猛,华欲飞,孔祥珍. 高速剪切对醇法大豆浓缩蛋白溶解特征的影响[J]. 大豆科学, 2010, 29(5): 853-857.

[12] 毛晓英,华欲飞. 不同提取工艺制备的核桃蛋白的组成与结构特征[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2011, 32(6): 631-635.

[13] OSBORNE T B. The vegetable proteins[M]// The vegetable proteins. London, UK: Longmans, Green and Co, 1924.

[14] 沈敏江. 核桃蛋白粉的制备及其溶解性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.

[15] CHERRY J P, MCWATTERS K H, HOLMES M R. Effect of moist heat on solubility and structural components of peanut proteins[J]. Journal of food science, 1975, 40(6): 1199-1204.

[16] SINISTERRA J V. Application of ultrasound to biotechnology: An overview[J]. Ultrasonics, 1992, 30(3): 180-185.

科技论文写作规范——数字

公历世纪、年代、年、月、日、时刻和各种计数和计量,均用阿拉伯数字。年份不能简写,如 1990 年不能写成 90 年,文中避免出现“去年”“今年”等写法。小于 1 的小数点前的零不能省略,如 0.245 6 不能写成 .245 6。小数点前或后超过 4 位数(含 4 位数),从小数点向左右每 3 位空半格,不用“,”隔开。如 18 072. 235 71。尾数多的数字(5 位以上)和小数点后位数多的小数,宜采用 $\times 10^n$ (n 为正负整数)的写法。数字应正确地写出有效数字,任何一个数字,只允许最后一位存在误差。