

# FT-IR 分析乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物的结构变化

卢静静<sup>1</sup>, 孙炜炜<sup>2</sup>

(1. 华中农业大学楚天学院食品与生物科技学院, 湖北武汉 430205)

(2. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北武汉 430040)

**摘要:** A<sub>294</sub>、褐变程度和游离氨基含量的测定结果证实乳清分离蛋白与葡聚糖在干热处理条件下确实发生了以美拉德反应为机理的接枝反应。使用傅里叶变换红外光谱技术研究了接枝反应对乳清分离蛋白分子结构的影响。与原蛋白相比, 乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物在 3700~3200 cm<sup>-1</sup> 范围内出现一宽峰及在 1260~1000 cm<sup>-1</sup> 范围内吸收增强; 接枝物在酰胺 I 带(1600~1700 cm<sup>-1</sup>)和酰胺 II 带(1500~1600 cm<sup>-1</sup>)内的峰形发生变化, 峰强增加, 对应的吸收峰位发生红移。结合去卷积和二阶导数处理, 对酰胺 I 带进行曲线拟合, 定量分析了接枝反应前后蛋白质分子二级结构的变化。结果显示, 由于大分子葡聚糖的接入, WPI 的二级结构遭到破坏, β-转角和无规则卷曲含量增加, α-螺旋和 β-折叠含量减少, 蛋白质分子结构有序性减弱。

**关键词:** 乳清分离蛋白; 葡聚糖; 接枝物; 傅里叶变换红外光谱; 二级结构

文章编号: 1673-9078(2014)8-89-93

## Study of Structural Changes in Whey Protein Isolate-Dextran Conjugate Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy

LU Jing-jing<sup>1</sup>, SUN Wei-wei<sup>2</sup>

(1. College of Food & Biology Science and Technology, Chutian College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430205, China) (2. Wuhan Huanghelou Flavours and Fragrances Co. Ltd., Wuhan 430040, China)

**Abstract:** Measurement of A<sub>294</sub>, the degree of browning, and the content of free amino groups showed that a grafting reaction based on the Maillard-type reaction had occurred between the whey protein isolate (WPI) and dextran under dry-heating treatment. The effect of this grafting reaction on the structure of WPI was investigated by using Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). Compared to the original WPI, the conjugate showed a broad peak in the range of 3700~3200 cm<sup>-1</sup> and an increase in absorption between 1260 and 1000 cm<sup>-1</sup>. The peak shapes of amide I and amide II bands showed remarkable changes, the peak intensity increased, and the red shift phenomenon occurred in the corresponding absorption peaks. Using deconvolution and second derivative methods, the curve of amide I band was fitted for quantitative analysis of the secondary structural changes in WPI before and after the grafting reaction. The results showed that the secondary structure of WPI had been destroyed owing to the introduction of macromolecule dextran. The number of β-turns and random coils increased, whereas the number of α-helix and β-sheet decreased after the graft reaction, indicating that the structure of WPI had become relatively unordered.

**Key words:** whey protein isolate; dextran; conjugate; Fourier transform infrared spectrum; secondary structure

蛋白质分子中氨基酸侧链的自由氨基和糖类化合物还原末端的羰基之间经羰氨反应可以得到蛋白质-糖接枝物。这种基于美拉德反应的化学改性, 属于非酶褐变反应范畴, 不需要添加任何化学试剂, 仅加热就可使反应自发进行, 是一种有效改善蛋白质功能特性的“绿色加工工艺”<sup>[1]</sup>。作为一种优质的动物性蛋白资源, 乳清分离蛋白因其良好的乳化性能及凝胶特性而常被用于改善食品的品质, 且其具有营养价值高、富含多种氨基酸、易消化吸收等特点<sup>[2]</sup>。研究发现, 接枝

改性可以改善乳清分离蛋白的功能特性<sup>[3]</sup>。Zhu等人研究得出, 乳清分离蛋白与葡聚糖接枝反应后, 其乳化性、热稳定性及其在等电点附近的溶解性得到提高<sup>[4]</sup>。蛋白质的功能特性在很大程度上由其构象决定, 因此构象分析是深入研究蛋白质功能性质不可缺少的重要手段。

目前, 常用的蛋白质空间结构检测方法中, X-射线晶体衍射是确定蛋白质构象最准确的方法, 但它需要高质量的单晶样品, 对结构复杂、柔性的大分子蛋白质来说, 得到所需的晶体结构较为困难。核磁共振技术可测定蛋白质在溶液中的构象, 但仅限于测定小分子的蛋白质, 且对样品的需求量大、纯度要求高,

收稿日期: 2014-03-25

作者简介: 卢静静(1987), 女, 硕士, 助教, 主要从事蛋白质与多糖的共价复合研究

也受到较大的限制。圆二色谱法可测定溶液状态下蛋白质和多肽的结构,但只限于很窄的浓度范围内的澄清溶液,另外它仅在含 $\alpha$ -螺旋较多的蛋白质结构测定中较为准确。作为化合物鉴定和结构分析的常用手段,傅里叶变换红外光谱(简称 FT-IR)独特之处在于它适用于不同状态、不同浓度及不同环境中蛋白质和多肽的测定,是目前研究蛋白质及多肽结构与功能关系强有力的手段之一<sup>[5]</sup>。蛋白质在红外区有若干特征吸收带,其中酰胺 I 带(1600~1700  $\text{cm}^{-1}$ )对于研究二级结构最有价值<sup>[6]</sup>。通常结合去卷积、二阶导数谱和曲线拟合等计算机辅助解析方法对酰胺 I 带处理,可以给出蛋白质二级结构的定性定量信息,使得红外光谱成为一个颇有发展前景的研究领域。当蛋白质和糖发生接枝反应后,在红外图谱上的典型变化是在 3700~3200  $\text{cm}^{-1}$  范围内出现一宽峰及在 1260~1000  $\text{cm}^{-1}$  范围内出现吸收<sup>[4]</sup>。关于 FT-IR 对蛋白质-糖接枝物二级结构分析方面的研究,鲜有报道。

为探讨糖链的共价结合对蛋白质空间结构的影响,本研究对乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物纯化后,以红外光谱为主要手段,对比分析了接枝反应前后乳清分离蛋白二级结构的变化,以期对蛋白质-糖接枝改性的理论研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

乳清分离蛋白(蛋白质含量>95%),美国 Hilmar 公司;葡聚糖(67 kD)、邻苯二甲醛(OPA)、Sepharose CL-6B 琼脂糖凝胶, Sigma 公司;其余化学试剂均为分析级;实验用水为去离子水。

Scientz-18N 型冷冻干燥及 CR22G II 型高速冷冻离心机,日本 Hitachi 公司;UV-2300 型分光光度计,上海天美科学仪器有限公司;VECTOR-33 型傅里叶变换红外光谱仪,德国 Bruker 公司;BSZ-100 型自动部分收集器,北京市六一仪器厂。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物的制备

乳清分离蛋白与葡聚糖以质量比为 1:1 室温混合溶解于水后进行冷冻干燥。冻干粉过 100 目筛后,放置于底部盛有饱和 KBr 溶液的干燥器内,保持相对湿度 79%、温度 60  $^{\circ}\text{C}$  恒温反应一段时间<sup>[7]</sup>。反应 48 h、96 h、144 h 后的接枝物分别记为 C1、C2、C3;乳清分离蛋白原样记为 W;乳清分离蛋白与葡聚糖的混合物(质量比 1:1)记为 M。

#### 1.2.2 $A_{294}$ 和褐变程度的测定

样品以一定浓度充分溶解于去离子水中,采用紫外-可见分光光度计分别在 294 nm 和 420 nm 处测定吸光度<sup>[7]</sup>。

#### 1.2.3 游离氨基含量的测定

准确称取 40 mg 的邻苯二甲醛(OPA)溶解于 1 mL 的甲醇中,分别加入 20% (m/V)的 SDS 2.5 mL、0.1 mol/L 的硼砂 25 mL、100  $\mu\text{L}$   $\beta$ -巯基乙醇,最后用蒸馏水定容至 50 mL,此为 OPA 试剂。取 4 mL OPA 试剂于试管中,分别注入 200  $\mu\text{L}$  蒸馏水和样品液,混合均匀后于 35  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中保温 2 min,迅速测定 340 nm 处吸光值,两者之差 $\Delta A$ 即为样品净吸光值。以赖氨酸作出标准曲线,根据  $\Delta A$  计算样品中自由氨基的含量<sup>[8]</sup>。以乳清分离蛋白原样为标准 100%,计算各样品中游离氨基含量的相对百分比。

#### 1.2.4 乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物的纯化

将 1.2 中样品按一定浓度充分溶解于 100 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲溶液中(pH 7.6,含 200 mmol/L NaCl),然后 2000 g 离心 20 min 除去不溶物,取上清液 3 mL 上柱层析(柱长 90 cm;柱直径 1 cm;洗脱流速 0.3 mL/min),洗脱液为 100 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲溶液(pH 7.6,含 200 mmol/L NaCl),收集 280 nm 及 420 nm 处均吸收溶液于蒸馏水中透析 24 h (4  $^{\circ}\text{C}$ ),所得透析液冻干后即纯化的接枝物样品<sup>[8]</sup>。

#### 1.2.5 红外光谱(FT-IR)测定及图谱处理

准确称取一定量纯化后的接枝物样品,加入适量的溴化钾,用研磨研成均匀的粉末,压成薄片,在恒温箱里平衡温度 5 min,再用傅立叶红外光谱仪测定波数范围为 4000~400  $\text{cm}^{-1}$  内的吸收光谱,分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ ,波数精度 0.01  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描次数 32 次,环境温度 25  $^{\circ}\text{C}$ 。数据采集期间,为了减少水蒸汽 IR 吸收的干扰,持续用干燥的  $\text{N}_2$  淋洗测量室。

根据蛋白质红外图谱分析方法,使用 PeakFit Version 4.12 软件分析蛋白质酰胺 I 带特征峰的图谱。先对图谱进行合适的差减处理,差减后的谱图在酰胺 I 带(1700~1600  $\text{cm}^{-1}$ )范围内进行两点基线校正,采用 Savitzky-Golay 函数平滑后,做傅里叶去卷积和二阶导数,同时采用 Gauss 函数对图谱进行拟合,多次拟合使残差最小( $r^2 \geq 0.999$ ),重叠在一起的谱带分量可完全辨认,确定各子峰与各个二级结构的对应关系后,根据其积分面积计算各二级结构的相对百分含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 $A_{294}$ 和褐变程度的变化

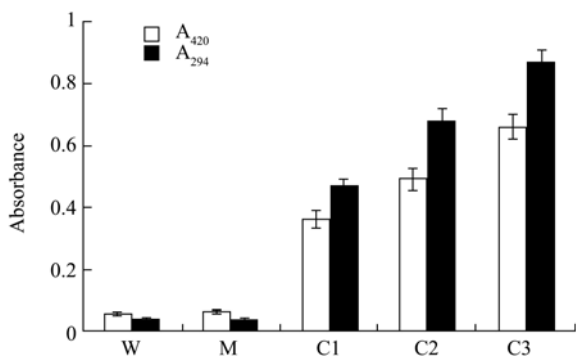


图1 乳清分离蛋白-葡聚糖反应体系中 A<sub>294</sub> 及褐变程度的变化

Fig.1 Changes of A<sub>294</sub> and browning intensity in WPI-dextran model system

注: W 为 WPI 原样; M 为未经干热处理的 WPI 与葡聚糖的混合物; C1 为反应 48 h 接枝物; C2 为反应 96 h 接枝物; C3 为反应 144 h 接枝物。

A<sub>294</sub> 常被用来检测美拉德反应体系中间产物的生成; 在美拉德反应高级阶段, 部分中间产物发生聚合, 进一步生成类黑精等色素类物质, 使反应体系褐变程度增加<sup>[9]</sup>。图 1 显示, 乳清分离蛋白与葡聚糖经干热反应后, 中间产物的特征吸收 A<sub>294</sub> 和褐变程度 A<sub>420</sub> 均呈增加趋势; 随着反应时间的延长, 这种变化更为明显。例如, 接枝物 C3 与 C1 相比, A<sub>294</sub> 由 0.464 升增至 0.879, A<sub>420</sub> 由 0.365 增至 0.668。结果表明, 经干热处理, 混合体系发生了以褐变为特征的美拉德反应。

## 2.2 游离氨基含量的变化

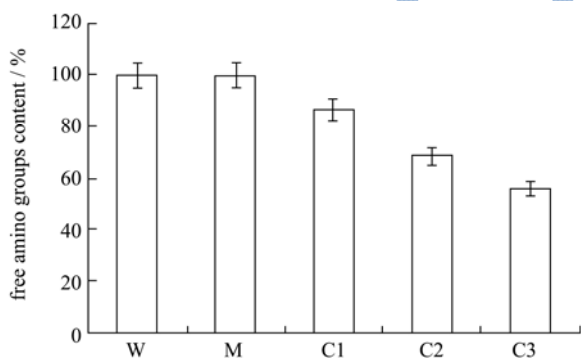


图2 乳清分离蛋白-葡聚糖反应体系中游离氨基含量变化

Fig.2 Changes of free amino groups content in WPI-dextran model system

游离氨基含量的变化可以反映蛋白质-糖接枝反应的程度<sup>[10]</sup>。由图 2 可知, 乳清分离蛋白与葡聚糖的混合物经干热处理后, 体系游离氨基含量明显下降, 这说明蛋白质中的部分游离氨基与葡聚糖的还原性羰基末端发生了以共价结合为基础的接枝反应; 随着反应时间的增加, 体系中较多的游离氨基与糖链发生共

价结合, 使得游离氨基含量下降幅度较大。这与图 1 中褐变程度的变化趋势相符, 随着美拉德反应的进行, 蛋白质的游离氨基基团不断参与反应; 同时反应向着高级阶段进行, 不断生成类黑素等高级阶段产物, 褐变程度升高。

## 2.3 接枝反应对乳清分离蛋白红外图谱的影响

响

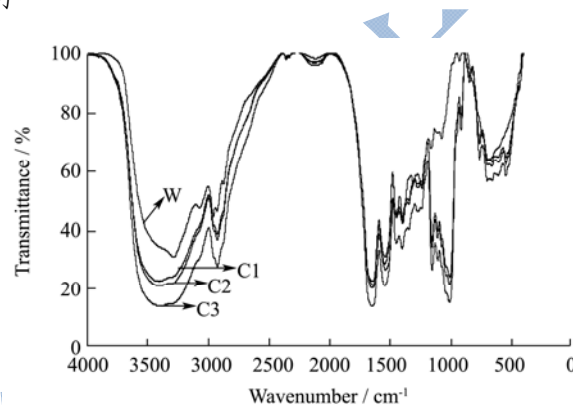


图3 乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物红外图谱的变化

Fig.3 Changes of FTIR spectra in WPI and WPI-dextran conjugate

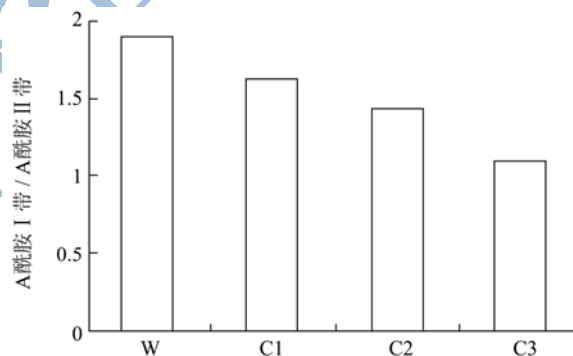


图4 酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比值的变化

Fig.4 Changes of peak area ratio between amide I and amide II

当蛋白质和糖分子以共价键结合后, 在红外图谱上的典型特征是在 3700~3200 cm<sup>-1</sup> 范围内出现一宽峰及在 1260~1000 cm<sup>-1</sup> 范围内也出现吸收, 这分别是羟基和碳氧键的伸缩振动引起的<sup>[11]</sup>。图 3 为乳清分离蛋白及其接枝物的 FT-IR 图谱。由图 3 可知, 三种接枝物在 3700~3200 cm<sup>-1</sup> 范围内的峰宽与乳清分离蛋白相比均增大, 吸收强度顺序为: C3>C2>C1>W; 接枝物在 1260~1000 cm<sup>-1</sup> 范围内的吸收强度也大于原蛋白, 尤其是接枝物 C3 (反应 144 h 产物)。葡聚糖通过共价键形式接入 WPI 后, 由于其糖链上存在多个羟基, 增加了肽链中羟基数量, 同时也引入了更多的碳氧键, 导致对应吸收峰强度增大; 随着反应时间的延长, 接枝反应程度变得更加剧烈, 更多的糖链接入到蛋白质



肽链中，因此三种接枝产物在特征吸收范围内的光谱强度呈增加趋势。3000~2800  $\text{cm}^{-1}$  之间的峰是饱和结构中  $\text{CH}_3$  和  $\text{CH}_2$  基团的 C-H 伸缩振动<sup>[11]</sup>，其在接枝产物的谱图上吸收变强；1500~1350  $\text{cm}^{-1}$  波段的吸收峰强度增加，这说明接枝反应能引起 C-H 的变角振动及 C-OH 振动的增加，且随着干热反应时间的延长，这种变化更加明显。根据这两组峰可以进一步确认接枝物中糖类化合物的存在。

与原蛋白相比，接枝物在酰胺 I 带（1600~1700  $\text{cm}^{-1}$ ）和酰胺 II 带（1500~1600  $\text{cm}^{-1}$ ）内的峰强均呈增加趋势，并且对应的吸收峰向高波数移动。例如，在酰胺 I 带内，接枝物 C1、C2 和 C3 的吸收峰分别由 1643  $\text{cm}^{-1}$  位移到 1650  $\text{cm}^{-1}$ 、1652  $\text{cm}^{-1}$  和 1653  $\text{cm}^{-1}$ 。酰胺 II 带主要来源与酰胺基 N-H 变角振动，能灵敏地反映分子间或分子内的氢键缔合作用，当氢键破坏时，谱带将向低频移动<sup>[6]</sup>。三种接枝物对应的吸收峰均由 1540  $\text{cm}^{-1}$  位移到 1545  $\text{cm}^{-1}$ ，这说明糖分子的共价接入导致分子内的氢键遭到破坏，蛋白质空间结构发生变化。

酰胺 I 带和酰胺 II 带的峰型不受蛋白质侧链结构的影响，仅受蛋白质主链即二级结构的影响。因此，常以酰胺 I 带区域峰面积与酰胺 II 带区域峰面积的比值来反映蛋白质分子空间结构的相对变化<sup>[9]</sup>。图4为接枝反应前后WPI分子酰胺 I 带相对酰胺 II 带的峰面积比，当乳清分离蛋白与葡聚糖进行干热反应后，随着反应时间的延长，面积比值在不断的下降。酰胺 I 带的吸收主要是H-O-H的弯曲振动和C=O的伸缩振动引起的，酰胺 II 带的吸收主要是N-H弯曲振动引起的，二者比值的降低说明由于糖链的引入导致蛋白质分子间相互作用减弱<sup>[10]</sup>。

#### 2.4 接枝反应对乳清分离蛋白二级结构的影响

蛋白质的二级结构是指多肽链主链骨架中的若干肽段经由盘旋或折叠而形成的空间构象，并以氢键维持其结构。在蛋白质的FT-IR图谱中，酰胺 I 带由代表羰基伸缩振动的几个子带组成，包含有 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角、无规则卷曲等信息，各组分对应的振动吸收峰在图谱中相互重叠形成一宽峰<sup>[13]</sup>。

WPI及其接枝物的酰胺 I 带经去卷积和二阶导数处理后，得到5个子峰（图5）。相对于原蛋白，三种接枝产物的酰胺 I 带拟合图谱中，各子峰位置发生明显迁移，其对应的峰强和峰面积也发生一定程度的改变。例如，在接枝产物C3中，1640  $\text{cm}^{-1}$ 附近出现一强吸收

峰，此峰代表的是无规则卷曲结构；代表 $\beta$ -转角的1664  $\text{cm}^{-1}$ 峰位移到1666  $\text{cm}^{-1}$ ，峰强有所增加；代表 $\beta$ -折叠的1621  $\text{cm}^{-1}$ 和1682  $\text{cm}^{-1}$ 峰分别位移至1619  $\text{cm}^{-1}$ 、1679  $\text{cm}^{-1}$ ，且峰强明显降低；C1、C2、C3中并未出现1650  $\text{cm}^{-1}$ 峰，此峰代表的是 $\alpha$ -螺旋，这说明接枝产物中 $\alpha$ -螺旋结构极少，基本上未检测出。

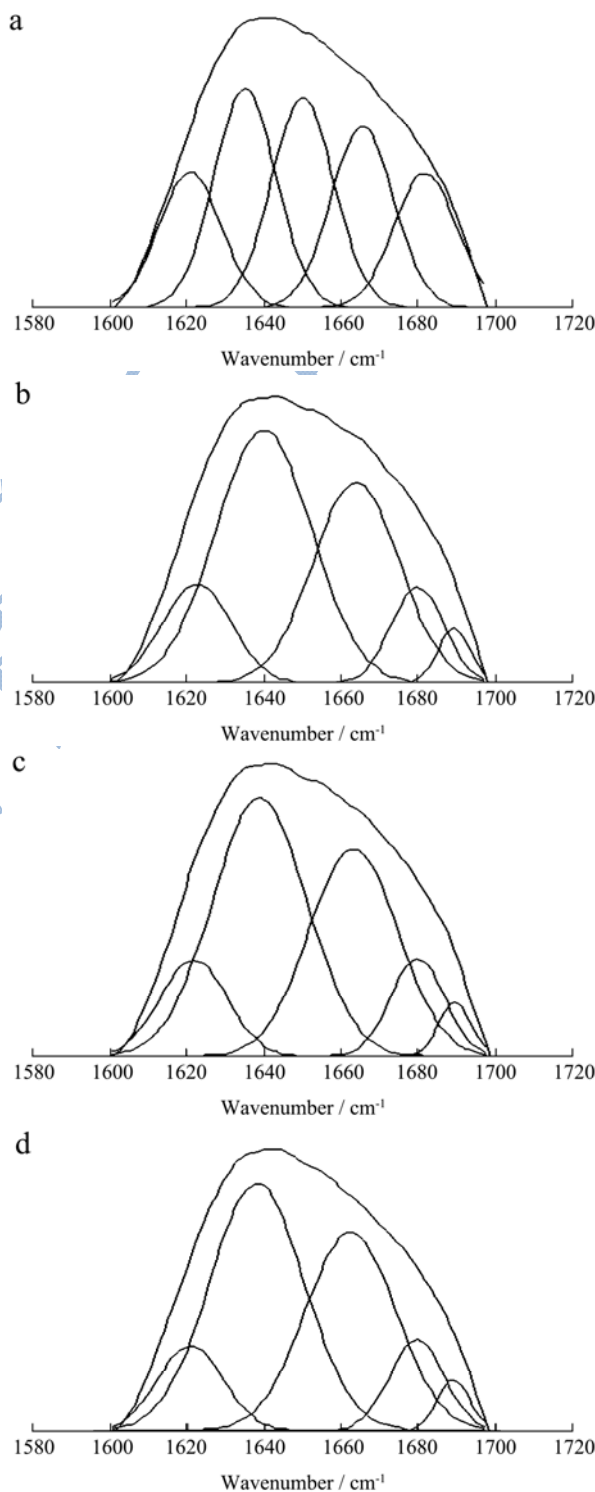


图5 乳清分离蛋白及其接枝物酰胺 I 带曲线拟合的结果  
Fig.5 Curve-fitting results of amide I in WPI and WPI-dextran conjugate

注: a: W; b: C1; c: C2; d: C3。

根据文献<sup>[6]</sup>对图5中各子峰进行二级结构归属, 由表1可知, 乳清分离蛋白是典型的 $\beta$ 型蛋白, 其二级结构以 $\beta$ -折叠为主。干热反应48 h后, 接枝物C1中 $\beta$ -折叠含量由35.98%降至32.14%,  $\alpha$ -螺旋含量为0,  $\beta$ -转角和无规则卷曲含量分别增加了40.15%和38.28%; 随着反应时间的延长(144 h), 接枝物C3中 $\beta$ -折叠含量进一步减少,  $\beta$ -转角和无规则卷曲含量增加幅度最大, 分别为68.11%和50.77%。蛋白质分子的 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠结构通常埋藏在多肽链的内部, 其中 $\alpha$ -螺旋在球蛋白构象形成的过程中最早形成<sup>[6]</sup>。三种接枝物的 $\alpha$ -螺旋结构含量均为0, 而无规则卷曲含量较WPI有明显增加, 这说明蛋白质分子结构由有序变为无序, 其二级结构遭到破坏<sup>[13]</sup>。当蛋白质肽链中引入大分子的多糖链后, 多糖链的空间位阻效应引起无规则卷曲含量增加, 乳清分离蛋白空间结构发生变化; 另一方面, 蛋白质分子中的游离氨基基团参与反应, 分子间氢键遭到破坏, 减弱了蛋白质分子间的相互作用力, 导致蛋白质分子充分展开。与C1、C2相比, 接枝物C3的二级结构破坏程度最大, 这可能与其接枝反应的程度有关。随着干热反应时间的延长, 更多的糖链接入到蛋白质中, 引起蛋白质二级结构进一步发生变化。

表1 二级结构含量变化 (%)

Table 1 Changes of  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -turns, and random coil

样品	content			
	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -折叠	$\beta$ -转角	无规则卷曲
W	15.21	35.98	19.5	29.31
C1	0	32.14	27.33	40.53
C2	0	27.88	30.02	42.1
C3	0	23.03	32.78	44.19

### 3 结论

3.1 乳清分离蛋白-葡聚糖接枝物在  $3700\sim 3200\text{ cm}^{-1}$  和  $1260\sim 1000\text{ cm}^{-1}$  范围内的吸收增强,  $3000\sim 2800\text{ cm}^{-1}$  和  $1500\sim 1350\text{ cm}^{-1}$  波段的吸收峰强度也增加, 这说明接枝物中糖类化合物的存在; 接枝物在酰胺 I 带和酰胺 II 带内的峰强增加, 对应的吸收峰位和峰面积也发生变化。

3.2 对 WPI 及其接枝物的酰胺 I 带分析得出, 由于大分子葡聚糖的接入, WPI 的二级结构遭到破坏,  $\beta$ -转角和无规则卷曲含量增加,  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠含量减少, 蛋白质分子结构由有序变为无序。

### 参考文献

- [1] Rufian-Henares JA, Garcia-Villanova B, Guerra-Hernandez E. Generation of furosine and color in infant/enteral formula-resembling systems [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(17): 5354-5358
- [2] Zhu D, Damodaran S, Lucey JA. Formation of whey protein isolate (WPI)-dextran conjugates in aqueous solutions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(16): 7113-7118
- [3] Kato A. Industrial Application of maillard-type protein polysaccharide conjugates [J]. *Food Science and Technology Research*, 2002, 8(3): 193-199
- [4] Zhu D, Damodaran S, Lucey JA. Physicochemical and emulsifying properties of whey protein isolate (WPI)-dextran conjugates produced in aqueous solution [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(5): 2988-2994
- [5] Wang LF, Pan SY, Hu H, et al. Synthesis and properties of carboxymethyl kudzu root starch [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 80(1): 174-179
- [6] Tang CH, Ma CY. Effect of high pressure treatment on aggregation and structural properties of soy protein isolate [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42(2): 606-611
- [7] Kato Y, Aoki T, Kato N, et al. Modification of ovalbumin with glucose 6-phosphate by amino-carbonyl reaction: improvement of protein heat stability and emulsifying activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(2): 301-305
- [8] Sun WW, Yu SJ, Zeng XA, et al. Properties of whey protein isolate-dextran conjugate prepared using pulsed electric field [J]. *Food Research International*, 2011, 44(4): 1052-1058
- [9] Diftis NG, Biliaderis CG, Kiosseoglou VD. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate-dextran mixture [J]. *Food Hydrocolloids*, 2005, 19(6): 1025-1031
- [10] Aoki T, Hiidome Y, Kitahata K. Improvement of heat stability and emulsifying activity of ovalbumin by conjugation with glucuronic acid through the maillard reaction [J]. *Food Research International*, 1999, 32(2): 129-133
- [11] Sun WW, Yu SJ, Yang XQ, et al. Study on the rheological properties of heat-induced whey protein isolate-dextran conjugate gel [J]. *Food Research International*, 2011, 44(10): 3259-3263
- [12] Li Y, Lu F, Luo CR. Functional properties of the maillard reaction products of rice protein with sugar [J]. *Food Chemistry*, 2009, 117(1): 69-74
- [13] Guan YG, Lin H, Han Z, et al. Effects of pulsed electric field

treatment on a bovine serum albumin-dextran model system,  
a means of promoting the maillard reaction [J]. Food

Chemistry, 2010, 123(2): 275-280

现代食品科技