

# 糖链长度对于大豆 7S 球蛋白糖基化产物构象及乳化特性的影响

许彩虹<sup>1,2</sup>, 王金梅<sup>2</sup>, 姚玉静<sup>1</sup>, 杨晓泉<sup>2</sup>

(1. 广东食品药品职业学院食品学院, 广东广州 510220)

(2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 淀粉与植物蛋白深加工教育部工程研究中心, 广东广州 510640)

**摘要:** 本文研究了 3 种糖链长度的葡聚糖和大豆 7S 球蛋白的糖基化产物, 分析糖链长度对 Maillard 反应程度、产物构象和产物乳化性方面的影响机制, 研究显示, 分子量在 67~150 u 范围的葡聚糖反应程度明显高于分子量为 500 u 葡聚糖和蛋白质的糖基化反应; 以共价键形式结合入蛋白质肽链的葡聚糖, 不会改变大豆 7S 球蛋白二级结构的主要结构 ( $\beta$ -结构), 主要增加了蛋白质二级结构中的无规则卷曲结构, 三级结构中, 随着糖链的延长, 较大程度地屏蔽掉近紫外区有信号的芳香族氨基酸圆二信号, 尤其是苯丙氨酸特征信号逐渐减少; 随着糖链的延长, 糖基化产物的空间位阻效应增加, 乳化性逐渐提高, 分子量为 500 u 葡聚糖链长与另外两种相差比较大。

**关键词:** 糖基化; 7S 球蛋白; 葡聚糖

文章编号: 1673-9078(2017)7-112-117

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.7.017

## Effect of Chain Length of Dextrans on the Conformation and Emulsifying Properties of the Glycosylation Products of Soybean 7S Globulin

XU Cai-hong<sup>1,2</sup>, WANG Jin-mei<sup>2</sup>, YAO Yu-jing<sup>1</sup>, YANG Xiao-quan<sup>2</sup>

(1. School of Food Science, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510220, China) (2. Research and Development Center of Food Proteins, School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The dextrans with varied chain lengths and the glycosylation products of soybean 7S globulin were studied in this paper. Further, the mechanisms underlying the impact of dextran chain length on the extent of Maillard reaction and the conformation and emulsifying properties of the glycosylation products were analyzed. The study showed that the extent of protein glycosylation reaction achieved using dextran with a molecular weight of 67~150 u was significantly higher than those with a molecular weight of 500 u. The glucan moiety that is covalently linked to the protein peptide did not change the major conformation of the secondary structure ( $\beta$ -structure) of soybean 7S globulin, rather it mainly increased the random coil in the secondary structure of the protein. In case of the tertiary structure, with increasing length of sugar chains, the circular dichroism (CD) spectral signals of the aromatic amino acids near ultraviolet (UV) region were significantly blocked, particularly for phenylalanine whose characteristic signals were gradually reduced. Moreover, with increasing lengths of the sugar chain, the steric hindrance effect of the glycosylation products increased, and the emulsifying properties were gradually enhanced. However, the chain length of 500 u glucan showed a significant difference compared to the other two chain lengths.

**Key words:** glycosylation; 7S globulin; dextran

作为中性多糖的葡聚糖能够共价接入蛋白肽链中, 其具有简单的直链结构和多样的链长而被广泛用于大豆蛋白和多糖的糖基化反应中。在对大豆蛋白和葡聚糖的糖基化研究中, 大豆蛋白乳化性和乳液稳

收稿日期: 2016-12-10

基金项目: 院级项目 (2013YZ002); 国家自然科学基金项目 (31301432)

作者简介: 许彩虹 (1976-) 女, 博士, 讲师, 研究方向: 碳水化合物和蛋白质改性方向

定性是被研究最多的, 从近几年对大豆蛋白糖基化反应研究较多的 Diftis 等<sup>[1-4]</sup>的报道中可以发现, 在油水乳液中, 大豆分离蛋白和葡聚糖的干热法产物能够抑制乳液在加热条件下的聚结和絮凝行为, 这是由于在油-水界面附近, 存在通过共价键连接到蛋白质分子中的葡聚糖分子, 增强了油滴之间空间位阻的排斥力而减慢了油滴聚集和絮凝的行为。通过对大豆蛋白的糖基化改性, 除了乳化性的改善, 大豆蛋白的热稳定

性<sup>[5]</sup>及一些生理活性如抗原性<sup>[6]</sup>和抗氧化性<sup>[7]</sup>也得到了一定程度的改善。近年来,为了更准确地研究大豆蛋白的糖基化及拓展大豆蛋白的应用空间,研究者开始对大豆球蛋白的单一蛋白开始进行研究,Matemu等<sup>[8]</sup>分别对大豆乳清蛋白、大豆酸沉蛋白、大豆 7S 球蛋白和 11S 球蛋白利用干热法和半乳甘露聚糖、壳聚糖等低聚糖进行糖基化反应,发现糖基化产物的乳化特性得到了明显地提高。

大豆 7S 球蛋白作为大豆蛋白主要的储藏蛋白之一,其对大豆蛋白的乳化性和凝胶性起到了重要的作用<sup>[9]</sup>。目前已有报道证实,糖基化可以有效改善大豆 7S 球蛋白的界面乳化性质<sup>[10-12]</sup>。糖基化对于大豆 7S 球蛋白构象及功能特性的影响依赖于连接的多糖链长度以及连接的数量<sup>[13,14]</sup>。研究显示卵白蛋白<sup>[15]</sup>、溶菌酶<sup>[16]</sup>和  $\beta$ -乳球蛋白<sup>[17]</sup>随着糖链的增加,乳化性和热稳定性也随之增加,然而也只有文献报道<sup>[18]</sup>葡聚糖的分子量在 10~20 ku 范围内对乳蛋白的溶解性和热稳定性影响不大,说明多糖链的长度对不同的蛋白质糖基化后的功能特性影响不一,然而目前缺乏对大豆 7S 球蛋白和葡聚糖糖基化反应系统研究的文献报道,对不同分子量(链长)葡聚糖与大豆 7S 球蛋白糖基化产物的研究则更为缺乏。

本研究选用了三种分子量的葡聚糖分别和大豆 7S 球蛋白采用干热法制备糖基化产物,研究糖链长度

对产物构象的影响,并分析糖链长度对产物乳化性的影响,以期对大豆蛋白的糖基化研究提供基础数据,藉此对拓展大豆蛋白的应用领域提供理论指导作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

低温脱脂大豆胚片(蛋白干基含量 55%),山东禹王蛋白厂。

### 1.2 试剂

葡聚糖(分子量分别为 67、150 和 500 ku),Sigma 公司;邻苯二甲醛(OPA),Sigma 公司;透析袋(截留相对分子量 10±2 ku),上海君创生物科技有限公司;丙烯酰胺(生化级),Merck 公司;N,N'-甲叉双丙烯酰胺(生化级),Merck 公司;四甲基乙二胺(TEMED,生化级),Merck 公司;十二烷基磺酸钠(SDS,生化级),Merck 公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris,生化级),Merck 公司;赖氨酸、溴化钾、硼砂、过硫酸铵、考马斯亮蓝 R-250、 $\beta$ -巯基乙醇、甲醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠和氯化钠等均为分析纯。

### 1.3 主要仪器设备

主要仪器和设备如表 1 所示。

表 1 实验仪器与设备

Table 1 Experimental instruments and equipment used in the study

仪器名称	型号	生产厂家
电泳槽	DYY-III28A	北京六一仪器厂
三恒电泳仪	ECP3000	北京六一仪器厂
杜马斯定氮仪	Rapid N cube Analyze	Germany Elementar Inc.
电热恒温培养箱	DNP-9082	上海精宏试验设备有限公司
水浴恒温振荡器		江苏金坛市宏华仪器厂
高速冷冻离心机	CR22G II	日立(Hitachi)公司
冷冻干燥机	Scientz-18N	宁波新芝生物股份有限公司
紫外可见分光光度计	TU-1810	北京普析通用仪器有限责任公司
HPLC 氨基酸自动分析仪	M510	美国 Waters 公司
傅立叶红外光谱仪	FTIR620	JASCO 日本分光公司
圆二色光谱分析仪	MOS450	法国 Bio. Sci. Instruments 公司
荧光光谱仪	F4500	日立(Hitachi)公司

### 1.4 试验方法

#### 1.4.1 大豆 7S 球蛋白的分离制备

大豆 7S 球蛋白依照 Nagano T 等<sup>[18]</sup>的方法来分离制备。

#### 1.4.2 大豆 7S 球蛋白糖基化产物的制备

分别称取不同分子量的葡聚糖和大豆 7S 球蛋白混合,与水溶解均匀后冷冻干燥。冻干粉过 100 目筛后放置于干燥器(底部放置饱和 KBr 溶液)中,保持 RH 79%,60 °C 恒温反应 1 周,取样分析。三种糖基化产物分别表示为 G67、G150 和 G500。

#### 1.4.3 褐变程度的测定

准确称取 25 mg 待测品溶于 5 mL 水中, 以水作空白样, 于 420 nm 下测定吸光值<sup>[20]</sup>。

#### 1.4.4 接枝度的测定

准确称取 40 mg 的 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 μL β-巯基乙醇, 最后用蒸馏水定容至 50 mL。此为 OPA 试剂。测定时, 取 OPA 试剂 4 mL 于试管中, 分别注入 200 μL 样品液, 混匀后于 35 °C 反应 2 min, 340 nm 下测其吸光值 A<sub>1</sub>, 以在 OPA 试剂中加入 200 μL 水为空白样, 二者之差 ΔA 为自由氨基的净吸光值<sup>[18]</sup>。以赖氨酸作出标准曲线, 根据 ΔA 计算样品中自由氨基的含量 C。

$$\text{接枝度(DG)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%$$

#### 1.4.5 糖基化产物乳化特性的测定

糖基化产物乳化特性的测定方法参考 Pearce<sup>[20]</sup>和 Wang<sup>[21]</sup>等人的浊度法。

#### 1.4.6 内源荧光光谱分析

用 10 mM 的磷酸缓冲液 (pH 7.0) 配制不同方法制备的糖基化产品待测液, 使用荧光分光光度计分别在激发波长为 334 nm 处进行发射波长扫描 (350~500 nm)。

#### 1.4.7 傅里叶红外光谱分析 (FT-IR 光谱)

以 1:100 混合样品和溴化钾, 用研钵研成均匀的粉末, 压成薄片, 再用傅立叶红外分光光度计作全波段 (4000~400 cm<sup>-1</sup>) 扫描, 扫描 32 次。

#### 1.4.8 圆二色谱 (CD) 分析

远紫外光谱分析: 将待测样品溶于 0.01 M 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 中, 样品浓度为 0.2 mg/mL, 室温下用圆二色谱仪进行远紫外光谱分析, 扫描范围 190~250 nm, 数据间隔为 0.5 nm/s。

近紫外光谱分析: 将待测样品溶于 0.01 M 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 中, 样品浓度为 1.0 mg/mL, 室温下用圆二色谱仪 (MOS 450, Biologic Science Instruments, 法国) 进行近紫外光谱分析, 扫描范围 250~360 nm, 数据间隔为 0.5 nm/s。

#### 1.4.9 统计分析

实验中所有数据都是三次测定的平均值, 利用一维方差分析的 LSD 比较样品平均值之间的差异显著性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 糖链长度对反应程度的影响

通过对三种糖链长度的糖基化产物褐变程度和接枝度来反映糖链长度对糖基化反应程度的影响。

接枝度和褐变程度可以用来反映 Maillard 反应程度和 Maillard 反应高级阶段产物的形成<sup>[23,24]</sup>。从图 1 可以看出, 接枝产物的接枝度随着接入葡聚糖糖链的增大而降低, 并且分子量为 150 ku 葡聚糖糖基化产物 (G150) 接枝度与分子量 67 ku 葡聚糖糖基化产物 (G67) 接枝度相比, 降低程度较小, 从 15.7% 下降至 14.2%, 分子量 500 ku 葡聚糖糖基化产物 (G500) 接枝度相比其他两种分子量的糖基化产物, 接枝度最低为 10.7%。图 1 还显示了褐变程度和接枝度的变化趋势一致, 随着 Maillard 反应的不进行, 蛋白质的自由氨基不断参与反应, 导致接枝度降低, 同时反应也向着高级阶段进行, 不断生成高级阶段产物包括类黑素和其他聚合物, 导致褐变程度升高。结果说明葡聚糖分子量的大小即接入糖链长度能够影响糖基化反应进行的程度, 分子量越大葡聚糖空间位阻越大, 这为糖链以共价形式接入蛋白质肽链带来的难度越大。

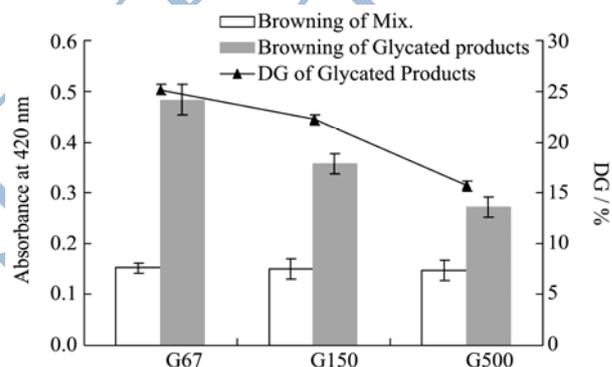


图 1 不同糖链长度对糖基化产物褐变程度和接枝度的影响 (p<0.05)

Fig.1 Effect of different dextran chain lengths on DG and the degree of browning

### 2.2 产物内源荧光光谱分析

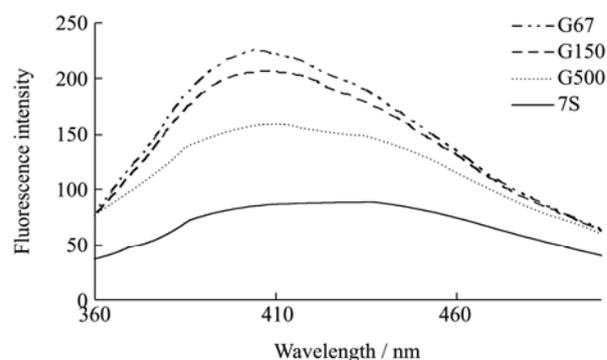


图 2 大豆 7S 球蛋白和糖基化产物荧光光谱

Fig.2 Fluorescence spectra of β-conglycinin and glycated products

荧光物质是 Maillard 反应高级阶段有色物质的前体物质<sup>[24]</sup>, 通过对三种糖链长度的糖基化产物内源荧

光强度的比较,可以进一步反映糖链长度对反应程度影响的差异。激发波长为 334 nm 时的荧光光谱扫描图如图 2。三种糖基化产物最大荧光强度位置与大豆 7S 球蛋白(430 nm)相比,均提前至 400 nm 左右,产物符合 Maillard 产物具有的荧光特征,三种产物在 400 nm 处荧光强度顺序依次为: G67>G150>G500,说明接入糖链越短反应程度越高,印证了 2.1 的结论。同时图 2 也显示了,糖基化产物 G67 和 G150 的荧光扫描图差异不明显,然而 G500 的荧光扫描图与二者差距较大,这表明葡聚糖在分子量 67~150 ku 范围内生成高级阶段的前体物含量接近,二者的糖基化反应速度和程度接近,而当分子量增加为 500 ku 时,葡聚糖链长过长带来的空间位阻效应更强烈,因此明显增加了共价交联的难度,导致其反应速度和程度明显落后于葡聚糖分子量在 67~150 ku 范围内的糖基化反应。结果说明,接入糖链越短反应越容易向高级阶段进行, Maillard 反应程度也越高,对于大豆 7S 球蛋白而言,接入的葡聚糖分子量在 67~150 ku 范围内反应程度差异不大,而葡聚糖分子量增加为 500 ku 反应程度明显变小,根据反应程度的变化,说明接入葡聚糖分子量具有一定的合适范围。

2.3 傅里叶红外光谱分析 (FT-IR 光谱)

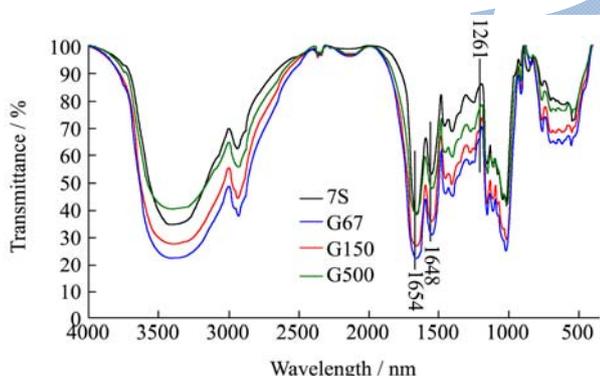


图 3 大豆 7S 球蛋白和糖基化产物的红外光谱

Fig.3 FT-IR spectra of  $\beta$ -conglycinin and glycosylated products

表 2 大豆 7S 球蛋白和糖基化产物的二级结构组成

Table 2 Secondary structure determination of  $\beta$ - conglycinin and glycosylated products ( $\times 10^{-2}$ /g Amino acid)

	二级结构/%				总量
	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -折叠	$\beta$ -转角	无规则	
大豆 7S 球蛋白	14.8	33.5	22.7	28.1	99.1
G67	15.8	29.5	22.0	32.7	100
G150	15.5	29.8	21.8	32.2	99.3
G500	14.9	30.2	21.6	31.8	98.5

大豆 7S 球蛋白和糖基化产物的圆二色谱远紫外图谱进行分析,结果见表 2。三种不同糖链的糖基化产物二级结构的主要结构仍和大豆 7S 球蛋白相同以

图 3 是大豆 7S 球蛋白和三种糖链长度的糖基化产物的红外图谱,图 3 显示,由于葡聚糖糖链上存在多个羟基,其通过共价键接入大豆 7S 球蛋白肽链上后,增加了肽链中羟基数量,因此一方面在 3700~3000  $\text{cm}^{-1}$  范围内,三种糖基化产品的峰宽与大豆 7S 球蛋白相比均增大,增大顺序依次为: G67>G150>G500;另一方面在 1261~3000  $\text{cm}^{-1}$  范围内,三种糖基化产品光谱强度也增强,强度增加顺序同 3700~3000  $\text{cm}^{-1}$  范围内,可以看出,三种糖基化产物在这两个范围内的差异性主要是由三种产物反应程度高低决定。在蛋白质的特征吸收谱带酰胺 I 区 1600~1700  $\text{cm}^{-1}$  范围内能够反映出蛋白质二级结构的变化, G67、G150 和 G500 分别从 1654  $\text{cm}^{-1}$  峰移至 1658  $\text{cm}^{-1}$ 、1659  $\text{cm}^{-1}$  和 1660  $\text{cm}^{-1}$  峰,说明  $\alpha$ -螺旋或者无规则卷曲结构都有较大的提高,即蛋白质二级结构的  $\beta$ -折叠有部分转化为  $\alpha$ -螺旋或者无规则卷曲结构,在酰胺 II 区峰 1548  $\text{cm}^{-1}$  峰位置,三种糖基化产物均未发生改变,说明氢键未被破坏,二级结构仍以  $\beta$ -结构为主。

2.4 圆二色谱分析

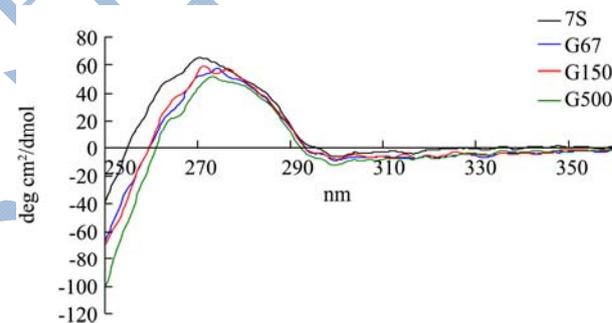


图 4 大豆 7S 球蛋白和糖基化产物的近紫外圆二色谱

Fig.4 The near-UV CD spectra of  $\beta$ - conglycinin and glycosylated products

$\beta$ -结构为主,但是  $\beta$ -折叠含量下降,而三种产物的无规则卷曲含量都增加,说明蛋白质肽链中引入多糖链,多糖链的空间位阻引起了蛋白质二级结构的变化,并

且三种糖基化产物  $\alpha$ -螺旋均略有增加, 印证了红外光谱的分析,  $\beta$ -折叠含量下降程度和无规则和  $\alpha$ -螺旋增加程度一致, 为: G67>G150>G500, G67 和 G150 差距不大。由于短糖链与长糖链相比空间位阻较低, 更多的糖越易接入蛋白质肽链中, 更易引起蛋白质二级结构的变化。

圆二色谱的近紫外图谱反映了蛋白质侧链基团的变化, 主要是芳香族氨基酸如色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和苯丙氨酸(Phe)<sup>[23]</sup>。图 4 为大豆 7S 球蛋白和不同糖链长度的糖基化产物的近紫外图谱。图 4 显示, 随着糖链的增加, 在 250~295 nm 波长范围的圆二信号负值增强, 说明糖链越长的葡聚糖接入蛋白质肽链上, 能引进较大的空间位阻, 较大程度地屏蔽掉近紫外区有信号的芳香族氨基酸圆二信号, 尤其在苯丙氨酸的特征信号范围 250~265 nm 处, 接入糖链越长的糖基化产物圆二信号负值增强, 主要说明糖基化产物中苯丙氨酸减少, 这是由于接入较长的糖链带来了较大的空间位阻, 因此对于肽链中氨基酸的屏蔽作用更强, 尤其对于肽链中苯丙氨酸的屏蔽作用更为明显。

## 2.5 乳化性分析

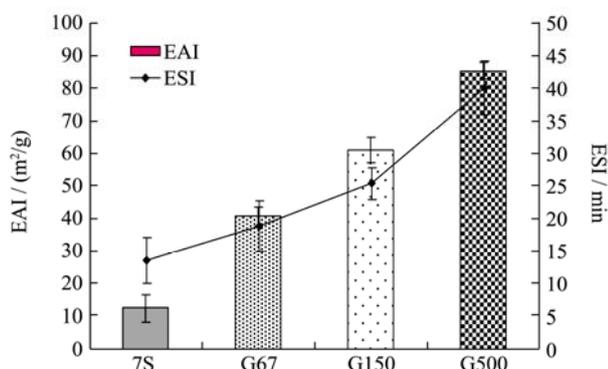


图 5 大豆 7S 球蛋白和糖基化产物的乳化特性 ( $p < 0.05$ )

Fig.5 Near-UV CD spectra of  $\beta$ -conglycinin and glycosylated products

图 5 显示, 随着糖链的增加大豆 7S 球蛋白的乳化活性和乳化稳定性都得到了提高, G67、G150 和 G500 的乳化活性指标与大豆 7S 球蛋白相比分别提高 228%、393%和 591%, G67、G150 和 G500 的乳化稳定性指标与大豆 7S 球蛋白相比分别提高 38.24%、87.2%和 197%, 蛋白质肽链接入分子量为 500 ku 的葡聚糖对大豆 7S 球蛋白乳化性方面相比分子量为 67 ku 和 150 ku 的葡聚糖改善更明显, 这是由于分子量为 500 ku 葡聚糖链长与另外两种相差较大, 当其以共价键连接入大豆 7S 球蛋白肽链中, 更大程度地增加了分子的空间位阻, 在油-水界面中, 使得吸附在油滴表面的蛋白质因为接入糖链而形成的保护层厚度大大增

加, 因而更大程度地阻止了油滴的聚集。

## 3 结论

3.1 本章研究了三种不同糖链长度 (67 ku、150 ku 和 500 ku) 的葡聚糖对于大豆 7S 球蛋白糖基化反应的影响, 主要从反应程度、产物构象和乳化性方面进行研究, 主要结论有:

3.2 糖链长度影响了 Maillard 反应的程度, 分子量在 67~150 ku 范围的葡聚糖反应程度明显高于分子量为 500 ku 葡聚糖和蛋白质的糖基化反应, 糖链越长, 糖基化产物的空间位阻越大; 以共价键形式结合入蛋白质肽链的葡聚糖, 不会改变大豆 7S 球蛋白二级结构的主要结构 ( $\beta$ -结构), 蛋白质二级结构中的  $\beta$ -折叠含量下降, 无规则卷曲结构明显增加, 三级结构中, 随着糖链的延长, 较大程度地屏蔽掉近紫外区有信号的芳香族氨基酸圆二信号, 尤其是苯丙氨酸特征信号逐渐减少; 糖基化产物的乳化性提高, 糖链的延长对于乳化性的提高显著, 分子量为 500 ku 葡聚糖链长与另外两种相差较大。

## 参考文献

- [1] Diftis N, Kiosseoglou V. Competitive adsorption between a dry-heated soy protein-dextran mixture and surface-active materials in oil-in-water emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(4): 639-646
- [2] Diftis N G, Biliaderis C G, Kiosseoglou V D. 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
- [3] Diftis N, Kiosseoglou V. Physicochemical properties of dry-heated soy protein isolate-dextran mixtures [J]. Food Chemistry, 2006, 96(2): 228-233
- [4] Diftis N, Kiosseoglou V. Improvement of emulsifying properties of soybean protein isolate by conjugation with carboxymethyl cellulose [J]. Food Chemistry, 2003, 81: 1-6
- [5] Takano K, Hattori M, Yoshida T, et al. Porphyran as a functional modifier of a soybean protein isolate through conjugation by the maillard reaction [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(14): 5796-5802
- [6] Guan-hao Bu, Ting-wei Zhu, Fu-sheng Chen, et al. Effects of saccharide on the structure and antigenicity of  $\beta$ -conglycinin in soybean protein isolate by glycation [J]. European Food Research and Technology, 2015, 240(2): 285-293
- [7] Mesa M D, Silvan J M, Olza J, et al. Antioxidant properties of soy protein-fructooligosaccharide glycation systems and its

- hydrolyzates [J]. Food Research International, 2008, 41(6): 606-615
- [8] Matemu A O, Kayahara H, Murasawa H, et al. Importance of size and charge of carbohydrate chains in the preparation of functional glycoproteins with excellent emulsifying properties from tofu whey [J]. Food Chemistry, 2009, 114(4): 1328-1334
- [9] Takeuchi T, Morita K, Saito T, et al. Chitosan-soy protein interaction as determined by thermal unfolding experiments [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2006, 70(7): 1786-1789
- [10] J B Zhang, N N Wu, X Q Yang, et al. Improvement of emulsifying properties of Maillard reaction products from  $\beta$ -conglycinin and dextran using controlled enzymatic hydrolysis [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(2): 301-312
- [11] Bo Zhang, Yu-jie J Chi, Bing Li. Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between  $\beta$ -conglycinin and maltodextrin and on the emulsifying properties of conjugates [J]. European Food Research and Technology, 2014, 238: 129-138
- [12] Xi Zhang, Jun-ru Qi, Kang-kang Li, et al. Characterization of soy  $\beta$ -conglycinin-dextran conjugate prepared by Maillard reaction in crowded liquid system [J]. Food Research International, 2012, 49(2): 648-654
- [13] Na-na Wu, Jin-bo Zhang, Bin Tan, et al. Characterization and interfacial behavior of nanoparticles prepared from amphiphilic hydrolysates of  $\beta$ -conglycinin-dextran conjugates [J]. J. Agric. Food Chem., 2014, 62(52): 12678-12685
- [14] Shu Y W, Sahara S, Nakamura S, et al. Effects of the length of polysaccharide chains on the functional properties of the Maillard-type lysozyme-polysaccharide conjugate [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1996, 44(9): 2542-2548
- [15] Aoki T, Hiidome Y. Modification of ovalbumin with oligogalacturonic acids through the Maillard reaction [J]. Food Research International, 2001, 34: 127-132
- [16] Wooster T J, Augustin M A.  $\beta$ -Lactoglobulin-dextran Maillard conjugates: Their effect on interfacial thickness and emulsion stability [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2006, 303(2): 564-572
- [17] Castaño J L, Villamiel M, Fandiño L R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(3): 433-443
- [18] Nagano T, Hirotsuka M, Mori H, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 941-944
- [19] Baisier W M, Labuza T P. Maillard browning kinetics in a liquid model system [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(5): 707-713
- [20] Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(3): 716-723
- [21] Wang X S, Tang C H, Li B S, et al. Effects of high-pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates [J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(4): 560-567
- [22] Isaacs N S, Coulson M. Effect of pressure on processed modeling the Maillard reaction [J]. Journal of Physical Organic Chemistry, 1996, 9: 639-644
- [23] Laroque D, Inisan C, Berger C, et al. Kinetic study on the Maillard reaction. Consideration of sugar reactivity [J]. Food Chemistry, 2008, 111(4): 1032-1042
- [24] Jing H, Kitts D D. Chemical and biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products [J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, 40(7): 1007-1015