

# 食品中蛋白质糖基化接枝的研究进展

许彩虹<sup>1</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 510520)

(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:** 在食品领域, 基于 Maillard 反应机理的蛋白质和多糖糖基化方法是蛋白质改性方法的一种绿色有效方法, 属于蛋白质化学改性范畴, 在此反应中, 蛋白质与糖发生共价接枝, 不需要添加任何化学试剂作为催化剂, 仅加热就可使反应自发进行, 以往的研究表明, 蛋白质的糖基化是提高蛋白质功能特性及其他应用性质的有效途径之一。文章系统介绍了蛋白质糖基化的结构、反应机理、糖链在蛋白质糖基化中的主要作用、糖基化方法, 并对蛋白质糖基化的研究方向进行了探讨和展望。一方面, 由于蛋白质糖基化方法的一些局限性, 难以实现可控性和工业性、规模化应用, 如何更好地利用跨学科的思路, 对现有糖基化方法进行研究探讨, 在达到糖基化过程的可控性和工业化方面将是关注热点。另一方面, 如何更好地拓展糖基化产物的应用性, 也是今后的研究热点。

**关键词:** 蛋白质; 糖基化; 反应方法

文章编号: 1673-9078(2017)8-306-312

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.8.044

## Research Progress on the Applications of Protein Glycosylation (Grafting) in Food Industry

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

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College School of Food Science, Guangzhou 510520, China) (2. Research and Development Center of Food Proteins, School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** In the field of food science, protein and polysaccharide glycosylation based on Maillard reaction mechanism is an effective and green method for protein modification, and belongs to the category of chemical modification of protein. In this reaction, protein is covalently grafted with sugar, and the reaction proceeds spontaneously by heating alone and does not require addition of any chemical catalyst. Previous studies have shown that protein glycosylation is one of the effective ways to improve the functional properties and other application features of proteins. In this paper, the structure and reaction mechanism of protein glycosylation, major function of sugar chain in protein glycosylation, method of glycosylation, and research directions of protein glycosylation were introduced and discussed. Due to certain limitations of protein glycosylation methods, it is difficult to achieve controllability, industrialization, and large-scale applications. The areas that receive wide attention include methodologies to utilize interdisciplinary approaches to study the existing glycosylation methods, and controllability and industrialization of the glycosylation process. Moreover, methods to expand the application of glycosylated products will also be a potential hot research topic in the future.

**Key words:** protein; glycosylation; reaction method

糖生物学 (Glycobiology) 这个名称在 1988 年首先被牛津大学生物化学家 Raymond Dwek 提出, 由此诞生了一个新的研究领域。20 世纪 90 年代后, 各种糖研究的国际合作及国际信息网络的技术交流蓬勃兴起。自然界中存在的功能性蛋白中 50% 蛋白质都受糖链的修饰, 虽然不同糖蛋白中糖链的功能是不同的,

收稿日期: 2017-04-24

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

但是由于糖链能修饰并改变蛋白质的内在特性, 从而对糖蛋白整体生物学功能的体现至关重要。蛋白质糖基化作为细胞中常见和复杂的翻译后修饰方式之一, 能够影响蛋白质三维空间结构或决定蛋白质在细胞内的转送方向等<sup>[1,2]</sup>, 进而影响蛋白质的功能特性及其他应用性质。

随着人们对生活质量的要求不断提高, 蛋白质包括大豆蛋白质在某些食品体系中的应用越来越受到限制, 因此科研人员长期以来一直致力于利用物理<sup>[3,4]</sup>、化学 (酰化、糖基化、磷酸化和去酰胺等)<sup>[5-9]</sup>及酶的

方法<sup>[10,11]</sup>以进一步提高蛋白质功能特性。但是在这些方法中,存在效果不明显和使用有毒化学试剂等缺点,导致不能或极少应用于食品行业。从上世纪 80 年代末期<sup>[12]</sup>开始,一些科研人员把研究重点转移到蛋白质的糖基化即蛋白质和糖的接枝改性上来,在食品中蛋白质糖基化的主要方法是基于 Maillard 反应机理的非酶糖基化,属于蛋白质化学改性范畴,在此反应中,蛋白质与糖发生共价结合,不需要添加任何化学试剂作为催化剂,仅加热就可使反应自发进行。蛋白质与糖进行接枝改性的方法主要有干热法和湿热法两种,但是这两种方法各有优劣,均难以实现过程化控制,不利于工业化、规模化应用,同时糖链对于接枝反应作用机理方面尚未明了。本文对目前食品中基于 Maillard 反应机理的蛋白质糖基化接枝改性方法进行汇总和分析,以为蛋白质糖基化改性研究提供更多参考和借鉴。

### 1 蛋白质糖基化的结构

自然界中天然的糖蛋白根据糖链和蛋白质的连接方式,其糖基化主要分为两类:N-连接糖基化和 O-连接糖基化<sup>[13]</sup>。

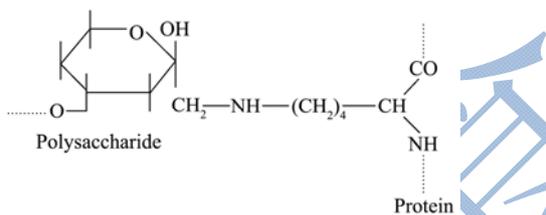


图 1 多糖的还原末端糖和蛋白质内部氨基酸(赖氨酸)连接方式<sup>[17]</sup>

Fig.1 Amadori-type linkage (↔) between the reducing terminal sugar of a polysaccharide and the amine group (from lysine) within a protein

N-连接糖基化一般由六到数十个糖基组成糖链,N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)还原端与蛋白质中天冬酰胺的酰胺氮相连,N-型糖蛋白主要分布在血浆蛋白和分泌蛋白等蛋白中<sup>[14,15]</sup>,N-连接糖基化是蛋白质糖基化类型中存在最多的一种<sup>[16]</sup>。N-连接型的糖基化糖链内侧通常含有一个五糖核心(GlcNAc2Man3),根据核心外连接糖的组成可以将其分为高甘露糖型、复杂型和混合型糖链(见图 1),高甘露糖型糖链中只含有甘露糖(Man)和 N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc);复杂型糖链中除含有简单型糖链外,还含有其他糖如半乳糖(Gal)、岩藻糖(Fuc)和唾液酸(NeuAc 或 SA),复杂型糖链结构基本上是由五糖核心区加上一些可变数目的 N-乙酰氨基乳糖(Gal-GlcNAc)所构成的外链;

混合型糖链中既含有高甘露糖链,又有 N-乙酰氨基乳糖(Gal-GlcNAc)连接在五糖核心区上。

O-连接糖基化是指糖基或糖链的还原端与蛋白质肽链的丝氨酸、苏氨酸或羟赖氨酸残基中的羟基氧原子相连,其没有糖链物的固定结构及核心,迄今为止,由于没有一种非常好的特异性酶将 O-连接的糖链从蛋白上释放下来,其研究相对较少,对 O-连接的糖基化规律和机理也不是很清楚。O-型糖蛋白在黏液、免疫球蛋白中广泛存在<sup>[14,15]</sup>。

蛋白质-多糖的糖基化接枝产物与蛋白质-单糖/双糖所得的接枝产物相比,前者在功能特性方面明显优于后者。蛋白质和多糖的糖基化接枝方法多用于干热法,反应基于 Maillard 反应的 Amadori 重排阶段,在蛋白质肽链上的氨基酸(终端和内部)被连接到多糖的还原末端(见图 1)。

### 2 蛋白质糖基化的反应机理

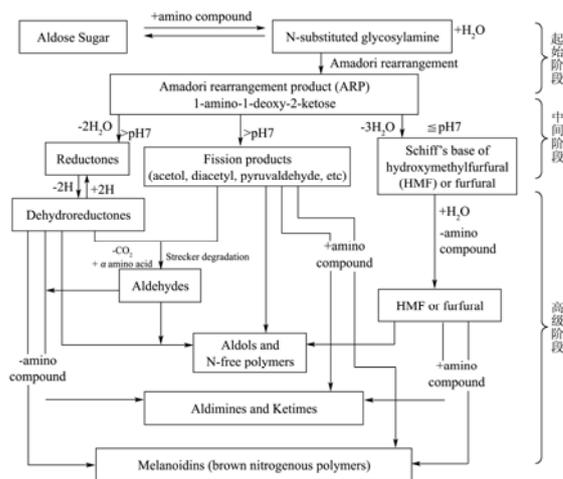


图 2 Maillard 反应历程图<sup>[19]</sup>

Fig.2 Schematic diagram of Maillard reaction<sup>[19]</sup>

基于 Maillard 反应机理的蛋白质糖基化,属于蛋白质的化学改性范畴。Maillard 反应又称非酶褐变(Non-enzymatic Browning),是由法国生物化学家 Louis Camille Maillard 在 1912 年发现,1953 年 John Hodge 等正式命名此反应为 Maillard 反应,并将其反应历程归纳成图。所谓糖基化作用就是将碳水化合物以共价键与蛋白质分子上的  $\alpha$ -或  $\epsilon$ -氨基相连接而形成糖基化蛋白的化学反应,反应历程可分为三个阶段(见图 2)<sup>[18,19]</sup>。

(1) 起始阶段:碳水化合物的醛基与蛋白质的氨基进行缩合反应形成糖基化产物(Shiff 碱),再经环化形成相应的 N-取代醛糖基胺,经 Amadori 重排形成 Amadori 化合物;

(2) 中间阶段: Amadori 化合物在中间阶段进行

的反应,取决于体系的pH值,当 $\text{pH} \leq 7$ 时,Amadori化合物发生1,2-烯醇化反应而形成糠醛(Furfural)或羟甲基糠醛(Hydromethyl-furfural),当 $\text{pH} > 7$ ,Amadori化合物发生2,3-烯醇化反应产生还原酮类和一类裂解产物。所有这些产物都具有较高的活性,进一步参与反应;

(3) 高级阶段:在反应的高级阶段,成环、脱水、重排和异构等一系列反应均在进行,在最终反应阶段,高级Maillard反应阶段形成的众多活性中间体,又可继续与氨基酸反应,最终都形成含氮的棕色聚合物或共聚物,统称为类黑素(Melanoidin)。

### 3 糖链在蛋白质糖基化产物中的主要作用

糖链在蛋白质糖基化产物中的作用主要分为两大类<sup>[20]</sup>:一方面为分子内作用,如蛋白质的正确折叠、细胞内定位、生物活性、抗原性和生物半衰期等;另一方面为分子间作用,如趋靶于溶酶体、细胞组织和胞间黏附病原体等,总而言之是一种“识别”和“调控”的生物过程。

糖链在蛋白质糖基化产物中的作用具体有以下几个方面:

#### 3.1 标记功能

糖链作为信号标记,在识别和被识别反应过程中起着不可替代的作用。如大肠杆菌外源性凝集素识别宿主细胞富含甘露糖的膜糖蛋白、流感病毒的血凝素可专一性识别人体细胞表面唾液酸化的寡糖链、血型糖蛋白能够决定ABO血型系统或MN血型系统等,表面细菌、病毒对宿主细胞膜上某种特殊的糖链有专一识别和结合作用,寡糖链的识别作用决定着细胞的识别、集聚和受体作用<sup>[14,16]</sup>。糖链与配基的结合不仅指明配体的特征性,在信号传递同时还协同配体功能,这种糖链与配基之间的互补关系往往是生物分子生理活性必须的。糖链结构可以直接影响糖蛋白肽链构象以及由构象决定的功能。

#### 3.2 增强蛋白质的稳定性

糖基化可以增加蛋白质对于各种变性条件如热、变性剂等的稳定性,防止蛋白质的相互聚集,蛋白质表面的糖链还可覆盖蛋白质分子中的某些蛋白酶降解位点,从而增加蛋白质对于蛋白酶的抗性<sup>[21]</sup>。由于糖蛋白的高黏度特性,其还可以作为机体润滑剂,防止蛋白水解酶的水解作用,还可防止细菌、病毒的感染或机械作用的损伤等<sup>[22]</sup>。糖链分子上的酸性糖基如唾液酸和糖醛酸等对蛋白质具有保护其稳定、延长半衰

期的作用,在一定范围内可降低或免除水解酶对肽链的降解或阻止抗体的识别<sup>[23]</sup>。

### 3.3 物质运输功能

糖链接入蛋白质中,可以作为蛋白质分子的胞内定位信号,被分拣和投递到对应的环境中,具有一定的靶向性,如糖蛋白经过修饰,带有甘露糖-6-磷酸后,这些糖蛋白多数是水解酶就被分拣和投递到溶酶体中<sup>[21]</sup>。一些糖蛋白如运血红蛋白、转铁蛋白受体等可与各种特有的物质结合,承担运输功能,糖链兼有传递信息功能,在糖蛋白激素中,糖链对于激素信号传入细胞过程中起到重要作用<sup>[24]</sup>。

### 4 糖基化对于蛋白质在结构上的变化

蛋白质的空间结构与蛋白质的性质密切相关,糖链的接入引起蛋白质空间结构的变化也是蛋白质性质发生改变的重要原因。近些年的研究显示,蛋白质的糖基化能够改变蛋白质的二级和三级结构。Enomoto等<sup>[25,26]</sup>使用热法分别研究 $\alpha$ -乳清蛋白和 $\beta$ -乳球蛋白的糖基化,发现糖基化导致它们的二级结构发生显著变化。Zhong<sup>[27]</sup>等人发现, $\beta$ -乳球蛋白糖基化后,二级结构中的 $\beta$ -折叠增加导致了蛋白质抗原性降低和功能性质提高。胥伟<sup>[28]</sup>等发现卵白蛋白的糖基化反应可以提高蛋清卵白蛋白疏水性和分子粒径,是蛋白二级结构发生明显变化。Zhang<sup>[29]</sup>等发现随着越来越多的芳香侧链暴露于热环境中, $\beta$ -大豆球蛋白-葡聚糖的三级结构也发生了变化。

### 5 蛋白质的糖基化产物在功能特性方面的改善

蛋白质-多糖的糖基化接枝产物与蛋白质-单糖/双糖所得的接枝产物相比,前者在功能特性方面明显优于后者。影响食品体系性质的主要功能特性有乳化性、起泡性和凝胶性。近年来,也有资料显示蛋白质-糖接枝物与未糖基化接枝的蛋白质相比,在抗氧化性<sup>[30]</sup>、抑菌性<sup>[31]</sup>、自由基清除<sup>[32]</sup>和抗原性<sup>[33]</sup>等方面也有相应的改善。

#### 5.1 乳化性

在功能特性方面这部分研究最多。研究表明<sup>[34]</sup>,蛋白质经过糖基化反应后可以显著的提高蛋白质的乳化性能。主要是由于接枝的多糖具有的空间位阻作用抑制了乳液液滴间的聚集和絮凝,提高了乳液的稳定性。Wong等<sup>[35]</sup>研究了脱酰胺小麦蛋白与不同分子的

葡聚糖形成糖基化产物稳定乳液的性质,并且具有较高分子量的葡聚糖形成的糖基化产物在乳液液滴表面会形成较厚的界面膜,同时会提供较高的空间位阻作用,使乳液具有较高的稳定性。

Akhtar 等<sup>[36]</sup>研究了乳蛋白-麦芽糊精糖基化产物稳定乳液的性质,指出糖基化产物稳定的乳液可以抵御外界环境的变化对乳液稳定性的影响,包括改变乳液 pH、离子强度和对乳液进行热处理。

## 5.2 起泡性

蛋白质与糖形成的糖基化产物所具有的理化性质,尤其是疏水和亲水特性,使它们能够稳定泡沫体系<sup>[37]</sup>。Haar 等<sup>[38]</sup>采用干热法制备  $\alpha$ -乳白蛋白与单糖以及低聚糖的糖基化产物,研究发现,与未处理的  $\alpha$ -乳白蛋白稳定的泡沫相比, $\alpha$ -乳白蛋白-鼠李糖和  $\alpha$ -乳白蛋白-海藻糖两种糖基化产物具有更高的泡沫稳定性。Medrano 等<sup>[39]</sup>研究了  $\beta$ -乳球蛋白与葡萄糖以及乳糖糖基化产物泡沫的稳定性,与未经热处理的  $\beta$ -乳球蛋白相比,糖基化产物稳定的泡沫具有较高的稳定性,并且  $\beta$ -乳球蛋白-乳糖糖基化产物更易于形成泡沫,且泡沫稳定性最高。

## 5.3 凝胶性

蛋白质的糖基化可以改变蛋白质在成胶过程中的聚集方式,通过控制蛋白质与多糖的质量比和多糖的性质,可以调节形成凝胶的网络结构,从而改变凝胶的质构特性<sup>[40]</sup>。Spotti 等<sup>[41]</sup>研究了乳清分离蛋白与低分子量的葡聚糖(15~25 ku)糖基化产物热致成胶的凝胶性质,当糖基化产物中葡聚糖的含量为蛋白质添加量的 7.2% (*m/m*) 时,乳清分离蛋白-葡聚糖糖基化产物凝胶具有最高的机械强度。单轴压缩测试表明糖基化产物凝胶在形变量达到 80% 时仍不会发生破碎。而 Sun 等<sup>[42]</sup>采用干热法制备的乳清分离蛋白-葡聚糖(150 ku)糖基化产物,研究发现糖基化产物的凝胶强度低于单纯乳清蛋白,主要是由于糖基化作用改变了蛋白质的热聚集行为,在制备糖基化产物热致凝胶的过程中,蛋白质发生热变性聚集受到抑制,从而降低了凝胶强度。

## 6 蛋白质和糖的糖基化接枝方法

蛋白质和糖进行接枝反应的方法主要有两种,分别为干热法和湿热法。这两种方法在反应物状态、反应条件及反应设备等方面各有优劣。干热法由于体系状态及反应条件的限制,对于接枝方法的研究多集中在湿热法。干热法和湿热法糖基化反应的差异主要是

由反应的水分活度和加热强度不同造成<sup>[43,44]</sup>,湿热法在水分活度和加热强度方面均明显高于干热法的条件,蛋白质最初卷曲紧密状态的肽链会发生展开,并且由于分子内作用及疏水等作用,使得分子内部的一些疏水集团会暴露于分子表面,分子外部的亲水基团相对数量较少<sup>[45]</sup>,另一方面,在比干热法反应条件剧烈的情况下,蛋白质分子和多糖分子相互碰撞、互相接触的机会也会多于干热法<sup>[46]</sup>,导致了二者反应时间、反应产物和反应机制存在差异性。

## 6.1 干热法

干热法首先由日本 Yamaguchi 大学的 Kato 教授(1988)<sup>[12]</sup>提出,通过控制自发的美拉德反应来实现蛋白质和多糖的接枝反应。该反应首先将蛋白质和糖按照一定的比例溶解于选定 pH 值的缓冲溶液中,分散均匀后进行冷冻干燥,冻干好的样品在 50~60 °C 的温度下和相对湿度(用饱和 KBr 维持在 79% 或饱和 KI 维持在 65% 的相对湿度)下进行非酶糖基化反应,降低温度就可抑制反应的进行。干热法多用于多糖和蛋白质的接枝反应,接枝物功能特性较好,但是反应时间较长<sup>[45,47]</sup>,酪蛋白在所有研究的蛋白质中反应速度最快,达到理想的反应程度大约需要 24 h,其它蛋白质实现适度的接枝反应需要 1~2 周,另外对反应条件的控制较为严格,并且在反应过程中很难进行过程化控制,这给糖基化产物的工业化生产带来了一定难度。

## 6.2 湿热法

湿热法一般是在溶液条件下加热进行,一般用于蛋白质与单糖或双糖的接枝反应。近几年,有研究显示<sup>[7,8]</sup>,湿热法在乳清分离蛋白、大豆 7S 球蛋白和葡聚糖的接枝改性中,接枝物的功能特性(如乳化性、溶解性和热稳定性)都有相应的提高。湿热法反应初始步骤与干热法相同,首先将蛋白质和糖按照一定的比例溶解于选定 pH 值的缓冲溶液中,然后在密闭的设备中,利用水浴或者油浴进行反应,利用冰浴降低反应温度,从而结束反应。湿热法接枝反应一般在  $\leq 90$  °C 反应速度较慢, $\geq 90$  °C 反应速度较快,该反应一般需要几到十几小时的反应时间,尽管湿热法比干热法反应时间短,但多被用于蛋白质与小分子糖之间的接枝反应,还需要进一步进行研究以实现其工业化的可行性。Martins 等(2001)<sup>[48]</sup>创建了湿热法的动力学模型,来预测和控制 Maillard 反应的进行,这为实现 Maillard 反应的过程化控制探索了新思路,但是由于研究产物仅是简单的葡萄糖和甘氨酸模型实验,对于大分子的蛋白质和多糖则未涉及。

### 6.3 压力在湿热法中的应用

上个世纪90年代,高静压被用于 Maillard 反应中,主要用在简单的氨基酸和糖模型体系中。Tamaoka<sup>[49]</sup>于 1991 年<sup>[43]</sup>率先报道了压力(50~200 MPa)在 Maillard 反应的整个阶段,显著抑制了甘油醛、木糖和氨基酸反应伴随的褐变,但是并未明显抑制反应最初的聚合阶段。随后的研究也显示<sup>[50,51]</sup>,高静压能够影响单糖和氨基酸的 Maillard 反应途径,抑制了反应中级和高级阶段的进行,尤其 pH 值对于高压下的 Maillard 反应影响显著,加速了 Maillard 反应的 Amdori 重排产物生成和降解,增加了反应的中级和高级产物。

本文作者研究了压力辅助湿热法应用于大豆 7S 球蛋白和葡聚糖的糖基化反应对于反应产物结构和功能特性方面的影响研究,研究结果显示<sup>[52]</sup>,水热法采用的压力能够抑制 Maillard 反应向高级阶段的进行,并且水热法产物的主要功能特性乳化特性和溶解性也有相应提高,表明压力能够对于 Maillard 反应的进行具有一定的抑制作用,可以控制反应向理想阶段。功能特性好的糖基化产品一般形成在 Maillard 反应的第一阶段末期或者第二阶段初期,同时还需限制类黑素和其他高级阶段产物的形成,因此压力对于蛋白质和多糖 Maillard 反应的影响,将为实现 Maillard 反应理想的可控性以及工业化的可行性提供了一个方向。

### 6.4 其他技术或手段辅助湿热法

近几年,国内在接枝方法的改进方面研究较多,多是在湿热法的基础上辅助应用其他技术手段进行改进。Guan<sup>[53]</sup>利用了微波辅助湿热法进行了大豆分离蛋白和乳糖、可溶性淀粉的接枝改性的可行性研究,对反应的工艺条件、机理、接枝物的理化性质、机构及功能特性等方面进行了系统的研究;王金水<sup>[54]</sup>运用超声波辅助湿热法研究了小麦蛋白分别和阿拉伯胶、麦芽糊精的接枝反应。Guan 等人<sup>[55,56]</sup>发现脉冲电场对于氨基酸和小分子糖,乳清蛋白和葡聚糖的 Maillard 反应均具有一定的作用。

利用改进后的接枝方法、接枝反应时间和接枝物功能特性都有相应提高,但是这些新的接枝方法和传统的接枝方法一样难以实现大分子的蛋白质和多糖的过程化控制,并且所利用的微波、有机溶剂和超声波等对于实现工业化、规模化的生产实践均有一定难度。

## 7 展望

在食品领域,基于 Maillard 反应机理的蛋白质和多糖糖基化研究是蛋白质改性方法的一种绿色有效方

法,对于蛋白质-糖糖基化接枝方面的研究多集中在不同蛋白质和糖对于糖基化反应的探讨,以及糖基化产物功能特性尤其是乳化性质、凝胶性质等方面研究。一方面,由于蛋白质糖基化方法的一些局限性,难以实现可控性和工业性、规模化应用,如何更好地利用跨学科的思路,对现有糖基化方法进行研究探讨,在达到糖基化过程的可控性和工业化方面将是关注热点。另一方面,如何更好地拓展糖基化产物的应用性,譬如作为营养物质或其他物质输送载体等,也是今后的研究热点。

### 参考文献

- [1] Egrle J C, Browne J K. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein [J]. *British J. Cancer*, 2001, 84: 3-10
- [2] Mads A T, Henrik C. Mucin-type O-glycosylation and its potential in drug and vaccine development [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 9: 1-18
- [3] Dickinson E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(6): 1473-1482
- [4] Xia N, Wang J M, Yang X Q, et al. Preparation and characterization of protein from heat-stabilized rice bran using hydrothermal cooking combined with amylase pretreatment [J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 110: 95-101
- [5] Matheis G. Phosphorylation of food proteins with phosphorus oxychloride-improvement of functional and nutritional properties: a review [J]. *Food Chemistry*, 1991, 39: 13-26
- [6] Zhang K S, Li Y Y, Ren Y X. Research on the phosphorylation of soy protein isolate with sodium tripoly phosphate [J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 79(4): 1233-1237
- [7] Zhu D, Damodaran S, Lucey J A. 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
- [8] Zhang X, Qi J R, Li K K, 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
- [9] Desfougères Y, Saint-Jalmes A, Salonen A, et al. Strong improvement of interfacial properties can result from slight structural modifications of proteins: The case of native and dry-heated lysozyme [J]. *Langmuir*, 2011, 27(24): 14947-14957

- [10] Kuipers B J H, Koningsveld G A, Alting A C M, et al. Opposite contributions of glycinin- and  $\beta$ -conglycinin-derived peptides to the aggregation behavior of soy protein isolate hydrolysates [J]. *Food Biophysics*, 2006, 1(4): 178-188
- [11] Kuipers B J H, Alting A C, Gruppen H. Comparison of the aggregation behavior of soy and bovine whey protein hydrolysates [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(6): 606-610
- [12] Kato A, Murata K, Kobayashi K. Preparation and characterization of ovalbumin-dextran conjugate having excellent emulsifying properties [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1988, 36(3): 421-425
- [13] 王林杰,郑德先,高友鹤.糖蛋白质组研究进展[J].*基础医学与临床*,2007,27(2):122-128  
WANG Lin-jie, ZHENG De-xian, GAO You-he. Sugar proteomic research progress [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2007, 27(2): 122-128
- [14] Durand G, Seta N. Protein glycosylation and diseases blood and urinary oligosaccharides as markers for diagnosis and therapeutic monitoring [J]. *Clinical Chemistry*, 2000, 46: 795-805
- [15] Furmanek A, Hofsteenge J. Protein in Cm annosylation: facts and questions [J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2000, 47: 781-789
- [16] Walsh G蛋白质生物化学与生物技术[M].北京:化学工业出版社,2006  
Walsh G protein biochemistry and biotechnology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006
- [17] Shepherd R, Robertson A, Ofman D. Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein-maltodextrins [J]. *Food Hydrocolloids*, 2000, 14(4): 281-286
- [18] Juliet A G. The Maillard reaction in food: Progress made, challenges a head conference report from the eighth international symposium on the Maillard reaction [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2006, 17(6): 324-330
- [19] Hodge J E. Chemistry of browning reactions in model systems [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1953, 1(15): 928-943
- [20] Stanley P. Oligosaccharides' structure and function [J]. *Glycobiology*, 2000, 46: 795-805
- [21] 赵洪亮,刘志敏.蛋白质糖基化工程[J].*中国生物工程杂志*,2003,23(9):18-20  
ZHAO Hong-liang, LIU Zhi-min. Protein glycosylation engineering [J]. *China Biotechnology*, 2003, 23(9): 18-20
- [22] 仲娜,郝林华,王小如.糖蛋白的研究进展[J].*中国新药杂志*,2005,14(12):1400-1403  
ZHONG Na, HAO Lin-hua, WANG Xiao-ru. The research progress of glycoprotein [J]. *Chinese journal of new drugs*, 2005, 14(12): 1400-1403
- [23] 马盛群.糖生物学与糖蛋白研究进展[J].*南京农专学报*,2001,3:4-8  
MA Sheng-qun. Sugar biology and glycoprotein research progress [J]. *Journal of Nanjing Agricultural Technology*, 2001, 3: 4-8
- [24] Kobata A. Glycobiology: an expanding research area in carbohydrate chemistry [J]. *Accounts of Chemical Research*, 1993, 26(9): 319-324
- [25] Enomoto H, Hayashi Y, Li C P, et al. Glycation and phosphorylation of  $\alpha$ -lactalbumin by dry heating: Effect on protein structure and physiological functions [J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(7): 3057-3068
- [26] Enomoto H, Li C P, Morizane K et al. Glycation and phosphorylation of  $\beta$ -lactoglobulin by dry - heating: effect on protein structure and some properties [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(6): 2392-2398
- [27] Zhong J Z, Xu Y J, Liu W, et al. Study on ovalbumin molecular properties changes in the process of glycation reaction [J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(5): 2808-2815
- [28] 胥伟,王海滨,黄迪,等.糖基化反应过程中卵白蛋白分子特性变化研究[J].*东北农业大学学报*,2015,46(12):33-38  
XU wei, WANG Hai-bin, HUANG Di, et al. Antigenicity and functional properties of  $\beta$ -lactoglobulin conjugated with fructo-oligosaccharides in relation to conformational changes [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2015, 46(12): 33-38
- [29] Zhang X, Qi J R, Li K K, 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
- [30] 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
- [31] Henares J A, Morales F J. Microtiter plate-based assay for screening antimicrobial activity of melanoidins against *E. coli* and *S. aureus* [J]. *Food Chemistry*, 2009, 111(4): 1069-1074
- [32] Gaudin J C, Dalgarrondo M, Thomas H, et al. Impact of Maillard type glycation on properties of beta-lactoglobulin [J].

- Biotechnology Advances, 2006, 24(6): 629-632
- [33] Guanhao Bu, Tingwei Zhu, Fusheng 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
- [34] O'Regan J, Mulvihill D M. Preparation, characterisation and selected functional properties of sodium caseinate-maltodextrin conjugates [J]. Food Chemistry, 2009, 115(4): 1257-1267
- [35] Wong B T, Day L, Augustin M A. Deamidated wheat protein-dextran Maillard conjugates: Effect of size and location of polysaccharide conjugated on steric stabilization of emulsions at acidic pH [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(6): 1424-1432
- [36] Akhtar M, Dickinson E. Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum arabic [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(4): 607-616
- [37] Dickinson E. Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions [J]. Soft Matter, 2008, 4(5): 932-942
- [38] Haar R T, Westphal Y, Wierenga P A, et al. Cross-linking behavior and foaming properties of bovine  $\alpha$ -lactalbumin after glycation with various saccharides [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(23): 12460-12466
- [39] Medrano A, Abirached C, Panizzolo L, et al. The effect of glycation on foam and structural properties of  $\beta$ -lactoglobulin [J]. Food Chemistry, 2009, 113: 127-133
- [40] Van den Berg L, Van Vliet T, Van der Linden E, et al. Breakdown properties and sensory perception of whey proteins/polysaccharide mixed gels as a function of microstructure [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(5): 961-976
- [41] Spotti M J, Perduca M J, Piagentini A, et al. Gel mechanical properties of milk whey protein-dextran conjugates obtained by Maillard reaction [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 31: 26-32
- [42] Sun W W, Yu S J, Yang X Q, 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
- [43] Aoki T, Hiidome Y, Kitahata K, et al. 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): 129-33
- [44] Nakamura S, Ban M, Kato A. Preparation of bioactive and surface functional oligomannosyl neoglycoprotein using extracellular pH-sensitive glycosylation of mutant lysozyme having N-linked signal sequence in yeast [J]. Bioconjugate Chemistry, 2006, 17(5): 1170-1177
- [45] Jiménez-Castaño L, Villamiel M, López-Fandiño R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(3): 433-443
- [46] Li XH, Cheng Y H, Yi C P, et al. Effect of ionic strength on the heat-induced soy protein aggregation and the phase separation of soy protein aggregate/dextran mixtures [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 1015-1023
- [47] Mu M F, Pan X Y, Yao P, et al. Acidic solution properties of  $\beta$ -casein-graft-dextran copolymer prepared through Maillard reaction [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2006, 301: 98-106
- [48] Martins S I F S, Jongen W M F, Boeckel M A J S. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modeling [J]. Trends in Food Science & Technology, 2001, 11(9-10): 364-373
- [49] Tamaoka T, Itoh N, Hayashi R. High pressure effect on Maillard reaction [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1991, 55(8): 2071-2074
- [50] Hill V M, Isaacs N S, Ledward D A, et al. Effect of high hydrostatic pressure on the volatile components of a glucose-lysine model system [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(9): 3675-3681
- [51] Moreno F J, Molina E, Olano A, et al. High-pressure effects on Maillard reaction between glucose and lysine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(2): 394-400
- [52] Cai-hong Xu, Xiao-quan Yang, Shu-juan Yu, et al. Emulsifying properties and structural characteristics of  $\beta$ -conglycinin and dextran conjugates synthesized in a pressurized liquid system [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(5): 995-1001
- [53] Guan J J, Qiu A Y, Liu X Y, et al. Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions [J]. Food Chemistry, 2006, 97(4): 577-585
- [54] 王金水. 酶解-膜超滤改性小麦面筋蛋白功能特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2007
- WANG Jin-shui. Ultrafiltration membrane modification of wheat gluten protein enzyme solution features research [D]. Guangzhou: South China university of Technology, 2007
- [55] Yong-Guang Guan, Hua Lin, Zhong Han, 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  
[56] Sun W W, Yu S J, Zeng X A, et al. Properties of whey protein

isolate-dextran conjugate prepared using pulsed electric field  
[J]. Food Research International, 2011, 44(4): 1052-1058

