

糖基化反应对鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖交联物活性和功能性的影响

王军¹, 王忠合¹, 宋凤艳¹, 于淑娟², 李桂丽¹, 顾晓红¹

(1. 韩山师范学院生物学系, 广东潮州 521041) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文以鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖为原料, 进行糖基化修饰反应, 以接枝度和褐变程度等指标分析糖基化程度, 并研究糖基化修饰反应对接枝产物生物活性和功能特性的影响。结果表明, 湿热法加热 2 h 的反应产物接枝度最高, 褐变程度较小, 即反应产物大多是初级阶段末期或中间阶段产物。糖基化修饰反应提高了鸡蛋清蛋白的金属还原力和清除 DPPH 自由基的能力, 同时还可增强其螯合亚铁离子的能力。功能特性分析表明, 糖基化修饰反应可提高鸡蛋清蛋白的溶解度和热稳定性, 而不影响其乳化稳定性和乳化活性。同时, 体外模拟消化实验表明, 糖基化修饰反应降低了鸡蛋清蛋白的消化性, 这可能与其在肠道中被肠道微生物降解有一定的关联。上述分析表明, 糖基化反应可作为一种有效的修饰方法提高蛋白质的功能特性和生物活性。

关键词: 鸡蛋清蛋白; 低聚麦芽糖; 糖基化; 功能特性; 消化性

文章编号: 1673-9078(2014)10-24-29

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.10.005

Influence of Glycation on Biological Activity and Functional Properties of Egg White Protein-maltooligosaccharide Conjugation

WANG Jun¹, WANG Zhong-he¹, SONG Feng-yan¹, YU Shu-juan², LI Gui-li¹, GU Xiao-hong¹

(1. Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China)

(2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this study, egg-white protein and maltooligosaccharides were used for non-enzymatic glycation. The extent of glycation was evaluated in terms of degree of browning and grafting. The results showed that the glycation products obtained after heating for 2 h by moist-heat method showed the highest grafting degree and the lowest browning degree. Reaction products were generated mainly at the end of the initial or intermediate stages. The non-enzymatic glycation reaction not only improved the metal reducing power and DPPH-scavenging capacity of egg-white protein but also enhanced its Fe²⁺-chelating ability. The analysis of functional characteristics indicated that non-enzymatic glycation enhanced the solubility and thermostability of egg white protein, but did not affect its emulsifying activity and emulsion stability. Meanwhile, *in vitro* digestion experiments showed that non-enzymatic glycation reduced the digestibility of egg-white protein, which might be due to degradation by intestinal microorganisms in the large intestine. The above results indicate that non-enzymatic glycation reaction provides an effective approach to significantly enhance functional and bioactive properties of proteins.

Key words: egg white protein; maltooligosaccharide; glycation; functional characteristics; digestibility

非酶糖基化反应 (non-enzymatic glycation), 又称为美拉德反应 (Maillard reaction), 是指蛋白质分子中氨基酸侧链上的自由氨基与糖分子还原末端的羰基以

收稿日期: 2014-03-11

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (S2013040015478); 广东省高校优秀青年创新人才培养计划项目 (2013LYM0056); 韩山师范学院青年基金项目 (LQ201202); 韩山师范学院博士启动项目 (QD20130516, QD20140324); 韩山师范学院一般项目 (LY201306); 潮州市科技计划项目 (2013X 05&2013X06)

作者简介: 王军 (1981-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品加工技术

通讯作者: 王忠合 (1980-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品加工与安全控制

共价键的形式连接, 而产生糖基化蛋白的羰氨反应^[1]。该反应很容易进行, 不需催化剂, 在蛋白质与糖分子间可自发进行, 然而糖基化反应包括一系列非常复杂的反应, 产物种类繁多、结构复杂、性能差异较大。研究表明, 糖基化反应可改善蛋白质的功能特性, 且修饰反应不需要其他化学试剂, 其制备方法主要采用干热法, 所耗用时间较长, 而湿热法恰好弥补了这一缺陷, 具有温度易控制、反应时间短等优点, 但反应较为激烈常伴随着形成糖基化中后期产物, 而影响接枝产物的功能特性和安全性^[2-3], 因而在反应过程中需要严格控制温度、时间、pH 值和底物比例等因素。

鸡蛋清蛋白是一种分子量为 4~4.5 万的蛋白质,具有多种功能特性,主要以其良好的起泡性、凝胶性而在食品工业中得到广泛的应用^[4-5],但是其较差的乳化性和热稳定性等特性又限制了应用范围。在通过蛋白质与糖类进行美拉德反应修饰而改进蛋白的结构和功能特性方面已有许多研究,如 Choi 等^[6]采用美拉德反应制备卵清蛋白与葡聚糖的糖基化产物,发现两者通过共价键交联,且交联物属于多分散体系,该研究具体分析了修饰反应对交联物分子结构特性的影响,而对其功能特性的影响未见报道。Corzo-Martínez 等^[7]研究发现乳蛋白与半乳糖的美拉德反应接枝产物可促进双歧杆菌数的增加,且乙酸浓度也显著增大,这表明蛋白质或肽类与非益生的糖类接枝产物具有较好的益生作用。Lertittikul 等^[8]研究发现猪血浆蛋白与葡萄糖接枝修饰反应物可增强其抗氧化活性和清除自由基的能力,但对其可能的作用机理未见探讨。另外,非酶糖基化修饰反应可以改善蛋白质的溶解性、乳化性、热稳定性、起泡性及持水/油性等功能特性及降低免疫原性^[2],因而该反应在蛋白质结构改性方面显示出巨大的发展潜力,而有关其修饰产物的消化特性及益生性方面的研究较少。本文研究糖基化接枝反应对鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖的生物活性和功能特性的影响,为改善蛋白质的功能特性和探讨糖基化产物的体外消化性及益生特性提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡蛋清蛋白:新鲜鸡蛋,将蛋清分离后冷冻干燥,备用。低聚麦芽糖:购于河南协昌化工有限公司。花生油:购于当地市场。

2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、菲洛嗉(ferrozine)均购于美国 Sigma 公司;胃蛋白酶(3000~3500 NFU/mg)、胰酶(5×USP)、亚硝基铁氰化钠、十二烷基硫酸钠(SDS)均购于生工生物工程(上海)有限公司;无水亚硫酸钠、四水合氯化亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、六氰合铁(III)酸钾、三氯乙酸、三氯化铁、无水乙醇、考马斯亮蓝 G-250、磷酸、牛血清白蛋白、硫酸铵、蔗糖、浓硫酸、无水硫酸钠、硫酸铜、磷酸钠、酒石酸钾钠、氢氧化钠、水杨酸钠、盐酸等均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

TU-1901 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;FD-1D-50 冷冻干燥机:北京博医康

实验仪器有限公司;2-16P 离心机,美国 Sigma 有限公司;IKA T18 basic 高速分散器,德国 ULTRA TURRAX 公司;PHSJ-4A 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 糖基化产物制备

参照 Choi 和 Lertittikul 等的方法^[6,8]和前期实验的基础上,将质量比为 1:2 的鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖混合溶于 0.2 mol/L, pH 7.2 的磷酸盐缓冲液中,在密闭容器中于 60 °C 下加热反应 4 h,冷却至室温,于 2000 r/min 离心 20 min,除去不溶物,取上清液透析 24 h 除去小分子物质,冷冻干燥,即得到糖基化产物。

1.3.2 褐变程度的测定

将糖基化产物溶于磷酸缓冲溶液中,于 420 nm 下测定吸光值,以水作空白。

1.3.3 接枝度的测定

采用 TNBS 法^[8]测定蛋白质的接枝度以评定其糖基化程度,取 2 mL 0.21 M 的磷酸盐缓冲溶液(pH 8.2)、1 mL 0.01% TNBS 溶液置于螺旋试管中,再加入 125 μL 冷冻干燥的糖基化反应产物样液,混匀后于暗处 50 °C 水浴加热 1 h,随后加入 2 mL 0.1 mol/L Na₂SO₃,室温冷却 30 min,于 420 nm 下测定其吸光度值 A_t。以相同条件下加入 125 μL 未经水浴加热的鸡蛋清蛋白液作为空白对照,在 420 nm 下测定其吸光度值 A₀。以赖氨酸做出标准曲线,根据吸光度值计算样品中自由氨基的含量 C,按照下式计算接枝度 DS:

$$DS/\% = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100$$

1.3.4 亚铁离子螯合力测定

取一系列不同浓度(0.025、0.05、0.10、0.25、0.5、0.75、1.00 mg/mL)的样品溶液 1.5 mL,加入 2.775 mL 水和 0.075 mL 2 mmol/L FeCl₂ 溶液,置于室温(28±2 °C)反应 30 s,再加入 0.15 mL 5 mmol/L 菲洛嗉溶液混匀,反应 10 min 后于 3000 r/min 离心 5 min,于 562 nm 波长下测定吸光度值,记为 A_s,以水代替样品,其他条件不变,测得吸光度为 A_b。按照下式计算螯合率:

$$\text{螯合率}/\% = \left(1 - \frac{A_s}{A_b}\right) \times 100\%$$

1.3.5 还原力测定

在试管中加入 1 mL 不同浓度(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL)的样液,再加入 1 mL 0.2 mol/L 的 pH 6.6 磷酸缓冲液、1 mL 1% (m/V) 的铁氰化钾溶液,混合均匀后,置于 50 °C 的恒温水浴中反应 20 min,取出后,

加入 10% (*m/V*) 的三氯乙酸溶液 1 mL, 于 5000 r/min 离心 10 min, 取上清液 1 mL, 加 1 mL 蒸馏水及 200 μ L 0.1% 的三氯化铁, 于 700 nm 波长处测定吸光度, 平行测定 3 次, 吸光度增加表明还原能力增强。

1.3.6 DPPH 自由基清除能力的测定

将样品 (或维生素 C, 阳性对照) 配成 0.1 g/L 的质量浓度, 取样品液 1、3、5、7、9 mL, 用蒸馏水定容为 10 mL 制成样液, 取样液 2 mL, 加入 2 mL 浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液混匀, 室温下立即避光反应 20 min 后, 于 517 nm 测定吸光值 A_s 。以 2 mL 不同浓度的样液分别与 2 mL 无水乙醇混合, 混匀后测定吸光度值为 A_c ; 再以 2 mL DPPH 与 2 mL 无水乙醇混合后的为空白对照组, 测得吸光值为 A_b 。根据下式计算样品液对 DPPH 自由基的清除率 P:

$$P/\% = (1 - \frac{A_s - A_c}{A_b}) \times 100$$

1.3.7 溶解性的测定

称取一定量的待测样溶于去离子水中, 浓度为 0.2 mg/mL, 用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调节溶液的 pH 值为 3、5、7、9, 室温下搅拌 30 min (搅拌过程中取样测定并保持 pH) 后, 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min (11500 r/min), 取上清液采用凯氏定氮法^[6]测定可溶性蛋白的含量, 根据总蛋白的含量计算蛋白质的溶解性, 表示为上清液蛋白浓度占相应的总蛋白浓度的百分比。

1.3.8 热稳定性的测定

将待测样品溶于 pH 7.2 的磷酸盐缓冲溶液 (10 mmol/L) 中配成蛋白浓度为 5 mg/mL (*m/V*) 的溶液, 分别以 40 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C、80 $^{\circ}$ C、100 $^{\circ}$ C 水浴处理 1 h, 然后迅速冷却至室温, 于 13000 r/min 下离心 30 min, 取上清液采用上述方法测定蛋白质的含量, 蛋白质的热稳定性表示为上清液中蛋白浓度占相应总蛋白浓度的百分比。

1.3.9 乳化特性的测定

取 1.8 mL 1 mg/mL 待测样品, 溶于 0.2 mol/L pH 7.2 的磷酸盐缓冲液中, 加入 0.6 mL 花生油, 乳液经高速搅拌器处理 1 min (10000 r/min), 分别在搅拌后 0 min, 10 min 时, 从测试管底部取样 100 μ L, 用 0.1% (*m/V*) SDS 稀释 50 倍后, 测定 500 nm 处吸光值, 以 SDS 溶液做空白。乳化活性指数 (EAI, m^2/g) 和乳化稳定性指数 (ESI, min) 的计算公式如下:

$$EAI(m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A \times DF}{C \times \varphi \times (1 - \theta) \times 10000}$$

$$ESI/min = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 10$$

注: DF-稀释倍数, DF=100; C-为样品浓度, g/mL; φ -

光程, $\varphi=1$ cm; θ -乳液中油相所占比例, $\theta=0.25$; A_0 -0 min 时测定的吸光度; A_{10} -10 min 时测定的吸光度。

1.3.10 体外消化性的分析

将样品配成 4 g/L 的样液, 分别取 15 mL 加入 1 mL 胃蛋白酶液 (E/S=1/250), 用 0.02 mol/L 盐酸调至 pH 2.0, 37 $^{\circ}$ C 水浴中体外模拟胃液消化处理 2 h, 取样采用微量凯氏定氮法测定蛋白质含量; 其余部分用 1 mol/L NaOH 溶液将处理液 pH 值调至 7.0, 再加入 1 mL 胰酶 (E/S=1/50), 将其置于装有 100 mL 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 8.0) 中进行体外模拟肠道消化, 每间隔 0.5 h 取样共 4 h 收集消化产物, 采用微量凯氏定氮法测定蛋白质的含量, 分析样品的体外消化率。

1.4 数据处理与统计分析

实验结果以平均值 \pm 标准偏差 SD 表示, 用 SPSS 17.0 进行一维方差分析 (one-way ANOVA), 差异显著性采用 Duncan (邓肯) 检验, 检验水平 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 糖基化产物的制备

选用鸡蛋清蛋白:低聚麦芽糖的比例为 1:2 (*m/m*), 反应时间为 2 h, 反应温度为 60 $^{\circ}$ C, 反应时间分别为 0.5 h、1 h、2 h、3 h、4 h, 检测不同反应时间对接枝度和褐变程度的影响, 实验结果如图 1 所示。

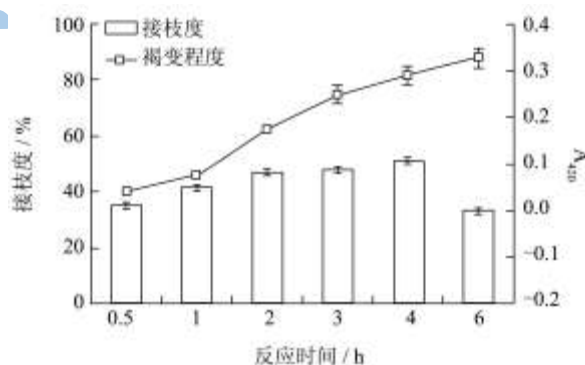


图 1 反应时间对糖基化产物接枝度和褐变程度的影响

Fig.1 Impact of reaction time on grafting and browning degree of glycation products

由图 1 可知, 随着反应时间的增加糖基化反应产物的接枝度呈现先升高后下降的趋势, 并在 4 h 处达到最高水平, 而糖基化产物的褐变程度相应地呈现增加的趋势。反应 2 h 的产物接枝度为 47.6%, 继续加热对接枝度的影响较小, 而糖基化产物的褐变程度增加趋势较大, 糖基化接枝反应过程中希望减少有色物质的生成, 同时增加初级阶段和中间阶段产生的功能特性较好的无色物质^[9], 因此后续糖基化产物制备的

时间选择湿热法加热 2 h。

2.2 糖基化反应对产物生物活性的影响

2.2.1 亚铁离子螯合能力

金属离子螯合剂是阻止自由基链式反应的一种有效方式，可消除脂质等物质的氧化带来的对生物体的伤害，因而测定糖基化产物螯合亚铁离子的能力是评价其抗氧化性强弱的一种重要方法。 Fe^{2+} 与菲洛嗪混合后会产生有色物质在 562 nm 下具有最大吸收，而当加入的样品与亚铁离子发生螯合作用时，溶液颜色也相应变浅，因而可通过测定吸光度来确定样品螯合亚铁能力的大小^[10]，鸡蛋清蛋白及其糖基化产物螯合亚铁离子如图 2 所示。

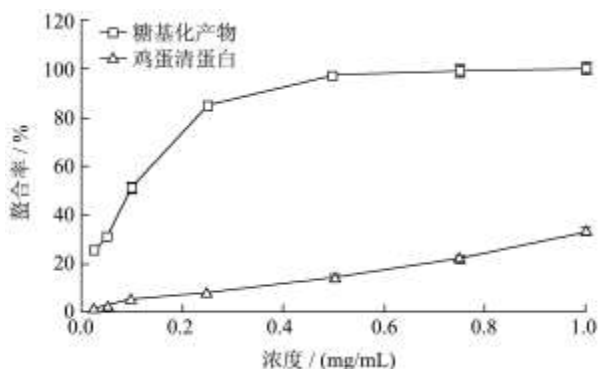


图 2 糖基化产物及鸡蛋清蛋白螯合亚铁离子能力

Fig.2 Iron-chelating capacity of egg-white protein and glycosylated protein

由图 2 可知，鸡蛋清蛋白螯合亚铁离子的能力也随着浓度的增加而呈现缓慢上升的趋势，但其螯合能力较小，螯合率由 1.96% 上升到 33.57%。糖基化产物螯合亚铁离子的能力随着浓度的增加而增大，螯合率由 26.03% 上升到 99.52%，这表明鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖的糖基化产物具有较强的螯合亚铁离子的能力，且明显高于未糖基化的鸡蛋清蛋白 ($p < 0.05$)。这与研究报道^[1, 8, 11]的美拉德反应产物具有较强的螯合金属离子能力的结论一致，其螯合作用可能与反应后的产物带有较多的负电荷而呈现出较强的静电作用力及氨基酸残基的配位能力等因素有关，具体的作用机制还有待于深入研究。

2.2.2 金属还原力

金属还原能力的测定原理主要是具有还原性的物质能将铁氰化钾还原为亚铁氰化钾，而在酸性条件下，亚铁氰化钾将与三氯化铁反应，生成普鲁士蓝，在 700 nm 处具有强吸收，故而通过测定吸光度，可判断其还原能力，吸光度大，则表明样液还原能力强。鸡蛋清蛋白及其糖基化产物的金属还原力如图 3 所示。

由图 3 可以看出，未糖基化的鸡蛋清蛋白的金属

还原力较小，且随着浓度的增加而变化不大；而鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖的糖基化产物具有较强的金属还原能力，且随着浓度的增加而增大，这表明糖基化产物中含有较多的活性中间产物，可螯合金属离子而终止自由基链式反应，从而具有较强的金属还原力。

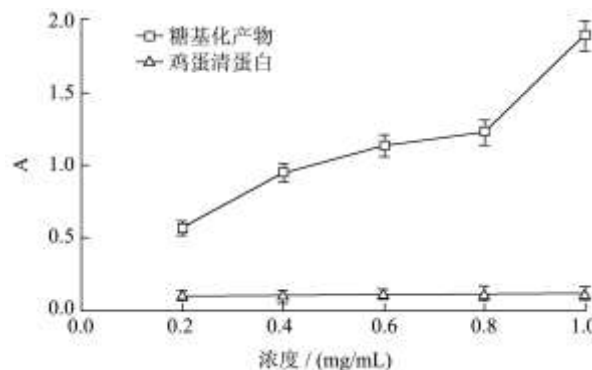


图 3 鸡蛋清蛋白及其糖基化产物的金属还原力

Fig.3 Metal reducing power of egg-white protein and glycosylated protein

2.2.3 DPPH 自由基清除能力

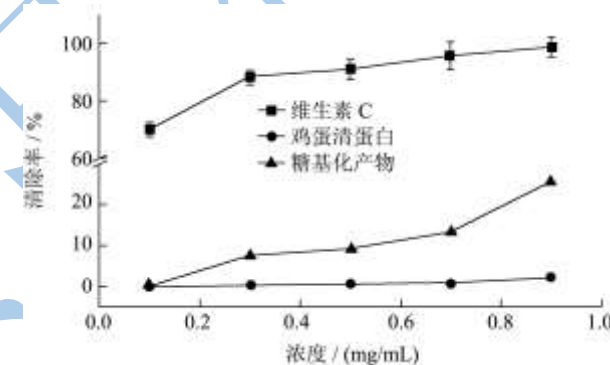


图 4 鸡蛋清蛋白及糖基化产物清除 DPPH 自由基的能力

Fig.4 DPPH-scavenging capacity of egg-white protein and glycosylated protein

每个 DPPH 自由基分子在溶液中可生成一个稳定的含氮自由基，在乙醇溶液中呈深紫色，在 517 nm 处有强吸收，当其他物质能提供一个电子与该孤对电子配对时，溶液的颜色将变浅，并且反应的程度取决于抗氧化剂的清除能力。由图 4 可知，随着浓度的增加，鸡蛋清蛋白对 DPPH 自由基的清除率接近零，而糖基化接枝产物清除 DPPH 自由基能力呈现上升趋势，其对 DPPH 自由基的最大清除率为 25.4%，远低于阳性对照品维生素 C 对 DPPH 自由基的清除率 (98.7%)。上述分析表明，糖基化接枝修饰可增加反应物清除 DPPH 自由基的能力，这可能是因为在美拉德反应过程中形成的中间产物可作为氢的供体，从而增加了其清除自由基的能力。

2.3 糖基化反应对产物功能特性的影响

2.3.1 溶解性

溶解性是蛋白质重要的应用功能特性，并且对蛋白质的其他功能特性如热稳定性、乳化性和体外消化性等都具有重要的影响，鉴于此，我们研究了鸡蛋清蛋白及其与低聚麦芽糖糖基化产物的溶解性，实验结果如图5所示。

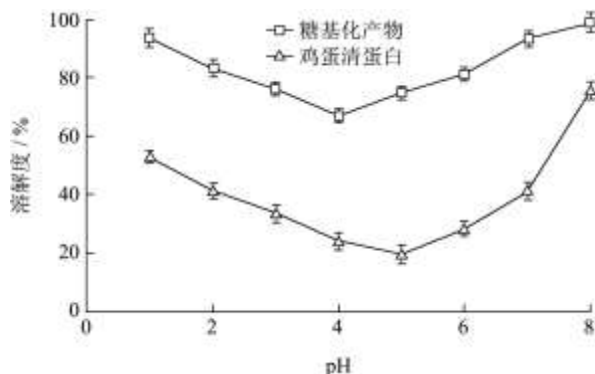


图5 鸡蛋清蛋白及其糖基化产物在不同pH值下的溶解度
Fig.5 Solubility of egg-white protein and glycosylated protein at different pH levels

从图5可以看出，鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖的糖基化产物具有较高的溶解度，均高于鸡蛋清蛋白的溶解度，这可能是由于美拉德反应将糖基通过共价键连接而引入食品蛋白质分子之中，所连接的糖基分子中羟基的亲水特性能够显著提高蛋白质的溶解性^[12]。同时，研究还发现糖基化产物的等电点向酸性偏移，这可能是因为鸡蛋清蛋白肽链上接入多羟基的低聚麦芽糖，与游离氨基共价交联，屏蔽掉游离氨基上的一些电荷，导致等电点发生变化。

2.3.2 热稳定性

加热处理是蛋白质在加工和处理过程中不可避免的，鸡蛋清蛋白的热稳定性决定了其性质的变化如蛋白质分子的热聚集等，因此实验研究了鸡蛋清蛋白及其糖基化修饰产物的热稳定性，实验结果如图6所示。

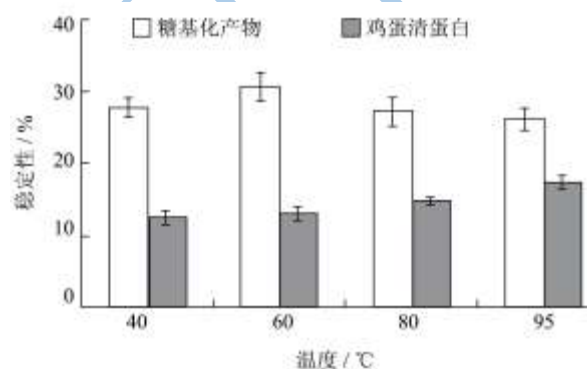


图6 鸡蛋清蛋白及糖基化产物的热稳定性

Fig.6 Thermostability of egg-white protein and glycosylated protein

由图6可知，鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖糖基化产物的热稳定性明显高于未糖基化的鸡蛋清蛋白的热稳

定性，但其稳定性随着温度的变化而变化，在实验温度范围内鸡蛋清蛋白糖基化产物的热稳定性维持在25%~35%，当温度高于60℃时其热稳定性降低。一般来说，糖基化反应造成蛋白质与糖的共价结合，分子链较长的多羟基糖链接入到蛋白质肽链上，增大了分子的空间位阻，能够降低糖基化产物在加热条件下产生的热聚集行为，因而抑制了蛋白质与蛋白质间的相互作用，从而提高蛋白质对热的稳定性^[13]。

2.3.3 乳化特性

表1 鸡蛋清蛋白及糖基化产物的乳化特性

Table1 Emulsifying properties of egg-white protein and glycosylated protein

样品	ESI/(m ² /g)	EAI/min
糖基化产物	27.27±1.31	0.92±0.06
鸡蛋清蛋白	25.33±1.54	0.93±0.04

由表1中数据可以看出，糖基化产物的乳化活性指数(EAI, m²/g)略高于鸡蛋清蛋白，而乳化稳定性指数(ESI, min)与鸡蛋清蛋白无显著差异(p>0.05)。由于低聚麦芽糖具有亲水性，与鸡蛋清蛋白糖基化后，使其产物的表面活性增大，从而提高了乳化活性，但若糖基化程度增大到一定程度，其交联度则随着提高到一定程度，使产物过于亲水以致失去界面活性，因而会降低其乳化活性和乳化稳定性。湿热法和水热法制备的糖基化产物乳化稳定性提高不明显，这可能是由于反应程度比干热法高，形成了较多功能特性较低的高级阶段产物，且在水相体系中蛋白质分子肽链伸展程度更大，处于分子疏水区域的不带电荷的极性氨基酸暴露在肽链表面，改变了蛋白质分子的疏水状态，尽管糖链的接入有助于乳化稳定性，但是在几种相反作用的共同作用下，鸡蛋清蛋白的乳化稳定性变化不大^[2,12]。

2.4 糖基化反应对产物体外消化性的影响

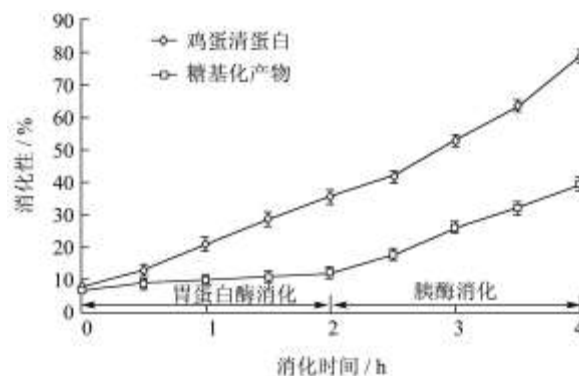


图7 鸡蛋清蛋白及糖基化产物的体外消化特性

Fig.7 In vitro digestibility of egg-white protein and glycosylated protein

本实验采用胃蛋白酶-胰酶两步法测定鸡蛋清蛋白及糖基化产物的体外消化特性,研究表明,该消化法测定的蛋白质消化率与动物体内消化法测得的蛋白质真消化率高度相关,故常用该方法评定加工处理蛋白质消化性的影响,且其测定结果不受内源氮的影响^[2,7,14]。鸡蛋清蛋白及糖基化产物的体外消化实验结果如图7所示。

从图7可以看出,糖基化产物在体外模拟胃液和胰液中的消化率均远低于鸡蛋清蛋白,这表明糖基化接枝反应降低了蛋白质的消化性,这可能是由于低聚麦芽糖作为一种典型的功能性低聚糖,具有难消化特性,因人体内不具备相应的分解消化系统,所以不能被消化吸收,而是直接进入大肠内并可促进有益菌的生长,这与文献中报道的糖基化产物具有较好的益生性的结论一致^[7],有关鸡蛋清蛋白糖基化产物的益生性及其机理有待深入研究,从而为功能性食品基料的制备提供参考。同时,糖基化产物在模拟胃液(2h)中的消化水解程度较小,这主要是由于胃蛋白酶属于肽链内切酶,其专一性程度较大,主要作用于芳香族氨基酸的羧基基团形成的肽键^[14]。而糖基化产物在模拟肠液中的消化速率较快,这与胰酶的组成及产物的分子结构有关,有关其具体的机理还有待于深入研究。

3 结论

3.1 鸡蛋清蛋白-低聚麦芽糖比例为1:2,温度60℃下反应4h,制得的糖基化产物接枝度最高,褐变程度较低。

3.2 以亚铁离子螯合能力、金属还原力、DPPH自由基清除能力为指标,分析糖基化产物的生物活性,结果显示,糖基化反应提高了其生物活性。

3.3 功能特性研究表明,与未糖基化的鸡蛋清蛋白相比,糖基化反应提高了其溶解性和热稳定性,而对乳化活性和乳化稳定性影响不大。

3.4 糖基化产物的体外消化率显著地低于鸡蛋清蛋白,这为产物被大肠中的益生菌降解利用提供了条件。

参考文献

[1] Somoza V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2005, 49(7): 663-672

[2] Oliver C M, Melton L D, Stanley R A. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2006, 46(4): 337-350

[3] Wang Z H, Wang J, Guo S J, et al. Kinetic modeling of Maillard reaction system subjected to pulsed electric field [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2013, 20(12): 121-125

[4] Mine Y. Recent advances in the understanding of egg white protein functionality [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1995, 6(7): 225-232

[5] 杨瑾,唐传核.鸡蛋清蛋白水解物的物化及功能性质的研究[J].现代食品科技,2011,27(11):1316-1319

YANG Jin, TANG Chuan-he. Physicochemical and functional properties of chicken egg white protein hydrolysates [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2011, 27(11): 1316-1319

[6] Choi S J, Kim H J, Park K H, et al. Molecular characteristics of ovalbumin-dextran conjugates formed through the Maillard reaction [J]. *Food Chemistry*, 2005, 92(1): 93-99

[7] Corzo-Martínez M, Hernández-Hernández O, Villamiel M, et al. *In vitro* bifidogenic effect of Maillard-type milk protein-galactose conjugates on the human intestinal microbiota [J]. *International Dairy Journal*, 2013, 31(2): 127-131

[8] Lertitikul W, Benjakul S, Tanaka M. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH [J]. *Food Chemistry*, 2007, 100 (2): 669-677

[9] Brands C M J, Wedzicha B L, van Boekel M A J S. Quantification of melanoidin concentration in sugar-casein systems [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(5): 1178-1183

[10] Stookey L L. Ferrozine-a new spectrophotometric reagent for iron [J]. *Analytical Chemistry*, 1970, 42(7): 779-781

[11] Morales F J, Fernandez-Fraguas C, Jimenez-Perez S. Iron-binding ability of melanoidins from food and model systems [J]. *Food Chemistry*, 2005, 90(4): 821-827

[12] 许彩虹,于淑娟,杨晓泉.糖基化对大豆7S球蛋白凝胶流变性质的影响(II)[J].现代食品科技,2010,26(12): 1293-1296

XU Cai-hong, YU Shu-juan, YANG Xiao-quan. Effect of glycosylation on the gel properties of soybean 7S globulin (II) [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2010, 26(12): 1293-1296

[13] Diftis N, Kiosseoglou V. Stability against heat-induced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy

protein isolate-dextran mixture [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(6): 787-792

characteristics and antioxidant activity of hot-and cold-pressed peanut meals [J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 4246-4252

[14] Zheng L, Ren J, Su G, et al. Comparison of in vitro digestion

现代食品科技