

大豆蛋白-葡萄糖复合物的抗原性及结构特性研究

布冠好, 朱婷伟, 陈复生

(河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001)

摘要: 大豆是优质的植物蛋白资源, 同时也是八大食物过敏原之一; 糖基化改性是降低蛋白质过敏原的有效方法之一。本文以大豆分离蛋白和葡萄糖为原料, 在蛋白与糖不同质量比、不同温度、不同时间条件下进行美拉德反应, 制取糖基化复合物; 并以 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率为指标, 采用间接竞争 ELISA 方法检测糖基化复合物抗原性的变化。发现在温度 55 °C、蛋白与糖比例为 3:1 时, 制备的糖基化复合物抗原性较低; 当反应时间为 72 h 时, 抗原抑制率从 93.54% 降低到 22.58%。同时, 通过三硝基苯磺酸(TNBS)法、十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 证明了美拉德反应的发生; 紫外光扫描、傅里叶红外光谱分析等方法研究了蛋白质结构的变化。这些基础研究可能为探究糖基化修饰对抗原性影响的作用机理、开发低敏性大豆蛋白制品提供研究方法和理论依据。

关键词: 大豆分离蛋白; 葡萄糖; 糖基化; 抗原性; 结构特性

文章编号: 1673-9078(2014)11-28-33

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.11.006

Antigenicity and Structural Properties of Soybean Protein-glucose Conjugates

BU Guan-hao, ZHU Ting-wei, CHEN Fu-sheng

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Soybean is a high-quality protein source and one of eight major food allergens. Glycation is an effective way to remove protein allergens. In this paper, soy protein isolate (SPI) and glucose were used as raw materials for Maillard reactions, which were performed with various protein to carbohydrate ratios, temperatures, and experimental time, to prepare glycated conjugates. The inhibition of antigen β -conglycinin in SPI-glucose conjugates was used as an indicator, and indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to measure the antigenicity of glycated conjugates. When the mass ratio of protein to sugar was 3:1 at a temperature of 55 °C, the antigenicity of the prepared glycated conjugates was relatively low. When the reaction time was 72 h, the inhibition rate of antigen β -conglycinin decreased from 93.54% to 22.58%. The Maillard reaction was confirmed by the trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) method and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Changes in protein structure were studied by ultraviolet scans and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). These basic studies might provide research methods and a theoretical basis for determining the mechanism mediating the effect of glycation on antigenicity and developing soy protein products with low allergen contents.

Key words: soy protein isolate; glucose; glycation; antigenicity; structural properties

大豆是重要的豆科植物之一, 相对于其它蛋白质来源, 大豆蛋白因来源广泛和较高的营养价值等优点而被普遍接受。同时, 大豆亦是 8 大食物过敏原之一。大豆中引起致敏反应的物质主要为大豆球蛋白和 β -伴

收稿日期: 2014-05-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201293, 21176058, 31171790); 国家 863 项目 (2013AA102208-5); 河南省教育厅科学技术研究重点项目 (14B550013)

作者简介: 布冠好 (1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为食品蛋白质资源开发与利用

通讯作者: 陈复生 (1963-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为食品蛋白质资源开发与利用

大豆球蛋白, 它们与大豆蛋白的功能特性和结构特性有密切关系^[1]。如何对蛋白质进行改性以降低大豆蛋白的过敏性已成为近几年国内外研究的热点。其中, 糖基化方法因其操作相对简单、安全、在一定温度、湿度条件下就可以自然发生等优点, 在食品行业中有很大的发展空间。已有相关研究证实糖基化反应能有效降低蛋白质的抗原性。李铮^[2]等人研究发现将低聚异麦芽糖引入乳清蛋白中, 能有效降低 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白的抗原性。Vande 等人^[3]也发现干热糖基化反应可以降低大豆分离蛋白的抗原性; 以大豆分离蛋白与果糖质量比为 1:1.3, 60 °C 下反应 457 h 时, 抗原抑制率比原大豆分离蛋白降低了 60%。

本文以大豆分离蛋白和葡萄糖为原料,进行干法糖基化反应。并以 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率为指标,采用间接竞争 ELISA 方法检测糖基化复合物抗原性的变化。选择抗原性降低效果最好条件下的糖基化产物,通过游离氨基含量的测定、SDS-PAGE 电泳等检测糖基化反应程度,采用紫外光扫描、傅里叶红外光谱分析等方法分析蛋白结构的变化。通过建立有效的降低大豆蛋白抗原性的糖基化反应方法;研究最佳条件下大豆蛋白糖基化产物的抗原性与反应程度及结构之间的变化关系,为探究糖基化修饰对抗原性影响的作用机理、开发低敏性大豆蛋白制品提供研究方法和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

大豆分离蛋白(SPI,蛋白质含量 92.46%),山东谷神生物科技集团有限公司;葡萄糖,天津市科密欧化学试剂有限公司; β -伴大豆球蛋白(β -conglycinin, C5868)、酶标二抗(HRP 标记的羊抗兔 IgG, A6154)、2,4,6-三硝基苯磺酸(P2297-10ML),Sigma 公司;兔抗 β -conglycinin 血清,实验室自制;牛血清蛋白(BSA)、TMB 单组份显色液,北京索莱宝科技有限公司;低分子量标准蛋白,中国科学院上海生物化学研究所;糖蛋白染色试剂盒(BSP035),生工生物工程股份有限公司;其他试剂均为分析纯。

TGJ-18 型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂;LRH-150F 型恒温生化培养箱,上海一恒科技有限公司;FC 型酶标仪,赛默飞世尔仪器有限公司;96 孔酶标板,Corning Costar 公司;电泳设备,北京六一实验设备有限公司;TU-1901 双光束紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;WQF-510 型傅里叶红外光谱,北京瑞丽分析仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆分离蛋白-葡萄糖复合物的制备

将大豆分离蛋白和葡萄糖分别按质量比(1:1、3:1、5:1)溶解于蒸馏水中,使溶液最终溶液浓度为 6%,混合均匀后进行真空冷冻干燥。取冻干的样品在相对湿度为 79%、温度为(45、50、55 $^{\circ}$ C)条件下,制取不同反应时间下的大豆分离蛋白-葡萄糖复合物(每隔 12 h 进行取样)。

1.2.2 糖基化产物抗原性的测定

1.2.2.1 间接竞争 ELISA 方法测定

采用间接竞争 ELISA 方法来测定糖基化产物的

抗原性。以 0.3 μ g/mL β -伴大豆球蛋白标准抗原包被 96 孔酶标板,每孔 100 μ L,同时将 1:3200 稀释度的抗 β -conglycinin 兔血清与蛋白浓度为 2 mg/mL 的糖基化样品液等体积加入离心管中,混匀;4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜。次日甩去孔内液体,PBST(10 mmol/L, pH 7.40 的磷酸盐缓冲液 PBS+0.05% Tween-20)洗涤四次,每次 3 min,用吸水纸拍干;加 100 μ L/孔封闭液(PBS+1% BSA+0.1% Tween-20)进行封闭,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后,PBST 洗涤 4 次,拍干;抗原抗体反应:将离心管中混合液加入酶标板孔内,每孔 100 μ L,在 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后,PBST 洗涤 4 次,拍干;加入 1:10000 稀释度的酶标二抗,每孔 100 μ L,在 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后,PBST 洗涤 4 次,拍干;然后加入 TMB 单组份显色液,每孔 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 显色 10 min 后,每孔加入 50 μ L 2 mol/L H_2SO_4 终止反应。利用酶标仪双波长测定各孔的 OD 值,实际 OD 值=OD₄₀₅-OD₆₂₀。

1.2.2.2 抗原性计算

抗原性的大小用抑制率来表示,抑制率表示样品中 β -伴大豆球蛋白(β -conglycinin)抑制兔抗血清与酶标板上包被的 β -伴大豆球蛋白标准抗原结合能力的大小,可记为 β -伴大豆球蛋白(β -conglycinin)抗原抑制率;抑制率越低,则样品的抗原性越低,二者呈正比关系;计算公式如下^[4]:

$$\beta\text{-伴大豆球蛋白抗原抑制率}(\%) = (1 - OD/OD_0) \times 100$$

其中:OD 表示被测样品的吸光值,OD₀ 为无竞争体系的吸光值

1.2.3 糖基化产物结构测定

1.2.3.1 SDS-PAGE

SDS-PAGE 参考 Laemmli^[5]的方法略作修改,糖基化产物用蒸馏水溶解,使最终蛋白质浓度为 2 mg/mL,使用 12% 的分离胶,4% 的浓缩胶,上样量 10 μ L。开始调节电流至 20 mA,即可开始电泳,当溴酚蓝指示剂前沿进入到分离胶时将电流调至 40 mA。约 2 h 电泳完成后,将凝胶取出固定 1 h,分别用考马斯亮蓝和 PAS 试剂盒染色,最后分别脱色至蛋白质条带清晰。

1.2.3.2 游离氨基含量的测定

游离氨基含量的测定采用三硝基苯磺酸(TNBS)法^[6]:用 1% SDS 溶解糖基化产物使复合物蛋白质浓度为 5 mg/mL。取 0.25 mL 的样品液并加入 2 mL 磷酸缓冲溶液和 2 mL 0.1% 的 TNBS 溶液,混合均匀后在 50 $^{\circ}$ C 下避光放置 60 min,最后加入 4 mL 0.1 mol/L 的 HCl 终止反应。避光放置 30 min 后于 420 nm 下测其吸光值。用一系列不同浓度的 L-亮氨酸制作标准曲

线。游离氨基含量根据 L-亮氨酸含量的标准曲线来确定。

1.2.3.3 紫外光谱扫描

将糖基化产物用 Tris-HC 缓冲液 (50 mmol/L, pH 7.0) 溶解, 最后溶液最终浓度为 0.1%, 然后在 190~350 nm 范围内进行波长扫描, 分析蛋白质结构的变化。

1.2.3.4 红外光谱扫描

将糖基化样品与干燥的溴化钾以 1:100 混合, 用研钵均匀研成粉末, 压成薄片后, 用傅立叶红外分光光度计作全波段 ($4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$) 扫描, 扫描 32 次。利用 Peakfit 4.20 软件分析蛋白质的二级结构的变化。

1.2.4 数据分析

试验测定重复三次, 用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析, Peakfit 4.20 软件计算蛋白质二级结构含量。

2 结果与讨论

2.1 糖基化产物抗原性结果分析

不同反应温度、不同蛋白与糖比例、不同反应时间下的大豆分离蛋白-葡萄糖复合物 β -conglycinin 抗原性变化如图 1a、b、c 所示。

反应温度、反应时间以及蛋白与糖的比例对糖基化复合物的抗原性变化均有影响。从图 1 可以看出, 随糖基化反应时间的增加, 糖基化复合物中 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率均呈下降趋势, 即糖基化复合物的抗原性降低。图 1a、b、c 中, 45 °C、50 °C、55 °C 时 β -conglycinin 抗原抑制率最低分别为 52.48%、24.92%、22.58%; 即随着反应温度的增加, 糖基化产物的 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率大体上也呈逐渐降低的趋势, 即糖基化复合物的抗原性降低。图 1 (c) 中, 当蛋白与糖比例为 3:1 时, β -伴大豆球蛋白抗原抑制率降低效果最好, 随反应时间的延长, β -伴大豆球蛋白抗原抑制率从 93.54% 降低到 22.58%。在反应温度为 55 °C, 反应时间 72 h 时, 蛋白与糖比例为 1:1、3:1、5:1 下大豆球蛋白抑制率分别降低到 33.64%、22.58%、32.92%。蛋白质与糖的质量比直接影响糖基化反应的进程, 适当的蛋白与糖质量比可以提高反应速率^[7]。李铮等^[2]发现, 与在 60 °C 下反应, 质量比为 1:1 和 4:1 时, 乳清蛋白-低聚糖复合物的抗原性均有不同程度的提高, 质量比为 1:4 时的抗原性降低程度比质量比为 1:1 时的效果好。因此, 本研究以最佳的反应条件: 蛋白与糖比例为 3:1, 反应温度为 55 °C, 研究不同时间下糖基化复合物的结构特性变化。

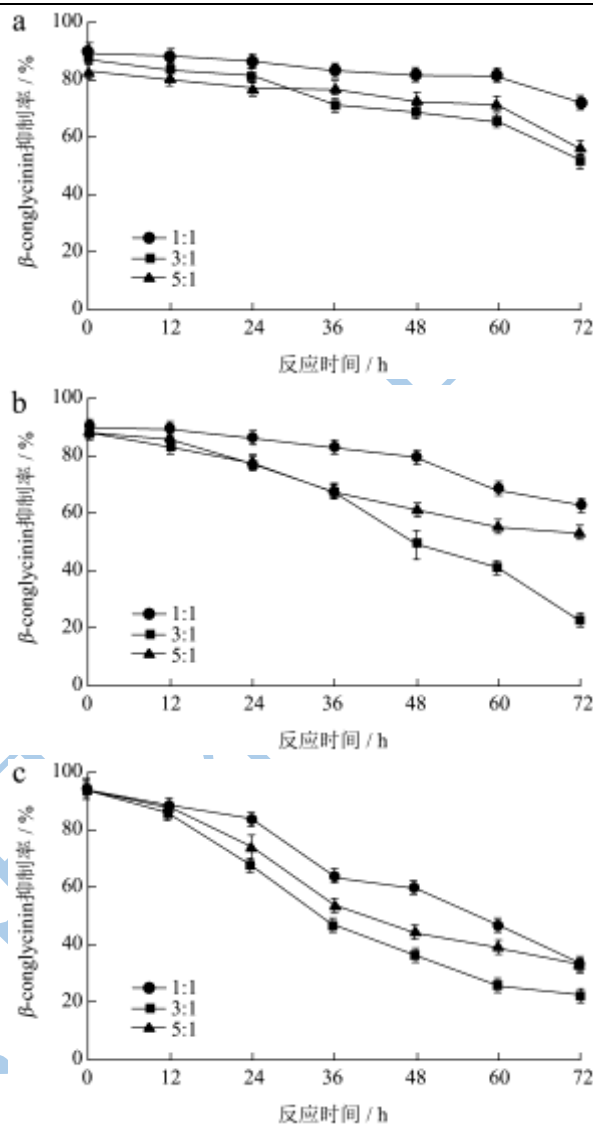


图 1 不同反应条件下糖基化复合物抗原性的变化

Fig.1 Variation in antigenicity of glycosylated products for various reaction conditions

注: (a)反应温度 45 °C; (b)反应温度 50 °C; (c)反应温度 55 °C。

引入的糖链对抗原表位的掩蔽作用以及加热过程中引起蛋白结构的变化, 二者可影响抗原表位的变化^[2]。反应时间、反应温度以及蛋白与糖比例等因素均可影响糖基化反应的进程, 进而影响糖基化产物抗原性的改变。Amigo-Benavent 等^[8]研究发现通过去糖基化作用可降低大豆蛋白的免疫原性, 利用 PNG 酶来切除 β -伴大豆球蛋白自身的 N-端糖链来降低过敏的抗原表位。本试验中采用干法糖基化降低大豆蛋白的抗原性, 其机理可能是由于糖基化反应引起蛋白质的亲水/疏水平衡或使蛋白质表面的净电荷发生变化, 从而导致蛋白-糖或蛋白之间的相互作用发生改变^[9]; 反过来, 这些变化可导致蛋白质的空间结构如折叠、螺

旋结构发生变化, 进而对某些暴露的大豆蛋白抗原表位进行掩蔽, 从而降低了大豆蛋白的抗原性^[10]。

2.2 糖基化产物结构特性分析

2.2.1 SDS-PAGE 分析

在温度 55℃, 大豆分离蛋白与葡萄糖质量比 3:1, 不同时间下糖基化产物的蛋白染色(考马斯亮蓝染色)以及糖染色(PAS 染色)的 SDS-PAGE 电泳图谱如图 2 所示。

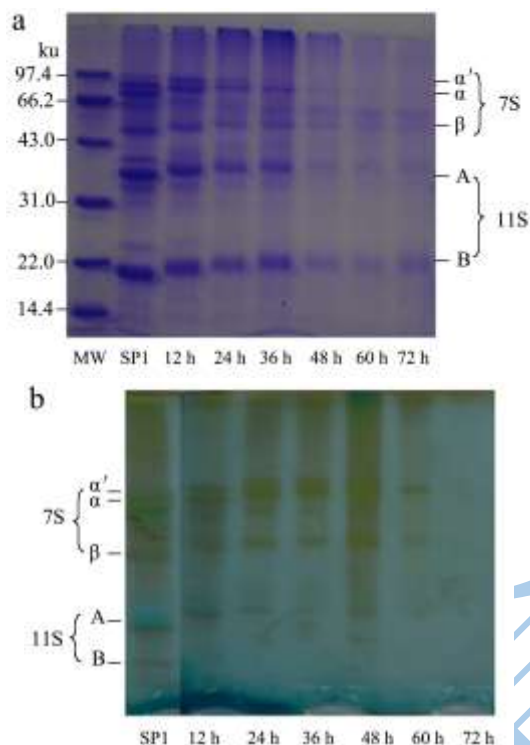


图 2 不同反应时间下糖基化复合物的 SDS-PAGE 图

Fig.2 SDS-PAGE images of glycosylated products over time

注: a: 考马斯亮蓝染色, b: PAS 染色; MW: 低分子量标准蛋白; SPI: 大豆分离蛋白原料; 不同时间下大豆分离蛋白-葡萄糖糖基化产物(蛋白与糖比例 3:1, 反应温度 55℃, 相对湿度 79%)。

SDS-PAGE 电泳图可从蛋白质分子量变化的角度证明美拉德反应的发生; 糖链的结合通过对 SDS-PAGE 谱带进行 PAS 染色确认。如图 2a 中, 不同时间下大豆分离蛋白与葡萄糖复合物的考马斯亮蓝染色结果显示: 随反应时间的增加, 电泳条带的迁移速度变慢, 反应产物分子量逐渐增大, 且大豆分离蛋白的特征条带颜色随反应时间的增加而逐渐变浅, 电泳图上某些谱带消失。这些说明反应过程中有大分子物质生成, 各个分子量的主要蛋白质参与了糖基化反应。另外, 图 2a 中, 随反应时间的增加, 7S 各组分与糖的反应比较明显, 反应后 7S 各蛋白亚基条带减弱, 可见 7S 组分的反应程度较高。 β -伴大豆球蛋白为

7S 的主要组分, 糖基化复合物的 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率随反应时间的增加而降低, 这一结果与电泳条带中 7S 组分的变化相吻合。聚合物的形成可能会掩盖蛋白过敏原上的某些 IgE 抗原结合表位, 从而使糖基化产物抗原性降低^[11]。

对于考马斯亮蓝染色显示的电泳谱带在图 2b 中糖蛋白染色有对应的显现, PAS 染色证实了糖蛋白的特征。糖基化产物中 7S 组分条带有明显成色, 而 11S 组分部分呈色不明显, 说明糖基化产物中 7S 部分有糖链的引入, 即大豆分离蛋白与葡萄糖发生了糖基化反应。

2.2.2 糖基化产物游离氨基含量分析

在大豆分离蛋白与葡萄糖质量比 3:1, 反应温度 55℃ 下进行干热糖基化反应, 不同时间下的大豆分离蛋白-葡萄糖复合物的游离氨基含量变化结果如图 3 所示。

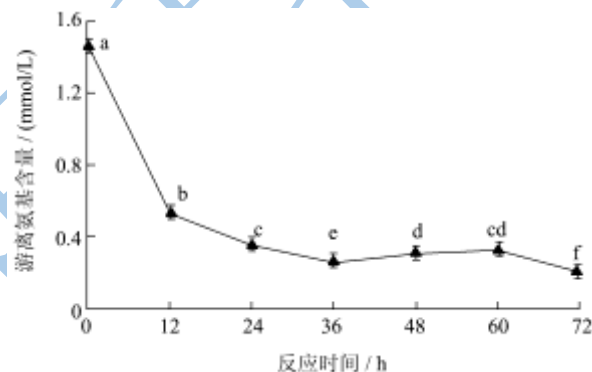


图 3 不同反应时间下游离氨基含量的变化

Fig.3 Free amino content variation for glycosylated products at different times

糖基化反应是碳水化合物以共价键与蛋白质分子上的游离氨基连接而形成糖蛋白的化学反应, 又称美拉德反应。从图 3 可以看出, 大豆分离蛋白-葡萄糖复合物在前 36 h 内, 反应速度快, 游离氨基含量下降很快; 可能原因是在前 36 h 内, 暴露在蛋白质分子表面的游离氨基与葡萄糖充分反应, 糖基化反应容易发生。之后, 游离氨基降低速率变慢, 随着干热过程的进行, 蛋白质-蛋白质之间的相互作用也可使游离氨基降低^[12]。

2.2.3 紫外光谱分析

大豆分离蛋白与葡萄糖质量比 3:1, 反应温度 55℃, 不同时间下的大分离蛋白-葡萄糖复合物的紫外光谱扫描如图 4 所示。

常见的 20 种氨基酸由于有羧基, 所以在紫外光区的短波长 210 nm 附近有弱吸收, 而酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸由于含有芳香环, 因此在 250~280 nm 附近有较强的吸收。图 4 中对不同糖基化产物紫外扫描图

谱进行了比较,发现糖基化产物的紫外扫描曲线变化相似,糖基化产物的紫外吸收光谱与大豆分离蛋白相比,发生了显著的变化。首先表现为 260~280 nm 附近的吸收峰不明显,可能原因是葡萄糖与大豆蛋白已经处于结合状态而没有出现明显的特征吸收峰^[3]。此外,210 nm 附近的吸收峰向短波方向移动,即发生了蓝移。糖链的引入,易于蛋白质肽链的展开暴露分子内部的氨基酸,其中的助色团与糖链中的羰基产生共轭,进而所在电子轨道能级有所提高,电子跃迁所需能量变大,引起吸收带蓝移。

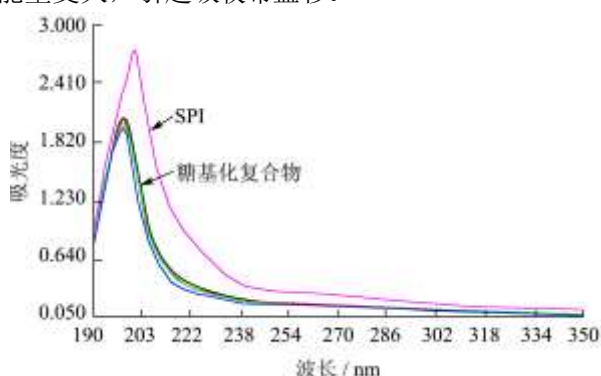


图4 糖基化复合物的紫外光谱图

Fig.4 UV spectra of glycosylated products

2.2.4 红外光谱分析

傅里叶红外光谱是常用的分析蛋白质结构的方法之一,可以灵敏反应出肽链结构的变化。其中能够反应蛋白质二级结构变化的为蛋白质的特征吸收光谱带酰胺 I 区 1600~1700 cm^{-1} 范围。参考文献选用以下范围^[14]: 1600~1640 为 β -折叠结构; 1640~1650 为无序结构; 1650~1660 为 α -螺旋结构; 1660~1700 为 β -转角结构。由 PeakFit4.12 软件进行去卷积二阶导数拟合分析得糖基化产物的酰胺 I 频率,并计算出蛋白二级结构含量的变化如表 1 所示。

表 1 糖基化产物蛋白的二级结构含量

Table 1 Secondary structure properties of glycosylated products

| 样品 | 二级结构/% | | | |
|---------------|--------------|-------------|-------------|-------|
| | α -螺旋 | β -折叠 | β -转角 | 无序结构 |
| SPI | 13.27 | 40.86 | 32.22 | 13.65 |
| SPI-葡萄糖(12 h) | 12.47 | 38.46 | 36.41 | 12.66 |
| SPI-葡萄糖(24 h) | 12.66 | 37.39 | 37.47 | 12.48 |
| SPI-葡萄糖(36 h) | 12.41 | 39.20 | 35.67 | 12.72 |
| SPI-葡萄糖(48 h) | 12.87 | 36.25 | 38.06 | 12.82 |
| SPI-葡萄糖(60 h) | 12.42 | 38.37 | 36.57 | 12.64 |
| SPI-葡萄糖(72 h) | 12.41 | 39.41 | 35.48 | 12.70 |

从表 1 中可知,与原料大豆分离蛋白相比,经过糖基化改性后,复合物的 α -螺旋、 β -折叠、无序结构含量减少,同时 β -转角结构含量增加。蛋白的二级结

构如 β -折叠和 α -螺旋结构稍有降低,理论上说由于糖基化反应过程中,随着加热时间的增加,会使蛋白的部分有序结构转变为无序结构;但同时糖基化产物中无序结构的减少以及 β -转角结构的增加,蛋白中的无序结构转变为有序结构,使得整体上,糖基化改性后,蛋白质的有序结构增加。可见糖基化反应对蛋白的结构有一定的影响。Liu 等人^[15]也发现糖基化反应会影响大豆分离蛋白的二级结构,在美拉德反应过程中,蛋白与糖之间的共价聚集以及热变性作用可影响蛋白质的二级结构。蛋白质中 α -螺旋、 β -折叠等结构通常包埋在多肽链的内部,糖的交联导致蛋白分子的展开以及空间结构的改变,进而屏蔽 IgE 结合表位,改变了蛋白的抗原性^[12]。

3 结论

3.1 在不同的条件下通过干热反应制取大豆分离蛋白-葡萄糖复合物,利用间接竞争 ELISA 方法测定糖基化产物的抗原性,SDS-PAGE、TNBS 法、紫外光谱扫描以及傅里叶红外光谱来确定不同时间下糖基化产物的结构特性变化。

3.2 首先,以 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率为指标,间接竞争 ELISA 方法测定不同条件下的糖基化产物的抗原性大小,选出糖基化改性最佳反应条件。结果为当温度 55 $^{\circ}\text{C}$,大豆分离蛋白与葡萄糖比例 3:1 时,糖基化复合物抗原性降低效果最好,糖基化产物的 β -伴大豆球蛋白抗原抑制率从 93.54% 降低到 22.58%。

3.3 SDS-PAGE 图以及 TNBS 法测定游离氨基含量的变化证明了美拉德反应的发生。随着反应时间延长,游离氨基含量逐渐减少,电泳条带的迁移速度变慢,有大分子物质生成。紫外光谱和红外光谱的结果表明,糖链的加入使蛋白质分子的空间结构发生改变,进而影响蛋白的抗原表位,改变大豆蛋白的抗原性。此外,关于抗原性降低机制和糖基化位点之间的关联等问题仍需进一步探讨。

参考文献

- [1] 林化成,姬洪波.大豆抗原蛋白的致敏作用及其缓解机制的研究进展[J].中国畜牧兽医,2011,38(7):38-42
LIN Hua-cheng, JI Hong-bo. Research advances of mechanism of soybean antigen protein induced allergic research and attenuation [J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2011, 38(7): 38-42
- [2] 李铮,罗永康,冯力更,等.乳清蛋白-低聚异麦芽糖的制备及其抗原性研究[J].中国农业大学学报,2011,16(2):133-137
LI Zheng, LUO Yong-kang, FENG Li-geng, et al. Study on

- preparation and antigenicity of wpi-isomalto-oligosaccharide conjugate [J]. Journal of China Agricultural University, 2011, 16(2): 133-137
- [3] Vande LJ, Manuel SJ, Javier MF, et al. In vitro glycation and antigenicity of soy proteins [J]. Food Research International, 2007, 40(1): 153-160
- [4] Zhang M, Zheng JY, Ge KS, et al. Glycation of α -lactalbumin with different size saccharides: Effect on protein structure and antigenicity [J]. International Dairy Journal, 2014, 34: 220-228
- [5] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227(5259):680-685
- [6] Nissen J N. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1979, 27(6): 1256-1263
- [7] 齐晓彦,李春,张微,等.黑木耳多糖-乳清蛋白复合物的制备及其抗原性的研究[J].食品工业科技,2012,33(19):232-235
QI Xiao-yan, LI Chun, ZHANG Wei, et al. Study on preparation and antigenicity activity of glycosylation products derived from whey protein and auricularia auricula polysaccharide [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(19): 232-235
- [8] Amigo-Benavent M, Athanasopoulos VI, Ferranti P, et al. Carbohydrate moieties on the in vitro immunoreactivity of soy β -conglycinin [J]. Food Research International, 2009, 42: 819-825
- [9] Bielikowicz K, Kostyra H, Kostyra E, et al. The influence of non-enzymatic glycosylation on physicochemical and biological properties of pea globulin 7S [J]. Food Research International, 2012, 48(2): 831-838
- [10] Bu GH, Luo YK, Chen FS, et al. Milk processing as a tool to reduce cow's milk allergenicity: a mini-review [J]. Dairy Science and Technology, 2013, 93: 211-223
- [11] Shriver SK, Yang WW. Thermal and nonthermal methods for food allergen control [J]. Food Engineering Reviews, 2011, 3: 26-43
- [12] Xue F, Li C, Zhu X W, et al. Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-gum acacia conjugate prepared through Maillard reaction [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 490-495
- [13] 齐军茹,杨晓泉,廖劲松.液相体系制备大豆酸沉蛋白-葡聚糖共价复合物及其反应机制(II)反应机制的理论分析[J].食品科学,2008,29(2):142-144
QI Jun-ru, YANG Xiao-quan, LIAO Jin-song. Preparation and theoretical analysis of soy acid protein-polysaccharide conjugates obtained in liquid system (II) forming mechanism of soy acid protein-polysaccharide conjugates [J]. Food Science, 2008, 29(2): 142-144
- [14] Chen XY, Ru Y, Chen FL, et al. FTIR spectroscopic characterization of soy proteins obtained through AOT reverse micelles [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 31: 435-437
- [15] Liu Y, Zhao GL, Zhao MM, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction [J]. Food Chemistry, 2012, 131: 901-906