

3种己糖糖基化修饰对豌豆蛋白结构和抗氧化活性的影响

姜颖^{1*}, 张蕾², 刘畅³, 刘宝慧¹

(1. 烟台市蓬莱区市场监督管理局执法大队, 烟台 265600; 2. 泰山学院生物与酿酒工程学院, 泰安 271021; 3. 山东省质量技术监督审查评价中心有限公司, 济南 250013)

摘要: **目的** 探究3种己糖糖基化修饰对豌豆蛋白结构和抗氧化活性的影响。**方法** 通过自由氨基含量测定、内源荧光及表面疏水性变化、ABTS⁺清除能力、DPPH·清除率、Fe²⁺螯合能力和超氧阴离子自由基清除能力分析等研究豌豆蛋白糖基化产物的结构和抗氧化活性。**结果** 经糖基化处理后, 豌豆蛋白的自由氨基含量降低, 空间结构发生改变, 其中以半乳糖制备的豌豆蛋白糖基化产物 PP-gal 糖基化程度最大。就抗氧化性而言, PP-gal 具有更好的 ABTS⁺清除能力、DPPH·清除率、Fe²⁺螯合能力和超氧阴离子自由基清除能力, 即抗氧化活性最强。**结论** 本研究可为具有良好抗氧化活性的豌豆蛋白制备提供参考。

关键词: 豌豆蛋白; 糖基化修饰; 结构; 抗氧化活性

Effects of glycation modifications with 3 kinds of hexose on the structure and antioxidant activity of pea protein

JIANG Ying^{1*}, ZHANG Lei², LIU Chang³, LIU Bao-Hui¹

(1. Law Enforcement Brigade of Penglai District Market Supervision and Administration Bureau, Yantai 265600, China; 2. Taishan University, College of Biology and Brewing Engineering, Tai'an 271021, China; 3. Shandong Quality and Technology Examination and Evaluation Center Co., Ltd., Jinan 250013, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of glycation modifications with 3 kinds of hexose on the structure and antioxidant activity of pea protein. **Methods** The structure and antioxidant activity of glycated pea protein was analyzed by determining the free amino groups content, endogenous fluorescence and surface hydrophobicity changes, ABTS⁺ scavenging capacity, DPPH· scavenging rate, Fe²⁺ chelating capacity and superoxide anion radical scavenging capacity. **Results** After glycation, the content of the free amino groups of glycated pea protein decreased and the advanced structure changed. The glycation degree of pea protein-galactose conjugated compound (PP-gal) was the highest compared with others. In terms of antioxidant activity, PP-gal had the best ABTS⁺ scavenging capacity, DPPH· scavenging rate, Fe²⁺ chelating capacity and superoxide anion radical scavenging capacity, that was, the antioxidant activity was the strongest. **Conclusion** This study can provide a reference for the preparation of pea protein with good antioxidant activity.

KEY WORDS: pea protein; glycation modification; structure; antioxidant activity

*通信作者: 姜颖, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: jiangying0022@yt.shandong.cn

*Corresponding author: JIANG Ying, Master, Engineer, Law Enforcement Brigade of Penglai District Market Supervision and Administration Bureau, 61 Zhonglou East Road, Penglai District, Yantai 265600, China. E-mail: jiangying0022@yt.shandong.cn

0 引言

豌豆, 学名 *Pisum sativum*, 是一种食用广泛的豆科作物, 中国的豌豆产量在世界上名列前茅, 在中国, 豌豆主要分布在中部和华北部等地区^[1]。豌豆营养丰富, 其淀粉含量(50%~70%)和蛋白含量(20%~30%)相对较高^[2-3]。目前, 豌豆主要被用于提取淀粉及其相关产品开发, 随着研究的深入, 豌豆的加工副产物因富含植物性蛋白而引起科研者的青睐^[4-6]。

过量摄入动物性蛋白可能引起心血管疾病和糖尿病等^[7]。相比于动物性蛋白, 豌豆蛋白可降低体内胆固醇含量, 具有一定的保健作用^[8]。除此之外, 豌豆蛋白因具备蛋白质所具有的乳化性、起泡性和抗氧化性等, 被应用于焙烤制品、休闲食品和饮料生产等领域^[9]。然而, 单纯的豌豆蛋白的抗氧化活性较差, 因此, 提高其抗氧化活性, 扩大其在食品加工领域的应用问题亟待解决。

本研究以豌豆蛋白作为原料, 加入不同构象的己糖, 采用干法制备豌豆蛋白糖基化产物, 通过对比不同糖基化产物的结构和抗氧化性变化情况, 选出提高豌豆蛋白抗氧化性的最佳还原己糖, 为具有良好抗氧化活性的豌豆蛋白加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豌豆蛋白(90%, 陕西瑞林帕尼尔生物科技有限公司); 葡萄糖、半乳糖、果糖、二硫苏糖醇(dl-dithiothreitol, DTT)、8-苯胺基-1-萘磺酸钠(分析纯, 上海阿拉丁试剂有限公司); 磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)(pH 7.4, 10 mmol/L)、十二烷基硫酸钠、硼砂(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司); 乙醇(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 邻苯二甲醛(o-phthalaldehyde, OPA)、1,1-二苯基-2-三硝基苯胍(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate), ABTS]、邻苯三酚、菲洛嗪(色谱纯, 美国 Sigma 公司)。

1.2 仪器与设备

DHG-9070A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); Leader-A1 型超纯水仪(上海领德仪器有限公司); LGJ-1D-80 冷冻干燥机(北京亚泰科隆仪器技术有限公司); SynergyH1 型酶标分析仪(美国 Bio Tek 公司); F-7000 型荧光光谱仪(日本日立公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 豌豆蛋白糖基化产物制备

将豌豆蛋白(pea protein, PP)溶于 PBS 缓冲液(pH 7.4,

10 mmol/L)中, 配制成质量浓度为 10 mg/L 的溶液, 并按质量比 1:1 分别加入半乳糖(gal)、葡萄糖(glu)和果糖(fru)混匀, 冻干。将冻干后的混合样品置于 50 °C 烘箱中反应 4 h(饱和 NaCl 溶液)。反应结束后, 经透析冻干得到各豌豆蛋白糖基化产物, 分别记为 PP-gal、PP-glu 和 PP-fru。

1.3.2 自由氨基测定

参照 WANG 等^[10]的方法并稍作修改。称取 9.525 g 硼砂和 0.25 g 十二烷基硫酸钠于小烧杯中, 用 150 mL 蒸馏水溶解后, 称取 200 mg 邻苯二甲醛溶于 5.0 mL 乙醇(95%), 再加入 0.264 g 二硫苏糖醇溶解, 最后用蒸馏水定容到 250 mL(棕色容量瓶避光), OPA 溶液在 2 h 之内使用。取 200 μ L 样品溶液(1 mg/mL)加入配制好的 OPA 溶液 4 mL, 室温下避光静置反应 2 min, 于 340 nm 处测定吸光值。以赖氨酸 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/mL 绘制标准曲线, 根据标准曲线计算各豌豆蛋白糖基化产物中自由氨基含量(mg/mL)。

1.3.3 内源荧光测定

用超纯水将各豌豆蛋白糖基化产物溶解至质量浓度为 1 mg/mL, 对样品进行内源荧光分析。内源荧光测定条件为: 激发波长为 280 nm, 发射波长为 300~450 nm, 激发和发射的狭缝宽度均为 5 nm, 扫描速度为 1200 nm/min。

1.3.4 表面疏水性测定

测定方法参照 ZHANG 等^[11]并稍作修改。采用 8-苯胺基-1-萘磺酸钠作为荧光探针, 测定各豌豆蛋白糖基化产物的表面疏水性。将各豌豆蛋白糖基化产物稀释为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/mL, 然后分别取 6 mL 稀释的样品与 40 μ L 8-苯胺基-1-萘磺酸钠溶液(8 mmol/L)混合, 测定其荧光强度。测定条件设置为: 发射波长为 400~600 nm, 激发波长为 390 nm, 发射和激发的狭缝宽度均为 2.5 nm, 扫描速度为 1200 nm/min, 电压为 400 V。以豌豆蛋白样品质量浓度(mg/mL)为横坐标, 荧光强度为纵坐标作图, 对曲线采用线性回归分析进行拟合, 通过计算得到曲线斜率, 即为各豌豆蛋白糖基化产物的表面疏水性。

1.3.5 ABTS⁺清除能力测定

参照 NIE 等^[12]的方法, 测定各豌豆蛋白糖基化产物的 ABTS⁺清除能力。将 ABTS⁺溶解于 70%乙醇溶液中并稀释至在 734 nm 时, 其吸光值为 0.7。取 100 μ L 样品与 3.9 mL 的 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), ABTS⁺]溶液混匀, 常温下反应 10 min, 于 734 nm 处测定其 OD 值。ABTS⁺清除能力计算公式如式(1):

$$\text{ABTS}^+ \cdot \text{清除能力} = \frac{\text{OD}_0 - \text{OD}_{s1}}{\text{OD}_0} \times 100\% \quad (1)$$

其中 OD₀ 为超纯水替代样品时的 OD 值, OD_{s1} 为各豌豆蛋白糖基化产物与 ABTS⁺溶液反应后的 OD 值。

1.3.6 DPPH·清除率的测定

根据 DAULAY 等^[13]方法测定样品的 DPPH·清除能力。以 70% 的乙醇溶液配制质量浓度为 0.25 mmol/L 的 DPPH·溶液, 取 100 μ L 稀释的样品溶液与 100 μ L DPPH·溶液于酶标板(96 孔)上混匀, 室温下避光反应 30 min, 于 517 nm 处测定吸光值。各豌豆蛋白糖基化产物的 DPPH·清除率计算公式如式(2):

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除能力} = \left[1 - \left(\frac{\text{OD}_{52} - \text{OD}_c}{\text{OD}_b} \right) \right] \times 100\% \quad (2)$$

其中, OD_{52} 为 100 μ L 糖基化样品和 100 μ L DPPH·溶液混合测得的 OD 值, OD_c 为 100 μ L 样品与 100 μ L 70% 的乙醇混合后的 OD 值, OD_b 为 100 μ L DPPH·溶液与 100 μ L 超纯水混合后的 OD 值。

1.3.7 亚铁离子(Fe^{2+})螯合能力测定

按 1:1:2 (V:V:V) 的比例混合适当质量浓度(mg/mL)的各豌豆蛋白糖基化产物、 FeCl_2 (2 mmol/L) 和非洛嗪溶液 (5 mmol/L), 常温下反应 10 min 后于 562 nm 处测定其吸光值^[14]。计算公式如式(3):

$$\text{Fe}^{2+}\text{螯合能力} = \frac{\text{OD}_0 - \text{OD}_{s3}}{\text{OD}_0} \times 100\% \quad (3)$$

其中, OD_{s3} 为加入样品测定的吸光值, OD_0 为 PBS 溶液代替样品测定的吸光值。

1.3.8 超氧阴离子自由基清除能力测定

向稀释的各豌豆蛋白糖基化产物溶液中加入 40 μ L 邻苯三酚(25 mmol/L), 混匀后室温下反应 3 min, 快速加入 50 μ L 二硫苏糖醇溶液(50 mg/mL), 混匀后室温反应 15 min, 于 325 nm 处测定吸光值^[15-16]。计算公式如式(4):

$$\text{超氧阴离子自由基清除能力} = \frac{\text{OD}_0 - \text{OD}_{s4}}{\text{OD}_0} \times 100\% \quad (4)$$

其中, OD_0 为超纯水代替样品测定的吸光值, OD_{s4} 为加入样品测定的吸光值。

1.4 数据处理

所有实验均重复 3 次, 数据表示为平均值 \pm 标准差。采用 SPSS 26.0 对数据进行统计学分析, 使用 GraphPad Prism 8 对数据进行绘图。

2 结果与分析

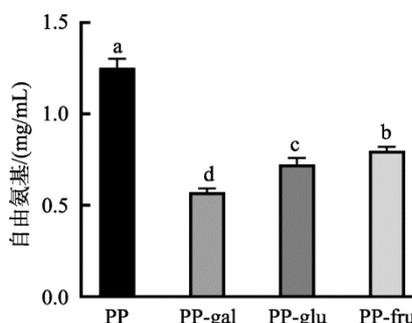
2.1 自由氨基含量

糖基化反应作为美拉德反应的初级阶段, 发生在蛋白质分子上的自由氨基和糖类物质的羰基上^[17]。因此, 可以通过测定蛋白质分子中自由氨基的含量变化判断糖基化程度。图 1 是各豌豆蛋白糖基化产物中自由氨基的含量。由图 1 可知, 经糖基化反应后, PP 的自由氨基含量下降, 其中 PP-gal < PP-glu < PP-fru < PP, 结果表明 gal 更容易发生糖基化反应, glu 次之, fru 最弱。SHAO 等^[18]的研究也表明, 糖基化程度越大, 自由氨基含量就越低。

2.2 内源荧光分析

芳香族氨基酸尤其是色氨酸, 是引起蛋白质产生内

源荧光的原因, 而蛋白质结构的改变会引起色氨酸的暴露或者隐藏, 从而影响蛋白质的内源荧光强弱^[19]。蛋白质发生糖基化反应时, 其空间结构会发生改变, 从而引起内源荧光改变。图 2 为 PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的内源荧光强度变化图。由图 2 可知, 豌豆蛋白发生糖基化反应后, 其内源荧光强度降低, 这可能是因为糖基化展开了豌豆蛋白的空间结构, 使得更多的色氨酸暴露于极性水溶液中, 导致荧光发生猝灭^[20]。PP-gal 的内源荧光最低, 这可能是由于其糖基化程度最高, 更大程度展开豌豆蛋白的结构, 使更多的色氨酸暴露于水溶液中。这与其自由氨基含量最低结果一致。



注: a-d 不同字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同。

图 1 糖基化对 PP 自由氨基的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of glycation on free amino groups of PP ($n=3$)

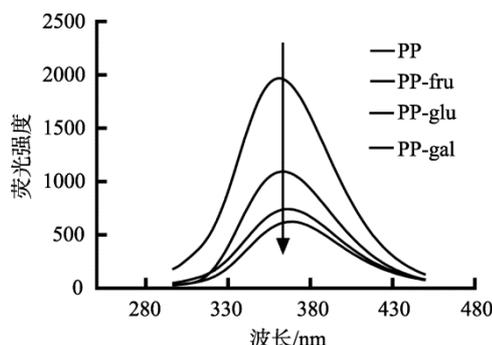


图 2 糖基化对 PP 内源荧光的影响

Fig.2 Effects of glycation on intrinsic fluorescence of PP

2.3 表面疏水性分析

表面疏水性主要用于评价蛋白质疏水基团在其三级结构的分布情况。PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的表面疏水性如图 3 所示, 经糖基化处理后, 豌豆蛋白的表面疏水性变大, 其中 PP-gal 最大($P < 0.05$)。这可能是由于糖基化使豌豆蛋白的三级结构展开, 导致埋藏在蛋白质分子内部的疏水基团暴露出来, 引起表面疏水性增大^[21]。LIU 等^[22]研究也表明, 糖基化程度越深, 其表面疏水性越大。

2.4 ABTS⁺清除能力

ABTS 可被 $K_2S_2O_8$ 氧化成蓝色自由基 $ABTS^+$, 当存在抗氧化剂时, $ABTS^+$ 能被还原成没有颜色的 ABTS。因此, 可以根据颜色的深浅判断样品的抗氧化能力。由图 4 可知, 与 PP 相比, PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的 $ABTS^+$ 清除率变大 ($P < 0.05$), 其中, PP-gal 最大。这可能是因为一些豌豆蛋白糖基化产物具有抗氧化性, 可以和 $ABTS^+$ 反应, 引起其 $ABTS^+$ 自由基降低。其中 PP-gal 的抗氧化性最大, 可能是因为 PP-gal 糖基化程度最大, 包含更多的抗氧化物质。

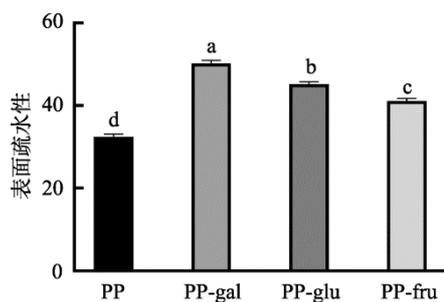


图 3 糖基化对 PP 表面疏水性的影响 ($n=3$)

Fig.3 Effects of glycation on surface hydrophobicity of PP ($n=3$)

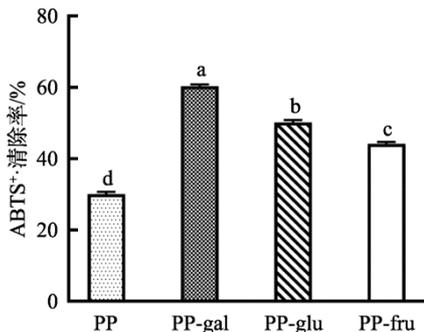


图 4 糖基化对 PP 的 $ABTS^+$ 清除能力影响 ($n=3$)

Fig.4 Effects of glycation on $ABTS^+$ scavenging capacity of PP ($n=3$)

2.5 DPPH·清除率

DPPH·是一种在 517 nm 处具有强吸收的稳定的单电子自由基。当 DPPH·被清除后颜色会从深紫色变为黄色或无色。由图 5 可知, PP 的 DPPH·清除率为 35.62%, 而经糖基化处理后, PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的 DPPH·清除率分别为 69.02%、58.45% 和 52.58%, 其中, PP-gal 具有更好的抗氧化活性。

2.6 Fe²⁺螯合能力

PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的 Fe^{2+} 螯合能力如图 6 所示。糖基化处理可有效提高 PP 的 Fe^{2+} 螯合能力, 其中 PP-gal

最高 (54.42%±0.80%), 这可能与 PP-gal 的糖基化程度有关, 糖基化程度越大, 生成的抗氧化物质越多^[23]。这与 $ABTS^+$ 清除能力和 DPPH·清除率结果一致。

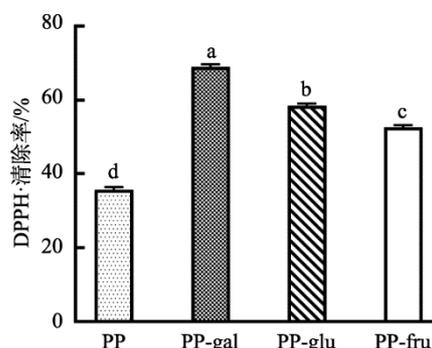


图 5 糖基化对 PP 的 DPPH·清除率影响 ($n=3$)

Fig.5 Effects of glycation on DPPH· scavenging capacity of PP ($n=3$)

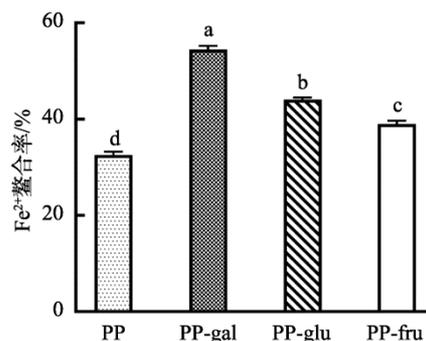


图 6 糖基化对 PP 的 Fe^{2+} 螯合能力影响 ($n=3$)

Fig.6 Effects of glycation on Fe^{2+} chelating ability of PP ($n=3$)

2.7 超氧阴离子自由基清除能力

体内的超氧阴离子自由基容易引起体内脂质氧化, 加快从皮肤到器官的衰老进程, 严重的可能引起皮肤病变和癌症等^[24-25]。因此, 研究超氧阴离子自由基的清除能力意义重大。PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的超氧阴离子自由基清除能力如图 7 所示。与 PP 相比, PP-gal、PP-glu 和 PP-fru 的超氧阴离子自由基清除能力均有提高, 不同豌豆蛋白糖基化产物之间存在差异 ($P < 0.05$), 且 PP-gal 的清除能力最强。这与 $ABTS^+$ 清除能力、DPPH·清除率和 Fe^{2+} 螯合能力结果一致。

3 结论

本研究结果显示, PP 与 gal、glu 和 fru 发生糖基化反应后, 其自由氨基降低、内源荧光强度减弱、表面疏水性增大, 其中, PP-gal 变化最显著, 表明其糖基化程度最大。

PP 糖基化产物的 ABTS⁺清除能力、DPPH·清除率、Fe²⁺螯合能力和超氧阴离子自由基清除能力增大, 其中 PP-gal 表现更强的抗氧化活性。PP 发生糖基化后其抗氧化活性提高, 其中以 gal 作为羰基提供源具有更好的作用, 这将为提高 PP 的抗氧化活性提供理论依据。

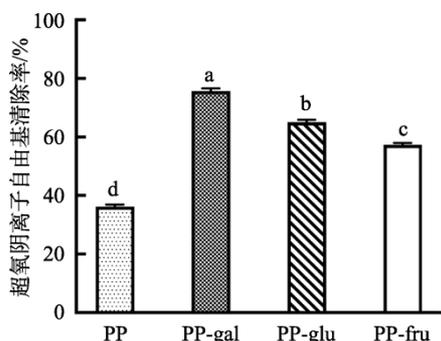


图 7 糖基化对 PP 超氧阴离子自由基清除能力的影响(n=3)
Fig.7 Effects of glycation on superoxide anion radical scavenging capacity of PP (n=3)

参考文献

- [1] 张欣. 甘草提取物与水解豌豆蛋白在乳化体系中的协同抗氧化性研究 [D]. 江苏: 江南大学, 2014.
ZHANG X. Synergistic antioxidation of glycyrrhiza extract and hydrolyzed pea protein in emulsion system [D]. Jiangsu: Jiangnan University, 2014.
- [2] 戴媛, 张忠琴, 乔思琪, 等. 超声辅酶法提取豌豆蛋白及其抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(13): 165-170.
DAI Y, ZHANG ZQ, QIAO SQ, *et al.* Ultrasonic coenzyme extraction of pea protein and its antioxidant activity [J]. Anhui Agric Sci, 2020, 48(13): 165-170.
- [3] 薛园园. 豌豆蛋白的酶水解及其产物抗氧化性能研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2011.
XUE YY. Enzymatic hydrolysis of pea protein and antioxidant activity of its products [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2011.
- [4] 裴亚琼, 宋晓燕, 杨念, 等. 豌豆淀粉的提取及其理化性质的研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(9): 24-28.
PEI YQ, SONG XY, YANG N, *et al.* Study on the extraction and physicochemical properties of pea starch [J]. J Cere Oils Ass, 2014, 29(9): 24-28.
- [5] 张宇, 李凌志, 李晓东, 等. 豌豆淀粉对脱脂乳酶凝特性及对加工低脂干酪品质的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(7): 320-327.
ZHANG Y, LI LZ, LI XD, *et al.* Effect of pea starch on the coagulation characteristics of skim milk enzyme and the quality of processed low fat cheese [J]. Food Sci Technol, 2019, 44(7): 320-327.
- [6] KLASSEN DR, NICKERSON MT. Effect of pH on the formation of electrostatic complexes within admixtures of partially purified pea proteins (legumin and vicilin) and gum Arabic polysaccharides [J]. Food Res Int, 2012, 46(1): 167-176.
- [7] EFFIE V, SARAH S, VIRANDA J, *et al.* Effect of replacing animal protein with plant protein on glycemic control in diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Nutrients, 2015, 7(12): 9804-9824.
- [8] PATRICK HKN, NG TB. Purification of glysojanin, an antifungal protein, from the black soybean glycine soja [J]. Biochem Cell Biol, 2003, 81(6): 387-394.
- [9] 李莎莎. 冷藏条件对鸡肉品质影响及豌豆蛋白对其凝胶特性改善[D]. 新乡: 河南科技学院, 2020.
LI SS. Effects of cold storage on chicken quality and pea protein improving its gel properties [D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2020.
- [10] WANG XM, YE YH, TU ZC, *et al.* Mechanism of the reduced IgG/IgE binding abilities of glycosylated β -lactoglobulin and its digests through high-resolution mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2021, 69: 3741-3750.
- [11] ZHANG JJ, TU ZC, WANG H, *et al.* Mechanism of the effect of 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride simulated lipid oxidation on the IgG/IgE binding ability of ovalbumin [J]. Food Chem, 2020, 327: 127037.
- [12] NIE JY, LI R, JIANG ZT, *et al.* Antioxidant activity screening and chemical constituents of the essential oil from rosemary by ultra-fast GC electronic nose coupled with chemical methodology [J]. J Sci Food Agric, 2020, 100(8): 3481-3487.
- [13] DAULAY AS, RIDWANTO, SYAHPUTRA RA, *et al.* Antioxidant activity test of chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) ethanol extract using DPPH method [J]. J Phys Conf Ser, 2021, 1819: 012035.
- [14] GU FL, JIN MKK, ABBAS S, *et al.* Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein-glucose [J]. Food Chem, 2010, 120(2): 505-511.
- [15] 杨明琰, 张晓琦, 沈俭, 等. 超氧化物歧化酶两种邻苯三酚自氧化测定活力方法的比较[J]. 微生物学杂志, 2006, (3): 40-42.
YANG MY, ZHANG XQ, SHEN J, *et al.* Comparison of two methods for determining the activity of superoxide dismutase by pyrogallol autoxidation [J]. J Microbiol, 2006, (3): 40-42.
- [16] 陈林林, 张伟, 王振兴, 等. 邻苯三酚自氧化法测定甲烷氧化菌素-铜配合物的超氧化物歧化酶活性[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3438-3444.
CHEN LL, ZHANG W, WANG ZX, *et al.* Determination of superoxide dismutase activity of methanogen copper complex by pyrogallol autoxidation method [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(9): 3438-3444.
- [17] WANG XM, YE YH, TU ZC, *et al.* Investigation of the mechanism underlying the influence of mild glycation on the digestibility and IgG/IgE-binding abilities of β -lactoglobulin and its digests through LC orbitrap MS/MS [J]. LWT-Food Sci Technol, 2021, 139: 110506.
- [18] SHAO YH, ZHANG Y, ZHU MF *et al.* Glycation of β -lactoglobulin combined by sonication pretreatment reduce its allergenic potential [J]. Int

- J Biol Macromol, 2020, 164(1): 1527–1535.
- [19] WANG H, SUNQ, TAN JM, *et al.* Conformational alteration and the glycosylated sites in ovalbumin during vacuum freeze-drying induced glycation: A study using conventional spectrometry and liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Food Chem, 2020, 318: 126519.
- [20] YANG WH, TU ZC, WANG H, *et al.* Mechanism of reduction in IgG and IgE binding of β -lactoglobulin induced by ultrasound pretreatment combined with dry-state glycation: A study using conventional spectrometry and high-resolution mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(36): 8018–8027.
- [21] CHANDRAPALA J, ZISU B, KENTISH S, *et al.* The effects of high-intensity ultrasound on the structural and functional properties of α -lactalbumin, β -lactoglobulin and their mixtures [J]. Food Res Int, 2012, 48(2): 940–943.
- [22] LIU J, TU ZC, LIU GX, *et al.* Ultrasonic pretreatment combined with dry-state glycation reduced the immunoglobulin E/immunoglobulin G-binding ability of α -lactalbumin revealed by high-resolution mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(22): 5691–5698.
- [23] TU YQ, XU Y, REN FZ, *et al.* Characteristics and antioxidant activity of Maillard reaction products from α -lactalbumin and 2'-fucosyllactose [J]. Food Chem, 2021, 316: 126341.
- [24] 姜招峰, 何湘平, 刘传绩, 等. 超氧阴离子自由基诱导皮层神经细胞 Cu/ZnSOD 基因表达的研究[J]. 北京联合大学学报, 2003, (3): 9–11.
- JIANG ZF, HE XP, LIU CH, *et al.* Study on superoxide anion radical induced Cu/ZnSOD gene expression in cortical neurons [J]. J Beijing Union Univ, 2003, (3): 9–11.
- [25] YEH CC, HOU MF, TSAI SM, *et al.* Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer [J]. Clin Chim Acta, 2005, 361(1-2): 104–111.

(责任编辑: 张晓寒 郑丽)

作者简介



姜 颖, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: jiangying0022@yt.shandong.cn