

糖基化大豆抗原蛋白的结构与功能特性研究进展

杨智翔, 殷海成*, 陈 莹, 李岳燕

(河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001)

摘 要: 大豆球蛋白与大豆 β -伴球蛋白是大豆蛋白的主要组成成分, 也是主要的过敏原, 二者通过影响大豆蛋白的性质改变其营养和功能特性。糖基化会使大豆抗原蛋白发生不同程度的改变, 从而影响大豆蛋白产品的品质与特性。因此, 研究大豆抗原蛋白在糖基化过程中的结构和功能特性的变化, 对促进大豆蛋白深加工具有重要意义。本文分析了大豆主要抗原蛋白组成与结构特点, 综述了大豆抗原蛋白在糖基化过程中的结构变化对其功能特性的影响, 具体表现在溶解性、乳化性、乳化稳定性提高, 凝胶性改善、致敏性降低。这些功能特性的改变为大豆蛋白开发和应用创造了条件, 可以为大豆蛋白糖基化机制及工业化生产提供理论。

关键词: 糖基化; 大豆抗原蛋白; 结构; 功能特性

Advances on structural and functional properties of glycated soybean antigen proteins

YANG Zhi-Xiang, YIN Hai-Cheng*, CHEN Ying, LI Yue-Yan

(College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: Glycinin and β -conglycinin are the main components of soy protein, as well as the major allergens. They change the nutritional and functional properties by affecting the properties of soybean protein. Glycation can change soybean antigen protein to different degrees, thus affecting the quality and characteristics of soybean protein products. Studying the changes of structural and functional characteristics of soybean antigen protein during glycation is of great significance to promote the deep processing of soybean proteins. This paper analyzed the composition and structural characteristics of soybean antigen protein, and summarized the effects of structural changes of soybean antigen proteins in the glycation process on their functional properties, which were manifested in the improvement of solubility, emulsibility and emulsification stability, and the improvement of gel properties, but the antigenicity would be reduced. Moreover, these changes in functional properties have also created conditions for the development and application of soybean protein in food, which will provide theoretical supports for the mechanism of soybean protein glycation and industrial production.

KEY WORDS: glycosylation; soybean antigen protein; structure; functionality

0 引 言

大豆的蛋白含量较高(约 40%), 能够提供丰富的营养

并且具有优越的功能特性以及良好的加工特性, 被广泛应用于食品和饲料工业^[1]。但大豆蛋白是公认的致敏蛋白, 其高致敏性严重影响食用安全^[2]。其中占大豆总蛋白 70%

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(202110463047)、河南省自然科学基金项目(222300420425)

Fund: Supported by the National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (202110463047), and the Natural Science Foundation of Henan (222300420425)

*通信作者: 殷海成, 教授, 主要研究方向为水产动物营养与免疫。E-mail: yhch007@126.com

*Corresponding author: YIN Hai-Cheng, Professor, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China. E-mail: yhch007@126.com

的大豆 7S 球蛋白(占 40%, 主成分是大豆 β -伴球蛋白)和大豆 11S 球蛋白(占 30%, 主成分是大豆球蛋白)是最主要过敏原^[3]。研究表明, 大豆球蛋白中二硫键(-S-S-)和巯基(-OH)含量丰富, 能形成较强的凝胶弹性; 大豆 β -伴球蛋白含疏水性氨基酸较多, 二硫键和巯基含量较少, 乳化性较强, 而凝胶性较低^[4]。相关研究证实大豆 β -伴球蛋白由于分子间/分子内较强的交互作用能够形成比大豆球蛋白更紧密的界面^[5]。同时二者的水溶性有限, 其球状的分子结构也不利于乳状液的形成^[6], 这些功能缺陷进一步使其应用受到局限。为此, 不少研究通过理化法、生物工程和酶法改性大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白以期获得理想功能特性的蛋白产品。通常的食品加工都伴随着蛋白质的糖基化, 并介导蛋白质固有的功能特性发生改变^[7]。如对抗原蛋白的表位进行破坏, 从而降低或去除抗原蛋白的致敏性^[8]。因此, 蛋白质的糖基化所制备糖基化蛋白产品以低的致敏性、优越的功能特性, 以及糖基化反应条件温和、产物结构稳定和产品应用更为广泛等优点得到广泛研究^[9]。本文基于美拉德(Maillard)反应, 总结目前对大豆球蛋白和大豆 β -伴球蛋白糖基化后其产物的结构与功能特性的改变, 以期为提高大豆蛋白营养与改善其功能特性提供参考。

1 主要大豆抗原蛋白组成、结构

大豆球蛋白(分子量约为 320~375 kDa)是一种含糖较少(0.8%)的六聚体寡蛋白, 每一单体都是由酸性肽链(A_{1a}、A_{1b}、A₂、A₃、A₄ 和 A₅)和碱性肽链(B_{1a}、B_{1b}、B₂、B₃ 和 B₄)通过疏水键和二硫键连接^[10]。目前已知的单聚体有 5 种, 即 A_{1a}B_b (G₁, 53.6 kDa)、A₂B_{1a} (G₂, 52.4 kDa)、A₁B_{b2} (G₃, 52.2 kDa)、A₅A₄B₃ (G₄, 61.2 kDa)和 A₃B₄ (G₅, 55.4 kDa), 并按照序列同源性将 A_{1a}B_b、A₂B_{1a} 和 A₁B_{b2} 组成为 I 组, A₅A₄B₃ 和 A₃B₄ 组成为 II 组, 其组内同源性约为 84%, 而组间同源性在 45%~49%之间^[2]。大豆 β -伴球蛋白是由 α' (约 71 kDa)、 α (约 67 kDa)和 β (约 50 kDa) 3 个亚基通过非共价键结合(疏水作用)呈平面三角形堆积的三聚体糖蛋白, 现已知的结构类型有 $\alpha'\alpha\beta$ (B₁)、 $\alpha\beta\beta$ (B₂)、 $\alpha\alpha'\beta$ (B₃)、 $\alpha\alpha\beta$ (B₄)、 $\alpha\alpha\alpha'$ (B₅)、 $\alpha\alpha\alpha$ (B₆) 6 种^[11]。在这 3 个亚基中, α' 与 α -亚基都含有核心区 and 延伸区, 在核心区域的氨基酸同源性约为 90.4%、延伸区的同源性约为 75.5%; 而亚基 β 无延伸区, 只有一个核心区, 与 α 亚基的同源性约为 76.2%^[12](见图 1)。由于这 3 个亚基均含有一定的糖基(含糖约为 4%~5%, 其中甘露糖约为 3.8%和氨基葡萄糖约为 1.2%), 所以大豆 β -伴球蛋白具热稳定性、空间结构的柔性较好、亲水性强^[13]。

```

 $\alpha'$  1 MMRRFPLLLLGVVFLASVSVSFGIAYWEKQNP SHNCLRSCNSEKDSYRNQACHARC NL
 $\alpha$  1 MMRRFPLLLLGLVFLASVSVSFGIAYWEKENPKHNKCLQSCNSERDSYRNQACHARC NL
 $\beta$  L-----
 $\alpha'$  61 LKVEEEEC EEEGQIPRPRP -- QHPERERQQHGEKEEDEGEQPRPFPPRPRQPHQEE EHE
 $\alpha$  61 LKVEKEE-CEEGEIPRPRPRPQHPEREPQQPGEKEEDEDEQPRPIPFPRP-QPRQEE EHE
 $\beta$  -----
 $\alpha'$  119 QKEEHEWHRKEEKHGKGSEEE ----- QDEREHPRPHQPHQKEEEKHEWQHKEKHQ G
 $\alpha$  119 QREEQEWPRKEEKRGEKGESEEEDEDEDEQDERQFPFPRPPHQQEERKQEEDEDEEQ Q
 $\beta$  2 -----KVREDEN -----
 $\alpha'$  172 KESEEEEDQDEDEEQDKESQSEGESQREPRRHKNKNPFHNSKRFTLFKNQYGHVR
 $\alpha$  169 -----EDEDEEQRESESESESEL ---- RRHKKNKPNFLFGSNRFETLFKNQYGRIR
 $\beta$  9 -----NPFYFRSSNSFQTLFENQNGRIRLLQRFNKRSPQLENLRDYRIVQFQ
 $\alpha'$  232 VLQRFNKR SQQLQNLRDYRILEFNSKPNNTLLPHHADADYLIVILNGTAILTVNND DRD
 $\alpha$  216 VLQRFNQRSPQLQNLRDYRILEFNSKPNNTLLPNHADADYLIVILNGTAILSLVNND DRD
 $\beta$  56 SKPNTILLPHHADADFLFVLSGRAILTLVNND DRDSYNLHPGDAQRI PAGTTYLVNPH
 $\alpha'$  292 SYNLSQSGDALRVPAGTTYVVPNDNENLRMITLAIPVNKPGRFESFFLSSTQAQQSYLQ
 $\alpha$  276 SYRLQSGDALRVPSTTTYVVPNDNENLRMITLAIPVNKPGRFESFFLSSTEAQQSYLQ
 $\beta$  116 DHQNLKIIKLAIPVNKPGRYDDFFLSSTQAQQSYLQGFSHNILETSFHFSEFEEINRVLF G
 $\alpha'$  352 GFSKNILEASYDTKFEEINKVLFGR EEGQQQGEERLQESVIVEISKQIRELSKHAKSSS
 $\alpha$  336 GFSRNILEASYDTKFEEINKVLF SREEGQQQGEERLQESVIVEISKEQIRALSKRAKSSS
 $\beta$  176 EEE ----EQRQQEGVIVELSKEQIRQLSRRAKSSSRKTISSEDEPNLRSRNPI SNF
 $\alpha'$  412 RKTISSEDKPFNLRSDPIYSNKLGLKF EITPEKNPQLRDLDFLSVVD MNELALPHF
 $\alpha$  396 RKTISSEDKPFNLRSDPIYSNKLGLKF EITPEKNPQLRDLDFLSVVD MNELALLPHF
 $\beta$  231 GKFFEITPEKNPQLRDLDFLSSVDINEGALLPHFN SKAIVILVINEGDANIELVGIKE
 $\alpha'$  472 NSKAIVVLVINEGEANIELVGIKEQQQRQQEEQPLEVRKYRAELSEQDIFVIPAGYPVV
 $\alpha$  456 NSKAIVILVINEGDANIELVGLKEQQQEQQEEQPLEVRKYRAELSEQDIFVIPAGYPVV
 $\beta$  291 QQQKQKQEEEPLEVQRYRAELSEDDVFVIPAAYPFVFNATSNLNLFAFGINAENNRQNF L
 $\alpha'$  532 VNATSDLNFFAFGINAENNRQNF LAGSKDNVISQIPSVQELAFPGSAKD IENLKISQSE
 $\alpha$  516 VNATSNLNF FAFGINAENNRQNF LAGSQDNVISQIPSVQELAFPGSAQAVEKLLKNQRE
 $\beta$  351 AGEKDNVVRQIERQVQELAFPGSAQDVERLLKKQRESYFVDAQPQQKEEGSKGRKGPFP S
 $\alpha'$  592 SYFVDAQPQQKEEGNKGRKGPLSSILRAF Y
 $\alpha$  576 SYFVDAQPKKKEEGNKGRKGPLSSILRAF Y
 $\beta$  411 ILGALY

```

图 1 大豆 β -伴球蛋白 α 、 α' 、 β 亚基氨基酸序列比对

Fig.1 Amino acid sequence alignment of α , α' and β subunit of soybean β -conglutinin

大豆球蛋白和大豆 β -伴球蛋白的氨基酸组成差异较大, 通过对比研究发现: 赖氨酸含量在大豆球蛋白(4.15%)和大豆 β -伴球蛋白(6.70%)中都较高^[14]; 大豆球蛋白中非极性氨基酸丙氨酸、异亮氨酸、甘氨酸、亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸和色氨酸的总和(62.5%)远高于大豆 β -伴球蛋白(34.8%); 大豆球蛋白中弱极性氨基酸半胱氨酸、酪氨酸和丝氨酸的总量为 8.7%、大豆 β -伴球蛋白为 12.2%, 差异不显著; 而大豆 β -伴球蛋白极性氨基酸天冬氨酸、精氨酸、谷氨酸、组氨酸和赖氨酸的总量为 53%、大豆球蛋白为 28.8%, 差异显著。此外, 大豆球蛋白中含二硫键的半胱氨酸含量为(1.30%), 显著高于大豆 β -伴球蛋白(0.94%), 因此大豆球蛋白更为稳定。这些氨基酸组成差异对于筛选不同蛋白组分及其在不同食品中应用具有重要意义。

2 大豆抗原蛋白的糖基化

蛋白质的糖基化是蛋白质分子上的 α 或 ε 氨基与糖分子(葡萄糖和果糖等单糖、麦芽糖和乳糖等二糖、葡聚糖、壳聚糖等多糖)以共价键结合形成糖苷键的过程^[9]。常用的方法有干热法、湿热法、干热湿热相结合以及酶催化法。大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白与糖通过干热法或湿热法获得糖基化复合物, 以期改善蛋白质功能特性或赋予蛋白质新功能性质。其基本过程如下: 首先是大豆球蛋白(大豆 β -伴球蛋白)赖氨酸或羟赖氨酸的 ε 氨基与糖分子结合形成可逆的醛亚胺; 其次是形成醛亚胺上的电荷与双键重新排列形成糖-蛋白质酮胺结合物, 此时的糖与蛋白接合产物是可逆产物或称为中间产物^[15](见图 2)。这和 Maillard 反应中要求生成稳定的糖基化蛋白结合产物不同, 为得到可逆糖与蛋白结合产物, 就必须控制反应温度和时间, 使其在温和条件下发生 Maillard 反应。

3 糖基化对大豆抗原蛋白结构、功能特性的影响

3.1 糖基化对大豆抗原蛋白溶解性的影响

溶解性作为蛋白质价值的重要指标, 表现在蛋白质的水合能力, 水合能力越强蛋白质的溶解性越好。在中性环境条件下, 大豆球蛋白的碱性链带正电, 呈疏水性, 酸性链带负电, 呈亲水性; 大豆 β -伴球蛋白的 α' 与 α 亚基高度同源, 均含有低聚糖链(2 条), 亲水性强, β -亚基仅有 1 条糖链且存在于核心区, 因此疏水性强^[11]。但从整体上看, 大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白的水合能力弱, 溶解性较差, 常采用酶解或化学改性来提高其溶解性。然而酶解的产物乳化性差、化学改性的产物安全性差。而 Maillard 反应形成的糖基化蛋白复合物中, 由于糖分子的多羟基引入, 其溶解性显著提高; 其次, 大豆球蛋白(大豆 β -伴球蛋白)和糖分子通过弱作用力形成的复合物也有利于提高蛋白的溶解性^[7]。另外, 蛋白质糖基化需要加热, 热对大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白的溶解度产生不同程度的影响。大豆 β -伴球蛋白受热后形成可溶性聚集体并被亲水性多糖链包埋, 延缓聚集体进一步集聚, 因此受热后的大豆 β -伴球蛋白保留一定的溶解性; 大豆球蛋白受热后易形成不溶性聚集体且聚集体间可进一步集聚, 使大豆球蛋白的溶解度显著降低^[16]。大豆球蛋白与葡萄糖糖基化反应, 糖基化样品的溶解性不管是在酸性还是在碱性环境, 糖基化蛋白的溶解性显著提高^[17]。类似结果也在大豆 7S 伴球蛋白与葡萄糖、乳糖、半乳糖、麦芽糖的糖基化反应中观察到^[18]。因此, 由于糖基的引入, 除亲水性的多羟基增加溶解性外, 还使大豆球蛋白的空间结构更具有柔性, 进一步增加亲水能力, 增强溶解性, 进而提高了蛋白的吸收和利用效率。

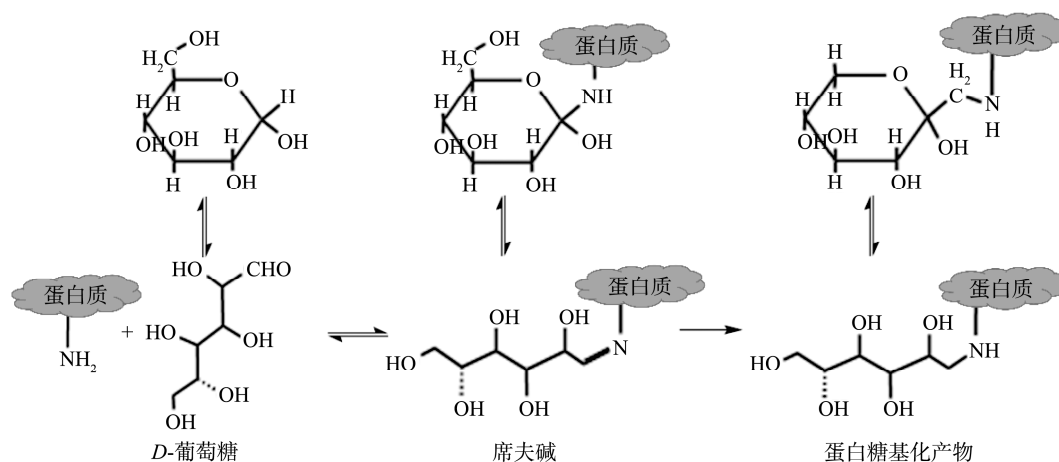


图 2 大豆蛋白糖基化修饰简图

Fig.2 Schematic diagram of glycosylation modification of soybean protein

3.2 糖基化对大豆抗原蛋白乳化性及乳化稳定性的影响

通常蛋白质乳化性强弱取决于其分子能否快速均匀地吸附于油-水界面, 能否快速发生分子重排并形成良好黏弹性的膜^[19]。含二硫键少的蛋白通常具有灵活的柔性结构, 相反则具有刚性结构^[4]。而蛋白质分子空间构象的灵活性与其乳化性及乳化稳定性密切相关。大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白都具有亲水亲油的两亲性^[20]。大豆 β -伴球蛋白分子由于二硫键少、柔性好, 且比大豆球蛋白的分子量小, 在水油界面能够快速被吸附并发生去折叠, 因此乳化性较强; 而大豆球蛋白的二硫键含量较多、分子结构紧密, 且具有不灵活的刚性结构和较大的分子量, 使其乳化性较低。因此大豆 β -伴球蛋白乳化性较大豆球蛋白强^[21]。水油界面的黏弹性的膜也是影响蛋白乳化性的另一因素。TANG^[22]通过构建大豆 7S 和 11S 抗原蛋白吸附模型, 发现大豆 7S 球蛋白形成的黏弹性膜密度高, 乳化稳定性好; 而大豆 11S 球蛋白由于聚集成大的集集体, 所形成黏弹性膜厚薄不均, 相应的乳化稳定性稍差。ZHANG 等^[15]利用干热法进行大豆球蛋白与葡聚糖糖基化反应, 得到的糖基化产物可通过分子间的静电排斥提高乳液稳定性。田燕^[23]利用湿法糖基化大豆球蛋白, 糖基化的大豆球蛋白肽链展开、三级结构被破坏, 空间构象趋于柔性, 分子内疏水基团外露, 表现乳化性增强; 同时引入的多糖提高了大豆球蛋白表面电荷和增强了空间位阻, 乳化稳定性提高。与溶解性类似, 大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白乳化性及乳化稳定性也易受热、糖基化等因素影响。研究表明, 热处理能降低大豆 β -伴球蛋白的乳化性能, 但提高大豆球蛋白的乳化性能^[24]。糖基化大豆抗原蛋白其乳化活性和乳化稳定性随蛋白浓度的增加而提高^[22]。因此通过糖基化方法可以改善蛋白质的乳化性。目前已有不少糖基化蛋白研究成果用于功能性食品乳化剂或起泡剂。如阿拉伯胶、卡拉胶、甘露胶、魔芋胶等与大豆蛋白进行 Maillard 反应, 所获得的产物的乳化性和热稳定性良好; 不仅具有多糖的亲水性而且保留了蛋白的表面活性^[25]。大豆蛋白糖基化后对其蛋白乳化活性有较大影响, 多糖的引入增加了油-水乳化体系中水相的黏度, 并降低油-水表面张力, 以提高糖基化蛋白的乳化稳定性^[26]。因此, 乳化性作为蛋白质一项重要的功能特性, 是评价蛋白质品质的一项重要指标, 能够影响大豆蛋白在食品和饲料行业中的高效利用, 通过适当的改性方法改善大豆抗原蛋白的乳化性对实际生产应用具有重要的意义。

3.3 糖基化对大豆抗原蛋白凝胶性的影响

凝胶是蛋白质在一定条件作用下发生变性, 蛋白分子聚集成特定三维网络结构的物质。这种三维网络结构是

蛋白分子的引力作用(范德华力、静电引力、二硫键、氢键、疏水相互作用等)与斥力作用(水合作用、静电斥力)达到平衡时的结果^[27]。由于大豆球蛋白含二硫键较多, 其形成的凝胶强度大、硬度高; 而大豆 β -伴球蛋白含量少, 凝胶结构的维持主要靠氢键, 因此形成的凝胶较为柔软。相关研究认为 Maillard 反应改变大豆抗原蛋白凝胶性是糖分子的引入部分抑制聚集体的形成, 进而影响凝胶的黏弹性^[28]。任孟珂等^[29]研究发现疏水作用和二硫键是维持大豆抗原蛋白凝胶性能的主要作用力。大豆抗原蛋白分子上引入多糖分子增加了疏水基团的含量, 增强了凝胶形成时的疏水作用力。BU 等^[30]研究发现不同糖与大豆抗原蛋白糖基化反应影响凝胶性能。凝胶持水力为葡萄糖糖基化凝胶大于乳糖糖基化凝胶、乳糖糖基化凝胶大于蔗糖糖基化凝胶, 而凝胶硬度相反。李冰等^[31]通过麦芽糖湿法糖基化大豆球蛋白, 改性后大豆球蛋白凝胶硬度提高了 20.7%。此外, 大豆球蛋白或大豆 β -伴球蛋白糖基化形成凝胶时会受环境因素的影响, 其中温度是最大的影响因素。加热温度低于变性温度不利于凝胶的形成; 加热温度过高, 蛋白严重变性, 不利于三维网络结构形成。如冯芳等^[32]研究观察到温度大于 90℃时, 大豆 β -伴球蛋白凝胶空间结构松散, 胶黏性较低, 而大豆球蛋白在温度 95℃时的凝胶硬度及胶黏性高。类似地改变 pH 或离子强度也对凝胶性产生影响^[33]。因此, 在大豆蛋白的凝胶中 7S 球蛋白的 β 亚基与 11S 球蛋白的碱性亚基有选择性的交互作用, 并能够直接影响着大豆蛋白的凝胶特性。凝胶性是大豆蛋白重要的功能特性之一, 在食品及饲料加工生产中能够有效利用大豆蛋白的凝胶化制作, 有利于提高食品及饲料的稳定性。

3.4 糖基化对大豆抗原蛋白致敏性的影响

大豆球蛋白和大豆 β -伴球蛋白是大豆蛋白中最主要过敏原, 其致敏性是由其蛋白分子上的抗原决定簇即“抗原表位”决定的^[34]。大豆抗原蛋白通过其抗原表位与其特异性抗体或者其致敏的淋巴细胞结合, 引起过敏反应^[35]。按照结合的细胞不同分为 T 细胞表位和 B 细胞表位; 按表位结构中氨基酸的连续性与不连续性不同分为线性表位与构象表位。线性表位一般由 5~7 个连续的氨基酸组成, 构象表位由不连续的氨基酸在空间上形成的特定构象^[36]。为了降低或消除抗原蛋白的致敏性, 通常采用一定的加工技术破坏抗原表位。糖基化修饰是常用的去除抗原蛋白质致敏性方法。陈晓旭等^[8]通过低温法和蒸煮法检测大豆 β -伴球蛋白与葡萄糖糖基化产物对小鼠致敏性的影响, 发现蒸煮糖基化产物结构变化显著, 致敏性最低。BEKALE 等^[37]通过半乳甘露聚糖与大豆球蛋白的糖基化对致敏性的影响研究, 发现 60℃、79%的相对湿度条件下处理 96 h, 大豆致敏蛋白的致敏性显著降低。单晓红^[38]通过对大豆抗原蛋

白二级结构分析,推测大豆 β -伴球蛋白 α -亚基的抗原表位主要集中在蛋白序列的前段, β -转角大多分布在蛋白的表面,易形成抗原表位。糖基化大豆抗原蛋白中,由于引入的糖链使蛋白质分子展开,空间构象改变, β -转角和无规卷曲含量下降,从而使大豆抗原蛋白的致敏性降低^[39]。通常大豆抗原蛋白的 β -折叠埋藏于肽链内,发生糖基化时,抗原蛋白的氢键遭到破坏,削弱了分子间的作用力,使表位的空间构象改变;同时,糖链引入引起的二级结构的 β -折叠和无规卷曲减少,也导致抗原蛋白分子展开,表位破坏,致敏性消失^[40]。因此,糖基化修饰能够有效修饰7S和11S蛋白片段,使其结构和性能发生改变,从而极大地降低了大豆蛋白的抗原性。抗原蛋白致敏性的降低,能够有效地拓宽大豆蛋白在食品及饲料生产中的应用,有效提高大豆蛋白的利用率和利用价值。

4 糖基化大豆蛋白在食品中的应用

食品加工中常常用到不同的处理方式,因此会受到高热、高压、离子强度以及环境pH等影响,导致食品的稳定性和弹性等各种功能特性发生变化,需要添加不同的添加剂以改善其食用品质^[41]。糖基化大豆蛋白的溶解性、乳化性、乳化稳定性等功能特性都得到不同程度的改善,同时糖基化大豆抗原蛋白的致敏性降低^[8]、抗氧化性^[42]和抗菌活性^[43]增强,因此在食品工业中得到广泛应用。如,葡聚糖糖基化大豆蛋白由于其溶解度和稳定性优良,被广泛用于固体饮料,其优越性表现在具有更好的重构性能^[44]。肉制品生产中通常要添加大豆蛋白,常规的蒸煮和高压灭菌处理会显著削弱肉制品稳定性、持水性以及弹性^[45]。通过糖基化大豆蛋白取代大豆蛋白与肌蛋白混合加工,其产品的持水性、稳定性和嫩度等明显得到改善^[46]。有些功能食品加工有时也需要高酸度、高离子强度、氧化剂以及冷冻等环境条件,会导致食品蛋白的乳化性、稳定性被削弱、活性物质被破坏^[47]。为了克服这些缺陷,通常需要使用成膜性或凝胶性好的生物大分子材料。糖基化大豆蛋白的纳米颗粒,具有出色的负载能力和稳定性,可以用来制备微胶囊、纳米凝胶^[48],用于生物活性物质的包裹和传递生物活性化合物的功能^[49]。此外,糖基化大豆抗原蛋白的低致敏性和优良的易消化特性,也已在幼龄动物饲料中得到应用,以缓解大豆抗原蛋白的过敏影响^[50]。

5 结束语

近年来人们对于大豆抗原蛋白足够重视,关于大豆抗原蛋白的鉴定、结构与功能检测等技术方法不断创新,不少新成果被应用到生产实践中。也有不少研究通过糖基化修饰来改善大豆蛋白的功能特性,如增加溶解度和热稳定性、提高乳化性、增强凝胶性、降低起泡性和致

敏性等。这些大豆蛋白功能特性的改善为其在食品、饲料和生物复合材料等领域运用创造了条件。如糖基化大豆蛋白产品已被用于纳米产品制造,或作为载体来包埋、输送生物活性物质,甚至用于制造新型食品和包装材料。然而,大豆抗原蛋白种类较多、结构复杂、难以分离并且水溶性低,限制了糖基化对大豆抗原蛋白结构修饰的深入研究。因此,现有目前研究仍有所不足。鉴于目前大豆蛋白仍占据人和动物蛋白来源的重要地位,后续应系统性研究糖基化技术改良手段以提高大豆蛋白的功能特性,生产具有优良功能特性和安全性的糖基化大豆蛋白产品,拓展其应用领域。

参考文献

- [1] SUI X, ZHANG T, JIANG L. Soy protein: Soy protein: Molecular structure revisited and recent advances in processing technologies [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2021, 12(1): 119–147.
- [2] 王章存, 刘洋, 安广杰, 等. 大豆 β -伴球蛋白脱糖基化及其酶解后抗原活性变化[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(12): 62–66.
WANG ZC, LIU Y, AN GJ, *et al.* Deglycosylation of soybean β -conglycinin and changes in its antigenic activity after enzymatic hydrolysis [J]. *J Cere Oils Ass*, 2020, 35(12): 62–66.
- [3] JOHN H, CHANDRA P, GIRI SK, *et al.* Effect of processing methods on 11S/7S protein and nitrogen solubility index of soy protein isolate [J]. *J Inst Eng (India): Ser A*, 2021, 102(4): 989–994.
- [4] 王喜波, 周国卫, 王小丹, 等. 热处理对糖基化大豆蛋白乳液冻融稳定性的影响[J]. *农业机械学报*, 2020, 51(7): 389–396.
WANG XB, ZHOU GW, WANG XD, *et al.* Effect of heat treatment on freeze-thaw stability of glycosylated soy protein emulsion [J]. *Trans Chin Soc Agric Mach*, 2020, 51(7): 389–396.
- [5] 杨昱, 雷泽夏, 白靖文, 等. 极端 pH 处理对大豆分离蛋白、 β -伴大豆球蛋白、大豆球蛋白结构和功能特性的影响[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(7): 306–313.
YANG Y, LEI ZX, BAI JW, *et al.* Effect of extreme pH treatment on the structure and functional properties of soybean protein, β -conglycinin and glycinin [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 18(7): 306–313.
- [6] TIAN Y, TAHA A, ZHANG PP, *et al.* Effects of protein concentration, pH, and NaCl concentration on the physicochemical, interfacial, and emulsifying properties of β -conglycinin [J]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 118: 106784.
- [7] REILY C, STEWART TJ, RENFROW MB, *et al.* Glycosylation in health and disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(6): 346–366.
- [8] 陈晓旭, 吴玥琨, 张燕. β -伴大豆球蛋白糖基化产物的致敏性研究[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(10): 1–6.
CHEN XX, WU YK, ZHANG Y. Study on allergenicity of β -conglycinin glycosylation products [J]. *Food Res Dev*, 2021, 42(10): 1–6.
- [9] YUAN F, AHMED I, LV L, *et al.* Impacts of glycation and transglutaminase-catalyzed glycosylation with glucosamine on the conformational structure and allergenicity of bovine β -lacto globulin [J]. *Food Funct*, 2018, 9(7): 3944–3955.

- [10] GUO J, YANG XQ, HE XT, *et al.* Limited aggregation behavior of β -conglycinin and its terminating effect on glycinin aggregation during heating at pH 7.0 [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(14): 3782–3791.
- [11] HE XT, YUAN DB, WANG JM, *et al.* Thermal aggregation behaviour of soy protein: Characteristics of different polypeptides and subunits [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(4): 1121–1131.
- [12] WANG ZC, YUAN LY, ZHANG L, *et al.* Change in antigenicity during enzymatic hydrolysis of soybean protein isolate and analysis of linear epitopes in the hydrolysate [J]. *Food Sci*, 2019, 40(10): 64–69.
- [13] GIANLUCA P, MIRYAM AB, MARIA DC, *et al.* Structural characterization of the N-glycosylation of individual soybean β -conglycinin subunits [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1313: 96–102.
- [14] 拓云, 霍彩琴, 田福东, 等. 致敏蛋白 α 亚基缺失型大豆氨基酸组成及营养评价[J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 224–228.
- TUO Y, HUO CQ, TIAN FD, *et al.* Amino acid composition and nutritional assessment of allergenic protein α -subunit-deficient soybean lines [J]. *Food Sci*, 2014, 35(9): 224–228.
- [15] ZHANG M, ZHENG JY, GE KS, *et al.* Glycation of alpha-lactalbumin with different size saccharides: Effect on protein structure and antigenicity [J]. *Int Dairy J*, 2014, 34(2): 220–228.
- [16] NISHINARI K, FANG Y, GUO S, *et al.* Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification [J]. *Food Hydrocolloid*, 2014, 39: 301–318.
- [17] 卢亚东, 梁亚萍, 王愈, 等. 糖基化改性大豆蛋白溶解特性[J]. *食品工业*, 2021, 5: 37–40.
- LU YD, LIANG YP, WANG Y, *et al.* Dissolution characteristics of glycosylated soybean protein [J]. *Food Ind*, 2021, 5: 37–40.
- [18] 迟玉杰, 姜剑, 赵薇. 糖基化反应对大豆 7S 球蛋白凝胶流变性质的影响[J]. *农业机械学报*, 2013, 44(3): 167–172.
- CHI YJ, JIANG J, ZHAO W. Effect of glycosylation reaction on gel rheological properties for soybean 7S globulin [J]. *Trans Chin Soc Agric Mach*, 2013, 44(3): 167–172.
- [19] JOHN H, CHANDRA P, GIRI SK, *et al.* Effect of processing methods on 11S/7S protein and nitrogen solubility index of soy protein isolate [J]. *J Institu Eng*, 2021, 102(4): 989–994.
- [20] CHEN YM, ONO T. Protein particle and soluble protein structure in prepared soymilk [J]. *Food Hydrocolloid*, 2014, 39: 120–126.
- [21] ZHU LJ, XU QY, LIU XY, *et al.* Oil-water interfacial behavior of soy β -conglycinin-soyasaponin mixtures and their effect on emulsion stability [J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 101: 105531.
- [22] TANG CH. Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2017, 57(12): 2636–2679.
- [23] 田燕. 环境条件及糖基化对大豆 7S 蛋白油水界面性质影响及乳化机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- TIAN Y. The effects of environmental factors and glycation on the oil/water interfacial properties of 7S and investigations of emulsification mechanism [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University, 2021.
- [24] 周洋莹, 郑红莉, 杨文钰, 等. 大豆分离蛋白-大豆低聚糖糖基化产物溶解性和乳化性分析[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(1): 118–124.
- ZHOU YY, ZHENG HL, YANG WY, *et al.* Modification of solubility and emulsifying properties of soybean protein isolate by glycosylating with soybean oligosaccharide [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(1): 118–124.
- [25] 曹静, 翁静宜, 程萌, 等. 大豆分离蛋白-葡聚糖糖基化产物作为乳化剂和活性物质载体的性能分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(8): 6–12.
- CAO J, WENG JY, CHENG M, *et al.* Emulsifier and carrier performance of soy protein isolate-dextran conjugates [J]. *Food Sci*, 2018, 39(8): 6–12.
- [26] 夏秀芳, 洪岩, 郑环宇, 等. 湿法糖基化改性对大豆分离蛋白溶解性和乳化能力的影响[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(1): 167–172.
- XIA XF, HONG Y, ZHENG HY, *et al.* Effect of wet glycosylation modification on solubility and emulsifying activity of soybean protein isolate [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2016, 16(1): 167–172.
- [27] 蔡燕萍, 游寅寅, 刘建华, 等. 大豆蛋白凝胶性及其改良方法的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(15): 298–306.
- CAI YP, YOU YY, LIU JH, *et al.* Research progress on gelation of soybean protein and its improvement methods [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(15): 298–306.
- [28] 王松, 夏秀芳, 黄莉, 等. 湿法糖基化改性对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 38–42.
- WANG S, XIA XF, HUANG L, *et al.* Effect of wet glycosylation modification on solubility and emulsifying activity of soybean protein isolate [J]. *Food Sci*, 2014, 35(9): 38–42.
- [29] 任孟珂, 布冠好, 左颖昕. 葡聚糖接枝对大豆蛋白功能特性及结构的影响[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(6): 6–12.
- REN MK, BU GH, ZUO YX. Effects of dextran grafting on functional properties and structure of soy protein [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(6): 6–12.
- [30] BU GH, ZHU TW, CHEN FS, *et al.* Effects of saccharide on the structure and antigenicity of β -conglycinin in soybean protein isolate by glycation [J]. *Eur Food Res Technol*, 2015, 240: 285–293.
- [31] 李冰, 迟玉杰, 鲍志杰, 等. 大豆 11S 球蛋白-麦芽糖共价改性及其凝胶流变特性[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(7): 39–43.
- LI B, CHI YJ, BAO ZJ, *et al.* The optimization of glycinin covalent modification technology and rheological properties of glycinin-maltose Maillard products [J]. *Food Ferment Ind*, 2013, 39(7): 39–43.
- [32] 冯芳, 刘文豪, 陈志刚. 大豆 7S、11S 蛋白的结构与热致凝胶特性的分析[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 58–64.
- FENG F, LIU WH, CHEN ZG. Structure and heat-induced gelation properties of soybean 7S and 11S proteins [J]. *Food Sci*, 2020, 41(2): 58–64.
- [33] YANG YX, WANG QM, TANG YW, *et al.* Effects of ionic strength and (–)-epigallocatechin gallate on physicochemical characteristics of soybean 11S and 7S proteins [J]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 119: 106836.
- [34] SAEED H, GAGNON C, COBER E, *et al.* Using patient serum to epitope map soybean glycinins reveals common epitopes shared with many legumes and tree nuts [J]. *Mol Immunol*, 2016, 70: 125–133.
- [35] 胡永芯, 李欣, 程剑锋, 等. 食物过敏原表位定位技术的研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(7): 292–301.

- HU YX, LI X, CHENG JF, *et al.* Advances in food allergen epitope localization technologies [J]. Food Sci, 2021, 42(7): 292–301.
- [36] KONSTANTINOOU GN. T-cell epitope prediction [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1592: 211–222.
- [37] BEKALE L, AGUDELO D, TAJMIRIAHI HA. Effect of polymer molecular weight on chitosan-protein interaction [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2015, 125: 309–317.
- [38] 单晓红. 大豆和牛奶致敏原表位预测及加工对其抗原性和结构的影响 [D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- SHAN XH. Prediction of soybean and milk allergen peptides and effects of processing treatment on their antigenicity and conformational structure [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [39] YIN HC, HUANG J, ZHANG HR. Study on isolation and raman spectroscopy of glycinin in soybean protein [J]. Grain Oil Sci Technol, 2018, 1(2): 72–76.
- [40] 胡晓利, 布冠好, 陈复生. 大豆蛋白抗原表位及生物脱敏方法研究进展[J]. 食品工业, 2017, 38(12): 249–253.
- HU XL, BU GH, CHEN FS. Development in soybean protein antigen epitopes and biological methods of reducing allergenicity [J]. Food Ind, 2017, 38(12): 249–253.
- [41] WANG LH, SUN X, HUANG GQ, *et al.* Conjugation of soybean protein isolate with xylose/fructose through wet-heating Maillard reaction [J]. J Food Meas Charact, 2018, 12(4): 2718–2724.
- [42] NOOSHKAM M, FALAH F, ZAREIE Z, *et al.* Antioxidant potential and antimicrobial activity of chitosaninulin conjugates obtained through the Maillard reaction [J]. Food Sci Biotechnol, 2019, 28(6): 1861–1869.
- [43] 宋春丽. 糖基化大豆蛋白体外消化产物的抑菌作用及其调控细菌黏附机制[D]. 齐齐哈尔: 齐齐哈尔大学, 2018.
- SONG CL. Antibacterial effect of glycated soybean protein digested in vitro and its mechanism of regulating bacterial adhesion [D]. Qiqihar: Qiqihar University, 2018.
- [44] YAN F, YU XQ, JING YJ. Optimized preparation, characterization, and antioxidant activity of chitoooligosaccharide-glycine Maillard reaction products [J]. J Food Sci Technol, 2018, 55(2): 712–720.
- [45] 王博, 伊东, 谢梦颖, 等. 糖基化大豆分离蛋白对肌原纤维蛋白功能特性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(7): 63–69.
- WANG B, YI D, XIE MY, *et al.* Effect of glycosylated soybean protein isolate on functional properties of myofibrillar protein [J]. Food Sci, 2017, 38(7): 63–69.
- [46] ZHANG Q, LI L, LAN Q, *et al.* Protein glycosylation: A promising way to modify the functional properties and extend the application in food system [J]. Crit Rev Food Sci, 2018: 59(15): 1–28.
- [47] OLIVEIRA FC, COIMBRA JSJR, OLIVEIRA EB, *et al.* Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: A review [J]. Crit Rev Food Sci, 2016, 56(7): 1108–1125.
- [48] SIVAPRATHA S, SARKAR P. Multiple layers and conjugate materials for food emulsion stabilization [J]. Crit Rev Food Sci, 2018, 58(6): 877–892.
- [49] 冯纪璐, 齐军茹, 刘倩茹. 基于糖基化反应及自组装法制备大豆分离蛋白-可溶性大豆多糖核壳结构纳米凝胶[J]. 高等学校化学学报, 2016, 37(11): 1999–2005.
- FENG JL, QI JR, LIU QR. Fabrication of soy protein isolate-soluble soy polysaccharide core-shell nanogels via Maillard reaction and self-assembly [J]. Chem Res Chin Univ, 2016, 37(11): 1999–2005.
- [50] 布冠好, 朱婷伟, 陈复生. 糖基化改性对大豆蛋白抗原性及结构特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(1): 34–39.
- BU GH, ZHU TW, CHEN FS. Effects of glycation modification on soybean protein antigenicity and structural properties [J]. J Cere Oils Ass, 2017, 32(1): 34–39.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介

杨智翔, 硕士, 主要研究方向为动物营养与饲料科学。
E-mail: 963773207@qq.com

殷海成, 教授, 主要研究方向为水产动物营养与免疫。
E-mail: yhch007@126.com