

大豆分离蛋白-壳聚糖美拉德反应 产物的制备条件优化

黄翠萍, 龙迪, 杨智皓, 张伟杰, 蒋中良, 罗典, 刘蓉蓉, 黎杉珊

(四川农业大学食品学院, 四川雅安 625014)

摘要:利用大豆分离蛋白(SPI)与壳聚糖(CS)建立美拉德反应体系,以DPPH自由基清除率、超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)清除率、对细菌(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌)的抑菌性作为检测指标,经单因素实验和正交实验优化分别具有高接枝度、强抗氧化性、强抑菌性的美拉德反应产物(MRPs)的适宜反应温度、相对湿度、反应时间以及SPI与CS质量比。结果表明:当反应温度80℃、相对湿度51.4%、反应时间5h、SPI与CS质量比1:1时,接枝度最高,为65.13%;当反应温度90℃、相对湿度51.4%、反应时间6h、SPI与CS质量比1:1.5时,MRPs对DPPH·清除率最高,为95.63%;当反应温度90℃、相对湿度61.0%、反应时间7h、SPI与CS质量比1:1.5时,MRPs对 $O_2^- \cdot$ 清除率最高,为91.93%;当反应温度100℃、相对湿度51.4%、反应时间6h、SPI与CS质量比1:1.5时,MRPs对大肠杆菌抑菌性最强;当反应温度100℃、相对湿度73.9%、反应时间7h、SPI与CS质量比1:2时,MRPs对金黄色葡萄球菌抑菌性最强;当反应温度100℃、相对湿度26.1%、反应时间3h、SPI与CS质量比2:1时,MRPs对沙门氏菌抑菌性最强。研究结果表明通过控制反应条件,可在一定范围内调节MRPs各个功能性质的强弱以满足不同的实际需要。

关键词:大豆分离蛋白;壳聚糖;美拉德反应共聚物;抗氧化性;抑菌性

中图分类号:TS229;TQ936

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2021)10-0029-08

Optimization of preparation of Maillard reaction products of soybean protein isolate – chitosan

HUANG Cuiping, LONG Di, YANG Zhihao, ZHANG Weijie,
JIANG Zhongliang, LUO Dian, LIU Rongrong, LI Shanshan

(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China)

Abstract: The soybean protein isolate (SPI) and chitosan (CS) were used to establish Maillard reaction system. Using DPPH free radical scavenging rate, superoxide anion free radical ($O_2^- \cdot$) scavenging rate and antibacterial activity against bacteria, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* as detection indicators, the four factors of reaction temperature, reaction time, relative humidity and mass ratio of SPI to CS of preparing Maillard reaction products (MRPs) with high grafting degree, strong antioxidant activity and antibacterial activity respectively were optimized through single factor experiment and orthogonal experiment. The results showed that when the reaction temperature was 80℃, the relative humidity was 51.4%, the reaction time was 5 h and the mass ratio of SPI to CS was 1:1, the grafting degree was the highest, reaching 65.13%. When the reaction temperature was 90℃,

the relative humidity was 51.4%, the reaction time was 6 h and the mass ratio of SPI to CS was 1:1.5, the DPPH· scavenging rate of MRPs was the best (95.63%). When the reaction temperature was 90℃, the relative humidity was 61.0%, the reaction time was 7 h and the mass

收稿日期:2020-12-16;修回日期:2021-07-09

基金项目:四川省教育厅2018年度科研项目(18ZB0458)

作者简介:黄翠萍(1995),女,在读硕士,研究方向为食品安全与控制(E-mail) cuipinghuang_miss@163.com。

通信作者:黎杉珊,副教授(E-mail) lishanshan.812@163.com。

ratio of SPI to CS was 1:1.5, the $O_2^- \cdot$ scavenging rate of MRPs was the highest(91.93%). When the reaction temperature was 100 °C, the relative humidity was 51.4%, the reaction time was 6 h and the mass ratio of SPI to CS was 1:1.5, MRPs had the strongest antibacterial effect on *E. coli*; when the reaction temperature was 100 °C, the relative humidity was 73.9%, the reaction time was 7 h and the mass ratio of SPI to CS was 1:2, MRPs had the strongest antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*; when the reaction temperature was 100 °C, the relative humidity was 26.1%, the reaction time was 3 h and the mass ratio of SPI to CS was 2:1, MRPs had the strongest antibacterial activity against *Salmonella*. The results showed that by controlling the reaction conditions, the strength of each functional property of MRPs could be adjusted within a certain range to meet different actual needs.

Key words: soybean protein isolate; chitosan; Maillard reaction copolymer; antioxidant activity; antibacterial activity

美拉德反应是一种对蛋白质化学改性的天然方法,利用食品中存在的羰基和含游离氨基化合物发生羰氨反应,生成美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs)。MRPs 能赋予食品独特的色泽和风味^[1],同时本身可能表现出良好的乳化性^[2]、抗氧化性^[3]和抑菌性^[4]等多种功能特性,已被广泛用于食品加工中。还原糖与蛋白质之间的美拉德反应是具有多步反应的化学过程,在反应阶段会不断产生新的化合物和消耗原有的化合物^[5],因此不同阶段的控制条件不同所得到的 MRPs 功能性质会有所不同。大量的文献研究表明,MRPs 组成复杂,除了受食物基质组成不同的影响外,反应条件如温度、时间、pH 和水分活度等也是影响 MRPs 组成成分的重要因素。

大豆分离蛋白(SPI)是从大豆中分离出来的一类全价蛋白,蛋白质含量在 90% 以上,含有铁、铜、锌、镁等微量元素,可以增加食品的营养价值^[6]。SPI 经美拉德改性后可兼具良好的乳化性^[7]、抗氧化性^[8]、抑菌性,且能降低大豆蛋白抗原性^[9],可作为天然食品添加剂用于食品加工^[10-11]。目前,利用 MRPs 作为新型的抗氧化剂和抑菌剂成为了研究热点。已有实验探究了 SPI 与单糖^[12]、低聚糖^[13]等反应生成具有某种或多种功能活性的 MRPs 的制备条件。壳聚糖(Chitosan, CS)是一种高分子多糖,具有良好的抗氧化和抑菌作用。已有研究证明,壳聚糖的美拉德反应产物具有比其本身更强的抗氧化能力^[14]以及抑菌作用^[15]。

目前,利用 SPI 和 CS 制备抗氧化性或抑菌性 MRPs 的研究较少。因此,本研究以 SPI 和 CS 为原料,通过建立干热法美拉德反应体系,将 CS 分子引入大豆蛋白分子中,制备大豆分离蛋白-壳聚糖(SPI-CS)共聚物,通过优化体系的反应条件,探究 MRPs 具有强抗氧化性或抑菌性时的最优条件,为

天然抗氧化剂及防腐保鲜剂的开发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

大豆分离蛋白(SPI),四川百奥莱博有限责任公司;壳聚糖(CS),潍坊海之源生物制品有限公司。10 mol/L HCl 溶液、无水乙醇、氯化镁、溴化钠、碘化钾、氯化钠,四川丽康有限公司;0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液、6 mmol/L 邻苯三酚、20 mmol/L DPPH 溶液、1% 乙酸、三硝基苯磺酸(TNBS)(生化试剂),均为分析纯。

LB 培养基:酵母提取物 5 g,蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g,琼脂 20 g,定容于 1 000 mL,采用 NaOH 调节 pH 为 7.4~7.6,分装,121 °C 条件下灭菌 20 min。

菌悬液:将供试菌种(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌)移入相对应的试管斜面培养基,于 37 °C 下培养 18~24 h,用接种环挑取少许菌体,放入装有灭菌水的试管内,振荡摇匀,制成菌悬液。采用比浊法计数,调整菌悬液浓度,使其含菌数约为 10^7 个/mL,备用。

1.1.2 仪器与设备

UV-3100 紫外分光光度计,PT2500E 小型均质机,THZ-D 恒温水浴锅,FA 电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司),FE28-pH 计,F-4500 荧光分光光度计,BT124S 分析天平,YHG-9023 台式鼓风干燥箱,HWS 恒温培养箱,高压蒸汽灭菌锅,超净工作台,康威氏皿,研钵,180 μm (80 目)筛网。

1.2 实验方法

1.2.1 SPI-CS 共聚物(MRPs)的制备

参考文献[16]的方法,稍作修改。按一定质量比分别称取 SPI 和 CS,将两者于研钵中研碎混匀。称取 4.0 g 混合物置于康威氏皿内室中,饱和盐溶液置于外室中以控制相对湿度恒定,盖上玻璃盖,放

入恒温箱中于一定温度反应一定时间后得到MRPs,冷却,备用。

1.2.2 接枝度测定

采用三硝基苯磺酸(TNBS)法间接测定接枝度。取0.25 mL待测样品于试管中,加入2 mL磷酸盐缓冲液(浓度为15 mol/L,pH 8.21)混合,再加入2 mL 0.1% TNBS溶液,充分混匀,置于50℃水浴锅中避光加热60 min。保温条件下直接加入4 mL 0.1 mol/L HCl终止反应。室温条件下冷却30 min,以蒸馏水为空白,测定340 nm处的吸光度(A_{340})。代入以赖氨酸为标准物作出的标准曲线中,计算样品中自由氨基的含量^[17]。按下式计算接枝度(D)。

$$D = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: C_0 为未反应时蛋白质自由氨基总量; C_t 为反应 t 时刻蛋白质自由氨基的含量。

1.2.3 MRPs 抗氧化性的测定

对 O_2^- ·清除率的测定:取0.1 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH 8.2) 4.50 mL、MRPs样液1 mL和蒸馏水2.4 mL混匀,25℃下保温10 min后加入0.1 mL 6 mmol/L邻苯三酚摇匀,反应3 min,加入10 mol/L HCl溶液0.1 mL终止反应,以蒸馏水为参比,在325 nm下测定吸光度^[18]。按下式计算MRPs对 O_2^- ·的清除率(Y_1)。

$$Y_1 = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为以水代替样液时测得的吸光度; A_t 为不同样液测得的吸光度。

对DPPH·清除率的测定:取2.5 mL MRPs样液及2.5 mL 20 mmol/L DPPH溶液于同一具塞试管中摇匀,室温下密闭静置30 min,以50%乙醇溶液作为参比溶液,于517 nm处测定吸光度^[19]。按下式计算MRPs对DPPH·的清除率(Y_2)。

$$Y_2 = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_0 为DPPH溶液的吸光度; A_i 为加入MRPs后DPPH溶液的吸光度; A_j 为乙醇溶液的吸光度。

1.2.4 MRPs 抑菌性的测定

取直径为6 mm的滤纸片放入稀释10倍的MRPs溶液中浸泡6 h,置于真空干燥箱中灭菌干燥。分别取0.2 mL待测菌悬液注入直径为120 mm的无菌培养皿中培养,再倒入20 mL LB培养基,混匀后冷却成含菌平板,然后用无菌镊子夹取上述处理的滤纸片贴在含菌平板上,每皿贴6片,设3个平行,置于37℃培养箱中培养24 h,测定滤纸片周围抑菌圈直径大小,比较MRPs的抑菌作用^[20]。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

采用单因素实验考察SPI-CS共聚物(MRPs)制备的反应条件。反应温度:按1.2.1方法,在SPI与CS质量比1:1,相对湿度61.0%(饱和碘化钾溶液)下,分别在60、70、80、90、100℃下反应6 h得到MRPs。反应时间:按1.2.1方法,控制SPI与CS质量比1:1,相对湿度61.0%(饱和碘化钾溶液),优化的反应温度下,分别反应3、4、5、6、7 h得到MRPs。相对湿度:按1.2.1方法,在SPI与CS质量比1:1,优化的反应温度和反应时间下,分别在饱和氯化锂溶液(相对湿度为10.2%)、饱和氯化镁溶液(相对湿度为26.1%)、饱和溴化钠溶液(相对湿度为51.4%)、饱和碘化钾溶液(相对湿度为61.0%)、饱和氯化钠溶液(相对湿度为73.9%)控制相对湿度的情况下得到MRPs。SPI与CS质量比:按1.2.1方法,在SPI与CS质量比分别为2:1、1.5:1、1:1、1:1.5和1:2的情况下,按优化结果控制反应温度、反应时间及相对湿度,进行美拉德反应得到MRPs。单因素实验结果见图1。

由图1可看出,接枝度随反应温度的升高、相对湿度的增大、反应时间的延长先升高后降低,但随SPI与CS质量比的减小整体升高,分别在反应温度70℃、相对湿度61.0%、反应时间5 h、SPI与CS质量比1:2时达到最大值。

由图1A可知,随着反应温度由60℃升至90℃的过程中,MRPs对DPPH·和 O_2^- ·的清除率呈上升趋势,这与文献[21]报道基本一致。温度继续上升时, O_2^- ·清除率稍有下降,DPPH·清除率略有上升,因此90℃是MRPs抗氧化性最强的反应条件。由图1B可知,随着相对湿度的增加,MRPs对自由基的清除率均呈先上升后下降的趋势,当相对湿度为51.4%时,DPPH·清除率最大,为74.97%。而在相对湿度为61.0%时, O_2^- ·清除率达到最大,为70.52%。由图1C可知,当反应时间逐渐延长到7 h时,MRPs对DPPH·和 O_2^- ·的清除率逐渐增加至最高值,分别达到78.62%、73.33%,说明反应时间会对MRPs的抗氧化性产生影响。由图1D可知,随着CS含量的提高,MRPs的抗氧化性先上升后下降,当SPI与CS质量比为1.5:1时,DPPH·清除率达到最佳,为72.39%。而当SPI与CS质量比为1:1时, O_2^- ·清除率最大,达到68.63%。

据已有研究发现,抗氧化性能的增强可能与美拉德反应过程中类黑精的产生有关^[22]。由于SPI与CS的反应过程中会形成大量的杂环化合物,这使得杂环上 π 电子分布不均匀,碳原子的 π 电子云密度提高,促进了自由基的亲电加成,因此具有较强

的自由基清除能力^[23]。

抑菌圈直径大小同抑菌作用呈正相关^[20]。由图 1A 可知,MRPs 对 3 种目标菌的抑菌作用均在 100 °C 时达到最大。由图 1C 可知,当反应时间为 3 h 时,MRPs 对沙门氏菌的抑菌作用最强,这可能是新产生的化合物和残余的 CS 共同作用的结果。随着反应时间的延长,MRPs 对其他两种菌的抑菌作用均呈先上升后下降的趋势。当反应时间为 6 h

时,大肠杆菌抑菌圈直径达到最大。当反应时间为 5 h 时,MRPs 对金黄色葡萄球菌的抑菌作用最强。通过图 1B、图 1D 可以得到,MRPs 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌的抑菌作用分别在相对湿度为 61.0%、73.9%、51.4%,SPI 与 CS 质量比为 1:1、2:1 和 1:2 时达到最强。结果表明,MRPs 对这 3 种目标菌的最佳抑菌作用并不在同样的反应条件下。

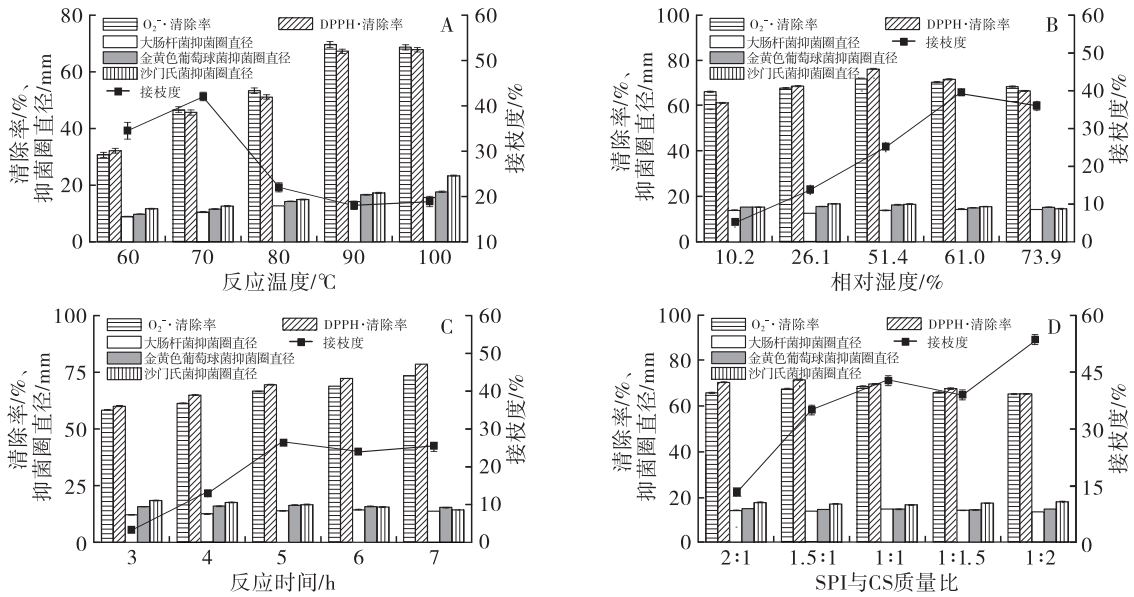


图 1 不同反应条件对美拉德反应产物接枝度、抗氧化性和抑菌性的影响

2.2 正交实验

根据单因素实验结果,以反应温度、相对湿度、反应时间和 SPI 与 CS 质量比为考察因素,采用 L₂₅ (5⁴) 正交实验,以接枝度、抗氧化性和抑菌性为检测指标,优化反应条件,确定最优反应组合。正交实验因素水平见表 1,正交实验设计及结果见表 2,各指标的方差分析见表 3。

表 1 正交实验因素水平

水平	A 反应温度/°C	B 相对湿度/%	C 反应时间/h	D SPI 与 CS 质量比
1	60	10.2	3	2:1
2	70	26.1	4	1.5:1
3	80	51.4	5	1:1
4	90	61.0	6	1:1.5
5	100	73.9	7	1:2

表 2 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	接枝度/%	清除率/%		抑菌圈直径/mm		
						DPPH·	O ₂ ·	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
1	1	1	1	1	22.46	44.32	36.34	8.6	9.6	13.5
2	1	2	2	2	39.96	37.53	36.05	9.5	8.7	14.6
3	1	3	3	3	56.07	33.15	30.66	9.8	8.9	13.6
4	1	4	4	4	51.02	33.60	37.86	10.3	9.5	12.2
5	1	5	5	5	20.29	32.19	38.79	6.7	10.3	11.7
6	2	2	1	3	51.26	26.68	26.93	11.6	11.6	14.5
7	2	3	2	4	52.94	62.93	60.59	12.9	14.8	15.6
8	2	4	3	5	53.37	31.32	38.86	13.4	13.7	13.2
9	2	5	4	1	32.41	34.87	19.96	14.0	14.6	13.7
10	2	1	5	2	31.61	41.67	39.60	13.7	13.2	14.2
11	3	3	1	5	54.63	48.88	45.76	14.5	14.6	18.7
12	3	4	2	1	48.69	62.55	62.85	13.9	15.3	16.4

续表 2

实验号	A	B	C	D	接枝度/%	清除率/%		抑菌圈直径/mm		
						DPPH ·	O ₂ ⁻ ·	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
13	3	5	3	2	44.92	46.56	49.93	13.7	16.8	15.8
14	3	1	4	3	41.23	82.63	82.32	14.8	14.8	14.3
15	3	2	5	4	37.54	51.83	53.32	15.2	16.9	13.5
16	4	4	1	2	28.72	89.35	89.66	14.7	15.5	19.8
17	4	5	2	3	46.53	23.43	53.33	16.3	15.7	18.7
18	4	1	3	4	40.99	78.85	76.04	14.3	16.8	15.6
19	4	2	4	5	22.38	90.51	79.63	14.5	18.8	16.6
20	4	3	5	1	30.88	86.33	85.50	15.7	16.4	17.7
21	5	5	1	4	38.26	94.63	91.10	16.3	16.1	21.3
22	5	1	2	5	31.04	23.57	17.52	14.7	17.1	22.3
23	5	2	3	1	32.97	76.85	74.60	16.7	16.5	26.3
24	5	3	4	2	22.54	83.63	79.43	16.9	17.1	19.8
25	5	4	5	3	30.08	84.66	89.86	14.2	18.2	18.4
接枝度										
K ₁	189.80	167.33	195.33	167.41						
K ₂	221.59	184.11	219.16	167.75						
K ₃	227.01	217.06	228.32	225.17						
K ₄	169.50	211.88	169.58	220.75						
K ₅	154.89	182.41	150.40	181.71						
R	72.12	49.73	77.92	57.76						
DPPH · 清除率										
K ₁	180.79	271.04	303.86	304.92						
K ₂	197.47	283.40	210.01	298.74						
K ₃	292.45	314.92	266.73	250.55						
K ₄	368.47	301.48	325.24	321.84						
K ₅	363.34	231.68	296.68	226.47						
R	187.68	83.24	115.23	95.37						
O ₂ ⁻ · 清除率										
K ₁	179.70	251.82	289.79	279.25						
K ₂	185.94	270.53	230.34	294.67						
K ₃	294.18	301.94	270.09	283.10						
K ₄	384.16	319.09	299.20	318.91						
K ₅	352.51	253.11	307.07	220.56						
R	204.46	67.27	76.73	98.35						
大肠杆菌抑菌圈直径										
K ₁	44.9	66.1	65.7	68.9						
K ₂	65.6	67.5	67.3	68.5						
K ₃	72.1	69.8	67.9	66.7						
K ₄	75.5	66.5	70.5	69.0						
K ₅	78.8	67.0	65.5	63.8						
R	33.9	3.7	5.0	5.2						
金黄色葡萄球菌抑菌圈直径										
K ₁	47.0	71.5	67.4	72.4						
K ₂	67.9	72.5	71.6	71.3						
K ₃	78.4	71.8	72.7	69.2						
K ₄	83.2	72.2	74.8	74.1						
K ₅	85.0	73.5	75.0	74.5						
R	38.0	2.0	7.6	5.3						

续表 2

实验号	A	B	C	D	接枝度/%	清除率/%		抑菌圈直径/mm		
						DPPH ·	O ₂ ⁻ ·	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
沙门氏菌抑菌圈直径										
K ₁	65.6	79.9	87.8	87.6						
K ₂	71.2	85.5	87.6	84.2						
K ₃	78.7	85.4	84.5	79.5						
K ₄	88.4	80.0	76.6	78.2						
K ₅	108.1	81.2	75.5	82.5						
R	42.5	5.6	12.3	9.4						

表 3 各指标的方差分析

项目	方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著性
接枝度	A	467.303	4	116.83	3.56	*
	B	274.890	4	68.72	2.09	
	C	841.823	4	210.46	6.41	**
	D	728.326	4	182.08	5.54	**
	误差	262.728	8	32.84		
	总和	2 575.070	24			
DPPH · 清除率	A	6316.011	4	1 579.00	2.81	*
	B	821.238	4	205.31	0.37	
	C	1 593.521	4	398.38	0.71	
	D	1 290.855	4	322.71	0.57	
	误差	4 493.871	8	561.73		
	总和	14 515.495	24			
O ₂ ⁻ · 清除率	A	7 042.598	4	1 760.65	3.69	*
	B	722.759	4	180.69	0.38	
	C	751.826	4	187.96	0.39	
	D	1 054.004	4	263.50	0.55	
	误差	3 821.001	8	477.63		
	总和	13 392.186	24			
大肠杆菌 抑菌性	A	145.430	4	36.357	21.93	***
	B	1.686	4	0.421	0.25	
	C	3.274	4	0.818	0.49	
	D	3.894	4	0.973	0.59	
	误差	13.263	8	1.658		
	总和	167.546	24			
金黄色葡萄 球菌抑菌性	A	195.352	4	48.838	36.75	***
	B	0.476	4	0.119	0.09	
	C	7.640	4	1.910	1.44	
	D	3.740	4	0.935	0.70	
	误差	10.632	8	1.329		
	总和	217.840	24			
沙门氏菌 抑菌性	A	223.572	4	55.893	17.12	***
	B	6.412	4	1.603	0.49	
	C	28.372	4	7.093	2.17	
	D	11.268	4	2.817	0.86	
	误差	26.136	8	3.267		
	总和	295.760	24			

注: $F_{0.01(4,8)} = 7.01$, $F_{0.05(4,8)} = 3.84$, $F_{0.1(4,8)} = 2.806$; * 表示差异略显著, ** 表示差异显著, *** 表示差异极显著。

由表2极差结果可知,影响MRPs接枝度的因素影响大小为反应时间(C) > 反应温度(A) > SPI与CS质量比(D) > 相对湿度(B),最优组合为A₃B₃C₃D₃,即反应温度80℃、相对湿度51.4%、反应时间5h、SPI与CS质量比1:1,在此条件下接枝度为65.13%。由表3可知,反应温度、反应时间和SPI与CS质量比是影响接枝度的显著因素,相对湿度影响不显著。温度较低时,美拉德反应难以发生,一定的高温条件下,部分蛋白质结构会发生变化,可能导致内部氨基的暴露,并与壳聚糖进一步发生反应,从而使得反应程度增加^[16]。

由表2极差结果可知,各因素对MRPs的DPPH·清除率影响大小为反应温度(A) > 反应时间(C) > SPI与CS质量比(D) > 相对湿度(B),最优组合为A₄B₃C₄D₄,即反应温度90℃、相对湿度51.4%、反应时间6h、SPI与CS质量比1:1.5,在此条件下MRPs的DPPH·清除率为95.63%。各因素对MRPs的O₂⁻·清除率影响大小为反应温度(A) > SPI与CS质量比(D) > 反应时间(C) > 相对湿度(B),最优组合为A₄B₄C₅D₄,即反应温度90℃、相对湿度61.0%、反应时间7h、SPI与CS质量比1:1.5,在此条件下MRPs的O₂⁻·清除率为91.93%。由表3可知,反应温度对DPPH·和O₂⁻·清除率影响略显著,其余3个因素影响不显著。

由表2极差结果可知,影响大肠杆菌抑菌性的各因素影响大小为反应温度(A) > SPI与CS质量比(D) > 反应时间(C) > 相对湿度(B),最优组合为A₅B₃C₄D₄,即反应温度100℃、相对湿度51.4%、反应时间6h、SPC与CS质量比1:1.5。影响金黄色葡萄球菌抑菌性的各因素影响顺序为反应温度(A) > 反应时间(C) > SPI与CS质量比(D) > 相对湿度(B),最优组合为A₅B₅C₅D₅,即反应温度100℃、相对湿度73.9%、反应时间7h、SPI与CS质量比1:2。影响沙门氏菌抑菌性的各因素影响顺序为反应温度(A) > 反应时间(C) > SPI与CS质量比(D) > 相对湿度(B),最优组合为A₅B₂C₁D₁,即反应温度100℃、相对湿度26.1%、反应时间3h、SPI与CS质量比2:1。在各自最优反应条件制备的MRPs,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌的抑菌圈直径分别为18.3、19.7 mm和28.7 mm。根据表3方差分析结果,反应温度是影响MRPs抑菌性能的极显著因素,其余3个因素对MRPs抑菌性能的影响不显著。结果表明,反应温度是制备具有抗氧化性和

抑菌性MRPs的首要考虑因素。

3 结论

建立大豆分离蛋白与壳聚糖的美拉德反应体系,通过单因素实验和正交实验,对SPI和CS的美拉德反应条件进行了优化,以期探究在不同反应温度、反应时间、相对湿度、SPI与CS质量比条件下所得到的美拉德反应产物(MRPs)对自由基的清除能力和抑菌作用。结果显示,不同反应条件下可得到具有不同接枝度的MRPs,当接枝度达到最大时,MRPs的抗氧化性或抑菌性却不是最好的,这也表明并不是接枝度越高MRPs的功能性质就越强,因此不同接枝度的MRPs的功能性质不同,可以在不同反应条件下得到相应的MRPs来满足不同的实际需要,如抑菌剂或抗氧化剂的制备。这反映出不同的制备条件下,得到不同反应程度的MRPs,MRPs组成成分的种类和含量存在不同,由此导致其功能性质的表现强弱不同,但不同反应条件下所得MRPs中包含的具体功能性成分还需要进一步的实验分析。

参考文献:

- [1] 张艳凌,许瑞红,杨立,等. 利用鲟鱼排开发高钙风味酱的配方研究[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(6): 88-95.
- [2] CHEN K, YANG Q, HONG H, et al. Physicochemical and functional properties of Maillard reaction products derived from cod (*Gadus morhua* L.) skin collagen peptides and xylose [J/OL]. Food Chem, 2020, 333: 127489 [2020-12-16]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127489>.
- [3] MAJID N, MEHDI V, MOEIN B. The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems [J]. Food Chem, 2018, 275: 40-89.
- [4] BHATTACHARJEE M K, MEHTA B S, AKUKWE B. Maillard reaction products inhibit the periodontal pathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* by chelating iron [J/OL]. Arch Oral Biol, 2021, 122: 104989 [2020-12-16]. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104989>.
- [5] 李琳,魏长庆. 美拉德反应机理及其在植物油中应用的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(9): 7-9.
- [6] 孙明霞,王富刚. 大豆分离蛋白在熏煮香肠加工中的应用[J]. 肉类工业, 2019(12): 5-7.
- [7] 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.
- [8] 杨楠, 罗凡, 费学谦, 等. 干燥方式对油茶籽油中美拉德反应产物及其抗氧化性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 14 - 18.
- [9] 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.
- [10] 何晓叶, 邵克东, 高彦祥, 等. 美拉德反应制备蛋白质-多糖共价复合物的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(6): 377 - 382.
- [11] 张洪云, 谢晶, 邵则淮, 等. 大豆分离蛋白美拉德反应研究进展[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(10): 196 - 202.
- [12] 项惠丹, 许时婴, 王璋. 蛋白质与还原糖美拉德反应产物的抗氧化活性[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 52 - 57.
- [13] TAVARES L, SOUZA H K S, GONALVES M P, et al. Physicochemical and microstructural properties of composite edible film obtained by complex coacervation between chitosan and whey protein isolate[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2021, 113: 106471 [2020 - 12 - 26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106471>.
- [14] MENGIBAR M, MIRALLES B, HERAS A. Use of soluble chitosans in Maillard reaction products with β -lactoglobulin. Emulsifying and antioxidant properties[J]. LWT - Food Sci Technol, 2017, 75(1): 440 - 446.
- [15] 邱婷婷, 谭啸, 李若男, 等. 壳聚糖-单糖美拉德反应产物的制备及其在抗菌和抗氧化中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(19): 327 - 333.
- [16] 赵磊, 王旋, 宋亚旭. 大豆分离蛋白-多糖美拉德反应共聚物的制备及性能研究[J]. 食品科技, 2015, 40(8): 256 - 261.
- [17] WANG Y Y, LIU F G, LIANG C X, et al. Effect of Maillard reaction products on the physical and antimicrobial properties of edible films based on ϵ -polylysine and chitosan[J]. Sci Food Agric, 2014, 94(14): 2986 - 2991.
- [18] 齐宝坤, 赵城彬, 杨树昌, 等. 绿豆分离蛋白-葡聚糖接枝反应及产物抗氧化性研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(12): 74 - 80.
- [19] 刘海梅, 陈静, 郝良文, 等. 葡萄糖-牡蛎酶解液美拉德反应体系的抗氧化活性[J]. 食品科学, 2018, 39(1): 47 - 52.
- [20] 董志俭, 李冬梅, 徐黎涵, 等. 反应条件对壳聚糖/果糖美拉德产物抗氧化性和抑菌性的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(6): 212 - 215.
- [21] 林巍, 曲国强, 高健, 等. 糖对紫花芸豆肽美拉德反应产物抗氧化活性及结构的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(11): 298 - 301.
- [22] 杨楠, 罗凡, 费学谦, 等. 油茶籽美拉德反应及其产物抗氧化性[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(2): 67 - 72.
- [23] 杨健, 李芳菲, 武淑影, 等. 大豆蛋白美拉德反应产物的抗氧化特性及其机理[J]. 中国食品学报, 2017, 17(2): 44 - 51.
- (上接第 28 页)
- [20] SUN Q, MA Z F, ZHANG H, et al. Structural characteristics and functional properties of walnut glutelin as hydrolyzed; effect of enzymatic modification[J]. Int J Food Prop, 2019, 22(1): 265 - 279.
- [21] WU C, MA W C, CHEN Y M, et al. The water holding capacity and storage modulus of chemical cross-linked soy protein gels directly related to aggregates size[J]. LWT - Food Sci Technol, 2019, 103: 125 - 130.
- [22] REN J, SONG C L, WANG P, et al. Modification of structural and functional properties of sunflower 11S globulin hydrolysates[J]. Czech J Food Sci, 2017, 33(5): 474 - 478.
- [23] SHENG W W, ZHAO X H. Functional properties of a cross-linked soy protein-gelatin composite towards limited tryptic digestion of two extents[J]. J Sci Food Agric, 2014, 93(15): 3785 - 3791.
- [24] KIM H O, EUNICE C Y, LI C. Quantitative structure-activity relationship study of bitter peptides[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(26): 10102 - 10111.
- [25] TANG S C H. Microfluidization as a potential technique to modify surface properties of soy protein isolate[J]. Food Res Int, 2012, 48(1): 108 - 118.