

# 酱油渣蛋白质的分离、鉴定和氨基酸组成特征研究

高献礼<sup>1,2,3</sup>, 赵斯薇<sup>3</sup>, 孙鹏飞<sup>1,3</sup>, 陆健<sup>1,2,3</sup>

(1. 江南大学粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏无锡 214122) (2. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏无锡 214122) (3. 江南大学生物工程学院, 江苏无锡 214122)

**摘要:** 本文以酱油上清液为对照, 以过滤-冷冻真空干燥法制备了酱油渣。首先, 对比研究了酱油渣的常规理化指标。其次, 以 SDS-PAGE、MALDI-TOF/TOFMS 和 HPLC 法对酱油渣和酱油上清中蛋白质分子量分布、来源与种类及氨基酸组成特征进行了研究。结果显示酱油渣(湿渣)主要由 15.98% 的碳水化合物、10.19% 的蛋白质、10.10% 的食盐和 59.50% 的水分组成。SDS-PAGE 和 MALDI-TOF/TOFMS 分析结果显示酱油渣蛋白质主要由分子量约为 19.3 kDa(a, 59.40%)、31.8 kDa(b, 12.91%) 和 12.3 kDa(c, 27.69%) 的蛋白质亚基组成, 经质谱鉴定分子量为 19.3 kDa 的多肽(a)为 Glycinin G4 亚基碱性端 B<sub>3</sub>。酱油渣蛋白质氨基酸组成分析表明, 与酱油上清中蛋白质相比, 酱油渣蛋白质中疏水性氨基酸含量和平均疏水值明显高于酱油上清中蛋白质。上述差异是酱油渣蛋白质氨基酸组成的主要特征, 也是酱油渣蛋白质水溶性差和形成的主要原因。

**关键词:** 酱油; 酱油渣; 蛋白质; 氨基酸组成

文章编号: 1673-9078(2013)10-2512-2516

## Isolation, Identification and Amino Acid Composition of Proteins in Soy Sauce Residue

GAO Xian-li<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Si-wei<sup>3</sup>, SUN Peng-fei<sup>1,3</sup>, LU Jian<sup>1,2,3</sup>

(1. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(3. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** In this paper, the soy sauce residue was prepared by filtration-lyophilization, and the supernatant of soy sauce was used as control. The proximate indices of soy sauce residue were comparatively analyzed. The molecular weight distribution, variety and source and characteristics of amino acid composition of proteins in soy sauce residue and the supernatant were investigated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight/time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF/TOFMS) and high-performance liquid chromatography (HPLC). Results showed that soy sauce residue (wet) was mainly composed of carbohydrate (15.98%), proteins (10.19%), NaCl (10.10%) and water (59.50%). Analysis of SDS-PAGE and MALDI-TOF/TOFMS results demonstrated that proteins in soy sauce residue primary consisted of molecular weights of 19.3 kDa (a, 59.40%), 31.8 kDa (b, 12.91%) and 12.3 kDa (c, 27.69%) subunits, and proteins with molecular weights of 19.3 kDa (a) was identified as the basic polypeptide B<sub>3</sub> of soy glycinin G4. Research on amino acid composition indicated the hydrophobic amino acid content and the average hydrophobicity of proteins in soy sauce residue were significantly higher than those in the supernatant proteins. The differences were the chief characteristics in amino acid composition of proteins in soy sauce residue, and could explain the low solubility and formation of soy sauce residue proteins.

**Key words:** soy sauce; soy sauce residue; protein; amino acid composition

收稿日期: 2013-06-14

基金项目: 江南大学 2011 年校自主科研计划项目 (JUSRP111A26), 江南大学工业生物技术教育部重点实验室开放课题 (KL1B-KF201108), 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 高献礼 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 发酵食品及食品风味化学

通信作者: 陆健 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究酿酒微生物及酶技术

酱油渣是指酿造酱油原料经发酵、抽油或淋抽后产生的固体残渣<sup>[1]</sup>。酱油渣一般呈深棕色, 其中粗蛋白质含量约 25%、粗脂肪约 9.7%、粗纤维约 13.5%、灰分约 10.5%, 此外还含有丰富的异黄酮<sup>[2]</sup>。其营养成分随生产原料和工艺不同有一定的差异。由此可见, 酱油渣中仍然含有大量的可再利用成分。酱油渣含水约 70%, 微生物易生长繁殖, 不宜贮藏<sup>[3]</sup>。

随着我国酱油行业的快速发展,目前我国酱油渣年产量约 500 万 t,若不进行及时处理会造成环境污染<sup>[4-5]</sup>。

目前低盐固态酱油渣常作为肥料或饲料低价出售,产品附加值较低。高盐稀态酱油渣含盐量高,不能直接作为动物饲料或肥料<sup>[6]</sup>;由于脱盐处理成本高,部分厂家采用直接填埋的方式处理,但会导致土壤盐碱化,给环境造成很大的污染。目前对酱油渣的开发利用主要有两种方案。其一是利用酱油渣为原料通过后续工艺处理,拓展其应用范围,提高其附加值。如将酱油渣适度脱盐后生产有机肥料和饲料<sup>[7]</sup>,利用酱油渣提取保健因子、膳食纤维和油脂等<sup>[3,8-9]</sup>。其二是利用外加酶制剂或二次发酵技术提高酱油原料利用率,减少酱油渣的生成。上述方案为酱油渣的合理利用提供了新的思路,但也存在处理成本偏高等问题。为找到更好的利用酱油渣特别是其中蛋白质成分的方法,对其中蛋白质的来源和结构特征等相关内容进行全面和深入的研究尤为重要。但目前国内外对酱油渣蛋白质的研究尚未受到足够重视。因此,本研究拟利用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、基质辅助激光解析电离飞行时间串联质谱(MALDI-TOF/TOF MS)和高效液相色谱(HPLC)法对酱油渣蛋白质进行分离、鉴定和氨基酸特征进行研究,为酱油渣的深度开发和利用提供基础数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料

酱油渣和酱油渣上清液(简称上清液):广东某酱油企业提供,高盐稀态发酵,主要原料为大豆、面粉和食盐,发酵周期6个月。

### 1.2 主要试剂与仪器

#### 1.2.1 主要试剂

氨基酸标准品购自美国 sigma 公司。乙酸钠、乙氰、三乙胺、硫酸铜、亚甲基蓝、酒石酸钾、亚铁氰化钾、葡萄糖、硝酸银、氢氧化钠、四硼酸钠、磷酸氢二钠等均为分析纯,购自中国医药集团上海化学试剂公司。

#### 1.2.2 主要仪器

Kjeitec2300 凯氏定氮仪,瑞典 FOSS 分析仪器有限公司;高效液相色谱(PICO.TAG 柱子),美国 waters 公司;H1850R 台式高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;5415D 高速离心机,德国艾本德股份公司;Freezone 4.5 真空冷冻干燥机,美国 Labconco 公司;FE20 实验室 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)

有限公司;Mini-PROTEAN® Tetra System,美国 BIO-RAD 公司;JD-801 型 JEDA 扫描设备,江苏省捷达科技发展有限公司;MALDI-TOF/TOF 质谱系统,德国 Bruker-Daltonics。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 样品制备

取酱油发酵罐中豆渣,用纱布过滤得到湿酱油渣(取样用于测定酱油渣常规指标),湿酱油渣经冷冻干燥、粉碎得干酱油渣,干酱油渣用于后续 SDS-PAGE、HPLC 和 MALDI-TOF/TOF MS 分析。

### 1.3.2 总糖和还原糖的测定

称取一定量的酱油渣淀(控制最终溶液中总糖含量 1~2 g/L)于 500 mL 容量瓶中,加水 50 mL,6 M 盐酸 5 mL,68~70 °C 水浴加热 15 min。冷却后加入甲基红指示液 2 滴,用 NaOH 溶液(200 g/L)滴定至红色消失(近中性),加水定容、摇匀、冷却后备用。其他步骤参照还原糖测定方法 GB/T 5009.7-2003。

### 1.3.3 总氮和氨基酸态氮含量的测定

总氮和氨基酸态氮含量的测定方法分别参照微量凯氏定氮法(GB 5009.5-85)和甲醛滴定法(GB/T 5009.40-2003)。

### 1.3.4 NaCl 含量的测定

NaCl 含量的测定方法参照 GB/T 5009.39-2003。

### 1.3.5 水分

称取适量酱油渣于干燥皿,105 °C 烘干至恒重,计算酱油渣的水分含量。

### 1.3.6 蛋白质的 SDS-PAGE 实验

1 g 酱油渣用 10 mL 丙酮洗涤三次,真空干燥后溶解于含有 8 M 尿素、1% SDS、1% β-巯基乙醇和 0.05 M Tris 的溶剂中,调整最终蛋白质浓度约 1 mg/mL。用 20% TCA 与酱油上清液等体积混合冰浴 1 h,离心,弃去上清,用丙酮洗去沉淀中残留的 TCA,最后用上述溶剂将沉淀重新溶解,作为酱油渣蛋白质的对照进行电泳。上述样品溶液离心后备用。

电泳条件如下:丙烯酰胺与双丙烯酰胺比例为 30:1,浓缩胶和分离胶的浓度分别为 5% 和 14%,样品进样前 95 °C 加热 5 min,样品进样量 15 μL。电泳结束后凝胶在 0.25% 的考马斯亮兰溶液(R-250)中染色,在 7% 的乙酸溶液(甲醇:乙酸:水=227:37:236 (V:V:V))中脱色。最后电泳图使用 JEDA 扫描设备进行扫描。

### 1.3.7 MALDI-TOF/TOF MS 分析

从 SDS-PAGE 电泳凝胶上挖取代表性条带进行胰蛋白酶降解。降解物进行 MALDI-TOF/TOF MS 分析,具体方法参照文献<sup>[10]</sup>。

### 1.3.8 酱油渣蛋白质氨基酸组成分析

总氨基酸的测定参照 Sun 等<sup>[11]</sup>和 Yang 等<sup>[12]</sup>的方法并稍作修改。向盛有约 150 mg 样品的水解管中添加 6 mL 6 M HCl, 加入 3~4 滴消泡剂 (主要成分为辛醇), 在 110 °C 的烘箱水解 24 h, 氨基酸经苯基异硫酸酯衍生化。采用外标法对氨基酸含量进行测定。

### 1.3.9 蛋白质平均疏水性计算

以酱油上清液中蛋白质为对照, 计算酱油渣蛋白质的平均疏水性。蛋白质的平均疏水性按照 Lozano 等<sup>[13]</sup>的方法进行计算, 计算公式如下:

$$H\phi_{avg} = \sum_{i=q}^n X_i \times H\phi_i \quad (1)$$

注:  $X_i$  代表某种氨基酸占样品中所有氨基酸的摩尔比例;

$H\phi_i$  代表某种氨基酸的疏水值。

### 1.3.10 数据分析

所有实验数据均测定 3 次, 取其平均值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酱油渣和上清液常规指标分析

表 1 酱油渣 (湿渣) 和上清液的各指标测定数据

样品	总糖 /(10 <sup>-2</sup> g/g)	还原糖 /(10 <sup>-2</sup> g/g)	蛋白质 /(10 <sup>-2</sup> g/g)	氨基酸态氮 /(10 <sup>-2</sup> g/g)	食盐 /(10 <sup>-2</sup> g/g)	水分 /%
酱油渣	15.98	11.9	10.19	0.61	10.10	59.50
上清液	2.55	1.95	5.33	0.52	15.51	68.90

由表 1 可知, 除水分外, 酱油渣主要由碳水化合物 (15.98%)、蛋白质 (10.19%) 和食盐 (10.10%) 组成, 其蛋白质含量明显低于之前文献报道的 25%<sup>[2]</sup>。但与上清液相比, 酱油渣中仍然含有相当丰富的营养物质特别是蛋白质和碳水化合物, 仍然具有重要的潜在应用价值。因此, 有必要对酱油渣中的营养物质, 特别是蛋白质资源进行深入研究。

### 2.2 蛋白质电泳图分析

图 1 为酱油渣和酱油上清蛋白质的 SDS-PAGE 图谱, 酱油渣蛋白质电泳图中主要由三条条带 (a、b、c) 组成, 酱油上清电泳图由两条条带组成 (d、e, 顶部深色部分经考马斯亮蓝染色显示非蛋白质)。经 JEDA 电泳扫描软件分析可知, 酱油渣蛋白质亚基部分 a、b、c 分别占总蛋白质的 59.41% (19.3 kDa)、12.91% (31.8 kDa) 和 27.69% (12.3 kDa); 酱油上清蛋白质降解物 d (19.3 kDa) 和 e (≤14 kDa) 分别占

总蛋白质含量的 1.65% 和 98.35%。由此可以推断酱油渣蛋白质亚基 a 和酱油上清蛋白质亚基 d 可能为同一种蛋白质亚基, 在酱油发酵过程中酱油渣蛋白质逐步降解并溶解到酱油上清中。同时, 酱油渣蛋白质降解物 c 也可能是酱油上清蛋白质降解物 e 的一部分。如果酱油渣蛋白质降解物 a、c 与酱油上清蛋白质降解物 d、e 分别为同一种物质, 则说明酱油渣蛋白质在发酵过程中未被充分利用, 酱油渣蛋白质仍然具有重要的利用价值。为证明上述蛋白质之间的关系, 对上述点 a、b、c、d 和 e 分别进行 MALDI-TOF/TOF MS 鉴定。

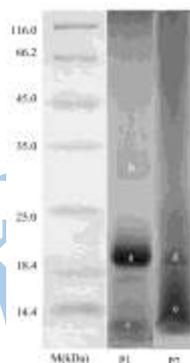


图 1 酱油渣和酱油上清蛋白质电泳图

Fig.1 Electrophoretogram of proteins in soy sauce residue and supernatant

注: P1 和 P2 分别代表酱油渣蛋白质和酱油上清蛋白质; M: 蛋白质标准品。

### 2.3 MALDI-TOF/TOF MS 鉴定

质谱鉴定结果显示, 蛋白质亚基 a 和 d 为同一种蛋白质多肽-11S Glycinin G4 亚基 B<sub>3</sub>, 蛋白质降解物 b, c 和 e 未鉴定成功, 这说明酱油渣蛋白质仍然具有重要的利用价值。11S 大豆球蛋白是一种不均匀的蛋白质, 可分为酸性亚基和碱性亚基。根据大小分子同源性把它们分为两组, 组 I 为 G1 (A<sub>1a</sub>B<sub>1b</sub>), G2 (A<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>) 和 G3 (A<sub>b</sub>B<sub>2</sub>), 组 II 为 G4 (A<sub>5</sub>A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>) 和 G5 (A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>)。每个亚基都是由一个分子量约为 32 kDa 的酸性多肽和一个分子量约为 20 kDa 的碱性多肽组成<sup>[14]</sup>。条带 a 和 d 的分子量与 Glycinin 亚基碱性端相吻合, 从而可得酱油渣蛋白的主要来源是 Glycinin 亚基碱性端 B<sub>3</sub>。

由图 2 以及 MALDI-TOF/TOF MS 鉴定结果分析可得, 上清液 P2 中的蛋白质降解物 d 是酱油渣中的蛋白质降解物 a 逐步溶解而来, 但上清液中的蛋白质降解物 d 含量很少, 酱油渣中的蛋白质降解物 a 含量很高, 这可能与酱油渣中的主要蛋白质降解物 a 的水溶性有关。因此有必要对酱油渣蛋白质的氨基酸组成和水溶性 (疏水性) 进行深入研究。

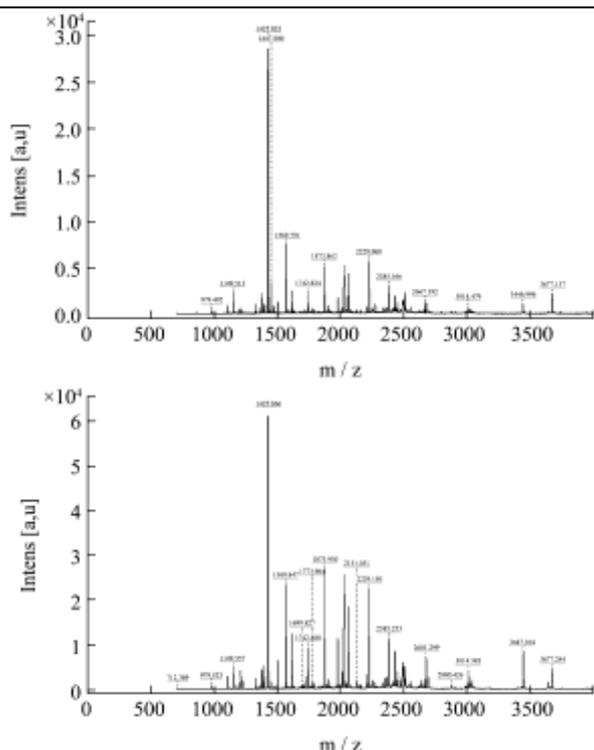


图2 酱油渣(图1中之a条带)及其上清(图1中之d条带)蛋白质质谱图

Fig.2 Mass spectrograms of proteins in soy sauce residue (band a in Fig. 1) and supernatant (band d in Fig. 1)

2.4 酱油渣蛋白质和上清蛋白质氨基酸组成

表2 酱油渣蛋白质和酱油上清蛋白质的氨基酸组成

Table 2 Amino acid composition of proteins in soy sauce residue and supernatant

氨基酸	疏水值 <sup>[13]</sup>	氨基酸质量分数	酱油渣蛋白质		上清蛋白质	
			各氨基酸含量/(10 <sup>-2</sup> g/g)	各氨基酸占总氨基酸摩尔百分比/%	各氨基酸含量/(10 <sup>-2</sup> g/g)	各氨基酸占总氨基酸摩尔百分比/%
异亮氨酸 (Ile)	2.95	131	0.91	4.71	0.17	4.69
脯氨酸 (Pro)	2.60	115	1.04	6.13	0.21	6.60
苯丙氨酸 (Phe)	2.50	165	0.94	3.86	0.16	3.50
酪氨酸 (Tyr)	2.30	181	0.65	2.44	0.08	1.60
亮氨酸 (Leu)	1.80	131	1.75	9.06	0.24	6.62
缬氨酸 (Val)	1.59	117	1.32	7.65	0.22	6.80
赖氨酸 (Lys)	1.50	146	1.13	5.25	0.18	4.46
蛋氨酸 (Met)	1.30	149	0.13	0.59	0.03	0.73
半胱氨酸 (Cys-s)	1.00	121	0.11	0.62	0.02	0.59
精氨酸 (Arg)	0.75	174	1.21	4.72	0.19	3.95
组氨酸 (His)	0.50	155	0.43	1.88	0.08	1.87
丙氨酸 (Ala)	0.50	89	1.07	8.16	0.18	7.31
苏氨酸 (Thr)	0.40	119	0.79	4.50	0.15	4.56
甘氨酸 (Gly)	0	75	1.02	9.23	0.19	9.16
天门冬氨酸 (Asp)	0	133	2.25	11.48	0.42	11.41

及疏水性分析

由表2可知,酱油渣蛋白质和酱油上清蛋白质氨基酸摩尔百分比含量存在一定的差异。谷氨酸(13.38%)、天门冬氨酸(11.48%)、甘氨酸(9.23%)、亮氨酸(9.06%)为酱油渣蛋白质氨基酸摩尔百分比含量最高的4种氨基酸,而谷氨酸(18.93%)、天门冬氨酸(11.41%)、丝氨酸(7.58%)、丙氨酸(7.31%)为酱油上清蛋白质氨基酸摩尔百分比含量最高的4种氨基酸。由于两种蛋白质中谷氨酸的摩尔百分比含量高且差异较大(上清蛋白质谷氨酸含量比渣蛋白质对应值高41.48%),因此两者的这种差异对两种蛋白质的疏水性将产生较大的影响。此外,半胱氨酸和蛋氨酸均为两种蛋白质的摩尔百分比含量最低的氨基酸,因此两种氨基酸对上述两种蛋白质的疏水性差异贡献较小。为了全面和可观评价两种蛋白质的疏水性差异,本研究采用Lozano<sup>[13]</sup>的经验公式对两种蛋白质的疏水性进行了计算,结果显示酱油渣蛋白质和酱油上清蛋白质的疏水性分别为0.91和0.82,前者比后者高10.98%,存在明显差异。蛋白质疏水值越高说明蛋白质的水溶性越差,上述结果说明酱油渣蛋白质的水溶性较差,在酱油发酵过程中与水解蛋白质接触机会较低,难于被降解成水溶性较好的低分肽和氨基酸,这可能是酱油渣蛋白质形成的原因(之一)。

接上页

谷氨酸 (Glu)	0	147	2.90	13.38	0.77	18.93
丝氨酸 (Ser)	-0.30	105	0.98	6.34	0.21	7.58
总和			18.63	100.00	3.50	100.00
H $\Phi$ avg				0.91		0.82

### 3 结论

3.1 酱油渣（湿渣）主要由 15.98% 的碳水化合物、10.19% 的蛋白质、10.10% 的食盐和 59.50% 的水分组成。

3.2 酱油渣蛋白质主要由分子量约为 19.3 kDa (a, 59.40%), 31.8 kDa (b, 12.9%) 和 12.3 kDa (c, 27.69%) 的蛋白质组成, 其主要成分、分子量为 19.3 kDa 的蛋白质为 Glycinin G4 亚基的碱性端 B<sub>3</sub>。

3.3 酱油渣蛋白质和其上清蛋白质氨基酸组成存在一定差异, 酱油渣蛋白质的平均疏水值明显高于其上清中蛋白质的疏水值。上述差异是酱油渣蛋白质的主要氨基酸组成特征, 也是酱油渣蛋白质水溶性差和形成的主要原因 (之一)。

3.4 通过筛选特异性蛋白酶对酱油渣蛋白质 (Glycinin G4 亚基的碱性端 B<sub>3</sub>) 进行降解, 提高其降解产物的水溶性, 即提高酱油生产原料的蛋白质利用率将具有重要的应用价值。

### 参考文献

- [1] 韩丽, 刘晓, 李国兴, 等. 酱油渣和醋渣的开发利用[J]. 粮食与饲料工业, 2005, 3: 32-33  
Han L, Liu X, Li GX, et al. Development and Utilization of Soy Sauce Residue Vinegar Residue [J]. Cereal & Feed Industry, 2005, 3: 32-33
- [2] <http://www.82158.com/html-13316.html>
- [3] 施安辉, 李丽莉, 施亚林, 等. 酿造固体渣类无废物生物工程处理技术的研究[J]. 中国酿造, 2007, 8: 4-6  
Shi AH, Li LL, Shi AR, et al. Research on Complete Utilization of Brewing Solid Dregs [J]. China Brewing, 2007, 8: 4-6
- [4] 巩欣, 程永强, 纪凤娣, 等. 酱油渣的再利用研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 384-387  
Gong X, Cheng YQ, Ji FD, et al. Research Progress in the Comprehensive Utilization of Soy Sauce Residue [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(5): 384-387
- [5] Joshi C, Joshi VK. Food Processing Waste Management Technology, the Need for an Integrated Approach [J]. Indian Food Packer, 1990, 44: 56-57
- [6] 王梅. 糟渣类饲料中的有毒物质及合理利用[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2002, 5: 30  
Wang M. Toxic Materials in Grain Stillage Feed and Its Reasonable Application [J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2002, 5: 30
- [7] 马良, 王昌禄, 范襄, 等. 酱油渣资源化利用现状及其饲料化发展前景[J]. 农业环境与发展, 2010, 27(2): 25-28  
Ma L, Wang CL, Fan H, et al. The Present Utilization Situation and Perspective Used as Feed of Soy Sauce Residue [J]. Agro-environment and Development, 2010, 27(2): 25-28
- [8] Yang B, Xie HH, Lin S, et al. Structural Characteristics of Oligosaccharides from Soy Sauce Lees and Their Potential Prebiotic Effect on Lactic Acid Bacteria [J]. Food Chemistry, 2011, (126): 590-594
- [9] Jin H, Yang JK, Jo KI, et al. Mass Production of Heteropolysaccharide-7(PS-7) by *Beijerinckia indica* HS-2001 with Soybean Pomace as a Nitrogen Source [J]. Process Biochemistry, 2006, 41: 70-275
- [10] Gao XL, Sun PF, Lu J, et al. Characterization and Formation Mechanism of Proteins in the Secondary Precipitate of Soy Sauce [J]. European Food Research and Technology, DOI:10.1007/s00217-013-2054-2
- [11] Sun WZ, Zhao HF, Zhao QZ, et al. Structural Characteristics of Peptides Extracted from Cantonese Sausage during Drying and Their Antioxidant Activities [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 10: 558-563
- [12] Yang B, Yang HS, Li J, et al. Amino Acid Composition, Molecular Weight Distribution and Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates of Soy Sauce Lees [J]. Food Chemistry, 2012, 21(6): 1729-1734
- [13] Lozano P, Combes D, Iborra JL. Food Protein Nutrient Improvement by Protease at Reduced Water Activity [J]. Journal of Food Science, 1994, 59, 876-880
- [14] Wang CM, Wu XL, Jia FX. Genetic Variations of Glycinin Subunit Genes among Cultivated and Wild type Soybean Species [J]. Progress in Natural Science, 2008; 18: 33-41