

霉变和辐照对大豆蛋白质理化性质和结构的影响

张振山, 李晨阳, 刘玉兰

(河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001)

摘要:以新鲜大豆为原料制备了不同霉变程度的大豆, 利用⁶⁰Co- γ 射线对大豆进行了辐照处理, 采用胃蛋白酶体外消化率、氨基酸组分测定、SDS-PAGE电泳和傅里叶红外变换光谱(FT-IR)研究了霉变和辐照对大豆中蛋白质体外消化率以及蛋白质组成和结构的影响。研究表明:大豆培养30 d后,霉变导致大豆胃蛋白酶消化率降低23.74%,氨基酸总量减少2.07%,大豆蛋白质二级结构中的 β -转角和无规卷曲分别增加了2.67%和4.17%,而 α -螺旋和 β -折叠相应减少3.62%和3.21%。在所考察的剂量范围内(10~30 kGy),辐照对新鲜大豆的胃蛋白酶体外消化率、氨基酸组成、蛋白质亚基组成没有显著影响($P>0.05$),但对蛋白质二级结构中的 α -螺旋与 β -折叠具有显著影响($P<0.05$)。霉变大豆经过 γ 射线辐照处理后,氨基酸总量降低,蛋白质二级结构中的 α -螺旋与 β -折叠减少,无规则卷曲增加。

关键词:大豆;霉变;辐照;蛋白质;结构

文章编号:1673-9078(2015)7-191-196

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.030

Effect of Mildew and γ -Irradiation on the Physicochemical Property and Structure of Soybean Proteins

ZHANG Zhen-shan, LI Chen-yang, LIU Yu-lan

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

Abstract: Soybeans with different levels of mildew were prepared from fresh soybeans and then irradiated using cobalt-⁶⁰Co- γ rays. The effects of mildew and γ -irradiation on the *in vitro* digestibility, composition, and protein structure were investigated in terms of *in vitro* pepsin digestibility, amino acid composition, and results of sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) as well as Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The results indicated that mildew on soybeans reduced pepsin digestibility and total amino acid content by 23.74% and 2.07%, respectively, after 30 d culture. Moreover, the amount of β -turns and random coils increased by 2.67% and 4.14%, respectively, while the amount of α -helices and β -sheets decreased by 3.62% and 3.21%, respectively, in the secondary structure of soybean proteins. In fresh soybeans, γ irradiation had no significant effect ($p > 0.05$) on the amino acid composition, pepsin digestibility, and protein subunit composition within the dose range studied (10 to 30 kGy). However, a significant effect ($p < 0.05$) was observed on α -helices and β -sheets in the secondary structure of soybean proteins. On the other hand, in moldy soybean, γ irradiation resulted in a decrease in total amino acid content, a decrease in the amount of α -helices and β -sheets, as well as an increase in the amount of random coils in the secondary structure of soybean proteins.

Key words: soybean proteins; mildew; irradiation; composition; conformation

大豆是我国植物油脂和植物蛋白的重要来源,在我国社会生产中具有重要的地位。通常,大豆中含粗脂肪18%~20%,粗蛋白38%~42%。大豆浸出提油后得到的豆粕由于蛋白质含量高、价格低廉、适口性好,因此被广泛应用于饲料行业。

大豆和豆粕在不适当的存储条件下都会发生霉变。我们的前期研究发现,大豆霉变虽然可以使豆粕

中蛋白质相对含量增加,但是也会导致豆粕氢氧化钾蛋白质溶解度降低、尿素酶活性降低^[1]。此外,霉菌在代谢过程中还会产生具有致癌、致畸性的霉菌毒素,给饲料应用安全带来隐患。辐照技术是一种新型的食品加工技术,它利用高能射线照射物体,可以使物体中生物体受到不可恢复的破坏,从而达到杀菌的目的。研究表明,辐照对食物中的霉菌和霉菌毒素均有较好的杀灭和降解效果^[2-3]。辐照技术是一种冷加工技术,具有能耗低、效率高、对营养成分破坏小等特点,因此得到了人们日益深入的关注。根据大豆或豆粕霉变程度的不同,对其进行辐照处理,清除其中的霉菌和

收稿日期:2014-10-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31101367)

作者简介:张振山(1981-),男,博士,讲师,研究方向:油脂加工技术及理论、食品辐照与储藏

毒素,就有可能恢复或提高霉变大豆或豆粕的使用价值和经济价值。然而,对霉变的大豆或豆粕进行辐照处理,虽然在一定程度上可以达到灭菌杀毒的目的,但是也会使蛋白质发生物理性能和化学组成的变化。前期的研究发现,适当辐照可以降低大豆蛋白的吸水性,提高大豆蛋白的氮溶指数、吸油性、乳化性等功能特性^[4]。

现有研究表明,霉变和辐照均会使大豆的物理和功能特性发生变化,但是有关霉变和辐照对大豆蛋白组成和结构变化的研究却鲜有报道。本文拟以新鲜大豆为原料,通过对不同霉变程度的大豆进行辐照处理,利用氨基酸组分测定、SDS-PAGE 电泳以及 FT-IR 等技术研究霉变和辐照处理对大豆中蛋白质组成和结构的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用大豆购买于郑州农贸市场,为当年收获的新鲜大豆,水分含量 10.58%。正己烷、无水乙醇、巯基乙醇、十二烷基硫酸钠、丙烯酰胺、溴化钾等试剂均为分析纯。胃蛋白酶为生化级,活性为 1:10000, Solarbio 公司。

1.2 主要仪器

FW-100 高速万能粉碎机:北京市永光明医疗仪器;WQF-510 傅立叶变换红外光谱仪:北京北分瑞利分析仪器(集团)公司;JY-SCZ2 电泳仪:北京君意电泳设备有限公司;L8900 全自动氨基酸分析仪:日立公司;AL-204 分析天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 原料加工

称取适量大豆样品,调整水分为 18% 后装入聚乙烯袋中,在温度 40 °C,湿度 75% 的恒温恒湿培养箱中培养,根据培养时间不同制备不同霉变程度的霉变大豆,培养时间分别为 0 d、10 d、30 d、50 d。不同培养期大豆的霉变程度参见前期报道^[4]。

将每个培养期的大豆分成 5 组分装于聚乙烯袋中密封,委托河南省科学院同位素研究所进行辐照处理,辐照采用 ⁶⁰Co- γ 射线,辐照剂量分别为 0、5、10、20、30 kGy。

1.3.2 分离蛋白的制备

称取适量粉碎的大豆脱脂粕,按比例加入一定的

去离子水,用 NaOH 溶液调节 pH 到 8~9,搅拌提取 10 min,然后 4000 r/min 离心分离 5 min,上清液用盐酸溶液调 pH 至 4.5 左右使蛋白质沉淀,然后 4000 r/min 离心分离 5 min,最后水洗并用 NaOH 溶液调至中性,在真空冷冻干燥机中分离干燥。

1.3.3 蛋白质体外消化率测定

大豆中蛋白质体外消化率的测定,参照 GB/T 17811-2008(动物性蛋白质饲料胃蛋白酶消化率的测定过滤法)进行。

1.3.4 蛋白质氨基酸组成测定

大豆中蛋白质氨基酸组分的测定,参照 GB/T 5009.124-2003(食品中氨基酸的测定)进行。

1.3.5 蛋白质 SDS-PAGE 测定

试验方法参照已有的文献报道^[5-6],并略做修改。分离胶浓度 12%,浓缩胶浓度 4%。称取 0.1 g 分离蛋白,用去离子水配制蛋白浓度为 2 mg/mL,之后与缓冲液以 1:1 的比例混合,沸水浴 4 min。上样量 10 μ L,初始电泳电流 30 mA,溴酚蓝前沿进入分离胶后电流调至 40 mA。将凝胶放入固定液 1 h 后取出,放在染色液中 1.5 h,再用脱色液脱色,直到蛋白质区带清晰。用凝胶成像分析软件 BandScan 5.0 对蛋白质电泳图谱进行分析。

1.3.6 蛋白质 FT-IR 测定

取 400 mg KBr 和 1~2 mg 分离蛋白样品混合,研磨均匀后取出约 100 mg 压制成透明薄片,在室温条件下扫描其红外光谱,分辨率 4 cm^{-1} ,测量范围为 400 cm^{-1} ~4000 cm^{-1} ,每个样品扫描 8 次,利用二阶导数和傅立叶去卷积技术提高分辨率,用 PeakFit 软件获得二级卷积图谱。参考顾小红等人^[7]的研究方法对酰胺谱 I 带的图谱峰进行鉴定, α -螺旋出峰范围为:1650~1660 cm^{-1} , β -折叠出峰范围为:1610~1640 cm^{-1} , β -转角出峰范围为:1660~1695 cm^{-1} ,无规卷曲出峰范围为:1640~1650 cm^{-1} 。

1.3.7 数据分析

利用 SPSS (V16.0) 统计软件进行数据分析,测定结果表示为平均数 ($n \geq 3$),采用 ANOVA 检验对影响因素进行显著性分析,以 $P < 0.05$ 为显著性水平。

2 结果与讨论

2.1 体外消化率的影响

从图 1 可以看出,大豆霉变程度对大豆中蛋白质的体外消化率具有显著的影响 ($P < 0.05$)。随着培养时间的增加,大豆中蛋白质胃蛋白酶体外消化率明显降低。经过 10 d、30 d 和 50 d 的培养,大豆中蛋白质胃

蛋白酶体外消化率由初始的 76.69% 分别下降为 73.29%、52.95% 和 29.98%。霉变大豆蛋白质胃蛋白酶体外消化率下降一方面可能是由于霉菌生长使植物蛋白转化成了不易被胃蛋白酶消化分解的菌体蛋白, 另一方面可能是由于霉菌生长促使大豆蛋白发生了变性, 使其不易被胃蛋白酶消化。

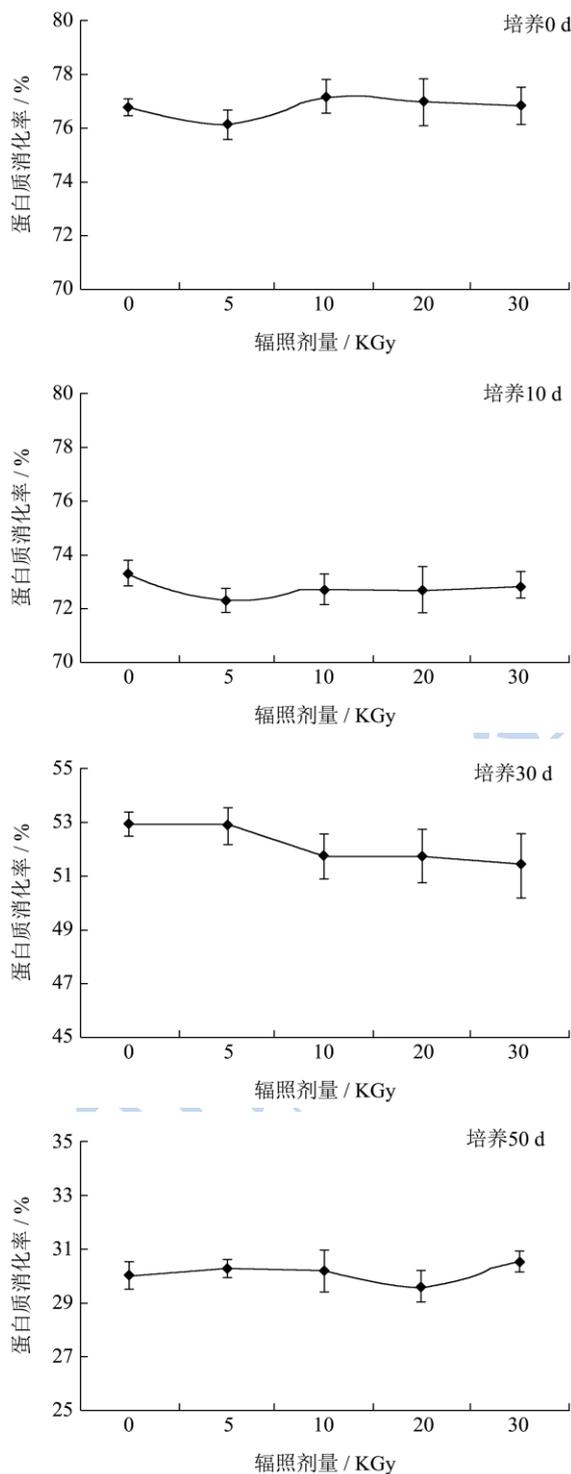


图1 霉变和辐照对大豆中蛋白质体外消化率的影响

Fig.1 Effect of mildew and irradiation on *in vitro* digestibility of soybean proteins

同时, 从图 1 还可以看出, 对不同霉变程度的大豆进行 γ 射线辐照处理, 大豆中蛋白质的胃蛋白酶体外消化率随辐照剂量的增加呈现不同的变化趋势。在培养时间为 0 d 和 10 d 时, 蛋白质的胃蛋白酶体外消化率在辐照剂量为 5 kGy 处具有最小值。培养时间为 30 d 时, 蛋白质的胃蛋白酶体外消化率随辐照剂量的增加不断降低。培养时间为 50 d 时, 蛋白质的胃蛋白酶体外消化率随辐照剂量的增加略有增加。但是, 在数学统计上, 辐照对大豆中蛋白质的胃蛋白酶体外消化率并没有显著影响 ($P>0.05$)。这种变化可能是由于辐照虽然可以使蛋白质的构象发生一定的变化, 但并没有影响胃蛋白酶将蛋白质由大分子物质分解为较小分子的过程。Shawrang 等在研究电子束辐照对菜籽粕中蛋白质消化率影响时发现, 随着辐照剂量增加, 菜籽粕中蛋白质的瘤胃体内降解率不断降低, 而过瘤胃蛋白小肠体外消化率在 15 kGy 和 30 kGy 时有所增加, 45 kGy 时基本没有变化。他们认为瘤胃体内降解率降低是由于辐照导致去折叠蛋白发生交联和聚合, 以致不容易被酶解, 而过瘤胃蛋白小肠体外消化率增加是由于辐照导致蛋白去折叠和变性, 使胃蛋白酶和胰蛋白酶的活性点疏水氨基酸暴露出来^[8]。Shawrang 等人还发现, 对菜籽粕进行辐照处理可以增加蛋白质在肠道中的消化率^[9]。Mahmoudabad 等人研究认为辐照促使菜籽粕、大豆粕和棉籽粕中蛋白质消化率提高, 是因为辐照消除了这些物质中的植酸以及胰蛋白酶抑制剂等抗营养因子^[10]。

2.2 氨基酸组成的影响

表 1 所示的是辐照对新鲜大豆和霉变大豆中氨基酸组成的影响。从表中可以看出, 在所测的 17 种氨基酸中, 大豆含有最多的是谷氨酸和天冬氨酸, 其次是精氨酸、亮氨酸、赖氨酸和苯丙氨酸。

与新鲜大豆相比, 培养 30 d 的霉变大豆在氨基酸组成上并未发生明显变化。但是, 必须氨基酸总量和氨基酸总量均比新鲜大豆的略低(11.79 vs. 12.49; 32.91 vs. 34.98), 这表明霉菌生长消耗了一定量的大豆蛋白, 霉变对大豆中蛋白质的一级结构产生了影响。这一结果与 Mahrous 报道的一致, 他发现用剂量为 3 kGy 和 5 kGy 的 γ 射线对储存时间为 0~60 d 的新鲜大豆和感染黄曲霉菌大豆进行辐照处理, 大豆的氨基酸组成并未发生明显变化^[2]。霉变大豆经过 10 kGy 和 30 kGy 的 γ 射线辐照处理后, 虽然氨基酸组成未发生明显变化, 但是必须氨基酸总量和氨基酸总量却随辐照剂量的增加而减少。氨基酸含量的降低可能是由于辐照的作用使其发生了去氨基和脱羧基的作用, 产生了

胺、醛、 α -酮酸等物质。此外, Diaa El-Din 和 Farag 认为含硫的氨基酸(胱氨酸和蛋氨酸)对低剂量(10 kGy)的辐照具有敏感性, 而赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、精氨酸和组氨酸只有在高剂量(20-40 kGy)下才会发生变化^[11]。

表 1 霉变和辐照对大豆中氨基酸组成的影响

Table 1 Effect of mildew and irradiation on the amino acid composition of soybeans

氨基酸 种类/%	原样			培养 30 d		
	0 kGy	10 kGy	30 kGy	0 kGy	10 kGy	30 kGy
天冬氨酸	3.94	3.83	3.86	3.78	3.67	3.62
苏氨酸	1.37	1.30	1.38	1.31	1.24	1.24
丝氨酸	1.68	1.72	1.68	1.67	1.65	1.60
谷氨酸	6.59	6.34	6.48	6.33	6.10	6.02
甘氨酸	1.48	1.44	1.46	1.42	1.38	1.38
丙氨酸	1.50	1.48	1.49	1.44	1.40	1.38
胱氨酸	0.52	0.41	0.54	0.46	0.44	0.43
缬氨酸	1.84	1.96	1.78	1.88	1.84	1.84
蛋氨酸	0.34	0.36	0.34	0.36	0.32	0.36
异亮氨酸	1.62	1.52	1.54	1.52	1.46	1.46
亮氨酸	2.74	2.60	2.62	2.58	2.50	2.46
酪氨酸	1.38	1.10	1.20	1.12	1.02	1.08
苯丙氨酸	2.14	2.08	2.12	2.10	2.04	2.02
赖氨酸	2.34	2.47	2.42	2.04	2.02	1.97
组氨酸	1.04	1.06	1.14	1.08	1.03	1.02
精氨酸	2.82	2.80	2.78	2.61	2.58	2.52
脯氨酸	1.64	0.99	1.69	1.21	1.02	1.12
总必需氨基酸	12.49	12.22	12.20	11.79	11.42	11.35
总和	34.98	33.46	34.52	32.91	31.71	31.52

注: 表中数据为百分含量, α 代表必需氨基酸。

2.3 蛋白质 SDS-PAGE 分析

从图 2 可以看出, 大豆中的蛋白质主要由 7S 伴大豆球蛋白 (α : 91.2 kDa; α : 72.1 kDa; β : 55.0 kDa) 和 11S 大豆球蛋白 (A3: 43 kDa; A1, 2, 4: 37.2 kDa; B: 21.1 kDa) 构成。新鲜大豆经过 10 d 的培养, 7S 球蛋白明显减少, 这可能是由于在这一阶段, 大豆吸水膨胀萌发激发了蛋白酶的活性, 使大分子的 7S 球蛋白中的肽键发生了断裂, 生成了小分子的蛋白质。培养 30 d 和 50 d 后, 大豆中 7S 球蛋白明显增多, 这可能是由于霉菌作用使相邻的大豆蛋白亚基发生了交联和聚合作用。

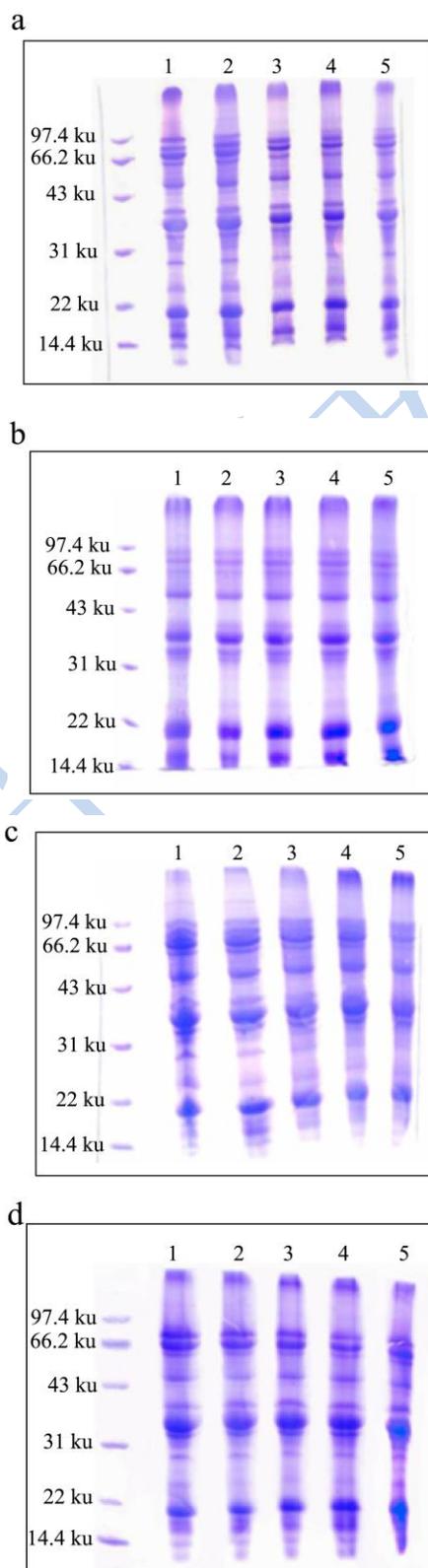


图 2 霉变和辐照对大豆中蛋白质 SDS-PAGE 的影响

Fig.2 Effect of mildew and irradiation on the SDS-PAGE patterns of soybean proteins cultured

注: a: 培养 0 d, b: 培养 10 d, c: 培养 30 d, d: 培养 50 d; 图中左侧为标准蛋白, 1-5 分别代表经过 0、5、10、20、

30kGy 剂量辐照的样品。

此外,不同霉变程度的大豆经过 10、20、30 kGy 的辐照后,蛋白质的条带数均没有发生明显变化,说明蛋白质在亚基构成上并没有发生显著变化。Filali-Mouhim 等人认为辐照通常会对蛋白质产生析离、交联、聚合和氧化等影响^[12]。Shawrang 等人在研究辐照对大豆粕蛋白在瘤胃中降解时发现,对大豆粕施加较低剂量的 γ 射线辐照(小于 25 kGy)会促使蛋白质多肽链的析离,而较高剂量的 γ 射线辐照(大于 25 kGy)又会促使蛋白质发生交联,并且交联产物不能通过电泳凝胶^[13]。

2.4 蛋白质 FT-IR 光谱分析

从图 3 和表 2 可以看出,培养 0 d 的大豆,蛋白质二级结构最多的是 β -折叠(32.12%),其次是 α -螺旋(29.65%)和无规卷曲(27.76%),最少的是 β -转角(10.46%),这与闰洁等人^[14]的研究基本一致。大豆霉变对蛋白质的二级结构具有显著的影响($P<0.05$)。随着培养时间的延长,大豆霉变程度的加深,大豆蛋白质二级结构中的 β -转角和无规卷曲逐渐增加,分别由最初的 10.46%和 27.76%增加到 17.76%和 33.69%;而大豆蛋白质二级结构中的 α -螺旋和 β -折叠相应减少,分别由最初的 29.65%和 32.12%减少到 24.17%和 24.38%。当培养时间超过 30 d,大豆蛋白质二级结构含有最多的是无规卷曲(31.93%),其次是 β -折叠(28.91%)和 α -螺旋(26.03%)。

γ 射线辐照对新鲜大豆和霉变大豆的蛋白质二级结构具有不同的影响。对于新鲜大豆,辐照处理使大豆蛋白质二级结构中 β -折叠显著增加(从 32.12%增加为 44.79%), α -螺旋减少(从 29.65%减少为 18.20%),且 α -螺旋与 β -折叠变动的幅度接近,幅度大小与辐照剂量正相关。这可能是由于 γ 射线辐照提供了能量,使得蛋白质内部维持二级结构的部分氢键、配位键发生断链,重新配对。对于霉变大豆,随着辐照剂量的增加, α -螺旋与 β -折叠总体呈现出下降的趋势,而无规则卷曲总体呈现上升趋势。

3 结论

3.1 本研究利用氨基酸组成测定、SDS-PAGE 电泳以及 FT-IR 光谱等技术研究了霉变和 γ 射线辐照对大豆中蛋白质组成和结构的影响。研究发现,霉变对大豆蛋白质的一级结构和二级结构均有较为明显的影响。与新鲜大豆相比,霉变大豆的必需氨基酸总量和氨基酸总量均比新鲜大豆的略低。霉变导致大豆蛋白质的

二级结构中 β -转角和无规卷曲增加, α -螺旋和 β -折叠减少。此外,霉变还导致大豆蛋白质胃蛋白酶体外消化率显著降低(由 76.69%降为 29.98%)。

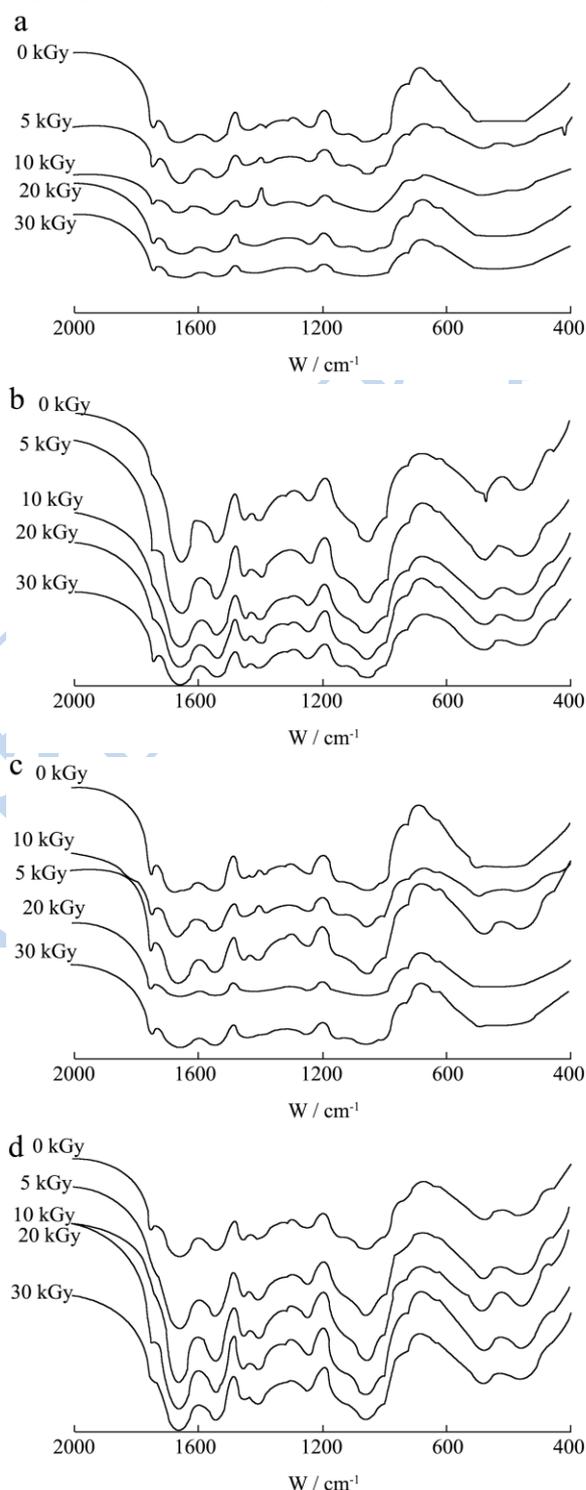


图 3 霉变和辐照对大豆中蛋白质 FT-IR 图谱的影响

Fig.3 Effect of mildew and irradiation on the FT-IR spectrum of soybean proteins cultured

注: a: 培养 0 d, b: 培养 10 d, c: 培养 30 d, d: 培养 50 d。

表 2 霉变和辐照对大豆中蛋白质二级结构的影响

Table 2 Effect of mildew and irradiation on the secondary structure of proteins in soybeans

培养时间	辐照剂量/kGy	β -折叠/%	无规卷曲/%	α -螺旋/%	β -转角/%
0 day	0	32.12±0.21	27.76±0.04	29.65±0.11	10.46±0.07
	5	38.57±0.13	25.52±0.31	23.30±0.18	12.59±0.10
	10	42.27±0.06	27.30±0.20	20.20±0.21	10.22±0.22
	20	40.97±0.24	28.64±0.20	21.10±0.23	10.23±0.15
	30	44.79±0.19	22.93±0.17	18.20±0.13	14.26±0.40
10 day	0	30.30±0.11	30.94±0.09	26.71±0.18	12.04±0.10
	5	30.10±0.03	33.36±0.23	29.37±0.17	7.20±0.11
	10	30.40±0.26	35.60±0.23	29.28±0.31	4.72±0.17
	20	31.06±0.18	35.11±0.15	28.30±0.22	5.53±0.21
	30	29.90±0.33	33.09±0.24	27.89±0.15	9.11±0.15
30 day	0	28.91±0.13	31.93±0.07	26.03±0.08	13.13±0.19
	5	27.23±0.23	32.36±0.19	25.37±0.28	15.04±0.11
	10	27.45±0.14	32.38±0.25	25.26±0.36	14.91±0.05
	20	23.47±0.41	35.11±0.23	23.72±0.50	17.70±0.18
	30	23.69±0.21	37.83±0.12	21.81±0.06	16.67±0.31
50 day	0	24.38±0.17	33.69±0.26	24.17±0.07	17.76±0.25
	5	23.19±0.14	37.69±0.23	22.30±0.31	16.92±0.19
	10	23.08±0.20	38.18±0.23	21.05±0.17	17.69±0.20
	20	24.08±0.11	36.72±0.31	21.13±0.35	18.07±0.24
	30	22.51±0.21	39.63±0.41	22.81±0.62	15.05±0.38

3.2 在所考察的剂量范围内 (10-30 kGy), 辐照对大豆蛋白质氨基酸组成、SDS-PAGE 电泳和胃蛋白酶体外消化率的影响不显著 ($P>0.05$), 但对大豆蛋白质二级结构组成具有显著影响。对于新鲜大豆, 辐照处理使大豆蛋白质二级结构中 β -折叠显著增加, α -螺旋减少。对于霉变大豆, 辐照使大豆蛋白质中的 α -螺旋与 β -折叠总体呈现下降趋势, 而无规则卷曲总体呈现上升趋势。

参考文献

[1] 刘玉兰,李燕,汪学德.霉变大豆对豆粕质量的影响[J].中国油脂,2006,31(12):17-20
LIU Yu-lan, LI Yan, WANG Xue-de. Influence of Mildewed Soybean on the Quality of Soybean Meal [J]. China Oils and Fats, 2006, 31(12):17-20.

[2] Mahrous S R. Chemical properties of Aspergillus flavus-infected soybean seeds exposed to γ -irradiation during storage [J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2007, 9(2): 231-238

[3] 张振山.紫外- γ 射线辐照降解大豆中黄曲霉毒素 B₁ 的研究 [J].现代食品科技,2014,30(9):217-221
ZHANG Zhen-shan. Study on the Degradation of Aflatoxin

B₁ in Soybean by Ultraviolet and Gamma Irradiation [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(9):217-221

[4] 张振山,刘玉兰,王娟娟,等.辐照对大豆中蛋白质品质的影响[J].食品工业科技,2013,34(2):104-107
ZHANG Zhen-shan, LIU Yu-lan, WANG Juan-juan, et al. Effect of Irradiation on the Quality of Soy Protein [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(2):104-107

[5] Nikolić Z, Đorđević V, Torbica A, et al. Legumes seed storage proteins characterization by SDS-PAGE and Lab-on-a-Chip electrophoresis [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2012, 28 (2) :75-80

[6] Li T T, Li J R, Hu W Z, et al. Protein changes in post mortem large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) monitored by SDS-PAGE and proteome analysis [J]. Food Control, 2014, 41:49-55

[7] 顾小红,孟旭,汤坚.豆浆凝固过程中大豆蛋白质二级结构的研究[J].分析科学学报,2006,22(6):675-678
GU Xiao-hong, MENG Xu, TANG Jian. Study on the Protein Secondary Structure in the Soy milk Coagulation Process [J]. Journal of Analytical Science, 2006, 22(6):675-678

[8] Taghinejad-Roudbaneh M, Ebrahimi S R, Azizi S, et al.

- Effects of electron beam irradiation on chemical composition, antinutritional factors, ruminal degradation and in vitro protein digestibility of canola meal [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2010, 79(12):1264-1269
- [9] Shawrang P, Nikkhah A, Zare-shahneh A, et al. Effects of gamma irradiation on chemical composition and ruminal protein degradation of canola meal [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2008, 77(7): 918-922
- [10] Ebrahimi-mahmoudabad S R, Taghinejad-roudbaneh M. Investigation of electron beam irradiation effects on anti-nutritional factors, chemical composition and digestion kinetics of whole cottonseed, soybean and canola seeds [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2011, 80(12): 1441-1447
- [11] Diaa El-Din H, Farag M. The nutritive value for chicks of full-fat soybeans irradiated at up to 60 kGy [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1998, 73(3-4):319-327
- [12] Cho Y, Song K B. Effect of γ -irradiation on the molecular properties of Bovine Serum Albumin and β -lactoglobulin [J]. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 33(2):133-137
- [13] Shawrang P, Nikkhah A, Zare-Shahneh A, et al. Effects of gamma irradiation on protein degradation of soybean meal in the rumen [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 134(1-2):140-151
- [14] 闫洁,马晓军.不同干燥方式对大豆蛋白二级结构的影响[J]. *食品工业科技*,2008,29(5):131-132,136
YAN Jie, MA Xiao-jun. Effect of Different Desiccant-Manner on the Secondary Structure of Soybean Protein [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008, 29(5): 131-132,136