

不同商用大豆分离蛋白结构特征和功能性质的比较

杨锋, 刘雪, 任仙娥, 黄永春

(广西科技大学生物与化学工程学院, 广西糖资源绿色加工重点实验室, 广西高校糖资源加工重点实验室, 广西柳州 545006)

摘要: 本文研究了 20 个商用大豆分离蛋白样品的结构特征和功能性质, 并分析了它们之间的相关性。结果表明, 这些样品的平均粒径为 16.73~388.27 nm, Zeta 电位为 -19.90~-32.00 mV, 表面疏水性指数为 234.63~493.00, 暴露巯基、总游离巯基、二硫键含量分别为 3.59~11.15 $\mu\text{mol/g}$ 、4.68~13.37 $\mu\text{mol/g}$ 和 6.02~15.47 $\mu\text{mol/g}$, 溶解性为 9.64~41.07%, 乳化活性指数和乳化稳定性指数分别为 14.94~46.10 m^2/g 和 13.61~59.13 min, 起泡能力和泡沫稳定性分别为 28.97~98.50% 和 60.41~98.03%, 持水和持油性分别为 3.50~20.43 g 水/g 蛋白质和 4.08~5.66 g 油/g 蛋白质, 部分样品的结构特征及功能性质之间存在显著差异 ($p<0.05$)。这些样品的功能性质与结构特征之间的相关性分析表明, 溶解性和起泡能力与平均粒径和 Zeta 电位绝对值、乳化活性指数与 Zeta 电位绝对值、乳化稳定性指数与平均粒径、泡沫稳定性与暴露巯基和总游离巯基含量等存在正相关, 乳化活性指数与二硫键含量、起泡能力与总游离巯基含量、持水性与平均粒径等存在负相关。

关键词: 大豆分离蛋白; 结构特征; 功能性质; 相关性

文章编号: 1673-9078(2016)8-107-115

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.016

Comparison of Structural Characteristics and Functional Properties of Different Commercial Soy Protein Isolates

YANG Feng, LIU Xue, REN Xian-e, HUANG Yong-chun

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi Key Laboratory of Green Processing of Sugar Resources, Key Laboratory for Processing of Sugar Resources of Guangxi Higher Education Institutes, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: The structural characteristics and functional properties of twenty commercial soy protein isolate samples were studied and correlations between structural characteristics and functional properties were also analyzed. The mean particle size (MPS) of these samples ranged from 16.73 to 388.27 nm, the Zeta potential (ZP) ranged from -19.90 to -32.00 mV, and the surface hydrophobicity (H_0) ranged from 234.63 to 493.00. The contents of exposed sulfhydryl groups (SH), free SH, and disulfide bonds (SS) ranged from 3.59 to 11.15 $\mu\text{mol/g}$, 4.68 to 13.37 $\mu\text{mol/g}$ and 6.02 to 15.47 $\mu\text{mol/g}$, respectively, and the protein solubility (PS) values ranged from 9.64 to 41.07%. The emulsifying activity index (EAI) and emulsifying stability index (ESI) values ranged from 14.94 to 46.10 m^2/g and 13.61 to 59.13 min, respectively. Foaming capacity (FC) and foaming stability (FS) values ranged from 28.97 to 98.50% and 60.41 to 98.03%, respectively. Water holding capacity (WHC) and fat absorption capacity (FAC) ranged from 3.50 to 20.43 g water/g protein and 4.08 to 5.66 g oil/g protein, respectively. There were significant differences in structural characteristics and functional properties among some samples ($p<0.05$). Correlation analysis of the structural characteristics and functional properties of these samples indicated that PS and FC were positively correlated to MPS and the absolute value of ZP. Positive correlations were also observed between EAI and the absolute value of ZP, between ESI and MPS, and between FS and the contents of exposed SH and free SH, respectively. While negative correlations were observed between EAI and SS content, between FC and the content of free SH, and between WHC and MPS, respectively.

Key words: soy protein isolates; structural characteristics; functional properties; correlation

收稿日期: 2015-09-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31160348); 广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划资助 (桂教人[2014]7号); 广西科技大学创新团队支持计划资助

作者简介: 杨锋 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物结构及功能化修饰

通讯作者: 任仙娥 (1979-), 女, 高级实验师, 研究方向: 食品蛋白质的结构与功能

大豆蛋白氨基酸组成合理, 含有降低胆固醇、预防心血管疾病的生理活性成分, 并具有良好的加工性^[3]、Porcalla^[4]和 Nunes^[5]等分别将大豆分离蛋白应用到面团、油炸面包虾、香肠和布丁中, 发现其对产品品质均有不同程度的改善。此外, 大豆分离蛋白也用于制备可食性膜、乳液、活性肽等。尽管如此, 天然大豆蛋白的功能性质仍不能满足食品加工的不同需求。因此, 近年来很多科学家研究了物理改性(如超声波、超高压、高压均质、微射流、热处理)、化学改性(如糖基化、磷酸化、乙酰化)和酶法改性(如酶水解、转谷氨酰胺酶)等对大豆蛋白结构和功能性质的影响, 以期获得某种功能性质更佳的专用大豆蛋白产品^[6]。

有关大豆蛋白结构方面的研究表明: 大豆蛋白的主要成分为 11S (大豆球蛋白) 和 7S (β -伴球蛋白), 大豆球蛋白是一个六聚体, 分子量为 300~380 ku, 由 5 个亚基组成: $A_{1a}B_{1b}$ (53.6 ku)、 A_2B_{1a} (52.4 ku)、 $A_{1b}B_2$ (52.2 ku)、 $A_5A_4B_3$ (61.2 ku) 和 A_3B_4 (55.4 ku), 每个亚基由酸性和碱性多肽通过二硫键连接, $A_{1a}B_{1b}$ 、 A_2B_{1a} 、 $A_{1b}B_2$ 具有 2 个-SH 和 3 个-SS-, $A_5A_4B_3$ 、 A_3B_4 具有 2 个-SH 和 2 个-SS-; β -伴球蛋白是一种糖蛋白, 具有三聚体的分子结构, 分子量 150~200 ku, 由 α' (72ku)、 α (68 ku) 和 β (52 ku) 三个亚基组成, α' 和 α 亚基的 N 端有 1 个-SH, β 亚基没有-SH, 三个亚基均没有-SS-, 一般认为有 6 种分子类型: $\alpha'\beta_2$ 、 $\alpha\beta_2$ 、 $\alpha\alpha'\beta$ 、 $\alpha_2\beta$ 、 $\alpha_2\alpha'$ 、 α_3 , 另外, 还有另一种类型的结构为 β_3 ^[7]。然而, 由于大豆球蛋白和 β -伴球蛋白均具有分子异质性, 使得其难以结晶, 目前仅获得了 A_3B_4 六聚体的球蛋白和 β 三聚体的 β -伴球蛋白分子的结晶分析及三维结构^[7], 由其它亚基组成的球蛋白和 β -伴球蛋白三维结构还未得到, 这在一定程度上制约了其构效关系的深入研究。

然而, 目前尚未见有文章对市场上的商用大豆分离蛋白质量状况(尤其是结构特征和功能性质方面)做调查分析, 并且食品工业用大豆蛋白产品标准(GB/T 20371-2006)仅对该产品的原料、感官特性、净含量、理化指标(水分、蛋白质、灰分、脂肪、粗纤维)、尿素酶活性、食品添加剂及卫生指标做了要求, 未涉及食品工业关注的功能性质等方面。因此有必要对我国的大豆蛋白产品质量尤其是大豆分离蛋白的功能性质等进行比较分析。本文收集了 7 个产量较大、知名度较高的商用大豆分离蛋白生产企业的 20 个样品作为研究对象, 对其结构特征和功能性质进行比较分析, 为用户进一步认识我国大豆分离蛋白的质量现状及科学地选购该原料提供了参考; 在此基础上分析探讨大豆分离蛋白结构与功能的相关性, 对进一步阐

能如凝胶性、乳化性、持水性及持油性等, 以及较低的成本, 广泛应用于食品行业^[1]。如高雪丽^[2]和吉宏武明大豆蛋白结构与功能的关系具有一定的科学意义, 同时为生产企业改善产品的功能性质提供了理论指导。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

材料: 大豆分离蛋白分别来源于山东御馨生物科技有限公司(样品 1~3), 不二富吉(北京)科技有限公司(样品 4~5), 山东临沂山松生物制品有限公司(样品 6~7), 江苏南通光合生物技术有限公司(样品 8~11), 哈高科大豆食品有限责任公司(样品 12~14), 山东省高唐蓝山集团总公司(样品 15~17), 山东禹王实业有限公司(样品 18~20), 经测定 20 个样品 1% 去离子水分散液的 pH 均在 6.8~7.0, 蛋白质含量在 90% 以上; 玉米油, 食品级, 市售; 其它化学试剂均为国产分析纯。

仪器: Nano ZS90 纳米粒度和 Zeta 电位分析仪, 英国 Malvern 公司; Bio-rad 电泳系统, 美国 Bio-rad 公司; Tanon1600 凝胶成像系统, 上海天能科技有限公司; 722 型光栅分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; RF-5301PC 荧光分光光度计, 日本 Shimadzu 公司; Avanti J-26XPI 高速冷冻离心机, 美国 Beckman coulter 公司; FJ200-SH 高速分散均质机, 上海标本模型厂。

1.2 实验方法

1.2.1 粒径和 Zeta 电位的测定

采用 Nano ZS90 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定蛋白质平均粒径和 Zeta 电位。将大豆分离蛋白样品用去离子水配制成 10 g/L 的溶液, 振荡 30 min 使其充分溶解后, 于 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 选择 size 测量软件, 于 25 °C 进行测定, 取三次测定的平均值, 样品的平均粒径采用体积平均半径来表示。再取充分溶解后的样品溶液用 0.45 μ m 膜过滤, 取滤液, 选择 Zeta 电位测量软件进行测定, 测定条件为: 1 cm 聚苯乙烯池, 一对 0.45 cm² 铂电极, 间距为 0.4 cm, 测定温度为 25 °C, 平衡时间为 2 min, 取三次测定的平均值。

1.2.2 SDS-PAGE 凝胶电泳

配置分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 5%。电泳前将配置的 10 g/L 大豆分离蛋白样品于 3000 r/min 离心 10 min, 取 50 μ L 上清液与 100 μ L 样品缓冲液混

合均匀(还原的 SDS-PAGE 凝胶电泳样品缓冲液 95 μL 中加 5 μL β -巯基乙醇, 非还原条件下不加 β -巯基乙醇), 在 95 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min, 冷却后上样, 上样量为 10 μL 。电泳时, 样品在浓缩胶中电流为 16 mA, 进入分离胶后增至 28 mA, 电泳结束后, 取出凝胶放入固定液(无水乙醇 250 mL 和冰乙酸 50 mL, 去离子水定容到 500 mL)中煮沸固定至蓝色条带消失, 再放入染色液(0.6 g 考马斯亮蓝 R-250、500 mL 甲醇和 100 mL 冰乙酸, 用去离子水定容到 1 L)中煮沸染色 10 min 后, 用去离子水漂洗 2~3 次, 然后放入脱色液(冰乙酸 75 mL 和甲醇 50 mL, 用去离子水定容到 1 L)中煮沸脱色, 直至出现清晰的蛋白条带, 最后使用凝胶成像系统进行成像处理。

1.2.3 巯基含量测定

总游离巯基、暴露巯基和二硫键含量的测定采用雷莉等的方法^[8], 其含量以 $\mu\text{mol/g}$ 计, 其中摩尔消光系数为 $13600 \text{ mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。

1.2.4 表面疏水性的测定

参照 Yin 的方法^[9], 以 1-苯胺-8-萘磺酸(ANS)为荧光探针, 蛋白溶液用 0.01 mol/L pH 7.0 的磷酸盐缓冲液分别稀释至 0.05~5 mg/mL, 取不同浓度的蛋白样品 4 mL 加入 50 μL ANS 溶液(采用 0.01 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲溶液配制成 8 mmol/L), 混合均匀, 静置 3 min。在荧光分光光度计下, 设定激发波长 360 nm, 发射波长 463 nm, 狭缝宽为 5 nm, 测定荧光强度。以荧光强度对蛋白质浓度作图并进行线性回归, 以线性回归斜率作为蛋白质的表面疏水性指数。

1.2.5 溶解性的测定

将大豆分离蛋白样品分散于去离子水中配制成 10 g/L 的蛋白溶液, 振荡 30 min 使其充分溶解, 10000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 用 Folin-酚法以牛血清白蛋白作标准曲线, 测定上清液中的蛋白质含量。样品总蛋白质含量采用凯氏定氮法测定, 按下式计算大豆分离蛋白的溶解性(Protein Solubility, PS):

$$\text{PS}(\%) = \frac{\text{上清液蛋白含量}}{\text{总蛋白含量}} \times 100\%$$

1.2.6 乳化性的测定

参照 Yin 的方法^[9], 用去离子水配置 10 g/L 的蛋白溶液, 振荡 30 min 使其充分溶解, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液 15 mL, 加入 5 mL 玉米油, 在高速分散均质机中以 10000 r/min 均质 1 min, 制备得到乳液后分别于 0 min 和 10 min 时从乳液底部吸取 50 μL , 加入到 5 mL 0.1% SDS 溶液中, 混合均匀后在 500 nm 的波长处测定吸光度 A_0 和 A_{10} , 以 0.1% SDS 做空白。按下式分别计算乳化活性指数

(Emulsifying Activity Index, EAI) 和乳化稳定性指数(Emulsifying Stability Index, ESI)。

$$\text{EAI} (\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{10000 \times \theta \times L \times C}$$

$$\text{ESI} (\text{min}) = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}}$$

其中, N -稀释倍数, 100; θ -油相体积, 0.25; L -比色杯厚度, 1 cm; C -蛋白质浓度, 0.01 g/mL。

1.2.7 起泡性的测定

参照刘国琴的方法^[10], 用去离子水配置 10 g/L 的蛋白溶液, 振荡 30 min 使其充分溶解, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液 30 mL, 置于高速分散均质机中以 10000 r/min 均质 1 min 后, 记录泡沫体积(V_0 , mL), 静置 20 min 后, 再记录泡沫体积(V_{20} , mL)。按下式分别计算起泡能力(Foaming Capacity, FC)和泡沫稳定性(Foaming Stability, FS)。

$$\text{FC} (\%) = \frac{V_0}{30} \times 100\%$$

$$\text{FS} (\%) = \frac{V_{20}}{V_0} \times 100\%$$

1.2.8 持水和持油性的测定

参照 Tang 的方法^[11], 取 0.2 g 大豆分离蛋白样品(m_1)于称重后的离心管(m_2)中, 加入 20 mL 去离子水, 用玻璃棒轻轻搅拌, 分散至无明显颗粒, 置恒温水浴锅 30 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min, 3000 r/min 离心 15 min, 然后倾去上清液, 称重(m_3)。持水性(Water Holding Capacities, WHC)用被吸附的水的质量和蛋白质质量之比表示, 计算公式如下:

$$\text{WHC} (\text{g水/g蛋白}) = \frac{m_3 - m_1 - m_2}{m_1}$$

取 0.2 g 蛋白样品(m_1)于称重后的离心管(m_2)中, 加入 20 mL 玉米油, 用玻璃棒轻轻搅拌至均匀, 置恒温水浴锅 30 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min, 3000 r/min 离心 15 min, 然后倾去未被吸附的玉米油, 称重(w_3)。持油性(Fat Absorption Capacities, FAC)用被吸附的油的质量和蛋白质质量之比表示, 计算公式如下:

$$\text{FAC} (\text{g油/g蛋白}) = \frac{m_3 - m_1 - m_2}{m_1}$$

1.2.9 数据处理

采用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析, 实验结果以平均值 \pm 标准差表示, 差异显著性采用 LSD 检验法, 相关性分析采用 Pearson 分析。

2 结果与讨论

2.1 不同大豆分离蛋白结构特征的比较

2.1.1 SDS-PAGE 电泳

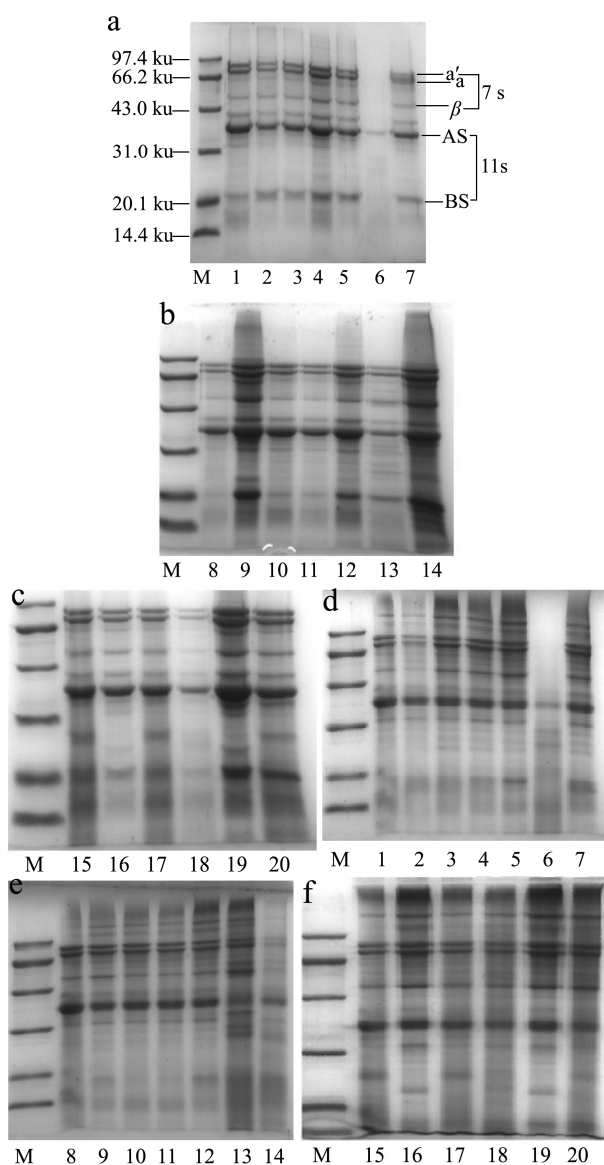


图 1 不同大豆分离蛋白样品的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.1 SDS-PAGE images of different SPI samples

注: a、b 和 c 为还原条件下电泳图谱; d、e 和 f 为非还原条件下电泳图谱; M 为 Marker; 1~20 分别表示 20 个样品。

图 1 是不同大豆分离蛋白的还原和非还原 SDS-PAGE 电泳图。由图 1 可以看出, 在还原和非还原 SDS-PAGE 电泳中 6 号样品未出现 7 s 特征条带, 其余 19 个样品都出现了 11 s 和 7 s 特征条带, 但是各样品中特征条带的颜色深浅不一, 说明各样品之间 7 s 和 11 s 的组成和含量不尽相同, 这可能与各样品选用的大豆品种和加工工艺技术参数不同有关, 也可能与电泳分析过程中样品的溶解情况有关, 样品中未溶解部分的组成差异有待进一步研究。在非还原 SDS-PAGE 电泳中, 3、4、5、7、12、13、15、16、

17、18、19 和 20 号样品均在分离胶顶部出现条带, 说明这些样品中有大分子量聚集体存在。Wang 在研究大豆蛋白的热聚集行为时发现经 90 °C 和 120 °C 热处理后的大豆分离蛋白相比未经热处理的大豆分离蛋白在非还原电泳中其浓缩胶和分离胶顶部都出现了条带, 这意味着大分子量聚集体的形成, 并且 120 °C 热处理使浓缩胶顶部的条带变深, 说明更大尺度聚集体的形成^[12], 由此可见, 这些样品中大分子量聚集体的存在可能与生产过程中的高温等条件有关。

2.1.2 平均粒径

不同大豆分离蛋白样品的平均粒径分析结果见表 1。结果表明 20 号样品的平均粒径最大, 为 388.27 nm; 11 号样品的平均粒径最小, 为 16.73 nm; 部分样品的平均粒径间存在显著差异 ($p < 0.05$)。13 和 19 号样品之间无显著差异 ($p > 0.05$), 平均粒径分别为 206.97 nm 和 185.93 nm; 5 和 6 号样品之间无显著差异 ($p > 0.05$), 平均粒径分别为 147.60 nm 和 133.87 nm; 14、15 和 17 号样品之间无显著差异 ($p > 0.05$), 平均粒径分别为 64.02 nm、61.94 nm 和 64.42 nm; 2、4、7、9、12 和 16 号样品之间无显著差异 ($p > 0.05$), 平均粒径分布在 42.65~53.01 nm 之间。罗东辉采用碱提酸沉和冷冻干燥制备的大豆分离蛋白样品平均粒径为 45.03 nm^[13], 而这 20 个样品的平均粒径大部分大于 45 nm, 有的甚至达到几百纳米, 其原因可能是大豆蛋白在生产过程中发生变性, 高级结构被破坏, 部分展开, 由原来的球形粒子展开成非球形粒子, 导致粒径增大, 也可能是蛋白分子之间发生聚集, 粒径变大。

2.1.3 Zeta 电位

Zeta 电位常用于描述胶体微粒之间的静电相互作用, 是表征胶体体系稳定性的重要指标, Zeta 电位绝对值越高, 说明胶粒之间的静电排斥作用越强, 体系越稳定。由表 1 可知, 3、19 和 20 号样品的 Zeta 电位绝对值较大, 分别为 31.80 mV、32.00 mV 和 29.57 mV; 1 和 12 号样品的 Zeta 电位绝对值较小, 分别为 19.90 mV 和 20.23 mV; 其余样品的 Zeta 电位绝对值基本都在 22~28 mV 之间; 部分样品的 Zeta 电位绝对值间存在显著差异 ($p < 0.05$)。王金梅的研究结果表明热处理和 NaCl 的少量添加会使大豆分离蛋白 Zeta 电位绝对值降低^[14]。由此可推测这些样品 Zeta 电位绝对值的差异可能与生产过程中的 pH、温度、水质、脱盐程度等因素有关。

2.1.4 表面疏水性指数

表面疏水性是影响蛋白质功能性质如乳化性和起泡性的一个重要因素, ANS 荧光探针法是一种广泛使用的评价蛋白质表面疏水性的方法, 采用 ANS 荧

光探针法测定的 20 个样品的表面疏水性指数如表 1 所示。20 个样品的表面疏水性指数分布在 234.63~493.00 之间, 其中 2 号样品的表面疏水性指数最大, 为 493.00; 1 和 9 号次之, 分别为 354.60 和 348.37; 5 号样品的最小, 为 234.63; 部分大豆分离蛋白样品的表面疏水性指数存在显著差异 ($p<0.05$)。其原因一方面可能是由于生产厂家选用的原料大豆的品种不同, 另一方面可能是在生产过程中蛋白质受酸碱和热处理的影响其高级结构受到一定程度的破坏, 紧密包裹的球状结构松散开来, 一些疏水性氨基酸残基暴露出来, 并且暴露的程度不一样, 导致各样品的表面疏水性指数存在差异。

2.1.5 巯基和二硫键

巯基和二硫键是大豆蛋白中两个重要的功能基团, 它们容易受到加工过程的影响而发生巯基氧化反

应和巯基/二硫键交换反应, 促使蛋白质变性与聚集, 从而影响蛋白质的营养和功能性质^[15]。总游离巯基可分为两部分: 一部分是暴露在蛋白质分子表面的巯基(暴露巯基), 另一部分是包裹在分子内部的巯基。比较发现, 20 个样品的暴露巯基含量平均值为 5.89 $\mu\text{mol/g}$, 8 号样品的最大为 11.15 $\mu\text{mol/g}$, 16 号样品的最小为 3.59 $\mu\text{mol/g}$; 总游离巯基含量平均值为 7.68 $\mu\text{mol/g}$, 8 号样品的最大为 13.37 $\mu\text{mol/g}$, 14 号样品的最小为 4.68 $\mu\text{mol/g}$; 二硫键含量平均值为 10.28 $\mu\text{mol/g}$, 17 号样品的最大为 15.47 $\mu\text{mol/g}$, 16 号样品的最小为 6.02 $\mu\text{mol/g}$; 部分样品的暴露巯基、总游离巯基和二硫键含量之间存在显著差异 ($p<0.05$)。阮奇珺报道大豆蛋白巯基含量处于一个宽的范围 (0.2~14.8 $\mu\text{mol/g}$), 本文的分析结果与之相符^[15]。

表 1 不同大豆分离蛋白样品的结构特征

Table 1 Structural characteristics of different SPI samples

样品	平均粒径/nm	Zeta 电位/mV	表面疏水性指数	暴露巯基/ $(\mu\text{mol/g})$	总游离巯/ $(\mu\text{mol/g})$	二硫键/ $(\mu\text{mol/g})$
1	72.95±2.43 ^{ef}	-19.90±1.71 ⁱ	354.60±8.90 ^b	6.46±0.06 ^f	9.35±0.05 ^c	11.33±0.47 ^e
2	44.17±3.60 ^{fg}	-22.53±2.57 ^{gh}	493.00±10.25 ^a	7.77±0.06 ^c	9.33±0.13 ^c	10.40±0.16 ^f
3	103.70±0.96 ^d	-31.80±0.36 ^a	266.58±9.20 ^{hi}	6.38±0.04 ^f	8.50±0.04 ^e	8.81±0.33 ^{gh}
4	44.07±3.95 ^{fg}	-28.80±1.14 ^{bc}	282.28±8.72 ^g	6.81±0.08 ^e	10.32±0.04 ^b	9.17±0.01 ^g
5	147.60±11.43 ^c	-25.10±0.87 ^{de}	234.63±2.47 ^k	5.51±0.15 ^h	9.29±0.05 ^c	9.16±0.04 ^g
6	133.87±8.45 ^c	-24.17±1.67 ^{ef}	267.33±6.89 ^{hi}	9.93±0.03 ^b	10.29±0.10 ^b	13.62±0.63 ^b
7	50.17±17.74 ^{fg}	-25.57±1.52 ^{de}	302.63±4.49 ^{de}	7.08±0.02 ^d	9.07±0.06 ^d	7.29±0.18 ^j
8	29.05±4.31 ^g	-23.33±0.75 ^{fg}	291.77±2.85 ^{ef}	11.15±0.04 ^a	13.37±0.04 ^a	13.12±0.24 ^c
9	42.65±13.71 ^{fg}	-24.80±1.31 ^{de}	348.37±6.01 ^b	4.49±0.05 ^m	6.08±0.05 ^j	7.98±0.05 ⁱ
10	20.39±3.23 ^{gh}	-27.40±0.60 ^{bc}	311.29±10.11 ^{cd}	4.84±0.01 ^k	5.78±0.02 ^k	12.68±0.10 ^{cd}
11	16.73±5.92 ^h	-22.97±0.81 ^{gh}	261.42±7.73 ^{ij}	5.36±0.04 ⁱ	8.26±0.23 ^f	13.14±0.04 ^c
12	53.01±27.82 ^{fg}	-20.23±1.95 ^{hi}	276.97±3.26 ^{gh}	4.00±0.05 ^o	7.39±0.09 ^g	8.59±0.07 ^h
13	206.97±7.42 ^b	-25.30±0.92 ^{de}	321.34±6.73 ^c	4.42±0.06 ^m	5.14±0.01 ^l	10.71±0.07 ^f
14	64.02±1.26 ^f	-23.77±0.74 ^{ef}	248.62±6.52 ^j	4.29±0.02 ⁿ	4.68±0.04 ^m	8.37±0.10 ^{hi}
15	61.94±2.12 ^f	-23.57±1.40 ^{ef}	251.37±7.84 ^j	6.13±0.02 ^g	6.94±0.01 ^h	13.94±0.33 ^b
16	50.78±1.89 ^{fg}	-26.30±4.10 ^{cd}	275.10±9.22 ^{gh}	3.59±0.04 ^q	5.26±0.09 ^l	6.02±0.51 ^k
17	64.42±3.20 ^f	-23.80±0.53 ^{ef}	274.82±8.05 ^{gh}	6.09±0.03 ^g	6.87±0.12 ^h	15.47±0.50 ^a
18	96.09±2.81 ^{de}	-26.53±0.85 ^{cd}	262.31±5.97 ^{ij}	3.71±0.01 ^p	5.29±0.15 ^l	12.49±0.38 ^d
19	185.93±57.44 ^b	-32.00±1.76 ^a	315.82±10.15 ^{cd}	4.58±0.01 ^l	6.41±0.38 ⁱ	8.04±0.02 ⁱ
20	388.27±30.64 ^a	-29.57±1.70 ^{ab}	278.41±10.18 ^{gh}	5.15±0.02 ^j	6.04±0.01 ^j	10.28±0.09 ^f

注: 同列间相比, 有相同字母者差异不显著 ($p>0.05$), 反之差异显著 ($p<0.05$); 下表同。

2.2 不同大豆分离蛋白功能性质的比较

2.2.1 溶解性

如表 2 所示, 20 个大豆分离蛋白样品的溶解性平均值为 20.79%, 变异系数为 39.68%, 其中 13 号样品的溶解性最大为 41.07%, 6 号样品的溶解性最小为

9.64%, 部分样品的溶解性之间存在显著差异 ($p<0.05$)。Tang 等认为商用大豆分离蛋白在生产过程中受极端条件如酸沉和高温的影响容易变性, 变性后的蛋白质其溶解性都受到不同程度地降低^[16]。Arrese 在 1991 年对 19 个商用大豆分离蛋白样品的溶解性和变性程度作了比较发现样品的溶解性与其变性

程度有关,但是并不严格相关,部分样品变性程度较高但溶解性并不低^[17]。

2.2.2 乳化性

蛋白质的乳化性可由乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)来表征。如表2所示,20个大豆分离蛋白样品的EAI平均值为28.64 m²/g,变异系数为27.82%,其中5号样品的EAI最大为46.10 m²/g,1号样品的EAI最小为14.94 m²/g,部分样品的EAI之间有显著差异($p<0.05$);20个样品的ESI平均值为32.77 min,变异系数为39.21%,其中16号样品的ESI最大为59.13 min,1号样品的ESI最小为13.61 min,部分样品的ESI之间也存在显著差异($p<0.05$)。这可能与各样品的溶解性、表面疏水性、二硫键含量、7S与11S比例不同有关^[1]。

2.2.3 起泡性

由表2可知,20个样品起泡能力的平均值为55.61%,变异系数为39.38%,其中19号样品的起泡能力最大为98.50%,1号样品的起泡能力最小为28.97%;20个样品泡沫稳定性的平均值为75.95%,变异系数为13.51%,其中6号样品的泡沫稳定性最大

为98.03%,14号样品的泡沫稳定性最小为60.41%;部分样品的起泡能力和泡沫稳定性之间有显著差异($p<0.05$)。这可能与各样品的溶解性、平均粒径存在差异有关^[18]。

2.2.4 持水性和持油性

由表2可知,20个大豆分离蛋白样品的持水性平均值为11.23 g水/g蛋白质,变异系数为33.21%,其中11号样品的持水性最大为20.43 g水/g蛋白质,13号样品的持水性最小为3.50 g水/g蛋白质,部分样品的持水性之间存在显著差异($p<0.05$)。Arrese也研究了19个样品的持水性,结果表明持水性分布在5.8~12.8 g水/g蛋白质之间,并且还发现溶解性过大和变性程度过高都不利于其持水性,适度变性的样品持水性高,表明蛋白质多肽链一定程度的展开有助于其吸收和保持水分^[17]。

各个样品的持油性差异不大,平均值为5.10 g油/g蛋白质,变异系数为10.98%,1号样品的持油性最小为4.08 g油/g蛋白质,14号样品的最大为5.66 g油/g蛋白质。

表2 不同大豆分离蛋白样品的功能性质

Table 2 Functional properties of different SPI samples

样品	溶解性/%	乳化性		起泡性		持水性 (g水/g蛋白质)	持油性 (g油/g蛋白质)
		乳化活性 指数/(m ² /g)	乳化稳定性 指数/min	起泡能力 /%	泡沫稳定性 /%		
1	15.10±0.13 ^k	14.94±1.58 ^k	13.61±0.06 ^b	28.97±1.32 ^k	72.27±5.38 ^{fg}	13.20±1.04 ^{bc}	4.08±0.61 ^b
2	10.65±0.61 ^m	18.14±2.10 ^j	15.58±2.71 ^h	28.98±0.60 ^k	69.94±0.29 ^{gh}	12.71±0.78 ^{bc}	5.11±0.72 ^a
3	24.73±0.37 ^{ef}	37.12±0.39 ^c	39.93±7.21 ^d	62.71±4.50 ^e	69.52±5.26 ^{gh}	9.71±1.37 ^{fg}	4.98±0.40 ^{ab}
4	18.80±0.23 ⁱ	25.96±4.08 ^{fg}	17.81±1.16 ^g	46.80±0.26 ^{gh}	66.71±0.81 ^{gh}	12.32±1.31 ^{cd}	4.91±0.97 ^{ab}
5	28.84±0.46 ^d	46.10±1.72 ^a	39.34±6.98 ^d	42.17±1.04 ⁱ	89.22±1.58 ^b	12.66±1.38 ^{bc}	5.08±0.63 ^{ab}
6	9.64±0.36 ^m	31.65±2.41 ^{de}	32.04±5.15 ^e	36.03±0.01 ^j	98.03±2.26 ^a	5.75±0.23 ^h	5.22±0.60 ^a
7	20.78±0.53 ^{gh}	40.85±1.77 ^b	48.10±7.17 ^b	42.92±0.47 ^{hi}	82.84±2.58 ^{cd}	10.86±1.62 ^{de}	4.82±0.41 ^{ab}
8	17.09±0.29 ^j	24.52±1.60 ^{gh}	24.13±3.42 ^{fg}	47.96±3.56 ^g	88.55±6.35 ^{bc}	12.99±1.91 ^{bc}	4.88±0.23 ^{ab}
9	14.39±0.32 ^k	29.88±1.71 ^e	30.65±2.27 ^f	47.34±0.35 ^g	65.90±1.12 ^{gh}	14.72±1.11 ^b	5.34±0.35 ^a
10	12.50±0.56 ^l	19.36±1.32 ^{ij}	31.52±4.91 ^e	42.35±1.00 ^j	68.64±0.63 ^{gh}	12.78±2.02 ^{bc}	5.18±0.27 ^a
11	14.34±0.25 ^k	21.67±2.36 ^{hi}	23.63±1.78 ^{fg}	23.94±0.20 ^j	81.86±2.33 ^{de}	20.43±1.18 ^a	5.62±0.30 ^a
12	18.68±0.86 ⁱ	24.78±1.21 ^{gh}	24.47±2.04 ^{fg}	40.98±0.48 ⁱ	72.82±1.33 ^{fg}	11.94±0.46 ^{cd}	4.87±0.89 ^{ab}
13	41.07±0.25 ^a	34.42±1.60 ^{cd}	52.21±2.74 ^{ab}	74.72±4.74 ^c	64.27±1.57 ^{gh}	3.50±0.66 ⁱ	4.97±0.30 ^{ab}
14	13.54±0.41 ^{kl}	25.39±2.19 ^{fg}	26.65±3.46 ^f	64.71±3.76 ^e	60.41±5.81 ^h	12.61±2.24 ^{bc}	5.66±0.65 ^a
15	19.52±0.69 ^{hi}	22.00±3.29 ^{hi}	41.67±6.44 ^c	69.73±1.21 ^d	64.36±3.30 ^{gh}	7.86±0.27 ^g	4.68±0.35 ^{ab}
16	23.30±1.16 ^f	36.61±0.88 ^c	59.13±5.14 ^a	52.65±2.52 ^f	80.13±4.70 ^e	14.74±0.50 ^b	5.02±0.27 ^{ab}
17	21.09±1.27 ^g	26.11±0.28 ^{fg}	25.32±4.31 ^{fg}	78.36±1.01 ^c	86.40±0.80 ^{bc}	7.68±0.36 ^g	5.36±0.20 ^a
18	25.26±0.89 ^e	28.39±0.53 ^{ef}	24.40±2.32 ^{fg}	87.70±2.25 ^b	79.38±2.20 ^e	10.43±0.60 ^{ef}	5.59±0.75 ^a
19	35.64±1.67 ^b	30.45±0.96 ^e	38.60±4.60 ^d	98.50±2.26 ^a	79.85±2.41 ^e	9.51±0.28 ^{fg}	5.44±0.32 ^a
20	30.95±2.38 ^c	34.42±0.73 ^{cd}	46.59±4.49 ^b	94.67±4.53 ^a	77.96±5.36 ^{ef}	8.18±0.65 ^g	5.17±0.05 ^a

2.3 大豆分离蛋白结构特征与功能性质的相关性分析

20 个大豆分离蛋白样品的结构特征与功能性质之间的相关性分析结果如表 3 所示。

由表 3 可知, 20 个大豆分离蛋白样品的溶解性与其平均粒径和 Zeta 电位绝对值之间均存在正相关, 相关系数分别为 0.672 ($p<0.01$) 和 0.518 ($p<0.05$)。这可能与样品分散液中蛋白粒子的展开程度有关, 展开

程度越大其粒径越大, 同时由于蛋白粒子的展开暴露出了更多的疏水基团和极性基团从而增加了表面电荷、围绕着新暴露的极性基团的结合水增多, 溶解性随之得到提高。这与罗东辉进行均质改性大豆蛋白功能特性研究所得到的结果相似, 他发现大豆分离蛋白经微射流均质处理后其粒径增大, 溶解性随之得到提高^[13]。Song 等的研究表明, Zeta 电位绝对值越大, 蛋白质分子之间的静电排斥作用越大, 越有利于蛋白质的溶解分散和稳定, 这与本文的研究结果也相符^[19]。

表 3 大豆分离蛋白结构特征与功能性质之间的相关性分析

Table 3 Correlation analysis on the structural characteristics and functional properties of SPI

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12
2	0.448*											
3	-0.125	-0.195										
4	-0.155	-0.180	0.173									
5	-0.253	-0.214	0.129	0.883**								
6	-0.083	-0.306	-0.097	0.402	0.214							
7	0.672**	0.518*	-0.219	-0.399	-0.347	-0.249						
8	0.432	0.470*	-0.409	-0.128	-0.079	-0.482*	0.570**					
9	0.448*	0.443	-0.318	-0.296	-0.403	-0.383	0.610**	0.727**				
10	0.620**	0.585**	-0.284	-0.374	-0.536*	0.003	0.704**	0.269	0.399			
11	0.118	-0.04	-0.256	0.466*	0.463*	0.273	-0.012	0.346	0.065	-0.097		
12	-0.555*	-0.24	0.079	-0.121	0.147	-0.219	-0.479*	-0.269	-0.357	-0.567**	-0.033	
13	0.068	0.299	-0.208	-0.304	-0.422	0.043	0.027	0.138	0.007	0.327	0.111	0.131

注: *在 0.05 水平上达到显著性相关, **在 0.01 水平上达到显著性相关。X1-平均粒径, X2-Zeta 电位绝对值, X3-表面疏水性, X4-暴露巯基含量, X5-总游离巯基含量, X6-二硫键含量, X7-溶解性, X8-乳化活性指数, X9-乳化稳定性指数, X10-起泡能力, X11-泡沫稳定性, X12-持水性, X13-持油性。

20 个大豆分离蛋白样品的乳化活性指数与其 Zeta 电位绝对值和溶解性之间均存在正相关, 相关系数分别为 0.470 ($p<0.05$) 和 0.570 ($p<0.01$); 与二硫键含量之间存在负相关, 相关系数为-0.482 ($p<0.05$)。乳化稳定性指数与平均粒径、溶解性和乳化活性之间均存在正相关, 相关系数为 0.448 ($p<0.05$)、0.610 ($p<0.01$) 和 0.727 ($p<0.01$)。大量研究结果表明蛋白质的乳化性与其溶解性相关, 溶解性较好的蛋白质乳化能力较强, 同时适量减少球蛋白的二硫键含量, 可增加蛋白质分子的柔性, 从而增强其乳化性, 这些都与本文研究结果相符^[1]。

20 个大豆分离蛋白样品的起泡能力与平均粒径、Zeta 电位绝对值和溶解性之间存在显著正相关, 相关系数分别为 0.620、0.585 和 0.704 ($p<0.01$), 与总游离巯基之间存在负相关, 相关系数为-0.536 ($p<0.05$)。对于泡沫的形成来说, 蛋白质应是可溶的, 才易于在水和空气之间形成有附着力的薄膜, 因此好的溶解性

是蛋白质具有良好起泡性的先决条件, 本文的研究结果与之相符。Zeta 电位绝对值越大, 表明蛋白质之间的静电相互作用越大, Johnson 和 Zabik 研究发现静电相互作用有助于蛋白质良好的起泡性能^[20], 这与本文的研究结果一致。Morales 等采用高场强超声波处理研究了大豆分离蛋白粒径与起泡性之间的关系, 结果表明起泡能力随着蛋白质粒径的减小而增加, 尤其是粒径小于 110 nm 时^[18], 这与本文的研究结果不一致, 这可能与高场强超声波处理引起大豆分离蛋白的结构发生变化有关。泡沫稳定性与暴露巯基和总游离巯基之间存在正相关, 相关系数分别为 0.466 和 0.463 ($p<0.05$)。郭凤仙在研究热处理对大豆分离蛋白结构和功能特性的影响时, 发现在高浓度的大豆分离蛋白经热处理后总巯基含量与泡沫稳定性表现出很强的相关性, 但是表面(暴露)巯基与各功能性质之间相关性都较差^[21]。本研究也未发现暴露巯基与其它功能性质之间的相关性。

20 个大豆分离蛋白样品的持水性与其平均粒径和溶解性之间存在负相关, 相关系数分别为-0.555 和 -0.479 ($p<0.05$), Arrese 也发现溶解性过大不利于其持水性^[17]。另外, 本研究还发现持水性与起泡能力之间存在显著负相关, 相关系数为-0.567 ($p<0.01$), 但是未发现持油性与结构特征和其它功能性质之间的相关性。

蛋白质的表面疏水性与其功能性质的关系一直以来受到很多学者的关注, 但是本研究未发现这些样品的表面疏水性与其功能性质之间的相关性。Townsend 和 Nakai 的研究也未得到蛋白质的起泡性和表面疏水性之间明显的相关性, 究其原因, 他们认为蛋白质在界面(如油-水界面或空气-水界面)的表面疏水性与其在溶液中的表面疏水性是不一样的, 而我们通常测定的是蛋白质在溶液中的表面疏水性^[22]。Utsumi 团队在研究大豆 β -伴球蛋白异三聚体的结构-理化功能性质的关系时发现采用 ANS 荧光探针技术测定的表面疏水性和其乳化性之间无相关性, 而采用疏水性柱色谱特别是丁基琼脂糖凝胶柱色谱测定的表面疏水性与其乳化性之间存在很好的相关性^[23], 但是在研究不同亚基组成的大豆球蛋白结构-理化功能性质的关系时, 采用此柱色谱测定的表面疏水性与其乳化性之间又未发现相关性^[24]。郭凤仙发现在热处理过程中, 大豆分离蛋白的表面疏水性和功能性质的关系与蛋白质浓度有关, 当蛋白质浓度为 2% 时, 热处理过程中表面疏水性和各功能性质之间均没有相关性, 但是当浓度为 5% 时, 表面疏水性与泡沫稳定性存在显著正相关, 相关系数为 0.894 ($p<0.01$)^[21]。由此可见, 蛋白质的表面疏水性和其功能性质之间的关系受很多因素的影响, 如表面疏水性的测定方法、蛋白质的浓度等。

3 结论

3.1 对 7 个大豆分离蛋白生产厂家的 20 个样品结构特征和功能性质的分析发现, 这些样品的 SDS-PAGE 电泳、平均粒径、Zeta 电位、巯基和二硫键含量、表面疏水性、溶解性、乳化性、起泡性、持水性和持油性等性质之间存在很大差异。可见, 我国商用大豆分离蛋白的功能性质差别较大, 加上目前产品标准没有将功能性质作为质量指标, 这就要求食品企业在选购该产品时必须进行测试。

3.2 基于 20 个受试样品中部分样品的结构特征和功能性质存在显著性差异, 研究了商用大豆分离蛋白的结构特征和功能性质的相关性, 结果发现其存在着多种相关关系: 溶解性与平均粒径和 Zeta 电位绝对值之间存在正相关, 乳化活性指数与 Zeta 电位绝对值和溶

解性之间存在正相关、与二硫键含量之间存在负相关, 乳化稳定性指数与平均粒径和溶解性之间存在正相关, 起泡能力与平均粒径和 Zeta 电位绝对值以及溶解性之间存在正相关、与总游离巯基之间存在负相关, 泡沫稳定性与暴露巯基和总游离巯基之间存在正相关, 持水性与平均粒径和溶解性以及起泡能力之间存在负相关。

参考文献

- [1] Nishinari K, Fang Y, Guo S, et al. Soy protein: A review on composition, aggregation and emulsification [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 39: 301-318
- [2] 高雪丽, 陈复生, 张丽芬, 等. 大豆分离蛋白影响面团特性的作用机制研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(12): 177-184
GAO Xue-li, CHEN Fu-sheng, ZHANG Li-fen, et al. Mechanism of the effect of soy protein isolated on dough properties [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(12): 177-184
- [3] 吉宏武, 潘广坤, 刘书成, 等. 添加大豆分离蛋白对油炸面包虾品质的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 30(4): 104-111
JI Hong-wu, PAN Guang-kun, LIU Shu-cheng, et al. Effect of soy protein isolate on quality of fried breaded shrimp [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(4): 104-111
- [4] Porcella M I, Sanchez G, Vaudagna S R, et al. Soy protein isolate added to vacuum-packaged chorizos: Effect on drip loss, quality characteristics and stability during refrigerated storage [J]. Meat Science, 2001, 57: 437-443
- [5] Nunes M C, Batista P, Raymundo A, et al. Vegetable protein and milk puddings [J]. Colloids and Surface B: Biointerfaces, 2003, 31(1-4): 21-29.
- [6] 杨晓泉. 大豆蛋白的改性技术研究进展[J]. 广州城市职业学院学报, 2008, 2(3): 38-44
YANG Xiao-quan. Progress in the study on modification techniques of soy protein [J]. Journal of Guangzhou City Polytechnic, 2008, 2(3): 38-44
- [7] Fukushima D. Recent progress in research and technology on soybeans [J]. Food Science and Technology Research, 2001, 7(1): 8-16
- [8] 雷莉, 赵强, 范婷, 等. 高压微射流处理对白木通籽分离蛋白结构及流变性质的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(2): 145-150
LEI Li, ZHAO Qiang, FAN Ting, et al. Effects of high pressure microfluidization on the structure and rheological properties of *Akebia trifoliata* var. *ausrealis* seed protein isolate [J]. Modern Food Science and Technology, 2015,

- 31(2): 145-150
- [9] Yin S W, Tang C H, Wen Q B, et al. Functional properties and *in vitro* trypsin digestibility of ream kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate: Effect of high-pressure treatment [J]. Food Chemistry, 2008, 110: 938-945
- [10] 刘国琴, 阎乃珺, 陈璐瑶. 动态高压微射流对小麦面筋蛋白功能性质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(5): 936-940
LIU Guo-qin, YAN Nai-jun, CHEN Lu-yao. Functional properties of wheat gluten influenced by dynamic high pressure microfluidization treatment [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(5): 936-940
- [11] Tang C H. Functional properties and *in vitro* digestibility of buckwheat protein products: influence of processing [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 82: 568-576
- [12] Wang J M, Xia N, Yang X Q, et al. Adsorption and dilatational rheology of heat-treated soy protein at the oil-water interface: relationship to structural properties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(12): 3302-3310
- [13] 罗东辉. 均质改性大豆蛋白功能特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010
LUO Dong-hui. Functional properties of modified soy protein by homogenization [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010
- [14] 王金梅. 大豆蛋白热聚集行为及界面、乳化性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012
WANG Jin-mei. Thermally aggregation behaviors, interfacial and emulsifying properties of soy protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [15] 阮奇珺. 大豆蛋白热诱导二硫键连接物的形成及巯基变化亚基水平研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015
RUAN Qi-jun. Subunit level study on heat induced disulfide linked products and sulfhydryl change of soy protein [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015
- [16] Tang C H, Wang X Y, Yang X Q, et al. Formation of soluble aggregates from insoluble commercial soy protein isolate by means of ultrasonic treatment and their gelling properties [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 92: 432-437
- [17] Arrese E L, Sorgentini D A, Wagner J R, et al. Electrophoretic, solubility and functional properties of commercial soy protein isolates [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991, 39: 1029-1032
- [18] Morales R, Martinez K D, Henestrosa V M, et al. Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: particle size effect [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2015, 26: 48-55
- [19] Song X Z, Zhou C J, Fu F, et al. Effect of high-pressure homogenization on particle size and film properties of soy protein isolate [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 43: 538-544
- [20] Johnson T, Zabik M. Egg albumen proteins interactions in an angel food cake system [J]. Journal of Food Science, 1981, 46: 1231
- [21] 郭凤仙. 热处理对大豆分离蛋白结构及功能特性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2009
GUO Feng-xian. Influence of heat treatment on structural and functional properties of soy isolate protein [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009
- [22] Townsend A, Nakai S. Relationship between hydrophobicity and foaming characteristics of food proteins [J]. Journal of Food Science, 1983, 48(2): 588
- [23] Maruyama N, Salleh M R, Takahashi K, et al. Structure-physicochemical function relationships of soybean β -conglycinin heterotrimers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 4323-4326
- [24] Maruyama N, Prak K, Motoyama S, et al. Structure-physicochemical function relationships of soybean glycinin at subunit levels assessed by using mutant lines [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 8197-8201