

大豆 11S 球蛋白热力学特性和溶液性质与表面疏水性关系研究

李 丹¹, 魏冬旭², 贾 烨³, 刘春雷¹, 江连洲^{4,*}

(1. 宁德师范学院, 福建宁德 352100;

2. 黑龙江出入境检验检疫局, 黑龙江哈尔滨 150001;

3. 杭州娃哈哈集团有限公司, 浙江杭州 310018;

4. 东北农业大学 食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘 要:以 6 个具有代表性的大豆品种制备的 11S 球蛋白为实验对象, 研究大豆 11S 球蛋白热力学特性、溶解性和溶液性质与表面疏水性的关系。采用 ANS 荧光探针法测定表面疏水性, 差示扫描量热法分析热力学特性, 体积排阻-凝胶色谱法分析溶液的分子量及其分布, 应用动态光散射技术分析流体动力学半径及其分布, Zeta-电位仪测定蛋白 ξ -电位。结果表明, 大豆 11S 球蛋白的表面疏水性与变性温度($p=0.010$)和变性焓($p=0.012$)均呈现显著负相关; 大豆 11S 球蛋白的溶解性与表面疏水性极显著负相关($p=0.003$); 大豆 11S 球蛋白溶液可溶性聚集物的平均分子量与表面疏水性极显著正相关($p=0.005$), 平均直径与表面疏水性极显著正相关($p=0.007$), ξ -电位绝对值与表面疏水性显著负相关($p=0.034$)。

关键词:大豆 11S 球蛋白, 热力学特性, 分子量分布, 流体动力学半径, ξ -电位, 表面疏水性

Study on relationship between the thermodynamic characters/solution properties and surface hydrophobicity of soybean β -Conglycinin(11S)

LI Dan¹, WEI Dong-xu², JIA Ye³, LIU Chun-lei¹, JIANG Lian-zhou^{4,*}

(1. Ningde Normal University, Ningde 352100, China;

2. Heilongjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Harbin 150001, China;

3. Hangzhou Wahaha Group Co., Ltd., Hangzhou 310018, China;

4. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Taking β -Conglycinin(11S) which was prepared with six representative soybean varieties as the object, Study the relationship between the thermodynamic characters/solution properties and surface hydrophobicity. Surface hydrophobicity of 11S was determined by ANS fluorescent probe method, thermodynamic characteristics was analyzed by differential scanning calorimetry, molecular weight distribution was determined by size exclusion gel chromatography, hydrodynamic radius was analyzed by dynamic light scattering analyzer and ξ -potential was determined by Zeta-potential meter. The results showed that there was significantly negative correlation between surface hydrophobicity of 11S and thermal denaturation temperature($p=0.010$)/denaturation enthalpy($p=0.012$), and negatively correlated with solution properties($p=0.003$). There was positive correlation between surface hydrophobicity of 11S and average molecular weight($p=0.005$)/average diameter($p=0.007$), and negative correlation with ξ -potential absolute value($p=0.034$).

Key words: β -Conglycinin(11S); thermodynamic characteristics; molecular weight distribution; hydrodynamic radius; ξ -potential; surface hydrophobicity

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)10-0046-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.10.009

引文格式: 李丹, 魏冬旭, 贾烨, 等. 大豆 11S 球蛋白热力学特性和溶液性质与表面疏水性关系研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 46-50, 57.

蛋白质的表面疏水性是由于部分疏水基团暴露于蛋白质表面引起的, 是影响分子间相互作用的主

收稿日期: 2017-06-06

作者简介: 李丹(1983-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程, E-mail: 116127847@qq.com。

* 通讯作者: 江连洲(1960-), 博士, 教授, 主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程方面的研究, E-mail: 501342131@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(C200101); 福建省科技厅重点项目(2014N0007); 宁德师范学院校级课题(2016Z07、2016Z08)。

要因素,是衡量蛋白质功能性质的关键指标之一。蛋白质的表面疏水性与蛋白质的理化性质和结构特性等密切相关。差示扫描量热法(DSC)是一种研究热性质的有效手段,变性温度(T_d)反应蛋白质的热稳定性,变性焓(ΔH)是疏水作用和蛋白质结构紧密性的重要指标^[1]。溶解性是大豆蛋白质可应用性的重要参数,是大豆蛋白质最重要的功能特性之一,溶解性差,通常伴随着功能特性较差^[2]。溶液性质是大豆蛋白质实际应用中的重要性质之一,是大豆蛋白质功能特性的基础。溶液中可溶性聚集物的分子量及其分布以及流体动力学半径及其分布反映蛋白质的聚集程度。 ξ -电位反映蛋白质表面电荷情况,与表面疏水性共同作用,影响蛋白质溶液的稳定性^[3]。

近年来,大量研究表明大豆蛋白质的理化性质和结构特性随大豆品种和产地的不同而有所差异^[4-6],而关于大豆蛋白质的表面疏水性与其理化性质和结构特性的关系研究报道不多,且研究大多数是以SPI(大豆分离蛋白)为对象,从纯品大豆11S球蛋白的角度来研究品种差异对大豆蛋白表面疏水性的影响,探讨大豆蛋白质热力学特性和溶液性质与表面疏水性的关系,在国内外鲜有报道。本研究选择我国常用的、具有区域代表性的6个大豆品种制备的11S球蛋白为实验对象,探讨大豆11S球蛋白热力学特性和溶液性质与表面疏水性的关系,以期为今后开发大豆蛋白质特定功能性产品而进行的分子设计和重组提供重要的理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大豆 东农42,东北农业大学大豆研究所;黑农46、合丰55 黑龙江省农业科学院大豆研究所;冀豆12 河北省农林科学院粮油作物研究所;皖豆28 安徽省农业科学院作物研究所;福豆234 福建省农业科学院作物研究所;ANS(1-苯胺基-8-萘磺酸) Sigma公司; KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 、 NaCl 、 β -巯基乙醇 为优级纯,其余试剂为国产分析纯;标准蛋白(甲状腺球蛋白、醛缩酶、牛血清白蛋白、卵白蛋白、腺苷酸激酶、激血球素) 上海康朗生物科技有限公司。

AKTA-蛋白质纯化仪 美国GE公司;HiLoad 16/60 Superdex 200 prep grade 凝胶预装柱 美国GE公司;PE Pyris6 差示扫描量热仪 美国PULUS TA.XT公司;Zeta Plus 电位及激光粒度分析仪 美国布鲁克海文仪器公司;722型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆前处理 不同品种大豆样品粉碎后过40目筛,用正己烷脱脂,得脱脂大豆粉,以脱脂豆粉为原料制备大豆11S球蛋白,用凯氏定氮和SDS-PAGE电泳综合分析其纯度均在95%以上^[7],备用。

1.2.2 表面疏水性的测定 采用ANS荧光探针法,具体参照李丹^[8]和刘春雷等^[9]的方法测定大豆蛋白的表面疏水性。

1.2.3 热力学特性分析 利用PE Pyris 6-DSC 热力学分析仪测定不同品种大豆11S球蛋白的热力学特

性^[10]。称取5 mg的样品放入铝盒中,再向其中加入10 μL 的pH7.6的磷酸盐缓冲液,压盘密封,室温条件下放置6 h。温度扫描范围:20~120 $^{\circ}\text{C}$;升温速率:10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$;在120 $^{\circ}\text{C}$ 保持1 min;随后从120 $^{\circ}\text{C}$ 降温至20 $^{\circ}\text{C}$,降温速率:30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 。记录此过程中样品的变性温度(T_d)和变性焓变(ΔH)。

1.2.4 溶解性的测定 参考Samoto等^[11]的方法。将200 mg样品分散于20 mL去离子水中,室温下磁力搅拌30 min,室温离心(10000 $\times g$, 20 min)。上清液经适度稀释,采用Lowry法测定蛋白质含量,吸光度横坐标,蛋白质浓度为纵坐标,标准曲线如图1所示。

样品溶解度(%) = 上清液蛋白质量浓度 / (样品质量浓度 $\times$ 样品蛋白质含量) $\times 100$

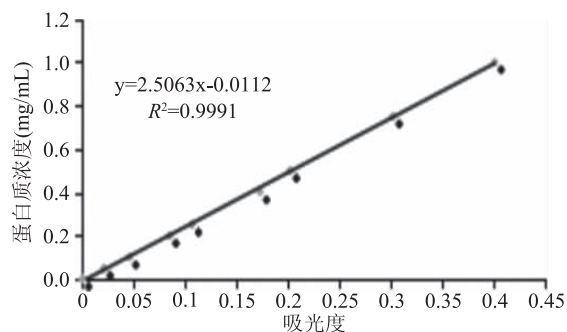


图1 Lowry法蛋白含量测定试剂盒标准曲线

Fig.1 The standard curve of protein assay kit by Lowry method

1.2.5 蛋白质溶液性质的测定

1.2.5.1 溶液的平均分子量分布的测定 采用体积排阻-凝胶色谱(SEC-HPLC)研究不同品种大豆11S球蛋白的分子量分布。应用AKTA-蛋白质纯化仪和HiLoad 16/60 Superdex 200 prep grade 凝胶预装柱,采用紫外检测器在280 nm处检测。流动相为pH7.6的磷酸盐缓冲液(2.6 mmol/L KH_2PO_4 , 32.5 mmol/L K_2HPO_4 , 0.4 mol/L NaCl , 10 mmol/L β -巯基乙醇,离子强度0.5, pH7.6),在使用前经0.22 μm 水系醋酸纤维素滤膜真空抽滤处理。通过预实验,最终确认参数条件为流速1 mL/min,限制压强0.3 MPa,柱温25 $^{\circ}\text{C}$ 。进样浓度10 mg/mL,进样量1 mL,进样前样品过0.22 μm 水系醋酸纤维素滤膜处理。

选择6种标准蛋白进行标准曲线的绘制,分别为:甲状腺球蛋白,分子量为669 kDa;醛缩酶,分子量为158 kDa;牛血清白蛋白,分子量为67 kDa;卵白蛋白,分子量为43 kDa;腺苷酸激酶,分子量为32 kDa;激血球素,分子量为17 kDa。标准曲线以洗脱体积为横坐标,分子量的自然对数为纵坐标,如图2所示。

1.2.5.2 流体动力学半径及其分布的测定 采用Zeta Plus 粒度分析仪测定不同品种大豆11S球蛋白的流体动力学半径及其分布。将样品用pH7.6的磷酸盐缓冲液配制成浓度为0.2%的蛋白溶液,过0.45 μm 水系醋酸纤维素滤膜,室温下进行测量,取三次测量的平均值。

1.2.5.3 ζ -电位的测定 采用Zeta Plus Zeta-电位仪

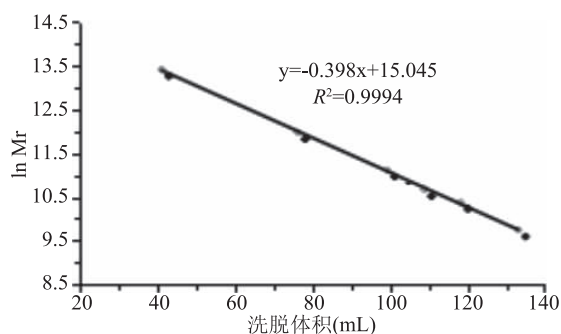


图2 标准蛋白 SEC-HPLC 标准曲线

Fig.2 The standard curve of standard protein with SEC-HPLC method

测定不同品种大豆 11S 球蛋白溶液的 ζ -电位。将样品用 pH7.6 的磷酸盐缓冲液配制成浓度为 0.2% 的蛋白溶液,上样体积为 1 mL,测定温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。重复测量 6 次取平均值。

1.3 数据处理

单项实验重复 3 次,结果表示为均值 $\pm$ 标准差。采用 SPSS V18.0 软件对数据进行单因素方差分析和相关性分析,如果方差分析差异性显著 ($p < 0.05$),则使用 Duncan 进行多重比较。采用 Origin 8.0 软件等进行图谱分析处理和图表制作。

2 结果与分析

2.1 表面疏水性分析

如图 3 所示,6 个品种大豆 11S 球蛋白的表面疏水性指数在 1432.73~1623.00 之间,东农 42 > 合丰 55 > 黑农 46 > 冀豆 12 > 皖豆 28 > 福豆 234。可见,品种差异对大豆 11S 球蛋白的表面疏水性影响极显著 ($p < 0.01$),这可能与不同品种大豆 11S 球蛋白的结构特性和理化性质差异有关。

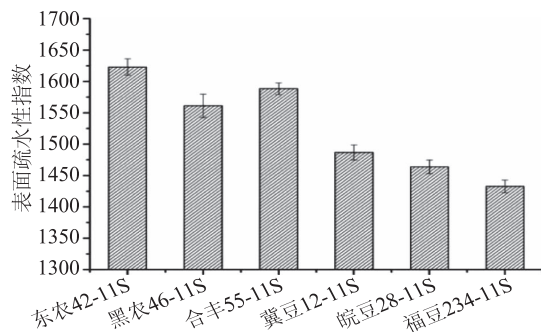


图3 不同品种大豆 11S 球蛋白的表面疏水性

Fig.3 Surface hydrophobicity of 11S with different soybean varieties

2.2 热力学特性与表面疏水性的关系

由表 1 可知,6 个品种大豆 11S 球蛋白之间的 T_d 存在显著性差异 ($p < 0.01$),福豆 234 > 皖豆 28 > 冀豆 12 > 合丰 55 > 黑农 46 > 东农 42;品种之间变性焓存在显著性差异 ($p < 0.01$),福豆 234 > 皖豆 28 > 冀豆 12 > 黑农 46 > 合丰 55 > 东农 42。可见,品种差异对大豆 11S 球蛋白的热力学特性影响极显著。相关性分析表明:大豆 11S 球蛋白的表面疏水性与 T_d 值呈显著负相关 ($p = 0.010$),相关性系数为 -0.918 ;与

变性焓 ΔH 值呈显著负相关 ($p = 0.012$),相关性系数为 -0.908 。分析其原因为:大豆 11S 球蛋白的热变性温度与变性焓较大时,其热稳定性较高,使其完全变性所需要的能量较大,说明稳定其高级结构的氢键数量较多,分子结构紧密、构象稳定,暴露于分子表面的疏水性氨基酸残基较少,使其具有较低的表面疏水性。

表1 不同品种大豆 11S 球蛋白的 DSC 分析结果

Table 1 DSC analysis results of 11S with different soybean varieties

样品	$T_d (^{\circ}\text{C})$	$\Delta H (\text{J/g})$
福豆 234-11S	94.50 ± 0.27^E	26.11 ± 0.42^E
皖豆 28-11S	93.97 ± 0.15^D	19.66 ± 0.31^D
冀豆 12-11S	93.50 ± 0.11^C	18.14 ± 0.32^C
合丰 55-11S	92.92 ± 0.14^B	14.75 ± 0.21^B
黑农 46-11S	92.79 ± 0.13^B	17.89 ± 0.11^C
东农 42-11S	90.87 ± 0.15^A	12.51 ± 0.22^A

注:表中同列数据肩标字母不同表示差异性显著 ($p < 0.01$),字母相同表示差异不显著 ($p > 0.05$)。

2.3 溶解性与表面疏水性的关系

如图 4 所示,6 个品种的大豆 11S 球蛋白均具有良好的溶解性,溶解度在 85.69%~90.41% 之间,福豆 234 > 皖豆 28 > 冀豆 12 > 黑农 46 > 合丰 55 > 东农 42,品种差异对大豆 11S 球蛋白的溶解性影响极显著 ($p < 0.01$)。相关性分析表明:大豆 11S 球蛋白的溶解性与表面疏水性呈极显著负相关 ($p = 0.003$),相关性系数为 -0.953 。分析其原因为:影响蛋白质溶解性的主要相互作用为疏水相互作用和离子相互作用。表面疏水性反映了蛋白质疏水相互作用的大小,表面电荷反映了离子相互作用的大小。Bigelow 指出电荷、表面疏水性是决定蛋白质溶解性的两个主要的特性,电荷越高、表面疏水性越低,蛋白质溶解性越好^[12]。表面电荷的多少取决于蛋白质自身带电荷情况和溶液的离子强度,因此在低离子强度时,大豆 11S 球蛋白的溶解性受表面疏水性的影响较大。

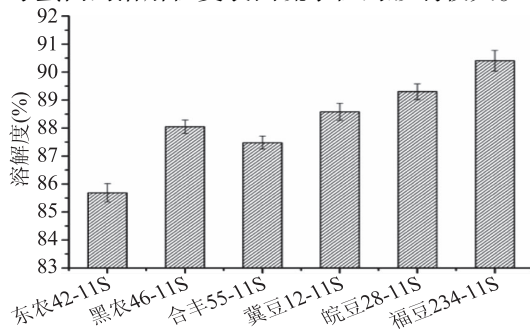


图4 不同品种大豆 11S 球蛋白的溶解性

Fig.4 Solubility of 11S with different soybean varieties

2.4 溶液的平均分子量及其分布与表面疏水性的关系

如图 5 所示,6 个品种大豆 11S 球蛋白溶液的分子量分布相似,均为一个主峰和三个小峰。通过标准蛋白 SEC-HPLC 标准曲线进行计算,主峰分子量约为 370.49~376.43 kDa,与 11S 球蛋白在中性 pH 条

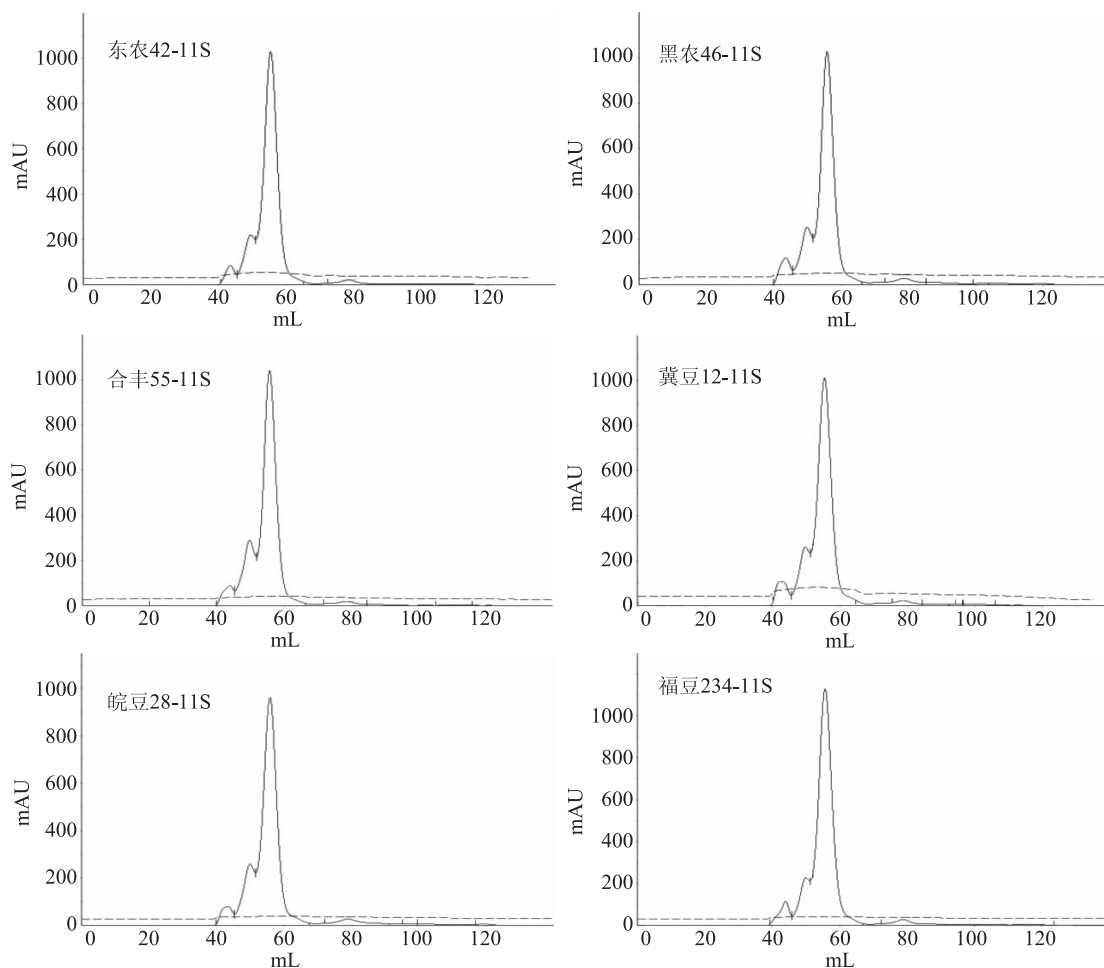


图5 不同品种大豆 11S 球蛋白溶液的分子量分布图谱

Fig.5 Molecular weight distribution of 11S with different soybean varieties

件下的分子量相符^[13], 约占总量的 83.00%; 第一个小峰分子量约为 594.21~640.13 kDa, 是 11S 球蛋白的二聚体 15S^[14], 约占总量的 3.00%~5.00%; 第二个小峰分子量约为 468.73~474.93 kDa, 是 11S 球蛋白的单聚体^[14], 约占总量的 11.00%~14.00%; 第三个小峰分子量约为 148.27~149.57 kDa, 是大豆 7S 球蛋白^[15], 是大豆 11S 球蛋白制备过程中存留的杂质, 约占总量的 1.30%~1.70%, 因含量极少, 在基线以下, 故可忽略不计。

分析结果显示, 6 个品种大豆 11S 球蛋白溶液中可溶性聚集物的平均分子量依次为东农 42 (397.73 kDa) > 合丰 55 (395.74 kDa) > 黑农 46 (395.43 kDa) > 冀豆 12 (394.99 kDa) > 皖豆 28 (393.43 kDa) > 福豆 234 (392.88 kDa)。相关性分析表明: 大豆 11S 球蛋白溶液可溶性聚集物的平均分子量与表面疏水性呈极显著正相关 ($p = 0.005$), 相关性系数为 0.945。分析其原因为: 大豆 11S 球蛋白的表面疏水性越小, 即蛋白质表面的疏水相互作用越弱, 溶液中形成的大分子聚集物越少, 可溶性聚集物体积也越小, 表现为平均分子量越小。

2.5 流体动力学半径及其分布与表面疏水性的关系

如图 6 所示, 6 个品种大豆 11S 球蛋白的流体动力学半径分布相似, 均呈现双峰分布。分析结果显示: 峰 1 粒子较小, 为天然大豆 11S 球蛋白分子; 峰 2

粒子相对较大, 为大豆 11S 球蛋白分子在溶液中形成的聚集体。6 个品种大豆 11S 球蛋白溶液粒子的多分散性指数均较小, 依次为东农 42 (0.41) > 合丰 55 (0.40) > 黑农 46 (0.39) > 冀豆 12 和 皖豆 28 (0.37) > 福豆 234 (0.31), 说明样品溶液粒径分布均匀^[16]。6 个品种大豆 11S 球蛋白溶液的平均粒子直径依次为东农 42 (143.20 nm) > 合丰 55 (98.90 nm) > 黑农 46 (74.40 nm) > 冀豆 12 (66.80 nm) > 皖豆 28 (51.20 nm) > 福豆 234 (40.00 nm)。相关性分析表明: 大豆 11S 球蛋白溶液可溶性聚集物的平均直径与表面疏水性呈显著正相关 ($p = 0.007$), 相关性系数为 0.930。这是因为大豆 11S 球蛋白的表面疏水性越小, 蛋白质分子之间的吸引力疏水相互作用越小, 蛋白质分子相互聚集的程度越小, 形成的可溶性聚集物粒子越小且越均匀, 从而表现出平均直径越小。

2.6 ξ -电位与表面疏水性的关系

如图 7 所示, 中性 pH 条件下, 6 个品种大豆 11S 球蛋白溶液的 ξ -电位均为负值, 且差异性极显著 ($p < 0.01$), 绝对值依次为皖豆 28 (30.77 mV) > 福豆 234 (30.19 mV) > 冀豆 12 (29.02 mV) > 黑农 46 (28.89 mV) > 合丰 55 (27.67 mV) > 东农 42 (23.09 mV)。相关性分析表明: 大豆 11S 球蛋白的 ξ -电位绝对值 (即表面电荷) 与表面疏水性呈显著负相关 ($p = 0.034$), 相关性系数为 -0.845, 说明大豆 11S

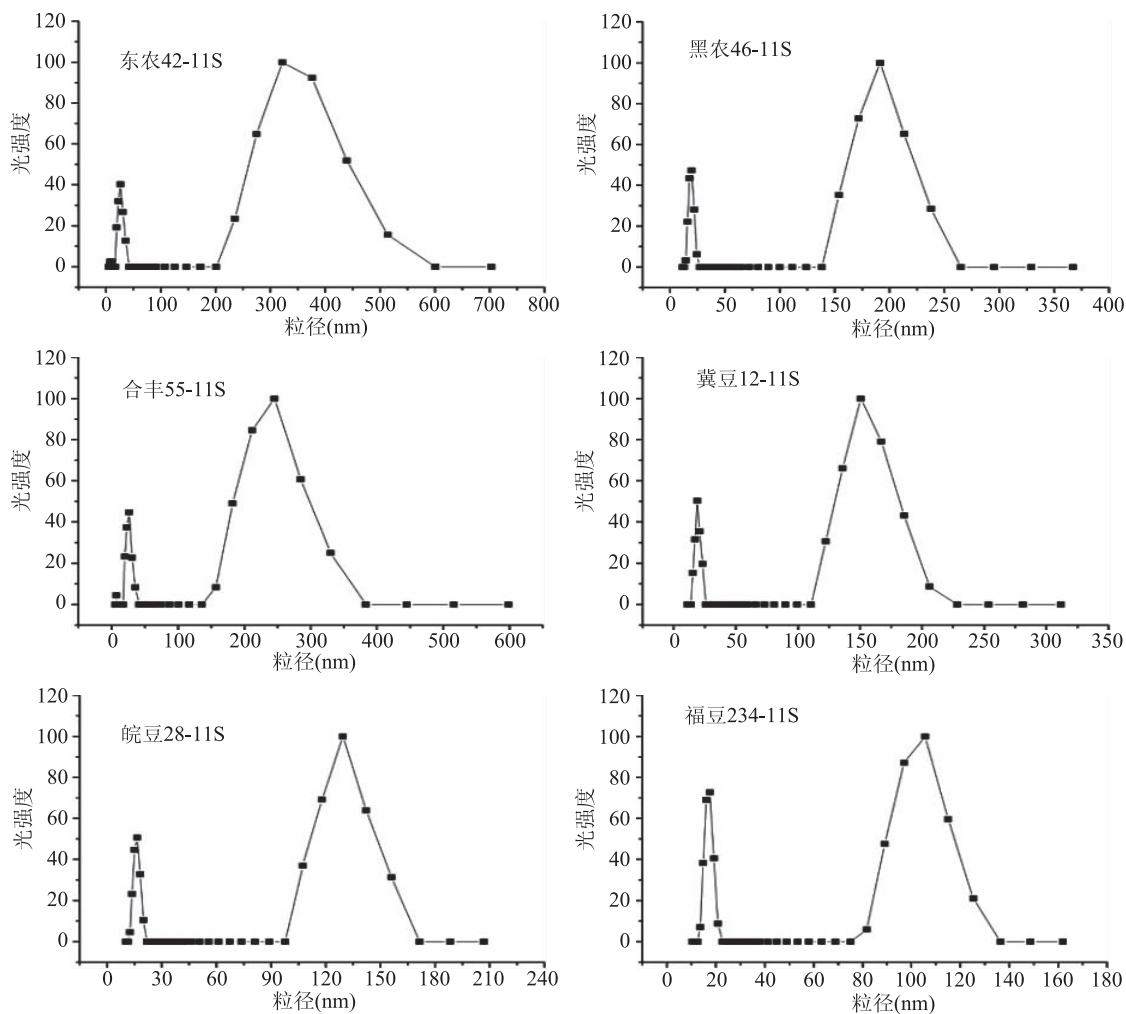
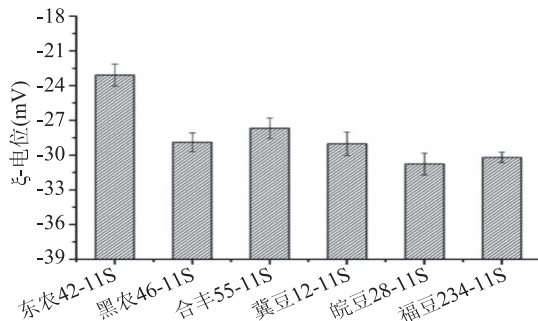


图6 不同品种大豆11S球蛋白的流体动力学半径分布图

Fig.6 Hydrodynamic radius distribution of 11S with different soybean varieties

球蛋白具有较高表面疏水性时,其溶液的 ξ -电位绝对值较小,即蛋白质表面电荷较少。这可能是由于大豆11S球蛋白表面疏水性较高时,暴露于蛋白质表面的疏水基团数量较多,使蛋白质表面的极性氨基酸尤其是带电荷氨基酸相对减少,表面电荷量减少,从而使得 ξ -电位绝对值较小。

图7 不同品种大豆11S球蛋白的 ξ -电位Fig.7 ξ -potential values of 11S with different soybean varieties

3 结论

大豆11S球蛋白的表面疏水性与其热力学特性具有显著相关性,具体表现为:大豆11S球蛋白的表

面疏水性与其变性温度呈显著负相关,相关性系数为-0.918;与其变性焓呈显著负相关,相关性系数为-0.908。大豆11S球蛋白溶液在低离子强度时,其溶解度受大豆11S球蛋白表面疏水性的影响较大,两者呈极显著负相关,相关性系数为-0.953。大豆11S球蛋白的溶液性质与其表面疏水性具有显著相关性,具体表现为:大豆11S球蛋白溶液可溶性聚集物的平均分子量与其表面疏水性呈显著正相关,相关性系数为0.945;平均直径与表面疏水性呈显著正相关,相关性系数为0.930; ξ -电位绝对值(即表面电荷)与表面疏水性呈显著负相关,相关性系数为-0.845。

参考文献

- [1] Lakemond C M M, Dejonth H H J, Hessing M, et al. Heat denaturation of soy glycinin: Influence of pH and ionic strength on molecular structure [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(6): 1991-1995.
- [2] Guan X, Yao H Y, Chen Z X. Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by tuypsin [J]. Food Chemistry, 2007, 101: 163-170.
- [3] Matsudimi N, Ishimura Y, Kato A. Improvement of gelling

(下转第57页)

analysis of milled ultrafine powders [J]. *FreibergerForsch.A (Partik.) A*, 1998, 841: 14-25.

[10] 陈铭, 薛琪, 沈婷, 等. 超微粉碎对莲子心活性成分提取率及抗氧化能力的影响[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(11): 228-234.

[11] Zhao X, Yang Z, Gai G, et al. Effect of superfine grinding on properties of ginger powder [J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 91(2): 217-222.

[12] Zhao X, Chen J, Chen F, et al. Surface characterization of corn stalk superfine powder studied by FTIR and XRD [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, 104(3): 207-212.

[13] Niu M, Hou G G, Wang L, et al. Effects of superfine grinding on the quality characteristics of whole-wheat flour and its raw noodle product [J]. *Journal of Cereal Science*, 2014, 60(2): 382-388.

[14] Zhang M, Zhang C J, Shrestha S. Study on the preparation technology of superfine ground powder of *Agrocybechaxingu* Huang [J]. *Journal of Food Engineering*, 2005, 67(3): 333-337.

[15] Jin S, Chen H. Superfine grinding of steam-exploded rice straw and its enzymatic hydrolysis [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 30(3): 225-230.

[16] Hu J, Chen Y, Ni D. Effect of superfine grinding on quality and antioxidant property of fine green tea powders [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2012, 45(1): 8-12.

[17] Ileleji K E, Zhou B. The angle of repose of bulk corn stover particles [J]. *Powder Technology*, 2008, 187(2): 110-118.

[18] Anderson R A. Water absorption and solubility and amylograph characteristics on roll-cooked small grain products [J]. *Cereal Chemistry*, 1982, 59(3): 265-269.

[19] Zhang Z P, Song H, Peng Z, et al. Characterization of stipe and cap powders of mushroom (*Lentinusedodes*) prepared by different grinding methods [J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 109(3): 406-413.

[20] Lecumberri E, Mateos R, Izquierdo-pulido M, et al. Dietary

fibre composition, antioxidant capacity and physic-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.) [J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(3): 948-954.

[21] Sangnark A, Nookhorm A. Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse [J]. *Food Chemistry*, 2003, 80(2): 221-229.

[22] Bender C, Graziano S. Evaluation of the antioxidant activity of foods in human cells [J]. *Nutrafoods*, 2015, 14(2): 79-85.

[23] 代红飞, 傅茂润, 邵秀芝. 超微粉碎石榴皮粉的理化性质和抗氧化活性 [J]. *中国果菜*, 2015, 35(06): 21-25.

[24] 刘永录, 李艳玲. 不同粒径大黄中有效成分溶出度对比 [J]. *中兽医医药杂志*, 2011, 30(4): 15-16.

[25] 鹿丽丽, 萧伟, 徐连明, 等. 不同粒径三七粉物理性质及体外溶出度的比较研究 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2013, 15(2): 305-309.

[26] 安静林, 张兆国, 刘坦. 不同粒径南瓜粉体的营养成分溶出与理化特性研究 [J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(7): 111-114.

[27] 张慧, 卞科, 万小乐. 超微粉碎对谷朊粉理化特性及功能特性的影响 [J]. *食品科学*, 2010, 31(1): 127-131.

[28] 李凤英, 许瑞, 刘战永. 超微粉碎对玫瑰花营养成分及抗氧化活性的影响 [J]. *北方园艺*, 2017(12): 141-145.

[29] 张小利, 夏春燕, 王慧清, 等. 超微粉碎对香菇多酚组成及抗氧化活性的影响 [J]. *食品科学*, 2015, 36(11): 42-49.

[30] Zhu K X, Huang S, Peng W, et al. Effect of ultrafine grinding on hydration and antioxidant properties of wheat bran dietary fiber [J]. *Food Research International*, 2010, 43(4): 943-948.

[31] 蔡亭, 汪丽萍, 刘明, 等. 超微粉碎对苦荞多酚及抗氧化活性的影响研究 [J]. *中国粮油学报*, 2015(10): 95-99.

[32] 胡立玉. 超微粉碎对南瓜营养成分提取率及抗氧化能力的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.

[33] 李瑶, 陈金龙, 夏春燕, 等. 基于 HepG2 细胞模型的香菇柄粉多酚抗氧化及抗增殖活性 [J]. *食品科学*, 2016, 37(11): 190-196.

(上接第 50 页)

properties of ovalbumin by heating in dry state [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1991, 55(3): 879-881.

[4] Wang Wenyi, Bringe N A, Berhow M A, et al. β -Conglycinins among sources of bioactives in hydrolysates of different soybean varieties that inhibit leukemia cells *in vitro* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(11): 4012-4020.

[5] Natarajan S, Xu Chenping, Bae H, et al. Proteomic and genetic analysis of glycinin subunits of sixteen soybean genotypes [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, 45(6/7): 436-444.

[6] Fehr W R, Hoeck J A, Johnson S L, et al. Genotype and environment influence on protein components of soybeans [J]. *Crop Science*, 2003, 43(2): 511-514.

[7] 李丹, 刘春雷, 江连洲. 纯品 7S 和 11S 蛋白结构与表面疏水性的相关性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(7): 5-9, 22.

[8] 李丹, 江连洲. 大豆 7S 和 11S 蛋白中氨基酸组成与表面疏水性的相关性研究 [J]. *中国油脂*, 2015, 40(3): 25-29.

[9] 刘春雷, 孙立斌, 李相昕, 等. 大豆 7S 和 11S 蛋白二级结构与表面疏水性相关性的研究 [J]. *食品科学*, 2015, 36(17):

28-32.

[10] 许彩虹. 大豆球蛋白糖基化接枝改性及其热聚集行为研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2010.

[11] Samoto M, Maebuchi M, Miyazaki C, et al. Abundant proteins associated with lecithin in soy protein isolate [J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(1): 317-322.

[12] Bigelow C C. On the average hydrophobicity of proteins and the relation between it and protein structure [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1967, 16(2): 187-211.

[13] Badley R A, Atkinson D, Hauser H, et al. The structure, physical and chemical properties of the soy bean protein glycinin [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1975, 412(2): 214-228.

[14] 刘翀. 大豆蛋白分级分离机理的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2009.

[15] Hou D J, Chang K C. Structural characteristics of glycinin purified from soybeans stored under various conditions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52: 3792-3800.

[16] 张忠慧. 尿素变性大豆蛋白的分子结构及胶粘机理研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2008.