

文章编号:1673-1689(2005)03-0066-06

鹰嘴豆分离蛋白质的特性

张涛, 江波, 王璋

(江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036)

摘要: 研究了鹰嘴豆分离蛋白质质量、功能性质、物理化学性质及结构特征。氨基酸分析表明, 鹰嘴豆蛋白含有所有必需氨基酸, 与 FAO/WHO 模式相比, 色氨酸是其第一限制性氨基酸, 蛋白质的化学评分为 71 分。表面荧光探针 ANS 法测得的表面疏水性为 94.3。DSC 热分析显示该蛋白质含有两个热变性温度, 分别为 83.7 °C 和 95.7 °C。圆二色谱(CD)分析了鹰嘴豆分离蛋白的二级结构: α -螺旋 36.2%, β -折叠 28.4%, 转角 10.3%, 无规卷曲 25.2%。经凝胶过滤色谱 Sephacryl S-200 分离纯化得到 7 个不同相对分子质量蛋白质组分, 其中两个主要组分的相对分子质量为 170 000 及 110 000。

关键词: 鹰嘴豆; 分离蛋白; 功能性质; 表面疏水性; DSC; 圆二色谱

中图分类号: Q 51

文献标识码: A

Characteristics of Chickpea Protein Isolates

ZHANG Tao, JIANG Bo, WANG Zhang

(The Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Protein quality, functional properties, physicochemical characteristics and structure parameters of the chickpea protein isolates were investigated. Amino acid analysis showed that the protein contained all essential amino acids. In relation to FAO/WHO reference pattern, tryptophan was the first limiting amino acid, and the chemical score of the protein was 71.0. Surface hydrophobicity index 94.3 was determined by fluorescence probe 1-anilino-8-naphthalene sulfonate (ANS). Differential Scanning Calorimetry (DSC) showed the thermal denaturation temperatures of chickpea protein were at 83.7 °C and 95.7 °C, respectively. The secondary structure analyzed by circular dichroism (CD) showed that, α -helix, β -sheet, turn and random coil were 36.2%, 28.4%, 10.3% and 25.2%, respectively. Chickpea protein isolates were fractionated into seven fractions with different molecular weights by gel filtration on Sephacryl S-200, and the two major fractions' molecular weights were 170 000 and 110 000, respectively.

Key words: chickpea; protein isolate; functional properties; hydrophobicity; DSC; circular dichroism

植物蛋白是人类所需蛋白质的重要来源之一, 在食品工业中的应用依赖于其营养价值及功能性

收稿日期: 2004-09-14; 修回日期: 2005-01-25.

作者简介: 张涛(1973-), 女, 陕西咸阳人, 食品科学与工程博士研究生。
万方数据

质。蛋白质的功能性质不仅与其来源、加工方法等有关,而且与蛋白质的物理化学性质、结构特征等密切相关,包括蛋白质的大小、形状、氨基酸组成及序列、带电情况及其分布、疏水/亲水比例、二级结构(α -螺旋、 β -折叠、转角、无规卷曲)及其含量分布、三级及四级结构、分子内或分子间交联以及蛋白质在溶液环境中的分子伸展情况(即分子柔性)等^[1]。

鹰嘴豆(*chickpea Cicer arietinum* L),为一年生或多年生草本植物,蛋白质含量因种的不同而有较大差异,在15%~30%之间。鹰嘴豆耐干旱、耐贫瘠,因而主要分布在世界温暖而又比较干旱的地区,如印度、巴基斯坦、墨西哥等,是世界第二大消费豆类,产量居世界豆类第三^[2~6]。在我国新疆,鹰嘴豆已有2500年的生长历史,20世纪80年代中国从国际干旱地区农业研究中心(ICARDA)和国际半干旱地区农业研究所(ICRISAT)引入了数百份鹰嘴豆栽培种,已在甘肃、新疆、青海等地试种。

鹰嘴豆作为植物蛋白质的主要来源,在分离蛋白质的制备、营养价值、功能性质及分离纯化方面有部分报道^[7~9],但对鹰嘴豆分离蛋白质的结构研究尚未见报道。

本文的主要目的是对等电点沉淀法制备的鹰嘴豆分离蛋白质的营养价值、部分功能性质、物理化学性质和结构特征进行初步研究,为鹰嘴豆分离蛋白质的应用提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

鹰嘴豆:新疆市场购买;金龙鱼大豆色拉油;其它所用化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

835-50 氨基酸自动分析仪:日本 Hitachi 公司产品;722 分光光度计:上海精密科学仪器有限公司产品;800 型台式离心机:上海手术器械厂生产;GL-20B 型冷冻离心机:上海安亭科学仪器厂生产;DDS-II 型电导仪:上海雷磁科学仪器厂生产;PYRIS-1 差示扫描量热仪:英国,PerkinElmer 公司产品;ULTYA-RURRAX T25 高速分散仪:德国,FANKE&KUKEL 公司产品;Hitachi 650-60 荧光分光光度计:日本 Hitachi 公司产品;JASCO J-715 圆二色谱仪:日本 Spectroscopic 公司产品。

1.3 方 法

1.3.1 等电点沉淀法制备鹰嘴豆分离蛋白 鹰嘴豆浸泡过夜,手工脱皮,60℃干燥后粉碎成鹰嘴豆粉。鹰嘴豆粉过80目筛,正己烷脱脂,豆粉:正己烷

为1:10(g:mL),室温连续搅拌60min,豆粉自然沉降与上层正己烷分离,倾出正己烷进行回收,豆粉再重复上述操作两次。最后鹰嘴豆粉置通风橱中室温干燥12h,将处理好的脱脂豆粉装袋置4℃冰箱中保存。

脱脂鹰嘴豆粉与水1g:10mL混合,0.5mol/L NaOH调pH值为8.3搅拌提取1h,3000r/min离心20min,沉淀再按固液比为1g:5mL提取两次,将3次上清液混合,上清液用0.5mol/L HCl调pH至等电点沉淀蛋白,去离子水洗涤沉淀3次,0.5mol/L NaOH调pH至7.0,搅拌使沉淀复溶后,20MPa均质并喷雾干燥即为鹰嘴豆分离蛋白。

制备得到的鹰嘴豆分离蛋白的蛋白质质量分数为91.53%(微量凯氏定氮法^[7])。

1.3.2 功能性质

1) 水分吸收:参考文献^[10]并略有改动。

5g样品于50mL离心管中,每个离心管加30mL去离子水,玻棒搅拌30s,静置10min,将边上的粉末用玻棒刮下,防止干燥。用10mL去离子水洗涤玻棒,3500r/min离心25min,倒出上清液,离心管倾斜15°~20°,50℃强制通风干燥25min,干燥器中冷却后称重,两次平行。

水分吸收(g水/g蛋白质)=

$$\frac{(\text{干燥后样品及管质量}-\text{放入样品前管质量}-\text{样品质量})}{\text{样品质量} \times 0.9153}$$

(0.9153为样品中蛋白质含量)。

2) 脂肪吸收:参考文献^[11]并略有改动。

0.5g样品加3mL色拉油于15mL离心管中,细铜丝搅拌1min,分散样品于油中,静置30min,3500r/min离心25min,读出游离油的含量,两次平行。

$$\text{脂肪吸收}(\text{mL油/g蛋白质}) = \frac{(3 - \text{游离油体积})}{0.5 \times 0.9153}$$

3) 溶解性:0.5g样品溶于30mL去离子水中,0.1mol/L HCl或0.1mol/L NaOH调pH值7.0,定容至50mL,搅拌30min,10000g离心10min,Follin-酚法^[13]测上清液中的氮含量,两次平行^[12]。

$$\text{氮溶指数(NSI)} = \frac{\text{上清液中的氮含量}}{\text{样品中的总氮量}} \times 100\%$$

4) 乳化能力:配制质量分数0.2%,pH值7.0的蛋白质溶液,量取20mL,先加入20mL大豆色拉油,开动高速分散仪,转速为12500r/min,边搅拌边加入大豆色拉油,测体系电导率的变化,电导

率急剧下降的点,即为加油的终点,两次平行^[14]。

乳化能力(EA)=

$$\frac{\text{总加油体积}}{(\text{蛋白质溶液体积} + \text{总加油体积})} \times 100\%$$

1.3.3 蛋白氨基酸组成 将鹰嘴豆粉及分离蛋白分别置于水解管中,加入 6 mol/L 的 HCl 溶液,真空封口,在 110 ℃下水解 24 h,冷却后定容、过滤、蒸干,再加入 0.02 mol/L 的 HCl 溶液在空气中放置 30 min,测定除色氨酸以外的氨基酸含量。

色氨酸分析用 4.2 mol/L NaOH 碱水解,真空 110 ℃下水解 98 h^[15]。

1.3.4 表面疏水性 S_0 采用荧光探针剂 ANS 法^[16]。蛋白质样品溶于 pH 值 7.0, 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液中,使样品浓度在 0.15~0.60 mg/mL 之间。激发波长为 390 nm,发射波长 470 nm。取不同浓度的样品 2 mL,分别测定样品的荧光强度(FI_0)和样品加入 10 μ L 的 ANS 溶液(8 mmol/L, pH 值 7.0, 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液配制)后的荧光强度(FI')。 FI' 与 FI_0 的差值记为 FI,以蛋白质浓度为横坐标,FI 为纵坐标作图,曲线初始段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水性指数 S_0 。

1.3.5 游离及总巯基及含量 参考文献^[17]并略有改动。

游离巯基(SH_F):样品 60 mg 于 10 mL 含有 8 mol/L 尿素的 0.086 mol/L Tris-0.09 mol/L glycine 0.004 mol/L EDTA (Tris-Gly, pH 8.0) 的缓冲液中搅拌溶解 1 h, 10 000 g 离心 10 min。2 mL 上清液中加入 80 μ L Ellman's 试剂(4 mg/mL DTNB(5,5'-二硫代-双-(2-硝基苯甲酸)),立即混匀,5 min 后测 412 nm 吸光度。

总巯基(SH_T):取上述上清液,加入 2 mol/L 巯基乙醇处理样品 2 h 后,加入 12% 三氯乙酸(TCA)沉淀蛋白质 1 h, 10 000 g 离心 10 min,沉淀用 12% TCA 洗涤 4 次后溶于 6 mL Tris-Gly 缓冲液中,取 2 mL 液体测巯基含量。

以 Ellman's 试剂-SH 的摩尔吸光系数为 1.36×10^4 计算蛋白质的一SH 含量。 μ mol/L SH/(g 蛋白质) = $\frac{73.53A_{412}}{c}$, 二硫键(—SS—) = $(SH_T - SH_F)/2$ 。

A_{412} : 412 nm 吸光度; c: 样品蛋白质(mg/mL)^[12]。

1.3.6 热变性温度 T_d 分离蛋白样品分散于 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液中至浓度为 20 g/dL, 分散均匀后取适量于铝盒中,另一空铝盒为对照,DSC

扫描温度范围 25~100 ℃,升温速率 10 ℃/min^[7]。

1.3.7 二级结构 蛋白质溶于 0.01 mol/L、pH 值 7.0 磷酸盐缓冲液中, 10 000 g 离心 15 min, 上清液在 0.01 mol/L、pH 值 7.0 磷酸盐缓冲液中透析平衡后用缓冲液稀释至 400 μ g/mL。圆二色谱扫描波长范围: 190~250 nm, 扫描速率: 100 nm/min, 光程: 1 mm, 扫描平行次数: 3 次^[18]。

1.3.8 分离纯化 凝胶 Sephacryl S-200 在洗脱缓冲液中平衡后脱气并装入 $\phi 16$ mm $\times$ 1500 mm 柱子中。

0.5 mL, 2 mg/mL 的蓝葡聚糖(2 000 000)液测定凝胶柱的外水体积 V_0 。1.0 mL, 1.0 g/dL 铬酸钾测定内水体积 V_i , 即总体积 V_t 。

洗脱缓冲液: pH 7.6 的磷酸盐缓冲液, 0.0325 mol/L K_2HPO_4 , 0.0026 mol/L KH_2PO_4 , 0.4 mol/L NaCl, 离子强度 0.5, 0.01 mol/L 巯基乙醇。

样品: 0.5 g 鹰嘴豆分离蛋白溶于 10 mL pH 值 7.6 的磷酸盐缓冲液中, 10 000 g 离心 15 min, 取上清液并在缓冲液中透析平衡。

上样量: 上样量 4 mL, 蛋白质 46.4 mg。

2 结果与讨论

2.1 鹰嘴豆分离蛋白质的功能性质

由表 1 可见, 与大豆分离蛋白质、向日葵分离蛋白^[11]相比, 鹰嘴豆分离蛋白质具有较高的溶解性及水分吸收功能, 表明鹰嘴豆分离蛋白质具有较高的亲水性; 同时, 鹰嘴豆分离蛋白也具有一定的脂肪吸收功能及乳化能力, 说明它既适用对溶解度要求较高的饮料等食品, 也适于在脂肪含量较高的食品如肉制品、乳制品中应用。

表 1 鹰嘴豆分离蛋白质的功能性质(pH 7.0)

Tab. 1 Functional properties of chickpea protein isolates

样品	氮溶 指数/%	水分 吸收/g	脂肪 吸收/mL	乳化 能力/%
鹰嘴豆 分离蛋白	77.0	2.28	1.69	75.5

2.2 鹰嘴豆分离蛋白的氨基酸组成

由表 2 可知, 鹰嘴豆分离蛋白质含有所有必需氨基酸, 其中赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸与组氨酸含量较高。与 FAO/WHO 学龄儿童(10~12 岁)推荐模式相比, 色氨酸是其第一限制性氨基酸, 蛋氨酸与胱氨酸是第二限制性氨基酸, 这种蛋白质的化学评分为 71 分, 蛋白质质量好于大米、小麦、玉米等谷物蛋白质, 与蚕豆蛋白质质量相当, 但与大豆蛋白质质量相比较差^[19]。

表 2 鹰嘴豆及其分离蛋白的氨基酸组成

Tab. 2 Amino acid constitutes of chickpea protein and protein isolates

氨基酸	每 100g 蛋白质 中的分离蛋白质 质量/g	FAO/WHO 推荐模式 学龄儿童(10~12 岁)
赖氨酸	5.07	5.8
苏氨酸	2.83	3.4
缬氨酸	3.04	3.5
蛋氨酸+胱氨酸	2.03	2.5
异亮氨酸	3.12	2.8
亮氨酸	6.73	6.6
苯丙氨酸+酪氨酸	7.70	6.3
组氨酸	2.16	1.9
色氨酸	0.780	1.1
精氨酸	7.39	
天冬氨酸	8.40	
丝氨酸	4.77	
谷氨酸	13.6	
脯氨酸	3.87	
甘氨酸	3.87	
丙氨酸	3.62	

2.3 巯基及二硫键含量

Ellman's 试剂检测鹰嘴豆分离蛋白质的 SH_F , SH_T , SS 分别为 12.01, 33.50, 10.75 $\mu\text{mol/L}$ 蛋白质(见表 3)。二硫键是天然存在于蛋白质中唯一的共价侧链交联,在单体蛋白质中,二硫键的形成是蛋白质折叠的结果,二硫键一旦形成,就有利于稳定蛋白质的结构,而 SH_F 的存在有助于在加工过程中进一步形成分子内或分子间二硫键,促进蛋白质胶凝。

表 3 鹰嘴豆分离蛋白质的物理化学性质

Tab. 3 Physicochemical properties of chickpea protein isolates

表面 疏水性	热变性 温度/ $^{\circ}\text{C}$	SH_F / ($\mu\text{mol/L}$)	SH_T / ($\mu\text{mol/L}$)	SS / ($\mu\text{mol/L}$)
94.3	83.7 95.7	12.01	33.50	10.75

2.4 热变性温度

热分析(图 1、表 3)表明,鹰嘴豆分离蛋白质有两个热变性温度且较高,分别为 83.7 $^{\circ}\text{C}$ 和 95.7 $^{\circ}\text{C}$,说明鹰嘴豆分离蛋白质含有两个主要组分。与 O. Paredes-López 等测得的变性温度 88 $^{\circ}\text{C}$ ^[13] 及大

豆球蛋白的热变性温度 92 $^{\circ}\text{C}$ ^[19] 比较接近。

蛋白质的氨基酸组成影响蛋白质的热稳定性,含有高比例的疏水性氨基酸残基比亲水性较强的蛋白质一般更为稳定。由表 2 知,鹰嘴豆分离蛋白质含有高比例的疏水性氨基酸,由氨基酸组成及侧链疏水性^[19] 计算出鹰嘴豆分离蛋白质的平均疏水性为 4.4 kJ/mol,与 11S 及 7S 的大豆蛋白质(平均疏水性分别为 3.99, 4.55 kJ/mol^[20]) 相近。

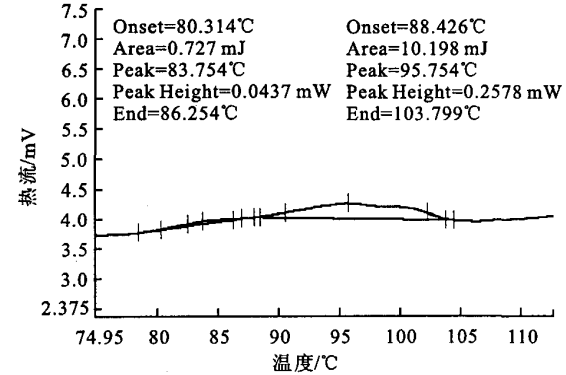


图 1 鹰嘴豆分离蛋白质的热分析图谱

Fig. 1 Thermal analysis chart of chickpea protein isolates

2.5 表面疏水性

蛋白质的许多功能性质与蛋白质的表面特性有关,如溶解性、胶凝性、乳化性、脂肪及风味物结合等,利用荧光探针 ANS 检测鹰嘴豆分离蛋白质在 pH 值 7.0 时的表面疏水指数为 94.3(表 3),与大豆分离蛋白质的 140^[21] 相比较低。

由以上的讨论可以看出,鹰嘴豆分离蛋白质的平均疏水性与大豆蛋白相近,而表面疏水性与大豆蛋白质相差甚远。一方面可能是由于鹰嘴豆分离蛋白质的氨基酸序列致使疏水性氨基酸残基大多排列在分子内部,通过疏水相互作用形成蛋白质高度有序的二级结构(2.6 显示),而蛋白质表面含有较少的疏水区域。另一方面也有可能是,表面含有较多的疏水氨基酸残基,但分散排列,未在表面形成较多疏水区域。而 ANS 法测定表面疏水性的原理是 ANS 荧光团与蛋白质的表面疏水区域接合,通过测定接合前后的荧光变化计算蛋白质的表面疏水性。由鹰嘴豆分离蛋白质的功能性(见表 1):高溶解性以及不太高的乳化能力及脂肪吸收功能及蛋白质的二级结构(2.6 显示),可以看出鹰嘴豆分离蛋白质相对较低的表面疏水性可能是由第一种原因。

2.6 鹰嘴豆分离蛋白质的二级结构

圆二色谱(CD)是一种研究溶液中球蛋白质构象方便而广泛使用的方法, α -螺旋的特征吸收在

190.5,207 及 221 nm, β -折叠在 195 和 217 nm,无规卷曲在 195 nm 有负吸收^[1]。由图 2 及表 4 可知,鹰嘴豆分离蛋白质的 α -螺旋, β -折叠, β 转角、无规卷曲的含量分别为 36.2%,28.4%,10.3%及 25.2%。较高含量的 α -螺旋, β -折叠与蛋白质的氨基酸组成有关,高含量的谷氨酸、亮氨酸、丙氨酸有利于 α -螺旋的形成,而缬氨酸、异亮氨酸、酪氨酸有助于形成 β 折叠^[1],而鹰嘴豆分离蛋白质中恰恰这些疏水性氨基酸的含量(见表 2)较高。

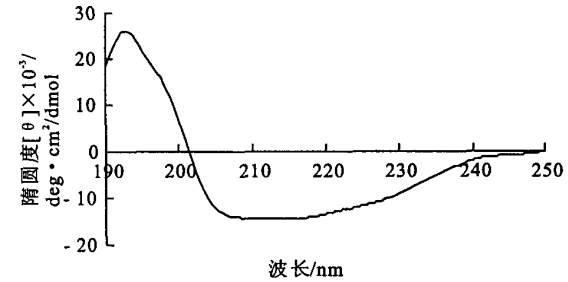


图 2 鹰嘴豆分离蛋白圆二色谱图谱(pH 7.0)

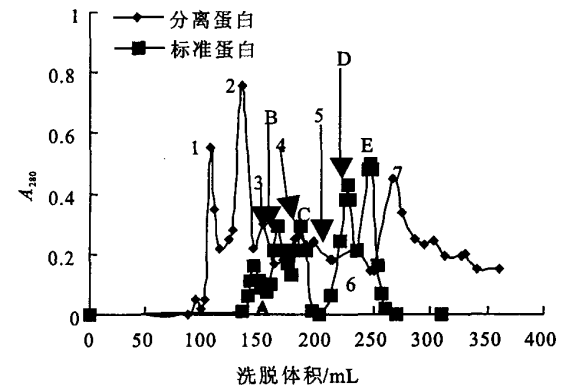
Fig. 2 CD analysis chart of chickpea protein isolates

表 4 鹰嘴豆分离蛋白二级结构(pH 7.0)

Tab. 4 The secondary structure of chickpea protein isolates

二级结构	含量/%
α -螺旋	36.2
β -折叠	28.4
β -旋转	10.3
无规卷曲	25.2

2.7 凝胶过滤色谱分离纯化



体积流量 16.5 mL/h,280 nm 紫外检测;蛋白质标准相对分子质量,A:二磷酸果糖酶 158 000;B:牛血清蛋白 68 000;C:鸡蛋白蛋白 45 000;D:胰凝乳蛋白酶原 25 000;E:细胞色素 C 12 500;分配系数 $K_{av} = \frac{\text{洗脱体积 } V_e - \text{外水体积 } V_0}{\text{总体积 } V_t - \text{外水体积 } V_0}$

图 3 S-200 凝胶分离色谱

Fig. 3 S-200 Chromatography

万方数据

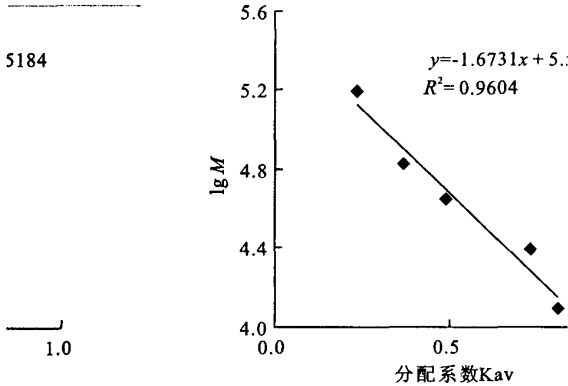


图 4 S-200 洗脱体积与相对分子质量的关系

Fig. 4 Relationship between the elution volume of S-200 and the molecular weight

由 S-200 凝胶过滤色谱(图 3)可见,鹰嘴豆分离蛋白质由相对分子质量不同的 7 个组分组成,各个峰的蛋白质含量见表 5。根据图 4(S-200 洗脱体积与分子量的关系)计算出它们的相对分子质量及含量见表 5,与 Sánchez-Vioque R. 等^[7]用 FPLC 分离纯化的结果相近。凝胶过滤色谱洗脱过程中,首先洗脱出来的第一个峰略带混浊,是由一些可见杂质离子及大分子聚合物组成,其蛋白质相对分子质量在 330 000。由表 5 可知,鹰嘴豆分离蛋白含有两个主要组分,相对分子质量为 170 000 及 110 000。

表 5 蛋白质组成及含量

Tab. 5 Protein constitutes and their contents

色谱峰	Kav	相对分子质量	质量分数/%
1	0	330 000	4.95
2	0.17	170 000	50.8
3	0.28	112 000	28.5
4	0.47	54 000	4.83
5	0.55	39 500	6.17
6	0.79	15 900	3.05
7	0.98	7 500	1.70

3 结 论

蛋白质的功能性及氨基酸组成分析表明,鹰嘴豆分离蛋白质作为植物蛋白质的主要来源,能够满足人类需求,适于食品加工应用。

物理化学性质分析表明,鹰嘴豆分离蛋白质具有较低的表面疏水性及二硫键,但却拥有较高的热变性温度,与蛋白质的氨基酸组成与排列及蛋白质刚性的二级结构有关,这在蛋白质的 CD 分析中得到证明。

鹰嘴豆分离蛋白质的热分析得到两个热变性温度,与蛋白质的分离纯化结果吻合,表明鹰嘴豆分离蛋白质含有两个主要组分,相对分子质量分别为 170 000 及 110 000.

参考文献:

- [1] Kinsella J E, Soncie W G. Food Proteins[M]. Champaign I L: The American oil Chemists' Society, 1989. 21—47.
- [2] Poltronieri F, Arêas J A G, Colli C. Extrusion and Iron Bioavailability in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. **Food Chem**, 2000, 70: 175—178.
- [3] Clemente A, Vioque J, S nchez-Vioque R. Effect of processing on water adsorption and softening kinetics in chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds[J]. **J of the Sci of Food and Agric**, 1998, 78: 169—174.
- [4] Gil J, Nadal S. Variability of some physico~chemical characters in desi and kabuli chickpea types[J]. **J of the Sci of Food and Agric**, 1996, 71: 179—184.
- [5] Singh U, Subrahmanyam N. Cooking quality and nutritional attributes of some newly developed cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. **J of the Sci of Food and Agric**, 1991, 55: 37—46.
- [6] 张涛,江波,王璋. 鹰嘴豆营养价值及其应用[J]. **粮食与油脂**, 2004, 7: 18—20.
- [7] Paredes-López O, Ordorica-Falomir C. Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characterization [J]. **J of Food Sci**, 1991, 56(3): 726—729.
- [8] S nchez-Vioque R, Clement A, Vioque J, *et al*. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization [J]. **Food Chem**, 1999, 64: 237—243.
- [9] Ganesh K K, Venkataraman L V. Chickpea seed proteins: isolation and characterization of 10.3S protein[J]. **J Agric Food Chem**, 1980, 28: 524—529.
- [10] Sosulski F W. The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats[J]. **Cereal Chem**, 1962, 39: 344—350.
- [11] Lin M J Y, Humbert E S. Certain functional properties of sunflower meal products[J]. **J Food Sci**, 1974: 39, 368—370.
- [12] Padhye V W, Salunkhe D K. Biochemical studies on black gram (*Phaseolus mungo* L.) seeds: amino acid composition and subunit constitution of fractions of the proteins[J]. **J Food Sci**, 1979: 44(2), 606—614.
- [13] Lowry O H, Nida J, Rosebrough A. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. **J Biol Chem**, 1951, 193: 265—275.
- [14] McClements D J. Food emulsions: Principles, Practice, and Techniques[M]. London: CRC Press, 1999. 295—322.
- [15] Albert L. Proteins. Structure and Function [M]. New Jersey: Prentice-Hall, Inc, 1974. 58—67.
- [16] Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by fluorescence probe methods and its correlation with properties of proteins [J]. **Biochim Biophys Acta**, 1980, 642: 13—20.
- [17] Beveridge T, Toma S J, Nakai S. Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using ellman's reagent[J]. **J Food Sci**, 1974, 39: 49—51.
- [18] Greenfield N J. Methods to estimate the conformation of proteins and polypeptides from circular dichroism data[J]. **Anal Biochem**, 1996, 235: 1—10.
- [19] Owen R Fennema. 食品化学(第三版)[M]. 王璋,许时婴,江波,等译.北京:中国轻工业出版社,2003. 311—313.
- [20] 钟芳. 方便(即冲即凝)豆腐花的制备及大豆蛋白速凝机理研究[D]. 无锡:江南大学,2001.
- [21] Wangner J R, Anon M C. Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates[J]. **J of Food Sci**, 1990, 55(3): 765—770.

(责任编辑:杨萌)