

冰提苜蓿冰结构蛋白及其对冷冻面团的影响

曲 敏, 李凌俐, 刘羽佳, 陈凤莲, 孙兆国, 鲍 欢, 莫春生

(哈尔滨商业大学 食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:以紫花苜蓿草粉为原料,采用冰结合磷酸盐缓冲溶液法提取苜蓿冰结构蛋白。通过对苜蓿冰结构蛋白提取率的计算,对提取过程中的 pH 值、缓冲溶液的浓度、料液质量体积比进行优化。经单因素实验及响应曲面实验得到提取苜蓿冰结构蛋白的最佳工艺参数为:料液质量体积比为 1 g:20 mL,缓冲液 pH 8.0,磷酸盐缓冲液浓度为 61 mmol/L,其最终提取率可达到 2.87%。利用生物显微镜对苜蓿冰结构蛋白的冰晶形态进行观察,可以观测到许多体积小、且呈现六棱型及多边形的不规则形状,说明其对冰晶生长及冰晶形态的抑制与修饰效果显著,具有很好的抗冻活性。利用 SDS-PAGE 对苜蓿冰结构蛋白进行检测,确定其蛋白质相对分子质量约为 52 000,苜蓿冰结构蛋白应用到冷冻面团中发现可改善面团的品质。

关键词:苜蓿;冰结构蛋白;冰提法;冰晶;冷冻面团

中图分类号:TS 201.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1689(2017)07-0726-07

Extraction of Alfalfa Ice Structuring Proteins Using Ice and Their Effect on Frozen Dough

QU Min, LI Lingli, LIU Yujia, CHEN Fenglian, SUN Zhaoguo, BAO Huan, MO Chunsheng

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: In this study, ice structuring proteins were extracted from the Alfalfa meal powder using ice of Alfalfa were optimized by calculation of extraction efficiency, single-factor experiment and response extraction with phosphate buffer solution. Furthermore, the extraction conditions for ice structuring proteins surface methodology. The results revealed that the extraction yield of Alfalfa ice structuring proteins was up to 2.87%, when the extraction was carried out by suspending in 61 mmol/L phosphate buffer solution at pH 8.0 with a solid/liquid ratio of 1:20 and 46 ice pieces were added in per 100 milliliters of crude extracts. Additionally, the observed ice crystal morphology suggested that the ice structuring proteins of Alfalfa which mostly showed six hexagons or irregular shapes were small in size, indicating that ice structuring proteins of Alfalfa are able to modify the conformations of ice crystals and significantly inhibit the growth. the protein molecular weight of

收稿日期: 2015-08-29

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(C2011-24); 黑龙江省博士后科研启动基金项目(LBH-Q13098); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511128)。

作者简介: 曲 敏(1966—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 理学博士, 教授, 主要从事新型植物蛋白及食品添加剂研究。E-mail: qumin777@126.com

引用本文: 曲敏, 李凌俐, 刘羽佳, 等. 冰提苜蓿冰结构蛋白及其对冷冻面团的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(07): 726-732.

Alfalfa ice structuring proteins is about for 52 kDa, which was by SDS-PAGE.

Keyword: Alfalfa, ice structuring protein, ice extraction, ice crystal, frozen dough

冰结构蛋白 (ice structuring proteins, ISPs), 又称为不冻蛋白、抗冻蛋白 (antifreeze proteins, AFPs), 是一类由某些鱼类、昆虫、植物、真菌和细菌为抵御外界环境应激反应所产生的多肽, 能够有效地抑制冰晶生长的蛋白质^[1-5]。1992 年, 加拿大科学家 Griffith 等^[6]首先在冬黑麦中发现了植物 ISPs, 随后 Urrutia 在多种植物中发现了具有抗冻活性的蛋白质; 1994 年, 费云标^[7]等从沙冬青叶片中分离得到了 ISPs。此外, 研究人员陆续从女贞叶^[8]、冬小麦麸皮^[9]、胡萝卜^[10-11]、冬黑麦草^[12-13]等植物中分离得到了 ISPs。近年来, ISPs 作为一类新型食品添加剂, 其生物学功能备受人们关注。研究发现, 将不同来源的 ISPs 应用到冷冻食品中, 能够明显改善其感官特性^[14-16], 提高冷冻食品的品质。但迄今为止, 分离得到的 ISPs 大多价格昂贵, 限制了其在食品工业中的应用。

苜蓿 (*Medicago sativa* L.), 俗称金花菜, 属豆科多年生牧草, 是世界上分布最广、栽培历史最古老的优良草, 有“牧草之王”的美誉。苜蓿草多在我国东北、新疆等地有种植, 具有很强的抗寒功能。经极端低温 (-45 ℃) 后, 返青率仍可达到 90% 以上^[17]。由于苜蓿草蛋白质含量丰富, 抗寒能力强, 且苜蓿草价格低廉, 来源广泛等特点, 因此选用苜蓿草为研究对象。作者根据冰结构蛋白具有能够特异性吸附冰晶表面并阻止冰晶生长的性质^[18], 采用磷酸盐缓冲溶液浸提法^[19], 结合改进冰法提取苜蓿 ISPs, 优化工艺参数, 利用改进的冰晶观察法观察冰晶形态确定其抗冻活性, 利用 SDS-PAGE 确定相对分子质量, 并将提取后蛋白质添加到冷冻面团中, 检测其物性指标变化, 研究苜蓿 ISPs 的抗冻活性及对冷冻面团的质地及物性的影响, 为拓宽植物 ISPs 资源、获得廉价 ISPs 及其在冷冻食品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

紫花苜蓿: 黑龙江省农业科学院草业研究所兰

西苜蓿种植基地提供; Tris-Base、考马斯亮蓝: 美国 Sigma 公司产品; SDS、丙烯酰胺、N,N-甲叉双丙烯酰胺; 甘氨酸、十二烷基硫酸钠: Summus 公司产品。

1.2 仪器与设备

721E 可见分光光度计: 天津市泰斯特仪器有限公司; 粉碎机: 沈阳龙腾电子称量仪器公司产品; TGL-16 型高速台式离心机、SDS-PAGE 电泳仪: 德国哈默公司产品; DM750 生物显微镜 DM750: 瑞士莱卡公司产品; JY5000 电泳仪: 北京市君意机电技术公司产品; TA-XT2i 质构仪: 英国 SMS 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理及蛋白质质量分数测定 将苜蓿干草除尘, 经粉碎机粉碎成草粉后, 草粉过 80 目筛备用。采用 KDY-9820 半自动凯氏定氮仪进行测定, 测定苜蓿干草中粗蛋白质的质量分数。

1.3.2 水分质量分数测定 直接干燥法 (GB/T 5009-2010)。

1.3.3 冰球制备 采取改进的缓冲溶液结合冰提取苜蓿冰结构蛋白。预制备一定数量冰球, 冰球的规格为直径 2 cm。

1.3.4 蛋白质质量分数及提取率的测定 采用考马斯亮蓝比色法, 通过测定不同牛血清蛋白浓度绘制标准曲线, 采用分光光度计 595 nm 波长下测定样品的吸光值, 计算样品中蛋白质的质量分数及冰提苜蓿 ISPs 的提取率。计算方法如下:

$$\text{苜蓿粗蛋白质提取率}(\%) = (m_1/m_2) \times 100\%$$

式中: m_1 为冰提后溶液中的蛋白质质量分数; m_2 为总蛋白质质量分数。

1.3.5 单因素实验 称取 5 g 苜蓿草粉分成相应份数, 分别于不同料液质量体积比、缓冲溶液 pH、缓冲液浓度的磷酸盐缓冲溶液混合搅拌, 在室温下提取不同时间, 然后 8 000 r/min 离心机离心 15 min, 取离心后溶液, 并记录体积, 取 1 mL 稀释 100 倍后加入 5 mL 考马斯亮蓝测其吸光值。将剩余液体加入提前冻好的冰球, 置于 -18 ℃ 冰箱中, 提取 2 min, 待冰球吸附 ISPs 达到饱和滤出冰球。冰球融化后测

定溶液的吸光度值,计算蛋白质提取率。

1.3.6 响应曲面法确定最佳提取条件 根据单因素的分析结果,通过显著性分析根据 Box-Behnken 实验设计原理,以苜蓿 ISPs 提取率为响应值,在筛选单因素试验结果的基础上,选取对提取率影响显著因素进行响应曲面实验,由于料液质量体积比影响效果最弱,因此综合考虑选择 pH 值、磷酸盐缓冲溶液浓度、冰球添加量 3 个因素进行响应面试验设计,结果见表 1。

表 1 响应曲面实验设计因素水平表

Table 1 Factors and levels in the three-factor and three-level response surface design for protein extraction

水平	因素		
	缓冲液 pH	缓冲液浓度/(mmol/L)	冰球数量/个
1	8.5	70	50
2	8.0	60	40
3	7.5	50	30

1.3.7 冰晶观察 将苜蓿蛋白上清液浓缩后,将苜蓿蛋白提取液冷冻干燥制成干粉,配成质量浓度为 30 mg/mL 的 ISPs 溶液,4 000 r/min 离心 10 min,移液枪取 20 μ L 置加厚载玻片上,-18 $^{\circ}$ C 冰箱冷冻 20 min。于 Leica DM750 显微镜 40X 下进行冰晶观察。并与同质量浓度氯化钠、蔗糖溶液及水的冰晶进行对照。观察各溶液及水的冰晶大小与形态^[20-21],并拍照。

1.3.8 冰提苜蓿 ISPs 的测定 采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-PAGE 电泳法。以低相对分子质量标准蛋白质标定样品的相对分子质量,测定冰提后的粗蛋白质的相对分子质量分布。SDS-PAGE 凝胶采用 Laemmli 的方法配制。采用整个电泳胶板有 4 g/dL 的浓缩胶(pH 6.8)和 12 g/dL 的分离胶(pH 8.8)组成。按表配成凝胶贮液。凝胶固定后,将样品与上样缓冲液混合均匀后上样。电泳仪连接电源进行电泳,至示踪染料与凝胶底部相差 1 cm 时,表明电泳可结束^[22]。用染色液染色后再对其脱色后拍照。

1.3.9 苜蓿 ISPs 对冷冻面团的影响 用高筋粉制作面团,加入质量分数 50%蒸馏水,混合均匀,在和面机中搅拌 10 min,制作空白面团。令取高筋粉与质量分数 1%苜蓿 ISPs 混合,在和面机中搅拌 20 min,将制备好的面筋蛋白分成每份 25 kg,做平行试验,将其制作成半球状面团,用保鲜膜包好在常

温下稳定 1 h 后,置入-36 $^{\circ}$ C 速冻 2 h,然后置于-18 $^{\circ}$ C 冰箱中冻藏 5 d。测定时需在室温下解冻 2 h,采用 TA-XT2i 质构仪测定冷冻面团的质构参数,测定方法:T.P.A;探头速率:P/50;测试前速率:2.00 mm/s;测试中速率:1.00 mm/s;测试后速率:1.00 mm/s;压缩程度:50%;停留间隔:5 s。选取硬度、内聚性、回复性、弹性和咀嚼性等质构特性参数对添加苜蓿 ISPs 的冷冻面团进行质地影响评价^[23-26]。

2 结果与讨论

2.1 苜蓿干草中蛋白质与水分质量分数的测定

经检测计算,“肇东”紫花苜蓿干草中的蛋白质质量分数为 20.8%,水分质量分数为 1.3%。

2.2 牛血清蛋白标准曲线测定结果

经测定,牛血清蛋白的标准曲线的回归方程为 $y=0.0086x+0.0102$, $R^2=0.9974$,说明该标准曲线的相关性良好。

2.3 冰结构粗蛋白提取单因素实验结果

2.3.1 料液比对苜蓿 ISPs 提取率的影响 由实验可知,当料液质量体积比在 1 g:5 mL~1 g:20 mL 时蛋白质的提取率呈上升趋势,从 1.74% 上升到 2.73%,随后提取率下降。因此最适料液质量体积比为 1 g:20 mL。

2.3.2 缓冲液 pH 对苜蓿 ISPs 提取率的影响 当 pH 值在 6~8 提取率逐渐升高。冰结构蛋白的提取率从 0.45% 升到 2.79%,在 8.0 时出现最大值 2.79%,但当 pH 值大于 8.0 时反而降低,因此最适 pH 为 8.0。

2.3.3 缓冲液浓度对苜蓿 ISPs 提取率的影响 当缓冲液的浓度从 10 mmol/L 到 60 mmol/L 时蛋白质提取率呈上升趋势,从 1.27% 上升到 2.68%,随后提取率下降。因此,缓冲溶液最适浓度为 60 mmol/L。

2.3.4 冰球添加量苜蓿 ISPs 提取率的影响 随着冰球数量的增加,苜蓿 ISPs 的提取率呈上升趋势,从 0.84% 上升至 2.62%,随后下降。蛋白质的提取率达到顶点,但是当冰球数量添加过多时提取率反而下降。实验确定添加的冰球数量为 40 个。

2.4 响应曲面实验

通过单因素进行方差分析,可知影响冰结构粗蛋白提取率因素的顺序依次为:冰添加量 $C>$ 缓冲液 pH $A>$ 缓冲液浓度 $B>$ 料液质量体积比。根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理可以看出,选择

磷酸盐缓冲溶液浓度、pH 值、冰晶添加量等 3 个因素对苜蓿 ISPs 提取率的影响较大,因此,采用三因素三水平的响应分析方法优化求取优化的工艺参数,实验次数为 17 次。优化试验设计与结果,见表 2 与表 3。并对结果进行方差分析。

表 2 响应曲面实验分析方案及结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

实验序号	A	B	C	Y%
1	0	0	0	2.74
2	-1	1	0	2.14
3	0	1	-1	2.09
4	1	0	-1	1.75
5	0	0	0	2.87
6	0	0	0	2.76
7	0	1	1	2.16
8	0	0	0	2.90
9	0	-1	1	2.02
10	1	0	1	1.96
11	1	1	0	2.29
12	-1	-1	0	2.17
13	-1	0	1	2.08
14	1	-1	0	2.12
15	0	0	0	2.85
16	-1	0	-1	1.93
17	0	-1	-1	1.86

由方差分析结果可知,方程高度显著,且失拟项不显著($P=0.241\ 2>0.05$);响应曲面模型的校正决定系数为 $R^2_{Adj}=0.959\ 1$,说明该模型拟合程度较好,实验误差小,建立的模型是合适的。二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 ($P<0.01$) 为及显著。交互作用 AB 、 AC 、 BC ($P>0.05$) 不显著。回归方程为:提取率= $2.86-0.025A+0.064B+0.074C+0.05AB+0.015AC-0.022BC-0.39A^2-0.29B^2-0.54C^2$ 。各因素对实验指标的重要程度从各因素的 F 值反应体现,即: F 值越大,表明对试验指标的影响越大。因此可知对苜蓿冰结构粗蛋白提取率影响程度从大到小顺序为:冰添加量>缓冲液浓度>缓冲液 pH。

通过响应曲面分析,得到冰结合缓冲溶液提取苜蓿 ISPs 最优条件为:缓冲液 pH 为 7.99,缓冲液浓度为 61.06 mmol/L,冰添加量为 45.33 个,得到苜蓿 ISPs 的提取率为 2.87%,虽稍低于实验设计的预测值,但接近于提取条件的预测值,说明实验值与预测值相符。

2.5 冰晶观察

由图 1、图 2 可知,苜蓿 ISPs 的冰晶呈不规则形状,多呈四边形、六边型、圆形、小圆形、异形等多种形态,冰晶形态丰富,体积小数量多,排列与分布均匀。从对照可以看出,水对照的冰晶形态,体积最大,呈大圆泡型,排列致密;NaCl 溶液对照的冰晶形态,体积较小,数量不多,形态单一,呈长六边形;蔗

表 3 回归模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P_r	显著性
模型	2.57	9	0.29	42.72	<0.000 1	**
A	5.000E-003	1	5.000E-003	0.75	0.416 0	**
B	0.033	1	0.033	4.86	0.063 3	**
C	0.044	1	0.044	6.50	0.038 1	**
AB	0.010	1	0.010	1.49	2.611	**
AC	9.000E-004	1	9.000E-004	0.13	0.724 7	**
BC	2.025E-003	1	2.025E-003	0.30	0.599 4	**
A^2	0.65	1	0.65	97.30	<0.000 1	**
B^2	0.36	1	0.36	53.19	0.000 2	**
C^2	1.23	1	1.23	183.98	<0.000 1	**
残差	0.047	7	6.692E-003			
失拟项	0.029	3	9.575E-003	2.11	0.2412	
纯误差	0.018	4	4.530E-003			
总离差	2.62	16				
		$R^2=0.982\ 1$	$R^2_{Adj}=0.959\ 1$			

糖溶液对照的冰晶,数量多,体积小,形态单一,呈小圆形,但排列较紧密。可见,苜蓿 ISPs 对于抑制冰

晶生长、修饰冰晶形态具有显著的效应,说明苜蓿 ISPs 具有较好的抗冻活性。

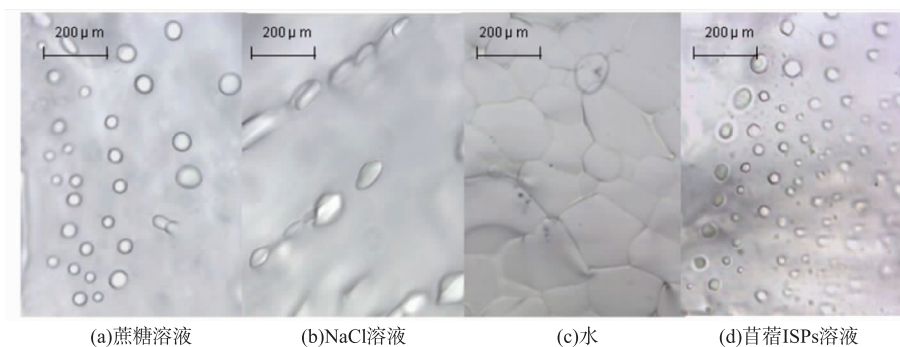
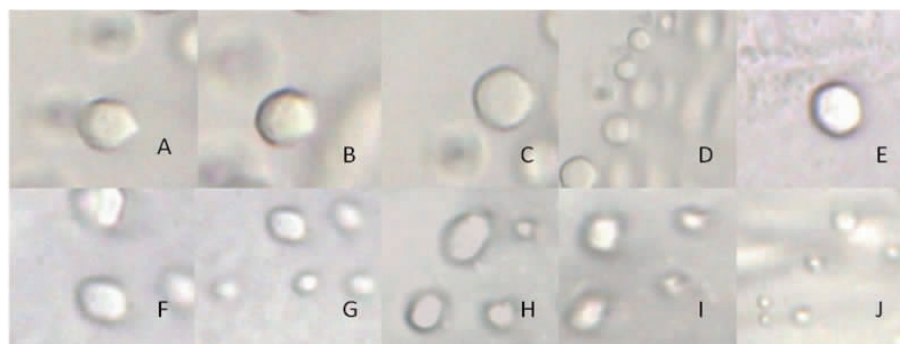


图 1 苜蓿 ISPs 与对照的冰晶观察 (40X)

Fig. 1 Several solution compered with water ice crystals to observe(40X)



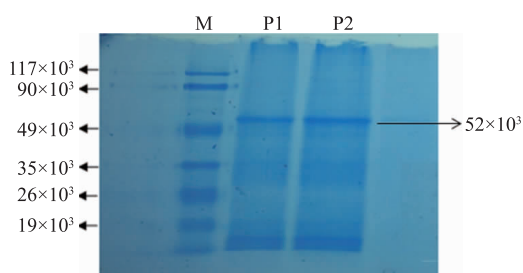
A、B、E: 六边形 C: 圆形 D、J: 小圆形 F、G、H、I: 四边形与异形

图 2 苜蓿 ISPs 溶液的冰晶形态

Fig. 2 Moiled ISPs ice crystal morphology

2.6 苜蓿冰结构蛋白相对分子质量的测定

由图 3 可知,在 52 000 处左右有比较清晰的条带,在 30 000 到 35 000 处也有条带,但不是很明显,但是无法判断哪一个是具有抗冻活性的蛋白,有待进一步分离提取。



M:SDS-PAGE 标准蛋白;P1、P2:苜蓿 ISPs

图 3 ISPs 聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig. 3 SDS-PAGE tested of Alfalfa ISPs

2.7 添加苜蓿冰结构蛋白的冷冻面团质构特性的变化

空白组与添加 ISPs 的面团分别做 3 组平行实验,通过对数据进行统计分析计算出均值与标准差,并进行显著性分析,由表 3 可以看出,添加质量分数 1%的 ISPs 与空白组相比较:硬度差异显著($p < 0.05$),硬度略有减小、内聚性差异不显著($p > 0.05$),略有下降;弹性差异不显著($p > 0.05$),略有增大;胶黏性与咀嚼性差异不显著($p > 0.05$),略有下降;回复性差异显著($p < 0.05$),有所下降。所以总体来说添加冰结构蛋白的冷冻面团可对其品质产生一定量的影响。

3 结 语

1) 利用改进的冰结合磷酸盐缓冲溶液法提取苜蓿 ISP,通过单因素实验和响应曲面实验,得到提

表 3 冷面团质构特性的测定
Table 3 Texture properties of frozen dough

各组组别	硬度		内聚性		弹性		胶黏性		咀嚼性		回复性	
	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差
空白组	1 565.873 ^a	264.384	0.689 ^a	0.078	0.667 ^a	0.141	-1 154.23 ^a	375.942	642.74 ^a	176.13	0.124 ^a	0.027
添加 ISP	1 409.290 ^b	214.527	0.656 ^a	0.068	0.824 ^a	0.120	-1 104.64 ^a	374.683	637.06 ^a	175.06	0.115 ^b	0.014

取苜蓿 ISP 的最佳工艺条件为料液质量体积比为 1 g:20 mL、缓冲液 pH 7.99、缓冲液浓度为 61.06 mmol/L、冰球添加量为 45.33 个,最终提取率为 2.87%。

2) 采用电子显微镜对冰提法提取的苜蓿 ISPs 进行冰晶形态观察,并以水、蔗糖、NaCl 溶液等做对照进行比较,可以看出苜蓿 ISPs 呈四边形、六边型、圆形、小圆形、异形等多种形态,冰晶形态丰富,说

明苜蓿 ISPs 对于抑制冰晶生长、修饰冰晶形态具有显著的效应,具有较好的抗冻活性。

3) 利用聚丙烯酰胺电泳对苜蓿 ISPs 进行检测,确定其所含蛋白质相对分子质量为 52 000。

4) 将苜蓿 ISP 应用于冷冻面团中,测定冷冻面团的质构特性,发现添加苜蓿 ISPs 的冷冻面团的硬度、弹性、内聚性等参数均有所改善,说明面团品质有所提高。

参考文献:

- [1] JOANNA L, KELLEY, JAN E, et al. Functional diversification and evolution of antifreeze proteins in the antarctic fish *Lycodichthys dearborni*[J]. **J Mol Evol**, 2010, 71: 111-118.
- [2] LI Wenke, MA Chunsen. Present properties, mechanism and prediction of antifreeze proteins [J]. **Chinese Bulletin of Life Sciences**, 2012, 24(10): 1089-1097. (in Chinese)
- [3] ZHAO Jinhong, HU Yue, LIU Bing. Effect of novel freezing technologies on ice crystals during food freezing [J]. **Food and Machinery**, 2012, 28(6): 241-245. (in Chinese)
- [4] ZHANG Hui, DING Xiangli. Research progress of antifreeze proteins application in food and its safty analysis [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(5): 155-157. (in Chinese)
- [5] WANG Duojia, ZENG Yan, MU Yongchao. Research on antifreeze proteins of dongnongdongmai 1 in high-cold area[J]. **Journal of Triticeae Crops**, 2009, 29(8): 823-826. (in Chinese)
- [6] HON W C, GRIFFITH M, MLYNARZ A, et al. Antifreeze protein in winter rye are similar to pathogenesis-related proteins[J]. **Plant Physiology**, 1995, 109(3): 879-889.
- [7] FENG Congjing, LU Jianfeng, LV Wenjing. Advances in antifreeze proteins research [J]. **Jiangsu J of Agr Sc**, 2007, 23(5): 481-486. (in Chinese)
- [8] LIU Shang, LIAO Xiangru, ZHANG Jianguo. The separation and purification and purification of a privet leaves antifreeze protein [J]. **Journal of Integrative Plant Biology**, 2007, 24(4): 505-510. (in Chinese)
- [9] ZHANG Chao, MA Yue, ZHAO Xiaoyan. Research on antifreeze proteins of primary structure on winter bran [J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2009, 37(5): 659-664. (in Chinese)
- [10] ZHANG Dangquan, TAN Xiaofeng, ZHONG Jian. Fast and highly efficient purification of carrot antifreeze protein[J]. **Journal of Central South South Forestry University**, 2005, 25(4): 27-31. (in Chinese)
- [11] DING Xiangli, ZHANG Hui, LIU Wenhua. Extraction of carrot (*Daucus carota*) antifreeze proteins and evaluation of their effects on frozen white salted noodles[J]. **Food Bioprocess Technol**, 2014(7): 842-852.
- [12] DENG Shunyang, ZHANG Dangquan, FAN Shaogang. cDNA cloning and sequence analysis of antifreeze protein gene of *Lolium perenne*[J]. **Journal of Central South University of forestry Technology**, 2010, 30(1): 18-21. (in Chinese)
- [13] LAUERSEN, ALAN Brown, ADAM Middleton. Expression and characterization of an antifreeze protein from the perennial rye grass[J]. **Lolium perenne. Cryobiology**, 2011, 62: 194-201.
- [14] ZHANG Hui, ZHANG Yanjie, WANG Li. Application and prospect of antifreeze proteins in food industry [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(9): 397-903. (in Chinese)

- [15] XIA Lu, ZHANG Chao, WANG Li. Preparation and application of antifreeze protein extracted from winter wheat bran[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2009, 30(11): 241-243; 310. (in Chinese)
- [16] HAWES T C, MARSHALL C J, WHARTON D A. Antifreeze proteins in the Antarctic springtail, *Gressittacantha terranova* [J]. **J Comp Physiol B**, 2011, 18(1): 713-719.
- [17] XUE Zhenglian, LIU Yan, YANG Hao. Research on leaf protein of plant [J]. **Journal of Anhui University of Technology and Science**, 2005, 20(2): 70-73. (in Chinese)
- [18] QU Min, DONG Zhengting, CHEN Fenglian. Extraction of alfalfa ice structuring proteins and their effect on frozen dough[J]. **Food Science**, 2014, 35(24): 57-62. (in Chinese)
- [19] QU Min, MA Yongqiang, YANG Dapeng. Extraction efficiency and characterization of alfalfa leaf protein by different methods [J]. **Food Science**, 2012, 33(14): 91-95. (in Chinese)
- [20] LIU Junjie, LI Qianzhong. Research on crystal growth rate of solution of antifreeze glycoprotein [J]. **Acta Biophysica Sinica**, 2001, 17(4): 1-4. (in Chinese)
- [21] GONG Shufang, YANG Tao, CHE Daidi. Research on ice crystal growth of antifreeze protein solution [J]. **Journal of Shanghai Jiaotong University**, 2010, 28(3): 265-268. (in Chinese)
- [22] WANG Yan, QIU Liming, DAI Chunying. Expression of insect (*Microdera puntipennis dzungarica*) antifreeze protein MpAFP149 confers the cold tolerance to transgenic tobacco[J]. **Plant Cell Rep**, 2008, 27: 1340-1358.
- [23] HAWES T C, MARSHALL C J, WHARTON D A. Antifreeze proteins in the Antarctic springtail, *Gressittacantha terranova*[J]. **J Comp Physiol B**, 2011, 18(1): 713-719.
- [24] LI Lingling, JIA Chunli, HUANG Weining. Effect of ice-structuring protein on the stability of frozen hydrated gluten [J]. **Food Science**, 2010, 31(19): 25-28. (in Chinese)
- [25] DING Xiangli, ZHANG Hui, LIU Wenhua. Extraction of carrot (*Daucus carota*) antifreeze proteins and evaluation of their effects on frozen white salted noodles[J]. **Food Bioprocess Technol**, 2014, 7: 842-852.
- [26] PAN Zhenxing, ZHOU Qibo, HUANG Weining. Effects of ice structuring protein on characteristics and microstructure of frozen dough during long term cold storage[J]. **Food Science**, 2008, 29(8): 39-42. (in Chinese)

会 议 消 息

会议名称(中文): 华南地区生物化学与分子生物学会联合年会

所属学科: 生物物理学、生物化学及分子生物学

开始日期: 2017-11-16

结束日期: 2017-11-18

所在城市: 广西壮族自治区 南宁市

主办单位: 广西生物化学与分子生物学会

联系人: 刘予娴

联系电话: 13768318007

E-MAIL: gxswxyfzswxxh@163.com

会议背景介绍: 为促进华南地区生物化学与分子生物学学科发展, 广西生物化学与分子生物学会、广东省生物化学与分子生物学会、海南省生物化学与分子生物学会、深圳市生物化学与分子生物学会共同主办, 广西大学承办的“华南地区生物化学与分子生物学会联合年会”定于 2017 年 11 月中旬在广西南宁举行。本次学术会议将邀请在生化领域有重要影响的科学家做大会特邀报告, 同时也为活跃在本领域的青年工作者提供学术交流的平台。

会议论文提交: 以电子邮件附件方式, 提交至 gxswxyfzswxxh@163.com