

油料蛋白

DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.2021.06.010

pH 偏移促进大豆蛋白酶解过程中聚集体解聚的研究

赵明, 张晖, 朱玲, 齐希光

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要:酶法水解大豆蛋白可以生产多种生物活性肽,但在酶解过程中肽段的二次聚集会产生不溶沉淀,降低蛋白质利用率。研究了 pH 偏移对大豆蛋白酶解聚集体解聚的影响。结果表明:Alcalase 碱性蛋白酶酶解大豆蛋白获得的不溶沉淀,是以疏水相互作用为主要分子间作用力的大豆肽聚集体;pH 偏移赋予的静电斥力能促使大豆肽聚集体解聚和重排,大豆肽蛋白质利用率从 74% (pH 7) 增加到 85% (pH 12),并将大豆肽的平均粒径由 243 nm 减小至 103 nm;同时,pH 偏移使疏水性氨基酸在不溶肽聚集体中积累,增加二级结构中的无规则卷曲含量,但不影响不溶肽聚集体的相对分子质量分布。因此,pH 偏移技术可安全有效地促使大豆肽不溶聚集体解聚。

关键词:大豆蛋白;肽聚集体;pH 偏移;氨基酸分析;碱性蛋白酶

中图分类号:TQ931;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)06-0043-05

pH - Shift dissolving the aggregates during soybean protein enzymolysis

ZHAO Ming, ZHANG Hui, ZHU Ling, QI Xiguang

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: The enzymatic hydrolysis of soybean protein produces a variety of bioactive peptides. However, due to the self-aggregation of peptides in the enzymatic hydrolysis process, insoluble aggregates are produced and protein utilization rate is reduced. The pH-shift dissolving the soybean peptide aggregates was studied. The results showed that the insoluble precipitate obtained by Alcalase enzymatic hydrolysis of soybean protein was peptide aggregates with hydrophobic interaction as the main intermolecular force. The charge repulsion provided by the pH-shift technology promoted the depolymerization and rearrangement of the soybean peptide aggregation system. The soybean peptide protein utilization rate increased from 74% at pH 7 to 85% at pH 12, and the average particle size of soy protein peptides reduced from 243 nm to 103 nm. At the same time, pH-shift caused hydrophobic amino acids to accumulate in insoluble aggregates, increasing the random coil content in the secondary structure, but did not affect the relative molecular weight distribution of the insoluble aggregates. Therefore, the pH-shift technology could safely and effectively promote the depolymerization of insoluble aggregates of soybean peptides.

Key words: soybean protein; peptide aggregates; pH-shift; amino acid analysis; alkaline protease

酶法水解植物蛋白被认为是抵抗蛋白质消化不良、降低蛋白质致敏性、消除蛋白质不良风味的有效方式。其中,酶法水解大豆蛋白生产的功能肽具有抗氧化、免疫调节、降胆固醇等多种生理活性^[1-2],最大程度保留了大豆蛋白的营养价值和功能价值。

目前,大豆蛋白的酶法水解已被广泛应用于生物活性肽的生产中。然而,诸如大豆蛋白之类的植物蛋白水解后,常不可避免地自发形成肽-肽聚集或肽-蛋白质聚集,甚至形成不溶肽聚集体,尤其是工业生产中,不溶肽聚集体最高可以达到 30%^[3],受到溶解度的制约,生产实践中常将此部分作为廉价动物饲料,造成蛋白质营养价值流失。氨基酸分析表明,不溶肽聚集体氨基酸种类丰富,营养价值较高^[4],因而对肽聚集体性质和解聚的研究具有重要的经济价值和现实意义。

收稿日期:2021-01-06;修回日期:2021-02-27

作者简介:赵明(1995),男,硕士研究生,研究方向为谷物蛋白开发利用(E-mail)962566508@qq.com。

通信作者:张晖,教授(E-mail)zhanghui@jiangnan.edu.cn。

pH 偏移是指将蛋白质分子暴露于远低于(或高于)蛋白质等电点(pI)的 pH 下,较强的电荷排斥力将促使多肽链充分展开,当将结构展开或部分展开的分子重新置于中性 pH 条件下(其中分子内电荷排斥力大大降低)时,肽链会发生一定程度的重新折叠,从而改善蛋白质的表面性质。Jiang 等^[5]通过 pH 偏移诱导大豆蛋白结构变化,改善了其功能性质,且无不良效果。然而,目前还没有类似方法用于改善不溶肽聚集体的报道。

本文首次研究了 pH 偏移对大豆肽聚集体的解聚作用,同时对不同程度 pH 偏移后大豆肽聚集体的结构性质进行表征。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大豆分离蛋白(SPI,蛋白质含量 92%),诺利如一公司提供;Alcalase 2.4 FG 碱性蛋白酶(最适温度 50~60℃,最适 pH 8~10,酶活 2.4 AU/g),诺维信公司。

氢氧化钠、盐酸、溴化钾、尿素、十二烷基硫酸钠(SDS)等,均为分析纯。

Nicolet IS10 傅里叶变换红外光谱仪,美国 Nicolet 公司;Agilent 1260 自动氨基酸分析仪,美国安捷伦公司;Zetasizer nano ZS 纳米粒度及 Zeta 电位仪,英国马尔文公司。

1.2 实验方法

1.2.1 SPI 的酶解和水解度的测定

准确称取一定量的 SPI 溶于去离子水中,配成 10% 的 SPI 溶液,室温下搅拌 2 h,加入 2% 的 Alcalase 碱性蛋白酶,在 56℃ 下酶解 4 h,酶解过程中用 1 mol/L 的 NaOH 或 1 mol/L 的 HCl 维持酶解反应 pH 在 8.7,酶解结束后,将酶解液在沸水浴中加热 10 min 灭酶,在 4℃ 下透析 24 h,得到大豆蛋白酶解液,于 -20℃ 存放,备用,并参照 Nielsen^[6]的方法测定酶解液的水解度。

1.2.2 大豆肽聚集体的制备

取大豆蛋白酶解液,调节 pH 至 7,于 10 000 g、4℃ 条件下离心,沉淀冻干即为不溶肽聚集体(SPA)。

取大豆蛋白酶解液,分别调节 pH 至 12、11、10、9、8,旋涡振荡 2 min,迅速回调 pH 至 7,在 4℃ 下透析 24 h,并于 10 000 g、4℃ 条件下离心 20 min,沉淀用蒸馏水洗涤两次后冻干,得到不同 pH 偏移处理后的不溶肽聚集体,分别记为 SPA₁₂、SPA₁₁、SPA₁₀、SPA₉、SPA₈。

用凯氏定氮法^[7]测定 SPA 蛋白质含量,按式

(1) 计算大豆肽蛋白质利用率(y)。

$$y = (1 - m_1/m_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为不溶肽聚集体中蛋白质质量; m_0 为 SPI 中的蛋白质质量。

1.2.3 分子间作用力的测定

参照 Zhang^[4]的方法并有所改进。将 SPA 样品溶解在 6 种还原剂中:①PBS,0.01 mol/L、pH 7.0 的磷酸盐缓冲液;②DTT,含有 0.05 mol/L DTT 的 PBS 溶液;③Urea,含有 8 mol/L 尿素的 PBS 溶液;④SDS,含有 1% SDS 的 PBS 溶液;⑤Urea-SDS,含有 8 mol/L 尿素和 1% SDS 的 PBS 溶液;⑥DTT-Urea-SDS,含有 8 mol/L 尿素、1% SDS 和 0.05 mol/L DTT 的 PBS 溶液。

向 50 mg SPA 中分别加入 10 mL 6 种上述还原剂,旋涡振荡 2 min,在 10 000 g、4℃ 下离心 10 min,沉淀用蒸馏水洗涤两次,将沉淀分散在 3 mL 0.01 mol/L NaOH 中,使用 BCA 法^[8]测定沉淀分散液中蛋白质含量并计算各溶剂中的蛋白质溶解度(S)。

$$S = (1 - m_2/m_0') \times 100\% \quad (2)$$

式中: m_2 为沉淀中蛋白质的质量; m_0' 为聚集体中蛋白质的质量。

1.2.4 粒径和电位的测定

取大豆蛋白酶解液分别调节 pH 至 12、11、10、9、8、7,旋涡振荡 2 min,迅速回调 pH 至 7,并于 10 000 g、4℃ 条件下离心 20 min,上清液在 4℃ 下透析 24 h,作为经过不同 pH 偏移处理的大豆肽液,并稀释至蛋白质含量 0.1%,使用纳米粒度及 Zeta 电位仪测定大豆肽的平均粒径、粒径分布和 Zeta 电位。

1.2.5 SPI、SPA、SPA₁₂ 二级结构的测定

采用傅里叶变换红外光谱仪测定样品的二级结构,参照 Zhou 等^[9]的方法并改进。分别称取 10 mg SPI、SPA、SPA₁₂,分别加入 1 g 溴化钾,用研钵研磨均匀,取 70 mg 压成薄片放入傅里叶变换红外光谱仪进行扫描,扫描范围为 800~4 000 cm⁻¹,扫描次数为 32 次,分辨率为 2 cm⁻¹。采集的光谱图使用 Peak Fit 4.12 软件(SPSS Inc., Chicago IL, USA)进行分析,并对酰胺 I 带(1 600~1 700 cm⁻¹)区域进行 Gaussian 拟合,得出各二级结构的含量。

1.2.6 相对分子质量分布的测定

SPI、SPA、SPA₁₂ 用含有 1% SDS 的 PBS 溶液溶解,参照 Zheng^[10]的方法测得样品的相对分子质量分布。使用尺寸排阻色谱法(SEC)在凝胶色谱柱上确定 SPI 和不溶肽聚集体的相对分子质量分布。使用 6 种标准分子标记(10 000、5 000、3 000、2 000、

1 000、500、180)进行计算。根据标记的对数相对分子质量及其各自的洗脱时间绘制校正曲线,对结果进行校正。

1.2.7 氨基酸组成分析

不溶肽聚集体的氨基酸组成测定参照 Zhao^[11]的方法并稍加修改。称取约 100 mg 不溶肽聚集体于 8 mL 6 mol/L 的 HCl 溶液中,充氮气 3 min 后放入 120 °C 的烘箱中水解 22 h,将水解样品加入 4.8 mL 10 mol/L 的 NaOH 中和,用蒸馏水定容到 25 mL,双层滤纸过滤,并在 15 000 r/min 离心 30 min,取上清液,用自动氨基酸分析仪对其氨基酸组成进行分析。

2 结果与讨论

2.1 大豆肽的蛋白质利用率

碱性蛋白酶是大豆蛋白酶解过程中最常使用的酶之一,因此在本实验中选用 Alcalase 碱性蛋白酶酶解大豆蛋白收集不溶肽聚集体,Alcalase 的酶切位点一般位于羧基侧为疏水性氨基酸的肽键,因此酶解过程中会释放出大量含有疏水性氨基酸残基的肽链,疏水性残基间极易通过肽-肽相互作用自发聚集形成不溶肽聚集体。本实验中,SPI 经 4 h 酶解,水解度为(17.65 ± 0.32)%。

实验采用 pH 偏移调整不溶肽聚集体的分子间作用力,将酶解液短时间置于 pH 8 ~ 12 的碱性环境中,增加肽链所带负电荷,使肽分子间的静电斥力增大,促进聚集的肽段解聚,肽段的疏水侧链在展开状态下自发重排,在迅速回调 pH 的过程中肽段间的相互碰撞聚集减少,从而使不溶肽聚集体生成量减少,将更多肽段分散在上清液中。pH 偏移处理对大豆肽蛋白质利用率的影响如图 1 所示。

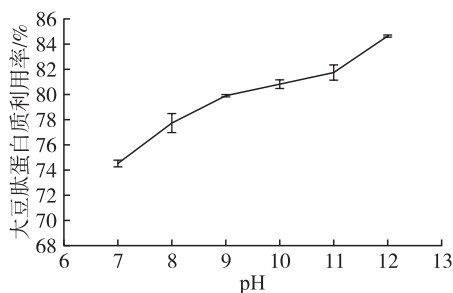


图 1 pH 偏移对大豆肽蛋白质利用率的影响

由图 1 可知,随着 pH 的提高,大豆肽蛋白质利用率从 74% 增加至 85%。同时,透析避免了酸碱中和产生的盐离子的影响,且不额外引入其他化学物质,具有工业应用的潜力。

2.2 不溶肽聚集体的分子间作用力

采用 6 种不同的还原剂破坏不同的蛋白质相互作用力,以不溶肽聚集体在不同溶剂中的溶解度来

表征不同分子间作用力对维持聚集体稳定结构的贡献率。其中,DTT 是一种可以破坏蛋白质结构中二硫键的强还原剂,Urea 能够破坏蛋白质结构中的氢键,SDS 可以使蛋白质带上大量的负电荷而产生静电斥力,从而破坏疏水相互作用力^[12]。不溶肽聚集体在不同还原剂中的溶解度如图 2 所示。

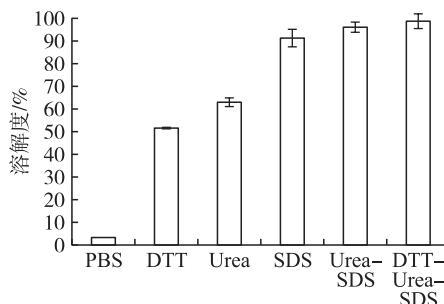


图 2 不溶肽聚集体在不同还原剂中的溶解度

由图 2 可知,不溶肽聚集体在 DTT 和 Urea 中的溶解度差异不明显,但在含有 SDS 的溶剂中,不溶肽聚集体的溶解度显著提高并接近全部溶解,说明不溶肽聚集体是以疏水相互作用为主要分子间作用力的肽-肽聚集体,氢键的贡献率次之,二硫键的贡献率则最小。

2.3 pH 偏移对大豆肽粒径和电位的影响

测定了不同 pH 偏移后大豆肽上清液的粒径分布和电位,结果如图 3 和图 4 所示。

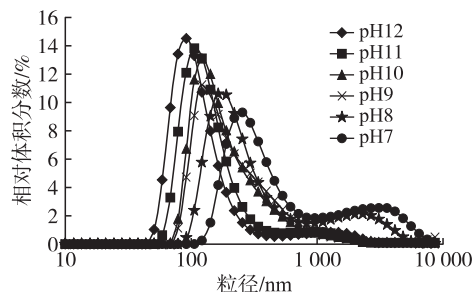


图 3 pH 偏移对大豆肽粒径分布的影响

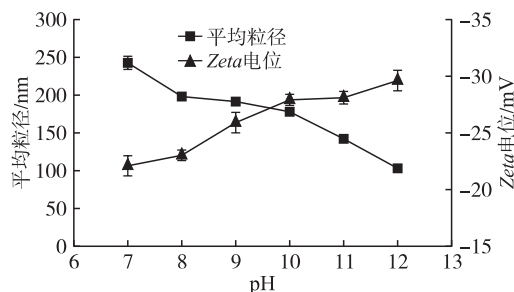


图 4 pH 偏移对大豆肽平均粒径和 Zeta 电位的影响

由图 3 和图 4 可以看出,和未经 pH 偏移或者 pH 偏移较低的样品相比,提高 pH 使大豆肽的粒径分布整体向较小的方向移动,平均粒径由 243 nm 减小至 103 nm,且其粒径分布更加均匀。可能的原因是,与未经 pH 偏移的大豆肽相比,pH 偏移提供的

静电斥力使大豆肽的肽链充分展开并重排,肽链结构更加紧密。pH 偏移还提高了大豆肽的 Zeta 电位绝对值,使其在溶液中的性质更加稳定。

2.4 pH 偏移对不溶肽聚集体二级结构的影响

利用红外光谱对 SPI、SPA 和 SPA₁₂ 二级结构进行分析,结果如图 5 所示。

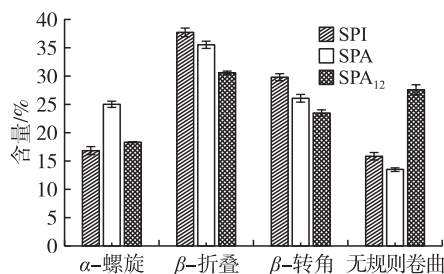


图 5 SPI、SPA 和 SPA₁₂ 的二级结构组成

由图 5 可知,形成不溶肽聚集体的肽段二级结构的组成比例和 SPI 存在显著差异。与 SPI 相比,α-螺旋结构更多地出现在不溶肽聚集体中,β-折叠、β-转角和无规则卷曲则相应减少,而经过 pH 偏移处理的 SPA₁₂ 的二级结构变化较大,尤其是无规则卷曲结构的大量增加说明 pH 偏移中的静电斥力可能导致一些肽段疏水侧链随机重排,或使 α-螺旋、β-折叠和 β-转角的规则结构发生改变,无规则卷曲结构在不溶肽聚集体中大量保留,同时说明肽段中的无规则卷曲最能抵抗静电斥力对肽段二级结构的影响。

2.5 pH 偏移对不溶肽聚集体相对分子质量的影响 (见表 1)

表 1 pH 偏移对不溶肽聚集体相对分子质量的影响

样品	不同相对分子质量的占比/%						
	> 10 000	5 000 ~ 10 000	3 000 ~ 5 000	2 000 ~ 3 000	1 000 ~ 2 000	500 ~ 1 000	180 ~ 500
SPI	91.59	2.45	1.71	1.35	1.23	0.98	0.69
SPA	1.27	3.57	2.81	3.13	11.73	24.93	52.56
SPA ₁₂	1.12	3.49	2.72	3.10	11.76	25.29	52.51

本实验采用含有 1% SDS 的 PBS 溶液溶解不溶肽聚集体,避免疏水相互作用导致肽段聚集对相对分子质量测定造成影响。由表 1 可知,SPI 经过酶解后相对分子质量显著降低,除去疏水相互作用的影响,不溶肽聚集体 SPA 和 SPA₁₂ 的相对分子质量分布没

有显著差异。说明 pH 偏移仅对不溶肽聚集体的分子间作用力进行调整,不影响肽段自身的性质,未造成肽分子的进一步水解,是一种安全的实验方法。

2.6 pH 偏移对不溶肽聚集体氨基酸组成的影响 (见表 2)

表 2 pH 偏移对不溶肽聚集体氨基酸组成与含量的影响

氨基酸	SPI	SPA	SPA ₈	SPA ₉	SPA ₁₀	SPA ₁₁	SPA ₁₂
Asp	11.54 ± 0.44	12.54 ± 0.03	11.96 ± 0.29	11.55 ± 0.17	10.54 ± 0.19	10.32 ± 0.03	9.62 ± 0.03
Glu	20.58 ± 0.15	24.04 ± 0.71	20.64 ± 0.73	20.49 ± 0.17	14.85 ± 0.16	14.46 ± 0.50	14.30 ± 0.06
Ser	3.85 ± 0.24	4.76 ± 0.04	4.45 ± 0.12	3.78 ± 0.09	3.91 ± 0.10	3.97 ± 0.01	4.16 ± 0.05
His	2.69 ± 0.04	2.30 ± 0.09	2.36 ± 0.06	2.68 ± 0.12	2.44 ± 0.08	2.44 ± 0.09	2.41 ± 0.08
Gly	4.29 ± 0.07	3.88 ± 0.09	4.12 ± 0.15	4.29 ± 0.03	4.47 ± 0.09	4.60 ± 0.19	4.77 ± 0.04
Thr	3.38 ± 0.28	3.51 ± 0.07	3.35 ± 0.01	3.39 ± 0.09	2.89 ± 0.03	3.09 ± 0.14	3.34 ± 0.08
Arg	7.80 ± 0.07	10.38 ± 0.40	9.13 ± 0.10	7.94 ± 0.34	6.86 ± 0.33	6.95 ± 0.19	7.24 ± 0.30
Ala	4.28 ± 0.08	3.94 ± 0.10	4.38 ± 0.09	4.29 ± 0.10	4.89 ± 0.18	5.19 ± 0.06	5.49 ± 0.12
Tyr	2.89 ± 0.04	2.93 ± 0.04	3.21 ± 0.04	2.91 ± 0.10	3.77 ± 0.02	3.55 ± 0.07	3.16 ± 0.21
Cys	0.45 ± 0.11	2.39 ± 0.04	1.79 ± 0.06	0.45 ± 0.02	0.67 ± 0.03	0.63 ± 0.01	0.55 ± 0.01
Val	5.57 ± 0.06	2.97 ± 0.11	4.42 ± 0.10	5.62 ± 0.02	6.98 ± 0.32	7.11 ± 0.34	7.28 ± 0.13
Met	1.06 ± 0.13	0.07 ± 0.11	0.57 ± 0.03	1.04 ± 0.02	1.51 ± 0.26	1.46 ± 0.12	1.36 ± 0.01
Phe	5.34 ± 0.09	3.89 ± 0.04	4.83 ± 0.22	5.33 ± 0.06	6.26 ± 0.04	6.49 ± 0.06	6.64 ± 0.13
Ile	5.38 ± 0.14	3.62 ± 0.15	4.62 ± 0.13	5.33 ± 0.12	6.52 ± 0.21	6.47 ± 0.19	6.42 ± 0.30
Leu	8.11 ± 0.23	5.10 ± 0.12	6.90 ± 0.08	8.16 ± 0.33	9.98 ± 0.21	10.23 ± 0.05	10.48 ± 0.20
Lys	6.66 ± 0.05	7.61 ± 0.36	6.91 ± 0.26	6.55 ± 0.04	5.82 ± 0.14	5.67 ± 0.09	5.62 ± 0.12
Pro	6.12 ± 0.29	6.13 ± 0.07	6.45 ± 0.02	6.16 ± 0.10	7.43 ± 0.15	7.15 ± 0.01	7.02 ± 0.20
酸性氨基酸	32.12 ± 1.24	36.59 ± 1.22	32.60 ± 1.45	32.04 ± 0.79	25.39 ± 0.56	24.78 ± 0.32	23.92 ± 1.03
碱性氨基酸	17.15 ± 0.26	20.29 ± 0.02	18.40 ± 0.56	17.17 ± 0.38	15.13 ± 0.19	15.06 ± 0.62	15.26 ± 0.72
疏水性氨基酸	35.86 ± 0.65	25.72 ± 0.57	32.17 ± 0.55	35.93 ± 0.17	43.56 ± 0.66	44.08 ± 0.36	44.70 ± 0.82
必需氨基酸	35.51 ± 0.63	26.77 ± 0.47	31.61 ± 0.86	35.42 ± 0.15	39.95 ± 1.03	40.51 ± 1.24	41.15 ± 1.15

由表2可知,除甲硫氨酸含量极低外,不溶肽聚集体所含氨基酸种类丰富,且与较为缺乏半胱氨酸的SPI相比,SPA中半胱氨酸的含量有所提高,说明SPA具有较高的营养价值。随着pH偏移过程中pH的提高,SPA的生成量减少,氨基酸组成发生改变,不溶肽聚集体中疏水性氨基酸含量增加,推测高pH提供的静电斥力促使疏水性相对较弱的氨基酸侧链发生重排,而对疏水性较强的侧链作用较小,导致SPA₁₂中疏水性氨基酸大量积累。根据Kuipers等^[13]的研究,大豆蛋白11S组分碱性多肽链(G1-G5)序列中具有相同比例的Glu和Asp,由此证明疏水性氨基酸是不溶肽聚集体的重要组成部分。此外,6种不溶肽聚集体的必需氨基酸(Lys、Thr、Leu、Ile、Phe、Val、Met)含量均较高,说明不溶肽聚集体具备作为高质量的蛋白质膳食补充剂的可能性。

3 结论

Alcalase碱性蛋白酶酶解大豆蛋白产生的不溶沉淀是一种以大豆肽为本质,以疏水相互作用为主要分子间作用力的大豆肽聚集体,其必需氨基酸组成丰富均衡,具有利用价值。在酶解过程中利用pH偏移提供的额外分子间斥力,降低大豆肽段间的疏水相互作用,促使相互聚集的大豆肽段解聚和重排,从而将SPA中的大豆肽段从离心沉淀转移至离心上清液,将大豆肽蛋白质的利用率从74%提高至85%。同时,pH偏移处理降低了大豆肽的平均粒径,使大豆肽粒径分布向较小方向移动,且Zeta电位绝对值增加,提高了酶解液中大豆肽分子的稳定性。红外光谱分析发现,pH偏移使大豆肽聚集体中不同二级结构含量发生变化,尤其是无规则卷曲结构大量保留,说明聚集体中的无规则卷曲最能抵抗静电斥力对肽段二级结构的作用。氨基酸分析发现,更高的pH偏移处理使大豆肽聚集体中的疏水性氨基酸更多的积累,表明大豆肽段的疏水相互聚集和大量疏水性氨基酸有关。在pH偏移过程中,大豆肽聚集体的相对分子质量分布保持稳定,表明pH偏移降低大豆肽段分子间疏水作用的同时未造成肽段水解。

参考文献:

[1] ALASWAD A A, KRISHNAN H B. Immunological investigation for the presence of lunasin, a chemopreventive

- soybean peptide, in the seeds of diverse plants[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(14): 2901-2909.
- [2] GOUDA K G M, GOWDA L R, RAO A G A. Angiotensin I - converting enzyme inhibitory peptide derived from glycinin, the 11S globulin of soybean (Glycine max)[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(13): 4568-4573.
- [3] FISCHER M. Aggregation of peptides during hydrolysis as a cause of reduced enzymatic extractability of soybean meal proteins[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(16): 4512-4519.
- [4] ZHANG Y H. Soy peptide aggregates formed during hydrolysis reduced protein extraction without decreasing their nutritional value[J]. Food Funct, 2017, 8(12): 4384-4395.
- [5] JIANG J, WANG Q, XIONG Y L. A pH shift approach to the improvement of interfacial properties of plant seed proteins[J]. Curr Opin Food Sci, 2018, 19: 50-56.
- [6] NIELSEN P M. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis[J]. J Food Sci, 2001(5): 642-646.
- [7] BENJAKU S, MORRISSEY M T. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(9): 3423-3430.
- [8] REN C. Structural characterization of heat - induced protein particles in soy milk [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(5): 1921-1926.
- [9] ZHOU F B, ZHAO M M, CUI C S. Influence of linoleic acid - induced oxidative modifications on physicochemical changes and in - vitro digestibility of porcine myofibrillar proteins[J]. LWT - Food Sci Technol, 2015, 61(2): 414-421.
- [10] ZHENG L. Comparison of in vitro digestion characteristics and antioxidant activity of hot and cold pressed peanut meals[J]. Food Chem, 141(4): 4246-4252.
- [11] ZHAO X. Distribution and effects of natural selenium in soybean proteins and its protective role in soybean beta - conglycinin (7S globulins) under AAPH - induced oxidative stress[J]. Food Chem, 2019, 272: 201-209.
- [12] YILDIZ G, ANDRADE J, ENGESETH N. Functionalizing soy protein nano - aggregates with pH - shifting and thermo - sonication[J]. J Colloid Interf Sci, 2017, 505: 836-846.
- [13] KUIPERS B J H, GRUPPEN H. Identification of strong aggregating regions in soy glycinin upon enzymatic hydrolysis [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(10): 3818-3827.