

大豆蛋白酶解物的抗消化性及离子强度对其聚集的影响

张彬, 刘贺, 徐婧婷, 郭顺堂

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 分别采用体积排阻色谱和 Folin-酚法测定了经酸性蛋白酶(蛋白酶 M、胃蛋白酶)、中性蛋白酶(蛋白酶 A、蛋白酶 N)、枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase 酶解后制得的大豆肽经过模拟体内消化之后分子量的变化, 以及离子强度对酶解物聚合的影响。大豆肽的高效液相色谱体积排阻色谱图显示, 50% 左右的大豆肽的分子量集中在 10 ~ 30 kDa 之间; 在经过模拟肠道胃蛋白酶和胰蛋白酶消化之后, 分子量范围在 3 ~ 30 kDa 的肽段变化相对较大。Folin-酚法测定酶解上清液中肽的浓度结果表明, 胃-肽和 A-肽酶解之后添加 NaCl 能明显减弱聚合现象, N-肽酶解之前添加 NaCl 能明显减弱聚合现象, 而不管哪种方式添加 NaCl M-肽都会加剧聚合现象, Alcalase-肽的浓度始终维持在 $11.40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右, 离子强度对其影响不大。

关键词: 大豆肽; 酶解; 消化; 分子量; 聚合; 离子强度

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2011)04-0632-06

Anti-digestion and Ionic Strength Effect to Aggregation of Soy Protein Hydrolysates

ZHANG Bin, LIU He, XU Jing-ting, GUO Shun-tang

(College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The molecular weight changes of different peptides digested by various protease as well as the effect of ionic strength on reducing aggregation of hydrolysates were studied. Volume exclusion chromatogram of soybean peptides revealed that the molecular weight of soybean peptide between 10 and 30 kDa had the highest percentage. After simulative intestinal pepsin and trypsin digestion, the peptide molecular between 3 and 30 kDa changed relatively larger. The peptide concentration of enzymolysis supernatant was determined by Folin-phenolic method. The results indicated that adding NaCl before or after enzymolysis was different to the peptide aggregation behavior. Adding NaCl after enzymolysis for pepsin or protease A, adding NaCl before enzymolysis for protease N, all could obviously weaken the aggregation of the peptides. For protease M, it would cause aggregation no matter NaCl was added before or after enzymolysis. Ionic strength had little effect on Alcalase enzymolysis and the peptide concentration was maintained at $11.40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Key words: Soybean peptides; Enzymolysis; Digestion; Aggregation; Ionic strength

大豆蛋白经蛋白酶作用后降解为分子链长度不等各级肽类及一些游离氨基酸, 同时赋予大豆肽良好的热稳定性、水溶性、乳化性、抗凝胶性、低粘度等^[1-4]。大豆肽还具有良好的生理功能如降低胆固醇, 降血压, 抗氧化, 促进矿物质吸收等^[5-8]。吴建平^[9]从大豆水解物中分离出 2 种降血压 ACE 抑制肽 Asp-Leu-Pro 和 Asp-Gly。Chen 等^[10]发现大豆蛋白酶解物具有抗氧化作用, 并且从中分离出分子量最小的一个 5 肽 (Leu-Leu-Pro-His-His)。吕莹等^[11]研究发现, 不同分子量的大豆肽均能结合钙, 其中钙结合能力最强的是 14.4 kDa 和 8 ~ 9 kDa 的肽片段。然而这些肽段的生理功能大都是通过体外实验进行的, 这些具有生理功能的肽段在经过体

内消化之后, 分子量是否会产生变化, 变化之后的肽段是否还保留其生理功能尚不确定。同时大豆蛋白酶解完成之后, 除了小分量的大豆肽以外, 还会产生一些不溶性聚合物。这直接导致了可溶性产物产量的降低, 影响了大豆肽的制备效率。有研究报道, 某些高蛋白含量的蛋白酶解产物甚至会出现凝胶现象^[12]。Kuipers 等^[14-15]对聚合肽的片段进行了测定, 结果表明聚合物主要是由二硫键结合的碱性多肽和一部分酸性多肽组成, 并且疏水相互作用是其产生聚合的主要原因。于泓鹏等^[16]用紫外分光光度计对枯草杆菌蛋白酶酶解物聚集过程分析, 发现酶解物的聚合呈“S”形加剧的趋势。如何减少这些聚合现象的产生, 改变体系中电荷的

收稿日期: 2011-03-22

第一作者简介: 张彬 (1987-), 女, 在读硕士, 研究方向为大豆多肽。E-mail: baibing0999@163.com。

通讯作者: 郭顺堂 (1962-), 男, 教授, 主要从事粮食、油脂及植物蛋白的研究。E-mail: shuntang@cau.edu.cn。

分布,是否能减少聚合物的聚集是急需解决的问题。因此该试验对模拟体内消化之后大豆肽分子量分布的变化进行了比较,同时分析离子强度对大豆蛋白酶解物聚合的影响。为大豆肽生产工艺的优化以及大豆肽生理功能的进一步开发提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

原料:低温脱脂豆粕(秦皇岛金海食品工业有限公司提供)。

酶制剂:蛋白酶 A(粉体,20 000 U · g⁻¹,来源于米曲霉菌,中性蛋白酶,含有肽酶),

蛋白酶 N(粉体,150 000 U · g⁻¹,来源于枯草杆菌菌株,中性蛋白酶),蛋白酶 M(粉体,5 500 U · g⁻¹,来源于米曲霉菌,内肽酶和外肽酶的复合酶),均为天野酶制剂株式会社产品;胃蛋白酶(pepsin,粉体,975 U · mg⁻¹ protein) sigma 公司产品;枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase(液体,2.98 × 10⁴ U · g⁻¹)。各种酶的最适水解条件:底物浓度均为 2%,酶的添加量均为 1%;胃蛋白酶:温度 37℃,pH 2.0,蛋白酶 M:温度 50℃,pH 3.0,蛋白酶 A:温度 50℃,pH 7.0,蛋白酶 N:温度 55℃,pH 7.0,枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase:温度 60℃,pH 8.0。

化学试剂:氯化钠、氯化钙、盐酸和 NaOH 等均购于北京化学试剂公司(分析纯);Tris Base(Promega 公司,美国)。

1.2 主要仪器与设备

高效液相色谱系统 Agilent 1100(美国 Agilent 公司);超滤杯(Millipore 公司);超滤膜(北京中科膜技术有限公司);冷冻干燥机 FD-1(北京博医康技术公司);水浴恒温磁力搅拌器 SHJ-A(金坛市华峰仪器有限公司);酸度计 PHC-3C(上海虹以仪器厂);台式离心机 TGL-16C、TDL-40B(上海安亭科学仪器厂);紫外可见分光光度计 SP-2100 UV(上海光谱仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 大豆肽的制备 将脱脂豆粕溶于 15 倍蒸馏水,将 pH 调到 8.0 搅拌 1.5 h 后过滤后离心(4 000 r · min⁻¹,20 min)。然后将上清调 pH 至 4.5,静置 30 min 后离心(1 000 r · min⁻¹,5 min),将沉淀水洗

2 次后,调 pH 至 7.0 复溶,冻干得大豆分离蛋白。将大豆分离蛋白粉配成 2% 的浓度后分别用蛋白酶 M、蛋白酶 N、蛋白酶 A、胃蛋白酶、枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase 酶解 1 h 后,95℃ 加热灭酶 10 min,冷却后调 pH 至 7.0,离心(4 000 r · min⁻¹,20 min)取上清冻干,即得大豆肽粉。

1.3.2 大豆肽的体外消化实验 分别用酸性蛋白酶(蛋白酶 M、胃蛋白酶),中性蛋白酶(蛋白酶 A、蛋白酶 N),枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase 酶解浓度为 2% 的大豆分离蛋白,并将胃蛋白酶、蛋白酶 M、蛋白酶 A、蛋白酶 N、枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase 酶解之后的肽称之为胃-肽、M-肽、A-肽、N-肽、Alcalase-肽。同时将大豆肽配制成浓度为 2% 的溶液,分别用截留量为 30 kDa、10 kDa、3 kDa、1 kDa 的超滤膜(Amicon model 8200, Millipore Corporation)超滤,共分离出 > 30 kDa、10 ~ 30 kDa、3 ~ 10 kDa、1 ~ 3 kDa、< 1 kDa 的 5 种超滤液组分。各级超滤分级组分冷冻干燥后制成不同分子量的大豆肽粉备用。

将上述不同分子量的大豆肽粉分别配制成 2% (m/v) 的溶液,用 1 mol · L⁻¹ 的 HCl 将溶液的 pH 调到 2.0,加入 1% (w/w) 的胃蛋白酶在 37℃ 条件下消化 1 h 后,与 95 下加热 10 min 灭酶,离心(4 000 r · min⁻¹,20 min)取上清液冻干备用。

将上述胃蛋白酶酶解 1 h 后的酶解液用 1 mol · L⁻¹ 的 NaOH 将 pH 调到 7.4,加入 1% (w/w) 胰蛋白酶在 37℃ 条件下继续消化,消化 2 h 后取出样品,沸水中加热 10 min 灭酶,离心(4 000 r · min⁻¹,20 min)后取上清液冻干备用。

1.3.3 大豆肽分子量分布的测定 采用高效体积排阻色谱法(SE-HPLC)测定。将消化后的大豆肽冻干粉用蒸馏水配制成浓度为 5 mg · mL⁻¹ 的溶液,用直径为 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后进样。色谱条件:Agilent 1100 高效液相色谱系统,色谱柱:Protein Pak 60 体积排阻色谱柱(waters, 7.8 mm × 300 mm, bead size 10 μm, fractionation range 1 ~ 20 kDa);流动相:pH 7.4 的 0.03 mol · L⁻¹ 的 Tris-HCl 缓冲溶液;检测波长:214 nm;流速 0.5 mL · min⁻¹;检测温度为 30℃。分子量校正曲线所用标准品为:胰蛋白酶抑制剂(MW20100)、蛋清溶菌酶(MW14400)、AB2-80(MW7823)、AB2-81(MW5856)、AB2-95(MW3313),根据标准品分子量的对数与保

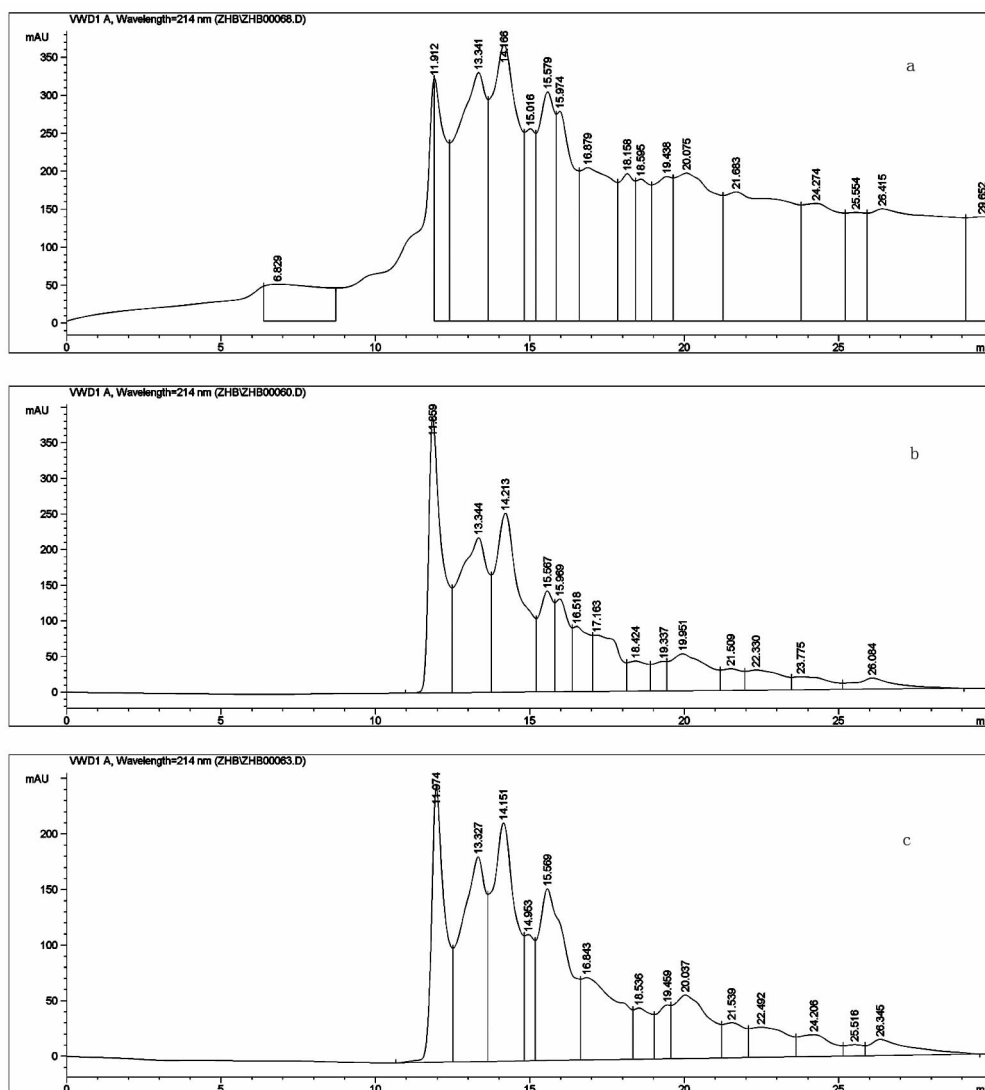
留时间作回归分析,获得的回归方程为 $T = 37.303 - 5.4083 \log MW$ ($R^2 = 0.9814$, $P < 0.05$), 式中, MW 为分子量, T 为保留时间。根据标准品分子量的对数与保留时间之间的回归方程计算样品的分子量。

1.3.4 不同离子强度下大豆肽的浓度分析 向不同蛋白酶酶解前、后的肽溶液中分别添加 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mol · L⁻¹ 的氯化钠搅拌 30 min, 酶解完成后离心 (4 000 r · min⁻¹, 20 min), 取上清用 Folin-酚法测定肽的浓度。

2 结果与分析

2.1 大豆蛋白酶解物消化过程中分子量变化

将酸性蛋白酶酶解制得大豆肽 (胃-肽、M-肽)、中性蛋白酶酶解制得的大豆肽 (A-肽、N-肽)、枯草杆菌碱性蛋白酶 Alcalase 制得大豆肽 (Alcalase-肽) 进行体外消化后用体积排阻色谱进行分析, 发现分子量在 50 kDa 左右的大豆肽所对应的峰高减小, 其它分子量所对应的体积色谱峰无明显变化 (图 1)。



a、b、c 分别为未经消化、经胃蛋白酶消化和经胰蛋白酶消化后的色谱图。

a, b and c stands for chromatogram of non-digestion, peptide digested by pepsin and peptide digested by trypsin, respectively.

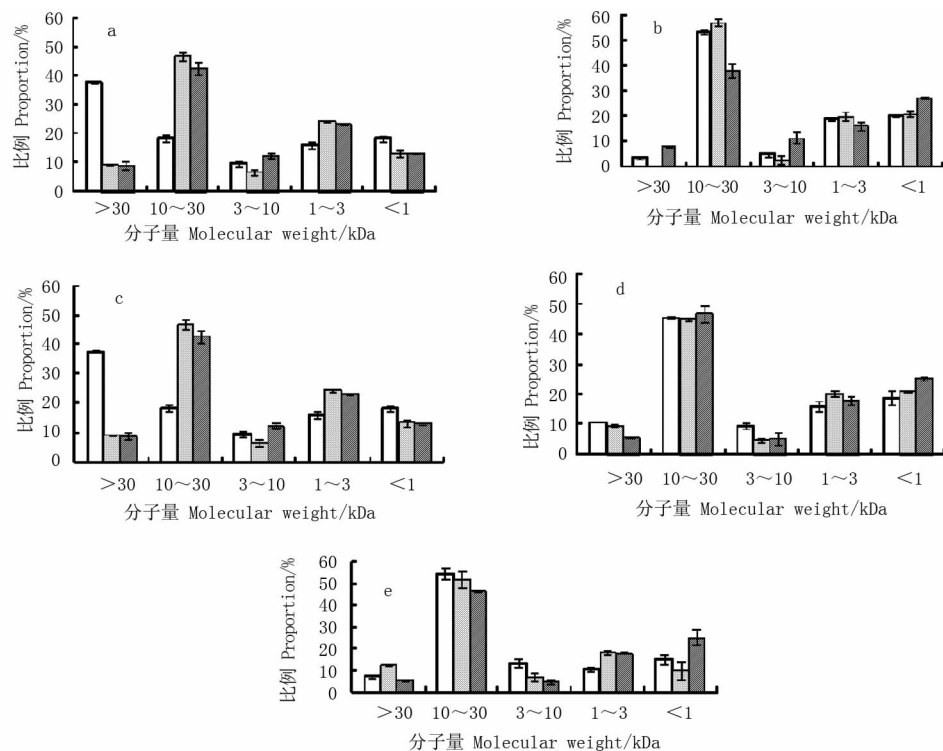
图 1 胃蛋白酶消化得到的大豆肽经消化后的体积排阻色谱图

Fig. 1 Volume exclusion chromatogram of soybean peptide enzymolysed by pepsin and trypsin

将大豆肽的分子量按照 >30 kDa、10 ~ 30 kDa、3 ~ 10 kDa、1 ~ 3 kDa、<1 kDa 5 个范围进行划分, 对各个大豆肽不同范围肽段所占的比例分析比较发现: 除 N-肽消化前 >30 kDa 部分所占的比例最大以外, 其它肽消化前后均是 10 ~ 30 kDa 所占的比例最

大, 均达到 50% 左右 (图 2)。

由图 2c 可知, 经过胃蛋白酶消化之后, 与其它大豆肽相比, N-肽各个分子量的肽段比例变化最大, 其中 >30 kDa 含量减少了 28.52%, 10 ~ 30 kDa 含量上升了 28.36%, 30 ~ 10 kDa 含量减少了 3.04%,



a、b、c、d、e 分别代表胃-肽、M-肽、N-肽、A-肽和 Alcalase-肽。

a, b, c, d and e represent pepsin-peptide, M-peptide, N-peptide, A-peptide and Alcalase-peptide, respectively.

图 2 大豆肽经胃蛋白酶和胰蛋白酶消化后分子量分布变化

Fig. 2 Molecular weight change of peptides digested by pepsin and trypsin

1~3 kDa 的含量上升了 8.12%, <1 kDa 的肽段含量减少了 4.92%。也就是说分子量大于 30 kDa 的肽段对胃蛋白酶的抗消化能力最弱;经过胰蛋白酶消化之后,Alcalase-肽各个分子量的肽段比例变化最大,其中分子量大于 10 kDa 的肽段下降比例高达 31.93%。对于所有酶解大豆肽来说,10~30 kDa 和 3~10 kDa 肽段消化前后变化最大,小于 1 kDa 肽段的部分变化最小。这可能是由于酶解过程中,分子量大于 30 kDa 的肽段随着酶切位点的暴露被酶解成小的肽段,而小分子量的肽段再逐渐聚合形成分子量较大的肽段。

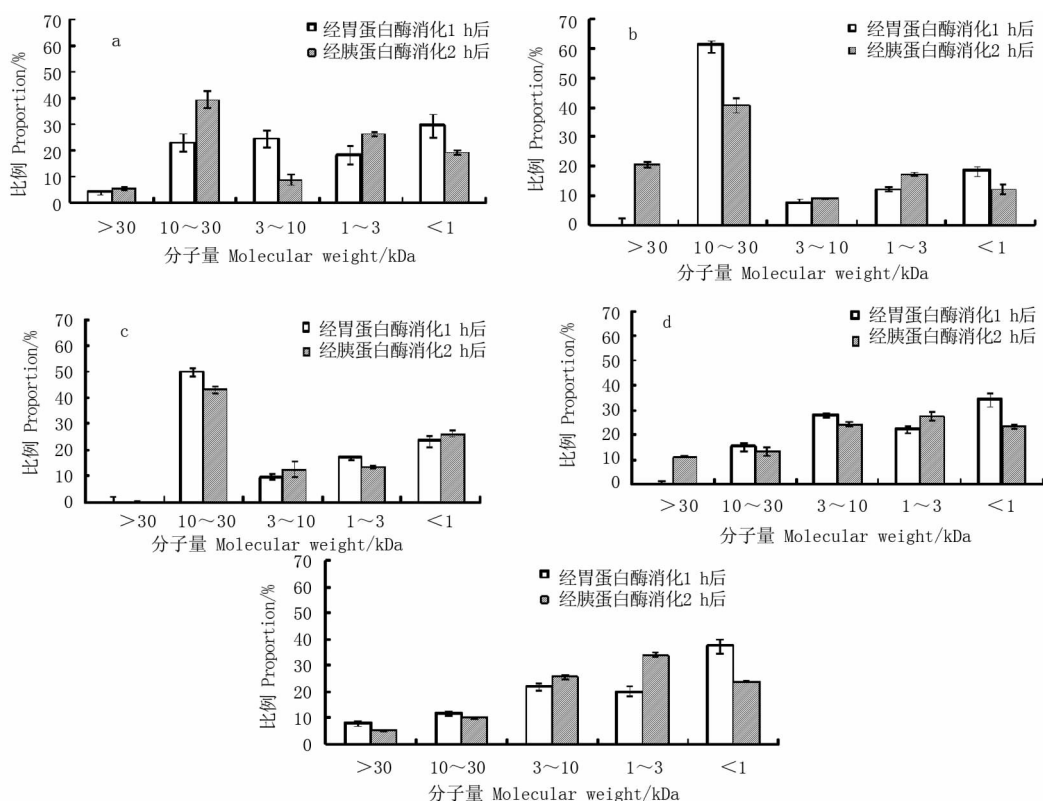
以 M-肽为例,各个肽段消化后的比例变化见图 3。超滤得到的大豆肽经过模拟消化之后大分子量的肽段一部分被消化成小分子量肽段,而随小分子量肽段会随着某些氨基酸集团的解离进一步聚合成大分子量肽段。经过胃蛋白酶消化之后,<30 kDa 各个肽段范围内比例相差不大;各分子量肽段经胰蛋白酶消化后 10~30 kDa 范围分布最多,达 39.58%;10~30 kDa 的分子量模拟体内消化后,分子量依然主要集中于这一部分,经胃蛋白酶消化后,仍余 61.57%,经胰蛋白酶消化后减少为 40.77%,但是却聚合形成了 20.69% 的分子量 >30

kDa 肽段;<1 kDa 的肽段在酶解过程中随着氨基酸的解离,进一步组合成中等分子量的肽段。

2.2 离子强度对酶解聚合物聚合反应的影响

不同的盐离子强度会对蛋白质的溶解度以及蛋白酶的活性产生影响^[14-15]。比较了 2 种 NaCl 添加方式下盐离子强度对酶解聚合物的影响,并用 Folin-酚法测得上清液中肽的浓度的值。

如图 4 所示,酶解前添加 NaCl,随着离子强度的增加,M-肽和胃-肽上清液中肽的浓度呈下降趋势,也就是说离子强度的增加促进肽的聚合;同时发现这 5 种肽中,未添加 NaCl 时,M-肽的聚合现象最严重,说明不同蛋白酶导致酶解聚合也不同。随着 NaCl 离子强度的增加,N-肽浓度有缓慢上升的趋势,当离子强度达到 $0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后,肽浓度保持在 $13 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右;离子强度为 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,Alcalase-肽浓度上升到 $12.79 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,其它离子强度与未添加 NaCl 时没有明显变化;A-肽的浓度在添加不同离子强度时都维持在 $10.5 \sim 11.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。说明离子强度对这 3 种肽的聚合现象没有太大的影响。综上所述,不同蛋白酶酶解物产生的聚合现象不同,离子强度对聚合现象的影响也各不相同,这可能是由于离子强度对蛋白酶的活性影响各异,也



a,b,c,d,e 分别代表 >30kDa, 10~30 kDa, 3~10 kDa, <1 kDa 分子量分布变化。

a,b,c,d and e represent the molecular weight change of >30 kDa, 10~30 kDa, 3~10 kDa, 1~3 kDa and <1kDa, respectively.

图3 M-肽各个分子量肽段模拟体内消化后分子量分布的变化

Fig.3 Molecular weight change of M-peptides digested by pepsin and trypsin

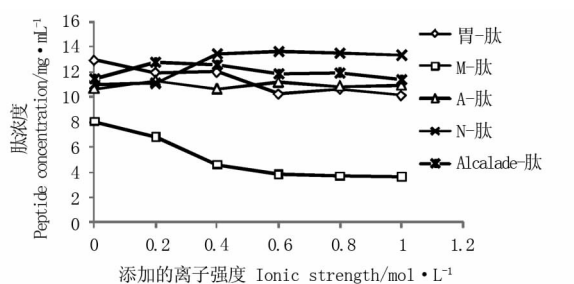


图4 酶解前添加 NaCl 上清液中肽浓度的变化

Fig.4 The peptide concentration change in the supernate of the zymolysing liquid adding NaCl before enmolysing

可能由于离子强度对酶解各个肽段之间的作用力不同所致。为此,进一步分析了大豆分离蛋白经蛋白酶酶解后离子强度对酶解物聚合的影响。

如图5所示,酶解后添加 NaCl,随着离子强度的增加,胃-肽, A-肽和 Alcalase-肽, A-肽和 Alcalase-肽的浓度都呈缓慢上升的趋势,说明离子强度的增加减弱了部分大豆肽的聚合,其中 A-肽聚合现象变化最为明显,添加 NaCl 的离子强度为 $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,肽的浓度从 $10.68 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 上升到 $14.18 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

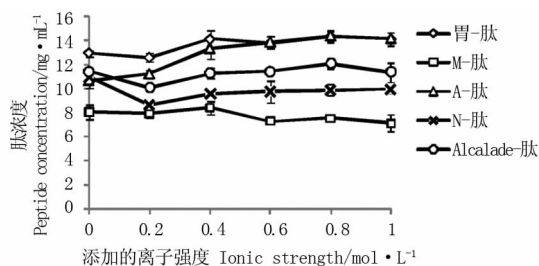


图5 酶解后添加 NaCl 上清液中肽浓度的变化

Fig.5 The peptide concentration change in the supernate of the zymolysing liquid adding NaCl after enmolysing

而 M-肽和 N-肽在添加 NaCl 后,肽的浓度缓慢降低,说明离子强度的增加加剧了部分大豆肽的聚合。

综上所述,在酶解之前和之后添加 NaCl 对各个不同酶解物的聚合现象影响各不相同。其中胃-肽和 A-肽酶解之后添加 NaCl 能明显减弱聚合现象, N-肽酶解之前添加 NaCl 能明显减弱聚合现象,而不管哪种方式添加 NaCl 都会加剧 Alcalase-肽的聚合现象,肽的浓度始终维持在 $11.40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右,离子强度对其影响不大。

3 结论与讨论

该研究结果表明,不同蛋白酶酶解制得的大豆肽经过模拟体内消化后各分子量范围分布相差不大,但是不同的肽段经过模拟体内消化之后,分子量变化存在显著差异。其中再经过模拟体内消化之后 > 30 kDa 的肽段分子量逐渐变小,中等分子量肽段 10~30 kDa 含量维持相对稳定,同时含量较高,大约在 50% 左右。Folin-酚法测定酶解上清液中肽的浓度结果表明,酶解之后添加 NaCl 能明显减弱胃-肽和 A-肽聚合现象,酶解之前添加 NaCl 能明显减弱 N-肽聚合现象,而不管哪种方式添加 NaCl 都会加剧大豆肽的聚合现象,Alcalase-肽的浓度始终维持在 $11.40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右,离子强度对其影响不大。

从模拟体内消化过程中分子量分布的变化可以看出,大豆蛋白在酶解过程中逐渐被分解成各个分子量不等的肽段,其中随着蛋白酶的进一步消化,小分子量肽段比例逐渐增加,蛋白酶在酶解的过程中对某些肽基团和疏水氨基酸序列进行重排,小分子量的寡肽重新聚合组装成大分子的肽段。酶解液中离子的加入,使得溶液中静电荷数量发生改变,正负电荷的中和使得静电荷数量减少,分子间斥力增大,酶解肽的聚合加剧;随着分子量的增大或者减少,溶液中正电荷数量逐渐增加,使得静电荷数量增加,而分子间斥力增大,酶解物的聚合现象得以减弱。该试验仅研究了 NaCl 对酶解物聚合的影响,其它盐离子是否会对酶解物的聚合产生相似的影响尚需进一步的研究。

参考文献

- [1] 罗纪盛,张丽萍,杨建雄,等. 生物化学简明教程[M]. 北京:高等教育出版社,1999. (Luo J S, Zhang L P, Yang J X, et al. Biochemistry brief tutorial[M]. Beijing: Higher Education Press, 1999.)
- [2] 王红梅, 阚娟. 生物活性肽的功能特性[J]. 江苏调味副食品, 2008, 25(2): 37-39. (Wang H M, Kan J. Functional properties of bioactive peptide[J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2008, 25(2): 37-39.)
- [3] 杨闯. 生物活性肽在营养保健中的应用[J]. 食品科学, 2003, 24(11): 153-154 (Yang C. Review on nutrition function of bioactive peptides[J]. Food Science, 2003, 24(11): 153-154.)
- [4] 石岗. 生物活性肽研究进展[J]. 北京农业科学, 2002(3): 9-13. (Shi G. Biological active peptide research progress[J]. Beijing Agricultural Sciences, 2002(3): 9-13.)
- [5] 胡文琴, 王恬, 孟庆利. 抗氧化活性肽的研究进展[J]. 中国油脂, 2004, 29(5): 42-45. (Hu W Q, Wang T, Meng Q L. Research advance of antioxidative bioactive peptides[J]. China Oils and Fats, 2004, 29(5): 42-45.)
- [6] 孔令明, 李芳, 陶永霞, 等. 多肽的功能活性与研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2009(3): 71-74. (Kong L M, Li F, Tao Y X, et al. Functional activities and research progress of polypeptides[J]. China Food Additives, 2009(3): 71-74.)
- [7] 包晓兰. 大豆肽与钙结合形成可溶性复合物的机制及其稳定性的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2007. (Bao X L. The forming mechanism and stability of the soluble complexes during calcium binding by soybean peptides[D]. Beijing: China Agricultural University, 2007.)
- [8] 冯怀蓉, 张慧涛. 多肽简介及应用[J]. 新疆农业科学, 2002, 39(1): 38-39. (Feng H R, Zhang H T. Polypeptide profile and the application[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2002, 39(1): 38-39.)
- [9] 吴建平. 生物活性肽的研究进展[J]. 食品与机械, 1998(1): 6-8. (Wu J P. Progress in research on biological active peptides[J]. Food and Machinery, 1998(1): 6-8.)
- [10] 姜曼, 宋俊梅. 大豆肽研究概况[J]. 中国酿造, 2009(3): 8-11. (Jiang M, Song J M. Research survey of soybean peptides[J]. China Brewing, 2009(3): 8-11.)
- [11] 吕莹. 大豆肽结合钙的机制及其促进机体钙吸收和增强骨质量的生物学效应[D]. 北京: 中国农业大学, 2010. (Lv Y. The mechanism on soybean peptides chelating with cadium and improving calcium bioavailability and bone mass of rats[D]. Beijing: China Agricultural University, 2010.)
- [12] Otte J, Ju Z Y, Fergemand M. Protease induced aggregation and gelation of whey proteins[J]. Journal of Food Science, 1996, 61: 911-923.
- [13] Kuipers B J H, Alting A C, Gruppen H. Comparison of the aggregation behavior of soy and bovine whey protein hydrolysates[J]. Biotechnology Advances, 2007, 25: 606-610.
- [14] Kuipers B J H, Alting A C, Gruppen H. Opposite contributions of glycinin- and β -conglycinin-derived peptides to the aggregation behavior of soy protein isolate hydrolysates[J]. Biotechnology Advances, 2006, 1: 178-188.
- [15] Kuipers B J H, Alting A C, Gruppen H. Identification of strong aggregating regions in soy glycinin upon enzymatic hydrolysis[J]. Biotechnology Advances, 2008, 56: 3828-3827.
- [16] 于泓鹏, 唐传核, 曾庆孝, 等. 大豆分离蛋白水解多肽聚集物的组成及相互作用[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2006, 34(8): 105-109. (Yu H P, Tang C H, Zeng Q X. Composition and interaction of aggregate of peptides derived from soy protein isolates[J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition), 2006, 34(8): 105-109.)