



考马斯亮蓝法测定大豆水溶性蛋白提取方法的优化

徐 亚¹, 范会芬¹, 赵玳玲¹, 苏伟华¹, 冯雅茗¹, 肖付明², 张 洁¹, 王冬梅¹

(1. 河北农业大学 生命科学院/省部共建华北作物改良与调控国家重点实验室/河北省植物生理与分子病理学重点实验室, 河北 保定 071001; 2. 河北省邯郸市农业科学院, 河北 邯郸 056001)

摘 要:为提高考马斯亮蓝法提取大豆水溶性蛋白的效率,本研究以河北省优质高蛋白大豆品种冀豆 12 号为材料,对考马斯亮蓝法测定大豆水溶性蛋白质含量的提取条件进行了优化。在单因素试验的基础上,通过正交试验方法分析料液比、提取温度、提取时间和转速 4 种因素对大豆水溶性蛋白质含量的影响,筛选出适合河北省大豆品种鉴定的精确、高效、可重复性强的方法体系,并采用优化后的提取方法测定河北省 29 份大豆材料的水溶性蛋白含量。结果表明:通过正交试验最终确定的优化提取条件为料液比 1:400、提取温度 30 ℃、提取时间 90 min、转速 220 r·min⁻¹;采用优化体系测定了 2020 年秋季收获的 29 份河北省大豆新材料的水溶性蛋白含量,其中 3 份材料水溶性蛋白含量为 15%~20%,7 份材料水溶性蛋白质含量为 20%~25%,5 份材料蛋白质含量为 25%~30%,14 份材料的水溶性蛋白质含量超过 30%。

关键词:大豆;水溶性蛋白;考马斯亮蓝法;正交试验;提取方法

Optimization of Extraction Method for Water-soluble Protein Determination by Coomassie Brilliant Blue Method

XU Ya¹, FAN Hui-fen¹, ZHAO Ding-ling¹, SU Wei-hua¹, FENG Ya-ming¹, XIAO Fu-ming², ZHANG Jie¹, WANG Dong-mei¹

(1. College of Life Sciences, Hebei Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Improvement and Regulation in North China/Key Laboratory of Plant Physiology and Molecular Pathology of Hebei Province, Baoding 071001, China; 2. Handan Academy of Agricultural Sciences, Handan 056001, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of extracting soybean water-soluble protein by Coomassie brilliant blue method, the protein extraction condition for determining the content was optimized with high-quality, high protein soybean variety Jidou 12 in Hebei Province as material. On the basis of single factor test, the effects of four factors such as material liquid ratio, extraction temperature, extraction time and rotating speed on the determination results of soybean water-soluble protein were analyzed by orthogonal test method, and an accurate, efficient and reproducible method system suitable for soybean variety identification in Hebei Province were selected. The content of water-soluble protein in 29 soybean materials in Hebei Province were determined by the optimized extraction method. The results showed that the optimized extraction conditions were as follows: Solid-liquid ratio 1:400, extraction temperature 30 ℃, extraction time 90 min and rotating speed 220 r·min⁻¹. The water-soluble protein content of 29 new soybean materials harvested in the autumn of 2020 in Hebei Province were determined by using the optimized system. The water-soluble protein content of three materials were 15%~20%, seven materials were 20%~25%, five materials were 25%~30%, and fourteen materials were more than 30%.

Keywords: soybean; water-soluble protein; Coomassie brilliant blue; orthogonal experiment; extraction method

大豆富含蛋白质,在我国常被用来制作豆制品或用于生产大豆蛋白,是人类优质植物蛋白的重要来源^[1]。水溶性蛋白(water soluble protein)是大豆蛋白的重要组成部分,极易被人体吸收,具有良好的功能性质,如凝胶性、乳化性、发泡性等,在大豆的加工利用中有着重要作用^[2]。另外,由于存储时间的长短会影响大豆蛋白质的含量,因而水溶性蛋白含量是评价大豆品质及衡量其价值的重要指

标^[3],同时也是大豆是否适宜储存的重要判定指标^[4-5]。因此,开展大豆水溶性蛋白的快速准确分析方法研究具有重要的现实意义。

目前,蛋白质含量的测定方法主要有凯氏定氮法、杜马斯燃烧定氮法、偶氮胭脂红 G 比色法和考马斯亮蓝法等。凯氏定氮法和杜马斯燃烧定氮法精确度最高,但需要特定的仪器。凯氏定氮法重现性好、准确度高、抗干扰、样品用量少,应用范围广,

收稿日期:2021-08-05

基金项目:河北省现代农业产业技术体系创新团队建设大豆产业创新团队(326-0702-JSNTKSF);河北省自然科学基金(C2020204132);河北省科技厅现代种业科技创新专项子课题(21326313D-1)。

第一作者:徐亚(1997—),女,硕士研究生,主要从事植物细胞工程研究。E-mail:2230846672@qq.com。

通讯作者:张洁(1974—),女,博士,副教授,主要从事植物逆境生理研究。E-mail:zhangjiezhao@163.com;

王冬梅(1963—),女,博士,教授,主要从事植物抗逆分子生物学研究。E-mail:dongmeiwang63@126.com。

可同时测定多个样品,几乎适用所有形态的食品,但耗时长、操作繁琐危险、严重污染环境,不适宜大批量快速测定^[6]。杜马斯燃烧定氮法可以短时间大批量测定,不易造成污染,而且燃烧定氮仪的灵敏度和精度较高,误差小,但价格相对凯氏定氮仪要高出很多,且样品使用量一般不能超过 1 g,不能一直使用且不能较大量分析,同时对样品均匀度有要求,如大豆、玉米这种均匀度不好的固体样品,杜马斯燃烧法就略显劣势。偶氮胭脂红 G 比色法具有较好的选择性,灵敏度高、准确、快速、稳定,消耗小、成本低,但是其比色线性范围较窄^[7]。当大豆水溶性蛋白含量较高的时候,偶氮胭脂红 G 结果的精密度和准确度会下降,不适用于大批次大豆样品的水溶性蛋白分析。考马斯亮蓝法是比色法和染料结合法相结合的方法,干扰物质少,可测定蛋白质浓度范围大,适合大批量测定,且该方法操作简便,稳定时间长,显色剂易于配制,是目前实验室中最常见、灵敏度最高的一种测定蛋白质含量的方法^[8-9]。但是,不同提取条件对考马斯亮蓝法测定水溶性蛋白含量的影响非常大,不同植物材料适宜的提取条件不同,河北省大豆资源丰富,其可溶性蛋白含量的提取方法没有统一的标准,因此本研究对考马斯亮蓝法中影响大豆水溶性蛋白的提取因素进行分析,通过正交试验得到最佳的提取条件,并利用最佳条件测定了 29 个河北优质大豆品种的水溶性蛋白含量。

本研究选用河北省主栽高蛋白大豆品种冀豆 12 号为试验材料,摸索考马斯亮蓝法中料液比、提取温度、提取时间、振荡频率等不同提取条件对大豆可溶性蛋白含量测定的影响。对大豆水溶性蛋白提取和测定方法体系进行评价,为建立适合河北省大豆资源品种鉴定的精确、高效、可重复性强的方法体系奠定基础。同时,利用筛选出来的最适条件测定 2020 年秋季收获的 29 份河北省大豆新材料的水溶性蛋白含量,为后续大豆种植及种质优化提供数据支撑及理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 大豆材料 大豆品种冀豆 12 号由河北省农林科学院粮油作物研究所张孟臣研究员提供;其他

29 份大豆品种由邯郸市农业科学院肖付明研究员提供。

1.1.2 主要试剂 磷酸缓冲液(pH7.0)、磷酸缓冲液(pH8.0)、85%磷酸和 95%乙醇均购自南京化学试剂,考马斯亮蓝 G-250(Solarbio),牛血清白蛋白(BSA;Solarbio)。

1.1.3 主要仪器与设备 锤式旋风磨(北京天翔飞域科技有限公司,XFM0213)、电子天平(北京赛多利斯,Practum 系列)、低速离心机(北利离心,DT5-2B 型)、摇床(上海琪特,STS-2A;旋幅:水平 360°;振幅:24 mm;转速:20~260 r·min⁻¹)、分光光度计(LAMBDA 1050+紫外-可见-近红外分光光度计,PerkinElmer;LAMBDA 1050+)。

1.2 方法

1.2.1 试剂配制 考马斯亮蓝溶液的配制^[10]:称取 100 mg 考马斯亮蓝 G-250,溶于 50 mL 95%乙醇中,然后加入 100 mL 85%磷酸,最后用蒸馏水定容至 1 000 mL。

1 000 μg·mL⁻¹牛血清白蛋白(BSA)标准溶液的配制^[10]:称取 0.1 g 牛血清白蛋白溶于 100 mL 蒸馏水中,分装后于 4 ℃保存。

1.2.2 大豆预处理 将大豆用锤式旋风磨进行细粉碎,使 90%以上通过 60 目筛,混匀备用^[11]。

1.2.3 蛋白质标准曲线制作 1 mL 系列浓度蛋白溶液的配制:取 6 支具塞试管,加入不同体积的 1 000 μg·mL⁻¹的标准 BSA 溶液,混合均匀,具体溶液配置详见表 1。

取 0.1 mL 以上系列浓度 BSA 溶液,加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,摇匀并放置 2 min 左右后,用比色皿测定 595 nm 处的吸光度。

以标准蛋白质含量为横坐标,以 595 nm 处的吸光度为纵坐标,制作标准曲线。

1.2.4 可溶性蛋白含量测定 取 0.1 g 处理好的大豆粉末,置于 250 mL 锥形瓶中,加入 40 mL 蒸馏水,以 3 500 r·min⁻¹离心 5 min,取 100 μL 上清液,加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,摇匀并放置 2 min 左右后,用比色皿测定 595 nm 处的吸光度,测定水溶性蛋白质含量(μg·mL⁻¹),然后计算大豆蛋白提取率,蛋白提取率 = $M1 \times V1 / (106 \times M2 \times V2)$,式中, $M1$ 为查得的蛋白质含量,μg·mL⁻¹; $V1$ 为提取液总体积,mL; $M2$ 为样品质量,g; $V2$ 为测定时取用提取液体积,mL。

表 1 不同浓度蛋白溶液的添加量
Table 1 The addition amount of protein solution with different concentrations

管号 Tube number	蛋白质标准液 Protein standard solution/mL	蒸馏水 Distilled water/mL	考马斯亮蓝溶液 Coomassius bright blue solution/mL	蛋白质含量 Protein content/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	0.0	1.0	5	0
2	0.2	0.8	5	200
3	0.4	0.6	5	400
4	0.6	0.4	5	600
5	0.8	0.2	5	800
6	1.0	0.0	5	1000

1.2.5 单因素试验设计 料液比对水溶性蛋白提取率的影响:称取 0.1 g(精确到 0.001 g)样品于 250 mL 锥形瓶中,加入 10,20,30,40,50 mL 蒸馏水。将锥形瓶置于摇床,在 28 ℃,180 r·min⁻¹下振荡提取 2 h。以 3 500 r·min⁻¹离心 5 min,取 100 μL 上清液,加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,摇匀并放置 2 min左右后,用比色皿测定 595 nm 处的吸光度,计算水溶性蛋白质含量。

提取温度对水溶性蛋白提取率的影响:称取 0.1 g(精确到 0.001 g)样品于 250 mL 锥形瓶中,加入 40 mL 蒸馏水。将锥形瓶置于摇床,分别在 20,25,30,35 ℃,180 r·min⁻¹下振荡提取 2 h。以 3 500 r·min⁻¹离心 5 min,取 100 μL 上清液,加入 5 mL考马斯亮蓝溶液,摇匀并放置 2 min 左右后,用比色皿测定 595 nm 处的吸光度,计算水溶性蛋白质含量。

提取时间对水溶性蛋白提取率的影响:称取 0.1 g(精确到 0.001 g)样品于 250 mL 锥形瓶中,加入 40 mL 蒸馏水。将锥形瓶置于摇床,在 28 ℃,180 r·min⁻¹下振荡提取 60,90,120,150,180 min。

以 3 500 r·min⁻¹离心 5 min,取 100 μL 上清液,加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,摇匀并放置 2 min 左右后,用比色皿测定 595 nm 处的吸光度,计算水溶性蛋白质含量。

转速对水溶性蛋白提取率的影响:称取 0.1 g(精确到 0.001 g)样品于 250 mL 锥形瓶中,加入 40 mL蒸馏水。将锥形瓶置于摇床,在 28 ℃,140,180,220 r·min⁻¹下振荡提取 2 h。以 3 500 r·min⁻¹离心 5 min,取 100 μL 上清液,加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,摇匀并放置 2 min 左右后,用比色皿测定 595 nm 处的吸光度,计算水溶性蛋白质含量。

1.2.6 正交试验设计 为了研究不同提取条件对水溶性蛋白提取率的影响,进而确定其最佳提取条件,在以上单因素试验基础上,以蒸馏水为提取溶剂,选取对水溶性蛋白提取率影响较大的 4 个因素(料液比、温度、时间、转速)进行 L9(3⁴)正交试验,正交试验水平因素详见表 2。然后比较不同提取条件组合的蛋白提取率,最终确定可溶性蛋白的最佳工艺条件。

表 2 正交试验因素水平表
Table 2 The factor and level of orthogonal test

水平 Level	A 料液比 Solid-liquid ratio	B 提取温度 Extraction temperature/℃	C 提取时间 Extraction time/min	D 转速 Rotating speed/(r·min ⁻¹)
1	1:200	25	90	140
2	1:300	30	120	180
3	1:400	35	150	220

1.2.7 验证试验 利用正交试验得到的最佳条件测定 29 个大豆品种的水溶性蛋白含量,分析水溶性蛋白最佳提取条件的准确性。

1.3 数据分析

采用 Excel 2020 对试验数据进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

如图 1 所示,以牛血清白蛋白标准溶液绘制的标准曲线方程为 $y = 0.000\ 7x + 0.004\ 8$,相关系数 $R^2 = 0.999\ 3$ 。

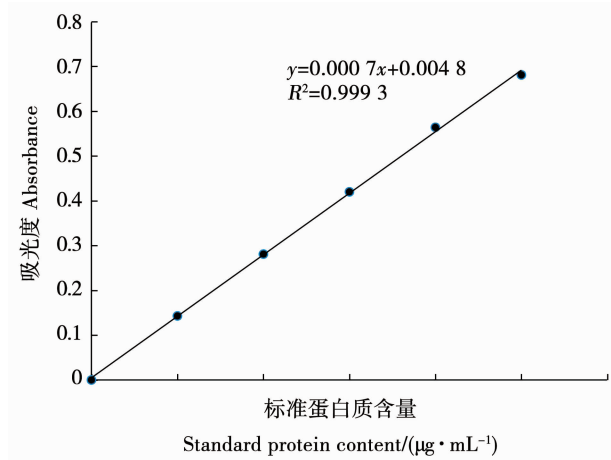


图 1 蛋白质标准曲线

Fig.1 The standard curve of protein

2.2 单因素试验

2.2.1 不同料液比对提取效率的影响 如图 2A 所示,不同料液比样品的蛋白质含量全部呈现出显著性差异($P<0.01$)。料液比为 1:100 时蛋白含量最低,为 14.72%。随着料液比变化,蛋白含量先呈上升趋势,达到 1:300 时,蛋白含量最高,为 19.77%,1:300 后蛋白质含量变化不大。所以选择

1:300 作为最佳料液比。

2.2.2 不同提取温度对提取效率的影响 如图 2B 所示,不同温度样品的蛋白质含量未表现出显著性差异。温度在 25 ~30 ℃ 时,由于温度增长,蛋白质溶解度增加,蛋白质含量呈上升趋势。当温度在 30 ~35 ℃ 时,蛋白含量基本不变。因此选择 30 ℃ 为最佳提取温度。

2.2.3 不同提取时间对提取效率的影响 如图 2C 所示,不同时间样品的蛋白质含量全部呈现出显著性差异($P<0.01$)。提取时间为 90 min 时,大豆水溶性蛋白质含量为 21.80%。150 min 时蛋白质含量最低,为 18.16%,120 min 时最高,为 22.57%。所以选择 120 min 作为最佳提取时间。

2.2.4 不同转速对提取效率的影响 如图 2D 所示,不同转速样品的蛋白质含量全部呈现出显著性差异($P<0.05$)。转速为 220 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,大豆水溶性蛋白含量最高,为 25.04%,在 140 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时最低,为 23.86%,蛋白质含量在 180 ~ 220 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 之间变幅不大,处于平稳状态。因此选择 180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 为最佳转速。

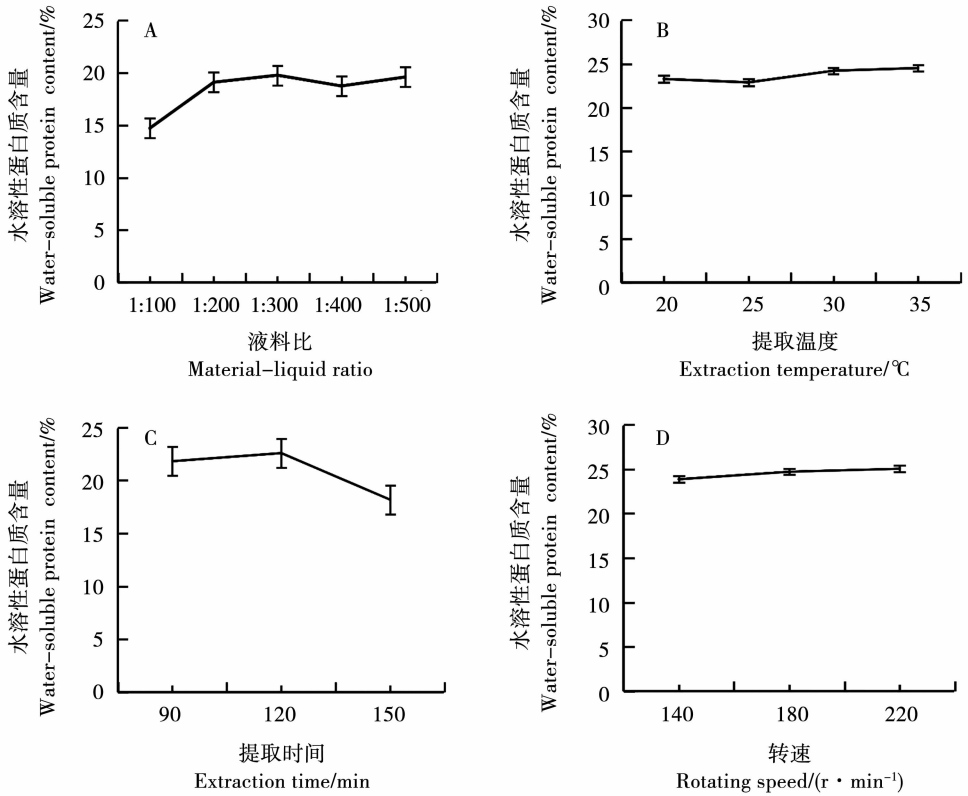


图 2 不同条提取条件对大豆水溶性蛋白提取液中蛋白质含量影响的单因素试验结果

Fig.2 The single factor test results of the influence of different extraction conditions on the content of protein in soybean water-souble protein extraction

2.3 正交试验

根据单因素试验结果,以大豆水溶性蛋白含量为评价标准,选择提取温度、提取时间、料液比进行四因素三水平 L9(3⁴) 正交试验,大豆水溶性蛋白含量的测定结果如表 3 所示。可以看出,4 个因素对大豆水溶性蛋白含量的影响大小排序为

B(提取温度) > D(转速) > A(料液比) > C(提取时间)。综合各因素作用,最终确定提取大豆水溶性蛋白最优条件组合为 A₃B₂C₁D₃, 即料液比 1:400、提取温度 30 ℃、提取时间 90 min、转速 220 r·min⁻¹。

表 3 正交试验设计及结果
Table 3 The design and results of orthogonal experiment

试验号 Test number	因素 Factor				水溶性蛋白含量 Soluble protein content/%
	A	B	C	D	
	料液比 Solid-liquid ratio	提取温度 Extraction temperature/℃	提取时间 Extraction time/min	转速 Rotating speed/(r·min ⁻¹)	
1	1:200	25	90	140	20.91
2	1:200	30	120	180	24.49
3	1:200	35	150	220	22.24
4	1:300	25	120	220	23.69
5	1:300	30	150	140	20.29
6	1:300	35	90	180	36.29
7	1:400	25	150	180	25.72
8	1:400	30	90	220	45.76
9	1:400	35	120	140	25.59
k1	67.64	70.32	102.96	66.79	
k2	80.27	90.54	73.77	86.50	
k3	97.07	84.12	68.25	91.69	
R	29.43	20.22	34.71	24.90	

2.4 验证试验

利用正交试验确定的最佳试验条件对 29 个大豆新材料进行了水溶性蛋白含量的测定,结果如表 4 所示,其中 3 个材料水溶性蛋白含量为 15% ~ 20%,

7 个材料水溶性蛋白质含量为 20% ~ 25%,5 个材料蛋白质含量为 25% ~ 30%,14 个材料的水溶性蛋白含量超过 30%。

表 4 29 个大豆材料水溶性蛋白含量结果分布
Table 4 The distribution of water soluble protein content of 29 soybean materials

水溶性蛋白含量 Soluble protein content/%	材料 Material	数量 Number
15 ~ 20	邯-16、邯-4、邯-9	3
20 ~ 25	邯-14、邯-2、邯-11、邯-23、邯-17、邯-25、邯-1	7
25 ~ 30	邯-7、邯-20、邯-5、邯-21、邯-12	5
30 ~ 35	冀-1、冀-2、冀-3、冀-4、邯-13、邯-19、邯-3、邯-22、邯-6、邯-24、邯-18、邯-10、邯-8、邯-15	14

3 讨论

大豆水溶性蛋白质含量高低主要与选用的大豆材料有关,但与提取方法、提取温度、转速等也有一定的关联。快速准确的检测体系可以大规模使用,降低生产成本,提高经济效益。如郭雪松等^[12]

使用乙醇提取法,采用单因素试验优化了醇法提取大豆蛋白的工艺。李淑芬等^[13]使用碱提酸沉法,优化大豆蛋白提取条件,探索了固料比、碱溶 pH、酸沉 pH、碱溶温度和碱溶时间等提取条件对大豆水溶性蛋白质含量的影响。这些方法存在步骤繁琐,消耗大量试剂,易产生污染等缺点。而刘海顺等^[14]、赵

东霞等^[15]使用水提法提取大豆水溶性蛋白,对大豆水溶性蛋白提取工艺进行优化,水提法操作简便,经济实惠,且较其他方法稳定性好,能较好地保持蛋白的结构和生理活性。本研究在用不同溶剂提取时,水提法提取的蛋白质含量最高,因此后续试验均使用水提法进行提取。

不同提取条件也可对大豆蛋白质含量产生影响,如温度、转速、时间、料液比、提取次数等。郝怡宁等^[16]研究了提取温度、提取时间、提取次数等提取条件对大豆蛋白质含量的影响,所得最佳条件为:料液比为 1:400 时,在 30 ℃ 温度条件下,振荡提取 120 min。赵东霞等^[15]摸索了提取温度、提取液体积、振荡频率等条件,发现加入 200 mL 提取溶剂,在 35 ℃ 恒温水浴下,以振荡频率为 180 r·min⁻¹ 振荡 2 h 为最佳提取条件。本研究优化了提取温度、提取时间、料液比、转速等操作简单、易于控制的条件,使试验流程更加简便快速,得到的最佳条件为:大豆水溶性蛋白在料液比 1:400 时,30 ℃ 温度条件下,以 220 r·min⁻¹ 转速振荡混匀 90 min。该条件提取温度、提取时间、转速与其他研究结果相近,操作方法简便,具有提取效果最佳、经济实惠等优点。

大豆水溶性蛋白质的含量与所选用的测量方法关系较为密切。王燕^[17]使用凯氏定氮法测定大豆水溶性蛋白含量,对大豆水溶性蛋白含量测定的不确定度进行评定。王铁良等^[18]探讨了杜马斯燃烧定氮仪测定大豆水溶性蛋白的最佳试验条件。本研究选用的考马斯亮蓝法是目前实验室中最常见、灵敏度最高的一种测定蛋白质含量的方法,与凯氏定氮法、杜马斯燃烧法相比,该方法具有操作简便、稳定时间长、干扰物质少、可测定蛋白质浓度范围大等优点,被越来越多不同的学科的研究人员所接受。张永芳等^[19]用考马斯亮蓝法测量大豆水溶性蛋白质含量;柳荫等^[20]用考马斯亮蓝法测定核桃中水溶性蛋白质的含量。

4 结论

本研究以冀豆 12 号为试验材料,对考马斯亮蓝法测定大豆水溶性蛋白质含量的提取条件进行了优化。在单因素试验的基础上,通过正交试验分析料液比、提取温度、提取时间、转速 4 种因素对提取液大豆水溶性蛋白质含量的影响,筛选出适合河北省大豆品种鉴定的精确、高效、可重复性强的方法体系,得到的最佳条件为:料液比 1:400,30 ℃ 温度条件下,以 220 r·min⁻¹ 转速振荡混匀 90 min。利用该体系测定河北省 29 个大豆新材料的水溶性蛋白质含量,其中有 14 个材料的水溶性蛋白质含量超过了 30%。

参考文献

[1] ZHAO X Y, ZHANG X W, LIU H K, et al. Functional, nutritional and flavor characteristic of soybean proteins obtained through reverse micelles [J]. Food Hydrocoll, 2018, 74: 358-366.

[2] 刘蕾,许伟良,刘仁洪,等. 大豆籽实不同采收日期水溶性蛋白质含量的变化研究[J]. 大豆通报,2001(3): 23. (LIU L, XU W L, LIU R H, et al. Study on the change of water-soluble protein content in soybean seeds at different harvest dates [J]. Bulletin of Soybean, 2001(3): 23.)

[3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 大豆储存品质判定规则: GB/T 31785 - 2015 [S]. 北京:全国粮油标准化技术委员会,2015. (General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, China National Standardization Administration Committee. Determination rules of soybean storage quality: GB/T 31785 - 2015 [S]. Beijing: National Grain and oil Standardization Technical Committee, 2015.)

[4] 董良杰,刘汉泽,靳济洲,等. 生物技术开拓大豆精深加工利用的新途径[J]. 中国食品,2020(14): 115-116. (DONG L J, LIU H D, JIN J Z, et al. Biotechnology opens up a new way of soybean deep processing and utilization [J]. Chinese Journal of Food Science and Technology, 2020(14): 115-116.)

[5] 龙伶俐,薛雅琳,郁伟,等. 大豆储藏品质判定指标的研究[J]. 中国粮油学报,2012,27(7): 82-85. (LONG L L, XUE Y L, YU W, et al. Study on the evaluation index of soybean storage quality [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012, 27(7): 82-85.)

[6] 林秀. 凯氏定氮仪测定大豆水溶性蛋白含量的影响因素[J]. 福建分析测试,2020,29(3): 41-44. (LIN X. Factors affecting the determination of soybean water-soluble protein content with Kjeldahl apparatus [J]. Fujian Analysis and Test, 2020, 29(3): 41-44.)

[7] 许立松,王颖臻,曹秋娥,等. 偶氮胭脂红 G 结合共振光散射法测定人血清样品中的总蛋白[J]. 云南化工,2009,36(3): 79-82. (XU L S, WANG Y Z, CAO Q E, et al. Determination of total protein in human serum samples by azo carmine G combined with resonance light scattering method [J]. Yunnan Chemical Industry, 2009, 36(3): 79-82.)

[8] 牟永莹,王道平,陈明,等. 大豆种子蛋白质组样品制备与数据分析方法[J]. 生物技术通报,2020,36(12): 247-255. (MOU Y Y, WANG D P, CHEN M, et al. Preparation and data analysis of soybean seed proteome samples [M]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(12): 247-255.)

[9] 杨玉芳. 蛋白质含量测定方法[J]. 明胶科学与技术,2007(2): 98-101. (YANG Y F. Determination method of protein content [J]. Gelatin Science and Technology, 2007(2): 98-101.)

[10] 陈复生,程小丽,李里特. 不同萃取方法对大豆分离蛋白功能特性的影响研究[J]. 中国食品添加剂,2009(6): 131-135. (CHEN F S, CHENG X L, LI L T. Effects of different extraction methods on functional characteristics of soybean protein isolate [J]. China Food Additives, 2009(6): 131-135.)

[11] 梁剑锋,周晓薇,李红,等. 醇法提取大豆浓缩蛋白工艺条件研

究[J]. 粮油加工,2007(10): 87-89. (LIANG J F, ZHOU X W, LI H, et al. Study on extraction conditions of soybean protein concentrate by alcohol method [J]. Cereals and Oils Processing, 2007(10): 87-89.)

[12] 郭雪松,黄晓杰,王烁,等. 醇法大豆浓缩蛋白提取工艺的优化[J]. 食品工业科技,2007(5): 181-182,217. (GUO X S, HUANG X J, WANG S, et al. Optimization of extraction process of soybean protein concentrate by alcohol method [J]. Science and Technology of Food Industry,2007(5): 181-182,217.)

[13] 李淑芬,胡敏. 碱溶酸沉法提取大豆蛋白条件的优化[J]. 大豆科学,2014,33(2): 274-276,280. (LI S F, HU M. Optimization of extraction conditions of soybean protein by alkaline solution and acid precipitation [J]. Soybean Science,2014,33(2): 274-276,280.)

[14] 刘海顺,张志航,胡瑞丰,等. 大豆水溶性蛋白测定方法探讨[J]. 粮食储藏,2011,40(3): 48-49,52. (LIU H S, ZHANG Z H, HU R F, et al. Study on the determination method of water-soluble protein in soybean [J]. Grain Storage,2011,40(3): 48-49,52.)

[15] 赵东霞,纪立波,白丽莉,等. 大豆水溶性蛋白质提取条件优化[J]. 化学分析计量,2018,27(1): 68-71. (ZHAO D X, JI L B, BAI L L, et al. Optimization of extraction conditions of soybean water-soluble protein [J]. Chemical Analysis and Metrics,2018,27(1): 68-71.)

[16] 郝怡宁,初晨露,陈尚兵,等. 大豆水溶性蛋白提取工艺优化[J]. 中国油脂,2019,44(5): 73-75. (HAO Y N, CHU C L, CHEN S B, et al. Optimization of extraction process of water-soluble protein from soybean [J]. China Oils and Fats,2019,44(5): 73-75.)

[17] 王燕. 大豆水溶性蛋白含量测定的不确定度评定[J]. 粮食储藏,2011,40(5): 35-38. (WANG Y. Evaluation of uncertainty for determination of soluble protein content in soybean [J]. Grain Storage,2011,40(5): 35-38.)

[18] 王铁良,魏亮亮,刘冰杰,等. 杜马斯燃烧法测定大豆水溶性蛋白含量的方法研究[J]. 中国油脂,2019,44(1): 127-131. (WANG T L, WEI L L, LIU B J, et al. Determination of soluble protein content in soybean by dumas combustion method [J]. China Oils and Fat,2019,44(1): 127-131.)

[19] 张永芳,原媛. 微波萃取-考马斯亮蓝法提取大豆蛋白的工艺研究[J]. 食品工业,2018,39(9): 44-48. (ZHANG Y F, YUAN Y. Study on the extraction process of soybean protein by microwave extraction-coomasi bright blue method [J]. Food Industry,2018,39(9): 44-48.)

[20] 柳荫,吴凤智,陈龙,等. 考马斯亮蓝法测定核桃水溶性蛋白含量的研究[J]. 中国酿造,2013,32(12): 131-133. (LIU Y, WU F Z, CHEN L, et al. Study on determination of water-soluble protein content in walnut by coomassie bright blue method [J]. China Brewing,2013,32(12): 131-133.)

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

2022 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主管主办的综合性科技期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 25.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 25.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅。

地址:哈尔滨市松北区创新三路 800 号国际农业科技创新中心 1320 室
邮编:150028
电话:0451-51522869
投稿邮箱:http://hljnykx.haasep.cn

