

大豆乳清蛋白发泡特性及辅助抑制肿瘤作用研究

冯晓^{1,2}, 任南琪³, 于喜波⁴, 陈兆波³

(1. 东北农业大学, 哈尔滨 150030; 2. 国家大豆工程技术研究中心, 哈尔滨 150030;

3. 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090; 4. 中国市政工程东北设计研究院, 长春 130021)

摘要:为考察大豆乳清蛋白发泡特性及辅助抑制肿瘤作用, 采用截留分子量(MWCO)为 10 000 u 再生纤维膜(RXC)进行试验, 考察大豆乳清蛋白发泡特性及其最佳控制条件, 同时进行辅助抑制肿瘤作用试验, 考察经口给予小鼠不同剂量的大豆乳清蛋白 30 d(接种 S-180 腹水型肿瘤细胞), 对小鼠体重、脏器/体重和移植 S-180 瘤株肿瘤生长的影响。结果表明, 浓度、温度、pH、时间和阳离子强度均对大豆乳清蛋白起泡性有显著影响。大豆乳清蛋白起泡性效果最佳条件是: 浓度 1.0%, 温度 60 °C, pH 5, 钙离子强度 0.1 M。经口给予小鼠不同剂量的大豆乳清蛋白 30 d, 对小鼠体重增长和脏器体重比值无影响, 对小鼠 S180 肿瘤的生长有抑制作用, 说明大豆乳清蛋白具有辅助抑制肿瘤的作用。显微镜观察结果表明 1.6 g·L⁻¹ 和 2.0 g·L⁻¹ 浓度的大豆乳清蛋白处理人肝癌细胞 HepG2 48 h 后, 细胞核或细胞质呈浓染的块状或颗粒状荧光, 聚集于核周边或裂解成碎片, 表明大豆乳清蛋白能诱发肿瘤细胞发生细胞凋亡。

关键词:大豆乳清蛋白; 起泡性; 辅助抑制肿瘤; 优化条件

中图分类号: X792

文献标识码: A

文章编号: 1005-9369(2009)07-0094-07

Study on the influence of foaming characteristics of whey soy protein and its adjuvant action on inhibiting and preventing the growth of tumor/

FENG Xiao^{1,2}, REN Nanqi³, YU Xibo⁴, CHEN Zhaobo³(1. Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. National Soybean Research Center of Engineering Technology, Harbin 150030, China; 3. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 4. China Northeast Municipal Engineering Design and Research Institute, Changchun 130021, China)

Abstract: In order to inspect whey soy protein foaming characteristics and its adjuvant action on inhibiting and preventing the growth of tumor, the molecular weight cut-off (MWCO) for 10 000 u of regenerated fiber membrane (RXC) was used to inspect whey soy protein foaming characteristics and its best foam control conditions, at the same time, the experiment of adjuvant inhibiting and preventing the growth of tumor was carried out. The experiment was carried out by giving different doses of whey soy proteins to mice through their mouths for 30 d, (inoculated S-180 ascites tumor cells), in order to inspect the effects of weight, the ratio of organ and weight, and the growth of transplant S-180 ascites type tumor cell on mice. The results showed that: the concentration, temperature, pH, time and cationic intensity had a significant influence on soybean whey proteins foaming. The optimum condition of whey soy proteins foaming condition should be 1.0% concentration, 60 °C temperature, pH 5 and 0.1 mol·L⁻¹. calcium ionic strength. Feeding mice through their mouths in different doses for 30 d, which showed that there was no

收稿日期: 2009-01-06

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(2001BA501A02)

作者简介: 冯晓(1957-), 男, 黑龙江人, 副研究员, 硕士, 主要从事食品加工及生产工艺方向研究。

obvious influence on the growth of weight and the ratio of organ and weight of giving whey soy proteins of mice, but there was the inhibition role of soy whey proteins on the S-180 ascites type tumor cell, which indicated that whey soy proteins could inhibit the growth of tumor. Microscopy results showed that using the concentration of $1.6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ whey soy proteins to deal with human hepatocellular carcinoma cell HepG2 48 h later, the nucleus or cytoplasm presented chromatoid massive or granular fluorescence that aggregated around cell nuclear or became pieces. It indicated that whey soy proteins could induce the apoptosis of tumor cell.

Key words: whey soy proteins; foamability; inhibiting and preventing the growth of tumor; optimal conditions

我国是大豆的原产地和种植发展中心^[1],于20世纪80年代初开始生产大豆分离蛋白,并随食品工业的发展而迅速发展起来。大豆分离蛋白是一种完全蛋白,其良好的营养性能和卓越的功能特性使得国内外对它的市场需求量日益增加,2005年,国内市场上大豆分离蛋白的年产量约15万t,年需求量超过45万t,如此大的市场缺口必将引发大豆蛋白行业新一轮发展;在国际市场上,大豆蛋白的市场需求每年以10%~15%的速度递增,增长势头十分强劲^[2]。

大豆蛋白加工行业快速发展的同时,其生产过程排放的高浓度有机废水水量也在增加。据报道,工业上生产1吨大豆分离蛋白大约要产生30t的乳清废水,以蛋白产量 $3 \text{ t}\cdot\text{d}^{-1}$ 的中型企业计算,每日废水排放量在100t左右。2005年,国内大豆分离蛋白企业实际产量为15万t,每天产生乳清废水1.5万t,年产生450万t以上^[3]。乳清废水COD浓度一般在 $15\,000\sim 22\,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,废水中可生物降解的有机物浓度(生物耗氧量, BOD_5)在 $8\,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上^[4]。另一方面,大豆乳清废水含有大量的乳清蛋白质、低聚糖和大豆皂苷等天然有机物,是一种宝贵的生物物质资源。目前,国内绝大多数企业都将乳清废水直接排放,既浪费了宝贵的资源,又严重污染自然环境,这已成为多年困扰企业生产的难题,有效治理工业水污染,同时实现废物资源化,已成为工业废水治理领域的热门研究课题。

国内外对膜分离大豆乳清中的低聚糖相关研究报告较多^[5-10],而对大豆乳清蛋白功能特性的研究较少。大豆乳清蛋白包括2S和7S组分,它的主要成分是Kunitz胰蛋白酶抑制剂(KTI)和血清凝集素(L)^[11-15]。大豆乳清蛋白具有很好的酸溶解性

和优越的乳化性和起泡性^[16-18],长期食用还具有抗肿瘤效果及增强免疫作用^[19-22],因此在食品加工中有广泛的应用前景^[23-24]。

为了更好的开发和利用大豆蛋白中的乳清蛋白,本文主要考察了大豆乳清蛋白发泡特性及其最佳控制条件,同时进行辅助抑制肿瘤作用试验,考察经口给予小鼠不同剂量的大豆乳清蛋白30d(接种S-180腹水型肿瘤细胞),对小鼠体重、脏器/体重和移植S-180瘤株肿瘤生长的影响,为大豆乳清蛋白应用(如在饮料中的应用)奠定了良好的基础。

1 材料与方法

1.1 试验装置

试验装置由进水箱、保安过滤器、超滤装置、浓缩液水箱、出水箱、真空浓缩和喷雾干燥装置、流量计、压力表及阀门组成(见图1)。大豆乳清蛋白为经过超滤提取获得,内容物为棕色粉末,感官检查未见异常。

大豆乳清水来源于分离蛋白生产的离心分离阶段,其中含有大量的大颗粒杂质,极易腐败变质并造成膜污染,直接影响到超滤的效果,因此在超滤前必须经过预处理。

本研究采用保安过滤器进行粗滤,然后进入超滤(UF)单元。试验用超滤出水进行在线反冲洗,反冲洗频率为 $4 \text{ 次}\cdot\text{h}^{-1}$,反冲洗时间为30s。保安过滤器采用1支40英寸长缠绕型聚丙烯滤芯,过滤精度 $5 \mu\text{m}$,前后压差为20kPa。超滤膜组件采用Millipore公司的截留分子量(MWCO)为10000u的再生纤维膜(PXC);外形尺寸 $\Phi 50 \text{ mm}\times 480 \text{ mm}$,膜面积为 2 m^2 。试验中控制压力20psi。

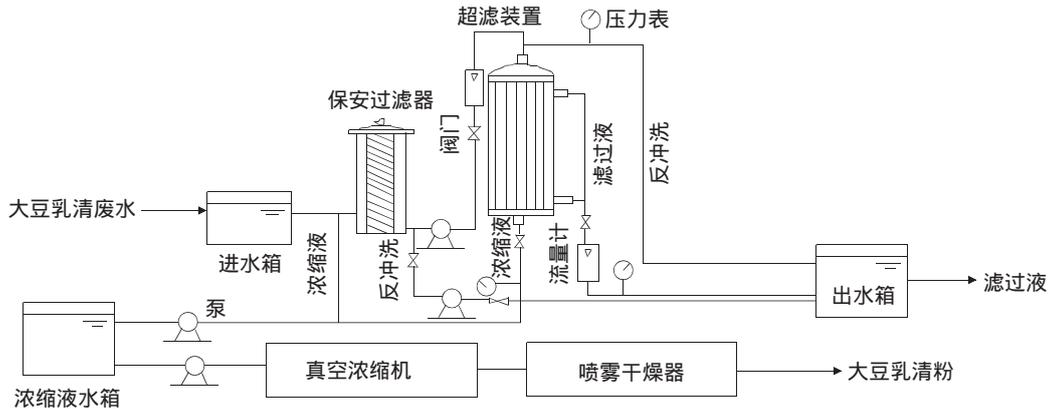


图1 膜分离大豆乳清蛋白工艺流程

Fig. 1 Scheme of the ultrafiltration membrane technology for soy whey waste water treatment

1.2 分析项目与方法

1.2.1 大豆乳清蛋白原料分析方法

水分采用食品中水分的测定方法(GB/T5009.3-2003);蛋白质采用食品中蛋白质的测定方法(GB/T5009.5-2003);灰分采用食品中灰分的测定方法(GB/T5009.4-2003);总糖采用食品中总糖的测定方法(GB/T5009.8-2003);氨基酸(GB/T 18246-2000)。

1.2.2 大豆乳清蛋白发泡性的测定方法

称取大豆乳清蛋白、大豆分离蛋白 0.5 g, 溶于 50 mL 0.05 mol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5)中, 配制成一定浓度(1%)的溶液。量取 2 mL 样液, 置于 10 mL 量筒中, 上下震荡 1 min, 记录 0 min 时的初始泡沫体积 H₀, 静置 10 min 后, 测量终止泡沫体积, 记为 H₁₀。以 H₀ 作为评价发泡能力大小的指标, 以 H₁₀/H₀ 作为评价泡沫稳定性大小的指标。

1.2.3 大豆乳清蛋白辅助抑制肿瘤作用研究方法

1.2.3.1 大豆乳清蛋白抑制肿瘤体外试验

① 细胞: 人肝癌细胞 HepG2 来源于中科院上海生命科学研究院细胞库。

② 样品剂量分组

贮备液配制(16 g·L⁻¹): 准确称取 0.16 g 大豆乳清蛋白, 加入去离子水 10 mL, 混匀后 4 °C 放于冰箱中充分溶解。取溶解液用滤纸过滤, 在超净台中过滤除菌。此时贮备液浓度为 16 g·L⁻¹。

应用液配制: 取 1 mL 贮备液, 加入 7 mL 5% 血清 1640 完全培养液, 相当于 2 g·L⁻¹, 充分混匀, 备用。取 1 mL 贮备液, 加入 9 mL 5% 血清 1640 完全培养液, 相当于 1.6 g·L⁻¹, 充分混匀, 备用。

③ 荧光染料

Hoechst33258 贮备液配制(200 μg·mL⁻¹): 准确称取 1 mg Hoechst33258 染料, 加入 5 mL 去离子水, 充分溶解, 置于 4 °C 冰箱中备用。

工作液配制(20 μg·mL⁻¹): 用培养液做 10 倍稀释。

④ 实验方法

细胞接种: 取生长良好的人肝癌细胞 HepG2 于 10% 血清 1640 完全培养液中培养(100 mL 培养瓶), 待细胞生长至接近 70%~80% 后换成含大豆乳清蛋白 1.6 和 2 g·L⁻¹ 的 5% 血清 1640 培养液中, 培养 48 h。

Hoechst33258 荧光染色检测 HepG2 细胞凋亡: 大豆乳清蛋白作用人 HepG2 细胞 48 h 后, 收集培养液中的细胞同时用 EDTA 消化贴壁细胞。PBS 洗 3 遍后的细胞团用 Hoechst33258 工作液稀释成细胞混悬液, 轻轻吹打, 放于 37 °C 孵箱中孵育 30 min~1 h。取 1 滴染色后细胞混悬液滴于载玻片上, 盖上盖玻片, 于蓝色荧光显微镜下观察, 拍照。

1.2.3.2 大豆乳清蛋白抑制肿瘤动物实验

① 实验动物: 选用黑龙江省肿瘤研究所实验动物中心繁殖的昆明种健康雌性小鼠 60 只, 体重 18~24 g, 随机分成 5 组, 每组 12 只, 进行动物移植性肿瘤实验(S-180 细胞株试验)。

② 肿瘤模型: 肉瘤 180(S180)细胞株由黑龙江省肿瘤研究所提供。

③ 剂量分组: 大豆乳清蛋白设 3 个剂量组, 分别为 0.1 g·kg⁻¹ 体重(低剂量)、0.5 g·kg⁻¹ 体重(中剂量)和 3.0 g·kg⁻¹ 体重(高剂量)。同时设阴性对照组(灌胃清洁水)和阳性对照组(灌胃清洁水,

并且在接种瘤细胞悬液的当日和次日分别腹腔注射环磷酰胺)。各组动物则按体重的 2% 灌胃容积进行灌胃。

④ 仪器和试剂：动物天平、洁净工作台、二氧化碳培养箱、离心机、酶标仪、显微镜等。无菌解剖器械、注射器及针头、细胞计数器、纱布、载玻片、玻璃平皿、试管。75% 酒精、生理盐水、冰块、小牛血清、1% 冰醋酸、印度墨汁、环磷酰胺、甲醇、Giemsa 染液等。

⑤ 实验方法：在超净工作台及无菌室内操作。动物处死后，用 75% 酒精消毒。在盛有瘤源的器皿周围放置冰块降温。给予受试物第 20 天的动物接种肿瘤细胞。选择腹腔接种 S180 肿瘤 10 d 后健康较好的昆明种小鼠，颈椎脱臼，固定于蜡板上，腹部皮肤消毒后，剪开并剥去腹部皮肤，用空针穿过腹部肌肉，抽吸腹水，放入无菌容器内，置于冰块上保存。另取小量腹水，置于加有肝素的干试管内，作为观察细胞形态及细胞计数用。腹水用无菌生理盐水稀释（细胞计数为 2×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ ，活细胞率为 97%），接种部位为右下肢皮下，每鼠皮下注入 0.2 mL。接种后继续给受试物 10 d。阳性对照组动物在接种瘤细胞悬液

的当日和次日分别腹腔注射环磷酰胺，剂量为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。停止给予受试物的次日，处死动物，先称体重，后解剖皮下瘤块，去血污，称重。

2 结果与分析

2.1 大豆乳清蛋白发泡特性

对大豆乳清蛋白样品进行了检测。检测结果表明，蛋白含量为 54.84%，水分为 11.92%，灰分为 21.34%，蔗糖为 5.22%，葡萄糖为 7.64%。大豆乳清蛋白的氨基酸含量和比例比较均衡，没有局部缺失和过量不足。氨基酸总量 47.05%，其中天门冬氨酸含量为 5.92%，丙氨酸 3.32%，缬氨酸 2.48%，谷氨酸 7.99%，苏氨酸 1.94%，丝氨酸 2.35%，甘氨酸 2.18%，胱氨酸 0.85%，蛋氨酸 0.65%，异亮氨酸 2.49%，亮氨酸 3.62%，酪氨酸 0.70%，苯丙氨酸 0.64%，赖氨酸 0.03%，组氨酸 1.06%，精氨酸 3.15%，脯氨酸 2.68%，氨峰 0.74%。在利用大豆乳清蛋白时应考虑其氨基酸含量的互补问题。

考察 pH、温度、阳离子强度、时间、含量等因素对大豆乳清蛋白发泡性的影响结果见图 2。

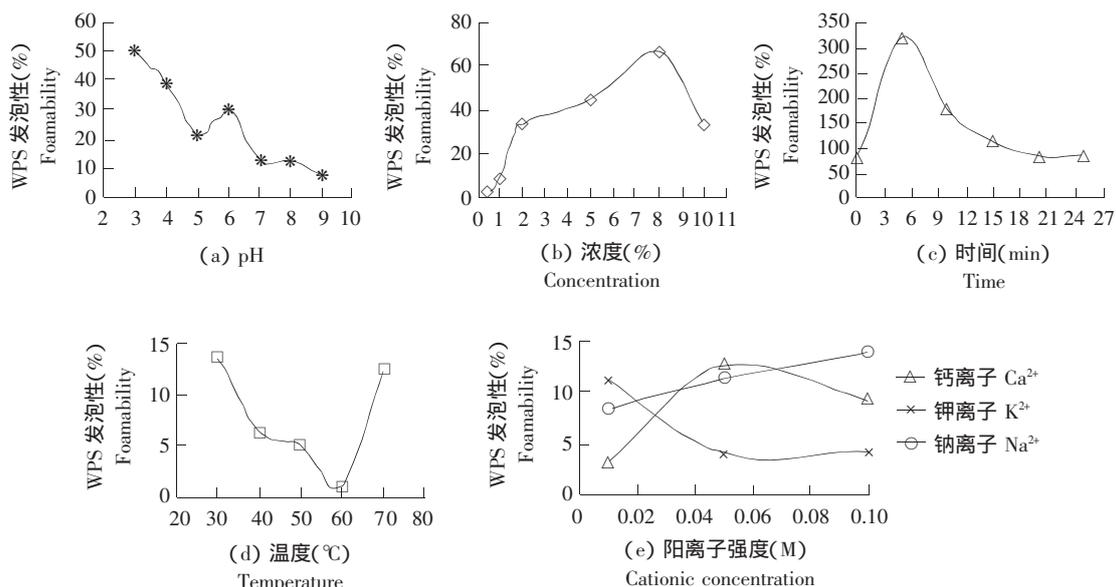


图 2 不同 pH、温度、阳离子强度、时间、含量对大豆乳清蛋白发泡性的影响

Fig. 2 Influence of different pH, temperature, cationic concentration time and concentration on foamability

由图 2 可看出，pH、温度、时间、浓度、阳离子强度对大豆乳清蛋白的起泡性均有影响。起泡性在 pH 3 时较好，4~8 间基本保持恒定；在温度 30~60 °C 时效果好；时间的影响不显著；大豆乳清

蛋白浓度的升高可提高起泡性，当浓度达到 8% 以上，则起泡性不佳；在离子中钙离子对大豆乳清蛋白的起泡性影响最显著。

通过单因素实验确定各影响因素水平范围为：

pH 4~8, 温度 30~60 ℃, 浓度 0.5~8%, 钙离子浓度为 0.01~0.20。采用正交试验确定大豆乳清蛋白起泡性最佳条件。因素及水平的选择见表 1, 试验结果见表 2。

表 1 影响大豆乳清蛋白起泡性因素和水平选择

Table 1 Selection of factors and levels of whey soy proteins foamability

水平 Level	pH	温度(℃) Temperature	浓度(%) Concentration	Ca ²⁺
1	5	30	0.5	0.01
2	6	40	1.0	0.05
3	7	50	2.0	0.10
4	8	60	5.0	0.20

表 2 大豆乳清蛋白发泡性最佳条件选择正交试验结果

Table 2 Orthogonal test of foamability of whey soy proteins under different conditions

序号 No.	A pH	B 温度(℃) Temperature	C 浓度(%) Concentration	D 钙离子浓度 Ca ²⁺ Ca ²⁺ Concentration	发泡性 Foamability
1	5.0	30.000	0.5	0.01	1.4
2	5.0	40.000	1.0	0.05	1.4
3	5.0	50.000	2.0	0.10	0.8
4	5.0	60.000	5.0	0.20	1.6
5	6.0	30.000	1.0	0.10	1.2
6	6.0	40.000	0.5	0.20	1.0
7	6.0	50.000	5.0	0.01	1.2
8	6.0	60.000	2.0	0.05	1.2
9	7.0	30.000	2.0	0.20	1.0
10	7.0	40.000	5.0	0.10	0.8
11	7.0	50.000	0.5	0.05	1.0
12	7.0	60.000	1.0	0.01	0.8
13	8.0	30.000	5.0	0.05	0.8
14	8.0	40.000	2.0	0.01	0.9
15	8.0	50.000	1.0	0.20	1.2
16	8.0	60.000	0.5	0.10	1.2
K1	5.2	4.400	4.6	4.30	
K2	4.6	4.100	4.6	4.40	
K3	3.6	4.200	3.9	4.80	
K4	4.1	4.800	4.4	4.80	
R1	1.3	1.100	1.2	1.10	
R2	1.2	1.000	1.2	1.10	
R3	0.9	1.100	1.0	1.00	
R4	1.0	1.200	1.1	1.20	
R	0.4	0.175	0.175	0.20	
最优水平 Optimization level	A1	B4	C2	D3	

影响次序 Effect sequence

温度>浓度>pH>钙离子浓度

注: Ki 表示任一列上水平号为 i 时所对应的试验结果之和。R 为极差 在任一列上 R={K1, K2, K3, K4}max-{K1, K2, K3, K4}min。

Note: Ki refers to the sum of test results when the horizontal tab is i in any rank R refers to the range, in any rank R={K1, K2, K3, K4}max-{K1, K2, K3, K4}min.

由表 2 可以看出, 各列的极差是不相等的, 这说明各因素的水平改变对试验结果的影响是不相同的, 极差越大, 表示该列因素的数值在试验范围内的变化, 会导致试验指标在数值上有更大的变化,

所以极差最大的那一列，就是因素的水平对试验结果影响最大的因素，即最主要的因素。因此，可以得到对大豆乳清蛋白发泡性影响因素次序为：温度>浓度>pH 值>钙离子浓度，其最佳条件是：浓度 1.0%，温度 60 ℃，pH 值 5，钙离子强度

0.1M。

2.2 大豆乳清蛋白辅助抑制肿瘤作用研究

小鼠灌胃给予大豆乳清蛋白 30 d 后，对小鼠体重、脏器/体重和移植 S-180 瘤株肿瘤生长的影响分别见表 3。

表 3 大豆乳清蛋白辅助抑制肿瘤作用试验结果

Table 3 Experimental results of aided tumor inhibition of whey soy proteins

组别 Group	剂量 (g·kg ⁻¹) Dosage	初始体重(g) IBW	结束体重 (g) FBW	肝/体重 Liver/ Body weight	脾/体重 Spleen /Body weight	肾/体重 Kidney /Body weight	瘤重(X±SD) Tumor weight	抑瘤率(%) Tumor inhibition rate
0-1	-	20.5±1.527	33.0±1.279	5.39±0.380	0.71±0.111	1.02±0.138	2.69±0.755	
0-2	-	20.6±1.416	26.9±2.776 [#]	4.80±1.085	0.21±0.048 ^{**}	1.13±0.080 [*]	0.48±0.250 ^{**}	82.2
1	0.1	20.5±1.436	32.8±2.325	5.38±0.796	0.69±0.109	1.00±0.113	2.60±0.578	
2	0.5	20.7±1.633	32.1±1.700	5.61±0.768	0.70±0.119	1.06±0.141	2.17±0.562	
3	3.0	20.7±1.917	32.0±2.093	5.49±0.499	0.70±0.255	1.02±0.259	1.24±0.244 ^{**}	53.9

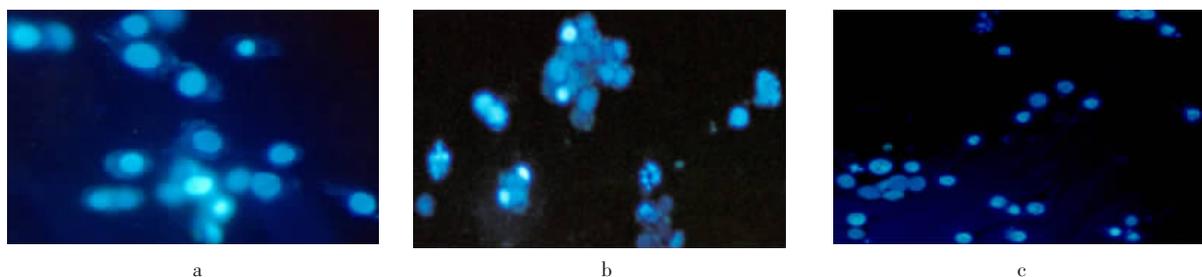
注：组别 0-1 为阴性对照组，0-2 为阳性对照组，1 为低剂量组，2 为中剂量组，3 为高剂量组；* 与阴性对照组比较有显著性差异 $P < 0.05$ ，** 与阴性对照组比较有极显著性差异 $P < 0.01$ ；# 为考察大豆乳清蛋白对移植 S-180 瘤株肿瘤生长影响时所用剂量 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \times 2$ 。

Note: group 0-1 is the negative control group, 0-2 is the positive control group, 1 is the low-dose group, 2 is the middle dose group, 3 is the high dose group; * compared with negative control group has the significantly difference which meant $P < 0.05$, ** compared with the negative control group has a very significant difference which meant $P < 0.01$; # is $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \times 2$ doses which presents the effect of whey soybean protein on transplantation S-180 tumor growth.

由表 3 可见，经口给予小鼠不同剂量的大豆乳清蛋白 30 d，与阴性对照组相比较，实验组小鼠的体重和脏器体重比值均无显著性差异($P > 0.05$)，未见大豆乳清蛋白对小鼠的不良影响。阳性对照组的终末体重、脾/体重和肾/体重与阴性对照组有显著差异，说明该剂量的环磷酸胺对动物生长有影响。从表 3 中还

可以看出，与阴性对照组相比，阳性对照组的移植性肿瘤重量降低，有极显著性差异，抑瘤率达到 80% 以上。大豆乳清蛋白高剂量组小鼠移植性肿瘤重量降低，有极显著性差异，抑瘤率超过 50%。

对照组细胞、1.6 和 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 大豆乳清蛋白作用细胞 48 h 后显微镜观察结果见图 3。



a. 对照组 Control ; b. $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; c. $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

图 3 对照组细胞、1.6 和 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 大豆乳清蛋白作用细胞 48 h 后显微镜照片

Fig. 3 Microscopic picture of hepatoma cell HepG2 treated by control cells, 1.6 and $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ whey soy proteins for 48 h

从图 3 中可以看出，正常对照组细胞，Hoe-chst33258 染色后细胞核呈圆形，形态规则，核染色为均匀的蓝色荧光。大豆乳清蛋白处理细胞 48 h 后，细

胞核或细胞质呈浓染的块状或颗粒状荧光，聚集于核周边或裂解成碎片，说明 1.6 和 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的大豆乳清蛋白作用 HepG2 细胞 48 h 后能诱导该细胞发生凋亡。

3 结 论

a. 大豆乳清蛋白的浓度、温度、pH、时间和阳离子强度均对其起泡性有显著影响。大豆乳清蛋白起泡性效果最佳条件是：浓度 1.0%，温度 60 ℃，pH 5，钙离子强度 0.1 mol·L⁻¹。

b. 经口给予小鼠不同剂量的大豆乳清蛋白 30 d (接种 S180 腹水型肿瘤细胞前后均给予受试物)，对小鼠体重增长和脏器体重比值无影响，对小鼠 S180 肿瘤的生长有抑制作用，体内、外试验结果揭示大豆乳清蛋白具有辅助抑制肿瘤的作用。

c. 1.6 和 2.0 g·L⁻¹ 浓度的大豆乳清蛋白处理人肝癌细胞 HepG2 48 h 后，细胞核或细胞质呈浓染的块状或颗粒状荧光，聚集于核周边或裂解成碎片，表明大豆乳清蛋白能诱发肿瘤细胞发生细胞凋亡。

[参 考 文 献]

- [1] 刘大川, 田少君. 中国大豆工艺当前形势及展望[J]. 中国油脂, 2002, 27(5): 5-8.
- [2] 郭心义. 我国大豆蛋白生产现状及前景展望[J]. 粮油加工与食品机械, 2004(3): 13-15.
- [3] 刘国庆. 从大豆乳清废水中回收生理活性物质的研究现状与发展前景[J]. 食品研究与开发, 2001, 2(B12): 3-7.
- [4] 伍军, 艾启俊, 于同泉, 等. 大豆黄浆水处理过程中超滤膜的选择[J]. 北京农学院学报, 2003, 18(3): 223-225.
- [5] 王淑莹, 高大文, 彭永臻. SBR 法处理高浓豆制品废水的实验研究[J]. 水处理技术, 2002, 28(5): 296-298.
- [6] Joo H T. Biological treatment of soyabean waste[J]. Wat Sci Tech, 1996, 22(9): 141-147.
- [7] 赵冬梅. 豆制品生产中高浓度废水的检测与分析[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(1): 68-71.
- [8] 高峰, 孙洁心, 张永忠. 冷冻浓缩法处理大豆乳清废水的研究初探[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4): 25-27.
- [9] 祁佩时. 超滤法处理大豆蛋白废水及资源回收的研究[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2005, 37(8): 1138-1141.
- [10] Pouliot Y M, Wijers C. Fractionation of whey protein hydrolysates using charged UF/ NF membranes [J]. Journal of Membrane Science, 1999, 158: 105-114.
- [11] Sorgentini D A, Wagoer J R. Compaxative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins [J]. Food Research Internationa, 2002, 35: 721-729.
- [12] 陈爱梅, 江连洲. 大豆乳清蛋白的主要成分概述[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4): 172-174.
- [13] 石彦国, 任莉. 大豆制品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993: 23-31.
- [14] Sorgentini D A, Wagoer J R. Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins[J]. J Food Biochem, 1999, 23(5): 489-507.
- [15] Iwabuchi S, Yamauchi F. Electrophoretic analysis of whey proteins present in soybean globulin fractions[J]. J Agri Food Chem, 1987, 35(2): 205-209.
- [16] 陈爱梅, 江连洲, 欧阳占亮. 大豆乳清蛋白功能特性的研究[J]. 中国油脂, 2006, 31(2): 28-30.
- [17] 许慧, 朱秀清, 姚磊. 影响大豆乳清蛋白起泡性因素研究[J]. 大豆通报, 2007, 87(2): 26-27.
- [18] 帖向宇, 郭顺堂. 大豆乳清蛋白的热稳定性分析及其与球蛋白的相互作用研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(9): 77-80.
- [19] 张明峰, 王立明. 大豆中的抗营养因子的研究概况[J]. 大豆通报, 1999(5): 23-24.
- [20] Kennedy A R. Chemopreventive agents: Protease inhibitors[J]. Pharmacol Ther, 1998, 78(3): 167-209.
- [21] 王尔惠. 大豆蛋白质生产新技术汇[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 55-58.
- [22] 李里特, 王海. 功能性大豆食品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002: 50-58.
- [23] 郭兴凤, 王圣波, 潘璨. 功能性大豆低聚糖饮料的研制[J]. 粮油食品科技, 2006, 14(4): 36-37.
- [24] 薛璐, 杨谦, 唐艳. 利用大豆乳清生产细菌纤维素的研究[J]. 高技术通讯, 2004(6): 28-31.