

鹰嘴豆籽粒清蛋白和球蛋白 等电点、相对分子量的测定

崔竹梅^{1,2}, 王红玲¹, 张占琴¹, 刘 春¹, 张巨松³, 麻 浩¹

(1. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095;

2. 常熟理工学院生物与食品工程系, 江苏 常熟 215500; 3. 新疆农业大学农学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘 要: 测定鹰嘴豆 Kabuli 类型和 Desi 类型籽粒的清蛋白和球蛋白的等电点, 并用凝胶过滤色谱和 SDS-PAGE 分析总蛋白和清蛋白、球蛋白的组成以及亚基的相对分子量。结果表明: Kabuli 类型和 Desi 类型籽粒清蛋白和球蛋白的等电点分别是 5.4、4.0 和 5.2、4.0; 鹰嘴豆籽粒贮藏蛋白经凝胶过滤色谱出现 8 个蛋白峰, 而 SDS-PAGE 电泳图谱上都出现 13 条主要亚基带; 鹰嘴豆籽粒总蛋白、清蛋白、球蛋白亚基条带分布与大豆相应蛋白亚基条带差异较大; Kabuli 类型籽粒球蛋白的亚基数目及其相对分子量与 Desi 类型非常相似, 但两种类型间清蛋白亚基数目及其相对分子量存在较大差异。

关键词: 鹰嘴豆; 清蛋白; 球蛋白; 等电点; 分子量

中图分类号: S529 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2007)06-0089-07

鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) 为豆科野豌豆族 (Vicieae) 鹰嘴豆属 (*Cicer*) 的草本植物, 根据籽粒大小和外形通常分为 Kabuli 和 Desi 两种类型, 前者籽粒大而光滑、颜色呈乳黄色, 后者籽粒小、皮有褶皱且颜色呈深褐色。目前国内外对鹰嘴豆的研究主要集中在耐逆境性和抗虫性等方面, 对籽粒贮藏蛋白的研究相对较少。Kumar 等^[1]在 1978 年研究了鹰嘴豆种子贮藏蛋白萌芽前 12 天的变化情况, 得出休眠种子的贮藏蛋白可以按沉降系数分为 2.2s、6.9s、10.3s 三种; 1980 年他们^[2]又分离纯化出 10.3s 的蛋白组分, 并分析了它的电泳特征和氨基酸组成等。Shunro Kawakishi 等^[3]报道了 8 种可食性豆类清蛋白的电泳图谱特征和氨基酸组成, 认为鹰嘴豆清蛋白亚基相对分子量范围为 8 000~78 000 Da。Fouad Abdel-Rehim Ahmed 等^[4]的 SDS-PAGE 图谱显示休眠鹰嘴豆种子有 19 条带 (8~78 kDa)。Sanchez-Vioque 等^[5]测定了鹰嘴豆总蛋白的等电点为 4.3, 并用添加或不添加亚硫酸氢钠的碱提法得到两种分离蛋白。Kaur 等^[6]研究认为 kabuli 和 desi 的分离蛋白性能差异显著, kabuli 分离蛋白的灰分、蛋白含量以及亨特指数和吸油能力都较 desi 高, 泡沫稳定性更好, 但吸水能力、 T_d (变性温度) 和 ΔH (热焓值) 低于 desi。Arcan^[7]研究表明鹰嘴豆蛋白

可用来作为一种热稳定的食品抗氧化剂, 其自由基清除能力和 Fe^{2+} 螯合能力、热稳定性都好于白莱豆。张涛等也对鹰嘴豆分离蛋白进行了一系列研究, 认为鹰嘴豆分离蛋白在其等电点 pH 5.0 时, 乳化活力最小, 乳化稳定性最高^[8]; 分离蛋白的两个主要组分的分子量分别为 170kDa 和 110kDa^[9]; 在 pH 3.0、高离子强度与 pH 7.0、低离子强度等条件下, 蛋白质分散液以凝胶状存在^[10]; 同时他们还研究了分离蛋白的氨基酸组成和表面疏水性^[9]。此外, Gücbilmez^[11]在研制玉米蛋白膜时, 发现添加适量的鹰嘴豆清蛋白, 可提高这种可食性蛋白膜的抗氧化功能。

了解原料蛋白质的组成特征是研制蛋白加工产品的前提和基础。本实验选取鹰嘴豆 Kabuli 和 Desi 两个类型的籽粒, 研究其清蛋白和球蛋白等电点和蛋白亚基相对分子量, 旨在为今后鹰嘴豆贮藏蛋白更深入的研究和综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜鹰嘴豆 Kabuli 类型和 Desi 类型籽粒均购于新疆, 大豆品种南郑早日黄由南京农业大学大豆所提供。

收稿日期: 2007-03-21

基金项目: 新疆高校科研计划科学研究重点项目 (XJEDU2004I17); 新疆高校科研基金项目 (XJEDU2004G06); 长江学者和创新团队发展计划

作者简介: 崔竹梅 (1978—), 女, 江苏南通人, 硕士研究生, 主要从事植物蛋白质和油脂加工利用研究。

通讯作者: 张巨松, E-mail: xjdzjs@xj.cninfo.net; 麻 浩, E-mail: Lq_ncsi@njau.edu.cn。

1.2 实验方法

1.2.1 鹰嘴豆籽粒主要化学成分分析 籽粒蛋白质含量测定依据 GB/T5009.5—2003;水分测定依据 GB/T5009.3—2003;脂肪测定依据 GB/T5009.6—2003。

1.2.2 蛋白的制备 脱脂粉的制备:取鹰嘴豆籽粒磨碎,过 100 目筛,索氏抽提脱脂,所得脱脂粉备用。

1) 总蛋白的提取。用 0.05 M 的 Tris-HCl (pH 8.0, 含 10 mM β-巯基乙醇)溶液搅拌浸提过夜,10 000 rpm 离心 20 min,取上清液。

2) 清蛋白的提取。取定量脱脂粉,用含 5% K₂SO₄ 的溶液(pH=7)搅拌浸提 1 h,料液比 1:20。然后 15 000 rpm 离心 20 min,残渣再提取一次,两次得到的上清液合并。上清液用含 1 mM 的 β-巯基乙醇的超纯水透析 36~48 h。将透析液 15 000 rpm 离心 20 min,所得沉淀是球蛋白,上清液为清蛋白,冻干备用。所有操作均在 4℃ 以下进行。具体参见 Shunro Kawakishi 法(1982)^[3]。

3) 球蛋白的提取。球蛋白的提取参考改进的 Emanuel Franco 法(1997)^[12]。用含 10 mM 的 CaCl₂, 10 mM 的 MgCl₂, 1 mM 的 PMSF 的纯水 (pH 8.0)浸提已称重的脱脂粉 4 h,料液比 1:30。15 000 rpm 离心 30 min,取沉淀用另一提取液(pH 8.0, 含 0.1 M Tris-HCl, 10% NaCl (W/V), 1 mM 的 PMSF, 10 mM EDTA, 10 mM β-巯基乙醇)浸提 12 h,料液比 1:30。15 000 rpm 离心 30 min,所得上清液用含 1 mM β-巯基乙醇的纯水透析脱盐,冻干备用。

1.2.3 等电点的测定 等电点测定参考 Sanchez-Vioque 法^[5]并作改动。50 ml 的离心管每管称取冻干的蛋白粉约 0.25 g,溶于 40 ml 的 Tris-HCl 中

(0.05 M, pH 8.0),用 4 M 的 HCl 依次调节每管的 pH 值,范围从 3.4~8.0,每隔 0.2 测一次。测定每管离心后上清液中 N 含量占每管总 N 的相对百分比,最小值对应的 pH 值为蛋白的等电点。

1.2.4 凝胶过滤色谱 取 0.1 g 冻干蛋白粉溶于 0.05 M 的 Tris-HCl 提取液中, pH 8.0, 3 000 rpm 离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 的过滤膜,备用。采用? KTA primplus 液相色谱系统,装 superdex — 75 柱,1 ml 样液上样,洗脱液用 0.1 M 的 tris-HCl, pH 7.5,洗脱流速 0.5 ml/min,每 2 ml 收集 1 管,检测波长 280 nm。用中分子量标准蛋白 marker II 做凝胶过滤色谱分子量标准。

1.2.5 SDS—PAGE SDS—PAGE 参照 Laemmli^[13]和王显生等^[14]的方法,采用不连续垂直板状凝胶电泳,凝胶厚度 1 mm,浓缩胶浓度 5%,分离胶浓度 12%。SDS—PAGE 采用中分子量范围标准蛋白 (marker I : 相对分子量 116、66.2、45、35、25、18.4、14.4 kDa)、凝胶过滤色谱采用标准蛋白 (marker II : 相对分子质量 97.4、66.2、42.7、31、14.4 kDa), Fermentas 公司。

1.2.6 电泳凝胶分析 用 Bio-Rad 公司的 Quantity-One 软件。

2 结果与分析

2.1 鹰嘴豆籽粒的主要化学成分

两种参试类型品种的蛋白质、脂肪和水分含量列于表 1。本研究所用材料, Kabuli 类型的蛋白质含量低于 Desi 类型,而脂肪和水分含量却高于 Desi 类型。所测定的鹰嘴豆蛋白、脂肪与水分等含量结果与前人研究的报道^[15]基本一致。

表 1 鹰嘴豆籽粒的主要成分(平均值±标准差, n=3)
Table 1 The main chemical compositions of chickpea seed (mean±sd, n=3)

种 类 Seed type	蛋白质含量 Protein content (%)	脂肪含量 Lipids content (%)	水分含量 Water content (%)
Kabuli 籽粒	19.31±0.45	6.56±0.08	10.43±0.31
Desi 籽粒	24.87±0.42	4.52±0.10	8.63±0.28

2.2 鹰嘴豆球蛋白和清蛋白的等电点

根据溶解性,豆类贮藏蛋白一般分为清蛋白和球蛋白,清蛋白易溶于水,而球蛋白溶于盐溶液。本实验中提取得到的鹰嘴豆清蛋白和球蛋白的溶解性随 pH 变化的趋势明显不同(图 1~4)。球蛋白的溶解性变化基本呈“V”型,而清蛋白的变化基本呈

“√”型。Kabuli 类型的清蛋白的溶解性随 pH 的变化较为平缓(70.6%~90.0%),而 Desi 类型的变化则较大(39.0%~90.2%)。本实验测得 Kabuli 类型球蛋白和清蛋白的等电点分别是 5.4 和 4.0,而 Desi 类型球蛋白和清蛋白的等电点分别是 5.2 和 4.0。两种类型之间等电点基本一致。

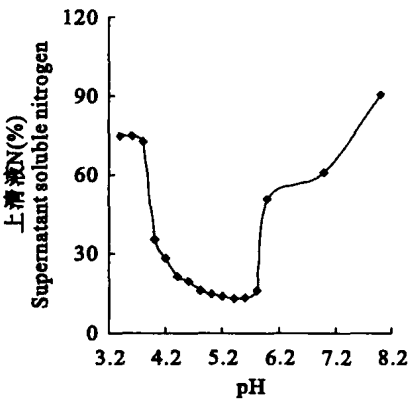


图 1 Kabuli 球蛋白等电点
Fig. 1 The PI of globulin of Kabuli seeds

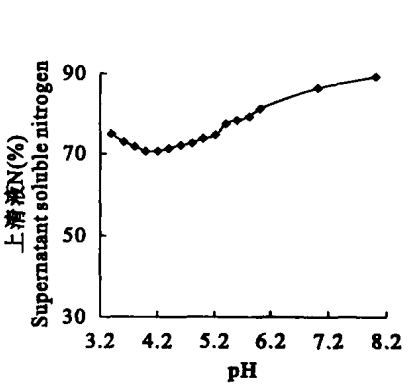


图 2 Kabuli 清蛋白等电点
Fig. 2 The PI of albumin of Kabuli seeds

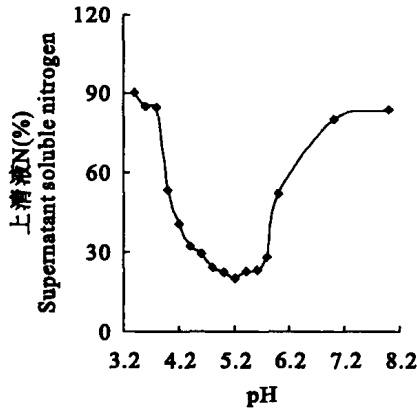


图 3 Desi 球蛋白等电点
Fig. 3 The PI of globulin of Desi seeds

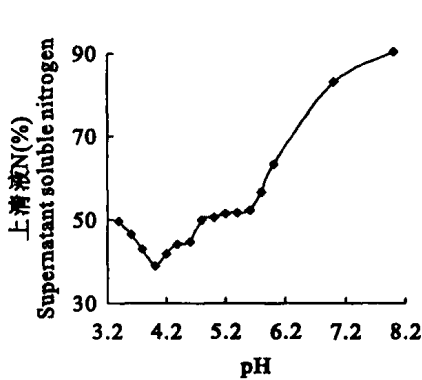


图 4 Desi 清蛋白等电点
Fig. 4 The PI of albumin of Desi seeds

2.3 液相色谱分离与 SDS-PAGE 电泳

2.3.1 鹰嘴豆总蛋白凝胶过滤色谱与 SDS-PAGE 图谱 采用? KTA primplus 液相色谱系统, 在 Kabuli 和 Desi 的总蛋白的凝胶过滤色谱图上都出现 8 个主要峰(图 5 和图 6), 且出峰位置基本一致。利用蛋白 marker 标准曲线计算得两种类型的总蛋白组分分子量范围皆为 10~80 kDa, 两者间只

有峰 6 对应的蛋白组分相对分子量相差较大, 其他对应组分分子量相似。但值得注意的是各蛋白组分相对含量有所不同, 以峰 2 和峰 7 为例, 在 Kabuli 图中两组分含量接近 1:1; 而在 Desi 图中却近似于 1:2.5。此现象是由于类型差异, 还是实验条件所致? 还需后续实验继续研究, 而且各峰对应的具体蛋白成分和性质也须进一步研究。

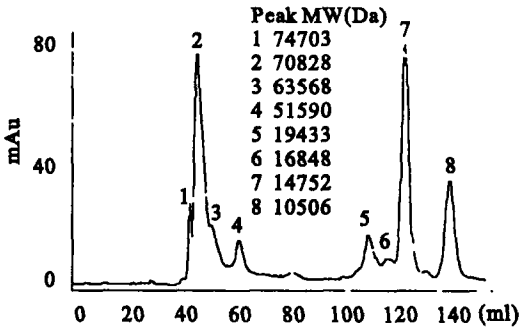


图 5 Kabuli 总蛋白凝胶过滤色谱
Fig. 5 Gel filtration chromatogram of proteins extracted from Kabuli seeds

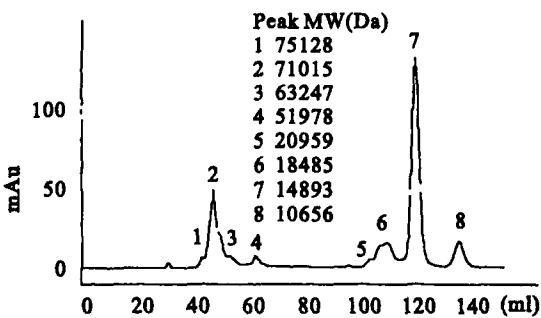


图 6 Desi 总蛋白凝胶过滤色谱
Fig. 6 Gel filtration chromatogram of proteins extracted from Desi seeds

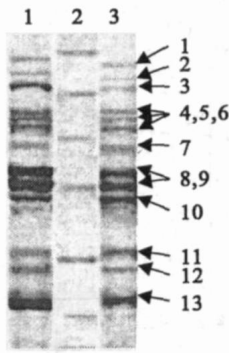


图 7 Kabuli 和 Desi 总蛋白 SDS—PAGE 图谱

Fig. 7 SDS—PAGE patterns of seed storage proteins of Kabuli and Desi

注:泳道 1~3 分别是 Kabuli 总蛋白、蛋白 marker I 和 Desi 总蛋白。
Note: Lanes 1~3 are total proteins of Kabuli, protein marker I, and total proteins of Desi, respectively.

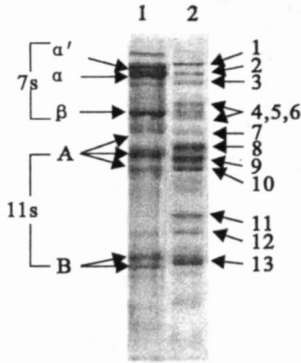


图 8 大豆与鹰嘴豆总蛋白 SDS—PAGE 图谱

Fig. 8 SDS—PAGE patterns of seed storage proteins of soybean and chickpea

注:泳道 1 是大豆总蛋白,泳道 2 是鹰嘴豆总蛋白。
Note: Lane 1 is total protein of soybean, lane 2 is total protein of chickpea.

本研究 SDS—PAGE 图谱显示鹰嘴豆 Kabuli 和 Desi 总蛋白都得到了 13 个主要亚基带,比 Fouad Abdel-Rehim Ahmed 等报道^[4]的 19 条带要少,两种类型间无显著差异(图 7)。通过 Quantity-One 计算得 Kabuli 总蛋白主要亚基条带 1~13 相对应的分子量分别为 86.22、78.25、71.01、56.87、53.72、50.75、38.78、36.26、34.18、26.67、24.65、20.84、17.67 kDa; Desi 总蛋白主要亚基相对分子量为 82.41、74.85、69.46、56.00、53.19、48.61、38.29、36.02、33.84、30.90、26.56、21.37、17.20 kDa。Kabuli 和 Desi 总蛋白的亚基相对分子量范围为 18~86 kDa,比 Fouad Abdel-Rehim Ahmed 等^[4]报道的 8~78 kDa 的范围要高。

用鹰嘴豆 Kabuli 与大豆品种南郑早日黄作比较,可见大豆蛋白亚基与鹰嘴豆蛋白亚基分布明显不同(图 8),鹰嘴豆蛋白亚基分布相对分散而均匀。大豆贮藏蛋白根据沉降系数主要分成 7s 和 11s 蛋白,7s 蛋白中包含 α 、 α' 、 β 三种亚基,11s 蛋白又分成酸性亚基 A 和碱性亚基 B。鹰嘴豆蛋白根据沉降系数分为 2.2s、6.9s 和 10.3s^[1],但各沉降系数蛋白组分对应的亚基和相关性质还未见报道,有待进一步研究。

2.3.2 大豆与鹰嘴豆的清蛋白和球蛋白蛋白亚基分布比较 用相同方法制得大豆、鹰嘴豆的清蛋白和球蛋白,从 SDS—PAGE 图中可见它们亚基分布明显不同(图 9)。鹰嘴豆清蛋白和球蛋白的蛋白亚基条带明显多于大豆的清蛋白和球蛋白条带。鹰嘴豆 Kabuli 和 Desi 的球蛋白电泳图谱非常相似,而清蛋白却差异较大。

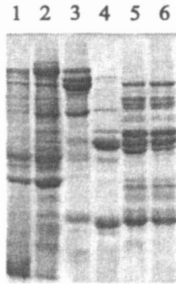


图 9 大豆与鹰嘴豆的清蛋白和球蛋白 SDS—PAGE 图谱

Fig. 9 SDS—PAGE pattern of albumins and globulins extracted from soybean and chickpea

注:泳道 1~3 是大豆、Kabuli 和 Desi 的清蛋白;泳道 4~6 是大豆、Kabuli 和 Desi 的球蛋白。
Note: Lanes 1~3 are the albumins of soybean, Kabuli and Desi; lane 4~6 are the globulins of soybean, Kabuli and Desi.

2.3.3 Kabuli、Desi 清蛋白凝胶过滤色谱图和 SDS—PAGE 图谱 图 10 左侧是 Kabuli 清蛋白凝胶过滤色谱图;右侧是液相色谱收集的主要峰组分经透析脱盐、冻干所得蛋白的 SDS—PAGE 电泳图谱。峰 1 成分比 Kabuli 清蛋白粗品亚基条带较多,可见有杂;峰 2 与清蛋白粗品差异较小;泳道 3 得到一个清蛋白条带。用峰 2 做代表来分析 Kabuli 清蛋白的组成,Quantity-One 计算得出其亚基相对分子量范围为 20~62 kDa,各主要亚基条带的相对分子量分别是 62.29、55.89、46.87、38.46、35.42、27.60、25.37、23.79、19.11 kDa。

与 Kabuli 清蛋白提取物相似,Desi 峰 1 组分中有杂成分;峰 2 和峰 3 是相对较纯的 Desi 清蛋白组分;峰 4 是单一组分,峰 5~8 含量太低,在电泳图谱上也没有明显条带(图 11)。利用 quantity-one 综合分析泳道 2、3、4,得出 Desi 清蛋白亚基相对分子量

范围为 35~62 kDa,各主要蛋白亚基条带的相对分子量是 62.21、52.96、49.03、44.68、36.67 kDa。

本研究所得 Kabuli 和 Desi 清蛋白的主要蛋白亚基的分子量范围在 Shunro Kawakishi 的报道^[3]的范围之内,并进一步得出了它们主要蛋白亚基的具体相对分子量。

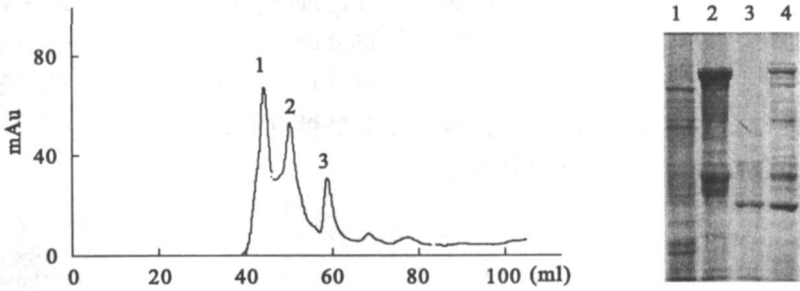


图 10 Kabuli 清蛋白凝胶过滤色谱图和主要峰收集物的 SDS-PAGE 图谱

Fig.10 Gel filtration chromatogram of albumins extracted from Kabuli seed (left) and

SDS-PAGE pattern of the main peaks material collected from the gel filtration chromatography (right)

注:SDS-PAGE 图谱中泳道 1~3 分别对应其凝胶过滤色谱的峰 1、2、3;泳道 4 是 Kabuli 清蛋白粗品。

Note: Lanes 1~3 are corresponding to peak 1~3, respectively; lane 4 is rude albulin of Kabuli.

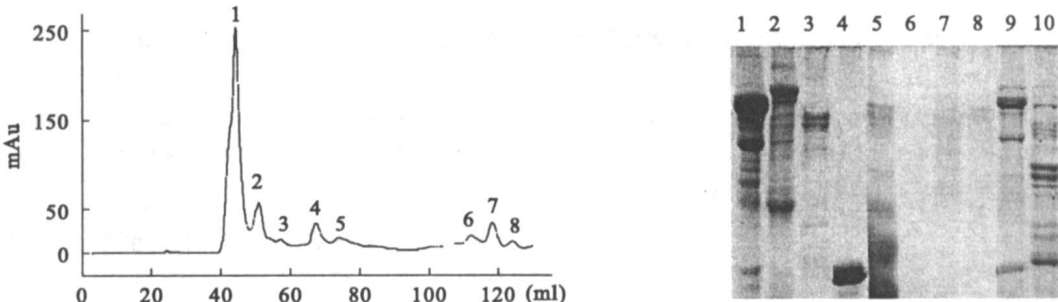


图 11 Desi 清蛋白凝胶过滤色谱图和主要峰收集物的 SDS-PAGE 图谱

Fig.11 Gel filtration chromatogram of albumins extracted from Desi seed (left) and

SDS-PAGE pattern of the main peaks material collected from the gel filtration chromatography (right)

注:SDS-PAGE 图谱中泳道 1~8 分别对应其凝胶过滤色谱图中的峰 1~8;峰 9 是 Desi 清蛋白粗品;泳道 10 是 Desi 总蛋白。

Note: Lanes 1~8 are corresponding to peak 1~8, respectively; lane 9 is unpurified albulin of Desi; lane 10 is total protein of Desi.

2.3.4 Kabuli、Desi 球蛋白凝胶过滤色谱图和 SDS-PAGE 图谱 图 12 中峰 1 和峰 2 是 Kabuli 球蛋白的主要组分,杂质很少;峰 3 和峰 4 经透析只得到极微量的冻干物,经电泳没有得到明显条带,可能是

在透析过程中降解或损失,具体原因还有待进一步研究。综合分析泳道 1、2,得出 Kabuli 球蛋白亚基的相对分子量为 46.24、39.53、38.31、36.69、27.33、24.93、23.31、19.28、17.75、15.35 kDa。

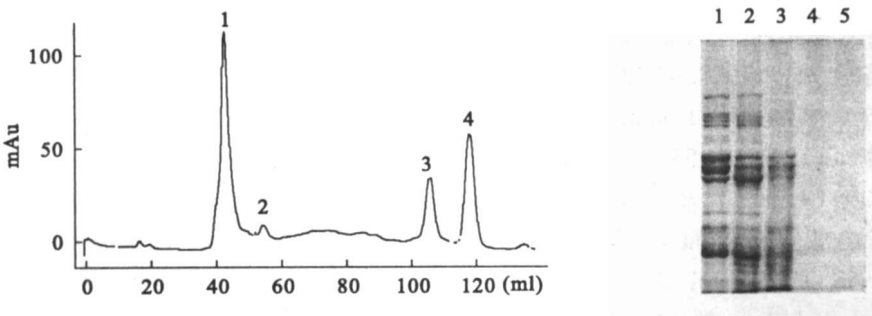


图 12 Kabuli 球蛋白凝胶过滤色谱图和球蛋白主要峰对应的 SDS-PAGE 图谱

Fig.12 Gel filtration chromatogram of globulins extracted from Kabuli seeds (left) and

SDS-PAGE pattern of the main peaks material collected from the gel filtration chromatography (right)

注:SDS-PAGE 图中泳道 1 是 Kabuli 球蛋白粗品;泳道 2~5 分别对应 Kabuli 球蛋白凝胶过滤色谱中的峰 1~4 的组分。

Note: Lane 1 is globulin of unpurified Kabuli; lanes 2~5 are corresponding to peak 1~4, respectively.

图 13 中 Desi 球蛋白峰 1 收集物与其球蛋白粗品的亚基条带分布基本一致, 峰 2 只出现两条明显条带, 峰 3 和峰 4 没有得到明显条带, 原因待查。综合分析得出 Desi 球蛋白亚基的相对分子量为 47.60、40.10、38.32、37.08、27.66、25.00、23.73、19.68、17.99、15.51 kDa。

实验中显示提取的球蛋白纯度较高, 清蛋白纯度相对较低。清蛋白是水溶性蛋白, 球蛋白是盐溶

性蛋白, 提取过程中少量球蛋白因为浸提液中的盐分而一起提取出来, 所以在鹰嘴豆清蛋白提取方法上还需要改进。根据溶解度不同来分类蛋白比较方便, 但同一蛋白可能会溶于多个溶解系统, 造成提取成分的不纯。所以现在一般认为根据沉降系数对蛋白进行分类更合理, 可以利用超速离心技术进一步对鹰嘴豆贮藏蛋白进行研究。

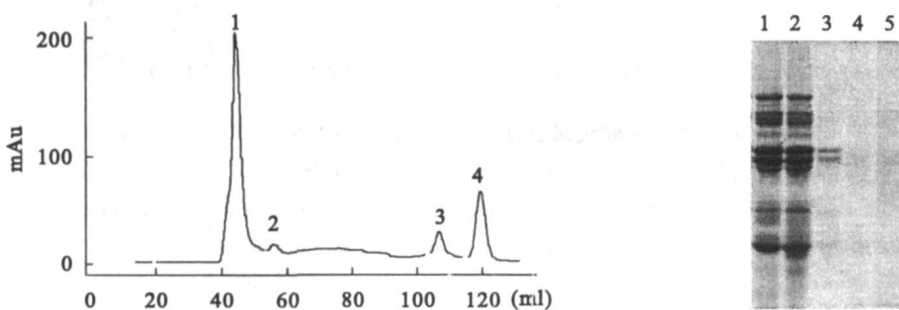


图 13 Desi 球蛋白凝胶过滤色谱图和球蛋白主要峰对应的 SDS-PAGE 图谱

Fig. 13 Gel filtration chromatogram of globulins extracted from Desi seed (left) and

SDS-PAGE pattern of the main peaks material collected from the gel filtration chromatography (right)

注: SDS-PAGE 图中泳道 1 是 Desi 球蛋白粗品; 泳道 2~5 分别对应 Desi 球蛋白凝胶过滤色谱中的峰 1~4 的组分。

Note: Lane 1 is unpurified globulin of Desi; lanes 2~5 are corresponding to peak 1~4, respectively.

3 结 论

鹰嘴豆蛋白含量高, 营养丰富, 可加工成各种蛋白制品。其主要贮藏蛋白组分的性质: ① Kabuli 和 Desi 类型籽粒清蛋白和球蛋白的等电点依次是 5.4、4.0 和 5.2、4.0。② 凝胶过滤色谱得出鹰嘴豆贮藏蛋白有 8 个蛋白峰; SDS-PAGE 图上出现 13 条主要亚基带, Kabuli 和 Desi 主要蛋白亚基相对分子量分别为 86.22、78.25、71.01、56.87、53.72、50.75、38.78、36.26、34.18、26.67、24.65、20.84、17.67 kDa 和 82.41、74.85、69.46、56.00、53.19、48.61、38.29、36.02、33.84、30.90、26.56、21.37、17.20 kDa。③ 鹰嘴豆籽粒总蛋白、清蛋白、球蛋白亚基条带分布与大豆差异较大。④ Kabuli 和 Desi 类型的籽粒球蛋白亚基分布非常相似, Kabuli 球蛋白亚基的相对分子量为 46.24、39.53、38.31、36.69、27.33、24.93、23.31、19.28、17.75、15.35 kDa; Desi 主要球蛋白亚基的相对分子量为 47.60、40.10、38.32、37.08、27.66、25.00、23.73、19.68、17.99、15.51 kDa。⑤ Kabuli 与 Desi 类型籽粒清蛋白亚基数目及分布差异较大, 前者 9 条主要亚基相对分子量是 62.29、55.89、46.87、38.46、35.42、27.60、25.37、23.79、19.11 kDa, 后者 5 条主要亚基相对分子量为 62.21、52.96、49.03、44.68、36.67 kDa。

致谢:感谢南京农业大学生命科学学院中心实验室提供的? KTA primplus 液相色谱系统和技术支持!

参 考 文 献:

- [1] Kumar K G, Venkataraman L V. Chickpea seed proteins; modification during germination[J]. Phytochemistry, 1978, 17: 605—609.
- [2] Kumar K G, Venkataraman L V. Chickpea seed proteins; isolation and characterization of 10.3S protein[J]. J Agric Food Chem, 1980, 28: 524—529.
- [3] Kawakishi S, Namiki M. Albumin Proteins of eight edible grain legume species; electrophoretic patterns and amino acid composition[J]. J Agric Food Chem, 1982, 30: 620—622.
- [4] Abdel-Rehim Ahmed F, Abdel-Mobdy Abdel-Rahim E. The changes of protein patterns during one week of germination of some legume seeds and roots[J]. Food chem, 1995, 52: 433—437.
- [5] Sanchez-Vioque R, Clemente A. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.); chemical composition, functional properties and protein characterization[J]. Food Chem, 1999, 64: 237—243.
- [6] Kaur M, Singh N. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars[J]. Food Chem, 2007, 102: 366—374.
- [7] Arcan I, Yemenicioglu A. Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white

beans[J]. Food Chem, 2007, 103, 301—312.

[8] 张涛,江波,王璋.鹰嘴豆分离蛋白的乳化性及结构关系[J].食品与发酵工业,2004,30(12):10—14.

[9] 张涛,江波,王璋.鹰嘴豆分离蛋白的特性[J].食品与生物技术学报,2005,24(3):66—71.

[10] Zhang T, Jiang B, Wang Z. Gelation properties of chickpea protein isolates[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21, 280—286.

[11] Gücbilmez C M, Yemenicioglu A. Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA[J]. Food Research International, 2007, 40, 80—91.

[12] Franco E, Ferreira R B. Utilization of an improved methodology to isolate Lupinus albus conglutins in the study of their sedimentation coefficients[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45, 3908—3913.

[13] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage[J]. Nature, 1970, 227, 680—685.

[14] 王显生,麻浩,向士鹏,等.不同 SDS—PAGE 分离胶浓度下大豆贮藏蛋白亚基的分辨效果[J].中国油料作物学报,2004,26,75—80.

[15] Alajaji S A, El-Adawy T A. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19, 806—812.

Determination of isoelectric point and molecular weight of albumin and globulin of chickpea seed storage protein

CUI Zhu-mei^{1,2}, ZHANG Ju-song³, WANG Hong-ling¹, ZHANG Zhan-qin¹, LIU Chun¹, MA Hao¹
(1. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095; 2. Departement of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Science and Technology, Changshu, Jiangsu 215500; 3. College of Agriculture, Xinjiang Agricultural University, Wulumuqi, Xinjiang 830052, China)

Abstract: The PI and subunits of albumin and globulin extracted from chickpea was studied. The subunit distribution and molecular weights of the total protein, albumin and globulin were analyzed by gel filtration chromatography and SDS—PAGE. The results showed that the PI of the albumin and globulin of Kabuli type seeds were 5.4, 4.0; the PI of the albumin and globulin of Desi type seeds were 5.2, 4.0. Eight fractions from the total storage protein of both Kabuli and Desi could be obtained on gel filtration chromatography, respectively, and correspondingly, 13 subunit bands could be detected on SDS—PAGE pattern. The subunit distributions of the total protein, albumin and globulin of chickpea were distinct from those of soybean. There were similarity of the subunit band number and molecular weight between Kabuli globulin and Desi globulin, but their albumin subunit band number and molecular weight were different.

Keywords: chickpea; albumin; globulin; PI; molecular weight