

Study on Characteristic Band Analysis of Soybean Protein, Soy Milk, Milk, and Coconut Milk Using SDS-PAGE Electrophoresis Technology

Zhang Yushan*, Li Biyi, Shen Zhihua, Liu Yonggang

College of Materials and Food, University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan Institute, Zhongshan, China

Email address:

class2007ok@163.com (Zhang Yushan), 1836747832@qq.com (Li Biyi), 327012129@qq.com (Shen Zhihua)

*Corresponding author

To cite this article:

Zhang Yushan, Li Biyi, Shen Zhihua, Liu Yonggang. Study on Characteristic Band Analysis of Soybean Protein, Soy Milk, Milk, and Coconut Milk Using SDS-PAGE Electrophoresis Technology. *Science Discovery*. Vol. 11, No. 6, 2023, pp. 189-192.

doi: 10.11648/j.sd.20231106.11

Received: September 17, 2023; Accepted: October 31, 2023; Published: November 8, 2023

Abstract: In order to find out the characteristic bands of different kinds of proteins, this study took soybean protein, vitamin milk, milk and coconut milk as the research objects, and SDS-PAGE gel electrophoresis was used to identify the characteristic bands of the above proteins. The experimental results showed that the polyacrylamide band of soybean protein consisted of: b and c protein bands. The typical protein bands of milk protein were c and d protein bands. The typical protein bands of coconut milk protein were c, d, and e protein bands. The typical protein bands of Vitasoy protein showed b, c, and d three protein bands. The b-band was the characteristic band of soybean protein, with a molecular weight of about 35 kDa. The d-band was the characteristic band of milk protein, with a molecular weight of about 30 kDa. The e-band was the characteristic band of coconut milk protein, with a molecular weight of around 25 kDa. Based on these characteristic bands of proteins, the experimental results also suggested that Vitasoy and coconut milk contain a certain amount of milk. These results indicated that SDS-PAGE gel could be used to find the characteristic bands of different kinds of proteins. Based on these characteristic bands, molecular identification of different types of proteins can be carried out.

Keywords: SDS-PAGE Gel Electrophoresis, Milk, Soybean Protein, Coconut Milk, Protein Characteristic Bands

利用SDS-PAGE电泳技术对大豆蛋白、豆奶、牛奶及椰汁的特征谱带分析研究

张玉山*, 李碧怡, 沈志华, 刘永刚

电子科技大学中山学院材料与食品学院, 中山, 中国

邮箱

class2007ok@163.com (张玉山), 1836747832@qq.com (李碧怡), 327012129@qq.com (沈志华)

摘要: 为了探明不同种类蛋白质的特征谱带, 本研究以大豆蛋白、维他奶、牛奶及椰树椰汁为研究对象, 利用SDS-PAGE凝胶电泳对上述蛋白进行了分子鉴定。实验结果表明, 大豆蛋白典型蛋白质带为b与c两条蛋白质带; 牛奶蛋白典型蛋白质带为c与d两条蛋白质带; 椰奶蛋白典型蛋白质带为c、d与e三条蛋白质带; 维他奶蛋白典型蛋白质带为b、c与d三条蛋白质带。其中b带为大豆蛋白的特征谱带, 分子量在35 kDa左右; d带为牛奶蛋白的特征谱带, 分子量在30 kDa左右; e带为椰奶蛋白的特征谱带, 分子量在25 kDa左右。依据蛋白质的特征谱带, 实验结果也表明维他奶与椰树椰汁含

有一定量的牛奶成分。这些研究结果表明，利用SDS-PAGE凝胶寻找不同种类蛋白质特征谱带，据此可以对不同种类蛋白质进行分子鉴定。

关键词：SDS-PAGE凝胶电泳，牛奶，大豆蛋白，椰奶，蛋白质特征谱带

1. 引言

蛋白质按照食物来源可分为植物性蛋白质和动物性蛋白质，其中动物蛋白主要来源于肉、蛋、奶，植物蛋白主要来源于豆类、谷类、坚果类[1]。大豆是中国主要的农作物之一，其中含有大约40%的蛋白质，是人类摄取植物蛋白的重要途径之一[2]。牛奶是具有高营养价值的食物，牛奶蛋白属于动物蛋白，在牛奶中含量大约为3.2%[3]。椰子是是棕榈科椰子属植物，椰肉富含植物蛋白，易于被人体吸收，且有较好的保健效果[4]。近年来，由于人们对蛋白质的需求激增[5]，植物蛋白饮料受到民众广泛喜爱，其中豆奶饮料和椰汁饮料在目前植物蛋白饮料市场中占据了一定比例[6, 7]。但与此同时也增加了蛋白饮料中蛋白掺杂问题发生的几率，如在蛋白饮料的生产过程中，为保证其中蛋白质的含量，可能会加入其他蛋白质。因此，若有一种可靠的方法来确定各种蛋白的种类差异，将能很大程度上避免此类问题的发生。因此，先前有许多研究者开发了基于PCR技术的蛋白质成分的分析检测技术。如对植物源蛋白杏仁源成分的实时荧光定量PCR检测[8]；对羊肉源性成分检测[9]；对乳制品成分和质量检测[10]。目前，聚丙烯酰胺胶凝胶电泳法（SDS-PAGE技术）对食品中特定蛋白质的分析鉴定已取得了显著的进展[11-14]。采用SDS-PAGE技术，研究人员已经成功对乳制品主要蛋白成分[15]、驴皮胶掺假成分[16]等成分进行了分析鉴定。

本研究采用SDS-PAGE电泳技术，对市售几种蛋白饮料进行蛋白质特征分析，确定各样品的蛋白特征谱带，以期为蛋白质的种类鉴别技术及质量控制提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 试剂与仪器

甲醇、冰乙酸、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒（北京鼎国昌盛生物技术有限公司）、考马斯亮蓝染料、琼脂粉、染色大号玻璃皿（带盖子）、SDS-PAGE凝胶垂直电泳仪、电泳槽、摇床、水浴锅、微量注射器（10ul）、离心机等。

2.2. 实验材料

大豆分离蛋白（BR，纯度98%，上海科鉴生物科技有限公司）、天润浓缩纯牛奶、蒙牛纯牛奶、伊利纯牛奶、维他奶、特仑苏牛奶、椰树牌椰汁、蛋白质Marker（PM2510, Enhanced 3-color Regular Range Protein Marker, SMOBio）。

2.3. 实验过程

SDS-PAGE制胶：将制胶的长短玻璃洗干净晾干，将分隔条涂抹凡士林后放在长玻璃边缘，将短两块玻璃小心放在长玻璃上，注意两个分隔条对齐玻璃边缘，夹在两玻璃之间。用四个铁夹子将长短玻璃固定在电泳槽上。用琼脂凝胶封住玻璃和电泳槽底部，用蒸馏水检测不漏水后，将蒸馏水全部倒出。按照SDS-PAGE凝胶配制试剂盒说明书配制分离胶和浓缩胶。用移液枪将分离胶注入长短玻璃间，当分离胶距离小玻璃板边缘1cm时，停止注入分离胶。用移液枪轻轻地沿小玻璃边缘均匀加入蒸馏水，填满两玻璃之间的1cm的空间。静置40min后，倒置玻璃装置，尽可能除尽蒸馏水，立刻用1000ul的移液器吸取浓缩胶，缓缓注入玻璃夹缝中，保证液面与小玻璃边缘齐平，慢慢插入梳子，静置半小时后，待用。

2.4. 样品处理

大豆分离蛋白样品制备：称取1g 大豆分离蛋白，放入100ml小烧杯中，加入超纯水50ml摇匀，配制成豆浆溶液。用移液枪取出1.5ml大豆分离蛋白豆浆溶液中，加入1.5ml的离心管中，备用。

牛奶和椰汁样品制备：用移液枪分别取100ul天润浓缩纯牛奶、蒙牛纯牛奶、伊利纯牛奶、特仑苏牛奶、维他奶，分别装入5个1.5ml的离心管中，各加入900 ul的蒸馏水，混匀，备用。从椰树牌椰汁中取出1.5ml椰汁，加入1.5ml的离心管中，备用。

将大豆分离蛋白、天润浓缩纯牛奶、蒙牛纯牛奶、伊利纯牛奶、维他奶、特仑苏牛奶、椰树牌椰汁7个离心管一起放在浮子上，在水浴锅中沸水浴8min，高速离心机1000rpm离心5min，取出备用。用移液枪分别从6个离心管吸取上清液5ul，转移至20ul的PCR扩增管中，并在6个20ul的PCR扩增管中分别加入10ul的蛋白质上样缓冲液、混匀，制成大豆分离蛋白、天润浓缩纯牛奶、蒙牛纯牛奶、伊利纯牛奶、维他奶、椰树牌椰汁等6个样品的点样样品。

参假牛奶制备：用移液枪分别取50ul特仑苏牛奶和50ul大豆分离蛋白溶液，加入1.5ml的离心管中，加入900 ul的蒸馏水，混匀。在水浴锅中沸水浴8min，高速离心机上1000rpm离心5min。用移液枪吸取离心管上清液5ul，转移至20ul的PCR扩增管中，并加入10ul的蛋白质上样缓冲液、混匀，备用。

2.5. SDS-PAGE电泳

SDS-PAGE凝胶凝固后，拔出梳子，80V预电泳30min后，按照维他奶、大豆分离蛋白、Marker、天润浓缩纯牛

奶、蒙牛纯牛奶、伊利纯牛奶、椰树牌椰汁顺序，使用针式注射器点样6个样品，每个样品10ul，其中维他奶、大豆分离蛋白、天润浓缩纯牛奶各重复一次。

3. 结果与分析

3.1. 特仑苏牛奶、掺假牛奶及大豆标准蛋白粉带型分析

为了更清楚分析和比对特仑苏牛奶、掺假牛奶及大豆标准蛋白粉在SDS-PAGE凝胶带型，我们先对三者进行了SDS-PAGE凝胶电泳，如图1所示。从图1中，我们选择a（大约75 kDa）、b（大约35 kDa）、c（大约33 kDa）三条带型作为大豆标准蛋白粉（2和3泳道）的特征带型；而对特仑苏牛奶（4和5泳道）而言，选择c（大约33 kDa）、d（大约30 kDa）三条带型作为特仑苏标准蛋白粉的特征带型；对于掺假特仑苏牛奶（6和7泳道）而言，具有a、b、c、d四条带。这表明可以用这四条蛋白质带作为特征带，对真假牛奶进行分子鉴定。

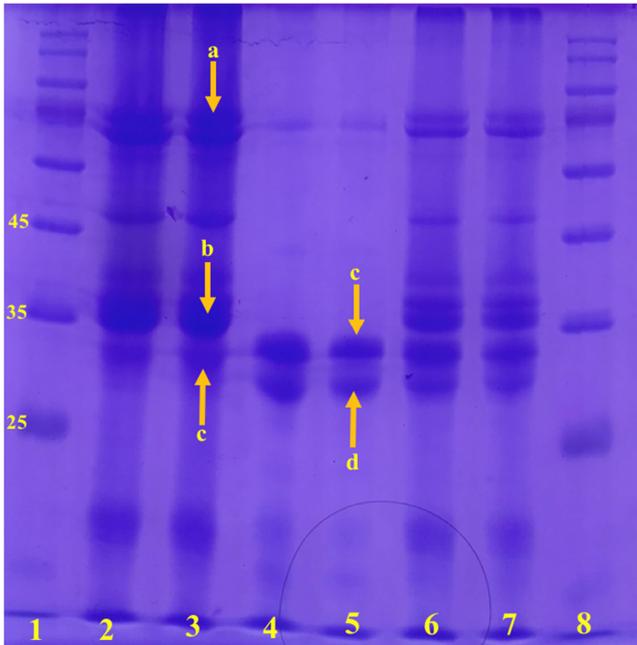


图1 对特仑苏牛奶和大豆标准蛋白粉及掺假牛奶SDS-PAGE胶带型分析。

1、8泳道为蛋白质Marker；2、3泳道为大豆标准蛋白粉；4、5泳道为特仑苏牛奶；6、7泳道为掺入大豆蛋白粉的特仑苏掺假牛奶

3.2. 超市牛奶、豆奶及椰汁SDS-PAGE凝胶蛋白质带型分析鉴定

对超市购买的天润牛奶、蒙牛牛奶、伊利牛奶、维他奶、椰树牌椰汁进行蛋白质SDS-PAGE胶电泳。从图2看到，维他奶（1和2泳道）有a、b、c、d四条带，表明维他奶中不仅含有大豆蛋白，也含有牛奶成分。三种牛奶：天润牛奶（6和7泳道）、蒙牛牛奶和伊利牛奶（分别为8和9泳道）均含有c和两条特征蛋白质带型。对椰汁而言，含有c、d、e三条带，其中，e带为椰汁特有的带，大约25 kDa。这表明椰汁掺入一定量的牛奶成分。

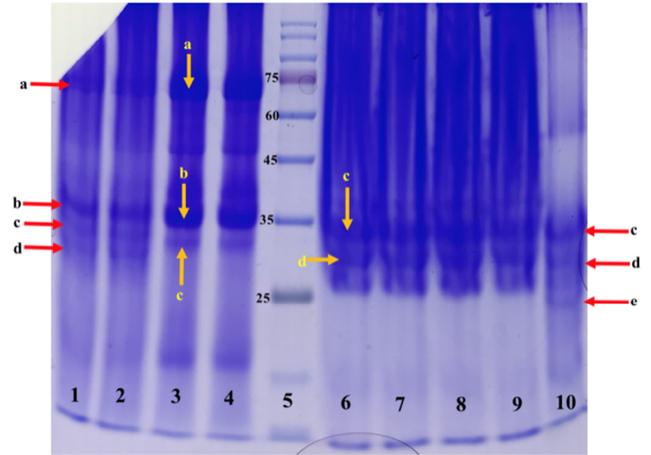


图2 对牛奶、豆奶及椰汁蛋白质SDS-PAGE电泳分析鉴定。

1、2泳道为维他奶；3、4泳道为大豆标准蛋白粉；5泳道为蛋白质Marker；6、7泳道为天润浓缩纯牛奶；8泳道为蒙牛纯牛奶；9泳道为伊利纯牛奶；10泳道为椰树牌椰汁

4. 讨论

4.1. 本研究鉴定出大豆蛋白、牛奶、椰奶特征蛋白质谱带

从图2可以明显看出，对于植物蛋白（大豆蛋白）而言，b与c两条蛋白质带是其较典型蛋白质带；对于牛奶而言，c与d两条蛋白质带是其较典型蛋白质带；对于椰奶而言，c、d及e三条蛋白质带是其较典型蛋白质带。对于大豆蛋白、牛奶和椰奶而言，其蛋白质特征谱带分别为b带、d带及e带。三条蛋白质带，b带、d带及e带分子量分别在35 kDa左右、30 kDa左右、25 kDa左右。因此，利用蛋白质特征谱带可以对三种蛋白质进行分子鉴定。

4.2. 维他奶和椰奶均掺有一定的牛奶成分

按照维他奶的配料，维他奶是保留了大豆本身的营养成分，由纯天然非转基因大豆为主要原料制作而成，但含有乳粉成分。本研究通过SDS-PAGE蛋白质凝胶电泳，也鉴定出维他奶含有大豆蛋白和牛奶两种蛋白的特征谱带，即b带与d带。而对椰汁而言，含有c、d、e三条带，其中，e带为椰汁蛋白的特征谱带，d带为牛奶蛋白的特征谱带，这表明椰汁掺入一定量的牛奶成分。从椰树牌椰汁饮料配料表也可以看出，椰汁中除了含有鲜椰肉汁外，还添加了从牛奶中提取的酪蛋白成分。

4.3. SDS-PAGE胶蛋白质凝胶电泳可以对不同种类的蛋白质进行分子鉴定

本研究通过对大豆蛋白、牛奶、维他奶、椰奶四种蛋白进行SDS-PAGE胶蛋白质凝胶电泳，成功找到了大豆蛋白、牛奶、椰奶的特征谱带，并据此鉴定出维他奶与椰奶表面均含有一定量的牛奶成分，这表明通过SDS-PAGE胶蛋白质凝胶电泳可以对不同类型蛋白质和混合蛋白进行分子鉴定，其结果准确、可靠。

5. 结论

不同的蛋白质具有不同的蛋白质特征谱带。利用 SDS-PAGE 凝胶电泳技术可以研究不同种类蛋白质特征谱带, 并可以对不同种类蛋白质进行分子鉴定。

致谢

本文为广东省科技发展专项资金“大专项+任务清单”项目(2020sdr009, 2019-319)的阶段性成果之一。

参考文献

- [1] 马冠生, 张建芬, 张曼. 植物蛋白和动物蛋白, 吃哪个更好 [J]. 农村新技术, 2022, No. 505 (09): 66.
- [2] 赵博, 赵元寿, 苏小红. 大豆蛋白的研究进展 [J]. 甘肃科技纵横, 2021, 50 (12): 19-21+24.
- [3] 张猛. 富含牛奶蛋白的饮料对女性运动后能量摄入的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38 (04): 1883-1891.
- [4] 林源, 吴毓炜, 王焱等. 椰浆中椰子蛋白的提取、分离和鉴定 [J]. 热带作物学报, 2021, 42 (04): 1106-1112.
- [5] 陈春梅, 王确, 周国强等. 植物蛋白及其产品应用的研究进展 [J]. 现代食品, 2022, 28 (20): 53-62.
- [6] 梁华梁, 李珂, 冯策. 中国豆奶市场竞争情况盘点 [J]. 乳品与人类, 2020, No. 110 (01): 26-35.
- [7] 杨硕, 李诗瑶, 王鸣秋等. 市售椰子汁 (植物蛋白饮料) 中椰子、大豆、花生源性成分鉴定的分子生物学方法 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37 (10): 4511-4517.
- [8] 庞婕, 胥小容, 孔庆岩, 等. 运用PCR定量分析植物蛋白饮料中杏仁源性成分的研究 [J]. 食品安全导刊, 2022, 95-98.
- [9] 项爱丽, 段晓然, 梅汝蕃, 等. 基于PCR检测技术鉴别羊肉掺假的研究进展. 食品工业, 2022, 43 (06): 267-270.
- [10] 赵俊鑫, 李亚辉, 祁翰蒙, 等. 基于多种检测技术分析乳制品成分和质量的研究 [J]. 中国乳制品, 2023, 51 (01): 41-46.
- [11] Yuan Lin, Yan Wang, Zherong Ji, et al. Isolation, Purification, and Identification of Coconut Protein through SDS-PAGE, HPLC, and MALDI-TOF/TOF-MS [J]. Food Analytical Methods, 2020, 13 (prepublish).
- [12] Lili Guo, Yajun Wu, Mingchang Liu, et al. Determination of edible bird's nests by FTIR and SDS-PAGE coupled with multivariate analysis [J]. Food Control, 2017, 80.
- [13] Uysal Reyhan Selin, Acar-Soykut Esra, Boyaci Ismail Hakki. Determination of yolk: white ratio of egg using SDS-PAGE. [J]. Food science and biotechnology, 2020, 29 (2).
- [14] 孙潇慧, 李新玲, 霍胜楠等. 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术及国内外蜂蜜掺伪检测技术研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10 (16): 5288-5292.
- [15] 刘利娟. SDS-PAGE法对乳及乳制品中主要蛋白的定性和定量分析 [J]. 食品界, 2022 (03), 97-99.
- [16] 张小慧, 王世伟, 席啸虎, 等. SDS-PAGE凝胶电泳对驴皮胶及常见伪品胶中的蛋白分析研究. 中医药导报, 2023, 29 (02): 47-49.