

# 大豆蛋白中抗原物质的研究进展

赵元<sup>1</sup>, 秦贵信<sup>1</sup>, 张晓东<sup>2</sup>, 孙泽威<sup>1</sup>, 鲍男

(1. 吉林农业大学动物科技学院, 长春 130118; 2. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 哈尔滨 150001)

**摘要** 自发现大豆蛋白中抗原物质可引起幼龄动物发生过敏以来, 大豆抗原的研究受到广大学者所关注。在某种程度上, 它们的存在影响了大豆的营养价值, 从而限制了其广泛利用。本文综述了大豆抗原分离提纯与有效加工灭活的方法, 以及大豆抗原在仔猪、犊牛和鼠体内抗营养作用及消化动力学的研究进展, 为进一步完善其致敏机理提供科学参考。

**关键词** 大豆抗原; 分离提纯; 抗营养; 消化; 加工处理

**中图分类号** S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)04-0613-05

## ADVANCES IN ANTIGENIC MATTER OF SOYBEAN PROTEIN

ZHAO Yuan<sup>1</sup>, QIN Gui-xin<sup>1\*</sup>, ZHANG Xiao-dong<sup>2</sup>, SUN Ze-wei<sup>1</sup>, BAO Nan<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118;  
2. Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150001)

**Abstract** Since the fact that the antigenic matter of soybean protein could cause young animal allergy was found, the study on soybean antigen has made people pay more attention to this. To some extent, the nutritional value of soybean was affected by their existence. This article summarized the method of isolated purification and effective processing deactivation of soybean antigen, as well as advances in anti-nutrition function and digestion dynamics of soybean antigen in piglets, calves and rats, providing the scientific basis to make their allergic mechanism perfect further.

**Key words** Soybean antigen; Isolated purification; Anti-nutrition; Digestion; Processing

大豆是人和动物营养需求的主要来源, 但大豆蛋白中抗原物质的存在影响了大豆及其加工产品在配制幼龄动物饲料时的广泛利用, 其中以 Glycinin 和  $\beta$ -Conglycinin 的免疫原性最强。最早发现, 大豆抗原能引起婴儿或幼龄动物产生过敏反应, 从而造成肠道损伤(孙泽威等, 2005)<sup>[1]</sup>。近些年来, 大豆抗原的研究仍受广大学者所关注, 现将目前的相关

研究进展做一综述。

## 1 大豆抗原的分离提纯

目前分离 Glycinin 和  $\beta$ -Conglycinin 的方法已有多种, 其中常见的方法有免疫学方法 (Immunological Methods)<sup>[2]</sup>、简化膜中间试验程序 (Simpli-

收稿日期: 2007-01-10

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (30430520)

作者简介: 赵元 (1981), 女, 博士研究生, 研究方向饲料抗营养因子。

通讯作者: 秦贵信, 教授, 博士研究生导师。

fied Membrane Pilot—Plant Procedure)<sup>[4]</sup>、修正的那哥诺法(Modified Nagano Method)<sup>[3]</sup>、雷继鹏简化法<sup>[4]</sup>。现将四种分离方法的提纯效果进行比较,结果见表1(表中结果均为理论值)。简化法、修正法、雷法三种提纯方法的产率均远高于免疫学法,雷法提纯的两种蛋白产量最高;从产物纯度上看,免疫学法分离提纯的两种抗原蛋白的纯度最高(>98%),趋于纯品,利用其他三种方法分离产物纯度不大,雷法分离产物的纯度最差,而且修正法的产物中还混有4.8%中间蛋白分离物。综合考虑,免疫法适于精密的微量研究,而简化法更适合批量生产。

表1 四种分离方法的比较

Table 1 Comparison of four separation methods(%)				
项目 Item	大豆球蛋白 Glycinin		β-大豆球蛋白 β-Conglycinin	
	产率 Output	纯度 Purity	产率 Output	纯度 Purity
免疫学方法 Immunological methods	5	>98	5	>98
简化膜中间试验程序 Simplified Membrane Pilot—Plant Procedure	9.7	92.8	19.6	62.6
修正的那哥诺法 modified Nagano method	9.4	90.3	10.3	71.3
雷继鹏简化法 Lei Jipeng Simplified method	15.3	72.2	18.7	—

2 大豆抗原的抗营养作用研究

早在1934年,Duke<sup>[5]</sup>提出大豆蛋白对人有致敏性。随后,学者们发现大豆中的大豆球蛋白和β-伴大豆球蛋白均可导致仔猪<sup>[1]</sup>、犊牛<sup>[6]</sup>和鼠<sup>[7]</sup>等幼龄动物发生过敏反应。

2.1 大豆抗原对仔猪的影响

由于仔猪的消化系统发育尚不成熟,分泌酸和消化酶的能力不足,当大量未消化的大豆抗原物质直接被肠道吸收后,引起过敏反应,主要表现在血清中大豆抗原特异性抗体显著升高,同时造成肠道损伤、腹泻等不良反应的发生<sup>[1]</sup>。

詹冬玲<sup>[8]</sup>比较了热处理前、后的大豆对仔猪的免疫应答反应的影响。结果表明:从仔猪血清抗体滴度来看,初生时,热处理前、后大豆组和不含大豆日粮组之间差异不显著( $P>0.05$ );7日龄时,热处

理前、后大豆组显著高于不含大豆日粮组( $P<0.01$ ),而热处理前、后组间差异不显著( $P>0.05$ );28日龄时,大豆组极显著高于热处理大豆组,它们又极显著高于不含大豆日粮组( $P<0.01$ ),且与7日龄相比,呈明显上升趋势;从过敏程度上看,热处理前大豆组显著高于热处理后大豆组和不含大豆日粮组,不含大豆日粮组的过敏程度最低,且各组间差异极显著( $P<0.01$ ),且注射大豆球蛋白的仔猪均高于β-伴大豆球蛋白。

刘海燕<sup>[9]</sup>继续比较了生大豆日粮对不同品种母猪繁殖性能、仔猪生长性能及免疫应答反应的影响。结果表明:生大豆作为妊娠母猪唯一或主要蛋白源,对母猪的产仔数、仔猪初生重、泌乳力等繁殖性能没有任何不良影响<sup>[10,11]</sup>。长白仔猪较松辽黑仔猪对大豆抗原蛋白的刺激敏感;大豆球蛋白对猪的影响比β-伴大豆球蛋白大;母猪初乳中抗大豆抗原抗体的浓度对仔猪的生长性能影响很小。

2.2 大豆抗原对犊牛的影响

由于反刍前犊牛的消化系统发育尚不完善,当未被消化的大豆抗原被肠道吸收后,可引起犊牛发生过敏反应,主要表现为血清中大豆抗原特异性抗体浓度升高,小肠绒毛萎缩,隐窝增生,从而导致犊牛生产性能的下降<sup>[1]</sup>。

孙泽威<sup>[10]</sup>比较了大豆中主要抗原蛋白对犊牛致敏作用、生长性能、消化吸收能力的影响。结果表明:从10日龄起,饲喂生、熟豆粉的犊牛全部开始腹泻,并可见脱落的肠黏膜,其中生豆粉组腹泻程度、持续时间均超过熟豆粉组犊牛。营养物质消化率、增重及血浆木糖浓度均表现为生豆粉组<熟豆粉组<乳蛋白组,且三组间差异极显著( $P<0.01$ )。同时,孙泽威又以提纯的大豆球蛋白、β-伴大豆球蛋白及其相邻峰值收集物为抗原,采用ELISA法测定血清中特异性抗体滴度。结果表明:所有犊牛血清中均有上述抗原的特异性抗体,但生豆粉组、熟豆粉组的抗体水平均显著高于乳蛋白组( $P<0.01$ );熟豆粉组大豆球蛋白相邻峰、β-伴大豆球蛋白及其相邻峰特异性抗体滴度均显著低于生豆粉组,而大豆球蛋白抗体滴度与生豆粉组无显著差异。另外,饲喂初乳后,3日龄血清抗体滴度出现一个峰值;在持续饲喂大豆蛋白的情况下,6周龄内血清抗体持续升高,未见下降趋势,其中β-伴大豆球蛋白相邻峰致敏性高于大豆球蛋白、β-伴大豆球蛋白和大豆球蛋白相邻峰;β-伴大豆球蛋白在30日龄前致敏性

高于大豆球蛋白和大豆球蛋白相邻峰。

### 2.3 大豆抗原对鼠的影响

对于啮齿动物,大豆球蛋白和 $\beta$ -伴大豆球蛋白的致敏反应主要表现为肠黏膜下淋巴细胞增多、隐窝细胞有丝分裂速度加快、绒毛虚脱、小肠刷状缘酶浓度及其活性下降,最后导致吸收不良甚至腹泻<sup>[11]</sup>。Aoyama等<sup>[12]</sup>在研究测定除去植酸盐的 $\beta$ -伴大豆球蛋白对幼鼠和成年鼠血脂的影响时发现,用 $\beta$ -伴大豆球蛋白来饲喂幼鼠其增重显著降低,对成年鼠增重无影响。另外, $\beta$ -伴大豆球蛋白导致幼鼠和成年鼠的相对肝重下降,并显著降低二者的血浆总胆固醇及甘油三酯的水平。

## 3 大豆抗原在体内消化的研究

以往的相关研究多集中在大豆抗原诱导过敏反应发生的现象及其致敏机理上,而关于大豆抗原在动物体内的消化等方面研究较少,且对其的吸收机制更无提及。早先关于大豆抗原蛋白质消化的研究,只是从生物化学角度展开的,着重探讨大豆抗原被消化后其结构组分的变化。

研究表明,大豆蛋白在人和鼠<sup>[13,14]</sup>体内的消化能力与牛奶相近,而在犊牛<sup>[15-17]</sup>和仔猪中<sup>[18,19]</sup>体内,其消化能力低。而且,大豆球蛋白对哺乳动物的消化酶有一定的抵制性,即使经加工处理后仍不易被消化<sup>[20,21]</sup>。体内研究表明,大豆球蛋白中的酸性多肽链比碱性多肽链水解速度快,且对于大豆球蛋白,胃蛋白酶比胰蛋白酶的消化作用更为广泛<sup>[22]</sup>。若根据不同的试验条件,大豆球蛋白的酸性多肽链可被胃蛋白酶降解为分子量16000<sup>[22]</sup>,12000<sup>[23]</sup>,甚至7000<sup>[24]</sup>的肽段;而大豆球蛋白的碱性多肽链被胰酶制剂完全降解后,主要产生一个分子量为16000的片段<sup>[22]</sup>。然而,有关 $\beta$ -伴大豆球蛋白消化情况的报道很少,仅Astwood等<sup>[25]</sup>提到: $\beta$ 亚基对胃消化的抵制性大于 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 亚基,且这与其萌发过程<sup>[26]</sup>或绵羊瘤胃发酵<sup>[27,28]</sup>中 $\beta$ -伴大豆球蛋白的降解次序相一致。

但是,针对在消化过程中,大豆中抗原物质免疫活性的变化情况尚未进行广泛研究。在体内外试验中,检验单一蛋白的消化情况可以采用常规的蛋白质化学法,如电泳法,而这这就要求从混合物中分离出来某种目的蛋白<sup>[29,30]</sup>。然而,对于日粮中某种有抗原性的蛋白质而言,为检测其消化性,可以采用免疫

学方法进行研究,因为特异抗体具有高度识别其相应抗原的能力减少了分离某一蛋白的麻烦。1984年,Sission和Thurston<sup>[20]</sup>首次提出了在牛回肠消化物中存在具有免疫活性的大豆球蛋白及 $\beta$ -伴大豆球蛋白。九年后(1993年),Tuker<sup>[17]</sup>用ELISA方法检测了牛回肠外流的大豆球蛋白及 $\beta$ -伴大豆球蛋白,得出有免疫活性球蛋白的数量分别为10.3%和0.9%。

近年来,学者们针对大豆球蛋白及 $\beta$ -伴大豆球蛋白在消化过程中免疫活性的变化,分别在仔猪<sup>[31]</sup>、犊牛<sup>[32]</sup>和鼠<sup>[33]</sup>体内展开研究。Perez<sup>[33]</sup>的研究结果表明:在鼠体内,与在胃中的情况相比,两种球蛋白在小肠前端的活性均有所升高,且 $\beta$ -伴大豆球蛋白在胃肠中受抑制的程度明显大于大豆球蛋白,当到了消化道后段,两种球蛋白都消失。Lalles<sup>[32]</sup>在试验中发现:在犊牛胃中,大豆球蛋白几乎全被破坏,而多数的 $\beta$ -伴大豆球蛋白仍保持完整;但大豆球蛋白的降解产物在回肠存留的时间比 $\beta$ -伴大豆蛋白长。

赵元<sup>[31]</sup>用含有大豆球蛋白及蒸汽处理前、后的 $\beta$ -伴大豆球蛋白的代乳料饲喂21~26日龄的仔猪,通过竞争ELISA法对有免疫活性的纯化大豆抗原在仔猪体内进行消化动力学方面进行研究。与Lalles<sup>[34]</sup>的研究结果相似:随着消化道的延续,大豆球蛋白及 $\beta$ -伴大豆球蛋白的免疫活性均呈下降趋势,在胃中下降为25%~40%,小肠下降为78%~98%。在整个消化过程中, $\beta$ -伴大豆球蛋白受抑制的程度明显大于大豆球蛋白( $P<0.05$ ),前者直到结肠才完全丧失,但在猪的空肠中段时,就已检不到有活性的大豆球蛋白,这些结果与在鼠体内的研究<sup>[33]</sup>相一致,但不同于在犊牛<sup>[17,32]</sup>体内的报道,这表明反刍动物与单胃动物在消化大豆球蛋白方面存在明显的差异。蒸汽热处理前、后 $\beta$ -伴大豆球蛋白的免疫活性差异显著:在胃、空肠和盲肠中,处理后的 $\beta$ -伴大豆球蛋白活性降低幅度显著高于未处理前水平( $P<0.05$ )。

## 4 大豆抗原的加工处理

大豆球蛋白和 $\beta$ -伴大豆球蛋白为热稳定的抗营养因子,直接加热不能彻底破坏。詹冬玲<sup>[8]</sup>,孙泽威<sup>[10]</sup>等先后在仔猪、犊牛体内证明了对生大豆进行120℃,7.5 min的蒸汽热处理,不能完全地使其中

的大豆球蛋白和β-伴大豆球蛋白等抗原物质完全灭活,对动物仍有不良影响。但孙鹏<sup>[36]</sup>在鼠体内的研究表明:蒸汽热处理(120℃,7.5 min)可使大豆球蛋白含量明显减少,免疫原性丧失;而β-伴大豆球蛋白经同样处理后,含量虽稍有下降,其免疫原性却依然存在。Li<sup>[35]</sup>等的研究表明:热处理(膨化)和乙醇溶液提取过程的组合工艺是有效降低大豆抗原蛋白的加工方式。

5 结语

大豆抗原物质的存在影响了幼龄动物对生大豆饲料的直接利用,最近的研究多集中在大豆抗原分离提纯和有效加工灭活的方法,以及大豆抗原在仔猪、犊牛和鼠体内抗营养作用与消化动力学等方面。从动物营养学的角度着手,后续工作将探讨大豆抗原在体内代谢的情况,为进一步完善其致敏机理提供科学参考。

参 考 文 献

[1] 孙泽威,秦贵信,娄玉杰. 大豆抗原及其对仔猪和犊牛的影响[J]. 动物营养学报,2005,17(1):20-24.

[2] Iwabuchi Setsuko,Yamauchi Fumio. Determination of glycinin and β-conglycinin in soybean protein by immunological methods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1987,35:200-205.

[3] Wu SW,Murphy P A,Johnson L A,et al. Simplified process for soybean glycinin and β-conglycinin fractionation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2000,48:2702-2708

[4] 雷继鹏. 分离 7S 和 11S 大豆球蛋白简便方法[J]. 粮食与油脂,2003,6:6-7.

[5] Duke W W. Soybean as a possible important source of allergy [J]. Journal of Allergy,1934,5:300.

[6] Dawson,D P,Morrill J L,Reddy,P G,et al. Soya protein concentrate and heated soya flours and as protein sources in milk replacers for preruminant calves[J]. Journal of Dairy Science, 1988,71:1301-1309.

[7] Mowat A M,Ferguson A. Hypersensitivity in the small intestine . V. Induction of cell mediated immunity to a dietary antigen [J] .Clinical and Experimental Immunology, 1981, 43:574.

[8] 詹冬玲. 大豆对母猪和仔猪生产性能及免疫反应的影响[D]. 长春:吉林农业大学硕士论文,2002:1-2.

[9] 刘海燕,秦贵信,姜海龙,等. 生大豆对两品种母猪繁殖性能及仔猪生产性能的影响[J]. 饲料工业,2004,25(9):15-18.

[10] 孙泽威. 大豆中主要抗原物质对犊牛的影响[D]. 长春:吉林农业大学硕士论文,2003:45.

[11] Stokes, C. R. , Newby, T. J. , Bourne, F. J. The mucosal immune system. Current Topics[J]. Vet. Med. Anim. Science. , 1981,12:724-739.

[12] Aoyama T,Kohno M,Saito T,et al. Reduction by phytate-reduced soybean β-conglycinin of plasma triglyceride level of Young and Adult Rats[J]. J. Biosci. Biotechnol. Biochem. , 2001,65(5),1071-1075.

[13] Bagglieri A, Mahe S, Zidi S, et al. Gastrojejunal digestion of soya-bean-milk protein in humans[J]. Br Nutr,1994,72: 519-532.

[14] Bodwell C E,Satterlee L D ,Hackler L R. Protein digestibility of the same protein preparations by human and rat assays and by in vitro enzymic digestion methods [J]. Am Clin Nutr, 1980,33:677-686.

[15] Guilloteau P, Toullec R, Grongnet J F, et al. Digestion of milk, fish and soya bean protein in the preruminant calf :flow of digesta , apparent digestibility at the end of the ileum and amino acid composition of ileal digesta[J]. Br Nutr,1986,55: 571-592.

[16] Nunes do Prado I, Toullec R, Guilloteau P ,Gueguen J. Digestion des proteines du pois et du soya chez le veau preruminant. II. Digestibilite apparent a la fui de I ileon et du tube digestif[J]. Reprod Nutr Develop . 1989,29:425-439.

[17] Tukur H M,Lalles J P,Mathis C,et al. Digestion of soybean globulins, glycinin, α-conglycinin and β-conglycinin in the preruminant and ruminant calf[J]. Can Anim Science, 1993, 73:891-905.

[18] Leibholz J. Digestion in the pig between 7 and 35 d of age. 6. The digestion of hydrolysed milk and soya bean proteins[J]. Br Nutr 1981,46:59-69.

[19] Newport M J,Keal H D. Artificial rearing of pigs. 12. Effect of replacement of dried skim-milk by either a soya-protein isolate or concentrate on the performance of the pigs and digestion of protein [J]. Br Nutr,1982,48:89-96.

[20] Sissions J W, Thurston, S. M. Survival of dietary antigens in the digestive tract of calves intolerant to soyabeen products [J]. Res. Vet. Science,1984,37:242-246.

[21] Nielsen S S,Deshpande,S S,Hermudson, M. A. ,et al. Comparative digestibility of legume storage proteins [J]. J. Agric. Food Chem,1988,36:896-902.

[22] Kella N K D,Barbeau W E, Kinsella J E. Effect of oxidative sulfitolysis of disulfide bonds of glycinin on solubility, surface hydrophobicity, and in vitro digestibility [J]. J. Agric. Food Science. 1986,34:251-256.

[23] Lynch C J,Rha C K,Catsimpoalas,N. Note on the rapid proteolysis of glycinin by pepsin and trypsin[J]. Cereal Chem, 1977,54:1282-1285.

[24] Richardson D P,Catsimpoalas N. The effect of thermal denaturation on the tryptic hydrolysis of glycinin [J]. J. Sci. Food

- Agric, 1979, 30: 463—468.
- [25] Astwood J D, Leach J N, Fuchs R L. Stability of food allergens to digestion in vitro[J]. Nat. Biotechnol, 1996, 14: 1269—1273.
- [26] Bau A M, Villaume C; Nicolas J P, et al. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds [J]. J. Science. Food Agric. 1997, 73: 1—9.
- [27] Romagnolo D, Polan C E, Barbeau W E. Degradability of soybean meal protein fractions as determined by sodium dodecyl sulfate—polyacrylamide gel electrophoresis[J]. J. Dairy Science, 1990, 73: 2379—2385.
- [28] Aufrere J, Graviou D, Michalet-Doreau, B. Degradation in the rumen of protein of two legumes, soybean meal and field pea [J]. Reprod. Nutr. Dev, 1994, 34: 483—490.
- [29] Boonvisut S, Whitaker J R. Effect of heat, amylase and disulphide bond cleavage on the in vitro digestibility of soyabean proteins[J]. Agric Food Chem, 1976, 24: 1130—1135.
- [30] Santoro L G, Grant G, Pusztai A. Differences in the degradation in vitro and in vitro of phaseolin, the major storage protein of *Phaseolus vulgaris* seeds [J]. Biochem Soc Trans, 1988, 16: 612—613.
- [31] 赵元. 大豆球大豆球蛋白及  $\beta$ -伴大豆球蛋白在仔猪体内消化动力学研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2006: 31.
- [32] Perez M D, Mills E N C, Lambert N, et al. The use of anti-soya globulin antisera in investigating soya digestion in vivo [J]. Science of Food and Agriculture, 2000, 80: 513—521.
- [33] Lalles J P, Tukur H M, Salgado P, et al. Immunochemical studies on gastric and intestinal digestion of soybean Glycinin and  $\beta$ -Conglycinin in Vivo [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 2797—2806.
- [34] 孙鹏, 秦贵信. 蒸汽处理对纯化大豆抗原含量及免疫原性的影响[J]. 中国兽医学报, 2006, 26(5): 551—554.
- [35] Li D F, Nelssen J L, Reddy P G, et al. Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins and growth performance in early-weaned pigs [J]. Journal of Animal Science, 1991, 69: 4062—4069.
- ~~~~~
- (上接 612 页)
- [77] Nagel L, Brewster R, Riedell W E, Reese R N. Cytokinin regulation of flower and pod set in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) [J]. Annals of Botany, 2001, 88: 27—31.
- [78] Weiler E W, Ziegler H. Determination of phytohormones in phloem exudate from tree species by radioimmunoassay [J]. Planta, 1981, 152: 168—170.
- [79] 王罡, 王萍, 吴颖. 生长素诱导大豆未成熟子叶胚胎发生效应的研究[J]. 吉林农业科学, 2002, 27(2): 7—10.
- [80] Reed A J, Singletary G W. Roles of carbohydrate supply and phytohormones in maize kernel abortion [J]. Plant Physiol., 1989, 91: 986—992.
- [81] 张凤路, 王志敏, 赵明, 等. 玉米籽粒败育过程的激素变化[J]. 中国农业大学学报, 1999, 4(3): 1—4.
- [82] Brocard—Gifford I M, Lynch T J, Finkelstein R R. Regulatory network in seeds integrating developmental, abscisic acid, sugar, and light signaling [J]. Plant Physiology, 2003, 131: 78—92.
- [83] Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants [M]. 3rd ed. New York, Academic Press, 1997.
- [84] 周燮. 植物激素的研究动向 [J]. 世界农业, 1994, 4: 16—18.
- [85] 李宗霆, 周燮. 植物激素及其免疫检测技术 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996. 114—116.
- [86] Kakiuchi K, Kobata T. Shading and thinning effects on seed and shoot dry matter increase in determinate soybean during the seed—filling period [J]. Agron. J., 2004, 96: 398—405.
- [87] 常汝镇, 邱丽娟, 李向华. 我国大豆的生产和创新研究 [J]. 中国农学通报, 2001, 17(3): 91—93.