



大豆 β -Conglycinin 对鱼类健康的影响及分离方法

李 良, 吴莉芳, 朱 瑞, 李 民, 王婧瑶, 段 晶, 于 哲

(吉林农业大学 动物科学技术学院/动物生产及产品质量安全教育部重点实验室/动物营养与饲料科学重点实验室, 吉林 长春 130118)

摘 要:大豆抗原蛋白是限制大豆蛋白在水产饲料中广泛应用的主要因素。 β -伴大豆球蛋白(β -Conglycinin)是免疫原性最强的大豆抗原蛋白,饲料中 β -Conglycinin 含量过高会导致鱼类生长速度下降、消化酶活力下降、肠道组织发生损伤,甚至死亡。本文概述 β -Conglycinin 的理化性质、对鱼类生长性能、肠道组织、消化酶活力、非特异性免疫指标和抗氧化能力的影响、分离提纯方法及去除工艺,为进一步研究大豆抗原蛋白的致敏机理提供参考,同时为合理开发利用大豆蛋白源提供依据。

关键词:大豆; β -Conglycinin;理化性质;鱼类;饲料;健康

Effects of Soybean β -Conglycinin on Fish Health and Methods of Separation

LI Liang, WU Li-fang, ZHU Rui, LI Min, WANG Jing-yao, DUAN Jing, YU Zhe

(College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University/Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Key Laboratory of Animal Production and Product Quality Safety, Changchun 130118, China)

Abstract: Soybean antigen protein is a major factor limiting the widespread use of soy protein sources in aquafeeds. β -Conglycinin is the most immunogenic soybean antigen protein. The high content of β -Conglycinin in fish feed can result in decreased fish growth rate and digestive enzyme activity, intestinal damage, and even death. This paper summarized the physicochemical properties, separation and purification methods, removal process of β -Conglycinin and its effects on fish growth performance, intestinal tissue, digestive enzyme activity, non-specific immune index and antioxidant ability. This study provides reference for further research on the sensitisation mechanism of soybean antigenic protein, reasonable development and utilization of soybean protein source.

Keywords: Soybean; β -Conglycinin; Physicochemical properties; Fishes; Feed; Health

大豆及其制品因来源广泛和营养价值高而被广泛应用于人类食品工业及动物饲料行业中,成为人及动物重要的植物蛋白来源。但是由于大豆及其制品中含有抗营养因子(anti-nutritional factors, ANF),对人和动物有明显的抗营养作用,这严重地限制了大豆蛋白质的开发与利用。大豆抗原蛋白是对人和动物影响最大的抗营养因子之一^[1]。其中,免疫原性最强的大豆抗原蛋白是 Glycinin 和 β -Conglycinin,并且 β -Conglycinin 比 Glycinin 具有更强的抗原性^[2]。 β -Conglycinin 是限制大豆及其制品在人类食品工业及动物饲料行业中广泛应用的主要因素之一, β -Conglycinin 占大豆籽实总蛋白含量的 10.0% ~ 12.7%,占大豆总球蛋白含量的 30% 以上^[3]。研究发现, β -Conglycinin 进入动物体内后,可导致动物机体发生过敏反应,胃肠道发生免疫损伤,进而动物机体发生过敏性腹泻和消化吸收障碍,甚至死亡^[4]。研究对象多为仔猪^[5]、犊牛^[6]、羔羊^[7]和小鼠^[8]等陆生动物,较少为水产动物,如鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[9]、埃及胡子鲇(*Clarias leath-*

er)^[10]、草鱼(*Ctenopharyngodonidellus*)^[10]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[11]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)^[12]和建鲤(*Cyprinus carpio* var. *Jian*)^[13]等。本文概述 β -Conglycinin 的理化性质、对鱼类生长性能、肠道组织、消化酶活力、非特异性免疫指标和抗氧化能力的影响、分离提纯方法及去除工艺,旨在为进一步研究 β -Conglycinin 的致敏机理提供参考;为合理开发利用大豆蛋白源,节约鱼粉蛋白,优化鱼类饲料配方,降低饲料成本提供理论依据。

1 β -Conglycinin 的理化性质

β -Conglycinin 是 7S 球蛋白的主要成分,是重要的大豆贮藏蛋白,占总球蛋白的 30.0% 以上,含 4% ~ 5% 糖基(氨基葡萄糖和甘露糖残基),为糖基化蛋白质^[3]。 β -Conglycinin 是由 α 亚基(alpha subunit)、 α' 亚基(alpha prime subunit)和 β 亚基(β -subunit)构成的分子量为 140 ~ 180 ku 的三聚体化合物,这 3 种亚基的含量分别为 45%、35% 和 20%,相对分子量分别为 68,72 和 52 ku,等电点分别为 4.90,5.18 和

收稿日期:2018-11-15

基金项目:吉林省科技厅自然科学基金(20170101026JC)。

第一作者简介:李良(1995-),男,硕士,主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 979288075@qq.com。

通讯作者:吴莉芳(1970-),女,博士,教授,主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: wulifang2915@126.com。

5.66~6.00,热稳定性为 $\beta > \alpha' > \alpha$ ^[14]。这3种亚基在组成上呈现多样性,表现为: $\alpha x \alpha' y \beta z$ (x, y, z 代表相对应亚基的数量),目前已经在天然 β -Conglycinin中发现6种聚合方式,为 $\alpha \alpha \alpha$ 、 $\alpha \alpha \alpha'$ 、 $\alpha \alpha \beta$ 、 $\alpha \alpha' \beta$ 和 $\alpha' \beta \beta$,有些大豆品种还含有 β' 亚基^[15]。 α 亚基、 α' 亚基和 β 亚基分别含有氨基酸数量为623,621和439个,均富含天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸和精氨酸,其中 α 和 α' 亚基含有少量的蛋氨酸,但都缺乏胱氨酸,而 β 亚基则不含蛋氨酸^[16]。 β -Conglycinin的 α -螺旋、 β -折叠和无规则卷曲分别占5%、35%和60%。研究发现,3种亚基中以 α 和 α' 亚基的抗原性最强^[17-19]。

同时, β -Conglycinin的亚基具有异质性,根据这种异质性,可以分离出7种 β -Conglycinin,命名为B0~B6,亚基组成分别为 3β 、 $1\alpha' 2\beta$ 、 $1\alpha 2\beta$ 、 $1\alpha 1\alpha' 1\beta$ 、 $2\alpha 1\beta$ 、 $2\alpha 1\beta'$ 和 3α 。

2 β -Conglycinin对鱼类健康的影响

2.1 对鱼类生长性能的影响

鱼类生长是指鱼体进行物质累积、体积增加、重量增加的过程。有研究发现,日粮中 β -Conglycinin含量过高会导致仔猪、小鼠生长缓慢,生长性能下降^[20-22]。为了研究饲料中 β -Conglycinin含量对鱼类生长性能的影响,国内外学者做了相关研究。吴莉芳等^[10]的研究表明,当饲料中添加 $40\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ β -Conglycinin时,鲤鱼、埃及胡子鲇和草鱼特定生长率、饲料效率和蛋白质效率下降。在大菱鲆^[12,23]、建鲤^[13]的配合饲料中添加一定量的 β -Conglycinin,可引起大菱鲆、建鲤特定生长率、饲料效率和蛋白质含量显著下降。Rumsey等^[11]研究表明,当饲料中含 $34.4\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ β -Conglycinin时,会引起虹鳟肠道的结构发生变化,进而导致虹鳟生长缓慢,生长性能下降。以上研究表明,在鱼类饲料中 β -Conglycinin含量过高,会导致鱼类的特定生长率、饲料效率下降,生长性能下降^[24-26]。这可能是因为饲料中 β -Conglycinin含量过高会导致鱼类肠道发生过敏反应,破坏了鱼类肠道的完整性,使肠道内蛋白酶活力下降,从而降低了肠道对营养物质的消化吸收,降低了鱼类的消化率,抑制了鱼类体蛋白的沉积,最终导致鱼类生长性能下降。

2.2 对鱼类肠道组织的影响

鱼类肠道存在于腹腔内,始于食道终于肛门,是鱼类重要的消化吸收器官。有研究发现,日粮中 β -Conglycinin含量过高会导致仔猪、小鼠的肠道组织中出现损伤,绒毛发生断裂或破损,皱襞高度下降^[21,27]。为了研究饲料中 β -Conglycinin含量对鱼

类肠道组织的影响,国内外学者做了相关研究。吴莉芳等^[10]的研究中发现,在饲料中添加 $40\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ β -Conglycinin时,鲤鱼和埃及胡子鲇中肠、后肠及草鱼前肠、中肠、后肠的皱襞高度显著下降,埃及胡子鲇后肠和草鱼前肠的绒毛出现断裂或破损,肠道组织出现不同程度的损伤。Rumsey等^[11]的研究发现,饲料中含有 $58.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Glycinin和 $34.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ β -Conglycinin的豆粕会导致虹鳟肠道发生病理变化,肠道皱襞高度下降,皱襞数量减少。在建鲤^[13]和大菱鲆^[28]的配合饲料中分别添加8%和6% β -Conglycinin会造成建鲤、大菱鲆肠道绒毛发生损伤,肠道皱襞高度显著下降。以上研究表明, β -Conglycinin进入鱼类肠道以后,会导致肠道皱襞高度下降,对营养物质吸收功能降低,进而导致机体消化吸收障碍。这可能是因为 β -Conglycinin进入鱼体,会引起肠道发生过敏反应,导致肠道皱襞高度下降,影响鱼类对营养物质的消化吸收,使鱼类生长受阻,甚至危害鱼类健康。

2.3 对鱼类消化酶活性的影响

消化酶是由消化腺和消化系统分泌的具有促消化作用的酶类,按其功能可分为淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶。鱼类消化酶活性与其消化生理机能密切相关^[29]。有研究表明,饲料中 β -Conglycinin含量过高会导致梭子蟹(*Portunus pelagicus*)和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)蛋白酶活性显著下降^[30-31]。为了研究饲料中 β -Conglycinin含量对鱼类消化酶活力的影响,国内外学者做了相关研究。邢秀萍等^[32]的研究表明,在鲤幼鱼组中8.0% β -Conglycinin添加组前肠、中肠和后肠蛋白酶活性显著下降;6.0% β -Conglycinin添加组仅前肠和中肠蛋白酶活性显著下降。在鲤稚鱼组中,除2.0% β -Conglycinin添加组中肠蛋白酶活性变化不显著以外,其它各添加组前肠和中肠蛋白酶活性显著下降。孙玲^[33]、Gu等^[28]的研究发现,在配合饲料中添加一定量的 β -Conglycinin,可引起埃及胡子鲇、草鱼和大菱鲆的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性下降;鲤鱼肠道和肝脏的蛋白酶和淀粉酶活性下降。谷珉^[12]、Lin等^[34]的研究发现,在配合饲料中添加一定量的 β -Conglycinin,可引起大菱鲆幽门盲囊和中肠淀粉酶活性显著下降,中肠和后肠脂肪酶活性显著下降;建鲤蛋白酶和脂肪酶活性下降。以上研究表明,饲料中 β -Conglycinin含量过高会抑制鱼类消化酶活性。这可能是因为 β -Conglycinin进入鱼类肠道后,破坏肠道结构及稳定性,影响消化酶的分泌,从而降低消化酶活性。

2.4 对鱼类非特异性免疫的影响

鱼类非特异性免疫有四道防线,分别是黏膜分

泌非特异性抵抗作用的因子、粘液细胞、血细胞中的颗粒细胞和单核细胞以及组织和器官中具有吞噬作用的细胞,只能清除一般异物。当鱼类在受到外界刺激及病原生物侵袭时,非特异性免疫系统起着至关重要的作用^[35]。谷珉^[12]研究表明,在饲料中含 $60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\beta$ -Conglycinin 时,大菱鲂酸性磷酸酶和溶菌酶活性显著高于对照组。Rumsey 等^[11]研究表明,饲料中含有 $58.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Glycinin 和 $34.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\beta$ -Conglycinin 的豆粕时,虹鳟血清中白细胞和免疫球蛋白数量增加,肠道发生炎症反应。Zhang 等^[13]研究表明,在饲料中含 $80\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\beta$ -Conglycinin 时,建鲤肠道碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性显著低于对照组。目前关于饲料中 β -Conglycinin 在鱼类非特异性免疫方面的研究还十分有限,尚不能明确其对鱼类非特异性免疫指标的影响,对鱼类免疫功能的影响是直接还是间接造成有待进一步研究。

2.5 对鱼类抗氧化能力的影响

维持生物体内氧化与抗氧化动态平衡是生物体正常生理活动的必然要求。过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽转移酶(GST)活性以及丙二醛(MDA)含量、蛋白质羰基(PC)含量是反映机体抗氧化能力的重要指标。Han 等^[31]研究表明,饲料中 β -Conglycinin 含量过高会导致中华绒螯蟹 CAT、T-SOD 和 GST 活性下降,MDA 含量增加。有研究表明,鱼类体内存在着良好的抗氧化保护系统^[36]。Zhang 等^[13]研究表明,在饲料中含 $80\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\beta$ -Conglycinin 时,建鲤幼鱼肝胰脏 PC、MDA 含量显著高于对照组,SOD、CAT 和 GPx 活性显著低于对照组;建鲤幼鱼肠道 PC、MDA 含量显著高于对照组,SOD、CAT、GPx 和 GST 活性显著低于对照组。Li 等^[23]研究表明,随着饲料中 β -Conglycinin 含量(0%、2%、4%和8%)的增加,大菱鲂 SOD 活性逐渐降低。以上研究表明,饲料中 β -Conglycinin 含量过高,会导致鱼体抗氧化能力下降。这可能是由于 β -Conglycinin 进入鱼体后,会导致鱼体肠道发生过敏反应,进而导致细胞的炎性损伤,随后细胞膜发生脂质过氧化,最终影响鱼类抗氧化能力。

3 β -Conglycinin 分离提纯方法

β -Conglycinin 分离提纯的方法有多种,如 Saio 法^[37]、Thanh 法^[38]、Nagano 法^[39]、Samoto 法^[40]、Liu 法^[41]、雷继鹏简化法^[42]、免疫学方法^[43]、简化膜中间试验法^[42]、Deak 法^[44]和修正的那哥诺法^[45]等。其中,Liu 法、雷继鹏简化法、免疫学方法、Thanh 法、Nagano 法、简化膜中间试验法和修正的那哥诺法这

7 种方法是根据 β -Conglycinin 在不同溶液中等电点存在差异,通过调节溶液 pH,以溶解度的不同而加以分离。Saio 法根据 Glycinin 和 β -Conglycinin 在钙盐溶液中的溶解度不同,进而提取分离 β -Conglycinin。Deak 法是根据 Glycinin 和 β -Conglycinin 表面电荷密度存在差异,在同一种盐的作用下,发生盐析时所需盐的浓度是不同的,进而提纯分离 Glycinin 和 β -Conglycinin。

表 1 总结了不同分离方法的 β -Conglycinin 产率和纯度。从产率上看,Nagano 法、简化膜中间试验法、雷继鹏简化法、Samoto 法、Deak 法、Liu 法和修正后的那哥诺法的产率均高于免疫学方法,以简化膜中间试验法最高;从纯度上看,免疫学方法所得产物纯度最高,雷继鹏简化法所得产物纯度最低。因免疫学方法提纯 β -Conglycinin 纯度较高,大多数研究者采用免疫学方法提纯 β -Conglycinin,但由于免疫学方法产率较差,且对设备要求较高,故不适用于批量生产。与免疫学方法相比,雷继鹏简化法简单易行,大大缩短了提纯时间,更适用于批量生产。

表 1 分离 β -Conglycinin 方法产率和纯度的比较
Table 1 Comparison of yield and purity of eight isolated β -Conglycinin methods

项目 Item	β -Conglycinin		文献 Reference
	产率/%	纯度/%	
雷继鹏简化法 Method simplified by Lei Jipeng	18.7	—	[42]
简化膜中间试验法 Simplified membrane pilot-plant procedure	19.6	62.6	[42]
免疫学方法 Immunological method	5.0	>98.0	[43]
修正后的那哥诺法 Moplified Nagano method	10.3	71.3	[45]
Nagano 法 Nagano method	8.5	95.5	[39]
Samoto 法 Samoto method	—	>97.0	[40]
Thanh 法 Thanh method	17.1	63.0	[38]
Saio 法 Saio method	—	81.0	[37]
Deak 法 Deak method	16.0	80.0	[44]
Liu 法 Liu method	10.7	95.5	[41]

目前,关于 β -Conglycinin 纯度的鉴定方法有很多,如等电聚焦电泳法、SDS - 聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (SDS-PAGE)、N - 末端氨基酸残基分析和高效液相色谱法等。关于 β -Conglycinin 识别检测方法多采用免疫组织化学技术、酶联免疫吸附试验 (ELISA)、免疫印迹法 (western blotting) 和 PCR 技术等^[46]。其中免疫组织化学技术多用于对相应抗原的定性、定位和定量检测,但由于设备要求高、分析时间长导致该技术未能广泛应用;ELISA 多用于对抗原进行定量检测,已成为抗原检测的首选方法;PCR 技术广泛应用于抗原的检测;免疫印迹法是最常用的检测蛋白质特性、表达与分布的方法,可用于抗原定性和半定量检测^[47]。

4 β -Conglycinin 的去除工艺

目前,可以通过不同方法降低或去除 β -Conglycinin 的抗原性,分为物理方法、化学方法、生物方法和遗传育种方法^[48]。 β -Conglycinin 是热稳定性抗营养因子,直接加热不能有效降低其抗原性。有研究表明,在加热处理的大豆产品中仍有高含量的 β -Conglycinin 残留^[49]。膨化处理是对大豆原料的加热及机械破碎的过程,陈翠莲等^[50]研究发现,膨化处理能够有效降低 β -Conglycinin 抗原性,提高大豆营养价值。化学方法是通过乙醇浸泡,破坏 β -Conglycinin 结构,使其失去抗原性。Liu 等^[51]研究发现,乙醇处理后的大豆产品中, β -Conglycinin 的免疫原性显著下降。生物方法降低 β -Conglycinin 的抗原性是目前研究重点。经微生物发酵后的大豆产品, β -Conglycinin 的抗原性明显下降^[52]。酶解预处理可以有效降低 β -Conglycinin 的抗原性,Wang 等^[53]发现不同蛋白酶降低 β -Conglycinin 抗原性效果不同,胰蛋白酶、胃蛋白酶等效果较差,碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶等效果较好。此外,通过遗传育种和基因工程技术也能有效降低大豆产品中 β -Conglycinin 的抗原性。

5 展望

综上所述, β -Conglycinin 是限制大豆蛋白在水产饲料上广泛应用的主要因素。尽管目前关于 β -Conglycinin 的理化性质、分离提纯方法、去除工艺等方面已经取得了重大进展,但关于 β -Conglycinin 对鱼类抗营养作用机制方面尚缺乏系统、深入的研究,仍有许多重要问题有待解决。未来关于 β -Conglycinin 研究的重点方向主要集中在以不同发育阶段同种鱼类为研究对象,进一步研究 β -Conglycinin 对其抗营养作用的差异,探讨饲料中 β -Conglycinin 在

同种鱼类不同发育阶段的阈值,深入研究 β -Conglycinin 抗营养作用的分子机制,为合理开发利用大豆蛋白源提供依据,对缓解我国鱼粉资源短缺的紧张局势,保障水产动物饲料安全均具有重要的现实意义。

参考文献

[1] 胡声迪,郭金枝,马曦. 大豆 β -伴大豆球蛋白研究进展[J]. 中国畜牧杂志,2010,46(5):65-68. (Hu S D, Guo J Z, Ma X. Advance in soybean β -Conglycinin[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2010, 46(5):65-68.)

[2] Meinschmidt P, Schweiggert-Weisz U, Brode V, et al. Enzyme assisted degradation of potential soy protein allergens with special emphasis on the techno functionality and the avoidance of a bitter taste formation[J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 68: 707-716.

[3] Maruyama N, Adachi M, Takahashi K, et al. Crystal structures of recombinant and native soybean beta-Conglycinin beta homotrimers [J]. European Journal of Biochemistry, 2001, 268 (12): 3595-3604.

[4] 方旭前,朱友林,邱丽娟. 大豆过敏原与低过敏原种质创新[J]. 遗传,2006,28(8):1043-1050. (Fang X Q, Zhu Y L, Qiu L J. Soybean allergens and hypoallergenic germplasm enhancement[J]. Hereditas, 2006,28(8):1043-1050.)

[5] Yue H, Zhen F Z, Peng F G, et al. Soybean β -Conglycinin induced gut hypersensitivity reaction in a piglet model[J]. Archives of Animal Nutrition,2009,63(3):188-202.

[6] 孙泽威,秦贵信,张庆华. 大豆抗原蛋白对犊牛生长性能、日粮养分消化率和肠道吸收功能的影响[J]. 中国畜牧杂志,2005,41(11):30-33. (Sun Z W, Qin G X, Zhang Q H. Effects of soy antigen protein on growth performance, dietary nutrient digestibility and intestinal absorption function of calves[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2005, 41(11):30-33.)

[7] Johnston C. Effect of injecting lambs with soy flour extract on serum soy protein antibody concentration and rate of gain[J]. Small Ruminant Research,1996,21(2):149-154.

[8] Christensen H R, Bruun S W, Frokiaer H. Antigenic specificity of serum antibodies in mice fed soy protein[J]. International Archives of Allergy and Applied Immunology,2003,132(1):58-67.

[9] 吴莉芳,吴亚男,王洪鹤,等. 大豆主要抗原蛋白对鲤鱼肌肉营养成分的影响[J]. 大豆科学,2010,29(1):105-108. (Wu L F, Wu Y N, Wang H H, et al. Effects of main soybean antigenon nutritional componentsin muscle of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Soybean Science,2010,29(1):105-108.)

[10] 吴莉芳,孙泽威,秦贵信,等. Glycinin 和 β -Conglycinin 对不同食性鱼类生长及肠道组织的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2011,39(2):59-66,74. (Wu L F, Sun Z W, Qin G X, et al. Effects of dietary Glycinin and β -Conglycinin on growth performance and intestinal tissue of fishes with different food habits[J]. Journal of Northwest A&F University(Nature Science Edition),2011,39(2):59-66,74.)

[11] Rumsey G L, Siwicki A K, Anderson D P, et al. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mecha-

- nisms, growth, and protein utilization in rainbow trout[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1994, 41 (3-4): 323-329.
- [12] 谷珉. 影响海水鱼虾对植物蛋白利用的抗营养因子和蛋氨酸的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2013. (Gu M. The research on the plant protein utilization by marine fish and shrimp anti-nutritional factors and methionine[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.)
- [13] Zhang J X, Guo L Y, Feng L, et al. Soybean β -Conglycinin induces inflammation and oxidation and causes dysfunction of intestinal digestion and absorption in fish [J]. Plos One, 2013, 8 (3): e58115.
- [14] Xiang P, Haas E J, Zeece M G, et al. C-terminal 23 kDa polypeptide of soybean Gly m Bd 28 K is a potential allergen [J]. Planta, 2004, 220(1): 56-63.
- [15] Mujoo R, Trinh D T, Ng P K W, et al. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture[J]. Food Chemistry, 2003, 82(2): 265-273.
- [16] Maruyama N, Fukuda T, Saka S, et al. Molecular and structural analysis of electrophoretic variants of soybean seed storage proteins [J]. Phytochemistry 2003, 64(3): 701-708.
- [17] Amigobenavent M, Clemente A, Castillo M D D, et al. Digestibility and immunore activity of soybean β -Conglycinin and its deglycosylated form[J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1598-1605.
- [18] Krishnan H B, Kim W S, Jang S, et al. All three subunits of soybean β -Conglycinin are potential food allergens[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(3): 938-943.
- [19] Coates J B, Medeiros J S, Thanh V H, et al. Characterization of the subunits of beta-Conglycinin [J]. Archives of Biochemistry & Biophysics, 1985, 243(1): 184-194.
- [20] Zhao Y, Qin G X, Sun Z W, et al. Effects of glycinin and β -Conglycinin on enterocyte apoptosis, proliferation and migration of piglets [J]. Food and Agricultural Immunology, 2010, 21 (3): 209-218.
- [21] Hao Y, Zhan Z F, Guo P F, et al. Soybean β -Conglycinin-induced gut hypersensitivity reaction in a piglet model[J]. Archives of Animal Nutrition, 2009, 63(3): 188-202.
- [22] Han P, Ma X, Yin J, et al. The effects of lipoic acid on soybean β -Conglycinin-induced anaphylactic reactions in a rat model [J]. Archives of Animal Nutrition, 2010, 64(3): 254-264.
- [23] Li Y, Hu H, Liu J, et al. Dietary soya allergen β -Conglycinin induces intestinal inflammatory reactions, serum-specific antibody response and growth reduction in a carnivorous fish species, turbot *Scophthalmus maximus* L. [J]. Aquaculture Research, 2017, 48.
- [24] 吴莉芳, 邹瑞兴, 王申, 等. 大豆主要抗原蛋白对埃及胡子鲇肌肉营养成分的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(6): 741-745. (Wu L F, Zou R X, Wang S, et al. Effects of main soybean antigens on nutritional components of *Musclein Clarias* leather [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2009, 31 (6): 741-745.)
- [25] 吴莉芳, 吴亚男, 周敏, 等. 大豆抗原蛋白对草鱼肌肉营养成分的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(2): 214-217, 220. (Wu L F, Wu Y N, Zhou M, et al. Effects of main soybean antigen on nutritional components in muscle of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2010, 32(2): 214-217, 220.)
- [26] 刘襄河, 叶继丹, 王子甲, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉比例对牙鲆生长性能及生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(3): 450-458. (Liu X H, Ye J D, Wang Z S, et al. Partial replacement of fish meal by soybean meal in diets for juvenile Japanese flounder [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34 (3): 450-458.)
- [27] Guo P, Piao X, Cao Y, et al. Recombinant soybean protein beta-Conglycinin alpha-subunit expression and induced hypersensitivity reaction in rats [J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2008, 145: 102-110.
- [28] Gu M, Bai N, Xu W, et al. Effects of dietary β -Conglycinin and glycinin on digestive enzymes activities, intestinal histology and immune responses of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* [J]. Aquaculture Research, 2016, 47(3): 1001-1008.
- [29] 米海峰, 孙瑞健, 张璐, 等. 鱼类肠道健康研究进展 [J]. 中国饲料, 2015(15): 19-22. (Mi H F, Sun R J, Zhang L, et al. Advances in research on fish intestinal health [J]. China Feed, 2015(15): 19-22.)
- [30] Taher S, Romano N P, Arshad A, et al. Assessing the feasibility of dietary soybean meal replacement for fishmeal to the swimming crab, *Portunus pelagicus*, juveniles [J]. Aquaculture, 2017, 469: 88-94.
- [31] Han F L, Wang X D, Guo J L, et al. Effects of glycinin and β -Conglycinin on growth performance and intestinal health in juvenile Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2019(84): 269-279.
- [32] 邢秀苹, 赖红娥, 赵晗, 等. β -Conglycinin 对不同发育时期鲤鱼消化酶活力的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(1): 19-24, 30. (Xing X P, Lai H E, Zhao H, et al. Effect of β -Conglycinin on activities of protease and amylase in juvenile and larval common carps [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2016, 44(1): 19-24, 30.)
- [33] 孙玲. 大豆抗原蛋白对不同食性鱼类消化酶活性及血液指标的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2008. (Sun L. Effects of soybean antigen on the activities of digestive enzyme and blood index of different fishes [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2008.)
- [34] Lin S, Luo L. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* \times *O. aureus* [J]. Animal Feed Science & Technology, 2011, 168(1): 80-87.
- [35] 李莉, 李春梅. 鱼类非特异性免疫研究进展 [J]. 河南农业科学, 2012, 2: 26-32. (Li L, Li C M. Research progress on non-specific immune of fish [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2012, 2: 26-32.)
- [36] Martínez-Álvarez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors [J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2005, 15(1-2): 75-88.
- [37] 黄行健, 章肇敏, 杨芳, 等. Saio 法提取大豆 7S 球蛋白的纯化及鉴定 [J]. 中国油脂, 2015, 40(4): 14-17. (Huang X J, Zhang Z M, Yang F, et al. Purification and identification of soybean 7S globulin extracted by Saio method [J]. China Oils and

Fats, 2015, 40(4):14-17.)

[38] Thanh V H, Shibasaki K. Major proteins of soybean seeds: A straight forward fractionation and their characterization[J]. Journal of Agricultural&Food Chemistry,1976, 24(6): 1117-1121.

[39] Nagano T, Hirotsuka M, Mori H, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1992,40: 941-944.

[40] Samoto M, Meabuchi M, Miyazaki C, et al. Abundant protein associated with lecithin in soy protein isolate[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1):317-322.

[41] Liu C, Wang H L, Cui Z M, et al. Optimization of extraction and isolation for 11S and 7S globulins of soybean seed 6 storage protein [J]. Food Chemistry, 2006, 102(4): 1310-1316.

[42] 雷继鹏, 田少君, 李晓霞. 分离 7S 和 11S 大豆球蛋白简便方法[J]. 粮食与油脂, 2003(6):6-7. (Lei J P, Tian S J, Li X X. A simple method of separation 7S and 11S globulin from soybean[J]. Cereals & Oils, 2003(6):6-7.)

[43] Iwabuchi S, Yamauchi F. Determination of glycinin and β -Conglycinin in soybean protein by immunological methods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1987,35(2):200-205.

[44] Teng Z, Liu C, Yang X Q, et al. Fractionation of soybean globulins using Ca^{2+} and Mg^{2+} : A comparative analysis [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2009; 86(5): 409-417.

[45] Wu S W, 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.

[46] 秦贵信, 孙泽威, 赵元, 等. 大豆中主要抗原蛋白的研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 553-558, 564. (Qin G X, Sun Z W, Zhao Y, et al. Research advance in study on allergen proteins in soybean[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2008, 30(4):553-558, 564.)

[47] 张胜正. 食物过敏原致敏组分的分析[D]. 北京:中国协和医科大学, 2004. (Zhang S Z. Analysis of sensitized components of food allergens [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2004.)

[48] 李婷琳, 孙泽威. 大豆抗原蛋白去除工艺的研究进展[J]. 大豆科学, 2012, 31(2): 311-315. (Li M L, Sun Z W. Research advance on removal process of soybean antigenic proteins[J]. Soybean Science, 2012, 31(2):311-315.)

[49] 李德发, 马曦, 孙鹏. 大豆抗原蛋白研究进展[C]. 动物营养研究进展—中国畜牧兽医学动物营养学分会第八届全国代表大会暨第十届学术研讨会论文集, 2008:10-22. (Li D F, Ma X, Sun P. Research progress of soybean antigen protein[C]. Research progress of animal nutrition-papers symposium of the 8th national representative and tenth seminar of animal nutrition in Chinese association of animal and veterinary sciences, 2008: 10-22.)

[50] 陈翠莲, 窦丽娟, 张英东, 等. 膨化大豆质量和营养价值评估要点[J]. 饲料工业, 2010, 31(11):48-51. (Chen C L, Dou L J, Zhang D Y, et al. Outline of evaluation of extrusion soybean, quantity and nutritional value[J]. Feed Industry, 2010, 31(11): 48-51.)

[51] Liu X, Feng J. Research progress of soybean antigen protein[J]. China Feed, 2004(20): 14-15.

[52] Frías J, Song Y S, Martínez V, et al. Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry,2008,56(1):99-105.

[53] Wang Z C, Li L J, Yuan D Q, et al. Reduction of the allergenic protein in soybean meal by enzymatic hydrolysis[J]. Food and Agricultural Immunology,2014,25(3):301-310.