



DOI:10.14188/j.ajsh.2019.03.001

中国野生豆科植物资源及豆类蛋白研究概况

刘虹¹, 易丽莎¹, 蒲乙琴¹, 王靖², 吴智华¹, 杨孔³, 覃瑞^{1,2*}

- (1. 中南民族大学 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430074;
2. 中南民族大学 生物技术国家民委重点实验室, 湖北 武汉 430074;
3. 西南民族大学 青藏高原研究院, 四川 成都 610000)

摘要: 豆科植物在世界上分布广泛, 有非常重要的经济价值、生态价值、药用价值和观赏价值。豆类蛋白作为植物源蛋白中的优质蛋白, 在我国启动“国民营养计划”之双蛋白工程之后, 其价值得到重视和开发。我国野生豆科资源丰富, 但大部分地区的野生豆科资源没有得到合理的开发和利用。本文结合文献资料, 对我国各地区的野生豆科植物资源和价值进行概述, 并对豆科植物蛋白质的研究方法进行了系统归纳, 以期对野生豆科植物资源及豆类蛋白的应用前景做出展望。

关键词: 野生豆科植物; 豆类蛋白; 资源分布

中图分类号: Q-9

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2019)03-0185-10

A survey of wild legume resources and bean proteins in China

LIU Hong¹, YI Lisha¹, PU Yiqin¹, WANG Jing², WU Zhihua¹, YANG Kong³, QIN Rui^{1,2*}

- (1. Key Laboratory for Protection and Application of Special Plant Germplasm in Wuling Area of Hubei Province, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, Hubei, China; 2. Key Laboratory of State Ethnic Affairs Commission for Biological Technology, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, Hubei, China;
3. Institute of Qinghai-Tibetan Plateau, Southwest Minzu University, Chengdu 610000, Sichuan, China)

Abstract: Plant of Leguminosae are widely distributed in the world and have important economic, ecological, medicinal and ornamental values. The protein in plant of Leguminosae, as a high quality protein in plant protein, has been valued and developed since the dual protein project of the "national nutrition program" was launched in China. China is rich in wild leguminous resources, but in most areas the wild leguminous resources have not been rationally developed and utilized. In this paper, the resources and values of wild leguminous plants in various regions of China are summarized, and the research methods of leguminous protein were systematically analyzed, so as to make a prospect of wild leguminous resources and the application of leguminous protein.

Key words: wild leguminous plant; leguminous protein; resource distribution

收稿日期: 2019-01-02 修回日期: 2019-03-26 接受日期: 2019-04-26

作者简介: 刘虹(1977-), 女, 副教授, 博士, 研究方向: 植物分类学。E-mail: 3032307@mail.scuec.edu.cn

*通讯联系人: 覃瑞(1971-), 男, 教授, 博士, 研究方向: 植物资源学。E-mail: 3047807@mail.scuec.edu.cn

基金项目: 国家科学技术部科技基础性工作专项重点项目资助(2014FY110100), 湖北省科技条件平台建设专项(2017BEC014), 湖北省重点实验室后补助专项(2018BFC360)

引用格式: Liu H, Yi L S, Pu Y Q, *et al.* A survey of wild legume resources and bean proteins in China [J]. Biotic Resources, 2019, 41(3): 185-194.

刘虹, 易丽莎, 蒲乙琴, 等. 中国野生豆科植物资源及豆类蛋白研究概况[J]. 生物资源, 2019, 41(3): 185-194.

0 引言

豆科(Leguminosae)植物主产于热带和温带地区,约有748属19700余种,世界各地均有分布。我国约有172属1485种^[1]。在物种数目方面,豆科植物是仅次于菊科和兰科的第三大被子植物科,在经济价值方面,豆科的重要性仅次于禾本科^[2]。大多数豆科植物都具有庞大的根系,有适生范围广、抗逆性强、耐瘠薄、易栽培、生长迅速、生物量高、轮伐期短、热值高等优点,具有重要的经济价值和生态价值,比如鲜草中含有大量的蛋白质、矿物质和丰富的维生素,有非常高的饲用价值,可以作为饲养原料;大多数豆科植物还具有药用价值,可以入药;有些豆科植物还有观赏价值,可用于景区当观赏植物^[3]。豆科植物的种子中富含淀粉、蛋白质等物质,可供食用。其蛋白质含量分别是小麦蛋白和大米蛋白的约2倍和3倍,是优质的植物源蛋白。因此在那些物质匮乏无法获得肉制品和奶制品的地区,价格低廉的豆类蛋白质是营养物质的重要来源^[4]。

为了提高广大公众对豆科植物营养价值的进一步认识,联合国粮食与农业组织宣布将2016年定为“国际豆类年”。豆类作为一种重要的粮食作物,是消除饥饿的核心力量,对农民来说,它也是摆脱贫困的重要支柱;数百年来,豆类一直是人类饮食的重要组成部分,对于人类的健康作用不可或缺。此外,豆类作物的非食用部分含氮量高,可以用作动物饲料和农业肥料,不仅能够改善动物的健康状况,还可以提高土壤肥力,消除农作物对化肥的依赖;通过改善土壤总体健康状况,为各种微生物营造了适宜的环境,促进地下生物多样性,是生态环境的有益助手。同时,将豆类与其他作物间作或轮作,可减少土壤侵蚀、帮助防治病虫害^[5]。我国开展实施“中国特色双蛋白工程”,在全民中推广以“优质植物蛋白质为主,优质动物蛋白为辅”的优质双蛋白食品,其重点之一也是加大对豆类蛋白质的开发利用。由此可见,如

何利用好我国丰富的野生豆科植物资源,大力开发优质豆类蛋白,是一个意义深远、价值重大的主题。

1 我国野生豆科植物资源概况

1.1 各省份野生豆科资源调查情况

我国野生豆科植物遍布全国各地,辽阔的幅员跨越三级阶梯,地形地貌、气候的多样性造就了资源的丰富度。通过对每个省份野生豆科资源的粗略调查统计(表1),目前发现我国有豆科植物约33族183属1859种(含归化种、栽培种)^[6],占世界总量的20%。

1.2 野生豆科资源应用状况

从表1中可以看到,我国的野生豆科植物资源遍布全国各地,新疆、西藏地区的豆科植物资源尤其丰富,但是这两个以畜牧业为主要农业结构的地区对豆科植物资源的开发力度并不大。多数豆科植物如苜蓿属(*Medicago*)、草木犀属(*Melilotus*)、棘豆属(*Oxytropis*)等被用作畜牧饲料和优良的牧草,少有作为日常食用的豆科植物。实际上,通过对西藏、新疆地区的实地考察,我们发现如豇豆属(*Vigna*)、葛属(*Pueraria*)及野大豆(*Glycine soja*)等有巨大食用潜力的野生豆科植物资源也非常丰富,但是如何将这些野生资源合理地开发利用起来仍然是个有待解决的问题。

我国食用豆类资源十分丰富,是世界上食用豆类主要生产国之一,在我国的食物构成和种植业结构中,食用豆类的地位仅次于禾谷类,并且它还具有一些禾谷类不可比拟的特点:①许多豆科植物生育期短、耐旱(涝)、耐瘠、适应性强,可作为开荒的先锋作物,补种作物和救荒作物,在种植业结构中具有特殊的作用。②食用豆类与根瘤菌共生固氮,培肥地力,促进农田生态系统的良性循环。③药食同源性,许多食用豆类的根、茎、叶、花、荚皮、种皮和籽粒均可入药,具有重要的药用价值^[25]。总的来说,豆科植物作为重要的植物蛋白质来源,具有巨大的开发潜力。

表1 我国各省份野生豆科植物资源数量分布情况

Table 1 Distribution of Leguminosae resources in various provinces of China

| 地区 | 物种组成 | 代表物种 | 主要价值 |
|-----|--|--|-----------|
| 浙江省 | 69属193种,4亚种,12变种,1个变型 ^[7,8] | 三裂叶野葛(<i>Pueraria phaseoloides</i>)、中南鱼藤(<i>Derris fordii</i>)、铁马鞭(<i>Lespedeza pilosa</i>)、庭藤(<i>Indigofera decora</i>) | 药用植物 |
| | | 野大豆(<i>Glycine soja</i>)、葛(<i>Pueraria montana</i>) | 可食用 |
| | | 胡枝子(<i>Lespedeza bicolor</i>)、野豌豆(<i>Vicia sepium</i>)、云实(<i>Caesalpinia decapetala</i>) | 油料植物 |
| | | 山合欢(<i>Albizia kalkora</i>)、槐树(<i>Styphnolobium japonicum</i>) | 观赏植物及蜜源植物 |
| | | 花榈木(<i>Pueraria montana</i>)、红豆树(<i>Pueraria montana</i>)、黄檀(<i>Pueraria montana</i>) | 木材树种 |

续表

| 地区 | 物种组成 | 代表物种 | 主要价值 |
|-----|--|---|-------------|
| 山东省 | 47属, 119种, 5变种, 5变型 ^[1, 9, 100] | 天蓝苜蓿(<i>Medicago lupulina</i>)、小叶锦鸡儿(<i>Caragana microphylla</i>)、补骨脂(<i>Cullen corylifolium</i>)、膜荚黄耆(<i>Astragalus membranaceus</i>) | 药用植物 |
| | | 决明属(<i>Senna</i>)、猪屎豆属(<i>Crotalaria</i>)、草木樨属(<i>Melilotus</i>) | 固氮能力强, 绿肥植物 |
| | | 野葛(<i>Pueraria montana</i> var. <i>lobata</i>)、毛胡枝子(<i>Lespedeza tomentosa</i>) | 根系发达, 保持水土 |
| 安徽省 | 35属 95种 ^[11] | 网络鸡血藤(<i>Callerya reticulata</i>)、假地蓝(<i>Crotalaria ferruginea</i>) | 药用植物 |
| | | 鹿藿(<i>Rhynchosia volubilis</i>)、宁油麻藤(<i>Mucuna paohwashanica</i>)、歪头菜(<i>Vicia unijuga</i>) | 可食用 |
| | | 短叶决明(<i>Cassia leschenaultiana</i>)、华东木蓝(<i>Indigofera fortunei</i>) | 可作为茶叶饮用 |
| | | 花榈木(<i>Ormosia henryi</i>)、狭翅香槐(<i>Cladrastis platycarpa</i>) | 木材树种 |
| | | 野葛(<i>Pueraria montana</i> var. <i>lobata</i>)、杭子梢(<i>Campylotropis macrocarpa</i>) | 家畜饲料和牧草 |
| | | 巨紫荆(<i>Cercis glabra</i>)、崖豆藤属(<i>Millettia</i>)、木蓝属(<i>Indigofera</i>) | 绿化观赏植物 |
| 甘肃省 | 40属 182种 ^[12-14] | 黄芪属(<i>Astragalus</i>)、洋刀豆(<i>Canavalia ensiformis</i>)、短镰荚苜蓿(<i>Medicago archiducis-nicolai</i>) | 药用植物 |
| | | 红花岩黄芪(<i>Hedysarum multijugum</i>)、紫花苜蓿(<i>Medicago sativa</i>) | 家畜饲料和牧草 |
| 贵州省 | 86属 290种, 14变种, 1变型 ^[15, 16] | 香花鸡血藤(<i>Callerya dielsiana</i>)、鹿藿(<i>Rhynchosia volubilis</i>) | 药用植物 |
| | | 紫云英(<i>Astragalus sinicus</i>)、刺槐(<i>Robinia pseudoacacia</i>)、槐树(<i>Styphnolobium japonicum</i>)、苜蓿(<i>Medicago denticulata</i>) | 可食用 |
| | | 长萼鸡眼草(<i>Kummerowia stipulacea</i>)、百脉根(<i>Lotus corniculatus</i>)、天蓝苜蓿(<i>Medicago lupulina</i>)、白花车轴草(<i>Trifolium repens</i>) | 作为饲料和绿肥 |
| | | 藤黄檀(<i>Dalbergia hancei</i>)、黄檀(<i>Dalbergia hupeana</i>)、崖豆藤(<i>Millettia extensa</i>)、龙须藤(<i>Bauhinia championii</i>) | 绿化观赏植物 |
| 陕西省 | 27属, 72种 1变型, 6变种 ^[17] | 苦参(<i>Sophora flavescens</i>)、粉叶羊蹄甲(<i>Bauhinia glauca</i>)、苦豆子(<i>Sophora alopecuroides</i>) | 药用植物 |
| | | 拧条锦鸡儿(<i>Caragana korshinskii</i>)、狼牙刺(<i>Sophora davidii</i>)、野葛(<i>Pueraria montana</i> var. <i>lobata</i>)、紫穗槐(<i>Amorpha fruticosa</i>)、刺槐(<i>Robinia pseudoacacia</i>)、猫头刺(<i>Oxytropis aciphylla</i>)、踏郎(<i>Hedysarum fruticosum</i> var. <i>laeve</i>) | 防风固沙, 保持水土 |
| | | 山合欢(<i>Albizia kalkora</i>)、小叶锦鸡儿(<i>Caragana microphylla</i>)、狼牙刺(<i>Sophora davidii</i>)、太白杭子梢(<i>Campylotropis macrocarpa</i> var. <i>hupehensis</i>) | 家畜饲料 |
| | | 蒙古岩黄芪(<i>Hedysarum fruticosum</i> var. <i>mongolicum</i>)、刺槐(<i>Robinia pseudoacacia</i>) | 蜜源植物 |
| 山西省 | 34属 131种 ^[18] | 华黄芪(<i>Astragalus chinensis</i>)、锦鸡儿(<i>Caragana sinica</i>) | 家畜饲料和牧草 |
| | | 皂荚(<i>Gleditsia sinensis</i>)、甘草(<i>Glycyrrhiza uralensis</i>) | 药用植物 |
| | | 山合欢(<i>Albizia kalkora</i>)、紫穗槐(<i>Amorpha fruticosa</i>) | 观赏植物和蜜源植物 |
| | | 皂荚(<i>Gleditsia sinensis</i>)、山皂角(<i>Gleditsia horrida</i>)、 | 油料植物 |

续表

| 地区 | 物种组成 | 代表物种 | 主要价值 |
|----------|------------------------------|---|----------|
| 云南省 | 103属 342种 ^[19,20] | 山野豌豆(<i>Vicia amoena</i>)、决明子(<i>Senna tora</i>) | 药用植物 |
| | | 链荚豆(<i>Alysicarpus vaginalis</i>)、决明(<i>Senna tora</i>)、大叶山蚂蝗(<i>Desmodium gangeticum</i>)、大叶千斤拔(<i>Flemingia macrophylla</i>) | 绿肥植物 |
| | | 黄檀属(<i>Dalbergia</i>)、决明属(<i>Senna</i>)、紫檀属(<i>Pterocarpus</i>) | 木材树种 |
| 黑龙江省 | 27属 106种 ^[21] | 草木樨状黄耆(<i>Astragalus melilotoides</i>)、山泡泡(<i>Oxytropis leptophylla</i>) | 作为牧草 |
| | | 野火球(<i>Trifolium lupinaster</i>)、草木犀(<i>Melilotus officinalis</i>)、红车轴草(<i>Trifolium pratense</i>) | 作为绿肥 |
| | | 斜茎黄耆(<i>Astragalus laxmannii</i>)、五脉山黧豆(<i>Lathyrus palustris</i> var. <i>pilosus</i>)、多叶棘豆(<i>Oxytropis myriophylla</i>)、兴安黄耆(<i>Astragalus stevenianus</i>) | 护堤和防水土流失 |
| 河北省 | 48属 156种 ^[22] | 狐尾藻棘豆(<i>Oxytropis myriophylla</i>)、披针叶黄华(<i>Thermopsis lanceolata</i>) | 药用植物 |
| | | 五脉叶香豌豆(<i>Lathyrus quinquenervius</i>)、毛掌叶锦鸡儿(<i>Caragana leveillei</i>) | 作为牧草 |
| | | 皂荚(<i>Gleditsia sinensis</i>)、苦参(<i>Sophora flavescens</i>) | 作为染料 |
| 福建省 | 79属 212种 ^[23] | 南蛇筋(<i>Caesalpinia minax</i>)、土圈儿(<i>Apios fortunei</i>)、盖藤子(<i>Entada phaseoloides</i>) | 药用植物 |
| | | 苦豆子(<i>Sophora alopecuroides</i>)、苦马豆(<i>Sphaerophysa salsula</i>) | 药用植物 |
| | | 藏新黄耆(<i>Astragalus tibetanus</i> var. <i>tibetanus</i>)、小花棘豆(<i>Oxytropis glabra</i>) | 作为饲料和牧草 |
| 新疆维吾尔自治区 | 47属 400种 ^[24] | 黄花草木犀(<i>Melilotus officinalis</i>)、细齿草木犀(<i>Melilotus dentatus</i>) | 绿肥价值 |

2 野生豆科植物蛋白质的研究

2.1 豆类蛋白质概述

食用豆类是主要的蛋白质来源之一,具有蛋白质含量高、淀粉含量中等、脂肪含量低的特点。蛋白质含量一般为20%~36%,比谷类高1~3倍,比马铃薯高5~8倍,比畜禽产品和鱼类高0.5~3.5倍。豆类蛋白质含量高,质量好,具有人体所必需的各种氨基酸,属于全价蛋白质^[25]。20世纪初,Osborne^[72]的早期研究发现,豆类中含有少量的清蛋白(albumin),清蛋白是一种可溶于水的蛋白质,除此之外大多数蛋白质都是盐溶性球蛋白(globulin)。后来由于超速离心和电泳技术的出现,对豆类蛋白质的分析更为深入,球蛋白是豆类主要储藏蛋白,按其沉降系数,大多数豆类的球蛋白又可分为11S和7S两种组分^[28],有研究对34种大豆球蛋白进行了分析,发现其中大部分含有11S蛋白和7S蛋白两种主要成分^[26]。在此基础上,围绕豆类蛋白质的研究逐渐展开,但研究的焦点主要在我们熟悉的重要经济作物大豆蛋白上,而对一些淀粉含量较高的豆类及野生豆类的研究较少^[25]。

2.1.1 清蛋白和球蛋白

豆类蛋白主要是糖苷酶、蛋白酶等功能蛋白,它们在种子的代谢中发挥重要作用。当种子发芽时,

它们在降解蛋白质中起作用,还有一些蛋白质在植物保护中起作用,例如,胰蛋白酶抑制剂和植物凝集素,另外其他2S清蛋白也为种子发芽提供了必须的硫。大豆蛋白由清蛋白(约5%)和球蛋白(约90%)组成,球蛋白主要由β-伴球蛋白(7S球蛋白)和大豆球蛋白(11S球蛋白)组成。花生蛋白由清蛋白(约10%)和球蛋白(约90%)组成,其中球蛋白可分为花生球蛋白和伴花生球蛋白。大豆蛋白中富含多种氨基酸,从必需氨基酸的含量来看,是为数不多的能取代动物蛋白的理想营养佳品之一,它的营养特性是提供人体无法合成的必需氨基酸和一些热量。花生蛋白是一种营养较为完全的蛋白质,营养价值与动物蛋白差异不大,仅次于大豆蛋白,但花生蛋白中赖氨酸的有效利用率高于大豆蛋白^[27];与谷类相比,花生蛋白赖氨酸含量高于小麦、玉米蛋白^[29]。

2.1.2 叶蛋白

叶蛋白浓缩物(leaf protein concentration, LPC)是从新鲜植物茎叶提取出来的,经过压榨取汁液,提取出其中的蛋白质进行分离,再经浓缩干燥而成^[30]。叶蛋白富含氨基酸、蛋白质、生物活性酶、矿物质和胡萝卜素等营养物质,不含有胆固醇,部分叶蛋白还具有较高的食用价值和药用价值,是一种潜在价值很高的新型蛋白质资源^[31]。

2.1.3 有毒蛋白

豆科植物中的有毒蛋白主要为凝集素类,豆科植物凝集素大多来自豆科植物的种子,在成熟种子中占蛋白质总含量的10%左右,被称为豆科凝集素家族^[67]。豆科凝集素具有多种生理功能,如识别糖蛋白、糖肽及生物膜中碳水化合物决定簇,作为植物体的储存蛋白和微生物的共生介质等^[68]。豆科凝集素对多种昆虫有毒害作用,对包括鞘翅目、同翅目、双翅目和鳞翅目都有抑制活性^[69,70];而另一方面,凝集素具有很好的抗真菌作用,Araújo-Filho等^[71]研究表明,大豆凝集素有抑制真菌侵染的能力,殷晓丽等^[68]从苦豆子中提取的凝集素对意大利青霉菌和交链孢菌有很好的抑菌作用。

2.2 豆类蛋白质的测定及提取

2.2.1 野生豆科植物粗蛋白含量的测定方法

野生豆科植物中含有丰富的粗蛋白,可以为人体提供许多营养价值,所以测定野生豆科植物中的粗蛋白含量是很重要的,可以运用凯氏定氮法对不同野生豆科植物的粗蛋白含量进行测定^[32],通过比较测定的结果,来预测野生豆科植物叶蛋白的开发和利用潜力,从而提高这些植物的综合利用价值。

2.2.2 可溶性叶蛋白的测定及提取

豆科植物的叶蛋白含量很高,但是可溶性蛋白(即可被人们利用的蛋白)与总蛋白含量不一定成正比关系。为了合理开发利用野生豆科植物的叶片蛋白质资源,在测定粗蛋白含量的基础上,测定并分析了野生豆科植物的可溶性蛋白质含量。考马斯亮蓝G-250法是测定可溶性叶蛋白含量的常用方法之一,它的优点是快速而灵敏。生物体吸收和利用的主体是可溶性蛋白^[33]。通过测定和比较不同野生豆科植物的可溶性蛋白质含量,可以获得可溶性蛋白质含量较高的豆科植物,并对其进行重点开发和利用。

叶蛋白的提取工艺流程大致可分为:原料洗涤、打浆、过滤、提取和离心。除了提取过程外,其余工艺大致相同。目前,常用的提取方法包括直接加热法、酸(碱)加热法、盐析法、有机溶剂法、酸碱沉淀法、发酵酸法和酶法等^[31]。

2.2.3 大豆蛋白的提取及检测

大豆种子蛋白可基于其沉降系数大致分为四类:2S,7S(β -伴大豆球蛋白),11S(大豆球蛋白)和15S^[45],或者基于其功能分为三个亚组:①代谢蛋白,②结构蛋白(糖蛋白)和③储存蛋白^[46,47]。其中7S和11S组分是由丰富的储存蛋白组成的,占大豆蛋白的80%以上。这两种储存蛋白比例在0.5~

1.3之间,取决于大豆的基因型和环境生长条件^[48~50]。15S是次要组分,通常用水或缓冲液提取,其蛋白质含量为3%~7%,15S是大豆球蛋白的二聚体,而大豆球蛋白的二聚体是构成11S蛋白质的组分^[51]。

选择蛋白质提取的方法取决于研究目标和目的、样品的性质和其他细胞组分。在大多数情况下,蛋白质的提取关键在于缓冲液的组成,它决定了溶液的离子强度。为了减少或防止蛋白质降解和蛋白质变性,需要使用特定的缓冲液。此外,调节pH和温度对于蛋白质提取也是必不可少的^[51,52]。

Serra等^[53]使用改良配方后的磷酸盐缓冲液,提取蛋白质,检测到多种糖化蛋白质。Nguyen等^[54]使用水提取方法,将脱脂大豆与水混合,通过调节不同程度的水解时间和碱性蛋白酶浓度来优化碱性蛋白酶水解条件以提高大豆蛋白水解产物量。Chamba等^[55]使用常规化学品(NaOH和HCl)和天然产品(苜蓿和柠檬提取物),研究了从常规和脱脂大豆中分离得到的大豆蛋白的功能特性。Morishita等^[56]使用Tris-HCl缓冲液进行蛋白质热提取。Zhang等^[57]使用稀H₂SO₄溶液在80℃水浴加热2h提取。酸预处理有助于水解半纤维素,降低纤维素结晶度并增加表面积和孔体积以增加产率。Qin等^[58]和Wang等^[59]使用微波来破坏组织以增加蛋白质产量。Li等^[60]使用超声波和微波,并研究了大豆蛋白的结构特性。Zhang等^[61]用稀酸浸泡法研究蒸汽闪爆处理技术从高温大豆中提取蛋白质。与未处理的大豆粉相比,预处理提高了蛋白质产量和功能特性。

目前最常用的检测蛋白质的方法是考马斯亮蓝染色,银染和荧光染料。然而,大多数染色方法,都可能在重复性和特异性方面存在问题。近年来许多研究者开发了更加高效、灵敏的新型豆类蛋白质检测方法,如Xi等^[62]开发了间接竞争性酶联免疫吸附试验检测大豆过敏蛋白质基因。类似地,Morishita等人^[56]使用酶联免疫吸附剂来鉴定和定量发酵的大豆产品,该方法灵敏度很高,可以检测浓度为10 $\mu\text{g/g}$ 的大豆蛋白。Krishnan等^[63]使用多种染色方法(DIGE双向荧光差异凝胶电泳,SYPRO Ruby和Coomassie Blue G-250染色)检测各种重要的豆科植物的1D(一维)和2D(二维)SDS-PAGE凝胶上的蛋白质,发现SYPRO Ruby染色的凝胶与考马斯蓝G-250染色的凝胶相比显示出更高的灵敏度和特异性,能检测到更多的低丰度大豆蛋白。

虽然凝胶染色方法仍然最常用于蛋白质检测,但基于质谱(mass spectrometry, MS)的标记和无标

表 2 叶蛋白的提取方法
Table 2 Extraction methods of leaf protein

| 方法 | 原理 | 优点 | 缺点 |
|-------|--|--|---|
| 直接加热法 | 高温破坏蛋白质的空间结构,使蛋白质变性和固化。 | 成本相对较低,操作相对简单,获得的蛋白质结构紧密,酶可以被灭活,以防止营养物质的流失。 | 高温使蛋白质变性并且提取率相对较低。 |
| 酸加热法 | 用酸将溶液的pH值调节到蛋白质的等电点,或用强酸溶液使蛋白质变性,加上高温破坏蛋白质的空间结构,使蛋白质凝固和沉淀 ^[34,35] 。 | 操作简单,成本低;提取时叶蛋白凝集速度快,得到的叶蛋白结构紧凑,终止酶解,具有一定的杀菌作用。 | 不饱和脂肪酸和胡萝卜素的损失增加,并且仅获得少量具有等电点偏酸性的蛋白质。 |
| 碱加热法 | 利用碱将溶液的pH值调节到蛋白质的等电点,或者用强碱性溶液使蛋白质变性,然后在高温下破坏蛋白质的空间结构,最终使蛋白质凝固沉淀 ^[36,37] 。 | 操作简单,可以消除各种不利因素;叶黄素的稳定性得到改善,提取的叶蛋白的发泡,保水和吸油性能更好。 | 提取的叶蛋白结构松散,质量差,难以分离,不饱和脂肪酸和胡萝卜素的损失增加。 |
| 盐析法 | 中性盐用于中和蛋白质表面上的电荷并破坏水合膜,使蛋白质聚集并沉淀。 | 操作简单,提取条件温和,生产过程安全,提取的叶蛋白结构完整,分离效果得到改善。 | 提取的叶蛋白质量差;大量可溶性蛋白质可能残留在提取物中。 |
| 有机溶剂法 | 通过破坏蛋白质表面上的水合膜,溶液的介电常数降低,从而增加了不同电荷对蛋白质表面的吸引力,并凝集和沉积蛋白质分子 ^[38~40] 。 | 可以去除某些多酚和植物色素,并在一定程度上去除植物中的有害物质。 | 操作复杂,活性物质必须在低温下提取;需要除去残留的有机溶剂,这增加了生产成本。 |
| 酸碱沉淀法 | 优化了酸化加热和碱化加热法后得到的一种方法。 | 提高叶蛋白的提取率,完全沉淀叶蛋白,反应条件的温和 ^[41] 。 | 提取的叶蛋白结构松散;复杂提取需要高温或低温辅助沉淀,这增加了工业制备的成本。 |
| 发酵法 | 使用酵母等菌株在发酵过程中产生酸和热,溶液的pH降低到蛋白质的等电点,蛋白质通过酸效应和热效应分离 ^[42,43] 。 | 减少化学污染,节约资源,保护环境;操作简单,成本低,提取皂苷等有害物质;提取的叶蛋白结构紧凑,易于分离,并与微生物蛋白混合。 | 发酵时间较长,发酵过程不易控制,蛋白质有一定程度的降解。 |
| 酶法 | 添加某些纤维素酶和果胶酶以破坏植物组织和细胞壁,使细胞中的蛋白质更多地释放并溶解在提取物中,从而提高提取率 ^[44] 。 | 反应条件温和,各种酶的组合提高了提取效率,生物活性多肽可以在酶水解过程中产生,在食品和饲料中都具有很高的价值。 | 提取成本较高,酶容易失活。 |

记方法越来越受欢迎。Li等^[64]使用高分辨率质谱联用(HR-MS/MS)鉴定大豆寡肽和结构表征,其灵敏度非常高,氨基酸检测可精确到不高于0.1 μg/mL。他们还使用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)和亲水作用色谱(HILIC)与电喷雾电离质谱联用(electrospray ionization, ESI-MS/MS)分离并鉴定了大豆过敏原糖蛋白的N-糖形式。Cucu等^[65]使用基质辅助激光解吸/电离质谱联用(matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI-MS/MS)作为快速筛选工具,用于鉴定大豆衍生的胰蛋白酶标记物。

除了MS之外,近红外光谱(near infrared, NIR)和核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)光谱法也已经用于蛋白质分析^[66]。了解不同研究人员

使用的各种方法的差异,对于研究不同豆类蛋白质水平的变化起着至关重要的作用。

3 野生豆科植物的发展前景

随着"国际豆类年"的提出和我国双蛋白工程的启动,豆科植物引起了广大公众的关注,发展豆科植物的经济与生态价值,在当前变得尤其重要。我国大多数大豆为美国进口,中美贸易摩擦对于大豆的影响首当其冲,所以提高食用豆类的品质,进一步优化豆类产品的加工流程,满足我国对豆类产品的需求,也是现今的一大紧迫任务。可以利用新兴的豆类蛋白质研究技术,产学研结合,把野生豆科植物上的优良特质应用到食用豆类上,从而提高食用豆类的产量和质量,并进一步探索野生豆科食用植物在新时代的应用研究。

除了对作为经济作物的豆科植物的利用,丰富的野生豆科植物资源将是以后的一大开发方向,其蕴含的药用价值、食用价值、饲养价值、生态价值具有巨大的发展潜力。同种野生豆科植物在不同的地区生长,其生长状态、蛋白含量等都会有差异,比如有些地区属于高寒地区,野生豆科植物资源较少,紫花苜蓿、红豆草等一些优良豆科牧草不适合在此地种植,对其它具有饲用价值的豆科植物做初步的分析评定,寻找适合驯化栽培的种类,以解决此类地区家畜蛋白质饲料供应不足的问题^[12]。因此,结合现有每个地区各自的野生豆科植物资源特点和自然条件,因地制宜发展豆科植物产业,才能实现对野生豆科植物资源利用效率的最大化。

参考文献

- [1] Ma C L, Song G Q, Cheng G Z, *et al.* Study on the resources of wild leguminous medicinal plants in Miaodao Islands [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2015, 26(5): 1240-1242.
马成亮,宋桂全,程贯召,等. 庙岛群岛野生豆科药用植物资源研究[J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(5): 1240-1242.
- [2] Azani N, Babineau M, Bailey C D, *et al.* A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny [J]. *Taxon*, 2017, 66(1): 44-77.
- [3] Li C H, Liu G D. Multipurpose use of legumes [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2008, 28(4): 75-80, 92.
黎春花, 刘国道. 豆科植物应用价值综述[J]. *热带农业科学*, 2008, 28(4): 75-80, 92.
- [4] Can the international year of beans bring a turn for the soybean market [J]. *Soybean Science*, 2016, 35(2): 336.
国际豆类年能否为大豆市场带来转机[J]. *大豆科学*, 2016, 35(2): 336.
- [5] Luo N. Features: beans lead the way—UN announces 2016 as the "International Year of Beans" [J]. *Soybean Science*, 2016, 35(2): 344.
罗娜. 特写:豆类唱主角——联合国宣布2016年为“国际豆类年”[J]. *大豆科学*, 2016, 35(2): 344.
- [6] Zhu X Y. New classification entities and new synonyms of Chinese legumes [J]. *Biodiversity Science*, 2015, 23(2): 247-251.
朱相云. 中国豆科植物新分类实体和新异名[J]. *生物多样性*, 2015, 23(2): 247-251.
- [7] Wang S C, Xue J Y, Ma A L, *et al.* Investigation on wild legume resources in west Tianmu mountain, Zhejiang Province [J]. *Education Teaching Forum*, 2017, (27): 64-66.
王时超,薛珏宜,马爱兰,等. 浙江省西天目山野生豆科植物资源调查[J]. *教育教学论坛*, 2017, (27): 64-66.
- [8] Jin R L, Fang X Y, Wild medicinal plant resources of legumes in Qingyuan County and their development and utilization [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2012, 18(8): 140-141.
金仁连,方肖艳. 庆元县豆科野生药用植物资源及开发利用[J]. *安徽农学通报(下半月刊)*, 2012, 18(8): 140-141.
- [9] Xue J, Yuan L, Zhang L, *et al.* Investigation on the diversity of medicinal plant resources of the leguminous plants in Lao Mountain, Qingdao [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47(6): 56-60, 82.
薛洁,苑璐,张丽,等. 青岛崂山豆科药用植物资源多样性调查[J]. *山东农业科学*, 2015, 47(6): 56-60, 82.
- [10] Guan R W, Lu J X, Wang M, *et al.* Investigation on the diversity of medicinal plant resources in legumes of Linqiu, Shandong [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2016, 35(5): 70-73.
管仁伟,路俊仙,王萌,等. 山东临朐豆科药用植物资源多样性调查[J]. *中国野生植物资源*, 2016, 35(5): 70-73.
- [11] Chen G D. Preliminary study on the development and utilization of wild legume resources in Huangshan city [J]. *Resource Development & Market*, 2008, (5): 458-461.
程国栋. 黄山市野生豆科植物资源开发利用初探[J]. *资源开发与市场*, 2008, (5): 458-461.
- [12] Li C T, Wild legumes in Tianzhu alpine grassland and their forage value [J]. *Grassland of China*, 1997, (1): 24-25, 29.
李春涛. 天祝高山草地野生豆科植物及其饲用价值[J]. *中国草地*, 1997, (1): 24-25, 29.
- [13] Cheng Y Q, Ning Y Q. Investigation on leguminous medicinal plant resources in Kongtongshan nature reserve [J]. *Journal of Gansu Forestry Science and Technology*, 2009, 34(3): 41-42, 45.
程亚青,宁永强. 崆峒山自然保护区豆科药用植物资源调查[J]. *甘肃林业科技*, 2009, 34(3): 41-42, 45.
- [14] Wang Y F, Yang W X, Wang C X, *et al.* The forage plant resource of legume family (Leguminosae) in Gansu [J]. *Pratacultural Science*, 2006, 23(3): 12-16.
王一峰,杨文玺,王春霞,等. 甘肃豆科饲用植物资源[J]. *草业科学*, 2006, 23(3): 12-16.
- [15] Li X Y, Zhang L, Cao W. Investigation of the nodulation and nitrogen-fixing resource of legume in Guizhou province [J]. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science)*, 2004, 29(3): 445-450.
李先源,张磊,曹伟. 贵州省豆科结瘤固氮植物资源

- 调查[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2004, 29(3): 445-450.
- [16] Tang X X, Wang Y, Yang Q W, *et al.* Investigation on legume resources in the Karst Area of dolomite in Yuntai Mountain, Shibing [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(5): 1183-1185.
汤晓辛, 王英, 杨庆伟. 施秉云台山白云岩喀斯特地区豆科植物资源调查[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(5): 1183-1185.
- [17] Yang W Q, Mu X Q. The woody plant resources and utilization of legume in Shaanxi Province [J]. Territory & Natural Resources Study, 2004, (2): 94-95.
杨文权, 慕小倩. 陕西豆科木本植物资源及其利用[J]. 国土与自然资源研究, 2004, (2): 94-95.
- [18] Li Q. The general situation of bean resources in Shanxi Province [J]. The Journal of Shanxi Teachers University (Natural Science Edition), 1999, 13(1): 60-63.
李琪. 山西豆科植物资源概况[J]. 山西师大学报(自然科学版), 1999, 13(1): 60-63.
- [19] Yang C X, Zhao Z P. The present situation and exploitation or utility discussion of leguminous resources in Xishuangbanna [J]. Journal of Fujian Forestry Science and Technology, 2007, 34(3): 191-195, 219.
杨春霞, 赵志平. 西双版纳豆科植物资源现状与开发利用探讨[J]. 福建林业科技, 2007, 34(3): 191-195, 219.
- [20] Li B, Dong G, Yu C C. Investigation on the resources of leguminous Tibetan medicine plants in Southern Gansu Area [J]. Journal of Mudanjiang Normal University (Natural Sciences Edition), 2018, (3): 62-65.
李彪, 董刚, 俞超臣. 甘南地区豆科藏药植物资源调查研究[J]. 牡丹江师范学院学报(自然科学版), 2018, (3): 62-65.
- [21] Jiang D Q, Hong Y, Shi C Y, *et al.* Protection and utilization of main wild legume resources in Qiqihar City [J]. Journal of Qiqihar Normal University (Natural Sciences Edition), 1994, (1): 39-41.
姜殿勤, 洪岩, 石彩云, 等. 齐齐哈尔市区主要野生豆科植物资源的保护及利用[J]. 齐齐哈尔师范学院学报(自然科学版), 1994, (1): 39-41.
- [22] Ren Y X, Guo Y P, Jiang F Q, *et al.* Natural grassland legume resources and their rational utilization in the northern part of Hebei Province [J]. Pratacultural Science, 2005, (5): 1-3.
任永霞, 郭郁频, 姜风琴, 等. 河北省北部地区天然草地豆科植物资源及其合理利用[J]. 草业科学, 2005, (5): 1-3.
- [23] Wu Y T, Li Z. Analysis on diversity of medicinal plant resources of leguminosae in Fujian Province [J]. Fujian Science & Technology of Tropical Crops, 2009, 34(3): 17-18.
吴义田, 李珍. 福建省豆科药用植物资源多样性分析[J]. 福建热作科技, 2009, 34(3): 17-18.
- [24] Tian L N. The study of Leguminosae plant on the west Kunlun Mountain in Xinjiang [D]. Shihezi: Shihezi University, 2015.
田丽娜. 新疆西昆仑山豆科植物研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015.
- [25] Research Group on the Development and Utilization of Bean Protein Resources. Research on the development and utilization of bean protein resources [J]. Problem of Agricultural Economy, 1990, (12): 40-43.
豆类蛋白质资源开发利用研究课题组. 豆类蛋白质资源开发利用的研究[J]. 农业经济问题, 1990, (12): 40-43.
- [26] Derbyshire E, Wright D J, Boulter D. Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds [J]. Phytochemistry, 1976, 15(1): 3-24.
- [27] Mo C W. Protein chemistry and technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
莫重文. 蛋白质化学与工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [28] Li X Q, Miao X L, Qiu A Y. Comparison of protein composition and structure of several beans [J]. Journal of Cereals & Oils, 2003, (6): 19-20.
李雪琴, 苗笑亮, 裘爱泳. 几种豆类蛋白质组成和结构比较[J]. 粮食与油脂, 2003, (6): 19-20.
- [29] Wei Q, Zhang Y Y, Yan X, *et al.* Functional comparison of legume protein and grain protein [J]. Grain Processing, 2018, 43(1): 36-41.
魏倩, 张莹莹, 阎欣, 等. 豆类蛋白和谷物蛋白的功能性对比[J]. 粮食加工, 2018, 43(1): 36-41.
- [30] Pirie N W. Leaf protein in human and animal nutrition [M]. Cambridge University Press. 1987, (2): 32-36.
- [31] Wang Z, Qiao T L, Qu N R, *et al.* Plant leaf protein extraction and application prospects [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2015, 43(12): 1727-1731.
- [32] Li Y. The determination and comparative analysis of leaf crude protein content of *Rumex acetosa*, *Potentilla chinensis* and *Amaranthus mangostanus* [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2015, 36(2): 15-16.
李艳. 酸模、委陵菜、苋菜3种植物叶片粗蛋白含量的测定与比较分析[J]. 畜牧与饲料科学, 2015, 36(2): 15-16.
- [33] Shang L T, Qiao X Z, Shi X D. Determination and extraction of soluble leaf protein from leguminous plants [J]. Bulletin of Biology, 1993, (11): 45.
尚礼部, 乔新芝, 石晓东. 豆科植物可溶性叶蛋白的测

- 定和提取[J]. 生物学通报, 1993, (11):45.
- [34] Huang W. Processing methods and dietary safety evaluation of pumpkin (*Cucurbita moschata*) leaf protein products [D]. Chongqing: Southwest University, 2010.
黄威. 南瓜叶蛋白加工方法及其制品的安全性评价研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- [35] He X Q, Song B H, Ni C K, *et al.* The comparison on extraction methods of leaf protein [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 1999, 8(2): 63-64.
贺新强, 宋葆华, 倪陈凯, 等. 植物叶蛋白提取方法的比较[J]. 植物资源与环境, 1999, 8(2): 63-64.
- [36] Li Y Y. Study on the enzymatic extraction and functional properties of proteins from tea residue [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
李圆圆. 茶渣蛋白的酶法提取及功能性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- [37] Jiang H B, Lei T. Study on extraction technology of mulberry leaf protein [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2007, (12): 19-21.
江洪波, 雷挺. 桑叶叶蛋白提取工艺的研究[J]. 农产品加工: 学刊, 2007, (12): 19-21.
- [38] Li F L, He J H. Study on the extraction condition of leaf protein of *Symphytum pezeigrinum* L. [J]. Chinese Journal of Grassland, 2009, 31(2): 76-80.
李凤玲, 何金环. 聚合草鲜草叶蛋白提取条件研究[J]. 中国草地学报, 2009, 31(2): 76-80.
- [39] Dong S T, Li B X, Huo N R. Study on extraction of polymeric leaf protein by TCA - acetone precipitation method [J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2011, (9): 766-767, 828.
董双涛, 李宝霞, 霍乃蕊. TCA-丙酮沉淀法提取聚合草叶蛋白的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, (9): 766-767, 828.
- [40] Vergara - Barberán M, Lerma - García M J, Herrero - Martínez J M, *et al.* Use of an enzyme-assisted method to improve protein extraction from olive leaves [J]. Food Chem, 2015, 169: 28-33.
- [41] Lin Y R, Cai K Y. Study on the best extraction technology of leaf protein from *Corchorus olerarius* L. [J]. Northern Horticulture, 2013, (12): 144-147.
林燕如, 蔡楷钰. 菜用黄麻叶蛋白最佳提取工艺研究[J]. 北方园艺, 2013, (12): 144-147.
- [42] Qu M, Ma Y Q, Yang D P. Extraction efficiency and characterization of alfalfa leaf protein by different methods [J]. Food Science, 2012, 33(14): 91-95.
曲敏, 马永强, 杨大鹏等. 不同方法提取苜蓿叶蛋白效果的比较及表征[J]. 食品科学, 2012, 33(14): 91-95.
- [43] Zeng F Z, Tian L P, Xue L, *et al.* Extraction of alfalfa leaf protein by direct fermentation method [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2008, 45(5): 890-893.
曾凡枝, 田丽萍, 薛琳, 等. 直接发酵法提取苜蓿叶蛋白[J]. 新疆农业科学, 2008, 45(5): 890-893.
- [44] Latif S, Anwar F, Hussain A I, *et al.* Aqueous enzymatic process for oil and protein extraction from *Moringa oleifera* seed [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2011, 113(8): 1012-1018.
- [45] Nishinari K, Fang Y, Guo S, *et al.* Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 39: 301-318.
- [46] Nielsen N C, Bassüner R, Beaman T. The biochemistry and cell biology of embryo storage proteins [M]// Nielsen N C, Bassüner R, Beaman T. eds. Advances in cellular and molecular biology of plants. Dordrecht: Springer Netherlands, 1997: 151-220.
- [47] Krishnan H B. Biochemistry and molecular biology of soybean seed storage proteins [J]. Journal of New Seeds, 2001, 2(3): 1-25.
- [48] Natarajan S S, Xu C P, Bae H H, *et al.* Characterization of storage proteins in wild (*Glycine soja*) and cultivated (*Glycine max*) soybean seeds using proteomic analysis [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(8): 3114-3120.
- [49] Natarajan S, Khan F, Song Q J, *et al.* Characterization of soybean storage and allergen proteins affected by environmental and genetic factors [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(6): 1433-1445.
- [50] Maria John K M, Khan F, Luthria D L, *et al.* Proteomic analysis of anti-nutritional factors (ANF's) in soybean seeds as affected by environmental and genetic factors [J]. Food Chem, 2017, 218(Mar 1): 321-329.
- [51] Wolf W J, Babcock G E, Smith A K. Purification and stability studies of the 11 S component of soybean proteins [J]. Arch BiochemBiophys, 1962, 99(2): 265-274.
- [52] Luthria D L, Maria John K M, Marupaka R, *et al.* Recent update on methodologies for extraction and analysis of soybean seed proteins [J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(15): 5572-5580.
- [53] Serra A, Gallart-Palau X, See-Toh R S E, *et al.* Commercial processed soy-based food product contains glycosylated and glycosylated lunasin proteoforms [J]. Sci Rep, 2016, (6): 26106.
- [54] Nguyen Q, Hettiarachchy N, Rayaprolu S, *et al.* Physicochemical properties and ACE-I inhibitory activity of protein hydrolysates from a non-genetically modified soy cultivar [J]. J Am Oil Chem Soc, 2016, 93(4): 595-606.
- [55] Chamba M V M, Hua Y F, Dawa Q, *et al.* Effects of synthetic and natural extraction chemicals on functional properties, polyphenol content and antioxidant activity of soy protein isolates extracted from full-fat and defat-

- ted flours [J]. *Adv J Food Sci & Tech*, 2013, 5(11): 1443-1449.
- [56] Morishita N, Matsumoto T, Morimatsu F, *et al.* Detection of soybean proteins in fermented soybean products by using heating extraction [J]. *J Food Sci*, 2014, 79(5): T1049-T1054.
- [57] Zhang Y P, Yang R J, Zhao W, *et al.* Physicochemical and emulsifying properties of protein extracted from soybean meal assisted by steam flash-explosion [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2014, 23: 131-137.
- [58] Qin X S, Luo S Z, Cai J, *et al.* Effects of microwave pretreatment and transglutaminase crosslinking on the gelation properties of soybean protein isolate and wheat gluten mixtures [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(10): 3559-3566.
- [59] Wang Z, Zhou J, Wang X X, *et al.* The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 35: 51-58.
- [60] Li H J, Zhu K X, Zhou H M, *et al.* Comparative study of four physical approaches about allergenicity of soybean protein isolate for infant formula [J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2016, 27(5): 604-623.
- [61] Zhang Y P, Zhao W, Yang R J, *et al.* Preparation and functional properties of protein from heat-denatured soybean meal assisted by steam flash-explosion with dilute acid soaking [J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 119(1): 56-64.
- [62] Xi J, Shi Q Q. Development of an indirect competitive ELISA kit for the detection of soybean allergenic protein gly m bd 28K [J]. *Food Anal Methods*, 2016, 9(11): 2998-3005.
- [63] Krishnan H B, Oehrle N W, Natarajan S S. A rapid and simple procedure for the depletion of abundant storage proteins from legume seeds to advance proteome analysis: a case study using *Glycine max* [J]. *Proteomics*, 2009, 9(11): 3174-3188.
- [64] Li X X, Fan P H, Zang M T, *et al.* Rapid determination of oligopeptides and amino acids in soybean protein hydrolysates using high-resolution mass spectrometry [J]. *Phytochem Anal*, 2015, 26(1): 15-22.
- [65] Cucu T, De Meulenaer B, Devreese B. MALDI based identification of soybean protein markers: possible analytical targets for allergen detection in processed foods [J]. *Peptides*, 2012, 33(2): 187-196.
- [66] Baianu I, You T F, Costescu D, *et al.* Determination of soybean oil, protein and amino acid residues in soybean seeds by high resolution nuclear magnetic resonance (NMRS) and near infrared (NIRS) [J]. *Nature Precedings*, 2012.
- [67] Sharon N, Lis H. Legume lectins: a large family of homologous proteins [J]. *FASEB J*, 1990, 4(14): 3198-3208.
- [68] Yin X L, Li T T, Liu D L, *et al.* Progress on the study of legume lectins [J]. *China Biotechnology*, 2011, 31(7): 133-139.
殷晓丽, 李婷婷, 刘东亮, 等. 豆科凝集素研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2011, 31(7): 133-139.
- [69] Carlini C R, Grossi-de-Sá M F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides [J]. *Toxicon*, 2002, 40(11): 1515-1539.
- [70] Vasconcelos I M, Oliveira J T. Antinutritional properties of plant lectins [J]. *Toxicon*, 2004, 44(4): 385-403.
- [71] Araújo-Filho J H, Vasconcelos I M, Martins-Miranda A S, *et al.* A ConA-like lectin from *Dioclea guianensis* Benth. has antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides*, unlike its homologues, ConM and ConA [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(7): 4090-4096.
- [72] Osborne T B. The vegetable proteins [M]. London: Longman & Green, 1907.

□