

食品加工对过敏原活性的影响

徐 静, 李一尘, 徐君怡, 曹际娟*, 隋 凯, 李 妍

(辽宁出入境检验检疫局, 大连 116001)

摘 要: 近年来, 食物过敏性疾病的发病率明显上升, 已成为影响人类健康最常见的全球性疾病之一。本文对食品加工中常用的几种方法对特定食品过敏原活性的影响进行了综述, 这些加工方法包括热处理、高压处理、研磨、辐照、碱水解、梅拉德反应、酶解、微生物发酵和基因工程等, 并对存在的问题进行了分析。

关键词: 食品加工; 过敏原; 蛋白质

Effects of processing on food allergens

XU Jing, LI Yi-Chen, XU Jun-Yi, CAO Ji-Juan*, SUI Kai, LI Yan

(Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001, China)

ABSTRACT: In recent years, food allergy has caused high incidence of disease and affected the health of human beings all over the world. This review summarized the effects of commonly used processing technologies on the certain food allergens, including the thermal processing, high pressure treatment, trituration, gamma radiation, alkali treatment, maillard reaction, fermentation and genetic engineering, etc.

KEY WORDS: food processing; allergen; protein

1 引 言

食品过敏原绝大多数为蛋白质。除了鸡蛋和牛奶, 动物性食物过敏反应较少见, 而引起过敏反应植物性食物种类则很多, 当植物被病原细菌或真菌感染、或者因空气污染物和紫外光等不同外来刺激物损伤或袭击, 植物就会产生一系列应激反应合成的防御蛋白来保护自己, 而除去这些蛋白质有着相当的难度^[1-2]。在此背景下, 世界上一些先进国家尝试研究与开发各种低过敏或抗过敏食品, 并取得了一些进展^[3-6]。虽然过敏原及抗原决定簇能够在一定程度上耐受各种形式的加工, 但许多研究表明, 食品加工过程也能够对食品过敏原的活性产生一定的影响^[7]。在食品加工领域中, 可对过敏原活性产生影响的有物理法、化学法和生物法等, 但至今没有明确有效的

系统方案^[8]。

2 影响过敏原活性的加工方法

2.1 物理法

2.1.1 热处理

过敏原主要由蛋白质构成, 蛋白质在高温环境中会产生空间构象及三级结构的变化, 从而在一定程度上降低甚至消除过敏原的活性^[9]。热处理对过敏原的破坏程度, 取决于加热的温度、持续时间的长短和加热方式(烘烤、风干、水煮、煎炸)等外部因素, 以及蛋白质的状态、二硫键的断裂及重新形成新的分子作用力等内部因素。加热对过敏活性的影响规律较为复杂, 一些过敏原一般对热稳定(牛奶、鸡蛋、虾类及其制品), 一些过敏原有一定的热稳定性(豆类、谷物、坚果、鱼类及其制品)。另外, 热处理能够破坏

基金项目: 国家公益性行业科研专项课题“常见食品过敏原的定量检测方法研究”(2007GYJ036)

*通讯作者: 曹际娟, 女, 博士, 研究员, 主要从事食品安全检测与研究。E-mail: cjj0909@163.com

抗原表位,也能够产生一些新的抗原表位。

Norgaard 等^[10]研究发现,牛奶煮沸 2~5 min,其致敏性不会有明显变化;煮沸 10 min 后, β -乳球蛋白和清蛋白失活,而酪蛋白却仍保持稳定,在皮肤点刺实验(SPT)中成阳性;从 100 °C 牛奶中提取的酪蛋白仍然保持致敏性。所以,消除牛奶中的过敏原需要较长加热时间,其中致敏性酪蛋白在此过程中几乎难以去除。

卵白蛋白和卵粘蛋白是鸡蛋的主要过敏原。卵白蛋白在 100 °C 加热 3 min 会减少 90 % 的致敏性,而卵粘蛋白在 100 °C 长时间加热仍保持其致敏性。可推测,鸡蛋中的卵粘蛋白具有很强的热耐受性^[11]。

Beyer 等^[12]研究发现,花生经水煮后与 IgE 的结合能力比生花生要降低一半。这与花生结构的改变无关,主要是由于部分过敏原如 Ara h1 和 Ara h2 等,以及一些分子量为 10~16 kDa 的低分子量蛋白质或肽片断溶解到水中,降低了花生的过敏性。煎炸花生中 Ara h1 单体及三聚体的含量相对减少,因而导致了其与 IgE 的结合能力的降低,而焙烤花生的过敏性则比生花生还要高。由于亚洲国家倾向于消费水煮及煎炸花生,而欧美国家习惯消费焙烤花生,因而西方国家花生过敏的发生率远高于亚洲国家。

Naqpal 等^[13]研究发现,经 100 °C 蒸煮后,虾的过敏活性保持不变,并且可从中分离出完整的虾过敏原,可见热处理对虾的过敏活性影响甚微。相比之下,热处理对鱼的过敏原影响较大,罐装金枪鱼或鲑鱼的过敏活性比未处理的生鱼要低。

热处理对新鲜水果和蔬菜中过敏原活性的影响较为复杂。免疫印记法表明,储存能减轻芹菜的过敏活性,但加热处理去除过敏原的效果更好^[10]。根据 Dube 等^[14]的研究,热处理及巴氏灭菌法对芒果果肉及果汁中的过敏原不会造成明显的破坏;Brenna 等^[15]报道称,121 °C 下持续加热 30 min,对桃子果肉及其果汁中过敏原蛋白无影响。

2.1.2 高压处理

大米中的过敏原主要是 16 ku 清蛋白, α -球蛋白和 33 ku 球蛋白。将抛光大米浸于水中加 100~400 MPa 压力会使上述蛋白优先释放出来,从而降低了大米的致过敏性,这种低过敏性大米在日本很有市场^[16]。另外,高压处理会随时间的延长和压力的增加导致蛋白释放量的增加。为保证过敏性蛋白能充分释放,可结合高压处理和酶解法,

在高压作用下酶溶液可穿透大米胚乳细胞壁和膜,从而促进过敏性蛋白更有效的释放。高压处理不但可以减少过敏性蛋白含量,而且可以改善大米的烹调性能,赋予其更好的光泽、风味和质构。

2.1.3 研磨处理

Hourihane 等^[17]用 8 种花生粉对 5 个花生过敏患者进行放射免疫吸附实验,发现 8 种花生粉对 5 个花生过敏患者的血清 IgE 均显示了很强的结合能力,可见对花生进行研磨加工并未能降低其致敏性。另外,有研究表明,对花生壳进行研磨后制成的粉末仅显示很弱的致敏性。

谷物和小麦的过敏原主要存在于外皮中,在研磨时把外皮去除之后,也可去掉过敏原。因此对面粉类过敏的人群可吃细粮以减少过敏的可能性^[10]。

2.1.4 γ -辐照处理

食品辐射加工技术是一种新型而有效的杀菌保鲜手段,称为“冷巴斯德杀菌法”(cold pasteurization),在食品加工中的应用越来越广泛。研究表明,低剂量(<5 kGy)的 γ 射线导致小分子蛋白质的裂解,低剂量到中剂量(<10 kGy)可以观察到一些功能的改变,高剂量(10~100 kGy)可以导致蛋白质变性,而非常高的剂量(>100 kGy)可以打断氨基酸的侧链^[18-19]。

Cho 等^[19]研究发现 4 kGy 的辐照剂量就足以使牛血清白蛋白(BSA)的过敏活性消失。Byun 等^[20]研究表明 10 kGy 的辐照剂量能够使虾主要过敏原的过敏活性丧失,但没有给出辐照虾肉的过敏活性的变化情况。王烁等^[21]研究发现,花生中的大部分蛋白对辐照处理的稳定性较强,1.0 kGy 以下的小剂量辐照处理对花生制品及溶液中致敏蛋白影响不大;当辐照剂量在 1.0 kGy 以上,各蛋白溶液中除分子量大于 96.9 kDa 蛋白含量增加外,其余各蛋白含量普遍减少。然而辐照并不是总是使得受辐照食品的过敏活性降低,Leszcyńska 等^[22]报道辐照谷朊蛋白的过敏活性不但没有降低,反而有一定的增加;而且辐照小麦粉过敏活性的增加程度比谷朊蛋白要大。以上结果表明辐照对过敏活性的影响具有复杂性,辐照造成的食品组分之间的相互作用对过敏活性具有举足轻重的作用。

2.2 化学法

2.2.1 碱水解

Brenna 等^[15]在研究中发现 60 °C 用 NaOH 浸泡可

以降低桃子果肉和果汁的过敏活性。鸡蛋中卵白蛋白和卵粘蛋白经 NaOH 处理后,其过敏活性也有所降低^[23]。多数过敏原对酸有抵抗作用,这可能是因为过敏原为酸性蛋白质,在酸性条件下比较稳定,而碱性的条件容易使得其结构发生改变,相应的引起过敏活性的变化。此外化学溶剂的抽提对过敏原的活性也有很大的影响,在精炼的食用油(特别是花生油)中没有发现能够使患者过敏的成分^[24]。

2.2.2 梅拉德反应

从食品工业的角度,梅拉德反应是在蛋白质的氨基和还原糖的羰基之间发生的一种非常复杂的一系列非酶反应。它能够对食品的质量包括风味、颜色、质地以及营养等产生非常重要的影响。一些研究者报道梅拉德反应能够对蛋白质的过敏活性产生影响,而且这种影响取决于蛋白质和还原糖的种类。例如,樱桃的主要过敏原与果糖和核糖反应能够降低其过敏活性^[25],但是乳清蛋白和葡萄糖反应却使得其过敏活性升高。

2.2.3 酶解

酶解法以其高效、反应温和、可控等优点广泛地应用于过敏蛋白的修饰中,酶解可改变抗原决定簇的三级结构,或者断裂酰胺键降低过敏原的分子量,从而降低其活性。随着酶制剂工业的发展,当前已可以筛选出高效专一性的酶对过敏蛋白进行定向酶解,并控制和优化酶解工艺参数,从而开发低过敏类食品。

Kuniyoshi 等^[26]报道了多种蛋白酶都能够对甲壳类动物过敏原有良好的降解作用,经过酶解的甲壳类动物蛋白抽提物其过敏活性几乎完全消失。董晓颖等^[27]采用中性蛋白酶、风味蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶等对虾肉进行处理,发现前两者对虾过敏蛋白的降敏效果最好,致敏性几乎完全消失;碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶次之,其处理后的抑制率分别为 4.94% 和 8.26%,致敏性有较大幅度的降低。然而酶解处理也很容易对蛋白质的质地产生影响,从而影响食品的其他参数;而肌动蛋白酶可以通过两步酶解产生低过敏性的大米,并且保留其质地特性,为生产高品质脱敏大米提供了实验基础^[28]。

但酶解并不能对所有的过敏原产生影响,许多过敏原能够耐受酶的水解作用,比如桃子中的过敏原就很难被蛋白酶水解,表现出很强的耐受作用,或许与所选酶的特异性有关。Penas 等^[29]分别试验了 100、200、300 MPa 压力下,碱性蛋白酶和中性蛋白

酶对大豆浆液的水解效果,结果表明,在 100、200 MPa 条件下,两种酶的水解产物中可以检测到少量的抗原分子,而在 300 MPa 条件下却不见抗原存在,说明结合高压环境能更好地有助于酶解法脱除食品中的过敏原。

酶解法反应条件温和,不会对加工食品中的其他物质尤其是营养元素造成破坏,还有可能产生一些有助于调节免疫功能的生理活性肽,具有可用于工业生产低过敏性食品的潜能;但该方法也受到酶的种类、酶解模式和程度等因素的影响,从而致使酶解产物中的肽的组成及其致敏性有着较大的差异。酶解也存在特异性强、某些产物(如苦味肽)给食品风味带来负面影响等缺点。

2.3 生物法

2.3.1 微生物发酵

微生物发酵是重要的食品加工工艺,能够对蛋白质的结构和性质进行改变,从而降低过敏原的活性。Beyer 等^[30]研究发现,一种特殊的发酵方法能够降低花生食品中的过敏性蛋白质的水平,此方法可以使花生中 Ara h1 及 Ara h2 等主要过敏性蛋白质降低达 70%,而对产品的质量无严重影响;该方法的开发,促进了花生蛋白作为乳糖不耐症消费者的蛋白基料的发展,极大地拓宽了花生蛋白的应用领域。

肌动蛋白是大豆中的主要过敏原,Plaimein 等^[31]研究发现,经纳豆芽孢杆菌发酵后,与大豆粉相比,纳豆中肌动蛋白含量减少了 12.8%~35.4%,大豆酱油中肌动蛋白含量减少了 12.8%~46.3%,对大豆粉进行固态和液态发酵,其降低百分比分别为 21.3%~41.7% 和 27.7%~46.4%,对脱脂大豆粉和大豆粉分别进行自然液态发酵和用植物乳杆菌液态发酵,结果显示,这两种液态发酵对大豆肌动蛋白的降低程度都在 55.8%~57.9% 范围内。

大量的流行病学研究发现,牛乳蛋白过敏(CMPA)是新生儿和婴儿中最普遍的一类过敏,在西方国家发病率可达 1.5%~7%。郭鹄等^[32]采用瑞士乳杆菌 *L.helveticus* 作为发酵菌种,研究其水解乳蛋白的能力及发酵产物中抗原降解的情况,发现发酵乳中 α -乳白蛋白(α -LA)、 β -乳球蛋白(β -LG)、 α S-酪蛋白(α S-CN)、 β -酪蛋白(β -CN)和牛血清白蛋白(BSA)的抗原降解率分别为 31.8%, 20.54%, 4.08%, 18.67% 和 25.47%,证明该菌种可用于发酵生产低敏性乳源蛋白基料。

2.3.2 基因工程

基因工程可直接作用于过敏源头,通过消除内源基因,使编码蛋白质失去致敏性。目前已证实,反义技术可消除植物中内源基因,反义技术又可分为传统反义技术和RNA干涉技术:前者是利用合成的寡核苷酸质粒或逆转录病毒载体,将一段具有生物活性基因片段转入活细胞内,以抑制特异基因表达;后者是指由体外合成的短双链RNA(double-strand RNA, dsRNA)在细胞内特异性地使同源互补mRNA降解,使相应基因沉默,从而引发转录后基因沉默现象。这二种方法都可使致敏基因沉默,从而减低植物性食品过敏性^[33]。

易海涛等^[34]对已鉴定出的Ara h 2主要的3个IgE表位(27-36, 59-64, 65-72)断开并重新组合,按照69-157, 62-68, 32-61, 1-31的氨基酸顺序重新排列,同时保留其主要的T细胞表位,表达出新型低过敏原衍生物;ELISA分析结果表明,经基因工程改造后的F-Ara h 2蛋白与花生过敏患者血清的中的IgE抗体仍有特异性识别,但与未突变的Ara h 2相比,其免疫原性有明显降低;该方法为研发新型低敏花生及花生制品提供了实验基础。

3 小 结

热处理、辐照、酶解法和微生物发酵是当前应用较为广泛的几种食品加工方法。其中热处理法操作简便,易于推广,可对花生(不含烘焙法)和鱼类中的过敏原产生较好的破坏作用。辐照法杀菌效果好,一度在食品行业十分盛行,但如果把握不好剂量,可能会改变食物的味道,该法对虾肉等过敏原具有较好的破坏作用。酶解法反应温和,高效可控,特别是与高压法结合使用更能发挥其功效,针对不同的过敏原使用特定的酶即可达到破坏的目的,应用十分广泛。微生物发酵在大豆、牛乳及乳制品的脱敏中起到了举足轻重的作用,针对不同的基质研发相应的菌种进行发酵,将成为今后食品安全研究的一个热点方向。另外,基因工程是近年来发展起来的一项新型生物技术,短短十几年的时间已经获得了飞速发展,从理论上讲,该方法可对几乎所有植物性食品进行基因改造从而消除过敏原,但限于其较强的专业技术性,目前还没有得到广泛的推广。

食物过敏是当今世界普遍存在的问题,严重影

响到人类的生活质量,甚至危及生命。食品深加工会对过敏原产生一定的影响,但该影响是不确定的,无法测定和控制。另外,由于一种食物中通常存在多种不同的过敏原,因此需要将几种方法结合起来达到降低或去除过敏活性的目的。全面的了解各种食品中可能存在的过敏原,并有针对性地开发新的方法和途径来降低和消除其活性,从而研制无过敏性或低过敏性的高品质食品,将成为未来食品科学领域的热点研究方向。

参考文献

- [1] Leung PS, Chow W, Duffey S, *et al.* IgE reactivity against a cross-reactive allergen in crustacea and mollusca: evidence for tropomyosin as the common allergen [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1996, 98(5): 954-961.
- [2] <http://www.allergen.org/list.htm>.
- [3] Dearman RJ, Kimber I. Food allergy: what are the issues? [J] *Toxicol Lett*, 2001, 120(1-3): 165-170.
- [4] Hendra T. Passing the food allergen test [J]. *Cereal Foods World*, 2003, 48(1): 20-23.
- [5] Christie L, Hine RJ, Parker JG, *et al.* Food allergies in children affect nutrient intake and growth [J]. *J Am Diet Assoc*, 2002, 102(11): 1648-1651.
- [6] Daul CB, Morgan JE, Lehrer SB. Hypersensitivity reactions to crustacea and mollusks [J]. *Clin Rev Allergy*, 1993, 11(2): 201-222.
- [7] Besler M, Steinhart H, Paschke A. Stability of food allergens and allergenicity of processed Foods [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 756: 207-228.
- [8] 李振兴. 虾(*Penaeus Vannamei*)过敏原免疫活性的研究[D]. 中国海洋大学博士学位论文, 8-12.
- [9] Davis PJ, Williams SC. Protein modification by thermal processing [J]. *Allergy*, 1998, 53: 102-105.
- [10] Norgaard A, Skov PS, Bindslev-Jensen C. Egg and milk allergy in adults: comparison between fresh foods and commercial allergen extracts in skin prick test and histamine release from basophils [J]. *Clin Exp Allergy*, 1992, 22(10): 940-947.
- [11] Susan L, Hefle A. Impact of processing on food allergy [J]. *Adv Exp Med Biol*, 1999, 459: 107-119.
- [12] Beyer K, Morrow E, Li XM, *et al.* Effect of cooking methods on peanuts allergenicity [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107: 1077-1081.
- [13] Naqpal S, Rajappa D, Metcalfe D, *et al.* Isolation and characterization of heat stable allergens from shrimp (*Penaeus indicus*) [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1989, 83: 26-36.
- [14] Dube M, Zunker K, Neidhart S, *et al.* Effect of technological processing on the allergenicity of mangoes (*Mangifera indica* L.)

- [J]. *J Agr Food Chem*, 2004, 52: 3938–3945.
- [15] Brenna O, Pompei C, Ortolani C, *et al*. Technological processes to decrease the allergenicity of peach juice and aectar [J]. *J Agr Food Chem*, 2000, 48: 493–497.
- [16] Estrada-Giro'n Y, Swanson BG, Barbosa-Ca'novas GV. Advances in the use of high hydrostatic pressure for processing cereal grains and legumes [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2005, 16: 194–203.
- [17] Hourihane JO' B, Kilburn SA, Nordlee JA, *et al*. An evaluation of the sensitivity of subjects with peanut allergy to very low doses of peanut protein: a randomized, double-blind, placebo-controlled food challenge study [J]. *Allergy Clin Immunol*, 1997, 100(5): 596–600.
- [18] Kume T, Mntsuda T. Changes in structural and antigenic properties of protein by radiation [J]. *Padat Phys Chem*, 1995, 46: 225–231.
- [19] Cho Y, Song KB. Effect of g-irradiation on the molecular properties of BSA and b-lactoglobulin [J]. *J Biochem Mol Biol*, 2000, 33:133–137.
- [20] Byun MW, Kim JL, Lee JW, *et al*. Effects of gamma radiation on the conformational and Antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp [J]. *J Food Prot*, 2000, 63(7): 940–944.
- [21] 王烁, 张春红, 李淑荣. 辐照处理对花生致敏蛋白的影响[J]. *花生学报*, 2009, 38(2): 1–5.
- [22] Leszczynska J, Szemraj J, Lttkamowicz J, *et al*. The influence of gamma irradiation on the immunoreactivity of gliadin and wheat flour [J]. *Eur Food Res Technol*, 2003, 217: 143–147.
- [23] Ryu JH, Lee JM, Kim HK, *et al*. Reduction of the allergenicity of egg white by NaOH and heat treatment when evaluated in orally sensitized mice. 2001 IFT Annual Meeting New-Orleans, Louisiana.
- [24] Yunginger JW, Calobfisi SD. Investigation of the allergenicity of a refined peanut oil-containing topical dermatologic agent in persons who are sensitive to peanuts [J]. *Cutis*, 2001, 68(2): 153–155.
- [25] Gruber P, Vieths S, Wangorsch A, *et al*. Maillard reaction and enzymatic browning affect the allergenicity of Pru av 1, the major allergen from cherry(*Prunus avium*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 4002–4007.
- [26] Kuniyoshi S, Tonomura Y, Hamada Y, *et al*. Allergenicity of crustacean extraetives and its reduction by protease digestion [J]. *Food Chem*, 2005, 91: 247–253.
- [27] 董晓颖, 高美须, 潘家荣. 不同处理方法对虾过敏蛋白分子量及抗原性的影响[J]. *核农学报*, 2010, 24(3): 548–554.
- [28] Watanabe M, Miyakawa M., Ikezawa Z, *et al*. Production of hypoallergenic rice by enzymatic decomposition of constituent proteins [J]. *J Food Sci*, 1990, 55: 781–783.
- [29] Penas E, Restani P, Ballabio C. Assessment of the residual immunoreactivity of soybean whey hydrolysates obtained by combined enzymatic proteolysis and high pressure [J]. *Eur Food Res Technol*, 2006, 222: 286–290.
- [30] Beyer K, Morrow E, Li XM, *et al*. Effects of cooking methods on peanut allergenicity [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(6): 1077–1081.
- [31] Plaimein A, Elvira GM. Purification, characterisation and quantification of the soy allergen profilin(Glym3) in soy products [J]. *Food Chem*, 2010, 119:1671–1680.
- [32] 郭鸽, 任大喜, 张英华, 等. 发酵生产低致敏乳源蛋白基料的研究[J]. *生产与科研经验*, 2007, 33(10): 81–84.
- [33] 史晓磊. 基因工程在降低植物性食品致敏性中应用[J]. *粮食与油脂*, 2009(9): 4–6.
- [34] 易海涛, 刘芳, 贾梦阳, 等. 经基因工程改造的花生主要过敏原 Ara h2 制备及其低致敏原性鉴定[J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(5): 993–998.

(责任编辑: 孙媛媛)

作者简介



徐静, 女, 博士, 主要从事食品安全色
谱检测的研究。

E-mail: jingxu99@163.com



曹际娟, 女, 研究员, 主要从事食品安
全检测与研究。

E-mail: cjj0909@163.com