

# 不同热加工处理方式对中华绒螯蟹原肌球蛋白的消化稳定性和致敏性的影响

程华峰, 王福田, 朱亚军, 姜绍通, 林琳, 陆剑锋\*

(合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽省农产品精深加工重点实验室, 农产品生物化工教育部工程研究中心, 合肥 230009)

**摘要:** **目的** 探究不同热加工处理方式对中华绒螯蟹原肌球蛋白的消化稳定性和致敏性的影响。**方法** 以中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)为原料, 采用 4 种不同热加工方式(蒸煮、超声波结合蒸煮、反压蒸煮、高温高压)对蟹肉进行处理, 参照美国药典中模拟胃、肠液消化实验方法, 对处理后蟹肉的原肌球蛋白(tropomyosin, TM)进行体外消化, 通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、免疫印迹(western blotting)和抑制性酶联免疫吸附(inhibition enzyme linked immunosorbent assay, Inhibition ELISA)等技术分析其消化稳定性及消化产物的致敏性。**结果** 与未处理的样品相比, 普通蒸煮处理后 TM 的消化稳定性及致敏性没有明显变化( $P>0.05$ ); 超声波结合蒸煮、反压蒸煮以及高温高压处理对 TM 降解具有明显的促进作用, TM 及其消化产物的致敏性也显著降低( $P<0.05$ )。**结论** 反压蒸煮与高温高压处理对致敏性消减的效果较好。

**关键词:** 中华绒螯蟹; 原肌球蛋白; 模拟胃肠液消化; 免疫印迹; 抑制性酶联免疫吸附测定; 不同热加工处理方式

## Effects of different thermal processing methods on digestibility and allergenicity of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* tropomyosin

CHENG Hua-Feng, WANG Fu-Tian, ZHU Ya-Jun, JIANG Shao-Tong, LIN Lin, LU Jian-Feng\*

(School of Food and Biological Engineering, Key Laboratory for Agricultural Products Processing of Anhui Province, Engineering Research Center of Bio-process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the effects of different thermal processing methods on the digestibility and allergenicity of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) tropomyosin. **Methods** Using Chinese mitten crab as raw material, 4 different thermal processing methods (steaming, back pressure cooking, high temperature and pressure, ultrasonic assist steaming) were adopted to treat river crab meat. The tropomyosin (TM) of crab meat was digested *in vitro* according to the method of simulated stomach and intestinal digestion in American pharmacopoeia. The digestion stability and sensitization of the digestive products were analyzed by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), western blotting, and inhibition enzyme linked immunosorbent assay(Inhibition ELISA). **Results** Compared with untreated samples, the digestive stability and sensitization of TM after ordinary cooking treatment showed no significant changes ( $P>0.05$ ). Ultrasonic wave

\*通讯作者: 陆剑锋, 博士, 教授, 主要研究方向为水产品加工及保鲜。E-mail: lujf@sibs.ac.cn

\*Corresponding author: LU Jian-Feng, Ph.D, Professor, School of Food and Biological Engineering Hefei University of Technology, Hefei 230009, China. E-mail: lujf@sibs.ac.cn

combined with cooking, reverse pressure cooking and high temperature and high pressure treatment had significant promoting effect on TM degradation, and sensitization of TM and its digestive products was also significantly reduced ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The back pressure cooking and high temperature and high pressure treatment have good effect on reducing sensitization.

**KEY WORDS:** *Eriocheir sinensis*; tropomyosin; simulated gastrointestinal digestion; western blotting; inhibition enzyme linked immunosorbent assay; different thermal processing methods

## 1 引言

食物过敏是当今世界第 4 个重大卫生学问题,被世界卫生组织列为 21 世纪应重点防治的 3 大类疾病之一<sup>[1]</sup>。因食品加工行业的发展、饮食结构的改变以及环境污染加剧等因素的影响,食物过敏的发病率呈现明显上升趋势<sup>[2]</sup>。研究显示,全球约有 2%~3%的成人和 5%~8%的儿童患有食物过敏性疾病<sup>[3-5]</sup>。中国疾病预防控制中心(Centers for Disease Control, CDC)研究发现,我国城市人口中 0~24 月龄婴幼儿发生过敏性疾病症状的比例高达 40.9%<sup>[6]</sup>。同时也有数据显示,15~24 岁年龄段的健康人群中,食物过敏率高达 5.7%<sup>[7]</sup>。虾蟹等甲壳类水产品会引起某类特定人群的过敏反应,被联合国粮农组织和世界卫生组织定义为 8 大类食物过敏原之一<sup>[8]</sup>。

甲壳类动物主要过敏原为分子量 32~40 kDa 的原肌球蛋白(tropomyosin, TM)<sup>[9-12]</sup>。TM 是一种存在于肌肉中的调节型结构蛋白,易溶于水,呈酸性,对蛋白酶、酸和热的作用有一定耐受性<sup>[13]</sup>。超声波是频率高于 20000 Hz 的声波,在媒介中的介质粒子受力产生机械振动,因而粒子间相互碰撞作用,产生机械效应、热效应、空化效应<sup>[14]</sup>。热处理通常借助高温作用,引起过敏蛋白空间构象及三级结构变化,破坏蛋白空间结构,从而达到降低致敏性或去除过敏原的效果<sup>[15]</sup>。刘妍姝等<sup>[16]</sup>发现超声联合加热和高温高压处理能够降低大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)鱼卵中过敏蛋白的免疫活性。Li 等<sup>[17]</sup>使用超声波结合蛋白酶处理烤花生仁,发现花生中过敏原成分致敏性显著降低。刘光明等<sup>[18]</sup>采用超声波结合蒸煮也可降低拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)蟹肉的致敏性。

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)俗称大闸蟹、河蟹、毛蟹等,是我国重要的养殖经济蟹类品种,同时也是主要的过敏食物之一<sup>[19]</sup>。一种天然蛋白或变性蛋白如需保持其致敏性,该蛋白的免疫球蛋白 E(immunoglobulin E, IgE)结合位点所处的氨基酸片段必须耐受食品加工以及体内消化,因为食物过敏反应的发生与药物过敏和呼吸道致敏反应不同,致敏蛋白需经消化系统处理(低酸、胆盐、蛋白酶水解等)到达肠粘膜被吸收后才能发生免疫反应。因此体外模拟胃肠液消化实验被认为是评估食物致敏性的一项重要指

标<sup>[20]</sup>。本文以中华绒螯蟹肉为原料,采用蒸煮、反压蒸煮、超声波结合蒸煮和高温高压 4 种热加工方式对蟹肉进行加工处理,通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、免疫印迹(western blotting)及抑制性抑制性酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)等方法对加工处理后蟹肉 TM 的消化稳定性及致敏性进行分析,以期中华绒螯蟹过敏原性质及开发低致敏性水产食品的深入研究提供重要理论依据。

## 2 材料与方 法

### 2.1 实验材料

本实验所用河蟹,均购于安徽无为河蟹养殖场。将活蟹现场取回实验室后,现杀取肉直接用于实验或将蟹肉置于-24℃冰箱冻存备用。

### 2.2 试剂与仪器

四甲基乙二胺(tetramethylethylenediamine, TEMED)、溴酚蓝、聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(美国 Sigma 公司);彩虹 130 广谱蛋白 Marker(15~130 kDa)、HRP 标记的羊抗人 IgE 抗体、猪胰蛋白酶(40 U/mg 蛋白)、猪胃蛋白酶(250 U/mg 蛋白)、SDS-PAGE 制胶试剂盒、ECL Plus 超敏发光液、丙烯酰胺、十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)(中国 Solarbio 公司);蟹类过敏患者血清和正常人血清(中国沃卡威生物公司);甲醇、无水碳酸钠、盐酸、丙酮、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氯化钠、甘氨酸、氯化钾、冰醋酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

PD500-TP18 高速分散均质机(英国 Prima 公司);SZ-93 制双蒸水机(上海亚荣生化仪器厂);FA-2004 电子分析天平(上海衡平仪器仪表厂);CT15RT 高速冷冻离心(上海天美生化仪器有限公司);FCE 化学发光成像仪(美国 Protein Simple 公司);Mini 电泳仪及电转移装置(美国 Bio-Rad 公司);C21-HDSCB46 电磁炉(苏泊尔公司);LDZX-30KBS 高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂);F-50 反压灭菌锅(山东创美机械科技有限公司);PHS-3C 精密 pH 计(上海大谱仪器有限公司);Multiskan Go 1510 酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);KS-150D 数显超声装置(宁波海曙科生超声波设备有限公司)。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 不同热加工方式处理

将蟹肉采用 4 种不同热加工方式处理。

对照组(不做任何处理): 10 g 新鲜河蟹肉; 蒸煮处理: 取 10 g 新鲜河蟹肉, 在蒸锅中隔空蒸煮 20 min;

超声波结合蒸煮处理: 将 10 g 新鲜河蟹肉置于适宜离心管中, 放入超声波仪器中, 超声(30 °C, 240 W, 80 kHz)处理 60 min 后, 于蒸锅中隔空蒸煮 20 min;

反压蒸煮处理: 取 10 g 新鲜河蟹肉于反压灭菌锅中, 120 °C 处理 20 min;

高温高压处理: 取 10 g 新鲜河蟹肉于高压灭菌锅中, 120 °C 处理 20 min。

### 2.3.2 TM 粗蛋白制备

参照 Yu 等<sup>[21]</sup>的方法制备蟹肉 TM 粗蛋白。取适量未处理或加工处理后的蟹肉于离心管中, 加入 4 倍体积(*V/w*)冰冷的 20 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.5, 含 3% NaCl, *w/V*)均质机均质 2 min, 重复进行 3 次。均质完成后将均质液沸水浴加热 15 min, 待完全冷却后, 于 8200 g 条件下离心 20 min 取上清, 即得到蟹肉 TM 粗蛋白。

## 2.4 体外模拟胃肠液消化

模拟胃肠液消化反应中, 模拟胃肠液的配制参照美国药典<sup>[22]</sup>中的方法。

体外模拟胃液(simulated gastric fluid, SGF)消化主要参照 Jin 等<sup>[23]</sup>的方法, 并作适当修改。在 1 mL 模拟胃液反应体系中, 胃蛋白酶酶活与底物质量比 3.75 U/mg, 反应液中 TM 粗蛋白的终浓度为 3 mg/mL。该反应在 37 °C 水浴条件下, 振荡进行, 分别在反应时间为 0、1、2、5、10、15、30、60 min 时取出 100 μL 反应液, 同时立即加入 30 μL 200 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 混合, 使其达到碱性后终止反应。其中 0 min 时将终止液先加入含有胃蛋白酶的 SGF, 再加入一定量的底物; 整个反应过程同时设置对照实验, 对照反应则不加入胃蛋白酶, 而加等量的中性缓冲液代替, 其余步骤相同。

体外模拟肠液(simulated intestinal fluid, SIF)消化主要参照 Jin 等<sup>[23]</sup>的方法, 并作适当修改。在 1 mL 模拟肠液反应体系中, 胰蛋白酶酶活与底物质量比 0.6 U/mg, 反应液中 TM 粗蛋白的终浓度为 3 mg/mL。于 37 °C 水浴条件振荡反应, 分别于反应时间为 0、1、15、30、60、120、180、240 min 时各取出 100 μL 反应液, 立即加入上样缓冲液, 于 95 °C 条件下加热 10 min。其中 0 min 时是将含有蛋白酶的 SIF 先于 95 °C 条件下加热 5 min, 再加入一定量底物; 对照反应则不加入蛋白酶, 而加等量的中性缓冲液代替, 其余步骤相同。

## 2.5 SDS-PAGE 和 western blotting

电泳实验操作参照 Liu 等<sup>[24]</sup>的方法进行。

免疫印迹实验操作参考 Mohammadi 等<sup>[25]</sup>的方法进行。

## 2.6 抑制性 ELISA

抑制性 ELISA 实验参照 Chen 等<sup>[26]</sup>的方法, 并适当修改。

板 A: 稀释至一定浓度的样品加入酶标板中, 4 °C 包被过夜。包被完成后, TBS-T 清洗并拍干酶标板, 加入 5% 脱脂奶在 37 °C 条件下封闭反应 2 h。

板 B: 将 30 μL 蟹类过敏患者的血清(1:5 用 1%脱脂奶稀释)与等量的过敏蛋白消化产物(胃蛋白酶、胰蛋白酶分别消化 1 h、4 h 后的产物)以及未消化过敏蛋白混合孵育, 在 37 °C 条件下反应 1 h。弃去板 A 中的脱脂奶, TBS-T 溶液清洗, 随后将板 B 中反应好的混合液加入到板 A 中, 于 37 °C 条件下反应 1 h。倒去溶液, TBS-T 溶液清洗, 加入 100 μL HRP 标记的羊抗人 IgE 二抗(1:2000 稀释), 于 37 °C 条件下反应 2 h。TMB 底物显色液显色, 加入 2 mol/L 硫酸溶液终止反应, 放入酶标仪, 在 450 nm 下测定样品的吸光值。

抑制率的计算如下:

$$\text{抑制率} / \% = \frac{(X - Y)}{(X - Z)} \times 100$$

式中, *X* 是过敏患者血清未添加抑制剂的吸光值, *Y* 和 *Z* 代表阳性、阴性血清与不同抑制剂样品竞争孵育反应后的吸光值。

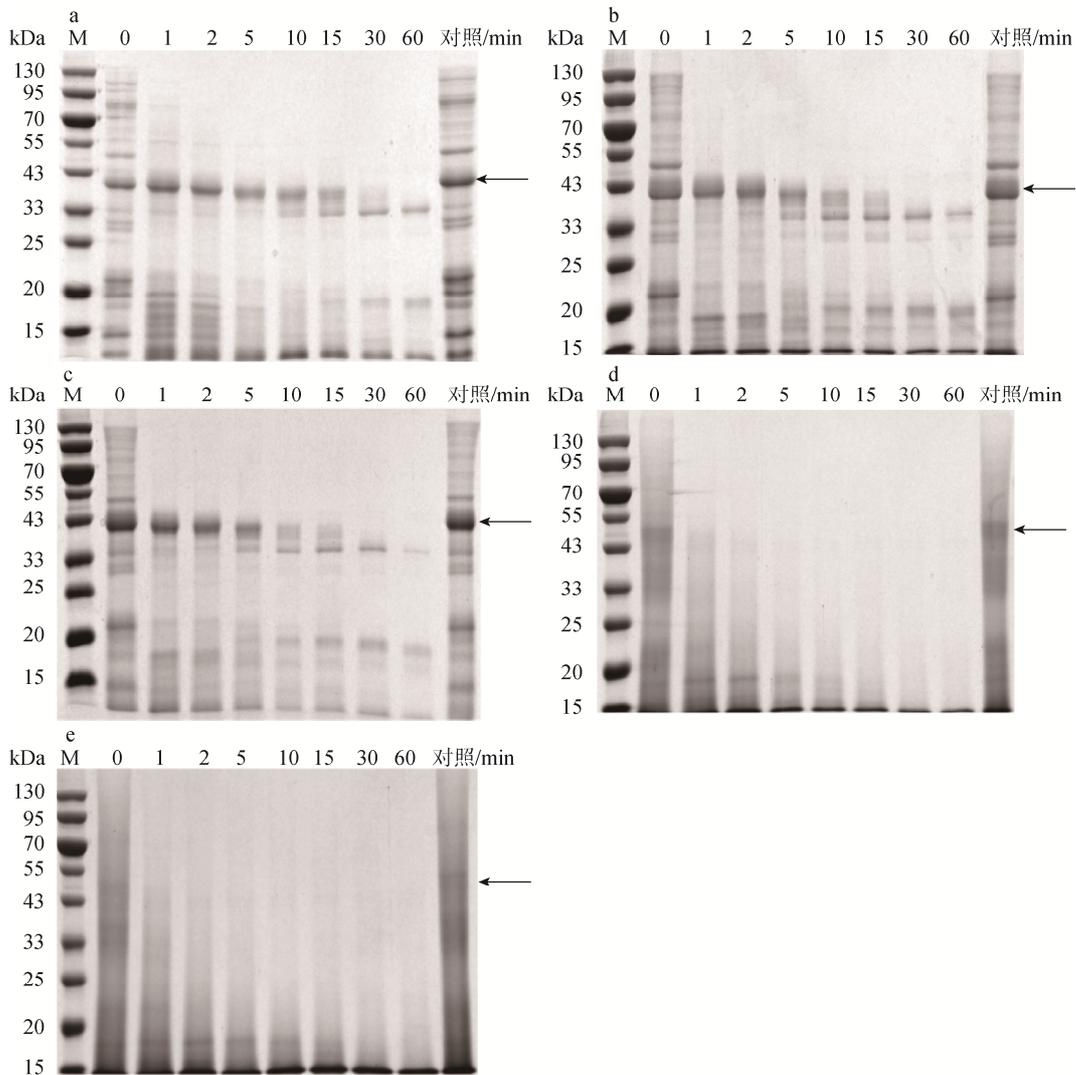
## 3 结果与分析

### 3.1 热加工处理后 TM 粗蛋白的模拟胃液消化

蒸煮、超声波结合蒸煮、反压蒸煮和高温高压 4 种热加工方式处理后样品的模拟胃液(simulated gastric fluid, SGF)消化实验结果如图 1 所示。整个实验组中, TM(箭头所示)等其他蛋白均随着消化时间的增加而降解。从图 1a、1b 和 1c 中可发现, 未处理、蒸煮处理和超声波结合蒸煮处理在消化反应进行 1 min 后, 在 34 kDa 处 TM 产生较为明显的降解条带, 其中在未处理与蒸煮处理中, 此降解条带随着消化反应的进行条带逐渐加深, 超声波结合蒸煮处理中此降解条带在 30 min 后再次降解, 条带逐渐变浅。

蒸煮处理与超声波结合蒸煮处理电泳实验结果显示, 在消化反应进行 2 min 后, 30 kDa 处产生了一条较为微弱的降解条带(图 1b 与 1c), 而未处理中未观察到类似降解条带的产生(图 1a)。与蒸煮处理相比, 超声波结合蒸煮处理中该降解条带降解速度更快, 在 30 min 时几乎被完全降解。

反压蒸煮和高温高压处理对蟹肉蛋白影响较大, 电泳条带展现出显著的改变, 经反压蒸煮和高温高压处理后的 TM 原始条带较宽, 并具有扩散趋势, TM 降解条带及其他蛋白条带较难辨别(图 1d 与 1e)。这与其他学者的研究结果一致, 如 Yu 等<sup>[21]</sup>对拟穴青蟹蟹肉主要过敏蛋白研究时发现, 高温与高压结合处理会使过敏蛋白结构松散, 电泳结果模糊较难辨别; Shen 等<sup>[27]</sup>在对章鱼(*Octopus fangsiao*)过敏蛋白的研究中也观测到类似的结果。



注: M: 蛋白分子量标准; a: 未处理; b: 煮沸 20 min 处理; c: 超声波结合煮沸处理; d: 反压煮沸处理; e: 高温高压处理

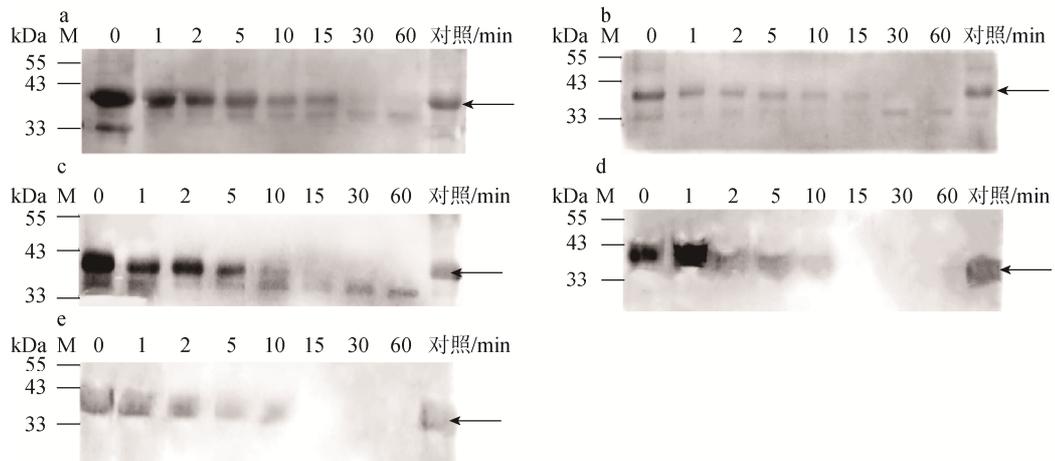
图 1 不同处理的 TM 粗蛋白 SGF 消化电泳图

Fig.1 SDS-PAGE of SGF digestion on TM crude extract

为了更准确地了解 TM 在胃液消化实验中的降解情况, 采用灵敏度更高的免疫印迹技术进行分析<sup>[28]</sup>。图 2 为图 1 的免疫印迹分析图谱, 从凝胶电泳图和免疫印迹图上可以发现, TM(箭头所示)的降解情况基本保持一致。在未处理、煮沸处理和超声波结合煮沸处理中, 消化反应 TM(30 min) 及其 34 kDa 处的降解条带(60 min) 仍发生免疫反应。在煮沸和超声波结合煮沸处理的免疫印迹图中, 并没有发现 30 kDa 的降解条带, 可能是由于该降解条带浓度较低, 或与免疫印迹反应结合位点较少所导致。从图 2d 和 2e 中可以看到, 经反压煮沸与高温高压处理的蟹肉 TM 在胃蛋白酶消化反应中降解较快, 消化反应进行到 15 min 时, TM 及其降解条带就被完全降解。该结果表明反压煮沸或高温高压处理, 能够促进蟹肉 TM 在模拟胃液中的消化。

### 3.2 热加工处理后 TM 粗蛋白的模拟肠液消化

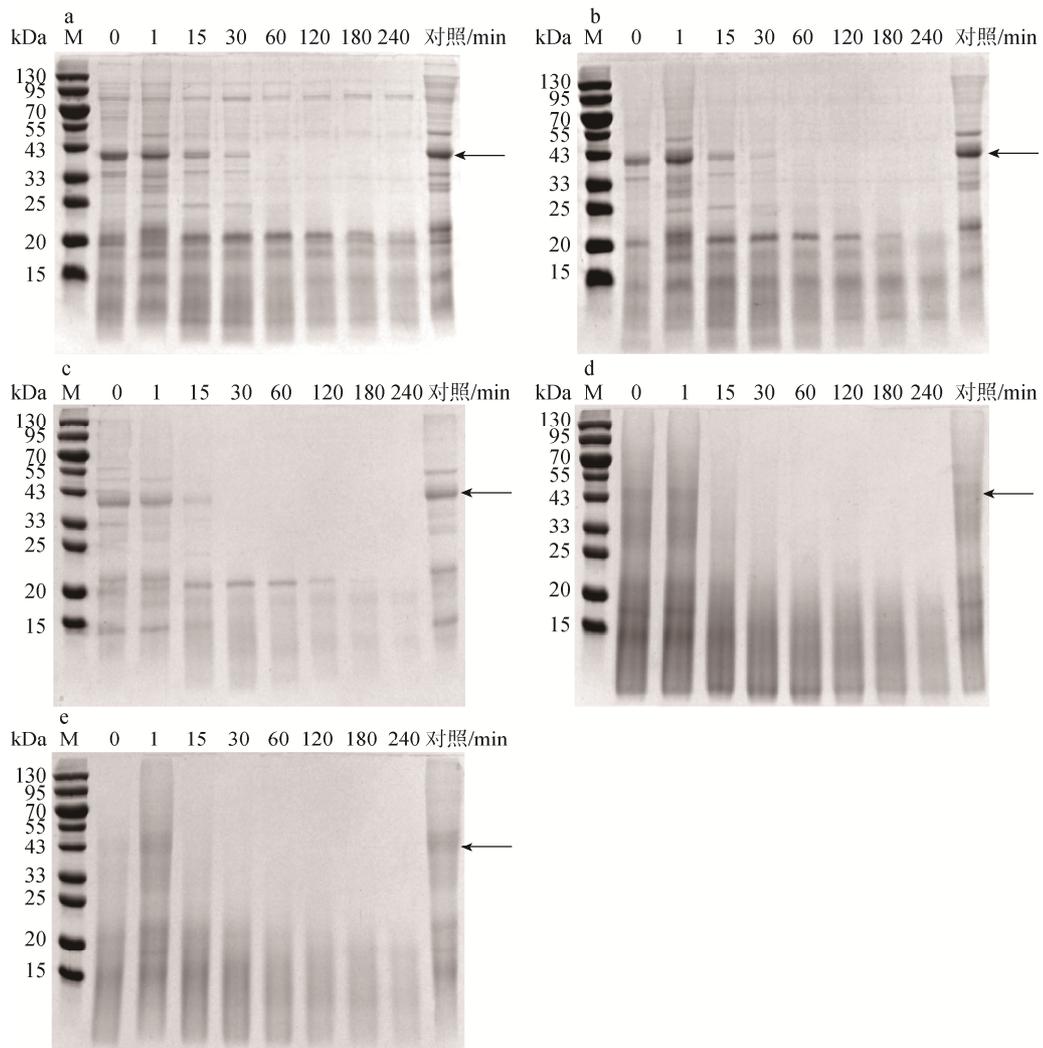
煮沸、超声波结合煮沸、反压煮沸和高温高压 4 种热加工方式处理蟹肉后, TM 粗蛋白的模拟肠液(simulated intestinal fluid, SIF)消化结果见图 3。从图 3 中可以看出, 随着消化反应的进行, TM(箭头所示)原始条带、降解条带及其他蛋白条带逐渐被降解, 其中未处理与煮沸处理的肠液消化结果基本相似, TM 原始条带均在 60 min 时完全降解。超声波结合煮沸处理样品的消化反应中, TM 原始条带在 30 min 时完全降解, 与未处理和煮沸处理实验结果相比, 表现出明显区别, 其降解速度更快。蟹肉经过反压煮沸与高温高压处理后, TM 条带及其他蛋白条带在电泳图上条带较宽, 较难辨别(图 3d 与 3e)。



注: M: 蛋白分子量标准; a: 未处理; b: 煮沸 20 min 处理; c: 超声波结合煮沸处理; d: 反压煮沸处理; e: 高温高压处理

图 2 不同处理的 TM 粗蛋白 SGF 消化产物的免疫印迹

Fig 2 Western blotting analysis of SGF digestion on TM crude extract



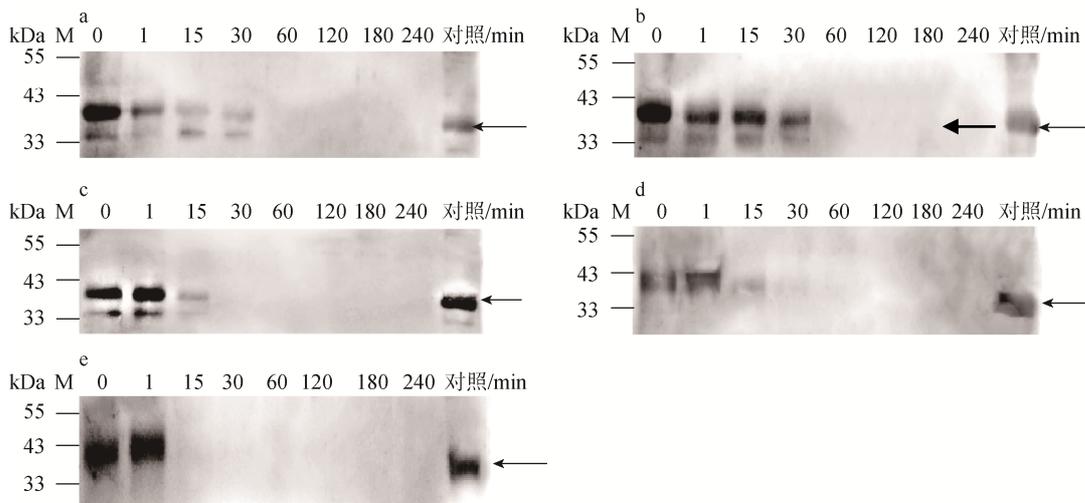
注: M: 蛋白分子量标准; a: 未处理; b: 煮沸 20 min 处理; c: 超声波结合煮沸处理; d: 反压煮沸处理; e: 高温高压处理

图 3 不同处理的 TM 粗蛋白 SIF 消化电泳图

Fig.3 SDS-PAGE of SIF digestion on TM crude extract

图 4 为 SIF 消化的免疫印迹实验结果, 从图 4a、4b 可以看出, 未处理与蒸煮处理肠液消化免疫印迹结果无显著区别, TM(箭头所示)原始条带及其降解条带均在 60 min 内被完全消化。超声波结合蒸煮处理(4c)和反压蒸煮处理(4d)的样品在 30 min 内被完全降解, 蛋白条带比未处理与蒸煮

处理早 30 min 消失。在图 4e 中可以看到高温高压处理后, TM 原始条带的降解速度最快, 在 15 min 内被完全降解。综上所述可知, 蒸煮处理对 TM 的消化降解无明显影响; 超声波结合蒸煮处理、反压蒸煮处理与高温高压处理对河蟹 TM 的模拟肠液消化具有促进作用, 其中高温高压处理效果最好。



注: M: 蛋白分子量标准; a: 未处理; b: 蒸煮 20 min 处理; c: 超声波结合蒸煮处理; d: 反压蒸煮处理; e: 高温高压处理

图 4 不同处理的 TM 粗蛋白 SIF 消化产物的免疫印迹

Fig.4 Western blotting analysis of SIF digestion on TM crude extract

### 3.3 抑制性 ELISA 结果

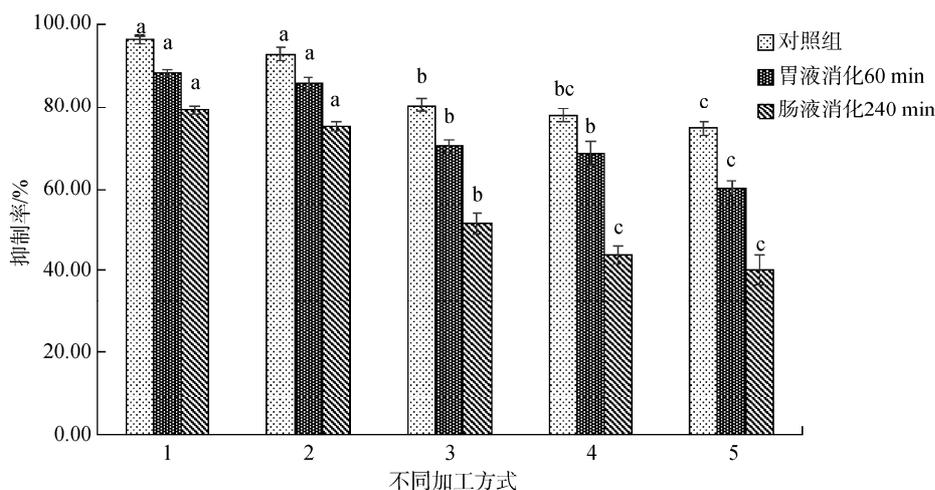
一些研究认为, 免疫印迹在检测蛋白水解中 IgE 结合能力时的效果差于抑制性 ELISA 方法<sup>[20,21]</sup>。用电泳或免疫印迹技术分析过敏蛋白降解产物时, 部分蛋白会因为分子量较小而难以检测到, 因此无法排除 IgE 结合位点存在于小分子量蛋白中的可能性, 故本实验采用检测效果更好的抑制性 ELISA 技术来检测过敏蛋白降解产物的致敏性。抑制性 ELISA 实验中, 抑制率越高, 表明样品的 IgE 结合能力越强, 致敏性越强; 抑制率越低, 表明样品的 IgE 结合能力越低, 其致敏性越低<sup>[29]</sup>。

蟹肉经不同热加工方式处理后, 采用抑制性 ELISA 技术分析其 TM 粗蛋白经体外模拟胃肠液消化后产物的致敏性, 结果见图 5。结果显示: 与未处理蟹肉(对照)相比, 4 种不同热加工方式处理蟹肉后, 其 TM 再经胃蛋白酶和胰蛋白酶分别作用 60 min 和 240 min 后其致敏性仍然存在, 但都有所降低; 和未处理蟹肉(对照)相比, 蒸煮处理对蟹肉 TM 粗蛋白消化产物致敏性的影响不明显; 与未处理和蒸煮处理相比, 超声波结合蒸煮、反压蒸煮和高温高压 3 种热加工方式处理能够显著降低河蟹 TM 的致敏性, 其中反压蒸煮与高温高压处理效果更好, 超声波结合蒸煮处理次之。这与一些学者的研究结果一致, 如 Yu 等<sup>[21]</sup>研究发现普通蒸煮加热处理对拟穴青蟹蟹肉过敏蛋白的消化特性以

及过敏原性均无明显影响, 高温高压处理能够有效影响过敏蛋白消化稳定性与过敏原性; Misnan 等<sup>[30]</sup>研究发现蒸煮处理对于当地海洋蜗牛(*Cerithidea obtusa*)的主要过敏蛋白的致敏性影响较小; 但费爽雯等<sup>[31]</sup>发现普通加热处理即能显著降低牛乳中主要过敏原的致敏性。普通热加工处理对甲壳类动物过敏蛋白性质影响较小, 对其他食品过敏蛋白影响较大, 也进一步说明不同食品中的过敏蛋白性质具有差异; 甲壳类动物中过敏蛋白对热处理具有一定耐受性; 同时高温与高压的结合处理可以改变单一热处理的不足, 进而对过敏蛋白性质产生较为明显的影响。

## 4 讨论与结论

研究发现, 经蒸煮、超声波结合蒸煮、反压蒸煮和高温高压加工处理后, 河蟹肉 TM 粗蛋白在模拟胃肠液消化实验中的消化特性存在差异。模拟胃液消化实验结果表明, TM 粗蛋白中 TM 比其他蛋白具有更高的消化稳定性; 通过不同热加工方式处理后, 除反压蒸煮和高温高压处理后因条带较为模糊, 不易辨别外, 其他加工处理后的 TM 原始条带均产生了约 34 kDa 的主降解条带, 此降解条带胃液消化耐受性较强, 在消化进行 60 min 后仍不能被降解。模拟肠液消化实验结果表明, TM 在肠液消化中稳定性较低; 电泳结果显示, 超声波结合蒸煮对 TM 消化具有明显促进作用。



注: 1: 未处理; 2: 蒸煮 20 min 处理; 3: 超声波结合蒸煮处理; 4: 反压蒸煮处理; 5: 高温高压处理小写字母不同表示同一消化进程中不同加工方法之间差异显著( $P < 0.05$ )

图 5 TM 消化产物的抑制性 ELISA 分析 ( $n=6$ )

Fig.5 Inhibition-ELISA of TM digestive samples ( $n=6$ )

与未处理蟹肉 TM 粗蛋白的消化实验结果相比, 普通蒸煮处理很难促进 TM 的消化降解, 而超声波结合蒸煮、反压蒸煮、高温高压 3 种热加工方式处理能够明显加快 TM 的消化降解, 其中高温高压处理的效果最为显著。免疫印迹及抑制性 ELISA 结果表明, 普通蒸煮虽然能够降低 TM 的致敏性, 但无明显影响; 经另外 3 种热加工方式处理后, 蟹肉 TM 的致敏性显著降低, 其中反压蒸煮与高温高压加工处理的效果较好, 超声波结合蒸煮处理次之。

Liu 等<sup>[24]</sup>研究发现热加工处理能够提高凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 可食用部分的消化率, 降低虾可食用部分的免疫活性, 其中热处理主要引起虾蛋白之间的共价键与疏水作用, 进一步影响胃肠道消化率, 从而影响免疫活性; 而普通的煮沸对消化率和免疫活性影响不强, 高温高压的结合作用影响效果明显。Lasekan 等<sup>[32]</sup>研究发现斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 的 TM 在普通热处理下非常稳定, 与其他热处理方法相比, 高压蒸汽处理可降低 TM 的浓度, 从而降低其致敏性。李坤等<sup>[33]</sup>研究花生过敏蛋白 Ara h2 时, 发现单一的热处理对该过敏蛋白结构与抗原性的改变较小。本研究中热加工方式处理对河蟹 TM 的影响与该类研究具有相似性。河蟹 TM 作为一种热稳定性过敏蛋白, 普通的蒸煮加热对其性质影响较微弱, 但反压蒸煮与高温高压处理(高压与高温联合作用), 能够引起蛋白结构发生不可逆的变化, 进而促进过敏蛋白的消化反应。而在超声波结合蒸煮处理过程中, 因超声处理使得介质粒子的运动, 机械效应、热效应和空化效应对蛋白结构产生影响, 继而影响过敏蛋白的致敏性<sup>[14]</sup>。

本研究以目前主流的热加工方式处理中华绒螯蟹肉,

研究其过敏蛋白消化性质和不同热加工方式处理对过敏蛋白致敏性的影响。研究发现, 不同热加工方式处理的结果具有明显区别, 样品经超声波结合蒸煮、反压蒸煮和高温高压处理后, TM 消化产物的致敏性显著降低。其中超声波结合蒸煮比单独蒸煮处理, 对 TM 致敏性的降低效果好; 反压蒸煮处理与高温高压处理降低 TM 致敏性效果最为显著。本研究结果可为今后探究胃肠消化对蟹类食品的致敏性消减作用机制、食物过敏机制提供科学依据, 同时对今后开发低致敏性水产品具有一定的参考价值。

#### 参考文献

- [1] 陆宗超, 李振兴, 张立敏, 等. 大菱鲆过敏原氧化后理化性质及与 IgE 结合能力的变化[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2013, 39(6): 679-686.  
Lu ZC, Li ZX, Zhang LM, et al. Physicochemical properties and IgE binding ability changes of turbot allergen during oxidation [J]. J Zhejiang Univ (Agric Life Sci Ed), 2013, 39(6): 679-686.
- [2] Sindher S, Fleische DM, Spergel JM. Advances in the treatment of food allergy: Sublingual and epicutaneous immunotherapy [J]. Immunol Allergy Clin, 2016, 36(1): 39-54.
- [3] Taylor SL, Hefle SL. Food allergen labeling in the USA and Europe [J]. Curr Opin Allergy Cl, 2006, 6(3): 186-190.
- [4] Chapman JA, Bernstein IL, Lee RE, et al. Food allergy: A practice parameter [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2006, 96(3): 1-68.
- [5] Scott H, Sicherer MD, Hugh A. Food allergy [J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(3): 116-125.
- [6] 王硕, 蒋竞雄, 王燕, 等. 城市 0-24 月龄婴幼儿过敏性疾病症状流行病学调查[J]. 中国儿童保健杂志, 2016, 24(2): 119-122.  
Wang S, Jiang JX, Wang Y, et al. Survey on prevalence of allergic

- symptoms among 0 to 24 months old children in Chinese cities [J]. *Chin J Child Health Care*, 2016, 24(2): 119–122.
- [7] 李韶深, 李婵, 李会强. 蟹类过敏原组分及其抗原表位的研究进展[J]. *实用检验医师杂志*, 2013, 5(1): 51–53.
- Li SS, Li C, Li HQ. Research progress of crab allergen components and their epitopes [J]. *J Pract Lab Phys*, 2013, 5(1): 51–53.
- [8] Lubber F, Demmel A, Herbert D, *et al.* Comparative assessment of DNA-based approaches for the quantification of food allergens [J]. *Food Chem*, 2014, 160(1): 104–111.
- [9] Yuan FZ, Lv LT, Li ZX, *et al.* Effect of transglutaminase-catalyzed glycosylation on the allergenicity and conformational structure of shrimp (*Metapenaeus ensis*) tropomyosin [J]. *Food Chem*, 2017, 219: 215–222.
- [10] Huang LY, Du B, Bai GL, *et al.* Isolation and characterisation of tropomyosin from shrimp (*Penaeus vannamei* Boone) and its association property at high ionic strength [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(1): 115–119.
- [11] 孙一帆, 黄建芳, 王彩霞, 等. 中国人的虾、蟹致敏过敏原组分分析[J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(10): 1325–1329.
- Su YF, Huang JF, Wang CX, *et al.* Analysis of allergen components in shrimps and crab corresponding to Chinese [J]. *Chin J Immunol*, 2014, 30(10): 1325–1329.
- [12] 路晓琳, 陈官芝, 王国英, 等. 诱发儿童特应性皮炎的三疣梭子蟹过敏原研究[J]. *中华皮肤科杂志*, 2015, 48(6): 369–372.
- Lu XL, Chen GZ, Wang GY, *et al.* Identification of allergens in portunus trituberculatus responsible for atopic dermatitis in children [J]. *Chin J Dermatol*, 2015, 48(6): 369–372.
- [13] Motoyama K, Ishizaki S, Nagashima Y, *et al.* Cephalopod tropomyosins: Identification as major allergens and molecular cloning [J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(12): 1997–2002.
- [14] 费丹霞, 徐赞美, 肖宇, 等. 水产品过敏原消减技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(8): 1764–1768.
- Fei DX, Xu ZM, Xiao Y, *et al.* Research progress of allergen reduction techniques in aquatic products [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(8): 1764–1768.
- [15] 林薇, 许素玲, 周琼艳, 等. 蟹类主要过敏原及其消减技术研究进展[J]. *中国食品卫生杂志*, 2019, 31(3): 291–296.
- Li W, Xu SL, Zhou QY, *et al.* Research progress on crab allergens and methods of reducing allergenicity [J]. *Chin J Food Hyg*, 2019, 31(3): 291–296.
- [16] 刘妍斌, 曹敏杰, 李玉宝, 等. 不同加工方式降低大黄鱼卵过敏原及其消化产物免疫反应性的比较研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(4): 1045–1053.
- Liu YY, Cao MJ, Li YB, *et al.* Comparative research on different processing methods decreasing the immunoreactivity of the roe of large yellow croaker allergen and digestion products [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(4): 1045–1053.
- [17] Li H, Yu J, Ahmedna M, *et al.* Reduction of major peanut allergens Ara h1 and Ara h2, in roasted peanuts by ultrasound assisted enzymatic treatment [J]. *Food Chem*, 2013, 141(2): 762–768.
- [18] 刘光明, 余惠琳, 黄秀秀, 等. 加工处理方式对蟹类原肌球蛋白的消化稳定性和过敏原性的影响[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(4): 14–22.
- Liu GM, Yu HL, Huang XX, *et al.* Effects of processing methods on digestibility and allergenicity of crab tropomyosin [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2011, 11(4): 14–22.
- [19] 李凤铃, 李沂光, 孙天乐, 等. 水产品中主要过敏原的研究与展望[J]. *中国渔业质量与标准*, 2018, 8(1): 18–25.
- Li FL, Li YG, Sun TL, *et al.* Research advances and perspectives on allergens of aquatic products [J]. *China Fish Qual Stan*, 2018, 8(1): 18–25.
- [20] Huang YY, Liu GM, Cai QF, *et al.* Stability of major allergen tropomyosin and other food proteins of mud crab (*Scylla serrata*) by in vitro gastrointestinal digestion [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(5): 1196–1201.
- [21] Yu HL, Cao MJ, Cai QF, *et al.* Effects of different processing methods on digestibility of *Scylla paramamosain* allergen (tropomyosin) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(4): 791–798.
- [22] US Pharmacopoeia, the National Formulary. Simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid, TS [M]. Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention, Inc, 1995.
- [23] Jin Y, Deng Y, Qian B, *et al.* Allergenic response to squid (*Todarodes pacificus*) tropomyosin Tod p1 structure modifications induced by high hydrostatic pressure [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 76: 86–93.
- [24] Liu M, Liu SH, Han TJ, *et al.* Effects of thermal processing on digestion stability and immunoreactivity of the *Litopenaeus vannamei* matrix [J]. *Food Funct*, 2019, 10: 5374–5385.
- [25] Mohamadi M, Falak R, Mokhtarian K, *et al.* Identification and characterization of main allergic proteins in cooked wolf herring fish [J]. *Iran J Allergy Asthm*, 2016, 15(5): 363–371.
- [26] Chen HL, Cao MJ, Cai QF, *et al.* Purification and characterisation of sarcoplasmic calcium-binding protein, a novel allergen of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Food Chem*, 2013, 139(1–4): 213–223.
- [27] Shen HW, Liu YY, Chen F, *et al.* Purification, characterization and immunoreactivity of tropomyosin, the allergen in *Octopus fangsiao* [J]. *Process Biochem*, 2014, 49(10): 1747–1756.
- [28] Zhao YJ, Cai QF, Jin TC, *et al.* Effect of Maillard reaction on the structural and immunological properties of recombinant silver *Carp parvalbumin* [J]. *LWT—Food Sci Technol*, 2017, 75: 25–33.
- [29] Liu M, Liu GY, Yang Y, *et al.* Thermal processing influences the digestibility and immunoreactivity of muscle proteins of *Scylla paramamosain* [J]. *LWT—Food Sci Technol*, 2018, 98: 559–567.
- [30] Misnan R, Aziz NSA, Yadzir ZHM, *et al.* Impacts of thermal treatments on major and minor allergens of sea snail, *Cerithidea obtusa* (obtuse horn shell) [J]. *Iran J Allergy Asthm*, 2016, 15(4): 309–316.
- [31] 费爽雯, 白浩, 李欣, 等. 热加工对乳清中主要过敏原潜在致敏性的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(4): 1161–1166.
- Fei SW, Bai H, Li X, *et al.* Effects of thermal processing on the potential

allergenicity of major allergens in whey [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(4): 1161–1166.

[32] Lasekan AO, Nayak B. Effects of buffer additives and thermal processing methods on the solubility of shrimp (*Penaeus monodon*) proteins and the immunoreactivity of its major allergen [J]. *Food Chem*, 2016, 200(1): 146–153.

[33] 李坤, 连君, 朱瑾, 等. 还原协同加热处理对花生过敏原 Ara h2 结构及抗原性的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(11): 96–101.

Li K, Lian J, Zhu J, *et al.* Synergistic effect of cysteine reduction and thermal treatment on structure and antigenicity of peanut allergen Ara h2 [J]. *Food Sci*, 2017, 38(11): 96–101.

(责任编辑: 王 欣)

## 作者简介



程华峰, 硕士, 主要研究方向为水产品加工及保鲜。  
E-mail: 836631319@qq.com



陆剑锋, 教授, 博士, 主要研究方向为水产品加工及保鲜。  
E-mail: luji@sibs.ac.cn

## 食品加工工艺优化及应用研究

随之人类对自身健康的关注及生活水平的提高, 加工食品因保持其原色、原味及食品营养成分的优越性备受关注。越来越多的新工艺新方法应用于食品加工工业, 尤其是多种工艺的综合利用, 对食品行业的发展起到了巨大的推动作用。

鉴于此, 本刊特别策划“食品加工工艺优化及应用研究”专题, 主要围绕**加工工艺优化(提取工艺优化、配方优化、纯化优化、制备优化、响应面法优化等)**、**食品加工的综合利用及评价**等问题展开讨论, 计划在 2021 年 2/3 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心 吴永宁 研究员特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力, 综述及研究论文均可。请在 2021 年 1 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题食品加工工艺优化及应用研究):

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿栏目选择“2020 专题: 食品加工工艺优化及应用研究”)

邮箱投稿: E-mail: [jfoodsqa@126.com](mailto:jfoodsqa@126.com)(备注: 食品加工工艺优化及应用研究专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部