

市售低值贝类加工食品中原肌球蛋白致敏性评估及其消减技术

陈雅纯¹, 王利文¹, 马爱进², 桑亚新¹, 孙纪录^{1,*}

(1.河北农业大学食品科技学院, 河北 保定 071000; 2.北京工商大学食品与健康学院, 北京 100048)

摘要: 本实验评估了市售低值贝类及其加工食品中主要致敏原——原肌球蛋白(tropomyosin, TM)的致敏性, 并对贝类可食部位中TM致敏性的消减技术进行研究。使用双抗体夹心酶联免疫吸附法分析市售低值贝类及其冻制类、干制类、烟熏类和蒸煮类加工食品中TM含量; 选取具有较高致敏性的贝类作为研究对象, 探究传统加工技术(干制、蒸煮、高温高压、速冻)和新兴加工技术(高静水压、超声波、糖基化)对TM致敏性的消减效果。结果表明, 市售贝类及其加工食品中普遍存在致敏性, TM含量范围在18.94~22.51 ng/g之间。在4种新鲜贝类中, 蚬子的TM含量最高, 为(22.51±1.06) ng/g。与未处理的蚬子样品相比, 干制、蒸煮和糖基化处理的蚬子中TM致敏性(以TM含量表征)没有显著差异($P>0.05$), 而高温高压、速冻、高静水压和超声波处理均能显著降低蚬子中TM的致敏性($P<0.05$), 其中, 以超声波(500 W、30 min)和高温高压处理的消减效果较好, 致敏性消减率分别增加了32.4%和26.9%。本研究结果为低致敏性贝类加工食品的开发提供了一定的理论基础和技术支撑。

关键词: 低值贝类; 加工食品; 蚬子; 原肌球蛋白; 致敏性; 消减技术

Evaluation and Reduction of Tropomyosin Allergenicity in Commercial Processed Low-Value Shellfish Products

CHEN Yachun¹, WANG Liwen¹, MA Aijin², SANG Yaxin¹, SUN Jilu^{1,*}

(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China;

2. School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: The allergenicity of the major allergen tropomyosin (TM) in commercial low-value shellfish and its processed products was evaluated, and different methods to reduce the allergenicity of TM in edible shellfish tissues were studied. The contents of TM in commercial low-value shellfish and its frozen, dried, smoked or steamed products were analyzed by double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and shellfish with high allergenicity was selected to explore the effects of traditional (drying, steaming, high temperature and pressure, and quick-freezing) and emerging processing techniques (high hydrostatic pressure, ultrasound, and glycosylation) on reducing tropomyosin allergenicity in edible tissues. The results showed that allergenicity was common in commercial shellfish and its processed products, with TM content ranging from 18.94 to 22.51 ng/g. Among the four kinds of fresh shellfish tested, the TM content of *Macra veneriformis* was the highest, which was (22.51 ± 1.06) ng/g. Compared with untreated *Macra veneriformis*, the allergenicity of dried, steamed or glycosylated samples did not change significantly ($P > 0.05$). High temperature and pressure, quick-freezing, high hydrostatic pressure and ultrasonic treatment could significantly reduce TM allergenicity ($P < 0.05$), the effect of ultrasonic (500 W and 30 min) and high temperature and pressure sterilization treatment being more pronounced than that of the other treatment, reducing TM allergenicity by 32.4% and 26.9%, respectively. This study provides a theoretical basis and technical support for the development of hypoallergenic processed shellfish products.

Keywords: low-value shellfish; processed foods; *Macra veneriformis*; tropomyosin; allergenicity; reduction technology

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220331-379

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)07-0169-07

收稿日期: 2022-03-31

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2019YFD0902003-3)

第一作者简介: 陈雅纯(1998—)(ORCID: 0000-0002-2480-7971), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品工程。

E-mail: 1490198166@qq.com

*通信作者简介: 孙纪录(1972—)(ORCID: 0000-0001-5930-3389), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品生物技术。

E-mail: fm1311sun@163.com

引文格式:

陈雅纯, 王利文, 马爱进, 等. 市售低值贝类加工食品中原肌球蛋白致敏性评估及其消减技术[J]. 食品科学, 2023, 44(7): 169-175. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220331-379. <http://www.spkx.net.cn>

CHEN Yachun, WANG Liwen, MA Aijin, et al. Evaluation and reduction of tropomyosin allergenicity in commercial processed low-value shellfish products[J]. Food Science, 2023, 44(7): 169-175. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220331-379. <http://www.spkx.net.cn>

贝类属软体动物, 是除节肢动物外最大的类群^[1]。我国是贝类生产和消费大国, 2020年贝类的总产量高达1 498.71万 t, 每年以约2.8%的幅度增长, 其中, 牡蛎、扇贝和蛤类是养殖规模最大的3类^[2], 其独特的风味和丰富的营养受到人们的青睐, 在我国居民饮食中所占比例大幅增加^[3]。然而, 近年来贝类引发的食物过敏问题屡见不鲜, 据统计, 由贝类引起的过敏事件影响了世界上10.3%的人群^[4]。贝类过敏多发于成人, 在儿童食物过敏人群中, 贝类过敏引发率占食物过敏病例的39%, 而在成人中, 贝类引发的过敏反应高达52.7%^[5]。贝类过敏易引起皮肤红肿、荨麻疹、鼻炎、哮喘等症状, 与鸡蛋和牛奶过敏不同, 儿童会逐渐对鸡蛋和牛奶产生自然耐受, 而贝类过敏不会获得自然耐受性, 且通常会持续终生^[6-7]。

贝类引起的过敏反应属于特异性免疫球蛋白E (immunoglobulin E, IgE) 抗体介导的速发型超敏反应, 原肌球蛋白 (tropomyosin, TM) 是贝类的主要致敏原^[8]。TM是一种酸性糖蛋白, 分子质量约为34~38 kDa, 由两个相同的 α -螺旋结构的亚基相互缠绕构成超螺旋结构, 包含8个IgE结合位点, 每个位点由5~14个氨基酸组成, 具有耐高温和抗消化性^[9]。TM的致敏性在加工处理过程中会发生不同程度的变化^[10], 当前的加工处理技术主要有传统加工处理和新兴加工处理。传统加工处理技术主要包括干制、蒸煮、高温高压和速冻, 新兴加工处理技术主要包括高静水压 (high hyperbaric pressure, HHP)^[11]、高强度超声^[12]和糖基化^[13]等, 它们主要通过引起蛋白质大分子的空间构象和pH值等理化性质的改变, 导致蛋白变性、聚集或凝胶化, 破坏、掩盖或暴露蛋白的致敏表位, 从而影响其致敏性^[14]。

对于贝类过敏患者来说, 避免进食相关的致敏原是预防过敏最安全有效的措施, 但是也有许多意外摄入的情况发生, 增加了其过敏风险, 因此, 加强对市售贝类及其加工食品中致敏原含量的调查和进行致敏性消减技术的研究至关重要。但目前许多研究主要集中在经提取纯化后的TM致敏性的消减技术, 未考虑可食用组织中其他食物基质的潜在影响, 其结果可能与实际加工及摄入后的情况不同^[15]。

因此, 本实验以牡蛎、扇贝、文蛤和蚬子及其相关的在市场上具有代表性的冻制类、干制类、烟熏类和蒸煮类加工食品为研究对象, 通过双抗体夹心酶联免疫吸附

试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定TM含量, 调查评估市售低值贝类及其加工食品中致敏性情况; 再选取其中具有较强致敏性的贝类作为研究对象, 探究不同加工处理技术对贝类可食用组织中主要过敏原TM致敏性的影响, 为水产品中TM致敏性的控制及低致敏或脱敏贝类加工食品的开发提供理论基础, 同时为贝类水产品的精深加工提供新的思路和有益的参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

实验所用新鲜贝类水产品及其加工食品均购自于河北省保定市农大科技市场。

0.01 mol/L磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) (pH 7.2~7.4) 北京博奥拓达科技有限公司; 葡萄糖 (分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 贝类TM酶联免疫分析试剂盒 上海酶联生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

华尔速冻柜 佛山市好的制冷设备有限公司; WGL-125B 电热鼓风干燥箱 天津市泰斯特仪器有限公司; LDZX-50KBS立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械有限公司; TG16-WS台式高速离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; HHP.L1-600/2超高压实验机 天津华泰森森超高压装备工程技术有限公司; JY92-IIDN超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司; Multiskan Spectrum酶标仪 美国Thermo Scientific公司。

1.3 方法

1.3.1 市售低值贝类样品中TM致敏性评估

实验选取4种常见的低值贝类蚬子、扇贝、文蛤和牡蛎以及每种在市场上具有代表性的冻制类、干制类、烟熏类和蒸煮类16种贝类加工食品, 每种准备3个平行样品。所有收集完成的样品均立即通过双抗体夹心ELISA方法进行TM致敏性的测定。

1.3.2 贝类的传统加工技术处理

以低值贝类蚬子 (*Macra veneriformis*) 为加工原料, 以未进行处理的同批次蚬子作为对照组, 分别进行以下处理, 每个处理设3个平行, 所有处理后的样品均立即进行TM致敏性的测定。

速冻处理：选取去壳、清洗干净、外形大小相近的样品，于速冻柜中 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下放置 30 min ^[16]。

蒸煮处理：选取去壳、清洗干净、外形大小相近的样品，于蒸馏水中加热煮沸 10 min ，沥水，待用^[17]。

干制处理：参考水产行业标准SC/T 3220—2016《干制对虾》^[18]，选取去壳、清洗干净、外形大小相近的样品，放入培养皿中，在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温干燥箱内进行热风干燥，直至水分质量分数达到 20% 。

高温高压处理：选取去壳、清洗干净、外形大小相近的样品， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下高温高压灭菌处理 15 min ^[19]。

1.3.3 贝类的HHP处理

取相同质量的样品分装于聚乙烯塑料袋内，抽真空、密封后，在室温（ $20\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）下的超高压试验机中分别以 0.1 、 100 、 200 、 300 、 400 、 500 MPa 和 600 MPa 压强处理 10 min ，研究不同压强HHP处理对蚬子TM致敏性的影响。

取相同质量的样品分装于聚乙烯塑料袋内，抽真空、密封后，在室温（ $20\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）下的超高压试验机中以 600 MPa 压强分别处理 0 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 min ，研究不同加工时间的HHP处理对蚬子TM致敏性的影响。

1.3.4 贝类的超声波处理

选取清洗干净、外形大小相近的蚬子肉，将其切成均匀的小块状。将样品与PBS按照 $1:2\text{ (m/V)}$ 的比例加入到 50 mL 离心管中，分别用超声功率 0 、 200 、 300 、 400 、 500 W 依次处理 30 min ，超声探头直径为 6 mm ，频率为 $20\sim 22\text{ kHz}$ ，用低温恒温槽循环系统控制超声温度在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下，脉冲持续时间为开 2 s 关 2 s 。

1.3.5 贝类的糖基化处理

样品处理方式如1.3.4节所述，研究不同加工温度和不同加糖量的糖基化处理对蚬子TM致敏性的影响。将葡萄糖与样品按照质量比 $1:2$ 混合于 50 mL PBS溶液中，分别于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和沸水浴中加热反应 1 h ，反应完成后，样品立即冰浴，结束反应；将葡萄糖与样品按质量比 $1:3$ 混合于PBS溶液，分别于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和沸水浴中加热反应 1 h ，反应完成后，样品立即冰浴，终止反应^[20-22]。

1.3.6 TM致敏性的测定

用 50 mL PBS浸没对照和处理后的样品，使用匀浆器充分打匀， 6000 r/min 离心 20 min ，仔细收集上清液并分装，一份用于检测，其余 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

TM致敏性的检测参照Dong Xin等^[23]的方法，通过TM酶联免疫分析试剂盒测定组织中的过敏原TM含量，结果

以湿基计。按照试剂盒提供的方法，在 450 nm 波长处记录样品的吸光度，根据标准品的标准曲线（以TM标准品质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=0.1461x+0.0287$ ， $R^2=0.9993$ ）来计算最终样品的质量浓度，并按照下式计算贝类中过敏原的致敏性消减率。

$$\text{致敏性消减率}/\% = \frac{m \times \rho - m' \times \rho'}{m \times \rho} \times 100$$

式中： m 为样品质量 g ； ρ 为对照组TM质量浓度 g/mL ； m' 为样品加工处理后的质量 g ； ρ' 为样品加工处理后的TM质量浓度 g/mL 。

1.4 数据处理与分析

实验重复 3 次进行，结果表示为平均值 \pm 标准偏差，使用Microsoft Office Excel 2010软件处理数据，利用Origin 2018软件制作图形，SPSS 26.0软件进行差异显著性分析，以 $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 市售低值贝类及其加工食品中TM致敏性的评估

表1反映出市售低值贝类及其加工产品中普遍存在致敏性。通过比较冻制类、干制类、烟熏类和蒸煮类加工食品发现，蚬子鲜品与其他加工类产品之间TM含量有显著差异（ $P<0.05$ ），其他产品间无显著差异（ $P>0.05$ ）。在 4 种低值贝类生鲜中，扇贝、牡蛎、文蛤和蚬子的TM含量分别为（ 21.24 ± 1.27 ）、（ 21.06 ± 0.30 ）、（ 20.33 ± 2.43 ）、（ 22.51 ± 1.06 ） ng/g 。其中，蚬子的TM含量最高，即过敏原的IgE结合能力较强。由IgE介导的贝类过敏反应，通常在食物暴露后 2 h 内出现症状，过敏原含量摄入越多，过敏反应愈为严重，常以喉咙瘙痒、嘴唇肿胀等口腔症状为先，红斑、荨麻疹等皮肤症状随后。Ding Qiuyue等^[24]的研究结果显示，TM在扇贝裙边蛋白中占据很大比例。TM也是肌原纤维蛋白中最稳定的蛋白之一，经过敏人群食用后，会激活免疫细胞，导致炎症介质的释放，从而引发过敏反应的产生。同时，贝类过敏有一定的区域差异性，蚬子主要分布于我国辽宁、山东等北方沿海地区。一项皮肤刺点阳性实验报告^[25]显示，TM是引发香港、广州和韶关地区人们过敏的主要物质。在我国南方学龄儿童的调查中发现，在城市化广州的过敏患病率（ 5.1% ）显著高于农村韶关（ 1.8% ）。因此，选定蚬子为后续致敏性消减技术研究中的原料。

表1 常见市售低值贝类及其加工食品中的TM含量
Table 1 Contents of TM in common commercial low-value shellfish and its processed products

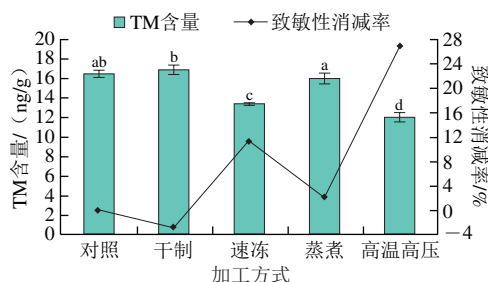
低值贝类种类	产品类型	TM含量/(ng/g)
蚬子	鲜品	22.51±1.06 ^a
	冻制品	20.90±1.10 ^b
	干制品	20.23±0.28 ^b
	烟熏制品	19.90±0.21 ^b
	蒸煮制品	20.11±0.21 ^b
扇贝	鲜品	21.24±1.27 ^a
	冻制品	21.99±2.25 ^a
	干制品	20.71±0.43 ^a
	烟熏制品	20.80±0.28 ^a
	蒸煮制品	20.84±0.82 ^a
文蛤	鲜品	20.33±2.43 ^a
	冻制品	21.60±0.88 ^a
	干制品	20.12±0.31 ^a
	烟熏制品	19.95±0.26 ^a
	蒸煮制品	20.16±0.32 ^a
牡蛎	鲜品	21.06±0.30 ^a
	冻制品	19.77±0.37 ^{ab}
	干制品	18.94±0.56 ^b
	烟熏制品	20.46±1.39 ^a
	蒸煮制品	19.82±0.53 ^{ab}

注：同一贝类不同产品类型间小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

2.2 不同消减技术对蚬子TM致敏性的影响

2.2.1 传统加工处理对蚬子TM致敏性的影响

干制、蒸煮、高温高压和速冻是贝类常用的预处理和加工烹饪方式，经这些方式加工后蚬子TM致敏性的变化如图1所示。



小写字母不同表示组间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

图1 传统加工处理中蚬子TM的致敏性变化

Fig. 1 Changes in TM allergenicity of *Mactra veneriformis* during traditional processing

干制、蒸煮和高温高压均属于热加工处理。由图1可知，干制处理组的TM含量为(16.88±0.48) ng/g，与对照组相比，致敏性增加3%。温度和含水量是干制的主要影响因素，其引起的构象变化可能会导致蛋白疏水区域的暴露，内部疏水残基暴露在分子表面，产生新的抗原表位，导致致敏性的增加^[26]。蒸煮处理组的TM含量为(15.98±0.56) ng/g，与对照组相比，致敏性降低1.9%，

有研究表明样品蒸煮处理时间越长，消化产物越不稳定，致敏性降低的效果越为明显^[27]。高温高压处理组的TM含量为(12.04±0.46) ng/g，与对照组相比，致敏性显著降低26.9% ($P<0.05$)，这与郑礼娜^[28]对虾进行热处理的研究结果相似，说明热处理可不同程度地影响TM的致敏性，其中湿热条件下高温和压力的结合作用效果明显。高温高压处理后易引起TM空间结构的改变，蛋白构象表位破坏，从而消减了TM的致敏性。Yu Huilin等^[29]还发现，和蒸煮、超声结合蒸煮相比，高温高压处理是促进TM在胃肠道消化的最有效方法，这可以降低TM消化产物的免疫原性，降低超敏反应的发生率。高温高压消减致敏性不仅仅限于贝类，在对虾^[28]、青蟹^[30]、黄鱼^[31]、花生^[32]和杏仁^[33]的相关研究中也得到了类似结果。速冻属于冷加工处理，蚬子经速冻处理后TM含量降低至(13.38±0.16) ng/g，致敏性消减率为11.2%，结果表明速冻加工处理对蚬子可食用组织中蛋白质有一定的破坏作用。Leygonie等^[34]报道，无论冷冻速度如何，肌原纤维蛋白都会发生变性，TM作为肌原纤维蛋白中的一种，处理过程中蛋白质去折叠，破坏其空间结构，导致TM的致敏表位受到影响。Benjakul等^[35]研究发现，冷冻导致Ca²⁺-ATP酶活力显著降低，而Mg²⁺-乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸-ATP酶活力增加，这导致肌钙蛋白-TM复合体的变性。因此，TM会受到速冻加工影响。

2.2.2 HHP处理对蚬子TM致敏性的影响

HHP是一种新兴的非热脱敏技术，是将样品真空密封包装于弹性囊体，置于常温压力容器内，以水作为传压介质，用100~1 000 MPa的压力进行处理。TM的致敏性与其构象息息相关，HHP对蛋白结构影响较为复杂，与压力大小和保压时间等有关^[36]。HHP处理过程中蚬子TM致敏性的变化如图2、3所示。

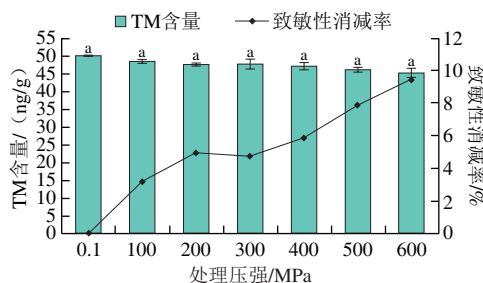


图2 不同压强的HHP处理对蚬子TM致敏性的影响

Fig. 2 Effect of HHP at different pressures on TM allergenicity of *Mactra veneriformis*

由图2可知, 保压时间10 min的条件下, 不同处理压强(0.1~600 MPa)对蚬子TM含量没有显著影响($P>0.05$), 这可能是由于保压时间较短, 但随着压强的增加, 致敏性消减率也逐渐升高, 在600 MPa时消减效果最好, 消减率达9.47%。这与Jin Yafang等^[37]的研究结果相似, 利用HHP技术处理鲑鱼TM Tod p 1, 发现400 MPa和600 MPa比200 MPa更能有效降低IgE/IgG结合能力, 这一结果可能与Tod p 1二级结构中 α -螺旋相对含量减少有关, 在600 MPa时约有53%的 α -螺旋转化为 β -折叠和无规卷曲。李正龙^[38]考察了HHP对鳗鱼TM的影响, 随着压强的增加, 鳗鱼TM表面疏水性不断增加, 巯基含量不断降低, 表明较高压强可以更显著地改变TM的三级结构。韩建勋^[39]研究发现单一HHP技术处理凡纳滨对虾TM, TM一级结构不会发生改变, 即HHP只改变了TM的构象表位, 不能改变其线性表位。因此, HHP通过影响TM的弱键作用力来破坏构象表位, 从而降低TM的致敏性。

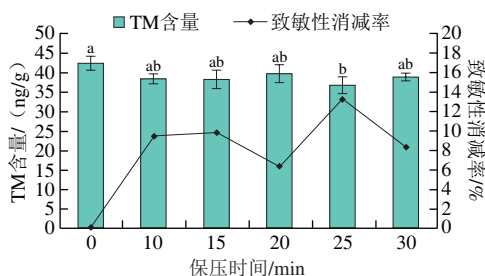


图3 不同时间的HHP处理对蚬子TM致敏性的影响

Fig. 3 Effect of HHP time on TM allergenicity of *Macra veneriformis*

当处理压强为600 MPa时, 选取不同的保压时间(0~30 min)处理蚬子, 结果如图3所示。与对照组相比, 在0~15 min范围内, 随着处理时间的延长, TM致敏性逐渐降低; 在15~20 min范围内, 致敏性消减率逐渐降低; 在20~25 min范围内, 致敏性消减率逐渐升高, 当处理时间为25 min时, 与对照组(0 min)相比, 蚬子TM含量显著降低($P<0.05$), 该条件下免疫原性最低, 是HHP消减TM致敏性的最佳条件, 致敏性消减率为13.33%; 在25~30 min范围内, 致敏性消减率逐渐升高。胡志和等^[40]也研究发现随着保压时间延长, TM致敏性消减率呈波动性变化。因而, HHP的处理时间能对蚬子TM致敏性产生明显的影响。

2.2.3 超声波处理对蚬子TM致敏性的影响

超声波是指频率大于20 kHz的声波, 根据超声强度的不同分为低频高强度超声($>10 \text{ W/cm}^2$)和高频低强度超声($<1 \text{ W/cm}^2$), 其中低频高强度超声在食品加工和蛋白质的结构修饰方面有广泛应用。超声波处理过程中蚬子TM致敏性的变化如图4所示。

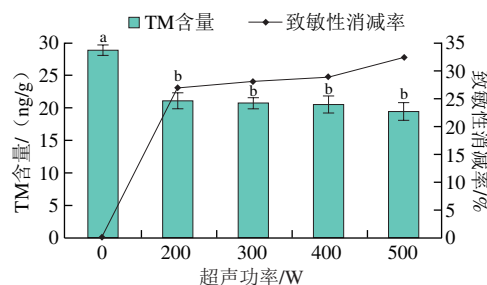


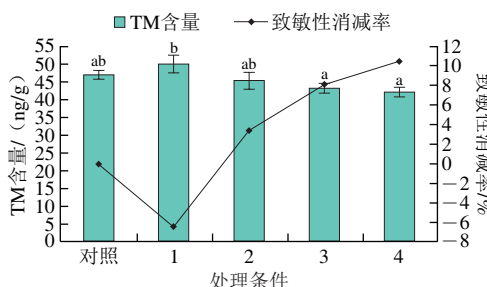
图4 不同功率下超声波处理的蚬子中TM致敏性的变化

Fig. 4 Changes in TM allergenicity of *Macra veneriformis* subjected to ultrasonic treatment at different powers

HIU在消减TM致敏性的方面有着令人满意的效果, 研究证明随着超声时间的延长, 致敏性不断降低^[41-42], 本研究选定超声时间为30 min, 观察超声功率对致敏性的影响。图4结果显示, 随着超声功率的增加, 蚬子TM含量均发生了显著性变化。对照组(未超声处理)TM含量为(28.87±0.82) ng/g, 在超声功率200 W时, TM含量为(21.10±1.23) ng/g, 在超声功率500 W时, TM含量降到最低(19.52±1.30) ng/g, 致敏性消减率达到了32.4%, 这表明超声波可以显著降低蚬子TM的致敏性, 原因可能是机械波的压缩和稀疏产生空化的气泡, 在不停被压缩情况下, 气泡达到临界尺寸时发生破裂, 同时导致局部的高温高压, 以此提供足够的动力来引起TM分子表面表位的破坏^[43-44]。Zhang Ziyue等^[45]研究100~800 W的超声功率对虾消化性和致敏性的影响, 结果与本研究相似, 表明较强超声可疏松TM结构, 增强TM的胃肠道消化率, 使TM和消化产物的致敏性达到较低水平。

2.2.4 糖基化处理对TM致敏性的影响

糖基化处理是指蛋白质氨基与还原糖羰基发生的非酶促化学反应, 常应用于食品工业和添加剂产业中。TM致敏性的消减程度主要取决于反应所用还原糖的种类和环境条件, 但已有许多研究表明以葡萄糖为底物会显著降低TM致敏性。不同条件下糖基化反应过程中蚬子TM致敏性的变化如图5所示。



条件1. 100 °C、葡萄糖与蚬子肉质量比1:2; 条件2. 100 °C、葡萄糖与蚬子肉质量比1:3; 条件3. 60 °C、葡萄糖与蚬子肉质量比1:2; 条件4. 60 °C、葡萄糖与蚬子肉质量比1:3。

图5 不同条件下糖基化处理的蚬子中TM致敏性的变化

Fig. 5 Changes in TM allergenicity of *Macra veneriformis* glycosylated under different conditions

由图5可知,在葡萄糖与蚬子肉质量比同为1:2的条件下,反应温度60℃与100℃下的TM含量有显著性差异($P<0.05$),60℃能更好地消减TM致敏性,表明糖基化反应在此时反应速率较高,可能是由于在热处理的作用下,TM分子发生伸展,蛋白构象有所改变,通过引入的葡萄糖糖链来修饰TM上与IgE结合的关键氨基酸表位,这种糖基结构在抗原决定簇的形成中起着重要作用^[46-47]。在60℃、葡萄糖与蚬子肉质量比1:3的反应条件下,TM含量为(42.13±1.36)ng/g,蚬子TM致敏性消减效果最好,致敏性消减率达到了10.5%,但与对照组((47.07±1.21)ng/g)相比,TM含量并没有显著性差异($P>0.05$)。若葡萄糖添加量过多(组1与对照组相比),会使得反应体系有一定的黏度,具有稠厚感,降低了葡萄糖与氨基酸接触的机会,不利于糖基化反应的发生^[48],从而导致致敏性变化不明显。这与Tang Chuanhe等^[49]对豌豆蛋白研究结果相似,表明蛋白与糖的质量比会不同程度地影响改性蛋白的功能特性。因此,糖基化作为一种化学改性方法,对高纯度蛋白降敏效果好,但对蚬子肉组织的降敏效果并不显著,反应机理也较为复杂,可能会产生不需要的物质或形成抗营养素^[50],使得当前方法在食品工业中的应用受到限制。

3 结论

本研究通过对市售低值贝类及其加工食品中TM致敏性的评估和对贝类可食用组织TM致敏性的消减技术的研究,发现市售低值贝类加工食品中普遍存在致敏性,其中蚬子致敏性较高。不同加工处理技术对贝类TM的致敏性影响不同,高温高压、速冻、HHP和超声波处理均能显著性降低蚬子TM的致敏性,可以作为削减贝类水产品过敏性、增加相关食品安全的有效手段。在以后的研究中,可以考虑将新兴加工处理融入到传统加工技术中来联合处理贝类产品,消减致敏性,以期得到经人体消化后具有较低概率引发过敏的贝类加工产品。本研究为水产品中TM致敏性的控制及低致敏或脱敏贝类加工食品的开发提供理论基础,并为贝类水产品的精深加工提供新的思路和有益的参考。

参考文献:

- GELIS S, RUEDA M, VALERO A, et al. Shellfish allergy: unmet needs in diagnosis and treatment[J]. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, 2020, 30(6): 409-420. DOI:10.18176/jiaci.0565.
- 农业农村部渔业渔政管理局. 2021中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 17-25.
- 石林凡, 李周茹, 刘光明, 等. 贝类腥味物质检测及脱腥技术的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(22): 445-453. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021110172.
- MOONESINGHE H, MACKENZIE H, VENTER C, et al. Prevalence of fish and shellfish allergy: a systematic review[J]. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 2016, 117(3): 264-272. DOI:10.1016/j.anai.2016.07.015.
- RAMESH M, LIEBERMAN J A. Adult-onset food allergies[J]. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 2017, 119(2): 111-119. DOI:10.1016/j.anai.2017.05.014.
- WAI C Y Y, LEUNG N Y H, CHU K H, et al. Overcoming shellfish allergy: how far have we come?[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(6): 2234. DOI:10.3390/ijms21062234.
- ZHANG Jiangtao, LIU Wenying, FANG Lei, et al. Effect of acid and *in vitro* digestion on conformation and IgE-binding capacity of major oyster allergen Cra g 1 (tropomyosin)[J]. *Allergologia et Immunopathologia*, 2019, 48(1): 26-33. DOI:10.1016/j.aller.2019.08.001.
- 吴佳丽. 即食脱敏文蛤加工工艺研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017: 2-9.
- CHINNAPPAN R, RAHAMN A A, ALZABN R, et al. Aptameric biosensor for the sensitive detection of major shrimp allergen, tropomyosin[J]. *Food Chemistry*, 2019, 314: 126133. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.126133.
- RAHAMAN T, VASILJEVIC T, RAMCHANDRAN L. Effect of processing on conformational changes of food proteins related to allergenicity[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 49: 24-34. DOI:10.1016/j.tifs.2016.01.001.
- ZHANG Yifeng, BI Yuge, WANG Qi, et al. Application of high pressure processing to improve digestibility, reduce allergenicity, and avoid protein oxidation in cod (*Gadus morhua*)[J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 125087. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125087.
- LIN Derong, ZHANG Qiuting, XIAO Lijuan, et al. Effects of ultrasound on functional properties, structure and glycation properties of proteins: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 61(15): 2471-2481. DOI:10.1080/10408398.2020.1778632.
- 杨焯. 美拉德反应影响拟穴青蟹主要过敏原致敏性的机理研究[D]. 厦门: 集美大学, 2019: 5-7.
- LIU C, KRISHNA S S. Food allergen epitope mapping[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(28): 7238-7248. DOI:10.1021/acs.jafc.8b01967.
- 刘萌. 热加工影响拟穴青蟹肌肉过敏原致敏性及其分子机理研究[D]. 厦门: 集美大学, 2020: 10-12.
- 邓小顺. 速冻猪肉丸加工工艺及其添加剂的应用研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013: 10-12.
- 郭迅, 曾名湧, 董士远. 牡蛎蒸煮过程中的品质变化[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 24-31. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200229-333.
- 农业部. 干制对虾: SC/T 3220—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1-2.
- WANG Jing, LI Mengdi, ZHANG Jiayu, et al. Effects of high-temperature pressure cooking on cold-grind and blanched soymilk: physico-chemical properties, *in vitro* digestibility and sensory quality[J]. *Food Research International*, 2021, 149: 110669. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110669.
- ZHANG Ziye, XIAO Hang, ZHOU Peng. Allergenicity suppression of tropomyosin from *Exopalaemon modestus* by glycation with saccharides of different molecular sizes[J]. *Food Chemistry*, 2019, 288: 268-275. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.03.019.
- FU Linglin, WANG Chong, WANG Jinbao, et al. Maillard reaction with ribose, galacto-oligosaccharide or chitosan-oligosaccharide reduced the allergenicity of shrimp tropomyosin by inducing conformational changes[J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 789-795. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.09.068.

- [22] 刘静媛, 王睿黎, 吕莹, 等. 磷酸化和糖基化对大豆蛋白体外消化性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 89-99. DOI:10.16429/j.1009-7848.2021.02.011.
- [23] DONG Xin, WANG Jin, RAGHAVAN V. Impact of microwave processing on the secondary structure, *in-vitro* protein digestibility and allergenicity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) proteins[J]. Food Chemistry, 2021, 337: 127811. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127811.
- [24] DING Qiuyue, TIAN Guifang, WANG Xianghong, et al. Effect of ultrasonic treatment on the structure and functional properties of mantle proteins from scallops (*Patinopecten yessoensis*)[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 79: 105770. DOI:10.1016/j.ultsonch.2021.105770.
- [25] LI J, OGORODOVA L M, MAHESH P A, et al. Comparative study of food allergies in children from China, India, and Russia: the EuroPrevall-INCO surveys[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2020, 8(4): 1349-1358. DOI:10.1016/j.jaip.2019.11.042.
- [26] LEI Fang, LI Guoming, GU Ruizeng, et al. Influence of thermal treatment on the characteristics of major oyster allergen *cra g 1* (tropomyosin)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(14): 5322-5328. DOI:10.1002/jsfa.9071.
- [27] 林江伟, 游洪燕, 沈海旺, 等. 克氏原螯虾原肌球蛋白的纯化及过敏原性分析[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2012, 17(3): 167-174. DOI:10.19715/j.jmzr.2012.03.002.
- [28] 郑礼娜. 虾类过敏原的活性分析及其抗原表位的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011: 29-41.
- [29] YU Huilin, CAO Minjie, CAI Qiufeng, et al. Effects of different processing methods on digestibility of *Scylla paramamosain* allergen (tropomyosin)[J]. Food & Chemical Toxicology, 2011, 49(4): 791-798. DOI:10.1016/j.fct.2010.11.046.
- [30] 程华峰. 不同加工处理方式对中华绒螯蟹主要过敏原的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2020: 4-10.
- [31] 刘妍姩, 曹敏杰, 李玉宝, 等. 不同加工方式降低大黄鱼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. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2014.04.015.
- [32] 李颖超, 赵良, 钱和. 高温高压处理对花生致敏蛋白 *Ara h1* 及其免疫反应性的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 32-36. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020120077.
- [33] ANGELIS E D, BAVARO S L, FORTE G, et al. Heat and pressure treatments on almond protein stability and change in immunoreactivity after simulated human digestion[J]. Nutrients, 2018, 10(11): 1-20. DOI:10.3390/nu10111679.
- [34] LEYGONIE C, BRITZ T J, HOFFMAN L C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: review[J]. Meat Science, 2012, 91(2): 93-98. DOI:10.1016/j.meatsci.2012.01.013.
- [35] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, THONGKAEW C, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage[J]. Food Research International, 2003, 36(8): 787-795. DOI:10.1016/S0963-9969(03)00073-5.
- [36] AMBROSI V, POLENTA G, GONZALEZ C, et al. High hydrostatic pressure assisted enzymatic hydrolysis of whey proteins[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 38: 294-301. DOI:10.1016/j.ifset.2016.05.009.
- [37] JIN Yafang, DENG Yun, QIAN Bingjun, et al. Allergenic response to squid (*Todarodes pacificus*) tropomyosin *Tod p1* structure modifications induced by high hydrostatic pressure[J]. Food & Chemical Toxicology, 2015, 76: 86-93. DOI:10.1016/j.fct.2014.12.002.
- [38] 李正龙. 超高压技术对鳗鱼原肌球蛋白结构与功能及鱼丸品质的影响研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2019: 4-7.
- [39] 韩建勋. 高静压处理对虾原肌球蛋白致敏性及结构变化规律研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016: 78-80.
- [40] 胡志和, 王星璇, 张晴青, 等. 高压处理诱发虾原肌球蛋白结构变化与致敏性的关系[J]. 食品科学, 2017, 38(11): 33-39. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201711006.
- [41] DONG Xin, WANG Jin, RAGHAVAN V. Effects of high-intensity ultrasound processing on the physicochemical and allergenic properties of shrimp[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 65: 102441. DOI:10.1016/j.ifset.2020.102441.
- [42] LIU Guangxian, TU Zongcai, YANG Wenhua, et al. Investigation into allergenicity reduction and glycation sites of glycosylated β -lactoglobulin with ultrasound pretreatment by high-resolution mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2018, 252: 99-107. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.01.086.
- [43] CHENG Junhu, WANG Huifen, SUN Dawen, et al. An overview of tropomyosin as an important seafood allergen: structure, cross-reactivity, epitopes, allergenicity, and processing modifications[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(1): 127-147. DOI:10.1111/1541-4337.12889.
- [44] DING Qiuyue, TIAN Guifang, WANG Xianghong, et al. Effect of ultrasonic treatment on the structure and functional properties of mantle proteins from scallops (*Patinopecten yessoensis*)[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 79: 105770. DOI:10.1016/j.ultsonch.2021.105770.
- [45] ZHANG Ziye, ZHANG Xiaofeng, CHEN Wei, et al. Conformation stability, *in vitro* digestibility and allergenicity of tropomyosin from shrimp (*Exopalaemon modestus*) as affected by high intensity ultrasound[J]. Food Chemistry, 2017, 245: 997-1009. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.11.072.
- [46] HAN Xinyu, YANG Huang, RAO Shitao, et al. The maillard reaction reduced the sensitization of tropomyosin and arginine kinase from *Scylla paramamosain*, simultaneously[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(11): 2934-2943. DOI:10.1021/acs.jafc.7b05195.
- [47] XU Yujuan, DONG Ming, TANG Changbo, et al. Glycation-induced structural modification of myofibrillar protein and its relation to emulsifying properties[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 117(5): 108664. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108664.
- [48] 王洋, 叶阳, 贾凤琼, 等. 不同多糖对鸡蛋清功能性质的影响[J]. 中国食品添加剂, 2015(5): 120-125. DOI:10.3969/j.issn.1006-2513.2015.05.012.
- [49] TANG Chuanhe, SUN Xin, FOEGEDING E A. Modulation of physicochemical and conformational properties of kidney bean vicilin (phaseolin) by glycation with glucose: Implications for structure-function relationships of legume vicilins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(18): 10114-10123. DOI:10.1021/jf202517f.
- [50] ZHANG Ziye, XIAO Hang, ZHANG Xiaofeng, et al. Conformation, allergenicity and human cell allergy sensitization of tropomyosin from *Exopalaemon modestus*: effects of deglycosylation and Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2019, 276: 520-527. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.10.032.