

# 生物酶解法 去除大豆蛋白抗原性研究进展

王章存<sup>1,2</sup>,袁路阳<sup>1</sup>,张露<sup>1,2</sup>,胡金强<sup>1,2</sup>,安广杰<sup>1</sup>,王佩<sup>1</sup>  
(1.郑州轻工业学院食品与生物工程学院,河南郑州 450001;  
2.食品生产与安全河南省协同创新中心,河南郑州 450001)

**摘要:**大豆蛋白具有合理的氨基酸组成和较好的加工性能,是食品工业和动物营养中应用最广泛的植物蛋白。但大豆蛋白会导致人和动物的过敏反应,是公认的八大过敏原之一。国内外对消除大豆蛋白抗原性的方法进行了多方面的研究。传统的加热处理效果并不理想,主要原因可能是大豆蛋白分子中存在序列性抗原决定簇。近年来利用生物酶解技术去除大豆蛋白抗原受到高度重视。研究发现,胰蛋白酶、胃蛋白酶等对大豆蛋白分子的水解和降低抗原性效果较差。碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶等作用结果较好,但难以完全消除其抗原性。本文重点介绍生物酶解法降低大豆蛋白抗原性的研究进展,对单一酶解法不能完全消除大豆蛋白抗原性以及不同文献所得结果不一致甚至出现相反现象的原因做了适当分析。

**关键词:**大豆蛋白,酶解,抗原性

## Research Progress of Enzymatic Removal of Soybean Protein Antigenicity

WANG Zhang-cun<sup>1,2</sup>, YUAN Lu-yang<sup>1</sup>, ZHANG Lu<sup>1,2</sup>, HU Jin-qiang<sup>1,2</sup>, AN Guang-jie<sup>1</sup>, WANG Pei<sup>1</sup>

(1.School of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;  
2.Collaborative Innovation Center of Food Production and Safety, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Soybean protein is the most widely applied vegetable protein in the food industry and animal nutrition because of its reasonable amino acid composition and good process ability. However, soy protein can cause allergic reactions in humans and animals, and is recognized as one of eight major allergens. Many researches have been carried out on the elimination of antigenicity of soybean protein in world. The traditional heating treatment effect is not satisfactory. The main reason may be the existence of some sequence epitopes in soybean protein molecules. In recent years, enzymatic hydrolysis has been paid great attention. Results showed that trypsin and pepsin hydrolysis is not efficiency for the purpose, and the hydrolysis effect of alkaline protease, papain and flavoring protease is better but it was difficult to completely eliminate its antigenicity. In this paper, the research progress of enzymatic hydrolysis for eliminating the antigenicity of soybean protein was introduced. Some questions that the antigenicity was not completely eliminated with single enzyme and the conclusion obtained from different researchers was not same were analyzed and discussed.

**Key words:** soybean protein; enzymatic hydrolysis; allergenicity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)15-0317-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.15.056

**引文格式:**王章存,袁路阳,张露,等.生物酶解法去除大豆蛋白抗原性研究进展[J].食品工业科技,2018,39(15):317-321.

大豆蛋白是来源丰富的植物蛋白,其氨基酸组成与人体蛋白十分接近,具有很高的营养价值。大豆蛋白具有优良的溶解、乳化和发泡等加工性能,在食品生产中得到广泛应用。然而,大豆含有多种引起人体过敏的抗营养成分,被列为世界八大致敏食物之一<sup>[1-2]</sup>,其主要成分是蛋白质,目前已从大豆中

确认出 38 种抗原蛋白<sup>[3]</sup>。大豆蛋白主要引起人或动物发生 IgE 介导的 I 型速发型过敏反应,还会导致人体和动物毛细血管渗透性增加、血浆蛋白漏入肠腔、肠黏膜水肿、细胞脱颗粒释放组胺、前列腺素等<sup>[4-5]</sup>。大豆过敏患者临床症状大多表现为过敏性皮炎,有些可能会出现严重失水甚至死亡<sup>[6-7]</sup>。人体一旦出

收稿日期:2017-10-11

作者简介:王章存(1963-),男,博士,教授,研究方向:蛋白质营养与精深加工,E-mail:dwzhe@163.com。

基金项目:国家自然科学基金(31671782);郑州轻工业学院研究生科技创新基金(2017023)。

现大豆过敏反应,目前尚无有效的治疗方法。因此,降低或者消除大豆蛋白的抗原性是食品安全中的重要课题,受到科技和产业界的广泛关注。

热处理是食品加工中最常用的方法,但加热并不能有效降低大豆蛋白的致敏性<sup>[8]</sup>。高压处理也未获得满意的效果<sup>[9-11]</sup>。酸、碱等化学处理往往使大豆蛋白大分子降解为小分子,其乳化、发泡等功能性质大大降低,而且酸法水解对设备要求较高,容易造成环境污染。生物酶解法可以通过不同酶制剂进行选择性的酶解,被认为是降低甚至完全消除大豆蛋白抗原性的有效方法<sup>[12]</sup>,而且合适的酶解条件还可保持甚至改善大豆蛋白的乳化、发泡等物化性质,赋予大豆蛋白新的加工性能<sup>[13-14]</sup>。因此,近年来生物酶解法改性降低大豆蛋白抗原性的研究受到人们的广泛关注。本文在介绍大豆抗原蛋白分子组成和结构特征的基础上,重点介绍生物酶解法降低大豆蛋白抗原性的研究进展,希望为今后降低大豆蛋白抗原性的相关研究提供一定的参考价值。

## 1 大豆抗原蛋白的基本成分

大豆中的蛋白种类较多,根据沉降系数可分为2S、7S、11S和15S等四类组分。根据生理功能可分为生理活性蛋白和储藏蛋白两大类,其中生理活性蛋白主要包括血球凝集素、胰蛋白酶抑制剂、 $\beta$ -淀粉酶等,它们的含量较低且对热敏感,一般的食品加热过程即可灭去其活性;大豆储藏蛋白包括大豆球蛋白和 $\beta$ -伴大豆球蛋白两大类,其含量分别约占总蛋白40%和30%<sup>[15]</sup>。通常所说的11S和7S球蛋白主要是指这两种蛋白质,它们是大豆中的主要抗原蛋白<sup>[16-18]</sup>。

大豆球蛋白(11S)是由六个亚基组成的六聚体寡蛋白,每个亚基由一个酸性多肽链(A链)与一条碱性多肽链(B链)通过二硫键连接形成。其中,酸性多肽包括A<sub>1a</sub>、A<sub>1b</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>和A<sub>5</sub>,分子量约为34.8 ku;碱性多肽包括B<sub>1a</sub>、B<sub>1b</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>和B<sub>4</sub>,分子量约为19.6 ku<sup>[19]</sup>。

大豆 $\beta$ -伴球蛋白(7S)是由 $\alpha$ 、 $\alpha'$ 和 $\beta$ 三种亚基组成的三聚体球蛋白。目前研究发现约有10种存在形式,其中有6种已经被鉴定出来,分别是 $\alpha\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha\beta$ 、 $\alpha\beta\beta$ 、 $\alpha\alpha\alpha'$ 、 $\alpha\alpha'\beta$ 、 $\alpha'\beta\beta$ <sup>[20]</sup>。其中7S球蛋白中的Gly m Bd 28 K和Gly m Bd 30 K和Gly m Bd 60 K( $\beta$ -伴球蛋白的 $\alpha$ -亚基)是大豆中的主要致敏原<sup>[18]</sup>。 $\beta$ -伴大豆球蛋白的 $\alpha$ -亚基能被25%大豆过敏患者的血清识别<sup>[21]</sup>。Krishnan等<sup>[18]</sup>研究表明, $\beta$ -伴大豆球蛋白的 $\alpha$ -亚基、 $\alpha'$ -亚基和 $\beta$ -亚基均为潜在的过敏原。Guo等<sup>[22]</sup>研究大鼠时发现, $\alpha'$ -亚基具有免疫刺激能力并可诱发过敏反应。

## 2 生物酶解法降低大豆蛋白抗原性的研究

### 2.1 酶解对大豆7S蛋白抗原性的影响

2.1.1 酶解降低大豆7S蛋白抗原性 Keum<sup>[23]</sup>等用胃蛋白酶水解大豆7S球蛋白,并用SDS-PAGE和酶联免疫分析法(ELISA)分析大豆蛋白分子和抗原性变化,发现7S球蛋白的亚基很快消失,其抗原性降低了50%以上。刘晓毅<sup>[24]</sup>等研究体内蛋白酶的体外

消化实验,证明胃蛋白酶能有效降解7S组分,但是却无法完全水解掉30 ku和28 ku成分。王俊<sup>[25]</sup>等用胃蛋白酶、胰蛋白酶水解 $\beta$ -伴大豆球蛋白,产生了分子量分别约为52、30、25 ku的抗酶解肽段;用大豆 $\beta$ -伴球蛋白致敏的兔子血清做免疫印迹实验表明,这些肽段仍具有免疫活性,尤其是30 ku等肽段表现明显<sup>[26]</sup>。王锦欣<sup>[27]</sup>等通过胃蛋白酶和黑曲霉生产的酸性蛋白酶联合处理 $\beta$ -伴大豆球蛋白,可以将 $\alpha'$ -和 $\alpha$ -两种亚基完全消除,但是 $\beta$ -亚基依然表现出较强的完整性和免疫活性。Zhao<sup>[28]</sup>等研究认为, $\beta$ -伴大豆球蛋白的 $\beta$ -亚基不易被胃蛋白酶水解,即使延长酶解时间或增加酶的用量也没有明显的酶解效果。黄婷<sup>[29]</sup>等用风味蛋白酶处理大豆分离蛋白,并采用间接竞争ELISA法测定酶解产物中 $\beta$ -伴大豆球蛋白的抗原性,表明在水解30 min后,7S组分的 $\alpha$ -、 $\alpha'$ -和 $\beta$ -亚基有明显的降解作用,生产了较小分子量的肽段, $\beta$ -伴大豆球蛋白的抗原抑制率平均值达到21.79%。

Wang<sup>[30]</sup>等用碱性蛋白酶对豆粕处理10 min时, $\beta$ -伴球蛋白的 $\alpha$ -、 $\alpha'$ -及 $\beta$ -亚基几乎完全清除,用ELISA试剂测定酶解物的抗原性仅剩余约4%;相比之下,用胰蛋白酶水解10 min时,抗原性剩余约45%,即使酶解120 min时抗原性还剩余30%以上。用乳酸杆菌产生的蛋白酶对大豆分离蛋白水解,几乎可以完全降解 $\beta$ -伴大豆球蛋白的3个亚基和大豆球蛋白的酸性、碱性肽链<sup>[31]</sup>。但该研究仅用电泳和反相色谱方法分析了酶解过程中大豆蛋白的分子组成,并未采用相应的抗体反应测定抗原性变化。

就目前的研究结果看,用动物来源的蛋白酶水解时,大豆 $\beta$ -伴球蛋白的 $\beta$ -亚基比其他亚基较难水解彻底,这也是大豆过敏者食用大豆蛋白或者大多数幼小动物饲用大豆原料后,虽然经过消化道酶解仍然发生过敏现象的原因;而用微生物或植物来源的蛋白酶水解大豆蛋白时, $\beta$ -亚基的变化和抗原性降低程度较明显。

白小娟<sup>[32]</sup>等用风味蛋白酶水解大豆分离蛋白并用ELISA试剂法分析抗原性,发现当蛋白浓度为5%、pH7.5、加酶量1000 U/g、在50℃酶解120 min、条件下,大豆蛋白抗原蛋白P34(7S的一种)的致敏性完全消除。郑环宇<sup>[33]</sup>等将超高压和风味蛋白酶联合处理P34时,将消除P34致敏性的酶解时间由120 min缩短到了60 min。Meinlschmidt<sup>[34]</sup>等发现,大豆 $\beta$ -伴球蛋白经400 MPa高压处理后再用风味蛋白酶水解,抗原消除率可达99.5%。可见,两种方法的结合对降低大豆蛋白抗原性有一定的协同效果。

赵巧丽<sup>[35]</sup>等以豆乳为原料用木瓜蛋白酶水解,在加酶量为3500 U/mL酶解15 min时, $\beta$ -伴球蛋白的 $\alpha'$ -亚基被完全水解,抗原活性残留率为56.6%。Meinlschmidt<sup>[36]</sup>等研究了五种蛋白酶(碱性酶、风味酶、中性酶、木瓜蛋白酶和Corolase)及其不同组合,且采用一步和两步水解方式对大豆抗原蛋白的水解效果,发现木瓜蛋白酶和风味蛋白酶的组合作用最好,产生的多肽片段分子量均小于20 ku,可以将大豆 $\beta$ -伴球蛋白和大豆球蛋白等主要过敏原有效

水解。这表明不同酶有不同的作用位点,可将蛋白质水解到较小肽段,破坏抗原决定簇,从而有效降低其抗原性。

**2.1.2 酶解不能降低大豆 7S 蛋白的抗原性** 与前述酶解降低大豆 7S 球蛋白抗原性的结果相反,有些研究发现,某些酶解条件下,大豆蛋白的抗原性不仅没有降低,反而出现增加的现象。

Rakhi<sup>[37]</sup>等采用 SDS-PAGE、IgE 印迹法和细胞培养分析发现,大豆分离蛋白经过酶解后其抗原性并没有减少,而且胰凝乳蛋白酶和菠萝蛋白酶水解大豆分离蛋白后,抗原性反而有所增加,其中  $\beta$ -伴球蛋白水解的片段是引起抗原性升高的主要原因。Keum<sup>[23]</sup>等用胃蛋白酶水解 7S 球蛋白后,其抗原性可以降低 50% 以上。然而,先用胃蛋白酶、再用胰凝乳蛋白酶水解得到的酶解物抗原性又有所恢复,在 10 名大豆过敏者中,有 5 人的血清可与酶解产物发生免疫反应。其中,酶解产物中有 2 个片段(分子量分别为 20~25 和 13~16 kDa)表现出与 10 位大豆过敏者血清有反应活性。

上述结果之所以不太一致,可能与选择的抗原性测定方法有一定关联。大部分研究者采用 ELISA 法检测,少数采用免疫印迹法;另外,即使均采用大豆过敏者血清,但对同一测试样品并不是所有过敏者血清都会发生免疫反应<sup>[38]</sup>。所以体外实验结果与临床症状可能存在不一致之处。

**2.1.3 酶解去糖基化降低大豆 7S 蛋白抗原性** 针对上述酶解后 7S 大豆蛋白亚基消失,但抗原性并未完全消失,甚至酶解产生的低分子量肽链仍然表现出一定的抗原性的现象,还可能与大豆蛋白肽链中糖的存在有一定关联性。Hiemori<sup>[39]</sup>等用赖氨酰肽链内切酶除去 7S 大豆蛋白 Gly m Bd 28K 组分的糖链后其抗原性消失。Miryam<sup>[40]</sup>等用糖苷酶水解脱去大豆抗原蛋白的糖链后,用 Western 印迹法和直接 ELISA 测定发现其免疫反应大大降低,而且进一步研究发现,大豆  $\beta$ -伴球蛋白难以被胃蛋白酶完全水解,脱糖基处理后则易被胃液消化,但糖基化的  $\alpha$  和  $\beta$  亚基仍有部分保留下来<sup>[41]</sup>。这可能是蛋白酶水解无法完全消除其免疫活性的重要原因。

## 2.2 生物酶解降低大豆 11S 蛋白抗原性

大豆 11S 球蛋白也是主要抗原蛋白之一,相对于 7S 蛋白而言,受关注程度较低。王之盛<sup>[42]</sup>等认为,复合酶制剂在酸性条件下,较容易酶解大豆中 11S 抗原蛋白;而在中性、碱性条件下易于酶解 7S 和 2S 抗原蛋白;表明复合酶制剂在不同的酸碱环境下,酶解特性存在一定的差异。Lee<sup>[43]</sup>等用胰凝乳蛋白酶和胃蛋白酶研究发现,大豆 11S 球蛋白中的酸性多肽链比碱性多肽链更容易水解;通过凝胶过滤法将 11S 酶解物各组分分开,并用大豆过敏者血清鉴定发现,肽分子量小于 20 ku 的成分几乎没有免疫活性。但是相对于上述酶水解效果,胰蛋白酶有效水解 11S 蛋白则相对较难。如:Wang<sup>[30]</sup>等发现胰蛋白酶对 11S 的酸性亚基以及碱性亚基几乎没有作用;Zhao<sup>[28]</sup>等也发现胰蛋白酶不易将大豆 11S 球蛋白的

B 多肽链水解。

相比以上动物蛋白酶,植物蛋白酶和微生物蛋白酶更容易水解大豆 11S 球蛋白。Shutov<sup>[44]</sup>等研究发现,木瓜蛋白酶很容易水解大豆 11S 球蛋白,有效降低大豆 11S 球蛋白的抗原活性,且 11S 球蛋白酸性肽链的酶解产物还可以促进碱性肽链的水解。Wang<sup>[30]</sup>等用 Alcalase 碱性蛋白酶对豆粕处理 10 min,能够明显降解大豆 11 S 球蛋白的酸性亚基和碱性亚基。杨春华<sup>[45]</sup>等用碱性蛋白酶与转谷氨酰胺酶联合水解大豆 11S 球蛋白,发现除发生酶解反应外,还可以发生交联反应,从而达到降低大豆蛋白抗原性的效果。

## 2.3 微生物发酵降低大豆蛋白抗原性

通过微生物发酵降低或者清除大豆蛋白的抗原活性也是目前研究和应用热点之一。Lee<sup>[46]</sup>等通过乳酸乳球菌、球菌、曲霉和枯草芽孢杆菌以及其不同组合对蒸煮过的大豆进行发酵,提取大豆蛋白后用 SDS-PAGE 和免疫印迹法进行分析,发现大豆蛋白被降解为氨基酸或者分子量小于 10 ku 的肽,并且未检测到免疫活性。Frias<sup>[47]</sup>等对大豆进行固态发酵发现,米曲霉和米根霉发酵可降低 66% 和 71% 大豆蛋白抗原性,枯草芽孢杆菌发酵则可降低 81%~86%。Amnuaycheewa<sup>[48]</sup>等发现用双歧杆菌、植物乳杆菌和酿酒酵母发酵豆粕可降低大豆抗原蛋白 68%~72.7%。王波<sup>[49]</sup>等用植物乳酸杆菌对豆粉进行液态发酵 48 h 后, $\beta$ -伴大豆球蛋白免疫活性降低 71%,大豆球蛋白的免疫活性降低 64%。

而 Song<sup>[50]</sup>等研究发现,酿酒酵母液态发酵豆粕可明显降低大豆免疫活性,用乳杆菌、双歧杆菌发酵效果并不明显。之所以出现上述不一致的结果,可能与菌种的活性、接种量、发酵时间等条件有很大关系。尤其是固态发酵需要更长的发酵时间才有可能使微生物分泌的蛋白酶与大豆蛋白充分反应。

## 3 结论与展望

大豆是优质蛋白质的重要来源之一,但是大豆的致敏性一直是全世界普遍关注的食品安全问题。生物酶解法被认为是降低甚至完全消除大豆蛋白抗原性的有效方法<sup>[35]</sup>。尽管酶解大豆蛋白的文献很多,但往往关注大豆蛋白酶解后的溶解、乳化、发泡等食品加工性能的变化,而对生物酶解法降低大豆蛋白抗原性的研究近年来才有较多报道。当然,生物酶解法的酶解效果受酶的种类、酶解条件等多种因素的影响,酶解产物的抗原性测定方法也是目前研究结论不太一致的主要原因。因此如何有效降低或者完全去除大豆蛋白的抗原性,还需更加深入的研究。生物酶解法降低大豆蛋白抗原性过程中大豆蛋白加工性能的变化规律也是未来的重要研究方向。相信随着生物酶解法去除大豆蛋白抗原性研究的不断深入和新型酶的不断开发,既能降低大豆蛋白抗原性、又能获得较好加工性能的酶解方法将不断出现,并能有效应用于食品工业生产中。

### 参考文献

[1] Wu Y M, Guan R X, Liu Z X, et al. Synthesis and degradation of the major allergens in developing and germinating soybean seed

- [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2012, 54(1): 4-14.
- [2] You J M, Sun P, Li D F, et al. A novel method using immune affinity chromatography for isolating  $\beta$ -conglycinin from soybean proteins [J]. Food Chemistry, 2009, 117(2): 371-374.
- [3] L' hocine L, Boye J I. Allergenicity of soybean: new developments in identification of allergenic proteins, cross-reactivities and hypo allergenization technologies [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2007, 47(2): 127-143.
- [4] Sun P, Li D F, Li Z J, et al. Effects of glycinin on Ig E-mediated increase of mast cell numbers and histamine release in the small intestine [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2008, 19(9): 627-633.
- [5] Liu X, Feng J, Xu Z R, et al. Oral allergy syndrome and anaphylactic reactions in BALB mice caused by soybean glycinin and beta-conglycinin [J]. Clinical and Experimental Allergy, 2008, 38(2): 350-356.
- [6] Christopher T C. Soy protein allergy incidence and relative severity [J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134(5): 1213S-1219S.
- [7] Sicherer S H, Sampson H A. Allergy and clinical immunology [J]. Food Allergy, 2006, 117: 470-475.
- [8] Shriver S K, Yang W W. Thermal and nonthermal methods for food allergen control [J]. Food Engineering Reviews, 2011, 3(1): 26-43.
- [9] Tang C H, Ma C Y. Effect of high pressure treatment on aggregation and structural properties of soy protein isolate [J]. Food Science and Technology, 2009, 42(2): 606-611.
- [10] Li H J, Zhu K X. Effects of high hydrostatic pressure treatment on allergenicity and structural properties of soybean protein isolate for infant formula [J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 808-814.
- [11] Elena P, Rosario G, Juana F, et al. High hydrostatic pressure effects on immunoreactivity and nutritional quality of soybean products [J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 423-429.
- [12] Wilson S, Blaschek K, Mejia E G. Allergenic proteins in soybean: processing and reduction of P34 allergenicity [J]. Nutrition Reviews, 2005, 63(2): 47-58.
- [13] Ortiz S M, Wagner J R. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties [J]. Food Research International, 2002, 35(6): 511-518.
- [14] Tsumura K, Saito T, Tsuge K, et al. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis [J]. LWT - Food Science and Technology, 2005, 38(3): 255-261.
- [15] Yaklich R W.  $\beta$ -Conglycinin and glycinin in high-protein soybean seeds [J]. Agric Food Chem, 2001, 49(2): 729-735.
- [16] Holzhauser T, Wackermann O, Ballmer-Weber B K, et al. Soybean (Glycine max) allergy in Europe: Gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy [J]. Allergy and Clinical Immunology, 2009, 123(2): 452-458.
- [17] Amnuaycheewa P, Mejia E G. Purification, characterization, and quantification of the soy allergen profilin (Gly m 3) in soy products [J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1671-1680.
- [18] Krishnan H B, Kim W S, Jang S C, et al. All three subunits of soybean  $\beta$ -conglycinin are potential food allergens [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2011, 57(3): 938-943.
- [19] Adachi M, Kanamori J, Masuda T, et al. Crystal structure of soybean 11S globulin: glycinin A<sub>3</sub>B<sub>4</sub> homohexamer [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(12): 7395-7400.
- [20] 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.
- [21] Helm R M, Cockrell G, Connaughton C, et al. Mutational analysis of the IgE-binding epitopes of P34/Gly m Bd 30K [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2000, 105(2): 378-384.
- [22] 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(2): 102-110.
- [23] Keum E H, Lee S I. Effect of enzymatic hydrolysis of 7S globulin, a soybean protein, on its allergenicity and identification of its allergenic hydrolyzed fragments using SDS-PAGE. Food Sci [J]. Biotechnol, 2006, 15(1): 128-132.
- [24] 刘晓毅, 薛文通, 胡小苹, 等. 酶解法专一性去除大豆 7S 球蛋白中的  $\alpha$ -亚基 [J]. 食品科技, 2005(8): 16-18.
- [25] 王俊, 潘丽, 赵元, 等. 大豆抗原蛋白  $\beta$ -伴大豆球蛋白抗酶解肽的分离纯化及其免疫活性鉴定 [J]. 中国畜牧杂志, 2012(23): 53-56.
- [26] Shannon W, Kristen B, Elvira G. Allergenic proteins in soybean: processing and reduction of P34 allergenicity [J]. Nutrition Reviews, 2005, 63(2): 47-58.
- [27] 王锦欣, 秦贵信, 龙国徽, 等.  $\beta$ -伴大豆球蛋白酶解物的抗消化性及免疫活性变化的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2014(9): 45-49.
- [28] Zhao Y, Qin G X, Sun Z W. Stability and immunoreactivity of glycinin and  $\beta$ -conglycinin to hydrolysis *in vitro* [J]. Food and Agricultural Immunology, 2010, 21(3): 253-263.
- [29] 黄婷, 布冠好, 陈复生. 酶解改性对大豆蛋白抗原性的影响研究 [J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2016, 37(4): 11-17.
- [30] Wang Z C, Li L J, Yuan Dao-qiang, et al. Reduction of the allergenic protein in soybean meal by enzymatic hydrolysis [J]. Food and Agricultural Immunology, 2014, 25(3): 301-310.
- [31] Aguirre L, Garro M S, Giori G S D. Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria [J]. Food Chemistry, 2008, 111(4): 976-982.
- [32] 白小娟. 超高压联合酶法对大豆蛋白致敏原 P34 免疫活性影响研究 [D]. 黑龙江: 东北农业大学, 2014.
- [33] 郑环宇, 邵红梅, 赵丹丹, 等. 超高压对风味蛋白酶酶解大豆分离蛋白中 P34 免疫活性的影响 [J]. 食品科学, 2015, 36(13): 95-100.
- [34] Meimlschmidt P, Brode V, Sevenich R, et al. High pressure processing assisted enzymatic hydrolysis - An innovative approach for the reduction of soy immunoreactivity [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2017, 40(1): 58-67.
- [35] 赵巧丽, 王丽, 廖振林, 等. 木瓜蛋白酶水解对豆乳中抗

原蛋白含量和亚基构成的影响[J].食品工业科技,2017,38(15):117-121.

[36] Meinschmidt P, Schweiggert - Weisz U, Brode V, et al. Enzyme assisted degradation of potential soy protein allergens with special emphasis on the technofunctionality and the avoidance of a bitter taste formation [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 68(5):707-716.

[37] Panda R, Tetteh A O, Pramod S N, et al. Enzymatic hydrolysis does not reduce the biological reactivity of soybean proteins for all allergic subjects [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(43):9629.

[38] Meulenaer D, Bruno, Platteau, et al. Effect of partial hydrolysis on the hazelnut and soybean protein; detectability by ELISA [J]. Food Control, 2013, 30(2):497-503.

[39] Hiemori M, Bando N, Ogawa T, et al. Occurrence of Ig E antibody - recognizing N - linked glycan moiety of a soybean allergen, Gly m Bd 28K. [J]. International Archives of Allergy & Immunology, 2000, 122(4):238-245.

[40] Miryam A B, Vasileios I A, Pasquale F, et al. Carbohydrate moieties on the *in vitro* immune-reactivity of soy  $\beta$ -conglycinin [J]. Food Research International, 2009, 42(7):819-825.

[41] Miryam A B, Alfonso C, Pasquale F, et al. Digestibility and immunoreactivity of soybean  $\beta$ -conglycinin and its deglycosylated [J]. Food Chemistry, 2011, 129(4):1598-1605.

[42] 王之盛, 况应谷, 周安国, 等. 酶解去除大豆产品抗原蛋白效果的研究 [J]. 饲料博览, 2004(11):3-4.

(上接第 301 页)

特性的影响[J].食品科学,2012,33(6):288-292.

[12] 马妍, 谢晶, 周然, 等. 不同取代基羧甲基壳聚糖对冷藏河豚鱼品质的影响[J].湖北农业科学,2011,50(15):3131-3135.

[13] 马妍, 谢晶, 周然, 等. 不同浓度 O-羧甲基壳聚糖对河豚鱼冷藏保鲜效果的研究[J].上海农业学报,2011,27(4):30-33.

[14] 周然, 刘源, 谢晶, 等. 羧甲基壳聚糖涂膜保鲜冷藏河豚鱼品质的机理[J].制冷学报,2011,32(3):64-68.

[15] 周然, 刘源, 谢晶, 等. 电解水对冷藏河豚鱼肉质构及品质变化的影响[J].农业工程学报,2011,27(10):365-369.

[16] Ran Zhou, Yuan Liu, Jing Xie, et al. Effects of combined treatment of electrolysed water and chitosan on the quality attributes and myofibril degradation in farmed obscure puffer fish (*Takifugu obscurus*) during refrigerated storage [J]. Food Chemistry, 2011, 129(4):1660-1666.

[17] 苏红, 张晓梅, 郭芮, 等. 4 种生物保鲜剂结合冰温贮藏对红鳍东方鲀的保鲜效果 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(3):276-280.

[18] 齐凤生, 刘红英, 吴雪丽, 等. 生物保鲜剂对冷藏海湾扇贝柱品质的影响[J].中国食品学报,2015,15(7):73-79.

[19] 李敬, 王小瑞, 刘红英, 等. 气调包装对大菱鲆的冷藏保鲜效果[J].食品科学,2016,37(22):313-317.

[20] 国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.228-2016 食品安全国家标准, 食品中挥发性盐基氮的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.

[21] Junke L, Teng H, Fulong W, et al. Chinese red pepper

[43] Lee U W, Keum E H, Lee S J, et al. Allergenicity of proteolytic on the soybean 11S globulin [J]. Journal of Food Science, 2007, 72(3):168-172.

[44] Shutov A, Rudakova A, Rudakov S, et al. Limited proteolysis regulates massive degradation of glycinin, storage 11S globulin from soybean seeds: an *in vitro* model [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(13):1227-1233.

[45] 杨春华. 高去酰胺碱性蛋白酶与转谷氨酰胺酶复合改性大豆 11S 球蛋白[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学,2011.

[46] Lee J O, Lee S I, Cho S H, et al. A new technique to produce hypoallergenic soybean proteins using three different fermenting microorganism [J]. Journal of Allergy And Clinical Immunology, 2004, 113(2):S239.

[47] Frias J, Song Y S, Martinezvillaluenga C. Fermented soybean products as hypoallergenic food [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2008, 67(OCE1).

[48] Amnuaycheewa P, Mejia E G. Purification, characterization, and quantification of the soy allergen profilin (Gly m 3) in soy products [J]. Food Chemistry, 2010, 119(4):1671-1680.

[49] 王波, 秦贵信, 孙泽威, 等. 植物乳酸菌发酵对大豆球蛋白和  $\beta$ -伴大豆球蛋白免疫活性及水解度的影响 [J]. 经济动物学报, 2011, 15(2):100-103.

[50] Song Y S, Frias J, Martinezvillaluenga C, et al. Immunoreactivity reduction of soybean meal by fermentation, effect on amino acid composition and antigenicity of commercial soy products [J]. Food Chemistry, 2008, 108(2):571-581.

(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) leaf extract as natural antioxidants in salted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in dorsal and ventral muscles during processing [J]. Food Control, 2015, 56:9-17.

[22] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.2-2016 食品安全国家标准, 食品微生物学检验菌落总数测定[S].北京:中国标准出版社,2016.

[23] 刘红英, 齐凤生, 张辉. 水产品加工与贮藏[M].北京:化学工业出版社,2008:74-75.

[24] Kilincceker O, Dogan I S, Kucukoner E. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(4):868-873.

[25] 孙群. 肉制品脂类氧化: 硫代巴比妥酸实验测定醛类物质[J].食品科学,2002,23(8):331-334.

[26] 吴雪丽. 生物保鲜剂对扇贝保鲜效果的研究及货架期模型的建立与评价[D].保定:河北农业大学,2014:25-32.

[27] Huang Y, Shiao C, Hung Y, et al. Change of hygienic quality and freshness in tuna treated with electrolyzed water and carbon monoxide gas during refrigerated and frozen Storage [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(4):127-133.

[28] 赵良, 岑剑伟, 李来好, 等. 高压静电场结合冰温气调保鲜技术对罗非鱼鱼片品质的影响 [J]. 南方水产科学, 2017, 12(3):91-97.

[29] 牛保卫. 大菱鲆冰温气调保鲜技术研究[D].青岛:中国海洋大学,2009,31-41.