

大豆过敏原蛋白及致敏性消减技术的研究进展

惠天然^{1,2}, 施一凡¹, 唐婷¹, 王佳慧¹, 黄恒又¹, 邢广良^{1*}

(1. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏常熟 215500)

(2. 特洛伊大学生物与环境科学系, 美国阿拉巴马州特洛伊 36082)

摘要: 大豆是我国重要的粮食作物之一, 其蛋白质含量高达 35%~40% (*m/m*)。与此同时, 大豆蛋白是人们日常生活中最常见的一类食物过敏原, 大豆过敏已经成为了急需解决的公共安全问题。 β -伴大豆球蛋白 (β -Conglycinin, 7S)、大豆球蛋白 (Glycinin, 11S)、Gly m Bd 28K 和 Gly m Bd 30K (P34) 被认为是大豆过敏原中引发机体发生过敏反应的主要成分。迄今为止, 国内外对于大豆过敏尚无根治办法, 唯一的预防策略是严格避免摄入来防止过敏反应的发生。但研究指出, 通过特殊的加工方法或技术手段可以降低大豆过敏原的致敏性, 其中以热加工法、超高压法、酶处理法和基因工程法等方法为代表的消减技术得到广泛关注。因此, 该文综述了大豆过敏原的类型, 常用的过敏蛋白致敏性消减技术及各项技术的优缺点, 以期为低敏性大豆食品的开发提供参考。

关键词: 大豆; 过敏原蛋白; 致敏性; 消减技术

文章编号: 1673-9078(2023)10-357-364

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.10.1256

Research Progress on Allergenic Soy Proteins and Related Allergenicity Reduction Techniques

HUI Tianran^{1,2}, SHI Yifan¹, TANG Ting¹, WANG Jiahui¹, HUANG Hengyou¹, XING Guangliang^{1*}

(1.School of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China)

(2.Department of Biological and Environmental Sciences, Troy University, Troy 36082, USA)

Abstract: Soybean is an important food crop in China, with a protein content of 35%~40% (*m/m*). However, soy protein is one of the most common food allergens, and soy allergy has emerged as a public health concern requiring urgent intervention. The β -conglycinin (7S), soy globulin (11S), Gly m Bd 28K, and Gly m Bd 30K (P34) are considered the main components of soy allergens responsible for triggering allergic reactions. To date, there is no cure for soy allergy, with the only strategy to prevent allergic reactions focused on a strict avoidance diet. However, studies have indicated that the allergenicity of soybean allergens can be reduced via specific processing methods or technological means. Various allergenicity reduction techniques, including thermal, ultra-high-pressure, and enzymatic treatments, as well as genetic engineering methods, have garnered widespread attention. This paper reviews the types of soybean allergens, the commonly used allergenicity reduction techniques, and the advantages and disadvantages of each technique, with the aim of providing a reference for the development of hypoallergenic soybean foods.

Key words: soybean; allergenic protein; allergenicity; allergenicity reduction

引文格式:

惠天然,施一凡,唐婷,等.大豆过敏原蛋白及致敏性消减技术的研究进展[J].现代食品科技,2023,39(10):357-364

HUI Tianran, SHI Yifan, TANG Ting, et al. Research progress on allergenic soy proteins and related allergenicity reduction techniques [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(10): 357-364

大豆是我国重要的粮油饲兼用作物,大豆制品(豆浆、豆腐、腐竹、素鸡、豆豉、腐乳等)是人们日常

收稿日期: 2022-09-30

基金项目: 江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJB550009); 常熟理工学院创新创业“金种子”计划(JXJ202222)

作者简介: 惠天然(2000-),男,本科在读,研究方向:大豆制品的生产与加工, E-mail: thui@troy.edu

通讯作者: 邢广良(1991-),男,博士,讲师,研究方向:食品生物技术及食物过敏, E-mail: xinggl@cslg.edu.cn

生活中最常见的食物。1999年,国际食品法典委员会发布了常见的致敏食物清单,包括以下八种食物及相应制品:奶类、禽蛋类、鱼类、甲壳类水生动物、花生、大豆、坚果类、小麦^[1],大豆位列其中。我国《食品安全国家标准预包装食品标签通则》(GB 7718-2011)也规定了上述八类食品及其制品可能导致过敏反应,如果用作配料,宜在配料表中使用易辨识的名称,或在配料表邻近位置加以提示^[2]。2022年,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)和

联合国粮食与农业组织 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 联合发文提出, 由于大豆过敏的全球流行率低, 因此未将大豆列入全球优先过敏原清单。然而国家或地区间对特定食物的过敏患病率存在显著差异, 个别国家仍可考虑将其列入优先过敏原清单^[3]。因此, 国际上不同地区和国家过敏原法规的要求有相似也有不同。据报道, 欧洲国家基于人口的荟萃分析 (Meta-Analysis) 显示, 大豆过敏的患病率为 0.4%^[4], 但是据中国疾病预防控制中心周报 2022 年的一项报道^[5], 通过汇总分析 2000 年至 2021 年收录在 PubMed、ExcerptaMedica Database 和 Cochrane Library 英文数据库及中国知网、万方数据、维普数据库等中文数据库中关于中国人食物过敏的 24 项研究成果 (共涉及 138 740 名儿童和成人) 指出, 在我国, 大豆过敏患者占食物过敏患者总数的 3%。针对大豆过敏的人群食用大豆制品后, 轻者出现过敏性皮炎、荨麻疹、湿疹、腹痛腹泻、恶心呕吐等临床症状, 严重者会发生休克甚至死亡。由此可见, 大豆过敏在我国食物过敏患者中占据较高比例, 严重影响过敏患者的生活。

大豆蛋白可根据其不同的生物学功能, 分为种子储藏蛋白、结构蛋白和防御相关蛋白三大类, 其中大豆种子储藏蛋白被认为是引发机体食物过敏的主要成分。按照沉降系数 (S) 的不同, 可将大豆种子储藏蛋白分成 2S、7S、11S 和 15S 四种^[6]。 β -伴大豆球蛋白 (β -Conglycinin, 7S 的主要成分) 和大豆球蛋白

(Glycinin, 11S 的主要成分) 是大豆蛋白中最主要的过敏原, 约占大豆蛋白总量的 70% (m/m) 以上。其中, β -伴大豆球蛋白是由 α' 、 α 和 β 亚基通过疏水作用相互缔合而成的共轭型三聚体糖蛋白, 且三个亚基均存在较强的致敏性, 因此 β -伴大豆球蛋白成为大豆脱敏的重要靶向蛋白^[7]。

由大豆蛋白引起的过敏反应大都表现为过敏性皮炎, 有时候也会出现胃肠道不适以及神经系统损伤^[8]。将大豆蛋白用作仔猪饲料时, 由于过敏原蛋白成分的存在可能会引起动物的肠道损伤, 使其正常新陈代谢在一定程度上受到干扰, 进而影响仔猪的生长发育^[9]。因此, 大豆在食品加工业及畜牧业中的广泛应用会给大豆过敏人群和牲畜带来潜在的风险。一般地, 人们常常通过避免进食过敏性食物来防止食物过敏这一问题的出现, 但这样会使营养摄入变得不均衡, 并不可取。近年来, 研究发现通过不同的加工处理方法, 可以使食物的致敏性下降。这些方法主要包括: 热加工处理、酶水解处理、发酵法、超高压处理、化学法、生物育种以及基因工程等。虽然这些方法去除过敏原致敏性的原理不同, 但均可起到一定的作用。基于此, 本文针对大豆过敏原的类型, 常用的过敏蛋白致敏性消减技术及各项技术的优缺点进行论述, 以期对低敏性或无敏性大豆食品的研究与开发提供参考。

1 食物过敏反应及机理

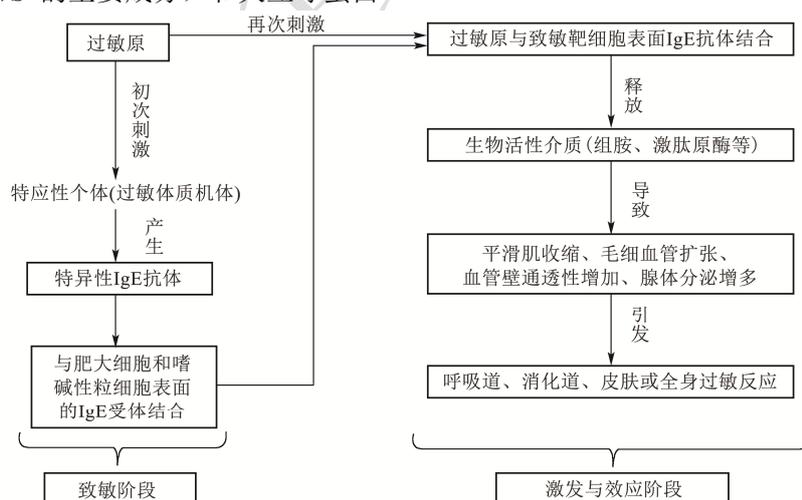


图 1 | I 型过敏反应的发生机理

Fig.1 The mechanism of type I anaphylaxis

食物过敏在儿童和成人中的发病率均在增加, 尽管随着时间的推移, 许多儿童的食物过敏症状会逐渐消失, 但一些儿童时期的食物过敏症状会持续存在于青壮年时期^[10]。食物过敏反应是一种变态反应, 根据过敏发病机制的不同可大致分为以下几类: 免疫球蛋

白 E (Immunoglobulin E, IgE) 介导的过敏反应, 非 IgE 介导的过敏反应以及 IgE 和非 IgE 混合介导的过敏反应^[11]。常见的食物过敏是由 IgE 介导的超敏反应, 其致敏过程如图 1 所示, 主要可划分为三个阶段, 即致敏阶段、激发阶段以及效应阶段。当机体第一次接

触会引发过敏的食物时,机体的免疫系统会根据过敏原产生特异性的 IgE 抗体,这些特异性抗体能与肥大细胞和嗜碱粒细胞表面受体结合,此时机体则处于致敏状态;当再次接触这类食物时, IgE 就会和过敏原相结合,此为激发阶段;从而促进多种炎性介质的释放(如组胺、激肽原酶),并新合成一些活性介质如白三烯、前列腺素和血小板活化因子等,进一步引发平滑肌痉挛、腺体分泌增加、血管通透性增高等生物学效应,随后,炎症效应组织和器官被介质作用,引发局部或全身性过敏反应,此为效应阶段。而非 IgE 介导的过敏反应常由多种细胞参与,多发生在胃肠道,发病的机制和时间也不明确,通常容易被误诊,属于一类免疫延迟反应^[12]。食物过敏发生时可涉及多个器官系统,可能会危及生命,严重地影响过敏患者的生活质量,因此如何降低或消除食物过敏原蛋白潜在的致敏性受到日益重视。2009 年至 2018 年,我国食物过敏的流行率为 8%,高于 1999~2008 年 5% 的比率,这表明中国食物过敏的流行率正在上升^[5]。

2 大豆中过敏原蛋白分类

大豆过敏原蛋白是指大豆及其制品中可以引起人或畜禽产生过敏反应的一些大分子蛋白质或糖蛋白,按照沉降系数不同可分为: 2S、7S、11S、15S 四种^[6]。目前,根据国际免疫学会联合认定收录并于 2021 年 2 月 14 日发布的 AllergenOnlineV21 报告(来源于 <http://www.allergenonline.org/>)可查询到的大豆过敏原蛋白有 44 种。其中 β -伴大豆球蛋白(7S)、大豆球蛋白(11S)、Gly m Bd 28K 和 Gly m Bd 30K (P34) 被认为是大豆过敏原中引发机体发生过敏反应的主要成分。

2.1 大豆球蛋白(11S)

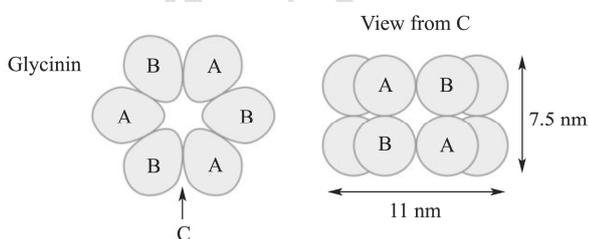


图2 大豆球蛋白分子结构示意图

Fig.2 Schematic diagram of the molecular structure of glycinin

大豆球蛋白是一种不均匀的蛋白,其分子量 320~360 ku,占大豆总蛋白的 19.5%~23.1% (m/m),占总球蛋白的 40% (m/m)^[13],其分子结构示意图如图 2 所示^[14]。大豆球蛋白是一个由两个三聚体组成的六聚体,每个三聚体都由不相同的亚基组成,由一个酸性亚基(35~43 ku,等电点 pI 为 4.8~5.5)和一个碱

性亚基(18~20 ku,等电点 pI 为 6.5~8.5)经过二硫键连接而成,大豆球蛋白的等电点约为 6.4^[15]。

2.2 β -伴大豆球蛋白(7S)

β -伴大豆球蛋白的分子量为 150~200 ku,是由三个亚基(α' 、 α 和 β)的各种形态通过疏水作用组成的一种三聚体糖蛋白,亚基的分子量分别为 α' 57~83 ku; α 57~76 ku; β 42~53 ku; 等电点分别为 4.9、5.18、5.66~6.00^[15]。 β -伴大豆球蛋白分子结构图如图 3 所示^[14], β -伴大豆球蛋白的致敏性是由其亚基引起的,特别是 α 和 α' 亚基,其中 α 亚基(又称 Gly m Bd 60K)致敏性最强,且过敏原阈值低,摄入极小的剂量就可以引起过敏反应^[16]。因 β -伴大豆球蛋白的三个亚基都有糖基,亲水性更强且空间结构相较 11S 球蛋白更具柔性^[17]。

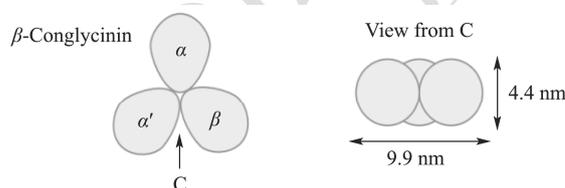


图3 β -伴大豆球蛋白分子结构示意图

Fig.3 Schematic diagram of the molecular structure of

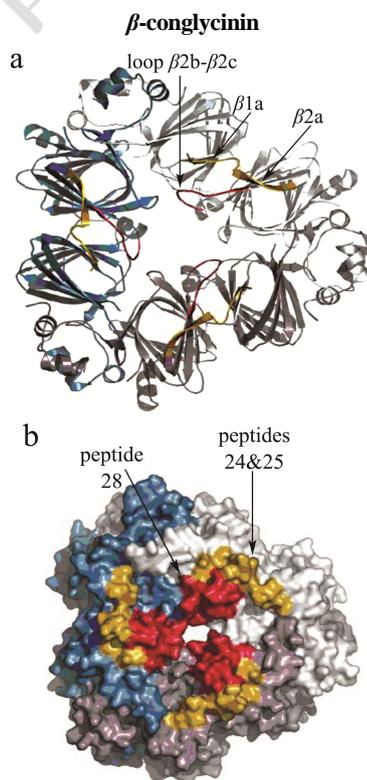


图4 β -伴大豆球蛋白 α 亚基过敏原表位定位示意图

Fig.4 Mapping diagram of the allergen epitope of the α subunit of β -conglycinin

注:(a)二级结构示意图;(b)三维结构分子表面示意图。肽段 24, 25, 28 为推测主要过敏原表位。

β -伴大豆球蛋白的三种亚基 α' 、 α 和 β 经纯化后均能与大豆过敏患者血清的 IgE 发生结合, 证明其均存在过敏性^[18]。其中, α 亚基与免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, IgG) 结合的过敏原表位已被定位 (图 4)^[19], 使用免疫信息学工具预测出 α 亚基与 IgE 结合的过敏原表位有 15 条, 其中 11 条被证实为主要的过敏原表位, 与肽段的二级结构密切相关^[20]。近期研究发现 α 亚基中的肽段⁴⁸⁸PHFNSKAIVVLV⁴⁹⁹ 同时存在线性表位和构象表位, 但均可通过热处理使其破坏^[21]。同样, 使用免疫信息学工具预测出 β 亚基中存在 10 条线性表位且均能与大豆过敏患者血清中 IgG 结合, 其中能与 IgE 结合的过敏原表位有 5 条, 其氨基酸序列分别为⁵⁹FNKRSPQLENLRDYR⁷³、¹¹⁰NDDRDSYNLHPGDAQRIAG¹²⁹、¹⁵⁰IPVNKPGRYDDFFLS¹⁶⁴、¹⁹⁷FGEEEEQRQQEG²⁰⁸、²²⁵AKSSSRKTI SSEDEPFNLRSRNPIYS²⁵⁰^[22]。由于 3 个亚基之间的序列同源性较高, 彼此之间可能存在交叉反应, 这意味着在对 3 个亚基分别进行研究时, 要排除交叉反应的影响^[7]。

2.3 Gly m Bd 30K

Gly m Bd 30K 是大豆蛋白 7S 组分中的一种低含量的糖蛋白, 分子质量为 42.75 ku, 等电点为 5.79, 研究指出, 约 65% 大豆过敏患者的血清可以识别其致敏性表位^[23], 是大豆中致敏性最强的储藏蛋白, 也是目前研究最多的大豆过敏原。Gly m Bd 30K 也因其 N 末端氨基酸序列和氨基酸与 P34 的组成一致, 被称为 P34 蛋白。Helm 等^[24]用抗原表位法分析发现, Gly m Bd 30K 蛋白的氨基酸序列上第 311~340、299~308、229~238、110~119、3~12 是其主要的抗原表位, 针对不同过敏患者的血清, 不同的 IgE 抗原表位的结合能力也有显著性的差异。 α -螺旋是交叉反应性 IgE/G 表位的主要二级结构, 许多 IgE/G 表位主要位于 Nt 结构域, 主要由 α -螺旋结构组成^[25]。由于过敏原蛋白的同源性, P34 蛋白与牛奶酪蛋白和桦树花粉 Bet v 1 存在交叉过敏反应^[7]。

2.4 Gly m Bd 28K

Gly m Bd 28K 是大豆蛋白中的一种主要的过敏原蛋白, 与 Gly m Bd 30k 同属于 7S 球蛋白, 由预测的信号肽 Gm28K 和一个分子量为 26 ku 的肽组成^[26]。Gly m Bd 28K 分子量为 28 ku, 等电点为 5.62, 是一种糖基化蛋白, 其致敏性仅次于 Gly m Bd 30K, 且含量也低于 Gly m Bd 30K。Xiang 等^[27]研究发现, Gly m Bd 28K 主要的抗原表位是 6 号表位

(²⁵⁶SYNLYDDKKADFKNA²⁷⁰), 它位于 C 端 cupin 结构域第一个 β -折叠结构的边缘。对 IgE 结合最关键的氨基酸是 Y260、D261、D262 和 K264。据报道, Gly m Bd 28K 与 P34 具有相同的糖蛋白结构, 而这些糖蛋白的糖部位可能是 IgE 抗体识别的表位^[28]。

3 大豆中过敏原蛋白致敏性消减方法

随着科技的进步与发展, 大豆致敏性消减技术也越来越多样化, 根据其原理可分为: 物理方法、化学方法和生物方法等。

3.1 物理方法

3.1.1 热处理

热处理是一种常见的致敏性消减技术, 大多数的大豆食品在进食前都被加热处理, 一方面可以使蛋白质的空间结构受到破坏, 从而来达到降低致敏性的目的; 另一方面, 通过热处理灭活蛋白酶抑制剂可提高大豆蛋白的营养价值, 从而促进胃肠道中的蛋白酶对大豆蛋白的消化。

赵益菲等^[29]发现热处理能显著影响 β -伴大豆球蛋白的抗原性, 即随温度的增加 (从室温升高至 140 °C) 抗原性逐渐下降。经过 140 °C 高温处理后 β -伴大豆球蛋白的抗原性下降至 60.78%, 显著低于不加热时 β -伴大豆球蛋白 96.29% 的抗原性。通过免疫印迹结果发现热处理后的 β -伴大豆球蛋白抗原性虽然会降低, 但并不能完全消除。大豆过敏原 Gly m 3 在 100 °C 加热 5 min 和 10 min 后其抗原性分别下降至 40.8% 和 86.1%^[30]。Wilson 等^[31]将 P34 蛋白进行分离纯化后将其置于沸水浴中进行热处理, 发现热处理改变了 P34 的二级结构, 在煮沸 5 min 后, 二级结构中的线性表位暴露, P34 的抗原性有所提高, 但随着加热时间的延长 P34 蛋白的免疫反应性有所下降。根据以上发现可以看出, 热处理并不能完全有效地降低大豆球蛋白的致敏性, 且有的过敏原蛋白的热稳定性好, 仅通过加热处理对其抗原性影响很小, 需要与其他加工方法联合使用。

3.1.2 超高压法

超高压处理食品是在无菌且密封的压力系统中, 使用 100 MPa 以上的压力, 在常温下对食品进行处理的一种方式。在这一过程中, 超高压使食品中的蛋白质、酶等大分子物质的结构发生改变, 使过敏蛋白的抗原性降低而保留食品原有的风味。近年来, 运用超高压对大豆食品进行致敏性的消减也越来越受关注。

Li 等^[32]研究发现, 与未处理的大豆分离蛋白相比, 在 300 MPa 高静水压处理大豆蛋白 15 min 后可以

使大豆蛋白致敏性降低 48.6%，但进一步增大压力至 400 MPa 和 500 MPa 时，大豆分离蛋白的致敏性与 300 MPa 时相比并无显著性差异 ($P>0.05$)。李堂昊等^[33]发现， β -伴大豆球蛋白的二级结构及空间结构经超高压处理后均发生较大改变，在不同压力处理下， β -伴大豆球蛋白的抗原性呈不同表现。当压力为 400 MPa 时， β -伴大豆球蛋白的抗原性达到最低，与未超高压处理相比，下降了 45.30%，此时 β -伴大豆球蛋白二级结构的 α -螺旋和 β -转角含量下降明显，蛋白质空间结构也发生了改变。但是，继续加大压强至 500 MPa 和 600 MPa 时 β -伴大豆球蛋白的抗原性却不降反升。Xi 等^[34]采用高静水压处理 β -伴大豆球蛋白时也发现了类似的现象，这可能是由于过大的压力使得蛋白质结构再一次发生改变，原本被掩盖的抗原表位又暴露出来，所以抗原性反而增强。根据赵益菲等^[35]研究发现，经过超高压处理后的大豆球蛋白 (11S) 的抗原性降低，且会随着压力的增加，下降的程度也会增加，当在 500 MPa 压力条件下处理 20 min 时大豆球蛋白的抗原性达到最低，为 54.77%，但压力升至 600 MPa 时大豆球蛋白抗原性反而增加。以上研究都发现，在适当的压力范围内大豆蛋白的抗原性会随着压力的增大而逐渐下降，但当压力过高时，蛋白的抗原性反而会增加。因此使用超高压法进行处理时，需要控制好处理压力以及时间，才能更好地降低蛋白致敏性。

3.2 化学方法

3.2.1 酶解法

酶解是一种常用的蛋白质改性方法，利用酶的水解作用，使蛋白质的空间结构发生改变，蛋白质大分子被水解为小分子的肽或更小的氨基酸，从而使过敏原致敏性降低^[36]。

王章存等^[37]研究发现，运用单酶（碱性蛋白酶）水解大豆蛋白后，11S 球蛋白部分被降解，7S 球蛋白中的 α 和 α' 亚基被水解，但 β 组分有所保留，但两组分抗原性都降低。之后运用双酶（碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶）联合水解大豆蛋白，结果表明 7S 和 11S 球蛋白中亚基在双酶水解下被快速降解，且两组分的抗原性比起单种酶水解时，下降程度更明显。郑环宇等^[38]使用不同类型的蛋白酶，如木瓜蛋白酶、中性蛋白酶、菠萝蛋白酶、复合蛋白酶、风味蛋白酶、胰蛋白酶和碱性蛋白酶对大豆过敏原蛋白 P34 进行酶解，结果发现过敏原蛋白 P34 的含量在这 7 种酶的处理下都发生了降低，风味蛋白酶和碱性蛋白酶对 P34 的作用效果最强，在最优水解参数下能完全去除其免疫活

性。根据王佩^[39]实验，用碱性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶和风味蛋白酶这四种酶对豆粕进行水解，结果表明，四种酶均可以水解大豆蛋白，其中碱性蛋白酶水解度最高，胰蛋白酶的水解度最低。此外，根据聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE) 结果显示，四种酶中除了胰蛋白酶外，都可以将 7S 蛋白中三个亚基以及 11S 蛋白的酸、碱亚基降解，再通过酶联免疫吸附试验 (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 法对水解后的蛋白进行抗原性检测发现，四种酶水解后，大豆蛋白的抗原性都有不同程度的下降，但同时也发现，在酶解过程中，会出现新的肽，且都有一定的抗酶解性。根据李慧静^[40]研究，使用质量比为 1:1 的碱性蛋白和中性蛋白复合水解大豆分离蛋白，大豆蛋白过敏性降低程度比起单种酶水解更为显著。根据上述实验结果表明，运用酶对大豆蛋白进行水解，的确可以降低大豆蛋白的致敏性，且使用多酶联合水解的效果更显著，但不容忽略的是酶水解处理会导致苦味肽的产生，影响产品风味及口感。

3.2.2 糖基化法

糖基化反应是将糖以共价键的形式与蛋白质分子的游离氨基酸连接形成糖蛋白的反应，可导致聚集体的形成和抗原表位的破坏^[41]，改变蛋白质的结构从而改变其抗原性，反应过程中蛋白质因受热，其抗原表位也可能发生改变。糖基化反应会形成新的化合物，通过屏蔽 IgE 结合表位来改变蛋白的致敏性。有研究表明，将果糖、低聚果糖分别与大豆分离蛋白通过美拉德反应进行糖基化处理后，大豆蛋白的致敏性降低率接近 90%^[42]。将葡萄糖和 β -伴大豆球蛋白进行糖基化处理后，也可显著降低 β -伴大豆球蛋白的抗原性^[43]。布冠好等^[44]研究指出，将大豆分离蛋白与葡聚糖以质量比为 3:1 的方式制备成大豆分离蛋白-葡聚糖复合物，并且采用间接竞争 ELISA 法对糖基化产物进行抗原性检测。检测结果显示，糖基化产物的抗原性会随着糖基化反应时间的延长而逐渐降低，当糖基化反应 6 d 时，大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的抗原性相比未处理下降了 18.12% 和 36.90%。由于 β -伴大豆球蛋白是一种糖蛋白，在糖基化反应后受影响程度更大，抗原性下降更加明显。后续他们采用红外光谱分析后发现，糖链的引入使蛋白质分子展开，结构中 β -转角和无规则卷曲结构含量降低，影响了大豆蛋白中 β -伴大豆球蛋白的 α 亚基的抗原表位，从而使大豆蛋白的抗原性降低。但糖基化过程耗时长且对于大豆蛋白致敏性的降低效果有限，使得该方法难以进行普及推广。

3.3 生物方法

3.3.1 微生物发酵法

发酵是指借助微生物无氧或有氧条件下的生命活动来制备菌体本身或直接代谢产物或次级代谢产物的过程。发酵作为一种传统的食品加工技术被人们广泛应用。发酵过的食品可以在不降低营养价值的条件下增加食品的风味,发酵技术不仅可以改善营养物质的生物利用率,还可以抑制致病菌。

Rui 等^[45]实验中,采用 8 种不同的植物乳杆菌:植物乳杆菌 ZR、Y-1、MB1-6、L3-4、70810、M-6、B1-6、Dong 分别对大豆分离蛋白进行发酵,发酵后发现所有组的大豆分离蛋白的抗原性都显著降低。这一结果表明,发酵过程中大豆蛋白的表位可能受到降解破坏,使抗原性下降。Meinlschmidt 等^[46]研究发现,运用枯草芽孢杆菌、米根霉、瑞士乳杆菌和酿酒酵母这四种菌株对大豆分离蛋白进行液态发酵,通过体外夹心 ELISA 法和免疫印迹法测定后,发现大豆蛋白的免疫反应性均得到显著降低,且经瑞士乳杆菌发酵后降低效果尤为显著,可高达 100%。Yang 等^[47]实验指出,用干酪乳杆菌、酵母和枯草芽孢杆菌三种不同的菌种混合对大豆进行固态发酵,发酵结束后对其进行致敏性评估,结果发现发酵后比发酵前的致敏性更低。综合上述实验结果可以看出,发酵法对降低大豆蛋白的致敏性有一定的效果,但发酵菌株的特异性强,不同菌株对于大豆蛋白的水解能力不同,在实际生产中应重点筛选培育可显著降低大豆蛋白致敏性的菌株。

3.3.2 育种法

育种的方法有诱变育种、单倍体育种、多倍体育种、杂交育种、细胞工程育种等,目前可用于降低大豆蛋白致敏性的育种方法主要分为基因工程法和非基因工程法^[48]。育种法处理大豆蛋白较为安全,与物理化学方法比起来,育种法可以最大程度地除去大豆蛋白中的过敏原。

根据相关文献报道,通过杂交育种筛选低致敏性大豆品种,培育出了 β -伴大豆球蛋白 α 亚基、 α '亚基、 β 亚基含量都很低的新大豆品种^[49]。韩艳婧^[50]以“东农 47”为母本,过敏原蛋白 α '亚基缺失型为父本,通过杂交、自交后选育出了 12 个 7S 球蛋白 α '亚基缺失型的大豆新品系。郭方亮^[51]将亲本、母本以及所获得的 8 种 7S 和 11S 球蛋白亚基缺失型品系作为实验材料,发现亚基缺失型品系的植株其农艺性状与原有的品系相比得到显著提升,亚基的缺失,也使大豆的风味发生改变,且游离氨基酸的含量也显著提升。

此外,运用基因工程的方法对大豆蛋白进行加工,

可以消除大豆蛋白内的致敏基因,进而可以消除大豆蛋白的致敏性。基因工程技术又称脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid, DNA)重组技术,可人为的将基因转入细胞受体,并使其表达,最终获得所需要的产物。曲静^[52]构建了 β -伴大豆球蛋白 α '亚基和 β 亚基基因双价核糖核酸干扰(RNA Interfere, RNAi)表达载体,并将其转入到吉农 28 大豆中,经过聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)检测发现构建的双价 RNAi 表达载体已经整合进转基因大豆基因组,且子代中 α '亚基和 β 亚基基因信使核糖核酸(Messenger RNA, mRNA)表达受到抑制,运用 ELISA 法检测其籽粒中 β -伴大豆球蛋白含量,发现该蛋白含量下降了 46.8%~66.09% (m/m)。Tsai 等^[53]将转基因大豆和正常大豆中的过敏原的致敏性进行了对比,结果发现转基因大豆和非转基因大豆中的 Gly m Bd 30k 致敏性并没有发生变化,只是转基因大豆中 Gly m Bd 28k 的转录量发生了增加。但截至目前,科学界对于转基因作物的可食性褒贬不一,基因工程法的应用在一定程度上受到了限制。

4 结论

大豆作为植物蛋白丰富的食品资源对我国食品工业具有重要意义,随着大豆过敏问题越来越受到人们的关注,大豆致敏性消减技术得以被研究应用。如何解决大豆过敏问题,运用哪种处理方法显得尤为重要,以上是国内外目前处理大豆过敏采用的一些常见方法。各种方法可通过不同原理达到降低过敏性的目的,但都做不到完全消除,甚至会有副作用产生。综合上述观点来看,将多种方法联合使用,致敏性消减效果或许会更加理想。因此,如何进一步开发出更合适的致敏性消减方法,获得低敏性或无敏性的大豆加工食品,是人们未来的研究重点。

参考文献

- [1] Muthukumar J, Selvasekaran P, Lokanadham M, et al. Food and food products associated with food allergy and food intolerance-An overview [J]. Food Research International, 2020, 138: 109780.
- [2] GB7718-2011 食品安全国家标准预包装食品标签通则[S].
- [3] Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Risk assessment of food allergens. Part 1-Review and validation of Codex Alimentarius priority allergen list through risk assessment [C]// Food Safety and Quality Series, Food Systems and Food Safety-Economic and Social Development, 2022.11.14,

- Rome, 2022.
- [4] Nwaru, B I, Hickstein, L, Panesar, S S, et al. Prevalence of common food allergies in Europe: A systematic review and meta-analysis [J]. *Allergy*, 2014, 69(8): 992-1007.
- [5] Luo J, Zhang Q, Gu Y, et al. Meta-analysis: prevalence of food allergy and food allergens - China, 2000-2021 [J]. *China CDC Weekly*, 2022, 4(34): 766-770.
- [6] Luthria D L, Maria John K M, Marupaka R, et al. Recent update on methodologies for extraction and analysis of soybean seed proteins [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(15): 5572-5580.
- [7] 李堂昊,布冠好,陈复生.大豆主要过敏原 β -伴大豆球蛋白及其抗原表位的研究进展[J].*大豆科学*,2019,38(5):806-812.
- [8] Tedner S G, Asarnoj A, Thulin H, et al. Food allergy and hypersensitivity reactions in children and adults - A review [J]. *Journal of Internal Medicine*, 2022, 291(3): 283-302.
- [9] Zeamer K M, Samuel R S, Pierre B S, et al. Effects of a low allergenic soybean variety on gut permeability, microbiota composition, ileal digestibility of amino acids, and growth performance in pigs [J]. *Livestock Science*, 2021, 243: 104369.
- [10] Mclaughlin A M, Macaulay T, Peterson C C. College students' knowledge and management of food allergies [J]. *Journal of American College Health*, 2021, 69(6): 610-616.
- [11] 傅玲琳,王彦波.食物过敏:从致敏机理到控制策略[J].*食品科学*,2021,42(19):1-19.
- [12] Calvani M, Anania C, Cuomo B, et al. Non-IgE or mixed IgE/non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in the first years of life: Old and new tools for diagnosis [J]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 226.
- [13] Xi J, Mulalapele L T. Detection and inactivation of allergens in soybeans: A brief review of recent research advances [J]. *Grain & Oil Science and Technology*, 2021, 4(4): 191-200.
- [14] Sui X, Zhang T, Jiang L. Soy protein: Molecular structure revisited and recent advances in processing technologies [J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2021, 12: 119-147.
- [15] Wang T, Qin G X, Sun Z W, et al. Advances of research on glycinin and β -conglycinin: a review of two major soybean allergenic proteins [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2014, 54(7): 850-862.
- [16] Liu B, Teng D, Yang Y, et al. Development of a competitive ELISA for the detection of soybean α subunit of β -conglycinin [J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47(2): 280-287.
- [17] Zhu Y, Fu S, Wu C, et al. The investigation of protein flexibility of various soybean cultivars in relation to physicochemical and conformational properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103: 105709.
- [18] Zheng S, Tian H, Ma N, et al. Purification and IgE-binding properties of soybean β -conglycinin subunits [J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47: 2531-2537.
- [19] Fu C J, Jez J M, Kerley M S, et al. Identification, characterization, epitope mapping, and three-dimensional modeling of the α -subunit of β -conglycinin of soybean, a potential allergen for young pigs [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(10): 4014-4020.
- [20] Sun X, Shan X, Yan Z, et al. Prediction and characterization of the linear IgE epitopes for the major soybean allergen β -conglycinin using immunoinformatics tools [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 56: 254-260.
- [21] Xi J, Yao L, Li S. Identification of β -conglycinin α' subunit antigenic epitopes destroyed by thermal treatments [J]. *Food Research International*, 2021, 139: 109806.
- [22] Bu G, Li T, Zhu T, et al. Identification of the linear immunodominant epitopes in the β subunit of β -conglycinin and preparation of epitope antibodies [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 154: 724-731.
- [23] Peñas E, Gomez R, Frias J, et al. High hydrostatic pressure effects on immunoreactivity and nutritional quality of soybean products [J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(2): 423-429.
- [24] 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.
- [25] Candreva Á M, Smaldini P L, Cauerhff A, et al. A novel approach to ameliorate experimental milk allergy based on the oral administration of a short soy cross-reactive peptide [J]. *Food Chemistry*, 2021, 346: 128926.
- [26] Yumioka-Ito H, Misaki R, Yokoro M, et al. Cloning of a cDNA encoding the Gly m Bd 28K precursor and its vacuole transport in tobacco BY2 suspension-cultured cells [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2014, 60(2): 129-139.
- [27] Xiang P, Haas E J, Zeece M G, et al. C-Terminal 23 kDa polypeptide of soybean Gly m Bd 28 K is a potential allergen [J]. *Planta*, 2004, 220(1): 56-63.
- [28] Tsuji H, Bando N, Hiemori M, et al. Purification and characterization of soybean allergen Gly m Bd 28K [J].

- Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1997, 61(6), 942-947.
- [29] 赵益菲,布冠好,陈复生.热处理对 β -伴大豆球蛋白结构及免疫活性的影响[J].河南工业大学学报:自然科学版,2017, 38(5):50-56.
- [30] Amnuaycheewa P, de Mejia E G. Purification, characterisation, and quantification of the soy allergen profilin (Gly m 3) in soy products [J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1671-1680.
- [31] Wilson S, Martinez-Villaluenga C, De Mejia E G. Purification, thermal stability, and antigenicity of the immunodominant soybean allergen P34 in soy cultivars, ingredients, and products [J]. Journal of Food Science, 2008, 73(6): T106-T114.
- [32] Li H, Zhu K, Zhou H, et al. 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.
- [33] 李堂昊,布冠好,赵益菲,等.超高压处理对 β -伴大豆球蛋白抗原性及结构的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版), 2020,41(02):1-7.
- [34] Xi J, He M. High hydrostatic pressure (HHP) effects on antigenicity and structural properties of soybean β -conglycinin [J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(2): 630-637.
- [35] 赵益菲,布冠好,陈复生.超高压对大豆球蛋白抗原性及结构的影响[J].食品科学,2018,39(17):92-97.
- [36] Bøgh K L, Madsen C B. Food allergens: is there a correlation between stability to digestion and allergenicity? [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(9): 1545-1567.
- [37] 王章存,贺志铮,章银良,等.不同酶解方式对豆粕大豆蛋白组分和抗原活性的影响[J].食品研究与开发,2022,43(4): 17-21.
- [38] 郑环宇,白小娟,张丽丽,等.酶水解对大豆致敏蛋白 P34 免疫活性的影响及酶解产物理化性质研究[J].东北农业大学学报,2014,45(6):6-15.
- [39] 王佩.酶解对大豆分离蛋白抗原性和功能性的影响[D].郑州:郑州轻工业大学,2018.
- [40] 李慧静.超高压静压协同酶法降低专用大豆分离蛋白致敏性的研究[D].无锡:江南大学,2013.
- [41] Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy [J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2007, 142(2): 99-115.
- [42] van de Lagemaat J, Silván J M, Moreno F J, et al. *In vitro* glycation and antigenicity of soy proteins [J]. Food Research International, 2007, 40(1): 153-160.
- [43] Xi J, He M. Location of destroyed antigenic sites of Gly m Bd 60 K after three processing technologies [J]. Food Research International, 2020, 134: 109199.
- [44] 布冠好,朱婷伟,陈复生.糖基化改性对大豆蛋白抗原性及结构特性的影响[J].中国粮油学报,2017,32(1):34-39.
- [45] Rui X, Huang J, Xing G, et al. Changes in soy protein immunoglobulin E reactivity, protein degradation, and conformation through fermentation with *Lactobacillus plantarum* strains [J]. LWT - Food Science and Technology, 2019, 99: 156-165.
- [46] Meinlschmidt P, Ueberham E, Lehmann J, et al. Immunoreactivity, sensory and physicochemical properties of fermented soy protein isolate [J]. Food Chemistry, 2016, 205: 229-238.
- [47] Yang A, Zuo L L, Cheng Y, et al. Degradation of major allergens and allergenicity reduction of soybean meal through solid-state fermentation with microorganisms [J]. Food & Function, 2018, 9(3): 1899-1909.
- [48] 马小梅,彭乔烽,魏嘉.大豆致敏蛋白脱敏方法研究进展[J].农业科技与信息,2020,19:64-68.
- [49] 曾蕊,宋波,拓云,等.大豆致敏蛋白及其清除方法的研究进展[J].大豆科学,2011,30(6):1040-1046.
- [50] 韩艳婧.7S α' -亚基缺失型低致敏大豆新材料的选育、评价与应用[D].哈尔滨:东北农业大学,2017.
- [51] 郭方亮.大豆 7S 与 11S 球蛋白亚基缺失品系的鉴定与品质评价[D].哈尔滨:东北农业大学,2019.
- [52] 曲静.大豆 β -伴大豆球蛋白基因 RNAi 表达调控机理研究[D].吉林:吉林农业大学,2016.
- [53] Tsai J J, Chang C Y, Liao E C. Comparison of allergenicity at Gly m 4 and Gly m Bd 30K of Soybean after genetic modification [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(6): 1255-1262.