文章编号: 1673-1689(2011)04-0528-07

不同加工处理方式对蛋清致敏的影响

聂 君[1,2], 杨 娜[1,2], 金征宇[1,2], 徐学明*[1,2]
(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 为开发低致敏性蛋清制品, 用不同的蛋白水解酶和非蛋白氧化酶及常规加热法处理蛋清。结合酶联免疫技术评价测定, 发现在适宜条件下用菠萝蛋白酶处理, 蛋清致敏性降低约 79.63%, 葡萄糖氧化酶(GOD)处理能使蛋清致敏性降低 25.92%, 高温加热处理(121 ℃, 10 min)可使样品致敏性降低约 20.4%。

关键词: 蛋清; 脱敏; 酶解
中图分类号: TS 253.1 文献标识码: A

Influence of Different Processings on Egg White's Antigenicity

NIE Jun[1,2], YANG Na[1,2], JIN Zeng-yu[1,2], XU Xue-ming*[1,2]
(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to have low antigentic egg white product, different enzymes like proteolytic enzymes and non-proteolytic oxidase as well as normal heating applications were utilized to treat egg white. Results of enzyme-liked-immunosorbent assay indicated that egg white treated with bromelain reduced 79.63% of its antigenicity, glucose oxidase and pasteurization (121 ℃, 10 min) caused its antigenicity reduced 25.92% and 20.4% respectively.

Key words: egg white, desensitization, enzymatic hydrolyzation

世界卫生组织(WTO)认为过敏反应是当前世界性的重大卫生学问题[1~2]。在国外, 1%~2%的成人和 5%~7%的儿童对食物过敏[2]。我国疾控中心营养与食品安全所调查表明, 在 15~24 岁年龄段健康人群中, 约有 6%的人曾患有食物过敏[3]。世界粮农组织(FAO)1995 年报告指出, 90%以上引起过敏的食物包括: 牛奶、鸡蛋、鱼、贝类海产品、花生、大豆、坚果类和小麦等 8 大类[3]。而在众多的食物过敏原中, 引起儿童及婴幼儿过敏的主要食物是鸡蛋与牛奶[4]。目前, 鸡蛋过敏尚无特效疗法, 严格避免食用含鸡蛋的产品依然是鸡蛋过敏患者的最佳选择[5]。然而由于鸡蛋在食品加工中应用广泛, 这使得鸡蛋过敏患者很难避免接触鸡蛋而遭受健康威胁[6], 因此, 开发脱敏鸡蛋制品不仅具有现实意义, 而且具有潜在的商业价值。

鸡蛋过敏主要是由蛋清蛋白引起。这些过敏

收稿日期: 2010-07-21
基金项目: 教育部优秀人才计划项目(NCET-07-0379); 国家"十一五"科技支撑计划项目(2007BAQ00075)。
* 通信作者: 徐学明(1968-), 男, 江苏苏州人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品组分与物性研究。
Email: xmxu@jiangnan.edu.cn。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

原的主要蛋清蛋白分别是卵类粘蛋白(Gal d1)、卵白蛋白(Gal d2)、卵转铁蛋白(Gal d3)和溶菌酶(Gal d4)[7]。热处理、酶解及辐射等方法是目前针对鸡蛋过敏所采用的主要脱敏手段[8]。热处理降低蛋清致敏性主要归因于蛋白质空间构象及三维结构在加热过程中的变化,但这种方法的脱敏效果一般。Heather Lemon-Mule[9]等人在前人的基础上,对鸡蛋过敏小孩开展跟踪测试发现,在 117 名耐受强热处理鸡蛋人群中,只有 23 个人耐受普通处理的鸡蛋,27 个仍对普通热处理的鸡蛋严重过敏;蛋白酶酶解脱敏主要是通过改变抗原决定簇的三维结构,或者断裂一些化学键使抗原失去原有的活性而降低其致敏性,也可通过断裂酰胺键破坏其一级结构而降低其致敏性[8]。酶解法比热处理更为有效,是报道中生产低抗原性食品最为有效的方法[10~11]。有学者报道胃蛋白酶处理卵类粘蛋白,不仅提高了该蛋白的消化率,同时也降低了它的抗原性[12]。辐照降低食物的致敏性主要是因为辐照导致蛋白质二级结构和更高级结构发生变化[8]。Ju.-Woon Lee 等人[13]用辐照处理过的蛋清为材料做成蛋糕,考察卵白蛋白的抗原性和过敏性变化,结果发现辐射处理会增加卵白蛋白的抗原性,但该蛋白的过敏性却降低了。同时,近年来,日本学者 Byun, M.W. 等人[14]研究经过辐射处理过敏食品的结构变化,他们提出在辐射过程中,过敏食品的抗原表位遭到破坏,从而使之与抗体结合受到影响,致敏性降低。

由于不同酶或物化处理造成蛋白质结构变化及程度不一样,这种蛋白变性程度的不同很可能导致蛋清脱敏效果存在差异,而且体外蛋白酶酶解和高温下(121 ℃)处理后蛋清致敏性降解情况及其中蛋白质的一些变化尚未见报道。作者拟采用常用的商业性蛋白水解酶或其它非蛋白水解类氧化酶及常规的食品热处理条件处理蛋清,以评价蛋清脱敏效果,为实际生产脱敏蛋制品提供参考。

1　材料与方法

1.1　材料与设备

蛋清粉:购于苏州欧福蛋业公司,使用前储藏于-40 ℃下;酶(碱性蛋白酶,木瓜蛋白酶,复合蛋白酶,中性蛋白酶,菠萝蛋白酶,风味蛋白酶,胃蛋白酶,葡萄糖氧化酶:南宁庞博生物工程有限公司提共;酶联免疫吸附测试(ELISA)试剂盒:购于德国 R-Biopharm AG, Darmstadt 公司;全自动酶标仪:Multiskan MK3,芬兰公司品;灭菌锅:上海华线医用核子仪器有限公司产品;电泳仪:美国伯乐公司产品;冷冻干燥机:美国照生有限公司产品。

1.2　实验方法

1.2.1　复原蛋清液的制备　蛋清粉用去离子水配成质量分数为 10% 的蛋清液,并充分匀质。以下简称蛋清。

1.2.2　蛋白酶酶解蛋清　蛋清用 7 种蛋白酶(碱性蛋白酶,木瓜蛋白酶,复合蛋白酶,中性蛋白酶,菠萝蛋白酶,风味蛋白酶,胃蛋白酶)分别酶解。酶解前,蛋清于 90 ℃热处理 5 min,以充分杀死其中的致病菌同时有利于蛋白酶充分作用,并用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调溶液的 pH 至各种酶最适宜的水解条件以活化该酶。酶解时酶与底物的比为 1∶200(质量比)。水解 2 h 后,在 95 ℃下灭酶活 10 min,对照组为没有经过酶处理的样品。各组水解液在-40 ℃冷冻后干燥[15]。各种酶最适宜的水解条件见表 1。

表 1　各种酶的最适水解条件

Tab.1　The optimum conditions for different enzymes (according to the specifications)

酶	温度/℃	最适 pH 值
碱性蛋白酶	45	8.0
木瓜蛋白酶	55	7.0
复合蛋白酶	45	8.0
中性蛋白酶	45	7.5
菠萝蛋白酶	40	6.8
风味蛋白酶	50	6.0
胃蛋白酶	40	1.5

注:各种酶酶解所用条件依厂家提供说明书而定。

1.2.3　蛋清的热处理　蛋清普通热处理为恒温水浴锅 95 ℃作用 10 min,高温热处理为高压灭菌锅 121 ℃下保留 10 min。处理样品分别冷冻干燥后待用。

1.2.4　葡萄糖氧化酶(GOD)处理蛋清　酶活为 122 U/mg 的 GOD 分别以 0, 2, 4, 8 mg GOD 水平加入 90 mL 蛋清中。用 1 mol/L HCl 调 pH 5.0, 45 ℃下反应 2 h 后冷冻干燥。

1.2.5　酶联免疫吸附测试(ELISA)　取 5 g 上述不同处理的冷冻干燥蛋清样品,磨碎混匀,称取其中 1 g,加入 20 mL 稀释后的提取缓冲液(实验前加热至接近 60 ℃),在 60 ℃下提取 10 min。将样品离心,过滤。吸取 100 μL 样品到微孔中(48 孔),经温育,加稀释的酶结合液,洗涤并加底物/染色原溶液,最后加终止液,在 450 nm 处测其吸光值。具体操作方法参考说明书。吸光值越大,样品中过敏原活性越大。过敏原降低用 Ridasoft.win 软件分析。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Ridasoft. win 软件为 ELISA 方法结果数据分析软件,将原始吸光度值传入电脑,根据标准曲线,经软件分析得到蛋清中过敏原的含量 C_1。以未经处理的蛋清中过敏原含量为对照 C_2,计算经不同加工处理后过敏原残留率: $C_2/C_1 \times 100\%$。

1.2.6 *聚丙烯酰胺凝胶电泳* 分离胶交联质量浓度为 12 g/dL,浓缩胶交联浓度为 5 g/dL。浓缩电压和分离电压分别为 80 V 和 100 V。考马斯亮蓝 R251 染色。

1.2.7 *酶处理蛋清产品功能性质的测定* 对经酶处理后致敏性较低的蛋清制品加工特性进行测定,为实际生产低过敏性蛋清制品提供参考。

1) 酶处理蛋清溶解性的测定 将不同酶解后的蛋清液在转速 1 000 r/min 下离心 10 min,上清液的蛋白含量用考马斯亮兰法测定,总蛋白含量用凯氏定氮法测定。按下式计算蛋白的溶解度[16~17]。

溶解度(%) = 上清液蛋白质量/总蛋白质量 × 100

2) 酶处理蛋清起泡性的测定 将样品在相同条件下(溶液体积 30 mL、pH = 7)置于 200 mL 烧杯中使用数显搅拌器搅打发泡(搅拌速度为 1 500 r/min)。3 min 后迅速将泡沫转移至量杯中,记录泡沫体积,按下式计算起泡性[18]:

$$FA = (V - 30)/30 \times 100\%$$

式中: V 表示搅拌停止时泡沫的总体积,mL; 30 表示原液的体积,mL。

将上述发泡性测定后的泡沫静置 30 min 后,测出下层析出液体体积,按下式计算泡沫稳定性[19~20]:

$$FS = (V - Ve)/V \times 100\%$$

式中: Ve 表示 30 min 后下层析出液体的体积(mL)。

3) 酶处理蛋清乳化特性的测定 乳化性的测定采用浊度法[21],具体操作如下:

分别配制不同条件(浓度、pH 值等)的蛋白悬浮液 3 mL,室温下搅拌,边搅拌边缓缓加入 1 mL 大豆油,要避免出现太多泡沫,使用高速匀浆机在 1 200 r/min 转速下分散 1 min,立即从溶液底部吸取 60 μL 乳浊液,加到 3 mL,质量分数 0.1% SDS 溶液中,于 500 nm 处测定吸光值,0 min 时测得的吸光值 A_0 即为乳化活性 EA。

10 min 测得的吸光度值 A_{10} 经换算得到乳化物稳定性[22],计算公式如下:

$$ES = (A_0 \times A_{10})/(A_0 - A_{10})$$

式中: A_{10} 表示将乳状液放置 10 min 后测得的吸光值; 10 表示时间,min。

2 结果与讨论

2.1 不同蛋白酶处理对蛋清脱敏效果的影响

图 1 可以看出,除复合蛋白酶外,其余蛋白酶对降低蛋清过敏性均有不同程度的效果。其中 5 号样品经菠萝蛋白酶处理后其致敏性残留最小,最终致敏性降低了 79.63%。其次是中性蛋白酶和胃蛋白酶,都降低了约 57.4%。

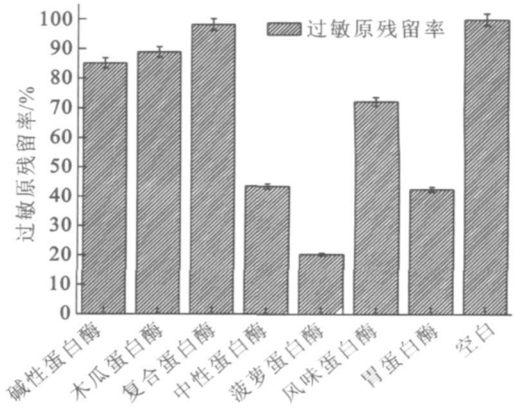


图 1 不同蛋白酶处理对蛋清脱敏效果的影响

Fig. 1 Percentage of reduction in egg white's allergenicity after treated with different enzymes

表 2 可以看出不同酶的主要作用位点不一样,同时由于酶解时酶和底物的锁钥关系,因此它们的水解断裂产生的多肽也不一样,导致最终生成的多肽相对分子质量大小及空间构象也不尽相同,从而被抗体识别的效果也有差别,即表现为不同的蛋白酶处理蛋清液,样品的抗原性各有差异。

表 2 各种蛋白酶的专一性作用位点

Tab. 2 Main reacted site of different enzymes

蛋白酶	酶种类	主要作用位点
碱性蛋白酶	丝氨酸蛋白酶	主要为疏水性氨基酸的羧基
木瓜蛋白酶	半胱氨酸蛋白酶	Lys, Arg, Phe 的羧基
复合蛋白酶	内切兼外切酶	疏水性 AA
中性蛋白酶	金属蛋白酶	Leu, Phe 的氨基和其它
菠萝蛋白酶	半胱氨酸蛋白酶	Lys, Arg, Phe, Tye 的羧基
风味蛋白酶	内切兼外切酶	疏水性 AA 及肽链末端一个 AA
胃蛋白酶	酸性蛋白酶	疏水性 AA

Wal, J 指出大多数食品过敏原的表位是线性的,所以用酶来降解食品抗原表位就可以消除蛋清抗原性[23]。然而,在实际加工应用中,酶解往往会

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

破坏蛋白质的功能特性[24]。但是, Hildebrandt, S[25] 等人报道了经不同温度下加热处理及两种酶水解后, 鸡蛋制品的风味和质构能够很好的保留, 同时鸡蛋的致敏性极大的降低。这就表明酶解法生产低致敏性蛋清制品是可行的。

2.2　不同热处理方式对蛋清致敏性残留物的影响

热处理降低抗原性在一项临床调查中得到证实: 鸡蛋过敏患者对冷冻干燥蛋清过敏, 却对煮熟的蛋清无任何过敏反应[26]。类似也有研究报道蛋清在 90 ℃下加热 10min 可导致 RAST (抗过敏原吸收试验) 结合能力 50% 的降低[27]。大多数主要的蛋清过敏原如卵类粘蛋白都有很好的耐热性[28], 这是由于它们结构中含有大量二硫键[29]。由图 2 可知, 普通加热处理在一定程度上降低蛋清制品的抗原性, 约为 24.08%。而剧烈的热处理下如高温处理可使蛋清制品抗原性降低 39.89%, 但总体结果不如上述蛋白酶处理的效果好。在加热处理过程中, 蛋清中蛋白形成了可溶性聚集, 且疏水性基团在蛋白质变性过程中显著增加, 形成的二硫键及分子间二硫键的交换导致了第一阶段的蛋白质聚集和第二阶段的蛋白质变性, 在此过程中, 蛋清的抗原表位由此被破坏或在聚合变性时被隐藏, 从而不能与 IgE 结合[30]。高温条件下的热处理与普通热处理比较, 最大的优势在于它强烈的条件下能更大程度上引起蛋白质不可逆构型改变[31], 因此在高温处理条件下, 二硫键引起抗原暴露的氨基酸位点及构象更不利于它与抗体的识别, 因而抗原性越低。

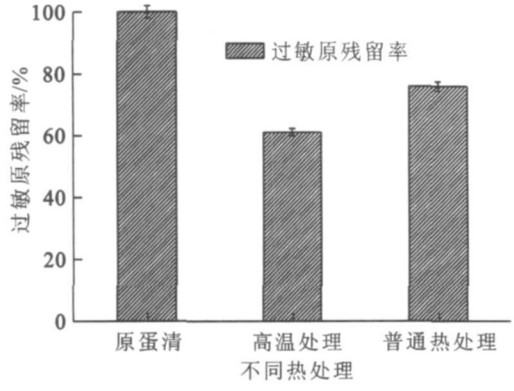


图 2　不同热处理方式对蛋清致敏性残留物的影响

Fig. 2　Percentage of reduction in egg white's allergenicity under normal heat treatment and high temperature(121 ℃, 10 min)

热处理常用来改善食品的质构和风味或者用于达到微生物指标, 而不是主要用于降低抗原性。由于加热处理在食品工艺的普遍性, 在生产低致敏性产品时, 生产商可以考虑适当增加热处理程度来保证产品的低致敏性效果。

2.3　葡萄糖氧化酶(GOD)处理蛋清后致敏性残留情况

葡萄糖氧化酶是一种广泛的食品添加剂, 它主要应用葡萄糖氧化生成葡萄糖酸的同时产生过氧化氢, 过氧化氢可以杀菌, 氧化清除自由基, 并且可以氧化面筋中的巯基, 增加面团网络结构[32]。由图 3 可以看出, 葡萄糖氧化酶在一定程度上可以降低其致敏性, 当加入 4 mg 的 GOD 于 90 mL 蛋清液中, 致敏性可降低 25.92%。但是随着 GOD 含量的增加, 蛋清致敏性不再降低。有报道认为: 鸡蛋混合面粉制成的蛋糕中鸡蛋的致敏性降低, 可能是蛋白中的巯基与面粉中麦胶蛋白和麦谷蛋白发生交换的结果[33]。葡萄糖氧化酶能促使巯基转化, 葡萄糖氧化酶能够消耗氧气催化葡萄糖氧化, 同时生成过氧化氢, 过氧化氢又能氧化面筋蛋白产品中的巯基, 形成二硫键[25]。作者添加 GOD 是为了使蛋清发生巯基氧化, 形成二硫键, 达到蛋清在面团揉捏过程中产生二硫键一样的效果。因此在一些含鸡蛋的食品中添加适量的葡萄糖氧化酶不仅能够增加食品的质构, 还能减少鸡蛋过敏的危险。

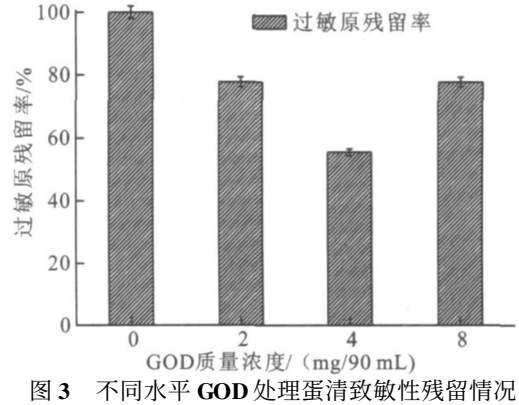


图 3　不同水平 GOD 处理蛋清致敏性残留情况

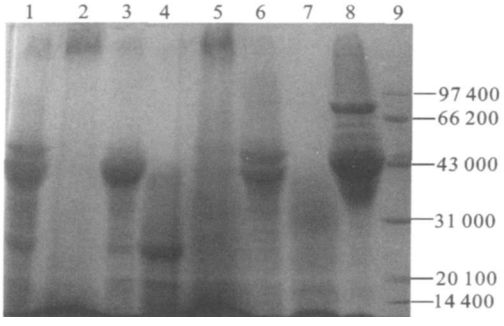
Fig. 3　Percentage of reduction in egg white's allergenicity after being treated with different content of GOD

2.4　不同处理对蛋清脱敏效果的本质初探

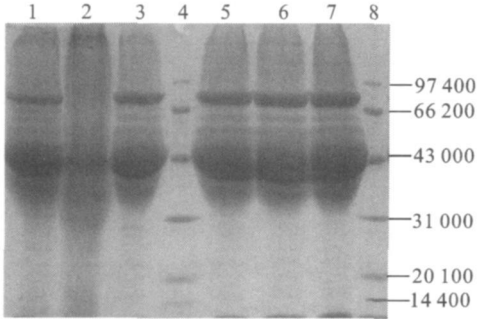
过比较图 4(a) 的 1~7 条带可以看出, 这 7 条带中在80 000附近的条带几乎都降解成了小片段。尤其 2, 3, 4, 5, 6, 7 带, 其中由木瓜蛋白酶, 胃蛋白酶作用的 2, 7 条带, 它们的条带中 20 000~40 000 的条带强度都很低, 而且木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶作用后产生聚合型大蛋白, 即图中第 2, 5 条带 97 000以上部分, 这可能是蛋白质二硫键的作用使小蛋白发生了聚合, 而它们相应的致敏性都偏低, 说明通过二硫键作用产生聚合物隐藏了一些表位, 导致抗原性降低。其它酶解条带(条带 1, 3, 4, 6), 在 30 000~40 000 附近有很强的条带, 主要是过敏

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

原卵类粘蛋白的条带, 说明这几种酶没有完全破坏卵类粘蛋白。此外, 所有酶处理条带在 14 000 以下都显示有连续的条带, 说明酶解产生了新的多肽, 且由于各酶解位点不一样, 它们产物构象不一, 导致抗体识别情况也不一样。图 4(b) 可以看出普通加热处理使蛋清蛋白成分变化不大, 而巴氏处理由于条件更剧烈, 一些蛋清蛋白发生了降解和聚合(第 2 条带中31 000~ 97 0000之间的成分较未处理样品多), 由此使过敏原发生了不同的变化, 导致与抗体识别的差异; 而 3 及 5~ 7 条带显示, 不同浓度 GOD 处理使蛋白质成分没有发生多大的变化, 但是观察相对分子质量在67 000以上的条带依次变浓, 说明蛋白质在 GOD 作用下发生了一些聚合, 直接导致最终得到产物与抗体识别能力不一样。



(a) 不同酶解产物电泳图



(b) 加热处理及 GOD 处理产物电泳图

注: 图 4(a) 中, 第 1 至 7 条带分别为碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、复合蛋白酶、中性蛋白酶、菠萝蛋白酶、风味蛋白酶、胃蛋白酶酶解产物, 第 8 条带为未经任何处理的蛋清粉, 第 9 条为标准蛋白。图 4(b) 中, 1~ 3 条带为普通加热处理、巴氏处理及未处理的蛋清样品; 第 4 条为标准蛋白; 5~ 7 为 2、4、8 mg GOD 处理的蛋清样品条带; 第 8 条为标准蛋白。

图 4 不同酶解产物和加热处理及 GOD 处理产物电泳图

Fig. 4 SDS-PAGE of different products after hydrolyzation and SDS-PAGE of products treated with different heat processings and different GOD content levels

2 5 酶处理低致敏性蛋清的加工特性

2 5 1 酶解对蛋清蛋白溶解性的影响 溶解度是蛋白的重要功能性质之一, 它与蛋白的其它功能性质如乳化性, 起泡性等存在一定的相互关系。不同酶解处理后蛋清的溶解性见图 5。

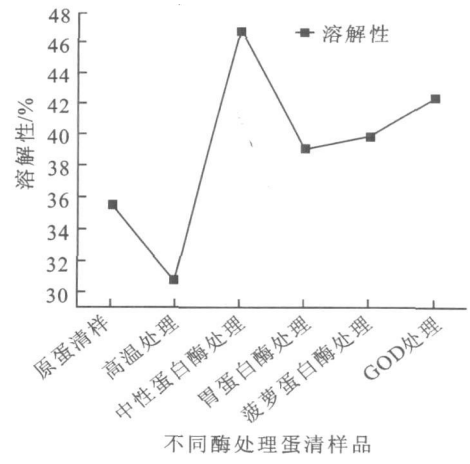


图 5 不同酶处理蛋清对蛋清溶解度的影响

Fig. 5 Influence of different enzyme treatment on egg white sdubility

从图中可以看出, 经高温处理后, 蛋清粉的溶解度大大降低, 而通过各种酶处理后, 其溶解性都增加, 以中性蛋白酶处理的样品最为明显。可能是酶解过程, 使维持蛋白质空间结构的非共价键作用力如疏水相互作用、二硫键、静电相互作用及氢键等被打破, 蛋白分子和溶剂水的相互作用增加, 因此溶解度提高。

2 5. 2 不同酶解蛋清样品的起泡性及起泡稳定性

食品泡沫通常是气泡在连续的液相或含可溶性表面活性剂的半固相中形成的分散体系。具有良好发泡性的蛋白质必须在起泡过程中快速被空气和水界面吸附。然后经由分子重排在界面形成具有粘弹性的薄膜。

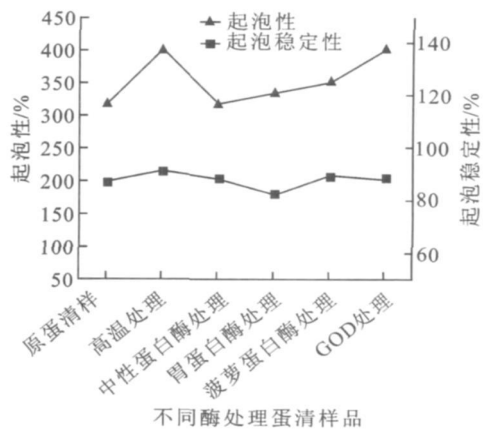


图 6 不同方式处理对蛋清起泡性及起泡稳定性的影响

Fig. 6 Influence of different treatment on egg white foaming and the stability of foaming

从图 6 可以看出, 经高温处理的蛋清样品起泡性及泡沫稳定性最好; 其次是经和 GOD 处理的蛋清样, 但是它的起泡稳定性不如经高温处理的样品

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

好, 但是比未经处理的样品要稳定些。其它酶处理的蛋清样起泡性均比未经处理的蛋清样高。

2.5.3 不同酶解蛋清样品的乳化性及乳化稳定性

由于蛋清蛋白具有两亲结构即亲水和亲油基团, 在油水混合液中, 蛋白分子有扩散到油水界面的趋势, 疏水部分朝向脂质, 亲水部分朝向水相, 降低油水界面张力和成膜, 因而具有乳化性能。

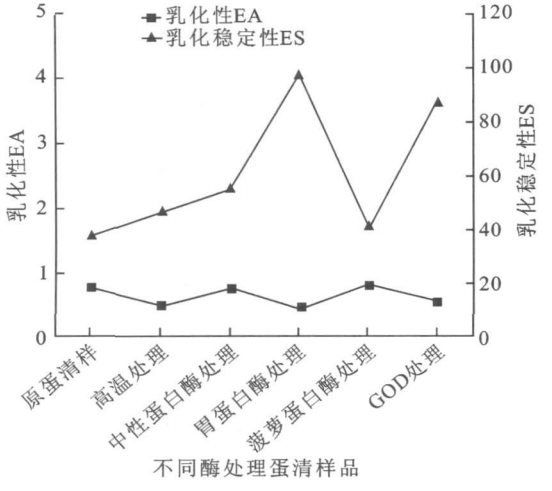


图 7　不同酶处理对蛋清乳化性及乳化稳定性的影响

Fig. 7　Influence of different enzyme treatment on egg white emulsification and emulsion stability

蛋清经不同酶处理后乳化性差异不是很大很大, 但是它们的乳化稳定性却相差很大。如图 7 示, 经菠萝蛋白酶和中性蛋白酶处理的蛋清样品乳化性很好, 但是它们的乳化稳定性不如由胃蛋白酶和 GOD 处理的蛋清样。

3　结　语

不同蛋白酶和加热条件对鸡蛋脱敏效果不一。蛋清在 40 ℃, pH 6.8 下由菠萝蛋白酶酶解 2 h 可使其致敏性降低百分率最大, 为 79.63%。中性蛋白酶和胃蛋白酶的降抗原性效果也不错; 与普通加热处理相比, 相同处理条件下常用高温灭菌温度更能降低蛋清的致敏性; 葡萄糖氧化酶在一定程度上也可以降低其致敏性。经高温处理后, 蛋清粉的溶解度大大降低, 样品的起泡性及泡沫稳定性最好。而各种酶处理后, 蛋清的溶解性都增加, 以中性蛋白酶处理的样品最为明显。经菠萝蛋白酶和中性蛋白酶处理的蛋清样品乳化性很好, 但是它们的乳化稳定性不如由胃蛋白酶和 GOD 处理的蛋清样。

参考文献(References):

[1] 陈越, 陈红兵, 杜生明. 动物性食物安全中的过敏问题[J]. 中国科学基金, 2004, (4): 211- 214.
CHEN Yue, CHEN Hong-bing, DU Sheng-ming. The problem of food allergy in animal food safety[J]. **Bulletin of National Natural Science Foundation of China,** 2004, (4): 211- 214. (in Chinese)

[2] 高波, 刘志刚. 美洲大蠊变应原 Cr P I 的表达、纯化与免疫学特性鉴定[J]. 昆虫学报, 2005, 48(1): 13- 17.
GAO Bo, LIU Zhi-Gang, XING Miao, et al. Expression, purification and characterization of the american cockroach Cr PI allergen[J]. **Acta Entomologica Sinica,** 2005, 48(1): 13- 17. (in Chinese)

[3] 吕相征, 刘秀梅, 杨晓光. 健康人群食物过敏状况的初步调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17: 119- 121.
NU Xiang-zheng, LIU Xiu-mei, YANG Xiao-guang. Preliminary survey on status of food allergy in young Chinese students[J]. **Chinese Journal of Food Hygiene,** 2005, 17: 119- 121. (in Chinese)

[4] Zwietering M. Practical considerations on food safety objectives[J]. **Food Control,** 2005, 16(9): 817- 823.

[5] 佟 平, 高金燕, 陈红兵. 鸡蛋清中主要过敏原的研究进展[J]. 食品科学, 2007, 28(08): 565- 568.
TONG Ping, GAO Jin-yan, CHEN Hong-bing. Research progerss of major egg white alergens[J]. **Food Scieice,** 2007, 28(08): 565- 568. (in Chinese)

[6] MINEY. Advances in the understanding of egg white protein functionalities[J]. **Trends Food Sci Technol,** 1995(6): 225- 232.

[7] ANETJ, BACKJF, BAKERRS, et al. Allergens in the white and yolk of hen's egg: A study of IgE binding by egg proteins[J]. **Int Arch Allergy Appl Immunol,** 1985, 77: 364- 371.

[8] 漆定坤, 曹劲松, 唐传核. 食品脱敏技术研究的新进展[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(7): 79- 82.
QI Ding-kun, CAO Jin-song, TANG Chuan-he. Recent advances in food desensitization technology[J]. **Food and Fermen-**

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

tation Industries, 2006, 32(7): 79- 82. (in Chinese)

[9] Heather Lemon-Mule, Hugh A. Sampson, Scott H. Sicherer, Wayne G. Shreffler, Sally Noone, and Anna Nowak-Wegrzyn. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg[J]. **American Academy of Allergy, Asthma & Immunology,** 2008, 27(9): 977- 983.

[10] Coombs R R A, McLaughlan P. Allergenicity of food proteins and its possible modification[J]. **Ann Allergy,** 1984, 53: 592 - 596.

[11] Lee Y H. Food-processing approaches to altering allergenic potential of milk-based formula [J]. **Pediatr,** 1992, 121: 47- 50.

[12] Jennifer Kovacs-Nolan, Jie Wei Zhang, Shigeru Hayakawa, and Yoshinori Mine. Immunochemical and Structural Analysis of Pepsin-Digested Egg White Ovomucoid[J]. **J. Agric. Food Chem,** 2000, 48: 6261- 6266.

[13] Ju.-Woon Lee. Changes of the antigenic and allergenic properties of a hen's egg albumin in a cake with gamma-irradiated egg white[J]. **Radiation Physics and Chemistry,** 2005, 72: 645- 650.

[14] Byun M W. Effects of gamma irradiation on the conformational and antigenic properties of a heatstable major allergen in brown shrimp [J]. **Food Prot,** 2000, 63: 940- 944.

[15] Elena Penas, Guadalupe Prestamo, Florentino Polo , Rosario Gomez. Enzymatic proteolysis, under high pressure of soybean whey: Analysis of peptides and the allergen Gly m 1 in the hydrolysates [J]. **Food Chemistry,** 2006, 99: 569- 573.

[16] 郑铁松, 龚院生. 粮油食品生化实验[M]. 郑州: 河南医科大学出版社, 1996.

[17] Lowry O H, Rosebrough N J, Lewis, AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. **Food Chem,** 1999, 67: 53- 59.

[18] **Sathe S K. Functional properties of lupin seed(Lupinus mutabilis) proteins and protein concentrates[J]. Food Sci.,** 1982(47): 491- 497.

[19] 石彦国, 任莉. 大豆制品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.

[20] Petruccelli S, Anon M C. Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates[J]. **Agric. Food Chem,** 1994, 42(10): 2170- 2176.

[21] Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbimetric techniques[J]. **Agricultural and Food Chemistry,** 1978(26): 716- 723.

[22] Tang S, Hrttiarachchy N S, Horax R, etc. Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat- stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes[J]. **Food Science,** 2003, 68(1): 152- 157.

[23] Wal J M. Thermal processing and allergenicity of foods[J]. **Allergy,** 2003, 58: 727- 729.

[24] 刘晓毅. 大豆食源性致敏蛋白的识别去除及脱敏后加工特性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.

[25] Hildebrandt S, Kratzin H D, Schaller R. In vitro determination of the allergenic potential of technologically altered hen's egg. [J]. **Agric. Food Chem,** 2008, 56: 1727- 1733.

[27] Urisu A, Ando H, Morita Y. Allergenic activity of heated and ovomucoid- depleted egg white [J]. **J Allergy Clin Immunol,** 1997, 100: 171- 176.

[28] Gremmel S. In Managing Allergens in Food[M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007.

[29] Djurtoft R, Redersen H S, Aabin B. Studies of food allergens: soybean and egg proteins [J]. **AdV Exp Med Biol,** 1991, 289: 281- 293.

[30] Yoshinori Mine, Tatsushi Noutomi, and Noriyuki Haga. Thermally Induced Changes in Egg White Proteins [J]. **J. Agric. Food Chem,** 1990, 38: 2122- 2125.

[31] Bernhard Tauscher. Pasteurization of food by hydrostatic high pressure: chemical aspects [J]. **Z Lebensm Unters Forsch,** 1995; 200: 3- 13.

[32] Sandip B. Bankar, Mahesh V. Bule, Rekha S. Singhal, Laxmi Ananthanarayan. Glucose oxidase - An overview[J]. **Biotechnology Advances,** 2009, 27: 489- 501.

[33] Yasuko Kato, Eri Oozawa, Tsukasa Matsuda. Decrease in antigenic and allergenic potentials of ovomucoid by heating in the presence of wheat flour: dependence on wheat variety and intermolecular disulfide bridges[J]. **J Agric Food Chem,** 2001, 49: 3661- 3665.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net