

干燥方法对茯苓产品显微性状、营养成分及抗氧化活性的影响

The effect of drying methods on the microscopic properties, ingredients and antioxidant activity of *Poria cocos* products

肖扬波^{1,2,3} 刘琪^{1,2} 彭逸斯^{2,4} 熊诗俊^{1,2} 彭国平^{1,2,3}

XIAO Yang-bo^{1,2,3} LIU Qi^{1,2} PENG Yi-si^{2,4} XIONG Shi-jun^{1,2} PENG Guo-ping^{1,2,3}

(1. 湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 道地药用植物规范化栽培综合利用

湖南省工程实验室, 湖南 长沙 410128; 3. 靖州康源苓业科技股份有限公司, 湖南 怀化 418400;

4. 湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128)

(1. College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Hunan Engineering Laboratory for Good Agricultural Practice and Comprehensive Utilization of Famous-Region Medicinal Plants, Changsha, Hunan 410128, China; 3. Jingzhou Kangyuan Lingye Technology Co., Ltd., Huaihua, Hunan 418400, China; 4. College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:选取真空冷冻干燥(FD)、40℃恒温干燥(CD-40)、60℃恒温干燥(CD-60)、100℃恒温干燥(CD-100)、120℃恒温干燥(CD-120)、日晒(SD)、空气能仿生变温干燥(AD)7种方法对茯苓进行干燥,比较干燥后茯苓产品的茯苓菌丝体的显微性状、水溶性多糖含量、水溶性蛋白含量、醇溶性蛋白含量和水提液的抗氧化活性。结果表明:与FD相比,SD、AD的茯苓菌丝体呈疏松排列,CD的茯苓菌丝体呈糊状黏结状态;AD的茯苓产品的抗氧化活性最高;与FD相比,AD的水溶性多糖含量变化不显著、水溶性蛋白极显著增加($P<0.01$)、醇溶性蛋白显著减少($P<0.05$)。综合分析,AD为最佳的茯苓干燥方法,可解决茯苓无硫加工工业化的需求。

关键词:茯苓;显微性状;多糖;蛋白;抗氧化

Abstract: In this research, vacuum freeze-drying, constant temperature of 40℃, constant temperature of 60℃, constant temperature of 100℃, constant temperature of 120℃, sun drying and variable temperature drying with air energy were used to dry *Poria cocos*, and the effects of different drying methods were studied on mycelium microscopic characteristics, water-soluble

polysaccharide content, water-soluble protein content, alcohol-soluble protein content and antioxidant activity of *Poria cocos*. Results: The *Poria cocos* mycelium of variable temperature drying with air energy and sun drying were loosely arranged, and the *Poria cocos* mycelium of constant temperature drying was in a bond state. The antioxidant activity was the highest in variable temperature drying with air energy. No significant change in water-soluble polysaccharide content, highly significantly higher in water-soluble protein content ($P<0.01$) and significantly decreased ($P<0.05$) in alcohol-soluble protein, which was found in variable temperature drying with air energy. Comprehensive analysis, variable temperature drying with air energy was the best *Poria cocos* drying method, which can solve the demand of non-sulfur processing industrialization of *Poria cocos*.

Keywords: *Poria cocos*; microscopic characteristics; polysaccharide; protein; antioxidant

茯苓是多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,性平,味甘、淡,归心、肺、脾、肾经,有利水渗湿、健脾、宁心之功效,主治水腫尿少、痰飲眩悸、心神不安等病狀^[1],是一种历史悠久的“药食同源”中药材,有“药膳白银”“十方九苓”之美誉。近年来大量研究表明,茯苓有效成分具有抗氧化^[2]、抑制肿瘤生长^[3-4]、抗炎^[5]、降血脂血糖^[6]、增强免疫力^[7]及保肝^[8]等功能;2020年抗击“新冠”疫情中,茯苓是《新型冠状病毒肺炎诊

基金项目:“十三五”国家重点研发计划子课题(编号:2018YFD060010204)

作者简介:肖扬波,男,湖南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:彭国平(1967—),男,湖南农业大学副教授,硕士生导师,博士。E-mail:pgphh@163.com

收稿日期:2020-11-21

疗方案》中的重要成员,发挥着显著作用。

目前,茯苓产地加工主要采用高温恒温烘干、低温恒温烘干、阴干、日晒等。高温恒温烘干法加工的茯苓产品开裂严重,品质较差;低温恒温、阴干、日晒加工的茯苓产品极易霉变,需熏硫磺处理,存在食用安全隐患。为了提高茯苓产品品质,试验拟模拟自然条件下的干燥原理,比较新的加工技术与传统加工工艺生产的茯苓产品的显微特性、抗氧化活性、部分成分含量,旨在寻求优质茯苓产品的干燥加工新技术,为生产出安全、有效、食用便利的茯苓产品提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料

鲜茯苓、日晒茯苓丁、空气能仿生变温干燥茯苓丁:靖州康源苓业科技股份有限公司。

1.1.2 主要试剂

考马斯亮蓝、蒽酮:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

无水乙醇:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

葡萄糖:分析纯,天津市恒兴化学试剂制造有限公司;

DPPH:分析纯,东京化成工业株式会社;

总抗氧化能力检测试剂盒:碧云天生物技术有限公司。

1.1.3 主要仪器

扫描电子显微镜:JSM-6380LV 型,日本电子株式会社;

高速多功能粉碎机:CS-700 型,武义海纳电器有限公司;

紫外可见分光光度计:U2000 型,上海佑科仪器仪表有限公司;

冷冻干燥机:MODULYOD-23 型,美国电热公司;

电热恒温水浴锅:XMTD-4000 型,北京市永光明医疗仪器有限公司;

电热鼓风干燥箱:DHG-9140A 型,中仪国科科技有限公司;

电子天平:FA-2104N 型,上海菁海仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 茯苓的干燥加工 将鲜茯苓削皮切成约 1 cm^3 方丁,分别按以下方法进行干燥。

(1) 真空冷冻干燥法(FD):将鲜茯苓丁于一 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱预冻 2 h,置冷冻干燥机中冻干至恒重^[8](约 72 h),得到干茯苓样品。

(2) 恒温干燥法(CD):将鲜茯苓丁在电热鼓风干燥箱中分别于 40,60,100,120 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温烘干,得到干茯苓

样品。

(3) 日晒法(SD):晴天将鲜茯苓丁于竹筛中均匀铺成一层,上午 7:00 转移至室外太阳下晾晒,下午 8:00 整筛收回室内,日晒 3~4 d 得到干茯苓样品。

(4) 空气能仿生变温干燥法(AD):将鲜茯苓丁在模拟自然条件下的干燥烘箱内烘干,干燥条件为上午 8:00—下午 8:00 温度为 45 $^{\circ}\text{C}$ 、下午 8:00—上午 8:00 温度为 30 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度维持在 60%,箱内使用 UV 灯管持续照射,约 24 h 得到干茯苓样品。

将干茯苓样品分别粉碎,每个粉末样品分别过 60 目、200 目筛,备用。

1.2.2 茯苓菌丝体电镜显微性状观察 取少量 200 目茯苓粉末,分别置 2 000,5 000 倍扫描电镜下观察茯苓菌丝体显微性状^[9]。

1.2.3 抗氧化能力检测 参照张晓婷等^[10]的方法测定茯苓水提液的 DPPH·清除能力。按式(1)计算 DPPH·清除率。

$$c = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——DPPH·清除率,%;

A_0 ——2.0 mL 蒸馏水 + 2.0 mL DPPH 溶液的吸光度;

A_1 ——2.0 mL 样品溶液 + 2.0 mL DPPH 溶液的吸光度;

A_2 ——2.0 mL 样品溶液 + 2.0 mL 无水乙醇的吸光度。

1.2.4 水溶性多糖提取 精密称取 5.00 g 茯苓粉末于三角瓶中,加入 50 mL 蒸馏水,转移至 100 $^{\circ}\text{C}$ 电热恒温水浴锅中提取 1 h,过滤,收集滤液,重复提取一次,合并滤液,并加水补足至 100 mL,即得水溶性多糖提取液。

1.2.5 蛋白质提取 参考文献^[11]。

1.2.6 多糖、蛋白含量检测

(1) 多糖含量:采用硫酸—蒽酮法^[12]。按式(2)计算干基多糖含量。

$$\omega = \frac{\omega_1}{1 - \omega_0}, \quad (2)$$

式中:

ω ——茯苓产品干基多糖含量,mg/g;

ω_1 ——茯苓产品的湿基多糖含量,mg/g;

ω_0 ——湿基含水量,%。

(2) 蛋白质含量:采用考马斯亮蓝法^[13]。按式(3)计算干基蛋白质含量。

$$W = \frac{W_1}{1 - W_0}, \quad (3)$$

式中:

W——茯苓产品干基蛋白质含量,mg/g;
 W_1 ——茯苓产品湿基蛋白质含量,mg/g;
 W_0 ——湿基含水量,%。

1.2.7 含水量测定 参照 GB 5009.3—2016。

1.2.8 数据处理与分析 采用 Excel 2019 软件进行数据整理;采用 SPSS 22.0 统计分析软件的方差分析法对试验数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 含水量

由表 1 可知,与 CD 相比,AD 水分散失速率较慢;与 FD 和 SD 相比,AD 水分散失速率快,AD 的茯苓产品的含水量符合 2020 版《中国药典》标准,因此 AD 技术在生产效率上可行,适用茯苓产地加工。

2.2 显微性状

FD 能够保护物料的生物结构^[14]。由图 1 可知,FD 的茯苓产品的茯苓菌丝体呈一种较疏松、随意的排列状态,菌丝体之间存在一定的空隙;与 FD 相比,CD 的茯苓菌丝体呈糊状黏结状态,菌丝体之间间隙小,菌丝体形状不规则、不饱满、表面粗糙、表层有明显脱落现象;SD、AD 的茯苓产品与 FD 的茯苓产品的显微性状基本相似,菌丝

体排列疏松,间隙较明显,菌丝体形状规则、饱满、表面光滑、表层脱落现象少。

茯苓为菌核聚集体,没有植物中的导管、筛管结构及纤维素,因此水分只能通过渗透的方式散失。CD 过程中,水分散失过程属于强制性脱水,茯苓菌丝体黏结成不规则块状,菌丝体之间分界不明显,由于黏结导致表层出现较严重的脱落现象;而茯苓在 SD 和 AD 的过程中经历了多个“水分减少—水分平衡”扩散过程,水分在一个相对恒定的、均匀的状态下散失,使菌丝体之间呈原本的疏松排列状态,存在一定的空隙,菌丝体表层脱落现象少。因此 SD、AD 的茯苓产品的显微性状优于 CD 的,多糖、三萜类和氨基酸等营养成分易于煮出或泡出。

2.3 抗氧化活性

由表 2 可知,与 FD 相比,CD、SD、AD 的茯苓产品的水提液的 DPPH·清除率均极显著增加($P<0.01$),其中 AD 的茯苓产品的水提液的 DPPH·清除率增加最显著($P<0.01$)。新鲜中药材、食品在干燥过程中,水分含量不断减少,处于一个干旱胁迫状态,此状态下细胞会通过合成抗氧化物质来调节渗透压,防止细胞失水,调节膜稳定性,因此 CD、SD、AD 的茯苓产品水提液的抗氧化活性显著提高^[15-16]。AD 的茯苓菌丝体排列疏松,菌丝体之间存有一定空隙,煎煮时水分易渗入,有利于有效成分溶出,因此 AD 的茯苓产品水提液的抗氧化活性最高。

2.4 营养成分含量

2.4.1 葡萄糖标准曲线与蛋白质标准曲线 葡萄糖标准曲线为 $Y=0.004\ 1X-0.002\ 6$, $R^2=0.994\ 1$,蛋白质标准曲线为 $Y=0.005\ 5X-0.008\ 8$, $R^2=0.990\ 6$,表明两者线性关系良好。

2.4.2 水溶性多糖含量 由表 3 可知,与 FD 相比,CD-40 的茯苓产品的水溶性多糖含量显著减少($P<0.05$),

表 1 不同加工方法茯苓的含水量

Table 1 Water content of *Poria cocos* with different processing methods

加工方法	湿基含水量/%	加工方法	湿基含水量/%
FD	1.19	CD-120	12.33
CD-40	11.59	SD	22.52
CD-60	11.87	AD	14.95
CD-100	12.64		

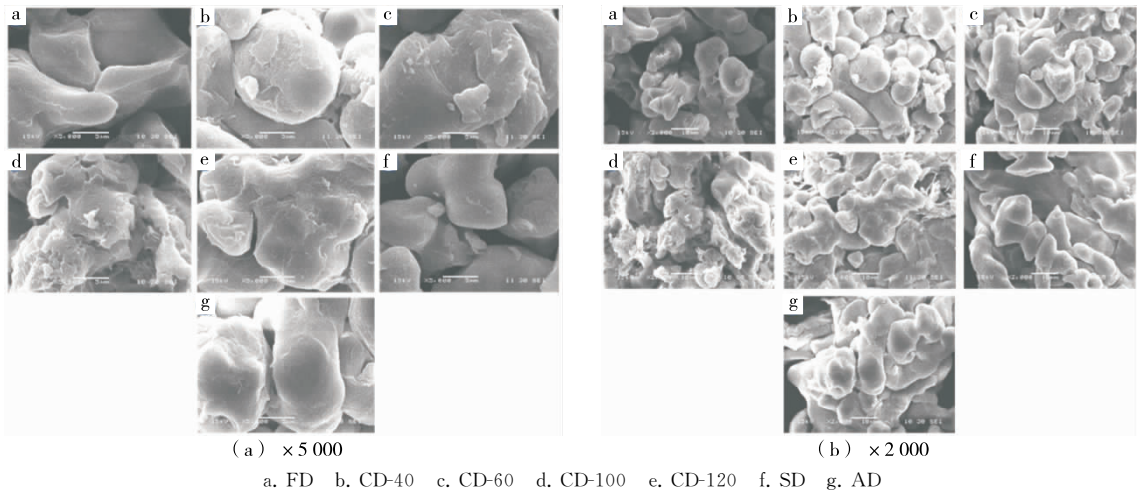


图 1 茯苓的电镜显微性状

Figure 1 Electron microscopic properties of *Poria cocos* with different processing methods

表 2 茯苓水提液的 DPPH · 清除能力[†]

Table 2 The water extract DPPH · removal ability of *Poria cocos* %

加工方法	DPPH · 清除率	加工方法	DPPH · 清除率
FD	28.90±1.10	CD-120	61.80±3.30 **
CD-40	41.50±2.00 **	SD	64.50±1.00 **
CD-60	60.90±1.50 **	AD	80.20±1.00 **
CD-100	51.50±2.90 **		

† ** 表示与 FD 组有极显著差异(P<0.01)。

表 3 茯苓的水溶性多糖含量[†]

Table 3 The water-soluble polysaccharides content of *Poria cocos* mg/g

加工方法	干基水溶性多糖含量	加工方法	干基水溶性多糖含量
FD	16.09±1.21	CD-120	25.55±1.14 **
CD-40	13.01±0.79 *	SD	24.91±1.55 **
CD-60	7.60±0.68 **	AD	15.05±2.47
CD-100	21.86±2.29 **		

† * 表示与 FD 组有显著差异(P<0.05), ** 表示与 FD 组有极显著差异(P<0.01)。

CD-60 的茯苓产品的水溶性多糖含量极显著减少(P<0.01),CD-100、CD-120、SD 的茯苓产品的水溶性多糖含量极显著增加(P<0.01),AD 的茯苓产品的水溶性多糖含量变化不显著。

FD 过程为一 30 ℃ 的超低温工作环境,茯苓菌丝体的生理生化反应均已停止,茯苓干燥后的成分含量与鲜茯苓基本一致。美拉德反应是氨基化合物和羰基化合物之间经缩合、聚合反应,广泛存在于食品工业、中药材炮制等过程中^[17],反应程度与加工时间呈正相关^[18]。

茯苓多糖成分约占菌核干重的 70%~90%^[19],主要由茯苓聚糖构成,仅有少部分小分子多糖溶于水。CD-40、CD-60 过程处于一个湿度极低的环境,不利于多糖分解为小分子多糖,为维持生命活动会消耗小分子多糖,因此 CD-40、CD-60 的茯苓产品水溶性多糖含量降低。干旱胁迫强度 CD-60>CD-40,从而水溶性多糖含量 CD-40>CD-60。CD-100、CD-120 的茯苓产品的水溶性多糖含量增加可能与干燥过程中温度迅速升高促进多糖分解为小分子多糖有关。SD 过程处于一个湿度较高、水分含量动态平衡的环境、有利于多糖分解为小分子多糖,小分子多糖累积,抵抗干旱胁迫,从而 SD 的茯苓产品的水溶性多糖含量增加。

2.4.3 水溶性蛋白、醇溶性蛋白含量 由表 4 可知,与 FD 相比,SD 的茯苓产品的总蛋白含量显著增加(P<0.05),AD 的茯苓产品的总蛋白含量极显著增加(P<0.01)。与 FD 相比,CD-100 的茯苓产品的水溶性蛋白含

表 4 茯苓的水溶性蛋白、醇溶性蛋白含量[†]

Table 4 The water-soluble protein and alcohol-soluble protein content of *Poria cocos* mg/g

加工方法	干基水溶性蛋白含量	干基醇溶性蛋白含量	总蛋白含量
FD	0.589±0.028	2.769±0.166	3.358±0.194
CD-40	0.966±0.007 **	2.077±0.130 **	3.043±0.137
CD-60	0.734±0.054	2.361±0.074 **	3.101±0.128
CD-100	0.391±0.006 *	2.676±0.252	3.067±0.258
CD-120	0.918±0.046 **	2.568±0.068	3.498±0.114
SD	2.433±0.141 **	1.461±0.182 **	3.894±0.323 *
AD	2.602±0.219 **	2.428±0.143 *	5.082±0.362 **

† * 表示与 FD 组有显著差异(P<0.05), ** 表示与 FD 组有极显著差异(P<0.01)。总蛋白含量=干基水溶性蛋白含量+干基醇溶性蛋白含量。

量显著减少(P<0.05)、CD-40、CD-120、SD、AD 的茯苓产品的水溶性蛋白含量极显著增加(P<0.01),CD-100 的茯苓产品的水溶性蛋白含量极显著减少(P<0.01),CD-60 的茯苓产品的水溶性蛋白含量变化不显著。与 FD 相比,AD 的茯苓产品的醇溶性蛋白含量显著减少(P<0.05),CD-40、CD-60、SD 的茯苓产品的醇溶性蛋白含量均极显著减少(P<0.01),CD-100、CD-120 的茯苓产品的醇溶性蛋白含量变化不显著。

美拉德反应会使蛋白质含量降低^[17]。新鲜中药材在干旱胁迫下,会抑制细胞内蛋白质合成与降解,但会合成一些水溶性蛋白来调节细胞渗透压以抵抗干旱胁迫^[16,20-21]。干旱胁迫下,细胞内脯氨酸的大量累积^[22],脯氨酸与蛋白质相互作用可增加蛋白质的水溶性。保持细胞质与环境的渗透平衡,以防止水分散失。CD、SD 和 AD 的茯苓产品中,水溶性蛋白含量相对较高则醇溶性蛋白质含量相对较低,水溶性蛋白含量相对较低则醇溶性蛋白质含量相对较高。中轻度的干旱胁迫会使细胞获得相应的补偿效应,过度的干旱胁迫则会造成细胞不可逆的伤害^[23]。SD、AD 的干燥环境柔和,因此 SD、AD 的茯苓产品的总蛋白含量、水溶性蛋白含量增加。CD-40、CD-60 过程中,水分散失速率较慢,干旱胁迫强度相对较弱,因此 CD-40、CD-60 的茯苓产品的水溶性蛋白含量增加;干旱胁迫强度 CD-40<CD-60,从而水溶性蛋白含量 CD-40>CD-60。CD-100、CD-120 过程中,温度迅速升高,细胞生命活动短时间内停止,因此干旱胁迫仅存在物料升温期间,CD-100 过程中物料升温速度相对较慢,逆境抵抗应激相对较慢,CD-120 过程中物料升温速度相对较快,逆境抵抗应激迅速,因此水溶性蛋白含量 CD-120>CD-100。CD-100 的茯苓产品的水溶性蛋白含量降低可能与美拉德反应消耗有关。

3 结论

通过对不同干燥方法加工的茯苓产品进行显微性状、有效成分含量、抗氧化活性 3 个方面进行比较,结果显示,真空冷冻干燥、日晒、空气能仿生变温干燥的茯苓产品的显微性状优于恒温干燥;空气能仿生变温干燥的茯苓产品的水提液的抗氧化活性最高;空气能仿生变温干燥的茯苓产品的水溶性多糖、醇溶性蛋白含量降低,水溶性蛋白含量极显著提高;空气能仿生变温干燥方法还解决了高温干燥方法导致茯苓产品开裂的问题,比日晒、阴干时间缩短,比真空冷冻干燥能耗低,并避免了茯苓加工过程中需熏硫磺的问题。综上,空气能仿生变温干燥为最佳的茯苓干燥方法。但干燥方法对茯苓成分影响的具体机制尚不明确,还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 251.
- [2] 郭毓菲, 张诗泉, 王汉迪, 等. 超声波法提取水溶性茯苓多糖工艺优化及其抗氧化活性探究[J]. 中国酿造, 2018, 37(12): 160-164.
- [3] 崔鹤蓉, 王睿林, 郭文博, 等. 茯苓的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5): 694-700.
- [4] JIANG Yu, FAN Liu-ping. Evaluation of anticancer activities of *Poria cocos* ethanol extract in breast cancer: In vivo and in vitro, identification and mechanism[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2020, 257: 112851.
- [5] 张叶苗, 杨岳峰, 杨野全, 等. 茯苓复合提取物对 2 型糖尿病大鼠血糖和血脂水平的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2020, 46(5): 937-941.
- [6] 李洪波, 杨瑞雪, 陈静, 等. 茯苓免疫调节蛋白-1 抗体的制备及分析[J]. 中草药, 2014, 45(20): 2 912-2 916.
- [7] 张年, 李兆星, 李娟, 等. 茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(2): 220-233.
- [8] 王丽丽. 真空冷冻干燥食品加工工艺的研究[J]. 现代食品, 2020(13): 47-49.

- [9] 龚志华. 茯苓辐照降解及其产物生物活性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010: 14-16.
- [10] 张晓婷, 王满生, 邱浩楠, 等. 青叶苧麻叶多酚超声辅助提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(12): 152-158.
- [11] 杨岚, 尹火青, 唐娟, 等. 三个茯苓品种氨基酸与蛋白质的含量比较[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(6): 44-46.
- [12] 黄骥樟, 林晓蓉, 陈忠正, 等. 烘焙工艺对饮料加工用绿茶品质的影响[J]. 食品与机械, 2020, 36(11): 165-171.
- [13] 刘艳红, 熊张平, 季春艳, 等. 干燥方式对太和香椿芽品质的影响[J]. 食品与机械, 2020, 36(9): 201-206.
- [14] 陈婷婷. 真空冷冻干燥技术在生物制药方面的运用分析[J]. 科技创新与应用, 2020(35): 154-155.
- [15] LOZANO-MONTAÑA P A, SARMIENTO F, MEJÍA-SEQUERA L M, et al. Physiological, biochemical and transcriptional responses of *Passiflora edulis* Sims F. edulis under progressive drought stress [J]. Scientia Horticulturae, 2021, 275: 2 275-2 280.
- [16] LIPIEC J, DOUSSAN C, NOSALEWICZ A, et al. Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: A review[J]. Int Agrophys, 2013, 27: 463-477.
- [17] 宫瑞泽. 美拉德反应对中药品质的影响及调控研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(1): 243-251.
- [18] 胡云峰, 王晓彬, 陈君然, 等. 基于美拉德反应制备的熟制黑枸杞加工工艺及活性成分变化规律[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(7): 155-160.
- [19] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2 703-2 717.
- [20] 刘欢, 邹吉祥, 金华. 干旱胁迫对文冠果脯氨酸和可溶性蛋白质含量的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2019(2): 17-18.
- [21] 王纪辉, 侯娜, 梁美. 水分胁迫下竹叶花椒的生理响应[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(3): 676-681.
- [22] FURLAN A L, BIANUCCI E, GIORDANO W, et al. Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 151: 566-578.
- [23] 赵益梅. 调亏灌溉对‘赤霞珠’葡萄和葡萄酒中花色苷与缩合单宁特性的影响[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2019: 5-9.

(上接第 156 页)

- [26] KANNA Motoyama, YOTA Suma, SHOICHIRO Ishizaki, et al. Molecular cloning of tropomyosins identified as allergens in six species of crustaceans[J]. J Agric Food Chem, 2012, 55(3): 985-991.
- [27] CHEN Ling-yun, SUE L Hefle, STEVE L Taylor, et al. Detecting fish parvalbumin with commercial mouse monoclonal anti-frog parvalbumin IgG[J]. Journal of Agricultural

and Food Chemistry, 2006, 54(15): 5 577-5 582.

- [28] 洪晶, 陈涛涛, 唐梦茹, 等. 响应面法优化韭菜籽蛋白质提取工艺[J]. 中国食品学报, 2013, 13(12): 89-96.
- [29] 孙妙. 鱼过敏原的肠道可控释放及诱发免疫耐受的机制[D]. 北京: 中国海洋大学, 2013: 16-18.
- [30] 李铮. 草鱼主要过敏原小清蛋白亚型纯化鉴定及加工对过敏原影响的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014: 17-18.