

小麦蛋白过敏原的研究进展

路雪蕊¹, 张 卉², 欧阳伶俐¹, 刘蓉蓉¹, 李慧静^{1*}

(1. 河北农业大学食品科技学院, 保定 071001; 2. 北京海光仪器有限公司, 北京 100015)

摘 要: 小麦过敏是人们日益关注的食品安全的关键问题之一, 如何降低小麦的致敏性, 已成为食品安全领域迫切需要解决的科学问题。本文介绍了小麦致敏原的种类和表位以及小麦脱敏方面的研究进展, 小麦致敏原的主要检测技术包括酶联免疫吸附技术、免疫印迹技术、蛋白组学技术。本文对提高小麦制品的品质安全具有重要意义, 为开发低致敏性小麦制品提供了参考。

关键词: 小麦致敏蛋白; 检测技术; 脱敏方法

Research progress of wheat protein allergens

LU Xue-Rui¹, ZHANG Hui², OUYANG Ling-Li¹, LIU Rong-Rong¹, LI Hui-Jing^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China;
2. Beijing Haiguang Instrument Co., Ltd., Beijing 100015, China)

ABSTRACT: Wheat allergy is one of key issues of food safety concerns. How to reduce the allergenicity has become the scientific issue of food security which needs to be solved urgently. This paper described the research development of kinds and epitopes of wheat allergenic proteins as well as desensitization aspects. Wheat allergens detection technology included enzyme linked immunosorbent assay, immunoblotting and proteomics. It is of great significance to improve the quality of wheat product safety, and develop the new approaches for wheat products with low allergenicity.

KEY WORDS: wheat allergenic proteins; detection technology; desensitization method

1 引 言

食物过敏反应(food allergy)是指人体对食物中致敏原物质产生的 IgE 介导或非 IgE 介导的免疫反应, 而导致消化系统内或全身性的变态反应^[1]。由于在全球范围内食物过敏的发病率持续上升, 食物过敏已成为 21 世纪人们日益关注的食品安全的问题之一^[1]。

食物过敏具有地区分布、人群分布、时间分布以及种类分布等流行病学特征^[1]。欧盟 2005 年启动了 EuroPrevall 项目, 该项目由来自中国、印度、加纳和 19 个欧洲国家的 56 家实验室和研究机构合作, 旨在为食物致敏原的风险评

估和管理提供研究基础和参考数据^[2]。在该项目中, Wong 等^[3]选取北京城市和农村地区的 16866 名小学生开展了问卷和皮肤点刺实验, 其中城市地区小学生 IgE 介导的食物过敏的发病率估计是 4%, 而农村地区估计为 2%, 其中食物过敏包括小麦过敏。我国历史上首次进行的、国家级全国普通人群过敏疾病流行病学调查于 2009 年 10 月 18 日在北京正式宣布启动^[1]。根据我国食物过敏的特征, 2009 年卫生部出台了推荐性国家标准《预包装食品中的致敏原成分》GB/T 23779-2009, 该标准提出的推荐性标识致敏原中含麸质谷类及其制品位列第一^[4]。

小麦及其相关产品广泛地应用于我们日常饮食中,

基金项目: 河北省科技支撑计划项目(10221018)

Fund: Supported by Hebei Science and Technology Support Program (10221018)

*通讯作者: 李慧静, 博士, 副教授, 主要研究方向为粮油深加工与资源开发, E-mail: huijingli2002@163.com

*Corresponding author: LI Hui-Jing, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, No. 2596, Lekai South Street, Nanshi District, Baoding 071001, China. E-mail: huijingli2002@163.com

既是人们主要的食物来源,也是重要的食物蛋白来源之一。1995年联合国粮农组织指出90%的食物过敏反应是因8类食物引起,小麦位列第5^[1]。Emmett等^[2]与Venter等^[5]世界上有0.2%~0.9%的成人和0.4%~1.3%的儿童患有小麦过敏。Kim等^[6]在我国安徽安庆农村地区采用自述和皮肤点刺诊断方法,对11岁至71岁的1059对同性双胞胎的食物过敏情况进行了调查,结果估计食物过敏和哮喘的总发病率低于1%,小麦在常见的致敏食物中位列第8位。小麦过敏会影响内脏、呼吸道与皮肤的健康,引起运动激发过敏症、乳糜泻肠炎、职业哮喘、鼻炎、接触性荨麻疹、麻风皮肤病。小麦过敏多见于迟发性过敏反应,有较高的患病率和漏诊率,且并发症比较多,严重影响过敏患者的生活^[1],故小麦过敏是一个不可忽视的食品安全问题。因此,开发低致敏性小麦制品,保护小麦过敏人群的消费安全,具有重要的现实意义,是迫切需要解决的科学问题。

2 小麦的致敏原

2.1 小麦过敏原种类

国外对小麦过敏开展了大量研究,主要围绕过敏原的鉴定及脱敏两方面。根据世界卫生组织国际免疫学会联合会过敏原命名分会官方网站,截止到2015年2月12日已批准9类食源性小麦过敏原,分别是Tri a 12(抑制蛋白)、Tri a 14(非特异性脂转移蛋白1)、Tri a 18(同工麦胚凝集素1)、Tri a 19(ω 5-麦醇溶蛋白)、Tri a 20(γ -麦醇溶蛋白)、Tri a 25(硫氧还蛋白)、Tri a 26(高分子量麦谷蛋白)、Tri a 36(低分子量麦谷蛋白 GluB3-23)、Tri a 37(α -噁呤硫素)。其中Tri a 12包括4个过敏原亚型或变体;Tri a 14包括两个过敏原亚型或变体;Tri a 26包括两个过敏原亚型或变体。所以食源性小麦过敏原合计14种,分子量范围为9~88 kDa。此外还有12类非食源性过敏原,其肽序、UniProt、GenBank信息可查得^[7,8]。

Pastorello等^[9]研究表明小麦过敏原涉及的范围广,如: ω 5-醇溶蛋白、 α -淀粉酶抑制剂、脂转移蛋白和低分子量谷蛋白。Kusaba-Nakayama等^[10]研究表明CM3是引起日本人群小麦过敏性皮炎的主要过敏原, α -淀粉酶抑制剂、CM2、CM3和CM16是引起日本面包师哮喘的主要过敏原。Hideaki等^[11]报道36 kDa小麦糖蛋白也是导致面包师哮喘的一个重要过敏原。Morita等^[12]和Matsuo等^[13]研究表明 γ -醇溶蛋白和 ω 5-醇溶蛋白是引发小麦依赖运动激发性过敏症的主要过敏原。 γ -醇溶蛋白被推测是乳糜泻的一个重要过敏原^[14]。Battais等^[15]则报道了引起法国儿童小麦过敏性皮炎的主要致敏原是清蛋白和球蛋白,引起法国成人小麦过敏、荨麻疹、小麦依赖运动诱发的过敏性休克的主要过敏原是 ω 5-醇溶蛋白。

由此看来,不同国家所鉴定出的小麦过敏原组分及其致敏概率并不完全相同,这主要是因为各地区小麦品种

的差异、加工工艺的不同以及所采集的过敏者的血清标本不一致导致的。采用脱敏技术之前,为了做到有的放矢,了解小麦致敏原是关键。引起我国患者小麦过敏的致敏原的鉴定工作比较匮乏,为开展小麦致敏原构效关系的研究,必须首先明确过敏原及其结构,探索出影响其活性的因素,从而寻找消除或降低小麦过敏原致敏性的方法。

2.2 小麦过敏原的表位

表位又称抗原决定簇,是过敏原与抗体结合的物质基础。Tanabe^[16]在小麦醇溶蛋白中发现了谷氨酰胺-谷氨酰胺-脯氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸(QQFPF)、脯氨酸-谷氨酰胺-谷氨酰胺-脯氨酸-苯丙氨酸(PQQPF)2种与血清中IgE抗体结合的表位。毛炜翔^[17]预测了 α -醇溶蛋白致敏性最大的表位区段可能位于8~21, 33~55, 68~113, 184~194, 213~235位氨基酸区域内或其附近。Battais^[18]研究表明 γ 和 ω 2-醇溶蛋白与小麦依赖运动激发过敏症患者血清IgE结合,前者的表位有谷氨酰胺-谷氨酰胺-亮氨酸-缬氨酸-脯氨酸-谷氨酰胺(QQLVPQ)和谷氨酰胺-谷氨酰胺-丝氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸-谷氨酰胺(QQSFPQ)两种,后者的表位为谷氨酰胺-谷氨酰胺-脯氨酸-异亮氨酸-脯氨酸-谷氨酰胺-谷氨酰胺(QQPIPQQ)和谷氨酰胺-谷氨酰胺-脯氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸-谷氨酰胺-谷氨酰胺(QQFPQQ)。Matsuo^[13]研究小麦依赖运动激发过敏症患者血清,在 ω 5-醇溶蛋白重复区域发现与患者血清IgE抗体结合的表位为谷氨酰胺-谷氨酰胺-X-脯氨酸-谷氨酰胺-谷氨酰胺-谷氨酰胺(QQXPQQ),其中X可以是异亮氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、酪氨酸或者亮氨酸)和谷氨酰胺-谷氨酰胺-丝氨酸-脯氨酸-谷氨酸-谷氨酰胺-谷氨酰胺(QQSPEQQ)。然而,我国在小麦过敏原的表位方面的研究更为匮乏。

3 小麦致敏原的主要检测技术

食物致敏原的检测技术包括体外检测及体内诊断;食物致敏原检测基本采用体外检测技术,主要分为两大类:一类是以蛋白质为基础的方法;另一类是以核酸为基础的方法^[19]。前者包括:酶联免疫吸附法(ELISA)、免疫印迹法、免疫层析法、蛋白质组学法等;后者包括:各种聚合酶链式反应技术(PCR)方法,如实时荧光定量PCR(RT-PCR)和多重PCR等^[20]。新兴的食物过敏原检测方法有量子点荧光标记技术、生物芯片技术、生物传感器技术、2-DE指纹图谱技术^[21,22]、新型纳米材料的免疫层析技术^[23]等。目前针对小麦过敏原的检测主要采用了ELISA、免疫印迹法以及蛋白质组学技术。

3.1 酶联免疫吸附技术

酶联免疫吸附技术是利用连接到抗体上的酶来检测结合到一起的抗原和抗体;酶催化一种无色的底物(色原体)转化为有色的产物,指示抗原-抗体复合物的存在;抗

原的 ELISA 检测有 2 种技术, 分别为三明治型和竞争型^[1,24]。ELISA 易于操作, 简单快速, 能自动化, 灵敏度高, 对致敏原残留有选择性, 标记试剂易获得, 数据处理快; 缺点是易发生交叉反应, 来自噪声和基质的潜在假阳性, 对阳性结果需要确证, 目前无多残留分析; 但是在食品加工过程中, 由于交叉污染或者致敏性蛋白变性或结构改变, 影响着过敏原检测的准确性^[23,24]。

Sharma 等^[25]分析了商业 ELISA 试剂盒定量出玉米粉中掺入小麦筋蛋白和小麦粉的最低检测限, 其中 3 种试剂盒与小麦醇溶蛋白组分反应强烈, 另外 3 种试剂盒与麦谷蛋白组分反应强烈, 6 种试剂盒与小麦清蛋白和球蛋白组分显示出微弱的反应或者无反应。秦倩茹等^[26]建立了适用于小麦醇溶蛋白致敏性检测的三明治型 ELISA 法。

3.2 免疫印迹技术(immunoblotting)

免疫印迹又称蛋白质印迹(western blotting), 此技术是将高分辨率的凝胶电泳和免疫化学相结合^[27]。首先将定量的蛋白质经单向或双向电泳进行分离, 靠非共价键转移至固相载体。然后抗体作为“探针”, 同位素或酶标记的二抗用来“显色”, 从而确定潜在的致敏原^[1,24]。免疫印迹法是蛋白电泳技术的延伸和发展, 其优点在于: 分析容量大、特异性强、敏感度高, 但是操作复杂、费时, 一般与 ELISA 联合使用检测过敏原^[1,24]。

Sander 等^[28]通过双向电泳将小麦面粉蛋白质分离, 应用免疫印迹法与 10 个面包师哮喘患者的血清的 IgE 进行免疫反应, 检测到多于 100 的 IgE 结合蛋白点。Mazzeo 等^[29]通过免疫印迹与 ELISA 方法分析了两步转谷氨酰胺酶法处理小麦粉后的致敏性, 其中醇溶蛋白和麦谷蛋白的致敏性分别降低了 7.6%和 7.5%, 然而小麦粉的烘焙品质没有劣变。Bittner 等^[30]采用 ELISA 技术分析了杂交 α 、 β -麦醇溶蛋白与德国 153 位患有哮喘的职业烘焙师血清的反应情况, 其致敏概率为 12%。van den Broeck 等^[31]通过免疫印迹和竞争型 ELISA 方法分析了两步提取法和 60%乙醇提取法对小麦面筋蛋白提取的完整性和致敏性的影响, 其中两步提取法为首先采用 50%异丙醇提取小麦面筋蛋白, 然后残余物用 50%异丙醇、50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)与 1%二巯基苏糖醇(DTT)的混合溶剂提取, 其中两次提取的料液比均为 1:10 (*m:V*); 60%乙醇提取法对高分子量麦谷蛋白组分(HMW-GS)的提取率低于两步提取法, 其中来自 HMW-GS 的肽 HLA-DQ8 受体结合, 纯 HMWS-GS 与 HLA-DQ2 和 HLA-DQ8 结合。Susanna 等^[32]采用点免疫印迹和 ELISA 方法证实了猪胃蛋白酶、猪胰蛋白酶和蛋白酶(米曲霉)的处理可有效降低小麦致敏性。

3.3 蛋白组学技术(proteomics)

蛋白组学即以蛋白质组为研究对象, 应用相关研究技术, 从整体水平上来认识蛋白质的存在及活动方式(表

达、修饰、功能、相互作用等)的学科^[33]。

蛋白组学技术已成为新过敏原鉴定的强大工具, 可以鉴定农作物中过敏原基因的多样性, 可以定性或定量测定食品中的过敏原, 还可以用来检测过敏原的纯度、鉴定和翻译后修饰。蛋白组学对于 IgE 结合的蛋白质的鉴定具有特殊的作用。首先, 蛋白质的溶解条件增加了检测致敏原的可能性。其次, 在二维分离中的印迹更有可能达到协调一致。此外, 二维分离方法可以缩小识别蛋白质身份的范围, 提高鉴定的精确性^[34]。

Sander 等^[35]通过双向电泳及质谱技术鉴定出引起德国人群小麦过敏的 4 个新致敏原分别是 3-磷酸甘油醛脱氢酶两个不同亚型、磷酸丙糖异构酶和丝氨酸蛋白酶抑制蛋白等。Sancho 等^[36]阐述了蛋白质组学在过敏原纯化方面的应用, 双向电泳仅给出了过敏原分离的可能性, 随后的质谱却进一步验证了过敏原的纯度。Akagawa 等^[37]利用双向电泳免疫印迹和质谱测序的方式鉴别出引起日本人小麦过敏的过敏原包括丝氨酸蛋白酶抑制剂、 α 淀粉酶抑制剂、 γ -麦醇溶蛋白和低分子量的麦谷蛋白等, 其中低分子量的麦谷蛋白中 9 个亚基均被鉴定为过敏原。Sotkovsky 等^[38]人利用蛋白质组学技术并结合免疫印迹、ELISA 鉴别出引起捷克人小麦过敏的 19 种过敏原, 例如 α 淀粉酶抑制剂、抑制蛋白、丝氨酸蛋白酶抑制剂、 β -D-葡聚糖外水解酶和 27K 蛋白等。

4 小麦脱敏方法的研究概况

过敏原致敏性改变的分子学基础是过敏原抗原表位的失活或破坏, 或者是通过过敏原变性使得隐蔽的抗原表位暴露或者形成新的抗原表位。因此, 食品加工可以使得食物的致敏性降低、提高或保持不变^[39]。根据脱敏原理可分为物理方法、化学方法、酶法、生物学方法等 4 类。

热加工与非热加工技术有望用于低致敏性食品的开发。热处理分为两大类: 湿热与干热。湿热包括煮沸、挤压、油炸、消毒等; 干热包括烘烤、焙烤、微波等。加热可以诱导蛋白的构象改变, 从而改变致敏性。非热加工因其对食品品质劣变的影响可忽略, 而越来越受到重视^[39]。

Varjonen 等^[40]研究表明, 将小麦粉自 80 至 120 加热, 发现其中的中性或酸性致敏原的放射性过敏原吸附抑制实验值(RAST)变小。烘焙加工能在一定程度上降低小麦蛋白的致敏性, 然而我国的传统主食面制品主要是蒸煮加工方式。

Kwak 等^[41]用高压蒸汽灭菌、微波以及两种方法相结合分别处理小麦醇溶蛋白, 竞争型 ELISA 结果表明, 醇溶蛋白与 IgG 的结合程度降低至 69%, 而单一的微波处理则没有影响。微波与高压蒸汽同时处理的蛋白则与 IgG 结合程度降低至 73%, 与单一高压蒸汽处理差异不显著。Kwak^[41]发现单独用高压蒸汽灭菌处理 50 min 后, 其一维

电泳免疫印迹图中醇溶蛋白带消失。然而该方法对操作要求较严格,难以规模化生产。

Nooji 等^[42]研究结果表明,脉冲紫外(45 s)配合热处理(100)或者不配合热处理均能降低小麦麸质蛋白的致敏性,但是前者能更大程度地降低小麦麸质蛋白的致敏性,而在这个温度下,单独的热处理不会影响麸质蛋白致敏性。然而,脉冲紫外辐照时间过长会升高物料温度,水分丢失,且其穿透力具有局限性。

Handoyo 等^[43]用梯度抛光处理小麦,抛光后剩余 30% 的总小麦粉中蛋白的 IgE 结合能力显著降低,具有较低的致敏性,其原因是此部分小麦粉中过敏原蛋白含量最少,清蛋白、球蛋白以及醇溶蛋白含量显著降低。然而此方法使得小麦营养性随之降低。

Vaz 等^[44]用 γ 辐射处理小麦胚芽凝集素(WGA),发现 10 kGy 及以上辐照剂量均能降低 WGA 致敏性。由于麦醇溶蛋白是一种异凝集素,因此 γ 辐射能降低小麦的致敏性。

Maruyama 等^[45]用乳酸和盐酸来处理麸质蛋白,脱酰胺程度为 50%时,麸质蛋白与 IgE 结合能力显著降低。然而酸解能产生苦味,而且在实际应用中,用盐酸进行食品原料处理也被限制。

目前用于降低小麦致敏性的酶改性方法主要包括水解、脱酰胺两种。由于脯氨酸与小麦过敏原的线性表位密切相关, Tanabe 等^[46]采用高专一性水解脯氨酸残基附近肽段的菠萝蛋白酶处理小麦粉,通过水解作用破坏过敏原的线性表位,来降低小麦麸质蛋白的致敏性。但是 Zorzi 等^[47]研究表明菠萝蛋白酶亦是一种过敏原。因此,选择酶的种类时必须考虑是否为新的致敏原。Watanabe 等^[48,49]用纤维素酶、链酶蛋白酶、胶原酶水解处理小麦粉,表明几种酶处理后的蛋白均具有较低致敏性。然而由于蛋白酶水解,使小麦粉的蛋白分子量降解,导致其蛋白网状结构被破坏而不能形成很好的面团,影响其加工品质。

Yong 等^[50]用转谷氨酰胺酶对小麦麸质蛋白进行脱酰胺处理,蛋白的脱氨基程度达到 72%,傅立叶红外结果表明蛋白质脱酰胺后,其二级结构发生改变,主要是分子间和分子内的 β 折叠程度降低,ELISA 结果表明脱酰胺蛋白的致敏性显著低于对照,然而这些蛋白大分子的加工品质并未劣变,具有良好的溶解性和乳化性。因此,转谷氨酰胺酶在低致敏小麦制品生产中有着重要作用和广阔的应用前景,但是酶的使用将带来成本的上涨。

Nagano 等^[51]用酵母和短小芽孢杆菌处理小麦粉后,发现小麦粉的一些过敏原蛋白被降解至 37 kDa 以下,RAST 值仅为对照的 1/20 ~ 1/30。Phromraksa 等^[52]采用枯草芽孢杆菌属中 DB 和 SR 处理麦醇溶蛋白,免疫印迹也检测不出 30 ~ 60 kDa 醇溶蛋白的致敏性。然而该方法不适用于非发酵小麦制品。

5 结 语

小麦过敏已成为值得我们高度关注的食品安全问题,不仅严重影响了过敏患者的生活质量,甚至还危及生命。有效防止食物过敏的最佳方法是避免接触过敏原,然而由于现在食物组成十分复杂,食物配料多样化,致敏成分在人们日常膳食中广泛存在,小麦过敏患者难以避免受到其危害。目前,蛋白组学技术在食品过敏原中被广泛应用,有利于深入地研究小麦潜在的过敏原,从而确保小麦制品的安全性;对小麦过敏原的结构与其抗原性变化之间关系的研究,为开发低致敏性的小麦制品提供了理论依据。因此,在满足小麦加工特性和营养品质的前提下,如何有效降低小麦过敏原的致敏性,提高小麦制品的安全性,将成为食品加工和食品安全领域亟待解决的问题。

参考文献

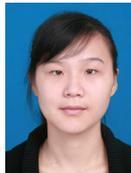
- [1] 甄宇江. 食物致敏原与食品安全[M]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
Zhen YJ. Food Allergens and Food Safety [M]. Beijing: China Standards Press, 2011.
- [2] Emmett SE, Angus FJ, Fry JS, *et al.* Perceived prevalence of peanut allergy in Great Britain and its association with other atopic conditions and with peanut allergy in other household members [J]. *Allergy*, 1999, 54(4): 380-385.
- [3] Wong GW, Mahesh PA, Ogorodova L, *et al.* The EuroPrevall-INCO surveys on the prevalence of food allergies in children from China, India and Russia: the study methodology [J]. *Allergy*, 2010, 65(3): 385-390.
- [4] GB/T 23779-2009 预包装食品中的致敏原成分[S].
GB/T 23779-2009 Pre-packaged food sensitization of the original composition [S].
- [5] Venter C, Pereira B, Grundy J, *et al.* Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity amongst six-year-old children: a population-based study [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2006, 17(5): 356-363.
- [6] Kim JS, Ouyang F, Pongracic JA, *et al.* Dissociation between the prevalence of atopy and allergic disease in rural China among children and adults [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(5): 929-935.
- [7] Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, *et al.* A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force [J]. *Allergy*, 2001, 56(9): 813-824.
- [8] <http://www.allergen.org/search.php?allergen=Triticum+aestivum> [Z].
- [9] Pastorello EA, Farioli L, Conti A, *et al.* Wheat IgE mediated food allergy in European patients: α -amylase inhibitors, lipid transfer proteins and low molecular weight glutenins [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2007, 144(1): 10-22.
- [10] Kusaba-Nakayama M, Ki M, Iwamoto M, *et al.* CM3, one of the wheat α -amylase inhibitor subunits, and binding of IgE in sera from Japanese with atopic dermatitis related to wheat [J]. *Food Chem Toxicol*, 2000, 38(2-3): 179-185.
- [11] Hideaki T, Masumi K, Yasuo N. Allergens in major crops [J]. *Nutr Res*, 2001, 21(6): 925-934.
- [12] Morita E, Yamamura Y, Mihara S, *et al.* Food-dependent exercise-induced

- anaphylaxis: a report of two cases and determination of wheat-gamma-gliadin as the presumptive allergen [J]. *Br J Dermatol*, 2000, 143(5): 1059–1063.
- [13] Matsuo H, Morita E, Tatham AS, *et al.* Identification of the IgE-binding epitope in omega -5 gliadin, a major allergen in wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12135–12140.
- [14] Dieterich W, Esslinger B, Schuppan D. Pathomechanisms in celiac disease [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2003, 132(2): 98–108.
- [15] Battais F, Courcoux P, Popineau Y, *et al.* Food allergy to wheat: differences in immunoglobulin E-binding proteins as a function of age or symptoms [J]. *J Cereal Sci*, 2005, 42: 109–117.
- [16] Tanabe S. IgE-binding abilities of pentapeptides, QQPPF and PQQPF, in wheat gliadin [J]. *J Nutr Sci Vitamin*, 2004, 50(5): 367–370.
- [17] 毛炜翔. 小麦过敏原-醇溶蛋白编码基因的分子克隆的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2008.
Mao YX. Molecular cloning of α -gliadin gene from wheat allergen [D]. Nanchang: Nanchang University, 2013.
- [18] Battais F, Mothes T, Moneret-Vautrin DA, *et al.* Identification of IgE-binding epitopes on gliadins for patients with food allergy to wheat [J]. *Allergy*, 2005, 60(6): 815–821.
- [19] 李慧静. 超高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.
Li HJ. Study about allergenicity reducing of special soy protein isolate by high hydrostatic pressure assisting enzymatic approach [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [20] Hird H, Lloyd J, Goodier R, *et al.* Detection of peanut using real time polymerase chain reaction [J]. *Eur Food Res Technol*, 2003, 217(3): 265–268.
- [21] 郑义成, 华萍, 杨安树, 等. 食物中过敏原检测技术研究进展[J]. *食品科学*, 2010, 31(21): 417–421.
Zheng YC, Hua P, Yang AS, *et al.* Research advance in detection technologies for allergen in food [J]. *Food Sci*, 2010, 31(21): 417–421.
- [22] 吴海强, 余晓, 刘志刚. 食品过敏原指纹图谱快速检测研究(三)-花生总蛋白 2-DE 指纹图谱和蛋白点 MALDI-TOF/MS 分析[J]. *热带医学杂志*, 2006, 6(3): 271–273, 293.
Wu HQ, Yu X, Liu ZG. A rapid method for detection of food allergen by fingerprinting(III)-2-DE fingerprinting of total protein and MALDI-TOF/MS analysis of protein spots extracted from peanut [J]. *J Trop Med*, 2006, 6(3): 271–273, 293.
- [23] 石良, 王锡昌, 刘源, 等. 食物过敏原免疫学检测技术研究进展[J]. *分析测试学报*, 2010, 29(9): 981–986.
Shi L, Wang XC, Liu Y, *et al.* Research progress on immunoassays for food allergen [J]. *J Instru Anal*, 2010, 29(9): 981–986.
- [24] 孙秀兰, 管露, 单晓红, 等. 食品过敏原体外检测方法研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2012, 43(2): 126–132.
Sun XL, Guan L, Shan XH, *et al.* Research on food allergen detection methods *in vitro* [J]. *J Northeast Agric Univ*, 2012, 43(2): 126–132.
- [25] Sharma GM. Immunoreactivity and detection of wheat proteins by commercial ELISA kits [J]. *J AOAC Int*. 2012, 95(2): 364–371.
- [26] 秦倩茹, 高宏伟, 马洪明. 过敏原小麦醇溶蛋白的 ELISA 定量检测方法的建立[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(11): 360–362, 365.
Qin QR, Gao HW, Ma HM. Quantitative determination of gliadin protein from wheat in foods by ELISA method [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2010, 31(11): 360–362, 365.
- [27] Biji T, Kurien R, Scofield H. Western blotting [J]. *Method*, 2006, 38(4): 283–293.
- [28] Sander I, Flagge A, Merget R, *et al.* Identification of wheat flour allergens by means of 2-dimensional immunoblotting [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(5): 907–913.
- [29] Mazzeo MF, Bonavita R, Maurano F, *et al.* Biochemical modifications of gliadins induced by microbial transglutaminase on wheat flour [J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 2013, 1830: 5166–5174.
- [30] Bittner C, Grassau B, Frenzel K, *et al.* Identification of wheat gliadins as an allergen family related to baker's asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(3): 744–749.
- [31] Van den-Broeck, America AHP, Smulders MJM, *et al.* A modified extraction protocol enables detection and quantification of celiac disease-related gluten proteins from wheat [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877: 975–982.
- [32] Susanna S, Prabhasankar PA. Comparative study of different bio-processing methods for reduction in wheat flour allergens [J]. *Eur Food Res Technol*, 2011, 233: 999–1006.
- [33] 李学鹏, 励建荣, 于平, 等. 蛋白组学及其在食品科学研究中的应用[J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(2): 141–149.
Li XP, Li JR, Yu P, *et al.* Proteomics and its application in food science research [J]. *J Chin Cereal Oil Assoc*, 2010, 25(2): 141–149.
- [34] Pennington SR, Dunn MJ. Proteomics: from protein sequence to function [M]. London: Bios Scientific Publisher Limited, 2001.
- [35] Sander I, Flagge A, Merget R, *et al.* Identification of wheat flour allergens by means of 2-dimensional immunoblotting [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(5): 907–913.
- [36] Sancho AI, Mills EN. Proteomic approaches for qualitative and quantitative characterisation of food allergens [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2010, 58(3 Suppl.): S42–46.
- [37] Akagawa M, Handoyo T, Ishii T, *et al.* Proteomic analysis of wheat flour allergens [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(17): 6863–6870.
- [38] Sotkovský P, Hubálek M, Hernychová L, *et al.* Proteomic analysis of wheat proteins recognized by IgE antibodies of allergic patients [J]. *Proteomics*, 2008, 8(8): 1677–1691.
- [39] Shriver SK, Yang WW. Thermal and Nonthermal Methods for Food Allergen Control [J]. *Food Eng Rev*, 2011, 3(1): 26–43.
- [40] Varjonen E, Bjorksten F, Savolainen J. Stability of cereal allergens [J]. *Clin Exp Allergy*, 1996, 26(4): 436–443.
- [41] Kwak JH, Kim KBWR, Lee CJ, *et al.* Changes in antigenicity of gliadin from medium flour by autoclave and microwave treatment [J]. *J Kor Soc Food Sci Nutr*, 2011, 40(10): 1423–1429.
- [42] Nooji J, Yang W, Shriver SK, *et al.* Pulsed ultraviolet light reduces the allergenicity of wheat gluten [R]. Chicago, 2010.
- [43] Handoyo T, Akagawa M, Morita N, *et al.* Hypoallergenic characteristics of wheat flour produced by stepwise polishing [J]. *Int J Food Prop*, 2008(11): 243–252.
- [44] Vaz AFM, Souza MP, Carneiro-Da-Cunha MG, *et al.* Molecular fragmentation of wheat- germ agglutinin induced by food irradiation reduces its allergenicity in sensitised mice [J]. *Food Chem*, 2012, 132(2): 1033–1039.

- [45] Maruyama N, Sugiura F, Kishimoto T, *et al.* Decreased IgE-binding with wheat gluten by deamidation [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63(3): 567–569.
- [46] Tanabe S, Arai S, Watanabe M. Modification of wheat flour with bromelain and baking hypoallergenic bread with added ingredients [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1996, 60(8): 1269–1272.
- [47] Zorzi MD, Curioni A, Simonato B, *et al.* Effect of pasta drying temperature on gastrointestinal digestibility and allergenicity of durum wheat proteins [J]. *Food Chem*, 2007, 104(1): 353–363.
- [48] Watanabe M, Watanabe J, Sonoyama K, *et al.* Novel method for producing hypoallergenic wheat flour by enzymatic fragmentation of the constituent allergens and its application to food processing [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2000, 64(12): 2663–2667.
- [49] Watanabe J, Tanabe S, Watanabe M, *et al.* The production of hypoallergenic wheat flour and the analysis of its allergy suppressive effects [J]. *Bio Factors*, 2004, 22(1–4): 295–297.
- [50] Yong YH, Yamaguchi S, Matsumura Y. Effects of enzymatic deamidation by protein glutaminase on structure and functional properties of wheat gluten [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(16): 6034–6040.
- [51] Nagano H, Kasuya S, Shoji Z, *et al.* Identification of microorganisms in traditional asian foods made with fermented wheat flour and their hypoallergenization [J]. *Food Sci Technol Res*, 2003, 9(1): 7–10.
- [52] Phromraksa A, Nagano H, Boonmars T, *et al.* Identification of proteolytic bacteria from thai traditional fermented foods and their allergenic reducing potentials [J]. *J Food Sci*, 2008, 73(4): M189–195.

(责任编辑: 卢忆)

作者简介



路雪蕊, 硕士研究生, 主要研究方向为粮油深加工与资源开发。
E-mail: 736247287@qq.com



李慧静, 博士, 副教授, 主要研究方向为粮油深加工与资源开发。
E-mail: huijingli2002@163.com