

食物过敏原消减研究进展

黄天娇, 卢 瑛*

(上海海洋大学食品学院, 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(上海), 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306)

摘 要: 如今食物过敏是困扰人类健康的一大重要食品安全问题, 发病率持续升高, 受到全世界的广泛关注。本文简要介绍了食物过敏及其机制, 详细分析了近五年相关文献的研究内容, 发现这五年文献数量保持稳定, 各国的研究重点仍集中于8大类主要过敏食物, 过敏原的3大类消除方法中以物理化学法的研究最为丰富。本文在总体介绍各种消除方法的同时, 详细介绍了最常用的4种物理消除方法: 热处理、辐照、超声和超高压技术。此外, 文中还介绍了消减机制的4种主要研究方法, 但如今机制研究还处于初始阶段, 尚未得出系统明确的结果, 因此相关的深入研究具有良好的前景。可以以体外模拟消化为基础, 继续研究消化片段的致敏性变化与构象变化的关系, 有针对性的实现过敏原的消除。

关键词: 食物过敏; 食物过敏原; 消除方法; 机制研究方法

Research progress on elimination of food allergen

HUANG Tian-Jiao, LU Ying*

(Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing and Preservation, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation (Shanghai), Ministry of Agriculture, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: In recent years, food allergy is a serious food safety issue threatening human health. It has been widely concerned in the world that the incidence of food allergy continues to rise. This paper introduced food allergy and its mechanism briefly. After detailed analysis of the relevant published items in recent five years, it was found that the number of published items remained stable and the researchers still focused on 8 major categories of allergic food to study. Physical and chemical method, as one of 3 categories of elimination methods, was the most common research filed. Therefore 4 physical elimination methods, including heat treatment, irradiation, ultrasound and ultra high pressure technology, were introduced in detail. In addition, the paper also introduced 4 main research methods of the reduction mechanism. However, the mechanism research was still in the initial stage and the system has not yet come to a clear result, so the relevant in-depth study has a good prospect. Based on *in vitro* simulated digestion, researches of the relationship between the allergenicity change and conformation change of digestive fragments might be effective to achieve the allergen elimination in target.

KEY WORDS: food allergy; food allergen; elimination methods; research methods on mechanism

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2009)第6-1号) 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心项目

Fund: Supported by the Key Project of Shanghai Agriculture Prosperity through Science and Technology (2009, 6-1) and Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation

*通讯作者: 卢 瑛, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: y-lu@shou.edu.cn

*Corresponding author: LU Ying, Ph.D., Associate Professor, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China. E-mail: y-lu@shou.edu.cn

1 引言

从希波格拉底发现一部分人饮用牛奶后会出现头痛、腹痛等症状,到现今食物过敏的机制已被基本明确,人们对食物不良反应的认识已经有两千多年的历史^[1]。1984年,美国过敏和免疫学会上提出食物不良反应的定义:食物不良反应(adverse reaction to food, ARF),又叫做食物异常反应,适用于由摄入的食物和(或)食物添加剂引起的所有异常反应,包括人体对食物成分或添加剂引起的免疫反应(IgE介导和非IgE介导的免疫反应)及非免疫性副反应,如食物不耐受,中毒性代谢性、药理性和特异体质的反应以及精神心理因素所引起的异常反应等。人群中食物不良反应发生率约为20%^[2],因而如何减少甚至杜绝此类问题的发生成为各国学者研究的一个重要方向。

2 食物过敏

2.1 食物过敏的现状

因某种食物或食品添加剂等引起的IgE介导和非IgE介导的免疫反应被称为食物过敏。食物过敏在全球范围内发病率持续上升,引起社会各界的广泛关注。Gupta等^[3]在2009~2010年对美国家庭进行了电子调查,发现有近8%的儿童存在食物过敏问题,其中30%的儿童存在多种食物过敏问题。Hu等^[4]对中国一个使用口服食物过敏原激发试验诊断超过10年的私人诊所中的未成年患者进行了调查研究,表明存在食物过敏问题的未成年人数比例在1999~2009年间从3.5%上升到了7.7%($P=0.17$)。有些食物过敏症状会随着年龄的增长而消除,有研究表明,有11%的鸡蛋过敏患者4岁以后不再对鸡蛋过敏,有19%的牛奶过敏患者在4岁以后牛奶过敏的症状消除,大约80%的过敏患者在16岁后不再有过敏反应^[5,6]。

2.2 食物过敏机制

过敏反应是指机体首次受到抗原(包括半抗原)刺激后,产生相应的抗体或致敏淋巴细胞;当再次接触同一种抗原后在体内引起体液或细胞免疫反应,从而导致组织损伤或机体生理机能障碍。其中,食物过敏原引起的致敏反应一般为IgE介导的I型反应^[7]。

IgE介导的I型过敏反应,分为3个阶段,分别为致敏阶段、激发阶段和效应阶段^[8]。食物过敏原进入体液后可以选择性诱导抗原特异性B细胞产生IgE抗体应答,接着IgE抗体的Fc段与嗜碱性粒细胞或者肥大细胞表面的IgE受体结合,此为致敏过程;当相同的抗原再次进入机体时,抗原通过与嗜碱性粒细胞或者肥大细胞表面的IgE抗体特异性结合,使之释放出组胺、5-羟色胺、白三烯、前列腺素、嗜酸性粒细胞趋化因子等介质,此为激发阶段。这些生物活性的介质作用于效应组织和器官,从而引发局部或者全身过敏反应,此为效应阶段。

3 食物过敏原的消除研究进展

在web of science中以“food allergen”和“digestion”为关键词,从2011年到2015年9月共检索得到225篇文献。数据如图1和图2所示。

如图1所示,每年出版的“food allergy and digestion”文献数基本保持稳定,每年的引文数呈快速上升趋势,这表明研究者对食物过敏原的消减研究处于持续稳定的阶段。对相关文献的地域结构分析表明,美国、西班牙、意大利这3个国家对该领域的研究报告最多,占总发表数的45%以上,其次是中国,发表20篇,占总数的9.35%(图2)。这些数据表明,有关过敏原的消减及其机制研究是我国当前的一个研究热点。

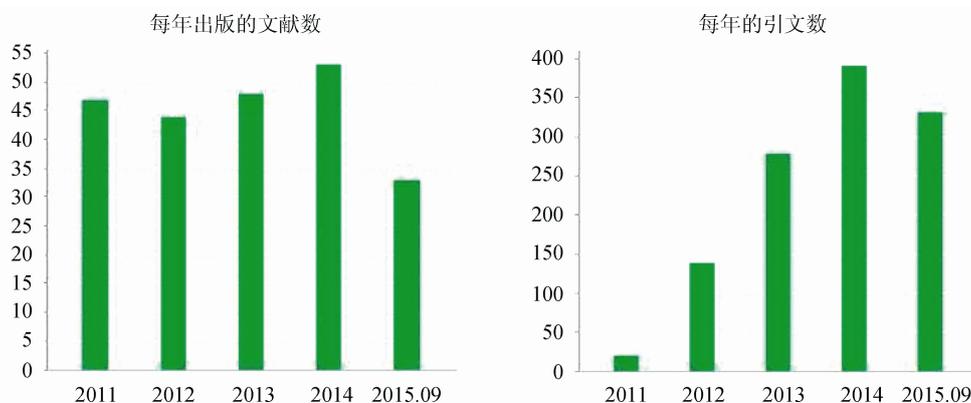


图1 2011年~2015年9月文献及引文结果

Fig. 1 Published items and its citations from 2011 to September 2015

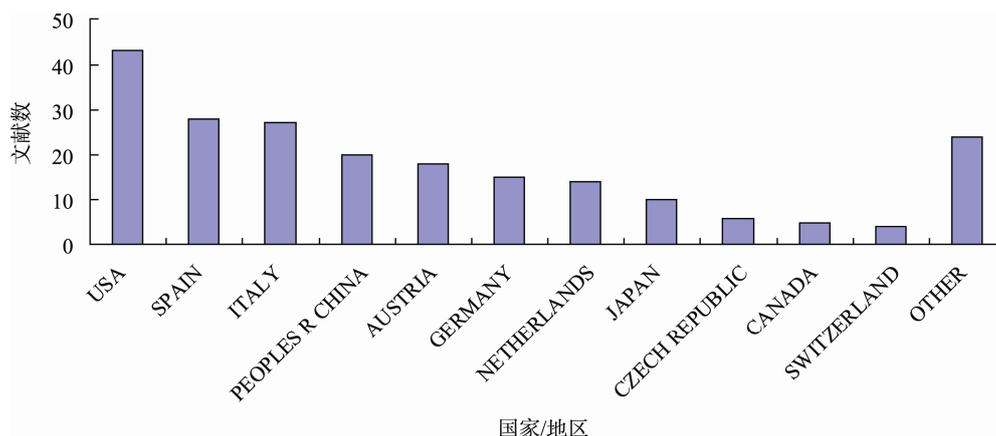


图 2 2011 年~2015 年 9 月期间的文献地域结构分析图

Fig. 2 Analysis of published items related countries/territories from 2011 to September 2015

根据研究内容进行分析,发现在近五年的 225 篇文献中,有 140 篇是对具体食物过敏原的研究,其中有 98 篇是研究八大类过敏食物的,占总数的 70%,说明各国学者对这些主要过敏食物的研究仍是当今食物过敏研究的重点,如表 1 所示。

表 1 98 篇研究八大类过敏食物的具体研究文献内容分类

Table 1 Classification of 98 Researches about 8 major categories of allergic food

8 大类过敏食物	文献数	百分比
蛋类及其制品	14	14.29%
鱼及其制品	12	12.24%
甲壳类(主要是虾、蟹、龙虾等)	8	8.16%
奶制品	21	21.43%
花生及其制品	19	19.39%
大豆及其制品	7	7.14%
坚果(杏仁、板栗、腰果等)	20	20.41%
小麦及其制品	4	4.08%

食物过敏问题已严重影响到人们的健康安全,故研究食物过敏原过敏性的消除具有重要的现实意义。当前消除方法主要分为以下 3 种:物理化学法、酶处理和生物化学法^[9]。对搜索到的文献进行分析发现,近五年的文献中有 63 篇表述了这 3 种消除方法对食物过敏原过敏性的影响,因存在比较型文献,实际使用的消除技术有 69 次,从图 3 中可以看出,如今的研究集中于物理化学法,研究数量占总研究数的一半以上。

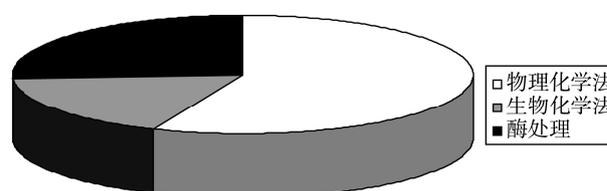


图 3 消除技术的文献研究分布图

Fig. 3 Distribution of researches about eliminating methods

4 食物过敏原的消除方法

4.1 物理化学法

物理化学法中的物理法主要有热处理和辐照方法。热处理是利用食物过敏原主要由蛋白质组成,蛋白质在高温处理下其空间构象及三维结构会发生变化的原理,从而降低甚至消除其过敏原的 IgE 结合能力,达到降低致敏性或去除过敏原的效果。一般情况下,因为大部分过敏原具有很强的耐热性和抗机械破坏稳定性,加热方法处理的效果并不理想,而且长时间加热会发生食品感官质量下降、营养成分损失、加工特性降低等问题。辐照能使食品分子的化学键断裂,从而蛋白质的结构发生改变。相对于其他方法,辐照在改性、灭酶、杀菌、保存食品的营养成分等方面更具有优势,以后可能会是开发低过敏食品的重要手段。Kamath 等^[10]研究了加热对贝壳主要过敏原原肌球蛋白的影响,发现热处理后抗体检测值升高。Gomaa 等^[11]将辐照小麦粉与 γ 射线辐照和热处理对食品中的牛奶和鸡蛋中过敏原的影响进行比较,结果发现 0.75 kGy 和 10 kGy 辐照不影响食物过敏原的抗原性,在食品基质中对过敏性的研究比在粉末状况下困难。Li 等^[12]研究了多宝鱼经电子束照射,辐射强度与特异性 IgE 结合能力的关系,发现在

10 kGy 剂量辐照后, 特异性 IgE 结合量减少(91.2±6.2)%。

近几年, 使用超声和超高压处理消减食物过敏原的方法也日益受到关注。超声波是物质介质中的一种弹性波, 在媒质中能形成介质粒子的机械振动, 这种含有能量的超声波振动引起的与媒质的相互作用, 可产生机械效应、热效应(声能的特定吸收)和空化效应(气泡的形成和强烈的破碎)^[13]。在 Taylor 等^[14]发现超声能量会破坏酪蛋白的三级和四级结构, 对乳清蛋白的物化性以及功能性也有所影响后, 学者开始研究超声处理对食物过敏原的影响。Hu 等^[15]使用超声和高压方法处理拟穴青蟹, 发现两种方法均促进了过敏原原肌球蛋白的消化, 还降低了过敏原与 IgE 结合的程度。Li 等^[16]使用超声和蛋白酶处理烤花生仁, 发现超声处理后, 花生过敏原 Ara h 1/Ara h 2 减少量最多, 与 IgE 的结合量最少。超高压处理(High Hydrostatic Pressure, HHP), 也称作高静压处理, 可通过不同程度地改变过敏原蛋白的空间结构, 使过敏原蛋白活性发生变化甚至失活, 从而达到降低或消除食品过敏原的目的。Cabanillas 等^[17]研究了超高压处理后核桃过敏原性的变化, 发现该处理增加了过敏原的敏感程度, 使其更易消化, 还降低了与 IgE 结合的能力。Jin 等^[18]研究了超高压处理对鲑鱼原肌球蛋白的构象和致敏性影响, 发现过敏原中的 α -螺旋、自由巯基减少, 过敏原的消化率升高, 致敏性降低。

化学法主要是利用化学试剂改变过敏原的一些化学属性来达到目的, 比如大米的过敏蛋白中含有二硫键, 用硫氧还原剂可以还原二硫键, 从而使其过敏性消失。酸处理或碱处理也可能破坏抗原表位的氨基酸残基。

4.2 酶处理

用酶法降低过敏原性是如今研究的一个热点。蛋白酶的作用主要有: 一是通过改变过敏原的三级结构或者断裂过敏原的化学键使其失去活性, 降低过敏性; 二是通过断裂酰胺键, 降低过敏原的分子量, 破坏抗原表位, 降低致敏性。不同蛋白酶的作用位点不同, 所以达到降低或消除过敏性的结果也不相同。在各研究中, 蛋白酶对水产品过敏原的提取物具有很显著的消减作用^[10,19,20]。

4.3 生物化学法

常见的生物化学法有发酵法和转基因法。虽然关于食品过敏原发酵处理方面的科学信息还不多, 但酱油却是一个发酵产品的例子, 酱油原料中含有小麦和大豆蛋白, 但在大豆发酵终产物中, 大豆蛋白的过敏原性并未减弱^[21]。转基因法是通过基因技术去除食品中原有基因或加入了外来基因。这种方法通常存在两个问题: 一个已知的过敏原可能从一种农作物转入另一种非过敏的农作物; 可能产生新的过敏原。

5 食物过敏原的消减机制相关研究方法

近年来, 食物过敏原的消减机制相关研究逐渐成为

过敏原的研究热点之一, 这方面的研究方法主要有体外模拟消化、动物模型试验、过敏原表位预测和生物信息学研究。在这 4 种方法中, 体外模拟消化和动物模型试验可以确定过敏原的消减程度, 过敏原表位分析可以预测致敏片段的氨基酸序列, 生物信息学方法实现了致敏片段氨基酸序列的比对分析。

5.1 体外模拟消化

一般来说, 一种天然蛋白或变性蛋白要想保持其致敏性, 该蛋白的 IgE 结合位点所处的氨基酸片段必须耐受食品加工以及体内消化, 因为食物过敏反应的发生需要致敏蛋白经消化系统处理, 到达小肠粘膜被吸收后才能发生免疫反应。因此, 研究人员常使用胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶等胃肠消化酶, 在水浴中恒温消化的方式, 即体外模拟消化法, 进行研究。在研究中, 酶的类型、消化液成分、反应温度、反应时间等条件对实验结果有至关重要的影响。

在体外消化模型中酶的类型往往反映了所需研究的主要食品成分。例如 Mun 等^[22]仅使用胰脂肪酶研究水包油乳化物的脂类消化。为研究更为复杂的多组分食品体系, 往往使用更大范围的消化酶, 如 α -淀粉酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶等^[23]。为达到酶反应的优良效果, 在消化液中往往需要加入一些额外的组分, 如胰脂肪酶需要有 Ca^{2+} 和胆盐的条件^[24]。体外模拟消化实验所用消化液中的最重要成分是蛋白酶, 实验中蛋白酶的用量应以人体实际情况为参考。人体内的蛋白酶主要存在于胃(胃蛋白酶)和小肠(胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶)中, 它们负责把蛋白质和肽类物质分解为小分子肽和氨基酸。人每天分泌的胃蛋白酶约有 10 mg, 在 37 °C 时的酶活性通常在 20~30 kU 范围内, 而一个正常成年人每日摄入的蛋白质约为 75 g, 换算下来胃蛋白酶与蛋白质的比例约为 1:7500^[25,26]。

国内外目前关于模拟胃肠液消化过敏原蛋白的研究报道很多。Gámez 等^[27]用模拟胃液消化实验处理生、熟红虾(*Solenocera melanthero*)和纯化得到的原肌球蛋白, 发现模拟胃肠消化可降低虾过敏原蛋白过敏性, 水煮虾中提取的原肌球蛋白与特异性 IgE 的结合能力比生虾中提取的更强。

5.2 动物模型试验

过敏动物模型主要可以分为啮齿类动物(小鼠、大鼠和豚鼠)和非啮齿类动物(如狗和幼猪)^[28]。研究表明, 啮齿类动物在免疫调节的许多方面与人类相似, 且某些品系是高 IgE 反应型, 类似人类的遗传性过敏症; 而猪、狗等非啮齿类动物的胃肠解剖学和生理学、营养需求、黏膜免疫学等方面都与人类相似, 具有天然的食物过敏反应, 且食物过敏的发生率、胃肠道和皮肤的过敏临床症状也与人类相似^[29]。其中, 动物在幼年期发育不完善, 更易发生过敏反应,

因此常使用幼年期的动物进行试验, 以确保大部分人的安全^[30]。Lisa 等^[31]以霍乱毒素(cholera toxin, CT)为佐剂口服致敏 BALB/c 小鼠, 发现牛奶蛋白致敏的小鼠能产生高的特异性 IgE 和 IgG, 并伴随局部的过敏症状。Bogh 等^[32]研究发现 BN 大鼠识别花生主要过敏原 Ara h1 的 IgE 表位与人类相同。

5.3 过敏原表位鉴定与预测

食物过敏通常是由于蛋白质刺激机体内免疫细胞产生抗体, 从而引发的免疫反应。而受体细胞识别的并不是整个蛋白质抗原分子, 而是蛋白质内部特定区域, 即一段或几段多肽, 这特定的多肽称为表位。组成抗原表位的氨基酸残基数目一般为几个或几十个, 抗原表位的特异性取决于单个氨基酸残基的结构以及几个氨基酸的空间结构。20 世纪 80 年代 Hopp 和 Woods 提出了亲水性参数对抗原表位预测的方法, 促进了对抗原表位的识别鉴定。由于线性表位有一定的规律性, 因此目前的表位识别鉴定主要针对线性抗原表位。目前主要有抗原性、亲水性、可塑性、可及性、二级结构预测、电荷分布共 6 种方法, 但正确率均不高。其中, 二级结构预测、可及性、抗原性和可塑性分析方法, 在表位识别鉴定中应用较多^[33]。郑礼娜^[34]对刀额新对虾的 Pen a1 二级结构、亲水性、溶剂可及性、可塑性、抗原指数等分析, 预测分析出有 10 个线性表位, 并通过模拟 Pen a1 构象, 发现其结构简单, 为 α -螺旋为主的二级结构, 且表位为线性表位, 暴露在分子表面。

在表位中, 某些特定的氨基酸对表位特异性及功能有更重要的影响, 这些氨基酸残基的改变会引起抗原表位的活性的降低甚至丧失。因此, 可以利用生化处理方法将抗原分子分解成多肽片段, 通过单克隆抗体与多肽反应, 筛选出阳性肽段即为可能的抗原表位; 可利用酶解等化学法处理抗原分子, 使其分解成多个肽段, 分别与不同的单克隆抗体结合, 筛选出抗原表位, 或者水解抗原抗体复合物, 直接确定线性及构象型抗原表位; 还有人通过固相肽合成等有机合成法, 人工合成具有多种序列的肽段, 再逐一与抗体反应进行筛选, 或者利用噬菌体随机肽库的方法筛选抗原表位, 及生物淘洗的方法分析抗原表位^[35,36]。

5.4 生物信息学研究

目前, 生物信息学在过敏原研究中主要是应用于过敏原蛋白质序列比对分析, 通过比较序列的同源性以及保守性等, 分析蛋白质可能的结构与功能^[37]。

肽质量指纹谱(peptide mass fingerprint, PMF)和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF/MS)是目前研究中较为常用的鉴定方法。肽质量指纹谱原理是将由质谱获得的肽段质量数据与数据库中已知蛋白的肽段理论数据比对, 以达到鉴定蛋白的目的。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱测定肽混合物不需分

离可直接分析, 谱峰简单, 每个谱峰代表一种肽段; 操作简单、分析速度快、灵敏度高。

肽质量指纹谱鉴定的基本步骤为: 将十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)中的目标条带切下并切成约 1 mm 的胶粒; 脱色后真空离心干燥; 水浴中还原, 清洗胶粒并脱水; 暗处烷基化, 清洗并干燥胶粒; 胰蛋白酶 37 °C 恒温酶解; 提取并超声; 再次提取, 合并提取液, 真空离心干燥; 溶解后进行 MALDI-TOF 质谱分析; 所得质谱数据通过搜索引擎在蛋白质数据库中检索。常用搜索引擎有: ProFound^[38], Mascot^[39,40]。常用数据库有 SwissProt, NCBIInr, Aldente, FindMod, FindPept, GlycoMod 等。牟慧^[41]采用辐照与加热综合作用的方式, 探究其虾致敏蛋白的变化, 同时, 利用生物信息学技术和化学合成技术对各表位的关键氨基酸进行了初步探究, 探索脱敏机制, 发现表位 3 为其主要作用的表位。

可以预见到, 两种及以上的上述方法结合进行消减研究的情况会成为未来此类研究的一个重要趋势。

6 前景与展望

目前, 关于食物过敏原的研究除了分子水平的研究手段之外, 各种纯过敏原抗原表位的确认和分析、消化产物的致敏性相关研究等均有报导, 但尚未得出系统清晰的研究结果, 因而具有很大的研究意义。今后, 更紧密地联系实际需求, 以各种食品为研究对象, 结合加工生产工艺研究其消除方法和消减机制将成为该领域的重要研究方向之一。体外模拟消化会继续作为过敏原消除研究的重要手段, 未来可以对消化片段的过敏原性的变化、不同消化酶的特异性酶切位点及其作用方式进行研究, 以解析体外模拟胃肠消化对过敏原性消减的分子机制; 还可以利用动物模型验证消化片段的致敏性, 进一步研究过敏原构象关系的变化对过敏原性的影响。

参考文献

- [1] Chandra RK. Food hypersensitivity and allergic disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 1997, 66: 526s-529s.
- [2] 王自勤, 赵峻, 陈永春. 食物过敏与食物不耐受[J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2011, 20(5): 420-423.
Wang ZQ, Zhao J, Chen YC. Food allergy and food intolerance [J]. *Acta Acad Med CPAF*, 2011, 20(5): 420-423.
- [3] Gupta RS, Springston EE, Warrier MR, *et al*. The prevalence, severity, and distribution of childhood food allergy in the United States [J]. *Pediatrics*, 2011, 128: e9-e17.
- [4] Hu Y, Chen J, Li H. Comparison of food allergy prevalence among Chinese infants in Chongqing, 2009 versus 1999 [J]. *Pediatr Int*, 2010, 52: 820-824.
- [5] Vage JH, Matsui EC, Skripak JM, *et al*. The natural history of egg allergy [J]. *J Allerg Clin Immunol*, 2007, 120(6): 1413-1417.

- [6] Skripak JM, Matsui EC, Mudd K, *et al.* The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 120(5): 1172–1177.
- [7] Kumar S, Verma AK, Das M, *et al.* Molecular mechanisms of IgE mediated food allergy [J]. *Int Immunol*, 2012, 13(4):432–439.
- [8] 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.
Li Z. Purification and characterization of parvalbumin isotypes and effect of processing methods on the main allergen of grass carp [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [9] 黄园园. 水产过敏原的模拟胃肠液消化[D]. 厦门: 集美大学, 2009.
Huang YY. Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on allergens of aquatic products [D]. Xiamen: Jimei University, 2009.
- [10] Kamath SD, Abdel Rahman AM, Komoda T, *et al.* Impact of heat processing on the detection of the major shellfish allergen tropomyosin in crustaceans and molluscs using specific monoclonal antibodies [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 4031–4039.
- [11] Goma A, Boye J. Impact of irradiation and thermal processing on the immunochemical detection of milk and egg allergens in foods [J]. *Food Res Int*, 2015, 74: 275–283.
- [12] Li Z, Lu Z, Khan MN, *et al.* Protein carbonylation during electron beam irradiation may be responsible for changes in IgE binding to turbot parvalbumin [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 69: 32–37.
- [13] 白雨鑫. 四种非热加工对牛乳 β -乳球蛋白结构和免疫特性的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2013.
Bai YX. Effects of four non-thermal processing on conformational changes and immunological property of bovine β -lactoglobulin [D]. Nanchang: Nanchang University, 2013.
- [14] Tylor MJ, Richardson T. Antioxidant activity of skim milk: effect of sonication [J]. *J Dairy Sci*, 1980, 63(11): 1938–1942.
- [15] Hu HL, Cao MJ, Cai QF, *et al.* Effects of different processing methods on digestibility of *Scylla paramamosain* allergen (tropomyosin) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 49(4): 791–798.
- [16] Li H, Yu JM, Ahmedna M, *et al.* Reduction of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2, in roasted peanuts by ultrasound assisted enzymatic treatment [J]. *Food Chem*, 2013, 141(2): 762–768.
- [17] Cabanillas B, Maleki SJ, Rodríguez J, *et al.* Allergenic properties and differential response of walnut subjected to processing treatments [J]. *Food Chem*, 2014, 157(1): 141–147.
- [18] Jin Y, Deng Y, Qian B, *et al.* Allergenic response to squid (*Todarodes pacificus*) tropomyosin Tod p1 structure modifications induced by high hydrostatic pressure [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 76: 86–93.
- [19] Shen HW, Liu YY, Chen F, *et al.* Purification, characterization and immunoreactivity of tropomyosin, the allergen in *Octopus fangsiao* [J]. *Proc Biochem*, 2014, 49:1747–1756.
- [20] Jin Y. Allergenic response to squid (*todarodes pacificus*) tropomyosin tod p1 structure modifications induced by high hydrostatic pressure [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 76: 86–93.
- [21] Hefle SL, Lambrecht DM, Nordlee JA. Soy sauce retains allergenicity through the fermentation/production process [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 115(2): S32.
- [22] Mun S, Decker EA, McClements DJ. Influence of emulsifier type on *in vitro* digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase [J]. *Food Res Int*, 2007, 40(6):770–781.
- [23] Hur SJ, Lim BO, Decker EA, *et al.* *In vitro* human digestion models for food applications [J]. *Food Chem*, 2011, 125(1):1–12.
- [24] Boisen S, Bo E. Critical evaluation of *in vitro* methods for estimating digestibility in simple-stomach animals [J]. *Nutr Res Rev*, 1991, 4(1): 141–162.
- [25] Bublin M, Radauer C, Knulst A, *et al.* Effects of gastrointestinal digestion and heating on the allergenicity of the kiwi allergens Act d 1, actinidin, and Act d 2, a thaumatin-like protein [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(10): 1130–1139.
- [26] Mills ENC, Jenkins JA, Alcocer MJC, *et al.* Structural, biological, and evolutionary relationships of plant food allergens sensitizing via the gastrointestinal tract [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44(5): 379–407.
- [27] Gámez C, Ma PZ, Sanz V, *et al.* Simulated gastrointestinal digestion reduces the allergic reactivity of shrimp extract proteins and tropomyosin [J]. *Food Chem*, 2015, 173(173):475–481.
- [28] 黄建芳, 王彩霞, 向军俭, 等. 食物过敏动物模型的研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 03: 280–284.
Huang JF, Wang CX, Xiang JJ, *et al.* Research advances in animal models of food allergy [J]. *Food Sci*, 2014, 03: 280–284.
- [29] 周催. 利用动物模型研究食物潜在致敏性及其致敏机理[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
Zhou C. Study of food potential allergenicity and allergy mechanism using animal model [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [30] Untersmayr E, Jensen E. Mechanisms of type I food allergy [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 112(3): 787–798.
- [31] Lisa C, Hugh S, Madhan M. Oral sensitization to peanut in BALB/c mice is enhanced by dietary elimination of soybean components-towards a better mouse model for food allergy [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(2): 218.
- [32] Bogh KL, Nielsen H, Madsen B, *et al.* IgE epitopes of intact and digested Ara h 1: a comparative study in humans and rats [J]. *Mol Immunol*, 2012, 51(3): 337–346.
- [33] 沈海旺, 陈亨莉, 曹敏杰, 等. 甲壳类动物 4 种过敏原的序列分析、抗原表位预测及三维结构建模[J]. *免疫学杂志*, 2012, (7):613–619.
Shen HW, Chen HL, Cao MJ, *et al.* Sequence analysis, antigen epitopes prediction, and three dimensional structure modeling of four allergens in crustaceans [J]. *Immunol J*, 2012, (7):613–619.
- [34] 郑礼娜. 虾类过敏原的活性分析及其抗原表位的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Zheng LN. Immunocompetence and epitopes mapping study of the major allergen from shrimp [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.
- [35] Bogh KL, Nielsen H, Eiwegger T. IgE versus IgG4 epitopes of the peanut allergen Ara h 1 in patients with severe allergy [J]. *Mol Immunol*, 2014, 58: 169–176.
- [36] Dolly K, Naveen A, Ramkrashan K, *et al.* Isolation and characterization of a 28 kDa major allergen from blackgram (*Phaseolus mungo*) [J]. *Immunobiology*, 2012, 217(9): 895–904.
- [37] 牟慧, 赵杰, 高美须, 等. 辐照对 Pen a1 抗原表位免疫原性的影响[J]. *中国食品学报*, 2015, (3): 181–186.
Mou H, Zhao J, Gao MX, *et al.* Effects of Gamma Irradiation on the Epitopes' Immunoreactivity of Pen a1 [J]. *J Chin Ins Food Sci Technol*, 2015, (3): 181–186.

- [38] 丁勤学, 熊少祥, 刘进, 等. 肽质量指纹图谱中实验因素引起的氨基酸修饰以及相应肽段的质量变化[J]. 军事医学, 2006, 30(1): 6-10.
Ding QX, Xiong SX, Liu J, *et al.* Mass changes in peptide mass fingerprint caused by various in vitro chemical modifications [J]. Bull Acad Mil Med Sci, 2006, 30(1): 6-10.
- [39] 闫妍, 张淑珍, 唐吉军, 等. 一种基于肽质量指纹谱技术鉴定蓖麻毒素的新方法[J]. 分析化学, 2006, 34(2): 187-190.
Yan Y, Zhang SZ, Tang JJ, *et al.* Application of peptide mass fingerprint in ricin identification with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2006, 34(2): 187-190.
- [40] 林洪, 郑礼娜, 李振兴, 等. 刀额新对虾主要过敏原蛋白的肽指纹图谱鉴定与分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2009, 39(5): 919-924.
Lin H, Zheng LN, Li ZX, *et al.* Identification of the Major Allergen in Sand Shrimp(*Metapenaeus ensis*) by MALDI-TOF-MS [J]. J Ocean Univ China, 2009, 39(5): 919-924.
- [41] 牟慧. 虾过敏原表位在辐照与热处理中免疫原性的变化及表位氨基酸分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.

Mou H. Immunoreactivity variation of epitopes in shrimp allergen under irradiation and heat treatment and analysis on amino acids of epitopes [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



黄天娇, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品过敏原。
E-mail: 627111712@qq.com



卢 瑛, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品生物技术。
E-mail: y-lu@shou.edu.cn