

电泳法在食品过敏原检测中的应用

徐双双, 王 尉, 陈尔凝, 贺天雨, 赵新颖*

(北京市理化分析测试中心, 有机材料检测技术与质量评价北京市重点实验室, 北京 100094)

摘 要: 本文简要介绍了食品过敏原的检测特点和难点, 比较了目前常用的聚合酶链式反应法、环介导等温扩增法、酶联免疫法、液相色谱法和液相色谱质谱法等检测方法的优劣势。主要介绍了电泳技术的特点, 总结了经典电泳技术在食品过敏原分析上的应用现状。详细介绍了近年来毛细管电泳技术在食品过敏原检测研究方面取得的进展, 列举了区带毛细管电泳法、亲和毛细管电泳法、凝胶毛细管电泳法、动态涂层毛细管电泳法和芯片毛细管电泳法在致敏蛋白分析方面的应用, 并对电泳法在食品过敏原分析中的发展趋势进行了展望。

关键词: 食品; 过敏原; 电泳法; 毛细管电泳法

Application of electrophoresis in the detection of food allergens

XU Shuang-Shuang, WANG Wei, CHEN Er-Ning, HE Tian-Yu, ZHAO Xin-Ying*

(Beijing Centre for Physical & Chemical Analysis, Beijing Key Laboratory of Organic Materials Testing Technology & Quality Evaluation, Beijing 100094, China)

ABSTRACT: This paper briefly introduced the detection characteristics and difficulties of food allergens and compared the advantages and disadvantages of the commonly used detection methods such as polymerase chain reaction (PCR), loop mediated isothermal amplification (LAMP), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), liquid chromatography (LC) and liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS). At the same time, this article mainly introduced the characteristics of electrophoresis technology, summarized the application status of classical electrophoresis technology in food allergen analysis, introduced the progress of capillary electrophoresis in the detection of food allergens in recent years in detail, listed the advantages and disadvantages of capillary zone electrophoresis (CZE), affinity capillary electrophoresis (ACE), capillary gel electrophoresis (CGE), dynamic coated capillary electrophoresis (DCCE) and chip capillary electrophoresis (Chip-CE) in the analysis of allergenic proteins, and prospected the development trend of electrophoresis in food allergen analysis.

KEY WORDS: food; allergens; electrophoresis; capillary electrophoresis

1 引 言

过敏反应是指机体受抗原刺激后, 产生相应的特异性抗体, 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^[1]。引

起过敏反应的抗原被称为过敏原, 一般为相对分子质量 10~70 kD 的蛋白质或糖蛋白^[2,3]。国际食品法典委员会认为世界范围内临床 90%以上的过敏反应由 8 类食品引起: 奶类、禽蛋类、鱼类、甲壳类水生动物、花生、大豆、坚果和小麦^[4]。食品过敏的症状主要有荨麻疹、呕吐和哮喘

基金项目: 国家自然科学基金项目(2187040461)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China(2187040461)

*通讯作者: 赵新颖, 博士, 副研究员, 主要研究方向为分析化学。E-mail: 361562040@qq.com

*Corresponding author: ZHAO Xin-Ying, Associate Research Fellow, Beijing Centre for Physical & Chemical Analysis, NO.7, Fengxian Road, Haidian District, Beijing 100094, China. E-mail: 361562040@qq.com

等,严重的会导致过敏性休克甚至死亡。因此,避免食用含有过敏原的食品是目前最有效的预防方法^[5]。实际上,食品种类繁多,成分复杂,过敏原的含量较低,快速准确找到过敏原是非常困难的。本文详细介绍了近年来电泳技术在食品过敏原检测研究方面取得的进展,并对毛细管电泳法应用于食品过敏原分析中的发展趋势进行了展望。

2 现行检测方法

目前,食品过敏原的检测方法主要有临床皮肤实验和直接食品过敏原检测法。与皮肤实验相比,食品中过敏原的检测不需要直接接触受试者,安全性更高,但是相对检测时间较长。因此,过敏原的体外检测是当前发展的趋势和研究的重点^[6]。Gasilova 等^[7]发表了体外食品过敏和过敏原检测技术的综述,列出了各种方法的原理、检出限、样品的类型和需要的体积及检测时间等重要参数。以 DNA 为检测对象,利用聚合酶链式反应法(polymerase chain reaction, PCR)和环介导等温扩增法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)检测食品中的过敏原是一种主要的方法,如我国现行的 SN/T 1961-2013《出口食品过敏原成分检测》^[8]、SN/T 4419-2016《出口食品常见过敏原 LAMP 系列检测方法》^[9]和 SN/T 4417-2016《常见食品过敏原可视芯片检测方法》^[10]。直接检测过敏原的方法有酶联免疫法和色谱法。我国现行的 SN/T 1961-2013《出口食品过敏原成分检测》中有 2 类采用了酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[11]。色谱法以高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和液相色谱-质谱联用法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)应用最为广泛^[12,13]。通过对上述方法的简单比较得知,直接检测食品中的致敏蛋白更加符合实际需求(表 1)。

电泳法也是基于分离技术的检测方法,根据溶液中目标物的电荷和质量不同,通过外加电场作用在惰性介质中形成狭窄的区带,在紫外光下实现分子量、等电点、纯度等参数的准确测定。与 HPLC 和 HPLC-MS 法相比,电泳法最大的优势是不使用色谱柱,降低了吸附的干扰。因此,该技术在 DNA 和蛋白质分析中具有不可替代的优势。根据分离通道不同,电泳法又分为经典电泳法和毛细管电泳法。本文重点讨论了这 2 种模式在食品过敏原检测中的应用进展。

3 经典电泳法

经典电泳法是蛋白质或核酸在琼脂糖凝胶、聚丙烯酰胺凝胶等惰性支持介质中,有外加电场时,按各自的速度进行泳动,组分按照分子量或等电点分离成狭窄的区带,并被检测的方法。二维电泳(two-dimensional electrophoresis,

2-DE),通过第一向使等电点不同的蛋白质得到分离,再利用第二向使分子量不同的蛋白得到分离,两向结合得到高分辨率的蛋白图谱,对总蛋白质进行分离甚至完成蛋白质定性的方法。一般情况下,电泳法用于食品过敏原的表征需要和 Western blot 或 ELISA 同时使用。该方法的优点是操作简便、成本低;不足是需样量大,灵敏度较低。本文整理了近 5 年我国在电泳法测定食品过敏原方面的相关报道(表 2),由此可知,经典电泳法测定食品中的过敏原主要集中在蛋白质的检测;SDS-PAGE 结合 Western blot 技术解决了分离、检测和评价的问题,是日常食品过敏原检测的重要方法;基本涵盖了 8 类食品过敏原的检测。

经典电泳法可通过切胶回收操作将蛋白和 DNA 进行纯化,同时完成分离和制备实验。这也是该项技术独有的优势。作为检测方法,该技术需样量大、灵敏度低,而致敏蛋白的浓度普遍不高。因此,即使搭配很好的前处理方法,经典电泳技术也不能避免假阴性的结果。此外,该项技术的分离时间长,分离效率较低,商业化的试剂盒并不成熟,对环境不够友好。这些都不利于经典电泳技术在食品过敏原检测方面的应用。

4 毛细管电泳法

毛细管电泳法(capillary electrophoresis, CE)是对经典电泳技术的一项重大改进。通过提高外加电压(V 到 kV),降低分离通道直径(mm 到 μm),大大提升了分离效率,减少了进样量和溶剂。CE 法的主要优势有:分离效率高,100~500 V/m 的高电场强度下,能实现每米几十万至上百万理论塔板数的柱效;分离模式多,且各模式之间转换容易,使得应用广泛,既能分析极性或非极性小分子,又能分析 DNA、多肽、蛋白质等生物大分子;分析速度快,样品分析一般只需要几秒到十几分钟;进样体积小(1~50 nL),试剂用量少,有利于珍贵样品的分析;对环境友好,分离一般在水溶液中进行,基本无有机相。与经典电泳技术相比,目前商品化的 CE 都可以实现和紫外检测器(ultraviolet detector, UV)、二极管阵列检测器(photo-diode array detector, PDA)和激光诱导荧光检测器(laser induced fluorescence detector, LIF)的联用。此外,CE 商品化试剂盒成熟,操作简便,自动化程度高。这些优势促进了 CE 技术在食品过敏原方面的应用。目前,在食品过敏原检测方面主要有毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis, CZE)、免疫亲和毛细管电泳法(immunoaffinity capillary electrophoresis, IACE)、毛细管凝胶电泳(capillary gel electrophoresis, CGE)、动态涂层毛细管电泳法(dynamic coating capillary electrophoresis, DCCE)和芯片毛细管电泳法(Chip-CE)模式。

4.1 区带毛细管电泳法

CZE 是最为常用的一种毛细管电泳模式,具有溶液

表 1 现行过敏原检测方法的优劣比较
Table 1 Comparison of advantages and disadvantages of current allergen detection methods

检测对象	方法名称	英文全称	英文简称	优点		不足
DNA	聚合酶链式反应法	polymerase chain reaction	PCR	目标物明确、假阳性率低	能确物种但不能确定过敏原来源和品种；致敏蛋白在深加工过程中被降解或者破坏时不适用。	
	环介导等温扩增法	loop-mediated isothermal amplification	LAMP	反应特异性强、检测速度快		
	酶联免疫法	enzyme-linked immunosorbent assay	ELISA	直接检测、实用性强、灵敏度高、试剂盒成熟、操作简便	不能实现多种过敏原的高通量检测；容易发生交叉反应。	
蛋白质	液相色谱法	high performance liquid chromatography	HPLC	直接检测、分离能力强、灵敏度高、准确定好、直接定量定性检测	致敏蛋白前处理的水解处理影响准确性；检测过程中的色谱柱吸附影响灵敏度。	
	液相色谱质谱法	liquid chromatography-mass spectrometry	LC-MS			
	经典电泳法	polyacrylamide gel electrophoresis	PAGE	直接间接检测均可、可以制备、操作简便、成本低	需样量大、灵敏度较低、定性能力不足	
	毛细管电泳法	capillary electrophoresis	CE	直接间接检测均可、分离效率高、需样量少、环境友好	检测灵敏度较低、定性能力不足	

表 2 电泳法测定食品中过敏原
Table 2 Determination of allergens in food by electrophoresis

分类	食品	主要致敏蛋白	检测方法	参考文献
鱼类	鲤鱼、鲢鱼、鲫鱼、黄鳍鲷、金鲷	小清蛋白	SDS-PAGE & Western blot	[14]
	加工食品(鳕鱼、鲢鱼、鲮鱼、沙丁鱼、鳗鱼)	pI & MW(7.36, 47 kDa)、(9.13, 38 kDa)、(8.70, 38 kDa)和(8.14, 38 kDa)	双向电泳(IEF & SDS-PAGE) & Western blot	[15]
	草鱼			
	中华草龟	36 kD 蛋白质	SDS-PAGE & Western blot	[16]
	海鲈鱼	10 kD 左右的小清蛋白	SDS-PAGE & ELISA	[17]
	虹鳟鱼、大菱鲆鱼和大口黑鲈鱼	12 kDa 蛋白质	SDS-PAGE & ELISA	[18]
	中华鳖	42 kD 和 64 kD 蛋白质	SDS-PAGE & Western blot	[16]
	菲律宾蛤仔	原肌球蛋白(37 kDa 左右,等电点为 5.1)	SDS-PAGE & ELISA	[19]
	凡纳滨对虾	烯醇化酶(47 kD)	SDS-PAGE & Western blot & MALDI-TOF/TOF-MS	[20]
	中华绒螯蟹	200 kD、125 kD、51 kD、43 kD、38 kD 蛋白质	SDS-PAGE & Western blot	[21]
甲壳类水生动物	中华绒螯蟹	血蓝蛋白(70~80 kD)	SDS-PAGE & Western blot 质谱	[22]
	拟穴青蟹	青蟹精氨酸激酶	SDS-PAGE & Western blot	[23]

续表 2

分类	食品	主要致敏蛋白	检测方法	参考文献
花生	花生	Ara h 1、Ara h 2/6、Ara h 3	SDS-PAGE & Western blot & ELISA	[24]
	花生	Ara h 1、Ara h 2、Ara h 3、Ara h 6、Ara h 7、Ara h 8、Ara h 12、Ara h 13	SDS-PAGE & HPLC-MS	[25]
	花生	15 kD和60 kD蛋白(提取)	SDS-PAGE	[26]
	花生	Ara h 1、Ara h 2、Ara h 3/4、Ara h 6	SDS-PAGE & ELISA	[27]
大豆	大豆	GlymBd 30K、GlymBd 28K、GlymBd 60K	—	[28]
	大豆	β -伴大豆球蛋白(7S 伴大豆球蛋白)	SDS-PAGE	[29]
	开心果	23 kD 蛋白质		
	白芝麻、黑芝麻	22 kD 蛋白质		
坚果	腰果	20 kD 蛋白质	SDS-PAGE & Western blot	[30]
	核桃	54 kD 蛋白质		
	腰果	Ana o 3 蛋白(~27 kDa)	SDS-PAGE	[31]
小麦	小麦	α/β 、 γ 、 ω -醇溶蛋白; 低分子质量麦谷蛋白亚基和高分子质量麦谷蛋白亚基	SDS-PAGE & Western blot & ELISA	[24]
水果	芒果	100 kDa 和 35 kDa 蛋白, pI>6.5(儿童)	SDS-PAGE & Western blot	[32]

组成简单、分离条件多样、方式灵活的优势,在食品致敏原分析中的应用最为广泛,但该法的检测灵敏度不高。王彦波等^[33-36]在硼酸缓冲溶液(pH 9.0~9.2)的运行缓冲溶液、分离电压 15 kV、检测波长 214 nm 条件下对鱼类胶原蛋白、甲壳类精氨酸激酶、鱼类小清蛋白和虾原肌球蛋白进行检测。检测线性范围是 5~100 $\mu\text{g/mL}$, 相关性系数 r^2 大于 0.995, 精密度(relative standard deviation, RSD)<6%($n=6$), 回收率高于 95%, 灵敏度达到 0.1 $\mu\text{g/mL}$ ($S/N>3$)。郭岩^[37]在 25 mmol/L 硼酸-硼砂缓冲液(pH 9.2)的运行缓冲液中, 检测波长 214 nm, 分离电压 15 kV 时在 5 min 内测定了检测鱼类过敏原小清蛋白的含量。在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 线性相关系数 r^2 为 0.994, 检出限($S/N=3$)为 2.31 $\mu\text{g/mL}$, 加标回收率在 91%~116%之间, 测定结果的相对标准偏差为 7.4%($n=6$)。刘一等^[38]在 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0), 检测波长 205 nm, 压力进样 5 kPa $\times$ 10 s 下, 实现了 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白的基线分离和痕量检测。 α -乳清蛋白在 10~250 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, β -乳球蛋白在 40~1000 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 线性相关系数 r^2 均为 0.999, 检出限分别为 3.0 和 12 mg/L。二者在高、中、低 3 种浓度下加标回收率分别为 71%和 50%, 基本无样品基质的干扰。目前报道的案例说明, CZE 法主要以蛋白质为检测对象, 浓度线性范围基本在 20 倍以上, 检出限达到 $\mu\text{g/mL}$ 级, 分析时间大概在 5 min 左右。

4.2 免疫亲和毛细管电泳法

IACE 法将免疫亲和反应引入毛细管中, 成功克服了 CZE 模式的不足, 提高了检测的灵敏度。Gasilova 等^[39]报道了 IACE 结合基质辅助激光解吸电离质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrum, MALDI-MS)测定牛奶中 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白的方法。将带有抗体的磁珠置于毛细管内富集 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白, 并利用质谱法进行定性和定量检测。利用 IACE-MS 分析, 得到 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白的最低检出限分为 0.03 和 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 。最后利用 IACE-UV 和 IACE-MALDI-MS 测得牛奶中的 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白含量分别为 (0.15 $\pm$ 0.01) mg/mL 和 (0.52 $\pm$ 0.03) mg/mL, IACE-MALDI-MS 检测的结果分别为 (0.13 $\pm$ 0.02) mg/mL 和 (0.47 $\pm$ 0.05) mg/mL。与 CZE 法相比, IACE 的灵敏度至少提升了 10 倍以上, 且结果稳定性好。随后该课题组^[40]将抗人 IgE 抗体和病人 IgE 抗体复合物通过化学十字交联修饰磁珠表面后, 分别和牛奶中的蛋白结合, 再利用 IACE-UV 和 MALDI-MS 检测确定致敏蛋白质, 发现有牛血清、乳铁传递蛋白和 α -酪蛋白和抗体相结合, 并用经典的酶联免疫法对该结果进行了确证。此外, 刘志刚等^[41]发明了一种基于 IACE-UV 的仪器, 利用异硫氰酸荧光素进行目标物标记, 旋转扫描激光诱导荧光检测, 可降低毛细管的吸附, 能够高效、特异、定量检测花生、大豆、小麦、蛋、鱼类、贝

壳类、坚果类、水果及蔬菜类的过敏原。

4.3 凝胶毛细管电泳法

CGE 通过在运行缓冲溶液中加入筛分介质对目标物进行筛分, 可根据分子量对目标物进行分离, 是测定蛋白质和 DNA 分子量的主要方法。Pelaez 等^[42]使用 β -巯基乙醇(β -ME)、盐酸胍和硼砂的混合溶液将蛋白质中的二硫键和氢键完全打开, 在 6 mmol/L 硼砂-6 mmol/L SDS (pH 9.0) 的运行缓冲溶液中, 以罗丹明为内标物, CGE 模式和激光诱导荧光检测(laser induced fluorescence detection, LIF)可在 12 min 内实现婴儿食品中低含量的 β -乳球蛋白的检测。在 2×10^{-5} 到 2×10^{-2} mg/mL 范围内, 相关性 r 为 0.9976, 检出限约为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。与 Gasilova 等^[7]报道的 IACE-MS 结果相比, 灵敏度提高了 1000 倍左右。这说明, 在合适的电泳条件下, LIF 检测器的使用可有效提升毛细管电泳法的灵敏度。此外, Cheng 等^[43]建立了十重定量 PCR 结合毛细管电泳法测定 10 种食品的过敏原的方法, 绝对定量限为 2-20 单体拷贝, 相对定量限为 0.005%(w/w), 用于 20 种市售食品过敏原的检测, 稳定性好, 具有推广使用的潜质。CGE 法代替 SDS-PAGE 对 PCR 产物进行测定, 发挥了 CE 技术在生物分析检测方面的独特优势。

4.4 动态涂层毛细管电泳法

DCCE 是在缓冲液中添加特定的物质形成动态涂层, 有效降低目标物的吸附, 提升检测的稳定性和灵敏度的一种方法。Zheng 等^[44]利用阳离子聚合物聚凝胺(positive ion hexadimethrine bromide, PB)和阴离子聚合物聚苯乙烯磺酸钠(polymer anionic sodium polystyrene sulfonate, PSS)在毛细管内壁进行非共价的双层修饰, 形成的 PB-PSS 层可以使蛋白质在 pH 2~10 范围内有效保障蛋白质保持迁移时间的稳定性和重现性。该方法用于模拟胃液测定, 得到 β -乳球蛋白 A、 β -乳球蛋白 B、牛血清白蛋白、卵类粘蛋白和溶菌酶分别为 4.3%、17.2%、17.7%、23.4%和 22.8%。Fu 等^[45]利用离子交换色谱法(ion exchange chromatography)对复杂海产品中的精氨酸激酶和原肌球蛋白进行提取, 然后利用 DCCE 在 30 mmol/L 硼酸-硼砂缓冲液-吐温 20(V/V 为 0.3%, pH 9.0)的运行缓冲液中实现了精氨酸激酶和原肌球蛋白的定量检测, 检测限分别为 1.2、1.1 $\mu\text{g/mL}$ ($S/N=3$), 定量限分别为 4.0 和 3.7 $\mu\text{g/mL}$ ($S/N=10$), 回收率分别是 91.5%~106.1%和 94.0%~109.5%。该模式的优势是有效降低了吸附, 但灵敏度与 CZE 模式基本一致, 低于 IACE 和 CGE 模式。

4.5 芯片毛细管电泳法

Chip-CE 是阵列毛细管电泳法的一种, 其主要优点是极大的增加了检测通量。Zienkiewicz 等^[46]基于芯片毛细管电泳法对橄榄花粉提取物过敏诊断和免疫治疗进行了研究,

得到最低检测限大约为 2.5 ng/L, 分析时间大约需要 0.5 min。与 Cheng 等^[43]报道的 CGE-LIF 相比, 该方法的检测灵敏度又提升了 100 倍, 同时检测时间大幅度缩短, 检测速度基本可以和临床皮肤实验媲美, 可以实现现场检测。该方法简单快速, 易于商业化, 具有很大的市场潜力。但是, 该方法不能对致敏蛋白进行定性, 对没有标准品及对照品的蛋白来说, 分析还具有一定的困难。

5 展 望

相较于 PCR 法、免疫法和液相色谱法, 电泳法可直接对蛋白质和 DNA 进行分离和分析, 且不依赖于填料, 使得电泳法具有普适性。经典电泳法作为最重要的方法与 Western blot 或 ELISA 联用, 可解决分离、检测和评价难的问题, 普适性好, 但检测灵敏度较低。毛细管电泳法分离模式多样, 样品用量少、分离效率高, 替代部分经典电泳实验已成为必然趋势。随着毛细管电泳法串联质谱技术 (capillary electrophoresis-mass spectrometry, CE-MS) 的日趋成熟^[47], 有望实现高效、快速地定性和定量分析。而基于芯片的阵列毛细管电泳法, 为实现高通量检测提供了可能性。综上所述, 毛细管电泳技术有望成为食品过敏原检测的最有效工具。

参考文献

- [1] 顾克飞, 李春红, 高美须, 等. 食品过敏原及检测技术的研究进展[J]. 食品科技, 2006, (8): 1-4.
- [2] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [3] Nanda, PK, Rao KK, Kar RK, *et al.* Biodegradable plastics of soy protein isolate modified with thiourea [J]. J Therm Anal Calorim, 2007, 89(3): 935-940.
- [4] 陈颖, 王玮. 食品过敏原检测方法研究进展[J]. 检验检疫学刊, 2011, 21(3): 4-9.
- [5] 陈聘, 张焕萍, 马赞厢. 食品过敏研究新进展[J]. 中华临床医师杂志, 2017, 11(5): 855-858.
- [6] 李晓辉. 水产品主要过敏原快速定量检测及过敏原性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- [7] Gasilova N, Girault HH. Bioanalytical methods for food allergy diagnosis, allergen detection and new allergen discovery [J]. Bioanalysis, 2015, 7(9): 1175-1190.
- [8] SN/T 1961.1-19-2013 出口食品过敏原成分检测[S].
- [9] SN/T 4419.1-22-2016 出口食品常见过敏原 LAMP 系列检测方法[S].
- [10] SN/T 4417-2016 常见食品过敏原可视芯片检测方法[S].
- [11] 罗春萍, 高金燕, 胡纯秋, 等. 花生过敏原 Ara h 6 的分离纯化及鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 76-80.
- [12] 古淑青, 赵超敏, 程甲, 等. 基于质谱技术的食品过敏原检测方法研究进展[J]. 色谱, 2016, 34(7): 639-646.
- [13] 熊丽姬, 佟平, 肖娜, 等. 基于液相色谱-质谱联用技术检测食品过敏原研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 274-279.
- [14] 汪宁, 王锡昌, 蔡秋风, 等. 鱼类肌肉中过敏蛋白的检测与分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, 47(2): 141-145.
- [15] 陈献雄, 邹玉兰, 刘志刚. 草鱼过敏原蛋白的分离及其免疫学特性初步鉴定[J]. 南昌大学学报(医学版), 2018, 58(1): 32-35.
- [16] 毛露甜, 马伟兵. 中华鳖和中华草龟的过敏原组分分析[J]. 惠州学院学报(自然科学版), 2015, 35(6): 20-23.
- [17] 高卿, 李振兴, 米娜莎, 等. 海鲈鱼肉发酵过程中小清蛋白 IgE 结合能力的变化[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 88-94.
- [18] 石径, 罗永康, 江米足. 多种鱼类肌浆蛋白与过敏患者血清特异性 IgE 结合情况检测与分析[J]. 中国渔业质量与标准, 2017, 7(1): 22-28.
- [19] 吕良涛, 蔺海鑫, 高卿. 菲律宾蛤仔过敏原原肌球蛋白的鉴定与分子克隆[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(11): 4538-4544.
- [20] 谈思怡, 黄建芳, 孙一帆, 等. 凡纳滨对虾新过敏原烯醇化酶的鉴定[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(6): 808-811.
- [21] 朱黎娜, 侯丽英, 张盈莹, 等. 不同方法提取和处理中华绒螯蟹组织蛋

- 白的过敏原组分分析[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(12): 1652–1657.
- Zhu LN, Hou LY, Zhang YY, *et al.* Analysis of allergic components in tissue protein of *Eriocheir sinensis* with different extraction and processing methods [J]. Chin J Immunol, 2014, 30(12): 1652–1657.
- [22] 张盈莹, 朱黎娜, 李韶深, 等. 血蓝蛋白是中华绒螯蟹重要的高分子量过敏原[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(10): 1375–1384.
- Zhang YY, Zhu LN, Li SS, *et al.* Hemocyanin is an important high-molecular-weight allergen of *Eriocheir sinensis* [J]. Chin J Immunol, 2015, 31(10): 1375–1384.
- [23] 费丹霞. 酶法交联结合热处理对青蟹精氨酸激酶致敏性的影响[D]. 厦门: 集美大学, 2016.
- Fei DX. Allergenicity of enzymatic cross-linked thermal polymerized arginine kinase, the crab allergen [D]. Xiamen: Jimei University, 2016.
- [24] 饶欢, 田阳, 李玺, 等. 饼干模型对小麦及花生过敏原消化稳定性和免疫活性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 122–128.
- Rao H, Tian Y, Li X, *et al.* Effect of model biscuits on digestive stability and immunoreactivity of wheat and peanut allergens [J]. Food Sci, 2018, 39(21): 122–128.
- [25] 唐宇, 张英, 李坤, 等. 水煮不影响花生过敏原数量和一级结构[J]. 南昌大学学报(理科版), 2018, 42(4): 358–363.
- Tang Y, Zhang Y, Li K, *et al.* The amount and primary structure of peanut allergens might not be influenced by boiled process [J]. J Nanchang Univ (Nat Sci Ed), 2018, 42(4): 358–363.
- [26] 段筱筠, 张爱琳, 苗颖, 等. 花生过敏原初步分离纯化及紫外光谱分析[J]. 上海农业学报, 2017, 33(6): 91–95.
- Duan XY, Zhang AL, Miao Y, *et al.* Preliminary separation and purification and ultraviolet spectrum analysis of peanut allergens [J]. ACTA Agric Shanghai, 2017, 33(6): 91–95.
- [27] 常雪娇, 李坤, 张英, 等. 晒干处理对花生过敏原蛋白潜在致敏性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(3): 49–54.
- Chang XJ, Li K, Zhang Y, *et al.* Effect of sun-drying on potential allergenicity of peanut allergens [J]. Food Sci, 2018, 39(3): 49–54.
- [28] 高学梅, 席俊, 陆启玉. 大豆中主要过敏原的研究现状和展望[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(12): 9–11.
- Gao XM, Xi J, Lu QY. Present situation and prospects of major soybean allergens [J]. Cereals Oils, 2014, 27(12): 9–11.
- [29] 蒋栋磊, 葛攀玮, 程凯, 等. 大豆过敏原 β -伴大豆球蛋白提取纯化工艺研究[J]. 食品安全导刊, 2017, (8): 134–137.
- Jiang DL, Ge PW, Yu CK, *et al.* China study on extraction and purification of soybean allergen β -glycinin [J]. China Food Saf Magaz, 2017, (8): 134–137.
- [30] 张爱琳, 王昌禄, 胡云峰, 等. 坚果类过敏原的分离及免疫印迹分析[J]. 现代食品科技, 2014, 30(3): 99–103.
- Zhang AL, Wang CL, Hu YF, *et al.* Isolation of allergens in nuts and analysis on western blotting [J]. Mod Food Sci Technol, 2014, 30(3): 99–103.
- [31] 闫娟娟, 余佃田, 张嘉懿, 等. 腰果主要过敏原 Ana o 3 的重组表达与鉴定[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(1): 37–41.
- Yan JJ, She TT, Zhang JY, *et al.* Prokaryotic expression and identification of recombinant cashew nut allergen Ana o 3 [J]. Chin J Food Hyg, 2017, 29(1): 37–41.
- [32] 曹会, 蔡德丰, 许晓璇, 等. 儿童芒果果实过敏原研究[J]. 南昌大学学报(医学版), 2017, 57(4): 14–20.
- Cao H, Cai DF, Xu XX, *et al.* Allergen profile of mango fruit in children [J]. J Nanchang Univ (Med Sci Ed), 2017, 57(4): 14–20.
- [33] 王彦波, 傅玲琳, 周瑾茹, 等. 一种用毛细管电泳快速检测鱼类小清蛋白的方法: 中国, 105911127 A[P]. 2006-04–14.
- Wang YB, Fu LL, Zhou JR. *et al.* A method for rapid detection of small albumin in fish by capillary electrophoresis: CN, 105911127 A [P]. 2006-04–14.
- [34] 王彦波, 傅玲琳, 周瑾茹, 等. 一种用毛细管电泳快速检测虾原肌球蛋白的方法: 中国, 105865886 A[P]. 2006-04–14.
- Wang YB, Fu LL, Zhou JR. *et al.* A rapid detection method of shrimp myosin by capillary electrophoresis: CN, 105865886 A [P]. 2006-04–14.
- [35] 傅玲琳, 王彦波, 赵淑淑. 一种用毛细管电泳快速检测鱼类胶原蛋白的方法: 中国, 105675695 A[P]. 2006-04–14.
- Fu LL, Wang YB, Zhao SS. A method for rapid detection of collagen in fish by capillary electrophoresis: CN, 105675695 A [P]. 2006-04–14.
- [36] 傅玲琳, 王彦波, 赵淑淑. 一种用毛细管电泳快速检测甲壳类精氨酸激酶的方法: 中国, 105938119 A[P]. 2006-04–14.
- Fu LL, Wang YB, Zhao SS. A rapid detection method of a method for rapid determination of arginine kinase in crustaceans by capillary electrophoresis: capillary electrophoresis: CN, 105938119 A [P]. 2006-04–14.
- [37] 郭岩. 鱼类主要过敏原小清蛋白的单克隆抗体制备及其金磁酶联免疫体系的构建[D]. 上海: 上海师范大学, 2017.
- Guo Y. Preparation of monoclonal antibody against major allergen of fish and construction of its enzyme-linked immunosorbent system [D]. Shanghai: Shanghai Normal University Dissertation for Master Degree, 2017.
- [38] 刘一, 廖一平, 白玉, 等. 毛细管区带电泳高效分离和高灵敏检测 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白[J]. 分析化学研究简报, 2013, 41(10): 1597–1600.
- Liu Y, Liao YP, Bai Y, *et al.* Separation and sensitive detection of α -lactalbumin and β -Lactoglobulin by capillary zone electrophoresis [J]. Chin J Anal Chem, 2013, 41(10): 1597–1600.
- [39] Gasilova N, Gassner AL, Girault HH. Analysis of major milk whey proteins by immunoaffinity capillary electrophoresis coupled with MALDI-MS [J]. Electrophoresis, 2012, 33(15): 2390–2398.
- [40] Gasilova N, Girault HH. Component-resolved diagnostic of cow's milk allergy by immunoaffinity capillary electrophoresis-matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2014, 86(13): 6337–6345.
- [41] 刘志刚, 余晓, 吴海强. 一种检测食品过敏源的仪器: 中国, 1844928A [P]. 2006-03–21.
- Liu ZG, Yu X, Wu HQ. An instrument for detecting food allergens: CN, 1844928A [P]. 2006-03–21.
- [42] Pelaez LC, Diez MJC, Vasallo I, *et al.* A new sample preparation method compatible with capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence for improving detection of low levels of beta-lactoglobulin in infant foods [J]. Anal Chim ACTA, 2009, 649(2): 202–210.
- [43] Cheng F, Wu J, Zhang J, *et al.* Development and inter-laboratory transfer of a decaplex polymerase chain reaction assay combined with capillary electrophoresis for the simultaneous detection of ten food allergens [J]. Food Chem, 2016, 15(199): 799–808.
- [44] Zheng C, Liu Y, Zhou Q, *et al.* Capillary electrophoresis with noncovalently bilayer-coated capillaries for stability study of allergenic

proteins in simulated gastrointestinal fluids [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 878(28): 2933–2936.

- [45] Fu LL, Zhou JR, Wang C, *et al.* Ion-exchange chromatography coupled with dynamic coating capillary electrophoresis for simultaneous determination of tropomyosin and arginine kinase in shellfish [J]. *Front Chem*, 2018, 6(305): 1–10.

- [46] Zienkiewicz A, Zienkiewicz K, Florido F, *et al.* Chip-based capillary electrophoresis profiling of olive pollen extracts used for allergy diagnosis and immunotherapy [J]. *Electrophoresis*, 2014, (35): 2681–2685.

- [47] 孙森, 李林森, 朱超, 等. 2017 年毛细管电泳技术年度回顾[J]. *色谱*, 2018, 36(4): 327–333.

Sun M, Li LS, Zhu C, *et al.* Annual review of capillary electrophoresis technology in 2017 [J]. *Chin J Chromatogr*, 2018, 36(4): 327–333.

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



徐双双, 硕士, 工程师, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: 316533886@qq.com



赵新颖, 博士, 副研究员, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: 361562040@qq.com