

食品过敏原检测技术研究进展

郭颖慧^{1,2}, 霍胜楠^{1,2*}, 孟 静^{1,2}, 孙潇慧^{1,2}

(1. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101;

2. 山东省特殊医学用途配方食品质量控制工程技术研究中心, 济南 250101)

摘 要: 目前食物过敏在人群中的发生率呈明显上升趋势, 食物过敏已成为突出的食品安全问题。食物过敏事故最有效的预防方式是过敏者避免食用过敏食物, 因此检测不同食物中是否含有过敏原具有十分重要的意义。本文比较了食品法典委员会、澳大利亚、加拿大、中国、欧盟、日本、南非、美国对食品过敏原标识管理的情况, 综述了基于蛋白水平的酶联免疫(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)法、免疫层析技术和基于核酸水平的实时荧光定量 PCR 技术、环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)检测食物过敏原的方法, 探讨了质谱法以及生物芯片、生物传感器等其他新兴检测技术在过敏原检测领域的应用, 有利于加强食品质量监管的力度, 确保食品安全。

关键词: 食品过敏; 过敏原; 标识管理; 检测技术

Research progress of detection technologies for allergen in food

GUO Ying-Hui^{1,2}, HUO Sheng-Nan^{1,2*}, MENG Jing^{1,2}, SUN Xiao-Hui^{1,2}

(1. Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Shandong Quality Control Engineering Technology Research Center of Foods for Special Medical Purpose, Jinan 250101, China)

ABSTRACT: At present, the incidence of food allergy in the population has increased significantly, and food allergy has become an outstanding food safety issue. The most effective way to prevent food allergy accidents is to avoid allergic foods in allergic people. Therefore, it is very important to detect whether allergens are contained in different foods. This paper compared the management of food allergens in the Codex Alimentarius Commission, Australia, Canada, China, the European Union, Japan, South Africa, and the United States, and reviewed the enzyme-linked immune o sorbent assay (ELISA) method based on protein level, immunochromatography and real-time quantitative PCR based on nucleic acid level, loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for detecting food allergens, and discussed the application of mass spectrometry, biochips, biosensors and other emerging detection technologies in the field of allergen detection. It is conducive to strengthen the supervision of food quality and ensure food safety.

KEY WORDS: food allergy; allergen; labeling management; detection technology

1 引 言

据儿童食物过敏与不良反应调查, 中国31个城市0~14岁儿童食物过敏的家长报告率为5.83%, 在不同地区、

不同城市及不同年龄段儿童, 食物过敏患病率存在显著差异, 青岛食物过敏患病率最高为9.11%, 拉萨最低为2.33%^[1]。伴随着食物过敏性疾病发生的逐年提高, 食物过敏问题现已成为食品安全领域较为突出的问题。过敏反应

*通讯作者: 霍胜楠, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: huosn@163.com

*Corresponding author: Huo Sheng-Nan, Ph.D, Professor, Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China. E-mail: huosn@163.com

不仅严重影响患者生活质量,严重者还会危及其生命。例如越来越多的学者认为过敏反应与特发性内耳疾病——梅尼埃病可能相关^[2]。食品过敏原具有极强的稳定性,不仅耐消化道作用,还耐热、耐蛋白分解、水解和消化^[3]。例如,经水煮、油炸和红烧3种烹饪方式处理过的凡纳滨对虾肉,其过敏原原肌球蛋白的免疫活性并未完全消失^[4]。研究表明,蛋白质二级结构中的 β -转角结构较易成为抗原表位^[5], β -乳球蛋白是牛乳中的主要过敏原,在pH中性条件下, β -乳球蛋白基本上都是以二聚体的形式存在的,而二聚体的增加使其致敏性增加^[6,7]。然而,极少量的过敏原便可以导致过敏反应,且可能导致过敏反应的过敏原成分组成复杂。随着生物技术的快速发展,食品科技工作者的将目光转向脱敏技术和制造低致敏性食品^[8-12],包括物理化学方法、酶法和生物学3类方法。例如,Shridhar等^[13]将苹果的过敏原Mal d 1(*Malus domestica* 1)基因沉默(gene silencing),Nina等^[14]对花生主要过敏原Ara h 2(*Arachis hypogaea* 2)进行修饰,从而使大多数对此过敏的病人减少,罗春萍等^[15]研究发现⁶⁰Co- γ 辐照处理可以有效降低花生过敏原Ara h 2蛋白的致敏性。然而,这些方法仅能部分去除食品的致敏性,或者只能使部分人群患病率降低^[16,17]。因此,食品过敏原管理不同于其他食源性危害,过敏原管理充满了挑战。

本文对食品过敏原的常用检测方法和新兴检测技术进行了综述,并对检测方法的未来发展趋势进行展望,为促进食品过敏原检测方法的研究与开发提供参考。

2 食品过敏原标识管理的地区差异

食物过敏事故是可以预防的,而食物过敏者避免食用是最有效的风险管理措施^[3],这就要求生产商在食品标签上正确标注引起过敏的成分,以防止消费者误食而引起过敏。90%以上的食物过敏由牛奶、鸡蛋、鱼、甲壳贝类、小麦、大豆、花生和树坚果这8类食物(“8大类”)引起^[18]。国际食品法典委员会、美国、欧盟、日本、澳大利亚等许多政府机构或组织均制定了针对食品过敏原以及食品标签的各种法令或条款^[19-21]。最容易导致1岁以下婴儿严重过敏的食物为:鸡蛋清、牛奶、鸡蛋黄^[22]。表1列出了部分地区对于食品过敏原标识管理的要求^[23]。动物源性食品和植物源性食品的过敏蛋白种类差异显著,据报道,牛奶中的主要过敏原为酪蛋白、乳球蛋白和乳清蛋白等,鸡蛋的主要过敏原为卵白蛋白^[24-28],而植物性产品如大豆的主要过敏原为大豆蛋白和大豆植物凝集素等^[29]。由于转基因作物的普及,转基因食品过敏原也已成为食品安全的潜在危害之一^[30]。

我国现阶段食品过敏原标识管理标准包含:GB 7718-2011《预包装食品标签通则》^[31]、GB/T 23779-2009《预包装食品中的致敏原成分》^[32]、SN/T4286-2015《出口预包装食品麸质致敏原成分风险控制及检验指南》^[33]

等。我国还尚未建立统一、协调的食品过敏原标识管理体系^[34],与其他地区与国家的标识要求相比,我国针对过敏原标识为推荐性标识,而非强制性标识。同时,检测技术难以满足行业需求。

3 食物中过敏原常用检测技术

根据检测对象可以将食品过敏原检测技术分为直接检测过敏原法(蛋白质)和间接检测过敏原法(检测引起食物过敏的过敏原标志物),依据检测技术原理进行分类,可分为蛋白水平-免疫学检测和基因水平-分子生物学检测^[34]。

3.1 蛋白水平-免疫学检测

3.1.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是基于酶标免疫原理建立的。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;无色底物转变为有色的产物,从而指示抗原-抗体复合物的存在;抗原ELISA检测分为2种类型——夹心型和竞争型^[35]。食物过敏是由表位引起的,食品加工会改变表位结构,从而影响其致敏性。抗体是免疫学检测的核心元件,传统单抗和多抗均不能特异性识别过敏原表位,在评估过敏原潜在致敏性方面存在不足。目前已有用特异性识别过敏原IgE表位的抗体来检测过敏原的报道^[36-40],可以检测过敏原致敏性残基,有助于体外初步预测过敏原的致敏性^[41]。赵凯等^[42]通过免疫和杂交瘤技术获得抗小麦球蛋白的单克隆抗体,纯化后抗体的效价均达到 $1:10^7$,通过免疫兔制备的多克隆抗体经纯化后效价在 $1:2.4 \times 10^5$ 左右,所建立的双抗体夹心ELISA方法最低检测限为10 ng/mL,为建立乳品中小麦成分掺假及过敏原成分快速检测提供理论依据。

3.1.2 免疫层析技术

免疫层析法(immunoassay, ICA)的原理是将特异的抗体先固定于硝酸纤维素膜的某一区带,当该干燥的硝酸纤维素一端浸入样品后,由于毛细管作用,样品将沿着该膜向前移动,当移动至固定有抗体的区域时,样品中相应的抗原即与该抗体发生特异性结合,若用免疫胶体金或免疫酶染色可使该区域显示一定的颜色,从而实现特异性的免疫诊断。传统免疫层析方法只在NC膜上固定一条检测线,只能定性检测一种过敏原,但目前已有报道在NC膜上固定多条检测线,可以同时多个目标物(或多个浓度)进行检测^[43,44]。随着免疫层析检测试纸条的问世,免疫层析技术进入快检市场,常用于现场检测和筛查,适用于工业实验室、食品饮料生产商、原料供应商、检测服务机构、餐饮和零售等无经验用户。

3.2 基因水平-分子生物学检测

3.2.1 实时荧光定量技术

实时荧光定量技术(quantitative real-time PCR)是以荧

光化学物质测定每次聚合酶链式反应循环后产物总量的方法,是食品过敏原检测应用的最为广泛的方法之一。许银叶等^[45]建立了实时荧光PCR法检测婴幼儿谷类辅助食品中麸质过敏原成分的含量,首次对大麦*Hordein*基因、小麦*Gliadin*基因、黑麦*Sec1*基因和燕麦*Avenin*基因进行考察,其检出限为0.1%。尚柯等^[46]通过建立实时荧光PCR方法,快速筛选样品的过敏原基因,简化了食品中过敏原成分的鉴定,该方法重复性好、准确率高、检出限为1%。两者均通过建立实时荧光PCR方法,实现了快速筛选样品中的过敏原基因,简化了食品中过敏原成分的鉴定。数字聚合酶链反应(digital PCR, dPCR)技术实现了从定性到定量检测的飞跃,Pierboni等^[47]首次利用dPCR技术,对食品中花生和大豆的过敏原进行检测。

3.2.2 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种全新的核酸扩增方法,能在等温条件下,短时间内进行核酸扩增。LAMP技术作为一种“简便、快速、精确、低价”的基因扩增方法,在分子生物

学检测领域的应用非常广泛。张懿翔等^[48]开发了一种用于检测牡蛎的高特异性LAMP引物,检测时间可缩短至25~45 min,通过结合荧光发色反应与扩增曲线分析,LAMP方法能更快地分析得到结果,证实LAMP技术适用于食品中过敏原牡蛎成分的检测,为今后其他海产品过敏原检测提供了新思路。Kim等^[49]开发了用于同时检测牛奶和山羊奶的双重环介导等温扩增测定法,检测时间缩短至30 min,山羊奶、山牛奶的检测限可分别达到2%。不像普通PCR方法需要进行凝胶电泳观察结果,LAMP技术是一种适合现场、基层快速检测的方法。

3.3 质谱分析法

质谱法(mass spectrometry, MS)可准确确定分子质量,通过其提供的蛋白质成分、结构和序列信息,从而可以追溯到已知的氨基酸序列,可信度独一无二。定性研究常采用肽质量指纹图谱法和肽碎片离子鉴定法^[50],定量研究可以用稳定同位素标记法或无标记统计评估方法^[51]。近些年

表 1 食品过敏原标识管理的地区差异
Table 1 Regional differences in food allergen labeling management

过敏原	食品法典委员会(1999)	澳大利亚(2000年法典)	加拿大(加拿大卫生部, 2008年)	中国(食品&环境卫生部, 2005年)	欧盟(欧盟法规, 2000~2007年)	日本(卫生部, 2001) [#]	南非(1972年食品、化妆品&消毒剂法案)	美国(2004年食物过敏原标签和消费者保护条例)
谷蛋白(谷类食品)	√	√	√	√	√	√	√	√
甲壳纲动物	√	√	√	√	√		√	√
软体动物					√		√	
鸡蛋	√	√	√	√	√	√	√	√
鱼	√	√	√	√	√		√	√
贝类水生动物			√					
花生	√	√	√	√	√	√	√	√
大豆	√	√	√	√	√		√	√
牛奶	√	√	√	√	√	√	√	√
树坚果*	√	√	√	√	√		√	√
亚硫酸盐	√	√		√	√			
芝麻		√	√		√			
芹菜					√			
芥末			√		√			
羽扇豆					√			
荞麦						√		

注: *杏仁、巴西坚果、腰果、榛子、澳洲坚果、昆士兰龙眼、美洲山核桃、松子、开心果和胡桃;

[#]鲍鱼、鱿鱼、三文鱼籽、虾/对虾、柑橘、螃蟹、奇异果、牛肉、鲑鱼、鲭鱼、鸡肉(家禽肉)、猪肉、蘑菇、桃子、山药、苹果和明胶。

来,液相色谱-串联质谱法广受关注,宁亚维等^[52]采用超高效液相色谱-串联质谱法检测食品中鸡蛋过敏原卵白蛋白,该方法在 5 ~ 5000 ng/mL 范围内线性良好,定量限为 0.1 μg 。此外,Planque 等^[53,54]建立了利用超高效液相色谱-串联质谱的方法测定巧克力、冰淇淋、番茄酱和饼干中的卵白蛋白,检出限可达到 3.4 μg 。

4 新兴检测方法技术

生物芯片是食品过敏原检测的一个新型、有效的检测工具,包括基因芯片和蛋白芯片两种检测方法。Wang 等^[55]首次将大豆、小麦、花生、腰果、虾、鱼、牛肉和鸡 8 种食物过敏原组合在一张可视生物芯片上,达到高效、快速检测。其中腰果 DNA 的绝对检出限达 0.05 pg,实际检出限达 0.001%。由于可实现单一样品多种过敏原同时检测、多个样品的高通量检测,生物模芯片技术成为近期研究的热点。

生物传感技术是以生物活性材料为识别元件,将生化反应转变成可定量的物理/化学信号,从而进行生命物质、化学物质检测及监控的高新技术^[56]。生物传感器因具有高灵敏度、微型化等优点,近年来成为食品过敏原检测的高新技术。Montiel 等^[57]设计并实现了一种使用磁性微载体电化学生物传感器,通过检测食品中的 Cor A 9 过敏原编码序列,检测食品中榛子的残留,其采用夹心杂交的方法,选择性捕获特定序列。

蛋白微阵列技术是一种高通量、高灵敏性、高特异性的快速检测方法。Ricciardi 等^[58]首次报告了基于微悬臂共振器阵列的低浓度下免疫检测牛奶过敏原的方法。为克服亲和力低的缺点,他们提出了一种以多克隆抗体作为捕获和识别抗体的夹心法。所开发的免疫分析方法,即使放置 4 个月,其检测限和定量限均优于商业 ELISA 板。

5 结 论

目前针对食物过敏原的检测方法主要是基于蛋白水平的 ELISA 法、免疫层析技术和基于核酸水平的聚合酶链式反应、实时荧光定量技术等检测方法。质谱法和其他新兴检测方法如生物芯片、生物传感器等技术也迅速发展。未来我国在食品过敏原研究重点主要集中在: (1) 开展中国人群流行病学调查,确定建立中国人群过敏原成分数据库; (2) 尽快出台食品过敏原强制性标识的法规标准和配套的管理措施; (3) 制定食品生产的过敏原风险控制和标识管理指南等技术性文件; (4) 建立完善食品过敏原信息发布平台和溯源机制^[31]; (5) 不断发展更可靠、更便捷的过敏原检测高新技术。

参考文献

- [1] 解洪丽,邵明军,刘传合,等. 全国 31 城市儿童食物过敏患病情况调查[C]. 第八次全国中西医结合变态反应学术会议暨首届深圳市中西

医结合变态反应学术会议暨第十届深圳呼吸论坛论文汇编, 2010.

- Xie HL, Shao MJ, Liu CH, *et al.* Investigation on food allergy of children in 31 cities of China [C]. Compilation paper of the 8th national conference on allergy of integrative Chinese and western medicine and the 1st Shenzhen conference on allergy of integrative Chinese and western medicine and the 10th Shenzhen respiratory BBS. 2010.
- [2] 郭苏影,张祎,刘博. 梅尼埃病与过敏反应的关系[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 5(33): 470–473.
- Guo SY, Zhang Y, Liu B. Meniere's disease and allergy [J]. Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg, 2019, 5(33): 470–473.
- [3] 吴永宁. 中国食物过敏流行病学数据综述及应对举措[C]. 中国食品过敏原管理与检测技术研讨会, 2017.
- Wu YN. Overview of food allergen epidemiology data in china to support future action [C]. Towards Enhanced Food Allergen Control in China: Enhanced Allergen detection and management, 2017.
- [4] 黄天娇,王梦梦,高永艳,等. 不同烹饪方式及体外模拟消化对凡纳滨对虾主要过敏原肌球蛋白免疫活性的影响[J]. 水产学报, 2019, 5(13): 1–12.
- Huang TJ, Wang MM, Gao YY, *et al.* Effects of different cooking methods and in vitro simulated digestion on the immunoactivity of major allergen tropomyosin in *Litopenaeus vannamei* [J]. J Fisher China, 2019, 5(13): 1–12.
- [5] 许宁宁,赵祥杰,杨荣玲,等. 克氏原螯虾过敏原的研究进展[J]. 农业与技术, 2019, 39(8): 9–10.
- Xu NN, Zhao XJ, Yang RL, *et al.* Research progress on the allergen of *procamaeus clarkii* [J]. Agric Technol, 2019, 39(8): 9–10.
- [6] 何圣发,陈红兵,龙彩云,等. 牛乳过敏原 β -乳球蛋白检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1763–1769.
- He SF, Chen HB, Long CY, *et al.* Research progress on the detection methods of cow's milk allergen β -lactoglobulin [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(7): 1763–1769.
- [7] Aymard P, Nicolai T, Durand D, *et al.* Static and dynamic scattering of β -lactoglobulin aggregates formed after heat-induced denaturation at pH2 [J]. Macromolecules, 1999, 32(8): 2542–2552.
- [8] Matthias B, Hans S, Angelika P. Stability of food allergen and allergenicity of processed foods [J]. J Chromatogr, 2001, 756: 207–228.
- [9] Yasuko K, Eri O, Tsukasa M. 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(3): 661–366.
- [10] Mark D, Katy Z, Sybille N, *et al.* Effect of technological processing on the allergenicity of mangoes (*Mangifera indica* L.) [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(3): 938–945.
- [11] Karsten O, Kristian RK. Effect of high hydrostatic pressure on the steady-state kinetics of tryptic hydrolysis of β -lactoglobulin [J]. Food Chem, 2003, 80: 255–260.
- [12] Kuniyoshi S, Yumiko T, Yuki H, *et al.* Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion [J]. Food Chem, 2005, 91: 247–253.
- [13] Shridhar KS, Harshal HK, Kenneth HR. Advances in seed protein research: A perspective on seed allergens [J]. J Food Sci, 2005, 70(6): 93–117.
- [14] Nina K, Ricki H, Steven S, *et al.* Allergenic characteristics of modified peanut allergen [J]. Mol Nutr Food Res, 2005, 49: 963–971.

- [15] 罗春萍, 胡纯秋. ^{60}Co - γ 辐照对花生过敏原 Ara h 2 蛋白构象及致敏活性的影响[J]. 核农学报, 2019, 33(7): 1349–1355.
- Luo CP, Hu CQ. Effects of ^{60}Co - γ irradiation on the conformation and antigenicity of peanut allergen Ara h 2 [J]. J Nucl Agric Sci, 2019, 33(7): 1349–1355.
- [16] Antonio G, Fernando C, Emilia M. Production of whey protein hydrolysates with reduced allergenicity in a stable membrane reactor [J]. J Food Eng, 2006, 72: 398–405.
- [17] Mengna S, Mahesh V, Suzanne ST, *et al.* Impact of γ -irradiation and thermal processing on the antigenicity of almond, cashew nut and walnut proteins [J]. J Sci Food Agric, 2004, 84: 1119–1125.
- [18] 蒋易蓉. 基于靶向蛋白质组学的婴幼儿配方米粉中牛乳和鸡蛋过敏原定量检测方法的建立与应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- Jiang YR. Establishment and application of quantitative determination method for milk and egg allergens in infant cereals based on targeted proteomics [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [19] 闫瑞. 消费者食品过敏原标签的认知现状与对策研究[D]. 晋中: 山西医科大学, 2016.
- Yan R. Study on the food allergen label knowledge among consumers and the countermeasures [D]. Jinzhong: ShanXi Medical University, 2016.
- [20] 邹丽, 李欣, 佟平, 等. 欧盟、澳大利亚和新西兰食物过敏原标识管理及对我国启示[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 365–373.
- Zou L, Li X, Tong P, *et al.* Regulations of food allergen labeling from the European Union, Australia and New Zealand and its enlightenment on China [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(4): 365–373.
- [21] Mills EN, Valovirta E, Madsen C, *et al.* Information provision for allergic consumers—where are we going with food allergen labelling? [J]. Allergy (Oxford), 2004, 59(12): 1262–1268.
- [22] 徐海涛, 唐瑶, 冉琴, 等. 婴儿过敏性皮肤病食物过敏原分析[J]. 中国医学前沿杂志, 2018, 10(8): 123–126.
- Xu HT, Tang Y, Ran Q, *et al.* Analysis of food anaphylactogen in infants with anaphylactoid dermatosis [J]. Chin J Front Med Sci, 2018, 10(8): 123–126.
- [23] Sigrid HL. Introducing allergen testing to support allergen management in the food industry [C]. Towards Enhanced Food Allergen Control in China: Enhanced Allergen Detection and Management, 2017.
- [24] Bock SA, Munoz-furlong A, Sampson HA. Fatalities due to anaphylactic reactions to foods [J]. J Allergy Clin Immunol, 2000, 107: 191–193.
- [25] Tolin S, Pasini G, Curioni A, *et al.* Mass spectrometry detection of egg proteins in red wines treated with egg white [J]. Food Control, 2012, 23(1): 87–94.
- [26] Heick J, Fischer M, Popping B. First screening method for the simultaneous detection of seven allergens by liquid chromatography mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218: 938–943.
- [27] Tolin S, Pasini G, Simonato B, *et al.* Analysis of commercial wines by LC-MS/MS reveals the presence of residual milk and egg white allergens [J]. Food Control, 2012, 28(2): 321–326.
- [28] Gomaa 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.
- [29] Pilolli R, De-Angelie E, Monaci L. Streamlining the analytical workflow for multiplex MS/MS allergen detection in processed foods [J]. Food Chem, 2017, 221: 1747–1753.
- [30] 刘畅. 食品过敏原标识监管探究[J]. 潍坊学院学报, 2017, 17(1): 59–62.
- Liu C. Study on supervision of food allergen labeling [J]. J Weifang Univ, 2017, 17(1): 59–62.
- [31] GB 7781-2011 预包装食品标签通则[S].
- GB 7781-2011 General rules for pre-packaged food labelling [S].
- [32] GB/T 23779-2009 预包装食品中的致敏原成分[S].
- GB/T 23779-2009 Allergens in prepackaged foods [S].
- [33] SN/T 4286-2015 出口预包装食品麸质致敏原成分风险控制及检验指南[S].
- SN/T 4286-2015 Guidelines for risk control and inspection of gluten sensitizers in export prepackaged foods [S].
- [34] 高东微. 食品过敏原法规框架的概述和食品致敏原检测重要性[C]. 中国食品致敏原管理与检测技术研讨会, 2017 年.
- Gao DW. Overview of food allergen regulatory frameworks and importance of food allergen testing [C]. Towards Enhanced Food Allergen Control in China: Enhanced Allergen Detection and Management, 2017.
- [35] 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.
- [36] Zhang H, Lu Y, Ushio H, *et al.* Development of sandwich ELISA for detection and quantification of invertebrate major allergen tropomyosin by a monoclonal antibody [J]. Food Chem, 2014, 150: 151–157.
- [37] He S, Li X, Gao J, *et al.* Development of sandwich ELISA for testing bovine β -lactoglobulin allergenic residues by specific polyclonal antibody against human IgE binding epitopes [J]. Food Chem, 2017, 227: 33–40.
- [38] He SF, Li X, Gao JY, *et al.* Development of a H_2O_2 -sensitive quantum dots-based fluorescent sandwich ELISA for sensitive detection of bovine β -lactoglobulin by monoclonal antibody [J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(2): 519–526.
- [39] He SF, Li X, Wu Y, *et al.* A novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay with covalently bound monoclonal antibody and gold probe for sensitive and rapid detection of bovine β -lactoglobulin [J]. Anal Bioanal Chem, 2018, 410(16): 3693–3703.
- [40] He SF, Li X, Wu Y, *et al.* Highly sensitive detection of bovine β -lactoglobulin with wide linear dynamic range based on platinum nanoparticles probe [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(44): 11830–11838.
- [41] Orcajo J, Lavilla M, Martínez-De-Maranon I. Specific and sensitive ELISA for measurement of IgE-binding variations of milk allergen β -lactoglobulin in processed foods [J]. Anal Chim Acta, 2019, 1052: 163–169.
- [42] 赵凯, 贾彦博, 王啸, 等. 小麦球蛋白单克隆和多克隆抗体制备及建立酶联免疫吸附法快速检测技术[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 4154–4158.
- Zhao K, Jia YB, Wang X, *et al.* Study on monoclonal antibody and polyclonal antibody preparation and establishment of ELISA detection method of wheat globulin [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(10): 4154–4158.
- [43] Masiri J, Barrios-Lopez B, Benoit L, *et al.* Development and validation of a lateral flow immunoassay test kit for dual detection of casein and β -lactoglobulin residues [J]. J Food Protect, 2016, 79(3): 477–483.
- [44] Chen YQ, Chen Q, Han MM, *et al.* Development and optimization of a multiplex lateral flow immunoassay for the simultaneous determination of three mycotoxins in corn, rice and peanut [J]. Food Chem, 2016, 213:

- 478–484.
- [45] 许银叶, 苏少霖, 许佩勤, 等. 实时荧光 PCR 法测定婴幼儿谷类辅助食品中麸质过敏原成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(8): 2350–2355.
- Xu YY, Su SL, Xu PQ, *et al.* Determination of gluten allergens in cereals of supplementary foods for infants and young children by real-time fluorescent PCR method [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(8): 2350–2355.
- [46] 尚柯, 张彪, 段庆梓, 等. 小麦和榛子过敏原成分检测的实时荧光PCR方法[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(4): 234–240.
- Shang K, Zhang B, Duan QZ, *et al.* Real-time fluorescence PCR in allergens detecting of wheat and hazelnuts [J]. Food Ferment Ind, 2018, 44(4): 234–240.
- [47] Pierboni E, Rondinia C, Torricellia M, *et al.* Digital PCR for analysis of peanut and soybean allergens in foods [J]. Food Control, 2018, 92: 128–136.
- [48] 张懿翔, 于媛媛, 宋春宏, 等. 环介导等温扩增技术快速检测食品过敏原牡蛎成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1804–1810.
- Zhang YX, Yu YY, Song CH, *et al.* Rapid detection of food allergen oysters by loop-mediated isothermal amplification [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(7): 1804–1810.
- [49] Kim MJ, Kim HY. Direct duplex real-time loop mediated isothermal amplification assay for the simultaneous detection of cow and goat species origin of milk and yogurt products for field use [J]. Food Chem, 2018, 246: 26–31.
- [50] Santos OC, Mas S, Benede S, *et al.* A recombinant isoform of the Ole e 7 olive pollen allergen assembled by de novo mass spectrometry retains the allergenic ability of the natural allergen [J]. J Proteom, 2018, (187): 39–46.
- [51] Ortea I, O'connor G, Maquet A. Review on proteomics for food authentication [J]. J Proteom, 2016, (147): 212–225.
- [52] 宁亚维, 刘茁, 范素芳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测食品中鸡蛋过敏原卵白蛋白[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 332–336
- Ning YW, Liu Z, Fan SF, *et al.* Detection of egg allergen ovalbumin in food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2018, 39(20): 332–336.
- [53] Planque EM, Amould T, Dieu M, *et al.* Advances in ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for sensitive detection of several food allergens in complex and processed foodstuffs [J]. J Chromatogr A, 2016, 1464: 115–123.
- [54] Planque EM, Amould T, Dieu M, *et al.* Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for detecting ten allergens in complex and incurred foodstuffs [J]. J Chromatogr A, 2017, 1530: 138–151.
- [55] Wang W, Han J, Wu Y, *et al.* Simultaneous detection of eight food allergens using optical thin-film biosensor chips [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(13): 6889–6894.
- [56] 王祎杰. 新型纳米电化学 p16^{INK4a} 基因及其表达蛋白的传感分析与研究[D]. 南京: 东南大学, 2018.
- Wang YJ. The sensing analysis and research of the novel nano-electrochemistry for p16^{INK4a} gene and its expression protein [D]. Nanjing: Southeast University, 2018.
- [57] Montiel VRV, Torrente-Rodriguez RM, Rivera DGG, *et al.* Amperometric determination of hazelnut traces by means of Express PCR coupled to magnetic beads assembled on disposable DNA sensing scaffolds [J]. Sensor Actuat B-chem, 2017, 245: 895–902.
- [58] Ricciardi C, Santoro K, Stassi S, *et al.* Microcantilever resonator arrays for immunodetection of β -lactoglobulin milk allergen [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2018, (254): 613–617.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



郭颖慧, 硕士, 中级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 273108580@qq.com



霍胜楠, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 492195542@qq.com