

- Forschung A, 1997, 205(3):239-241.
- [40] GROB K, ARTHO A, BIEDERMANN M, et al. Batching oils on sisal bags used for packaging foods: analysis by coupled LC/GC [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1992, 75(2):283-287.
- [41] MORET S, BARP L, PURCARO G, et al. Rapid and sensitive solid phase extraction-large volume injection-gas chromatography for the analysis of mineral oil saturated and aromatic hydrocarbons in cardboard and dried foods [J]. J Chromatogr A, 2012, 1243(4): 1-5.
- [42] CASTLE L, KELLY M, GILBERT J. Migration of mineral hydrocarbons into foods. 2. Polystyrene, ABS, and waxed paperboard containers for dairy products [J]. Food Addit Contam, 1993, 10(2):167-174.
- [43] BIEDERMANN M, GROB K. On-line coupled high performance liquid chromatography-gas chromatography for the analysis of contamination by mineral oil. Part 2: migration from paperboard into dry foods: interpretation of chromatograms [J]. J Chromatogr A, 2012, 1255(5): 76-99.
- [44] JECFA. Evaluation of certain food additives: seventy-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [Z]. 2012.
- [45] The European Commission. Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food [S]. Office Journal of European Commission, 2011.
- [46] BMEL. Twenty-second ordinance amending the consumer goods regulation [Z/OL]. 2017[2019-02-11]. https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Ernaehrung/Rueckstaende/MineraloelVO_Entwurf.pdf?__blob=publicationFile.
- [47] IJO Standard 98/01 [S/OL]. 2005[2019-02-11]. [http://jute.org/IJO%20Standard%2098-01%20%20\(revised%202005\)%20Final%20version.pdf](http://jute.org/IJO%20Standard%2098-01%20%20(revised%202005)%20Final%20version.pdf).
- [48] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 食品接触材料纸和纸板食品模拟物中矿物油的测定 气相色谱法: SN/T 4895—2017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

综述

蟹类主要过敏原及其消减技术研究进展

林薇¹, 许素玲¹, 周琼艳¹, 朱小霞², 李玲芝¹

(1. 宁波大学医学院附属医院, 浙江 宁波 315020; 2. 宁波市第一医院, 浙江 宁波 315010)

摘要: 蟹是引起食源性过敏的主要食品之一, 蟹类过敏原是引起蟹过敏的根源。近年来, 过敏原性质的研究及分离纯化技术备受关注, 已发现蟹的主要过敏原包括原肌球蛋白、精氨酸激酶、血蓝蛋白等。利用食品加工技术降低蟹致敏性的研究也日益增多, 以热加工法、辐射技术、酶处理法和超高压法等为代表的蟹致敏活性消减技术取得了新进展。本文就蟹类主要过敏原的种类、致敏蛋白的制备、蟹与其他甲壳类的交叉过敏性以及蟹类过敏原消减方法等进行综述, 以期对蟹过敏的诊断预防和低致敏产品开发提供参考。

关键词: 蟹; 过敏原; 交叉过敏; 消减技术

中图分类号: R155 文献标识码: R 文章编号: 1004-8456(2019)03-0290-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2019.03.020

Research progress on crab allergens and methods of reducing allergenicity

LIN Wei¹, XU Suling¹, ZHOU Qiongyan¹, ZHU Xiaoxia², LI Lingzhi¹

(1. The Affiliated Hospital of Medical School, Ningbo University, Zhejiang Ningbo 315020, China;

2. Ningbo First Hospital, Zhejiang Ningbo 315010, China)

Abstract: Crab is one of the common allergic foods, the allergens of crabs are the source of crab sensitivity. Currently, the researches on the nature of allergens and the method of purification of allergens has attracted more and more attention, the major crab allergens are tropomyosin, arginine kinase and hemocyanin. The use of food processing technology to reduce allergenicity of crab is increasing, and many method including heating treatment, irradiation treatment, enzymatic treatment and high-pressure treatment have been developed to reduce the allergenicity of crabs. In this paper, the classification of

收稿日期: 2019-03-29

基金项目: 浙江省自然科学基金 (LY18H110003)

作者简介: 林薇 女 主管药师 研究方向为食物药物过敏 E-mail: vivian0785@sina.com

通信作者: 许素玲 女 主任医师 研究方向为过敏性皮肤疾病 E-mail: xusuling1210@126.com

allergen, preparation of allergenic proteins, cross-allergenicity between crabs and other crustaceans and method of reducing allergenicity were summarized, so as to provide theoretical basis for the diagnosis and prevention of the crab allergy, and offer a reference for the development of crabs with low allergenicity.

Key words: Crab; allergen; cross-allergenicity; reducing method

由于过去数十年,全球海产品产量和消耗量的增加,对海产品(特别是鱼和甲壳类)过敏的患病率也在上升^[1]。蟹是我国水产市场上常见的甲壳类水产食品,也是引起食源性过敏反应的八大类主要食品之一^[2]。蟹过敏对潜在过敏人群存在严重的安全隐患。蟹引起的过敏大部分是由免疫球蛋白 E (IgE) 介导的 I 型变态反应,可出现过敏性紫癜、荨麻疹、过敏性哮喘、过敏性胃肠炎、过敏性鼻炎等,严重过敏者甚至发生过敏性休克^[3]。研究蟹过敏原种类、特性、蛋白表位等技术,有助于开发快速高效的过敏原检测方法、改进临床诊断治疗方案。寻求过敏原致敏性消减的有效方法,可以为开发低致

敏性或脱敏蟹类产品提供依据。

1 蟹类主要过敏原

食物过敏原是能够诱发机体产生 IgE 并与其结合,使抗体进一步诱导肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放介质而引起速发型过敏反应的食物成分^[4]。目前,蟹中已被确认的过敏原包括原肌球蛋白(tropomyosin, TM)、精氨酸激酶(arginine kinase, AK)、血蓝蛋白(hemocyanin, Hc)、肌钙蛋白(SCP)、 α -肌动蛋白等。TM 和 AK 两种蛋白是主要的过敏原,其他过敏原也日益受到关注。国内外多位学者关于蟹过敏原的研究结果见表 1。

表 1 蟹类过敏原
Table 1 Allergens of crabs

蟹类中文名	蟹类拉丁文名	过敏原/kDa	备注	文献出处
锈斑蟊	<i>Charybdis feriatus</i>	34	第一个被鉴定出的蟹过敏原 Cha f 1, 为 TM	[5]
		20, 40, 23, 42, 113	分别为肌浆钙结合蛋白(20 kDa), AK(40 kDa), SCP(23 kDa), α -肌动蛋白(42 kDa)和滑面内质网 Ca ²⁺ ATP 酶(113 kDa)	[6]
雪蟹	<i>Chionoecetes opilio</i>	34, 25, 18.5, 14.4	—	[7]
		37	TM	[8]
		33	TM	[9]
		74.4, 48.7, 89.1, 33.4	主要过敏原为 74.4, 48.7 kDa	[10]
梭子蟹	<i>Portunus pelagicus</i>	39	TM	[11]
		15~138	主要过敏原为 TM(34, 36 kDa), AK(41 kDa)	[12]
		蟹肉: 11, 19, 23, 25 蟹黄: 21	—	[13]
		35, 41, 48, 66	—	[14]
中华绒螯蟹	<i>Eriocheir sinensis</i>	76, 66	—	[15]
		62	TM	[16]
		34, 40, 78	分别为 TM(34 kDa), AK(40 kDa), Hc(78 kDa)	[17-18]
		105, 85, 70, 28	卵巢组织过敏原	[19]
		38	TM	[20]
锯缘青蟹	<i>Scylla serrata</i>	40	AK	[21]
		14.3	Hc	[22]
		36, 41	TM(36 kDa), AK(41 kDa)	[23]
		21, 40	AK(40 kDa)	[24-26]
拟穴青蟹	<i>Scylla paramamosain</i>	21	SCP	[27]
		21, 28, 90	SCP(21 kDa), TIM(28 kDa), FLN c(90 kDa)	[28]
红蟹	<i>Charybdis japonica</i>	15~138	主要过敏原为 TM(34, 36 kDa), AK(41 kDa)	[12]
北海道毛蟹	<i>Erimacrus isenbeckii</i>	37	TM	[8]
帝王蟹	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	37	TM	[8]
铁蟹	—	76	—	[29]

注: TIM: 磷酸丙糖异构酶; FLN c: 细丝蛋白 C; ATP: 三磷酸腺苷; —为无备注或缺项

1.1 TM 及其抗原表位

TM 是蟹类最主要的过敏原,也是研究最多的蟹过敏原。TM 是存在于肌肉或非肌肉细胞中的一种酸性糖蛋白,其相对分子量约为 32~40 kDa,由两个相同的 α -螺旋结构的亚基相互缠绕构成超螺旋

结构,包含 7 个交互的肌动蛋白结合位点。TM 与 SCP 的复合物调控 Ca²⁺ 依赖型的肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用。最早是由 LEUNG 等^[5]发现锈斑蟊中主要的过敏原是分子量为 34 kDa 的蛋白,这是第一个被鉴定的过敏原蛋白,命名为 Cha f 1,且证明

其化学本质为 TM。随后的研究发现 TM 是帝王蟹、马鬃蟹、青蟹、雪蟹和梭子蟹等多种蟹类中最主要的过敏原^[8,11,20,30]。

过敏原的致敏性往往取决于它所包含的抗原表位,目前关于蟹 TM 的抗原表位研究的报道越来越多。表位预测与定位方法主要有酶解、肽扫描、噬菌体展示、质谱、表面等离子共振、蛋白芯片和核磁共振技术等。甲壳类动物的 TM 同源性较高。AYUSO 等^[31]在 2002 年,预测出了虾的 TM Pen a 1 中的 5 个主要抗原表位,这些表位已被鉴定并收录入库,这些抗原表位分别为表位 1(43~57)、表位 2(85~105)、表位 3(133~148)、表位 4(187~202)、表位 5(247~284)。梁银龙等^[32]研究拟穴青蟹、中华绒螯蟹和三疣梭子蟹的主要过敏原 TM 有 8 个 IgE 结合位点,并且和褐对虾 TM 基本相同。三种蟹的抗原表位分别为表位 1(43~55 iratqkkmqyvene)、表位 2(88~101 lnriqlleedler)、表位 3(137~141 deerm)、表位 4(144~151 lenqlkea)、表位 5(187~197 eskiveleel)、表位 6(249~259 lqkevdrlede)、表位 7(266~273 kyksitde)、表位 8(273~281 eldqtsel)。近来,噬菌体展示、质谱等新技术的应用也越来越多。LIU 等^[33]用噬菌体展示技术发现蟹 TM 的 8 个线性表位和 7 个构象表位。

1.2 AK 及其抗原表位

AK 是甲壳类动物中仅次于 TM 的重要过敏原。甲壳类动物 AK 全长约 1 074 bp, 编码 357 个氨基酸,其理论分子质量为 40.29 kDa,单亚基组成,等电点在 6.4 左右,pH 值 1.0~11.0 范围内均较为稳定,不耐热,经热处理>44%易形成二聚体和多聚体^[24]。RAHMAN 等^[6]利用质谱等技术,证实了雪蟹的主要过敏原为 TM 和 AK。此后,相继发现 AK 也是梭子蟹^[12]、锯缘青蟹^[21]、拟穴青蟹^[25,34]的特异性过敏组分。

AK 的抗原表位相继被揭示^[6,23,25,34],不同物种间 AK 的抗原表位非常接近^[26]。MAO 等^[25]通过对拟穴青蟹 AK 的分段表达,确定了 2 个主要抗原表位区域[氨基酸(AA):174~181 和 253~256],并且通过重叠肽库技术确定了 3 个线性表位(AA:127~141,141~155,211~225),并预测出拟穴青蟹的 7 个构象表位。YANG 等^[34]进一步通过噬菌体展示技术得到拟穴青蟹 AK 4 个构象表位(D₃A₄K₄₃M₁A₅T₄₉T₄₄I₇L₃₁K₃₃V₃₅T₃₂E₁₁E₁₈F₁₄S₃₄D₃₇V₁₇₇G₁₇₂M₁₇₃D₁₇₆Q₁₇₈T₁₇₄L₁₈₁K₁₇₅L₁₈₇和 R₂₀₂L₁₇₀Y₂₀₃E₁₉₀P₂₀₅W₂₀₄L₁₈₇T₂₀₆Y₁₄₅),通过血清 IgG/IgE 筛选及肥大细胞(RBL-2H3)脱颗粒试验鉴定,得出 AK 有 4 个线性表位(AA:113~127,127~141,141~155,204~218)。

但仍有部分区域未确定是否存在抗原表位区域(AA:1~108 和 320~357),有待进一步研究。

1.3 Hc 及其抗原表位

Hc 是新近确认的蟹类过敏原蛋白。典型的甲壳类动物 Hc 是由 6 个高度螺旋的、体积为 10 nm×10 nm×10 nm、氨基酸数为 630~660、分子质量为 70~80 kDa 的异源亚基构成的六聚体(hexamer)^[35]。宋益银等^[22]从锯缘青蟹中分离纯化得到相对分子量为 14.3 kDa 的特异性过敏组分,经基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)鉴定发现是 Hc。ZHANG 等^[18]发现 Hc 是中华绒螯蟹中一种重要的高分子量过敏原。并利用抗原表位预测软件筛选获得 10 条中华绒螯蟹 Hc 候选抗原表位,经过与特异性 IgE 抗体(sIgE)反应,发现表位 E1、E2 和 E4 的反应频率大于 40%,这三条抗原表位分别为表位 E1(181~207 nseviqueaytaqmtqtpskikshftgs)、表位 E2(237~255 fwddshenhhiierkgenf)、表位 E4(360~378 gdviesstyspnpqyygal)。

1.4 其他

除上述三种研究较多的过敏原外,近年来的研究逐渐转向其他过敏原,RAHMAN 等^[6]和 MENG 等^[27]发现的蟹过敏原有肌质钙结合蛋白、SCP、 α -肌动蛋白和 Ca²⁺ ATP 酶等。ZHU 等^[19]对中华绒螯蟹卵巢组织过敏原研究发现,卵黄蛋白原、Hc、卵巢发展蛋白 EJO1、卵巢发展蛋白 EJO2 为中华绒螯蟹卵巢主要过敏原。YANG 等^[28]发现拟穴青蟹中除 AK 外,还有 SCP、TIM 和 FLN c,并对这些过敏原进行结构表位分析。

2 致敏蛋白制备和致敏活性研究

近年来,有学者对蟹致敏蛋白进行制备研究,将主要过敏原以及抗原表位克隆表达,以获得高纯度的抗原。人工重组抗原表位不仅避免了天然提取抗原中非抗原蛋白的影响,还能较全面地覆盖血清中的特异性抗体,不仅为制备特异性的体外检测试剂盒提供高质量抗原,还可以用以制备其单克隆抗体等。

目前蟹过敏原蛋白的制备中研究较多的是 TM。梁银龙等^[32]已克隆表达了锯缘青蟹、中华绒螯蟹和三疣梭子蟹 3 种蟹的主要过敏原 TM 基因序列。三个基因的序列长度均为 855 bp,编码 284 个氨基酸残基,三者氨基酸序列同源性为 99.3%。之后,将锯缘青蟹的 TM 基因与 PGEX-4T-3 载体连接后,经异丙基硫代半糖苷(IPTG)诱导得到分子量约为 61 kDa 的融合表达蛋白,通过免疫印迹证实了该

蛋白的过敏性。李婵等^[36]合成的重组表达梭子蟹 TM 中的蛋白,该目的蛋白的分子量大小为 34 kDa 左右,免疫印迹法鉴定该重组蛋白具有免疫活性。

除 TM 外,AK、Hc 及卵巢发展蛋白 EJO1 (Eri s 2 蛋白) 等的克隆与制备也陆续有研究。SHEN 等^[21]将锯缘青蟹的 AK 基因与载体 PGEX-4T-3 连接后,在大肠埃希菌 BL 21 中克隆表达,融合表达的重组蛋白分子量为 40 kDa、等电点为 6.3,与天然 AK 相近。并且用甲壳类过敏患者血清的免疫印迹分析结果显示,融合表达的重组蛋白与纯化的天然蛋白一样具有免疫原性。张盈莹等^[37]对中华绒螯蟹过敏原 Hc 的 3 个关键抗原表位串联体表达和纯化后,获得的目的重组蛋白分子量约为 12 kDa,可以良好地区分过敏血清和非过敏血清。此外,ZHU 等^[19]通过卵巢发展蛋白 EJO1 基因连接 pET-28b (+) 质粒后,使用 Rosetta (DE3) 菌株将进行重组表达,重组表达获得相对分子质量约为 32 kDa 的卵巢发展蛋白 EJO1,并证明其可作为一种重组蛋白用于蟹过敏原检测。

3 交叉过敏

TM、AK、Hc 是甲壳类动物共同的过敏原^[4],其中一些还有很高的同源性,所以不同种类的蟹及甲壳类动物^[4]之间存在交叉过敏反应。

TM 是一种甲壳类及软体类动物的泛过敏原,广泛存在于各种虾、龙虾和蟹等甲壳类水产品以及鲍、海螺、蛤蜊、竹蛭、贻贝、牡蛎和章鱼等软体动物中,并且具有较高的同源性^[38],序列同源性最高可达 98%^[39],其中蟹类和虾类的序列同源性达 80% 以上。意味着患者如果对蟹过敏,可能会对其他甲壳类、软体动物,昆虫(如蟑螂)和屋尘螨过敏^[1]。王彩霞等^[40]研究发现,凡纳滨对虾、日本沼虾和梭子蟹之间存在交叉过敏反应,且具有多个交叉过敏原,其中 TM 是主要的交叉过敏原。

AK 也广泛存在于各种甲壳类动物中,甲壳类动物 AK 氨基酸序列具有很高的同源性,不同物种间具有较强的交叉反应。孙一帆等^[41]研究发现凡纳滨对虾 40 kDa 过敏原为 AK;其氨基酸序列同源性分析显示 AK 在虾类(96%~100%)、蟹类(91%~93%)、贝类(49%~52%)、蟑螂(83%)中具有很高的同源性;免疫印迹法结果显示抗 AK 多抗与 17 种不同虾类、蟹类、贝类的 AK 均能发生反应。从凡纳滨对虾 AK 和拟穴青蟹 AK 抗原表位的比对结果看虾类和蟹类的抗原表位序列存在较高的保守性,凡纳滨对虾 AK 的抗原表位 4a 和 4b(AA:121~141 和

142~159) 与拟穴青蟹线性表位 L-AK-1、L-AK-2 和 L-AK-3 序列极为相似,并且都位于 r AK1 区域内;但凡纳滨对虾 AK 的表位中并没有与 L-AK-4 相似的序列,这可能是物种间的序列差异引起的^[42]。

此外,宋益银等^[22]研究发现锯缘青蟹特异性过敏原 Hc,与可口美青蟹、邓杰内斯蟹、加州龙虾、艾氏真蟹的 Hc 亚基序列有很高的同源性。

4 蟹类过敏原主要的消减技术

食品加工过程可对食物过敏原的免疫活性产生影响,目前过敏原致敏性消减的方法主要有热处理、辐照、酶解、超高压、美拉德反应和酶法交联等^[43]。

4.1 热处理

加热是最常用的食品处理方式,热处理的方式较多,包括煮沸、高压蒸汽、超声波、微波等。一般认为热处理可在一定程度上破坏蛋白质的构象表位,导致其致敏性降低。热处理对过敏性降低的影响因素有:温度、加热方式、加热时间、过敏原构象、分子间作用力和表位分布等。LIU 等^[44]比较煮、蒸和高压蒸汽 3 种常用的烹饪方法对拟穴青蟹肌肉蛋白致敏性的影响,结果发现,高压导致蛋白二级和三级结构变化,降低其与 IgG 的结合活性。YU 等^[45]利用加热、超声结合加热及高压蒸汽 3 种方法处理青蟹过敏原 TM 和 AK。结果表明,加热几乎不能降低 TM 的过敏性,而高温高压(121 ℃, 0.14 MPa)能明显降低其过敏性。而 AK 的蛋白结构随着温度上升,特别是高于 46 ℃ 时变得不稳定,内部结构被破坏。但不同的过敏原其热稳定性不同,经过热加工处理,也可能增强其免疫活性。ABRAMOVITCH 等^[46]发现,与生提取物比较,梭子蟹和锯缘青蟹煮熟后的提取物与 IgE 的反应增强,特别是锯缘青蟹的 TM(38~39 kDa)。以上研究表明,目前热处理对蟹致敏原影响的研究结果不一致,可能与热处理的条件或不同过敏原组分的耐热性不同有关,还需要进一步研究明确。

4.2 辐照技术

辐照技术是一种新型的非加热技术,是利用 γ 射线、X 射线和电子束射线等对食品进行辐射。辐照技术可促进生物大分子的降解、交联和分子构象的变化,可使过敏原的致敏性降低,甚至完全丧失^[47],有可能成为降低食物过敏反应的重要技术。张明琦等^[48]研究发现辐射使蟹过敏蛋白溶液的浓度下降,浊度增加,疏水性提高,过敏蛋白条带消失。辐照剂量为 3 kGy 及以上时,硝酸纤维素膜上无过敏条带产生。随着辐射剂量的增加,辐射后过

敏蛋白与抗体结合能力减弱。表明辐照可使蟹过敏蛋白空间结构发生改变,致敏性降低。刘光明等^[49]用辐照技术对蟹过敏原 TM 进行处理,发现部分纯化的 TM 经 7 kGy 辐照后降解明显,10 kGy 辐照后完全降解。通过对蟹类过敏者血清的免疫印迹分析发现,部分纯化 TM 经 3~7 kGy 辐照处理后的过敏性变化不明显,而 10 kGy 辐照处理后的过敏性降低。廖涛等^[50]通过辐射对中华绒螯蟹过敏蛋白生化特性影响的研究发现,低剂量辐照时过敏蛋白的浓度变化不大,到 20 kGy 时,过敏蛋白含量明显降低;45 kGy 时,过敏蛋白基本被完全降解。免疫印迹试验结果表明,过敏蛋白的免疫原性随着辐照剂量的增加而降低。可见,辐射对过敏原性的降低有影响,而且跟辐照强度相关。

4.3 酶解技术

大部分蟹的过敏原是蛋白质,酶解可使蛋白质的肽链发生断裂,破坏过敏原表位原有的空间结构,从而降低其致敏性。因消化道中含丰富的酶类,故不少研究者对蟹过敏原在胃蛋白酶、胰蛋白酶等消化酶中的稳定性进行了研究。毛海燕^[24]对拟穴青蟹 AK 的消化稳定性进行了分析研究,发现 AK 能够耐受胰蛋白酶消化但容易被胃蛋白酶降解,并且降解产物依然具有免疫活性。AK 在模拟胃液消化过程中被降解为小分子量的多肽,消化 1 h 后 AK 被完全降解。YU 等^[51]研究锯缘青蟹的 TM 和 AK 在模拟胃液和肠液的环境中的稳定性。结果发现,AK 在胃蛋白酶的消化效果高于胰蛋白酶,AK 在模拟胃液中消化至 2 min 即有其他蛋白条带生成,1 h 时主条带密度逐渐降低。而 TM 则对胰蛋白酶的消化作用不耐受。HUANG 等^[30]和 LIU 等^[52]分别研究锯缘青蟹和中华绒螯蟹在消化液中的稳定性,均发现肌动蛋白和肌球蛋白重链在人工胃液中迅速降解,而 TM 相对稳定。在人工肠液中肌球蛋白重链易分解,而肌动蛋白和 TM 不易被消化。

除消化酶外,也有学者研究其他酶类对过敏原的影响。SHIMAKURA 等^[53]采用 3 种不同蛋白酶(胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶及蛋白酶 P)对虾、蟹等蛋白粗提液进行酶解,结果显示过敏原 TM 的过敏性明显降低。LIU 等^[54]采用木瓜蛋白酶对海蟹下脚料进行水解,水解条件为混合酶物料/水=1:3,酶的比例为 3.5%,pH 值为 6.0,温度为 55℃,反应时间 7 h,混合酶比(中性蛋白酶:风味酶:木瓜蛋白酶)=1:2:1时,水解液中过敏原的过敏性大大降低。可见,酶处理对过敏原性的降低有一定效果,降敏效果受到酶的种类、酶解模式、酶解条件等因素的影响。

4.4 其他

近年来研究较多的消减技术还有超高压技术、美拉德反应、酶法交联等。食品超高压技术是以液体作为传压介质,将密封好的食品加以 100~1 000 MPa 的高压进行处理,以此来达到杀菌、钝化酶和改善食品特性的一种非热食品加工技术^[55]。超高压作为一种食品加工技术被认为是一种新型的脱敏技术,通过破坏蛋白质的非共价键使蛋白质的高级结构发生改变,从而导致蛋白质变性或失活。Ca²⁺ ATP 酶活性是反映肌球蛋白结构完整性的重要指标。周果等^[56]研究发现,压力大于 250 MPa 时,随着压力增加,肌原纤维蛋白 Ca²⁺ ATP 酶活力明显下降,压力超过 300 MPa 后出现失活。这也说明了超高压技术能够破坏蟹类中 TM 结构并可能会降低其致敏性。美拉德反应是食品中游离氨基或氨基酸残基与还原糖的羟基发生的羟氨反应,最终生成棕色甚至黑色的大分子物质类黑精的过程。HAN 等^[57]利用阿拉伯糖与拟穴青蟹进行美拉德反应,在 100℃反应 60 min(pH=8.5),可使 TM 和 AK 的致敏程度下降,质谱分析提示美拉德反应改变了过敏原的结构。酶法交联是利用酶催化蛋白发生交联的一种方法,该反应通过使蛋白质内部多肽链之间或蛋白质之间形成共价键,改变蛋白质原有的空间结构。FEI 等^[58]发现蟹 AK 经与酪氨酸酶和咖啡酸热聚合酶法交联后,抗原表位被覆盖,引发肥大细胞脱颗粒和释放组胺能力下降,预示着致敏性可能降低。可见,超高压技术、美拉德反应、酶法交联均可不同程度地降低蟹的致敏性。

5 问题与展望

当前,蟹过敏原的研究、抗原表位的确认、过敏原的克隆及过敏原消减技术的研究已经取得了突出进展,但仍有很多方面值得深入研究。首先,过敏原的抗原表位尚未完全阐明,高纯度过敏原的制备和商品化在国内略显落后。其次,储存和消化过程中次生产物的致敏性不能忽视,但这方面的研究基本未见报道。此外,多种过敏原消减方法证实可以降低蟹致敏性,但是这些技术多数处于研究阶段,离实际应用还有一定距离。并且单一技术很难同时降解多种过敏原的致敏性,多种技术的联合可能会有更好的消减作用。最后,食物过敏原阈值的研究和确定有助于预防过敏,不仅可用于标识管理,也可在生产低致敏食物中将过敏原含量保持在可控范围之内。目前海产品中已有虾、鱼的过敏原阈值研究,而蟹过敏原阈值的研究还有待进一步开展。总之,有必要继续深入系统地研究蟹过敏原及

其消减技术,为开发低致敏性蟹类产品提供依据。

参考文献

- [1] BOYCE J A, ASSA'AD A, BURKS A W, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel[J]. J Allergy Clin Immu, 2010, 126(Suppl 6):S1-58.
- [2] LUPINEK C, WOLLMANN E, BAAR A, et al. Advances in allergen-microarray technology for diagnosis and monitoring of allergy: the MeDALL allergen-chip [J]. Methods, 2014, 66(1):106-119.
- [3] 魏延,王娟,吴赓.进食螃蟹致过敏性休克 1 例[J].医学理论与实践,2015,28(11):1441.
- [4] 李凤铃,李沂光,孙天乐,等.水产品中主要过敏原的研究与展望[J].中国渔业质量与标准,2018,8(1):16-23.
- [5] LEUNG P S C, CHEN Y C, GERSHWIN M E, et al. Identification and molecular characterization of *Charybdis feriatius* tropomyosin, the major crab allergen[J]. J Allergy Clin Immu, 1998, 102(5):847-852.
- [6] RAHMAN A M A, KAMATH S D, LOPATA A L, et al. Biomolecular characterization of allergenic proteins in snow crab (*Chionoecetes opilio*) and de novo sequencing of the second allergen arginine kinase using tandem mass spectrometry[J]. J Proteomics, 2011, 74(2):231-241.
- [7] GILL B V, RICE T R, CARTIER A, et al. Identification of crab proteins that elicit IgE reactivity in snow crab-processing workers [J]. J Allergy Clin Immu, 2009, 124(5):1055-1061.
- [8] MOTOYAMA K, SUMA Y, ISHIZAKI S, et al. Molecular cloning of tropomyosins identified as allergens in six species of crustaceans[J]. J Agr Food Chem, 2012, 55(3):985-991.
- [9] RAHMAN A M A, LOPATA A L, O'HEHIR R E, et al. Characterization and de novo sequencing of snow crab tropomyosin enzymatic peptides by both electrospray ionization and matrix-assisted laser desorption ionization QqToF tandem mass spectrometry[J]. J Mass Spectrom, 2010, 45(4):372-381.
- [10] 赵绮华,王锡忠,陈丽金,等.梭子蟹变应原的分离、纯化与鉴定[J].中国免疫学杂志,2007,23(3):256-259.
- [11] ABRAMOVITCH J B, KAMATH S, VARESE N, et al. IgE reactivity of blue swimmer crab (*Portunus pelagicus*) tropomyosin, Por p 1, and other allergens; cross-reactivity with black tiger prawn and effects of heating[J]. PLoS One, 2013, 8(6):e67487.
- [12] MISNAN R, MURAD S, ABDULLAH N, et al. Production and identification of major allergens of two species of local crab: blue/ swimming crab (*Portunus pelagicus*) and red crab (*Charybdis japonica*) [J]. World Allergy Organization Journal, 2007:S94.
- [13] 吴序栋,邓利平,刘志刚.大闸蟹过敏原的分离、鉴定与纯化[J].食品科技,2009,34(6):294-296.
- [14] 吴兴达,陈伟,黄海波,等.中华绒螯蟹组织蛋白中变应原组分的分析与提取[J].中国生物制品学杂志,2009,22(11):1084-1086.
- [15] 陈伟,吴兴达,刘群英,等.中华绒螯蟹主要变应原的纯化与应用分析[J].中国海洋药物,2010,29(3):28-32.
- [16] LIANG Y L, CAO M J, SU W J, et al. Identification and characterisation of the major allergen of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chem, 2008, 111(4):998-1003.
- [17] 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):1375-1379.
- [18] ZHANG Y Y, ZHU L N, LI S S, et al. Identification of the major allergenic epitopes of *Eriocheir sinensis* roe hemocyanin: a novel tool for food allergy diagnoses[J]. Mol Immunol, 2016, 74(5):125-132.
- [19] ZHU L N, SHE T T, ZHANG Y Y, et al. Identification and characterization of ovary development-related protein EJO1 (Eri s 2) from the ovary of *Eriocheir sinensis* as a new food allergen[J]. Mol Nutr Food Res, 2016, 60(10):2275-2287.
- [20] 刘光明,梁银龙,翁凌,等.锯缘青蟹主要过敏原的纯化与鉴定[J].水生生物学报,2010,34(1):108-114.
- [21] SHEN Y, CAO M J, CAI Q F, et al. Purification, cloning, expression and immunological analysis of *Scylla serrata* arginine kinase, the crab allergen[J]. J Sci Food Agr, 2011, 91(7):1326-1335.
- [22] 宋益银,林蕾,苏秀榕,等.锯缘青蟹(*Scylla serrata*)特异性过敏原的研究[J].海洋与湖沼,2009,40(1):62-67.
- [23] NURUL IZZAH, ARN, ROSMILAH M, ZAILATUL HANI M Y, et al. Identification of major and minor allergens of mud crab (*Scylla serrata*) [J] Med Health-kuala Lumpur, 2015, 10(2):90-97.
- [24] 毛海燕.拟穴青蟹精氨酸激酶的过敏性及其构效关系的初步研究[D].厦门:集美大学,2013:24-28.
- [25] MAO H Y, CAO M J, MALEKI S J, et al. Structural characterization and IgE epitope analysis of arginine kinase from *Scylla paramamosain* [J]. Mol Immunol, 2013, 56(4):463-470.
- [26] YANG Y, LIU G Y, YANG H, et al. Crystal structure determination of, *Scylla paramamosain*, arginine kinase, an allergen that may cause cross-reactivity among invertebrates [J]. Food Chemistry, 2018(8):S0308814618313918.
- [27] MENG J H, GUANG Y L, YANG Y, et al. Cloning, expression, and the effects of processing on sarcoplasmic-calcium-binding protein: an important allergen in mud crab [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(30):6247-6257.
- [28] YANG Y, HU M J, JIN T C, et al. A comprehensive analysis of the allergenicity and IgE epitopes of myosinogen allergens in *Scylla paramamosain* [J]. Clin Exp Allergy, 2019, 49(1):108-119.
- [29] 张明琦,支玉香,吕淑霞,等.铁蟹过敏原的分离、鉴定和快速纯化[J].核农学报,2009,23(5):839-842.
- [30] HUANG Y Y, LIU G M, CAI Q F, et al. Stability of major allergen tropomyosin and other food proteins of mud crab (*Scylla serrata*) by in vitro gastrointestinal digestion [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(5):1196-1201.
- [31] AYUSO R, LEHRER S B, REESE G. Identification of continuous, allergenic regions of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) [J]. Int Arch Allergy Immu, 2002, 127(1):27-37.
- [32] 梁银龙,曹敏杰,郭川,等.蟹类原肌球蛋白基因的克隆与表达[J].水产学报,2009,33(1):24-29.
- [33] LIU G Y, MEI X J, HU M J, et al. Analysis of the allergenic

- epitopes of tropomyosin from mud crab using phage display and site-directed mutagenesis [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(34):8b03466.
- [34] YANG Y, CAO M J, ACOCER M, et al. Mapping and characterization of antigenic epitopes of arginine kinase of *Scylla paramamosain* [J]. *Mol Immunol*, 2015, 65(2):310-320.
- [35] 张泽蕙,张佩,章跃陵.血蓝蛋白免疫学功能、分子基础与应用新进展[J].汕头大学学报(自然科学版),2016,31(1):46-54.
- [36] 李婵.梭子蟹过敏原分析及原肌球蛋白关键抗原表位重组表达[D].天津:天津医科大学,2013:30-33.
- [37] 张盈莹.中华绒螯蟹重要过敏原——血蓝蛋白的抗原表位分析、重组表达及鉴定[D].天津:天津医科大学,2016:38-41.
- [38] PEDROSA M, BOYANOMARTINEZ T, GARCIAARA C, et al. Shellfish allergy: a comprehensive review [J]. *Clin Rev Allergy Immu*, 2015, 49(2):203-216.
- [39] LOPATA A L, O'HEHIR R E, LEHRER S B. Shellfish allergy [J]. *Clin Exp Allergy*, 2010, 40(6):850-858.
- [40] 王彩霞,黄建芳,向军俭,等.虾、蟹交叉过敏原的研究[J].免疫学杂志,2012,28(5):416-419.
- [41] 孙一帆,黄建芳,向军俭,等.凡纳滨对虾过敏原精氨酸激酶的质谱鉴定及其免疫交叉反应研究[J].食品科学,2015,36(1):170-173.
- [42] 杨阳.拟穴青蟹过敏原精氨酸激酶的抗原表位分析研究[D].厦门:集美大学;2015:29-39.
- [43] 费丹霞,徐赞美,肖宇,等.水产品过敏原消减技术研究进展[J].食品安全质量检测学报,2018,9(8):1764-1768.
- [44] LIU M, LIU G Y, YANG Y, et al. Thermal processing influences the digestibility and immunoreactivity of muscle proteins of *Scylla paramamosain* [J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/ Food Science and Technology*, 2018, 98:559-567.
- [45] YU H L, CAO M J, CAI Q F, et al. Effects of different processing methods on digestibility of *Scylla paramamosain* allergen (tropomyosin) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(4):791-798.
- [46] ABRAMOVITCH J B, LOPATA A L, O'HEHIR R, et al. Effect of thermal processing on T cell reactivity of shellfish allergens-discordance with IgE reactivity [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3):e0173549.
- [47] BYUN M W, LEE J W, YOON H S, et al. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy [J]. *Radiat Phys Chem*, 2002, 63(3/6):369-370.
- [48] 张明琦,高美须,支玉香,等.辐照对蟹过敏蛋白生化性质和抗原性的影响[J].中国农业科学,2009,42(9):3259-3264.
- [49] 刘光明,王玉松,黄园园,等.辐照处理对蟹类过敏原(原肌球蛋白)性质的影响[J].厦门大学学报(自然版),2009,48(2):287-292.
- [50] 廖涛,杨锴,耿胜荣,等.辐照对中华绒螯蟹过敏蛋白生化特性的影响[J].湖北农业科学,2015,54(23):5973-5977.
- [51] YU H L, RUAN W W, CAO M J, et al. Identification of physicochemical properties of *Scylla paramamosain* allergen, arginin kinase [J]. *J Sci Food Agr*, 2013, 93(2):245-253.
- [52] LIU G M, CAO M J, HUANG Y Y, et al. Comparative study of in vitro digestibility of major allergen tropomyosin and other food proteins of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *J Sci Food Agric*, 2010, 90(10):1614-1620.
- [53] SHIMAKURA K, TONOMURA Y, HAMADA Y, et al. Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion [J]. *Food Chem*, 2005, 91(2):247-253.
- [54] LIU G M, CAO M J, YU H L, et al. Optimisation of enzymatic hydrolysis of the by-products of marine crab processing using mixed enzymes [J]. *Int J Food Sci Tech*, 2010, 45(6):1198-1204.
- [55] 张晓,王永涛,李仁杰,等.我国食品超高压技术的研究进展[J].中国食品学报,2015,15(5):157-165.
- [56] 周果,杨文鸽,崔燕,等.超高压处理对三疣梭子蟹感官及其肌原纤维蛋白生化特性的影响[J].食品科学,2017,38(23):276-281.
- [57] HAN X Y, YANG H, RAO S T, et al. The maillard reaction reduced the sensitization of tropomyosin and arginine kinase from *Scylla paramamosain*, simultaneously [J]. *J Agri Food Chem*, 2018, 66(11):2934-2943.
- [58] FEI D X, LIU Q M, CHEN F, et al. Assessment of the sensitizing capacity and allergenicity of enzymatic cross-linked arginine kinase, the crab allergen [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60(7):1707-1718.

· 资讯 ·

美国更正氟噻唑吡乙酮在芸薹类蔬菜中的限量

2019年5月24日,美国联邦公报消息,美国环保署发布2019-11000号规则,更正2018年7月1日修订的联邦法规法典第40章第150至189部分内容,在§180.685节(a)段表格杀菌剂“氟噻唑吡乙酮(oxathiapiprolin)”限量中,按字母顺序添加“芸薹类蔬菜组5-16,1.5 mg/kg”条目。

(来源食品伙伴网,相关链接:<http://news.foodmate.net/2019/05/519998.html>)