

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.06.003

# 糖基化鳕鱼小清蛋白消化过程中的致敏性

Study on the sensitization of glycosylated parvalbumin from  
Alaska pollock during simulated digestion

张敏<sup>1</sup> 涂宗财<sup>1,2,3</sup> 王辉<sup>1</sup> 刘俊<sup>2,3</sup> 胡月明<sup>1</sup>

ZHANG Min<sup>1</sup> TU Zong-cai<sup>1,2,3</sup> WANG Hui<sup>1</sup> LIU Jun<sup>2,3</sup> HU Yue-ming<sup>1</sup>

(1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047;

2. 江西师范大学国家淡水鱼加工技术研发专业中心, 江西 南昌 330022;

3. 江西师范大学江西省淡水鱼高值化利用工程技术研究中心, 江西 南昌 330022)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China; 2. National R&D Center for Freshwater Fish Processing, Jiangxi Normal University, Nanchang, Jiangxi 330022, China; 3. Engineering Research Center for Freshwater Fish High-value Utilization of Jiangxi Province, Jiangxi Normal University, Nanchang, Jiangxi 330022, China)

**摘要:**采用间接竞争 ELISA、高效液相色谱等技术研究糖基化鳕鱼小清蛋白(PV)在体外模拟消化过程中致敏性及结构的变化规律。结果显示:糖基化 PV 经消化后其 IgE/IgG 结合能力显著降低,并于胃肠消化 2 h 时达到最低,3 h 时略有增加;胃蛋白酶酶解产生的分子量 < 500 Da 的肽段在胰蛋白酶的作用下会重新聚集;消化产物都出现新的发射峰并产生红移,发射峰的荧光强度也呈先降低后增加趋势。说明鳕鱼 PV 致敏性的变化与其结构的改变密切相关,糖基化改性结合模拟人体胃肠道消化可有效降低蛋白的致敏性。

**关键词:**鳕鱼;小清蛋白;糖基化;体外模拟消化;致敏性;结构

**Abstract:** Indirect competition ELISA, high performance liquid chromatography and other techniques were used to study the sensitization and structural changes of glycosylated pollock albumin (PV) during simulated digestion *in vitro*. The results showed that the IgE / IgG binding capacity of glycosylated PV was significantly reduced after digestion, reached the lowest after 2 hours of gastrointestinal digestion, then slightly increased after 3 hours. Peptides with a molecular weight < 500 Da produced by pepsin digestion under the action of trypsin re-aggregate, and the diges-

tion products all had new emission peaks with red shifting. The fluorescence intensity of the emission peaks also decreased first and then increased. The results indicated that the change of PV sensitization was closely related to the change of its structure. The combination of glycosylation modification and simulated human gastrointestinal tract digestion could effectively reduce the protein sensitization.

**Keywords:** Alaska pollock; parvalbumin; glycation; simulated digestion *in vitro*; allergenicity; structure

食物过敏是常见的免疫系统疾病,由食物中的主要过敏原引起,包括大豆、牛奶、鱼类等,主要症状有哮喘、荨麻疹、腹泻等,严重时会引起过敏性休克。随着鱼类养殖面积和消费量的不断增加,因食用鱼类过敏反应也日益严重<sup>[1]</sup>。在美国,约有 0.4% 的成人和 0.1% 的儿童因食用鱼类而产生过敏<sup>[2]</sup>;在摩洛哥,自述食物过敏发生率中儿童(28.2%)远高于成人(16.8%)<sup>[3]</sup>;在中国,自述因食用鱼类过敏的患病率约为 0.20%~2.29%,其中约有 95% 以上鱼类过敏患者的 IgE 抗体会与多种鱼类产生交叉反应<sup>[4]</sup>。

鱼类的主要过敏原是小清蛋白(parvalbumin, PV),其是维持细胞内 Ca<sup>2+</sup> 交换的酸性蛋白,分子量约为 10.5~12.2 kDa,等电点约为 3.9~5.5<sup>[5]</sup>。国内外在降低 PV 致敏性方面也做了大量研究,包括糖基化<sup>[6]</sup>、磷酸化<sup>[7]</sup>、发酵<sup>[8]</sup>等改性手段,其中糖基化改性是降低其过敏原致敏性较为有效的方法。糖基化是碳水化合物与蛋白质中  $\alpha$  或  $\epsilon$ -氨基共价结合形成糖蛋白的过程<sup>[9]</sup>,该反应不需催化剂、加热会产生特殊的色、香、味,常被用于食品

**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:31960457);江西省重点研发计划项目(编号:20192ACB60005);国家现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARs-45)

**作者简介:**张敏,女,南昌大学在读硕士研究生。

**通信作者:**涂宗财(1965—),男,南昌大学教授,博士。

E-mail: tuzc\_mail@aliyun.com

**收稿日期:**2020-04-06

加工过程中。李铮<sup>[10]</sup>对草鱼 PV 进行糖基化改性后发现,产物的抗原性得到了有效降低;Jongh 等<sup>[11]</sup>研究糖基化对鳕鱼 PV 的 IgE 结合力的影响,发现其 IgE 结合力明显减弱;Zhao 等<sup>[6]</sup>研究发现重组 PV 经糖基化修饰后其 IgG/IgE 也显著下降。

但目前关于过敏性的检测都是体外检测,糖基化蛋白进入人体后,需要经过胃和肠消化后才能被人体吸收,而蛋白质在整个消化过程中,胃蛋白酶和胰蛋白酶会通过酶切作用使蛋白质本身的结构被破坏,可能会使消化产物的致敏性发生改变。阿拉斯加狭鳕具有肉质细嫩、口感细腻等特点,受到广大消费者的喜爱。然而糖基化鳕鱼 PV 经胃肠道消化后致敏性的变化鲜有报道。团队前期研究不同还原糖(葡萄糖、果糖、核糖、乳糖、半乳糖)与 PV 反应后其 IgE 和 IgG 结合能力的变化,发现核糖与 PV 反应后产物的 IgE/IgG 结合能力降低程度最大。因此,试验拟选择核糖对 PV 进行糖基化改性,采用间接竞争 ELISA 法研究糖基化鳕鱼 PV 在体外模拟消化过程中致敏性的变化,利用高效液相色谱和光谱学技术分析消化产物分子量和结构的变化,揭示糖基化鳕鱼 PV 在消化过程中致敏性与结构的变化规律,以期对低致敏性蛋白在人体消化过程中的安全评估提供指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

阿拉斯加狭鳕 PV:纯度 91.36%,实验室自制;

鱼类过敏患者 IgE 血清:美国 PlasmaLab International 公司;

兔抗 PV 的 IgG 血清:实验室自制;

HRP 标记羊抗人 IgE、HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体:美国 Biocheck Inc 公司;

D-核糖、4-(2-氨基乙基)苯磺酰氯盐酸盐:分析纯,上海

阿拉丁生化科技有限公司;

胃蛋白酶:100 U/mg,北京索莱宝公司;

胰蛋白酶:250 U/mg,北京索莱宝公司;

其他材料均为分析纯。

#### 1.1.2 过敏患者血清池

过敏患者血清池由 10 个鳕鱼过敏患者的血清(P1~P10)组成,其基本信息如表 1 所示。

#### 1.1.3 主要仪器设备

冷冻干燥机:LGJ-1D-80 型,北京亚泰科隆仪器技术有限公司;

酶标仪:Synergy H1 型,美国伯腾仪器有限公司;

高速冷冻离心机:GL-20G-II 型,上海安亭科学仪器厂;

荧光光谱仪:F-7000 型,日本 Hitachi 公司;

高效液相色谱仪:Primaide 型,日本 Hitachi 公司;

垂直电泳仪:MP4 型,美国 Bio-Rad 公司。

## 1.2 试验方法

1.2.1 样品制备 称取 PV 后用超纯水溶解并调整其浓度为 5 mg/mL,以核糖:PV 质量比 1.5:1.0 混匀后冻干。在 65%的饱和 NaCl 溶液下 60 °C 反应 1 h,冰浴终止、透析冻干后得到糖基化样品,记作 PV-Rib。

1.2.2 模拟人体胃肠道消化 参考沙小梅等<sup>[12]</sup>的方法稍作修改。用 0.5 mol/L 的盐酸调节溶液 pH 至 2.0,按酶与样品质量比 1:50 加入胃蛋白酶,震荡酶解 1 h 后用 NaHCO<sub>3</sub> 溶液调节 pH 至 7.0,按酶与底物质量比 1:25 加入胰蛋白酶,分别震荡酶解 1,2 h,用 4-(2-氨基乙基)苯磺酰氯盐酸盐终止反应。其中 PV 和 PV-Rib 经胃消化 1 h、胃肠消化 2 h、胃肠消化 3 h 的产物分别记作 G-PV-1 h、GI-PV-2 h、GI-PV-3 h、G-PV-Rib-1 h、GI-PV-Rib-2 h 和 GI-PV-Rib-3 h。

1.2.3 消化率测定 参照 Naourez Ktari 等<sup>[13]</sup>的方法,通过测定 PV 自由氨基含量的变化来反映产物的消化率。

表 1 鱼类过敏患者病史

Table 1 The history of fish allergy patients

编号	年龄	性别	主要症状	Ig 水平/(kU · L <sup>-1</sup> )
P1	35	女	过敏性鼻炎、哮喘;始于婴幼儿时期	24.8
P2	30	女	过敏性鼻炎、湿疹、哮喘;始于 6 岁	≥100.0
P3	54	男	过敏性鼻炎、湿疹、哮喘;始于婴幼儿时期	35.0
P4	51	男	过敏性鼻炎、湿疹、荨麻疹;始于婴幼儿时期	33.5
P5	68	男	过敏性鼻炎、湿疹、哮喘、荨麻疹;始于 12 岁	10.9
P6	37	男	荨麻疹、湿疹;始于婴幼儿时期	11.2
P7	36	男	哮喘、荨麻疹、湿疹;始于婴幼儿时期	27.1
P8	47	男	荨麻疹;始于婴幼儿时期	17.8
P9	63	女	荨麻疹、湿疹;始于婴幼儿时期	42.5
P10	48	男	荨麻疹;始于婴幼儿时期	44.7

自由氨基的测定参照宋启东等<sup>[14]</sup>的方法,消化率的计算公式:

$$DH = \frac{(OD_0 - OD_1) \times A \times 1\,000 \times 2}{K \times M_w \times b \times h_{tot}} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

DH——消化率,%;

OD<sub>0</sub>——消化后样品的吸光值;

OD<sub>1</sub>——未消化样品的吸光值;

A——赖氨酸的自由氨基数,mg/mL;

K——标准曲线的斜率;

M<sub>w</sub>——赖氨酸的分子量,g/mol;

b——消化液的浓度,mg/mL。

#### 1.2.4 IgE 和 IgG 结合能力的测定

(1) IgE 结合能力:采用间接竞争 ELISA 法测定糖基化 PV 消化后 IgE 结合能力的变化,产物的 IgE 结合能力用抑制率来表示,抑制率越低则结合能力越低<sup>[15]</sup>。在 96 孔板上加入 100 μL 4 μg/mL 的抗原,37 °C 孵育 1 h;加入 250 μL 2% 的 BSA 封闭液,37 °C 孵育 2 h;加入 50 μL 样品(4 μg/mL)后再加入 50 μL IgE 一抗(1:500),37 °C 孵育 1 h;加入 100 μL 酶标二抗(1:600),37 °C 孵育 1h;加入 100 μL TMB 显色液,37 °C 避光孵育 15 min;最后加入 100 μL 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 终止液,在 450 nm/630 nm 双波长下读取其吸光值。按式(2)计算抑制率。每个样品做 3 个平行取平均值。

$$w = \left(1 - \frac{B}{B_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

w——抑制率,%;

B——添加竞争性抗原后样品的吸光值;

B<sub>0</sub>——不添加竞争性抗原样品的吸光值。

(2) IgG 结合能力:糖基化 PV 消化后 IgG 结合能力测定方法同 IgE 结合能力测定,一抗稀释度为 1:800,二抗稀释度为 1:5 000。

#### 1.2.5 分子量测定

(1) SDS-PAGE:采用 12% 分离胶和 5% 浓缩胶,1× 上样缓冲液,上样量为 10 μL,超低分子量 Marker。初始电压为 80 V 进入分离胶后调整为 100 V,取下后用考马斯亮蓝 R250 染色 15 min,脱色至背景清晰。

(2) HPLC:参照 GB 31645—2018,将样品稀释至 1 mg/mL 后用 0.22 μm 滤膜过滤。用 5% 的 B 相平衡规格为 4.6 mm×250 mm 的凝胶色谱柱,样品的洗脱条件为进样量 10 μL;流速 0.5 mL/min;柱温 45 °C;波长 220 nm。利用流动相配制相同浓度的标准品:细胞色素 C(M<sub>w</sub> 12 384 Da)、抑肽酶(M<sub>w</sub> 6 511.51 Da)、谷胱甘肽(M<sub>w</sub> 612.63 Da)、羟脯氨酸(M<sub>w</sub> 131.13 Da),过 0.22 μm

滤膜后上样。

#### 1.2.6 荧光光谱测定

(1) 内源荧光:参照 Kim 等<sup>[16]</sup>的方法,用蒸馏水配制 1 mg/mL 样品,用荧光光谱仪测定。扫描速率 1 200 nm/min,激发波长 295 nm,发射波长扫描范围为 200~600 nm,狭缝宽度 5 nm。

(2) 同步荧光:用蒸馏水配制 1 mg/mL 样品,用荧光光谱仪测定。Δλ 分别为 15,60 nm,其他条件同内源荧光测定。

1.2.7 数据处理 数据采用 3 次平行试验“平均值±标准偏差”表示,利用 IBM SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 8 软件对数据、图像进行处理。

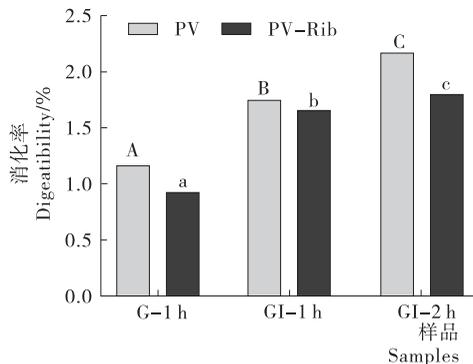
## 2 结果与分析

### 2.1 自由氨基含量

糖基化前后 PV 消化率的变化如图 1 所示。PV-Rib 的消化率显著低于 PV,随着消化时间的延长,PV 与 PV-Rib 的消化率不断增加,在 G-1 h 和 GI-2 h 时增长速率最快,并于 GI-3 h 时达到最大。说明经糖基化改性后 PV 的胃和肠消化率均出现下降,可能是胰蛋白酶能对赖氨酸和精氨酸的羧基端肽键进行特异性水解,而糖基化可通过修饰 PV 的赖氨酸和精氨酸残基,使这些残基无法被胰蛋白酶识别<sup>[12]</sup>。目前也有研究<sup>[17-19]</sup>表明经糖基化修饰后乳清蛋白、乳球蛋白、酪蛋白的消化性均出现下降,且下降程度与蛋白特性和还原糖种类有关。

### 2.2 IgE 和 IgG 结合能力

PV 和 PV-Rib 消化后 IgE/IgG 结合能力的变化如图 2 所示。PV-Rib 的 IgE/IgG 结合能力显著低于 PV,在二者的消化产物中也观察到同样的变化。在消化过程中 PV 和 PV-Rib 的 IgE/IgG 结合能力出现明显下降,其中 G-1 h 下降趋势最快,分别降低了 42.86%,36.36% 和 53.42%,30.36%,在 GI-2h 时达到最低并在 GI-3h 时略



字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 1 糖基化前后 PV 消化率的变化

Figure 1 The changes of digestibility of PV before and after glycation

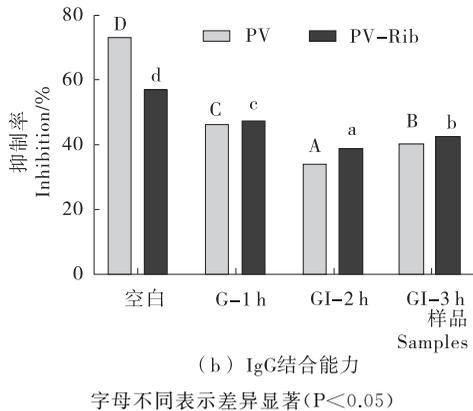
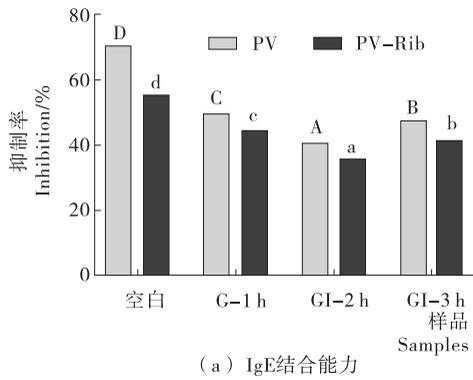


图2 PV和PV-Rib消化后IgE/IgG结合能力

Figure 2 The changes of IgE/IgG binding capacity in glycosylated PV after digested

有上升,但远低于消化前。由此可见胃蛋白酶对PV和PV-Rib过敏表位的破坏较为明显,同样的结果也在几种淡水鱼小清蛋白的消化产物中被发现<sup>[20]</sup>。糖基化能通过掩盖或破坏蛋白质分子上的过敏表位来降低其致敏性<sup>[21]</sup>,参与胃肠道消化的蛋白酶也可以通过酶切作用破坏蛋白质的过敏表位,但随着消化时间的延长可能会由于蛋白酶的过度酶切使部分过敏表位被暴露,导致产物的致敏性增加。

### 2.3 SDS-PAGE

PV和PV-Rib消化产物的SDS-PAGE如图3所示,对比泳道1,泳道2的蛋白条带出现了明显上移;对比泳道4、6、8,泳道3、5、7的蛋白条带明显较多,泳道5~8的蛋白条带有了明显的降解;对比泳道1、2,泳道3、4出现了分子量较大的条带。糖基化反应中,PV与核糖发生共价交联后分子量会有一定的增加,表现出PV-Rib蛋白条带的上移。但在消化过程中,加入的胃蛋白酶未被完全分解,在SDS-PAGE中表现出新的条带,由于蛋白酶的存在大分子蛋白质被降解,随着消化时间的延长,逐渐被消化成为小分子多肽甚至游离氨基酸,不易在SDS-PAGE中被观察到,且分子量较小的肠消化产物(<3 kDa)容易在凝胶上浸出,为了明确消化产物的分子量分布进行了

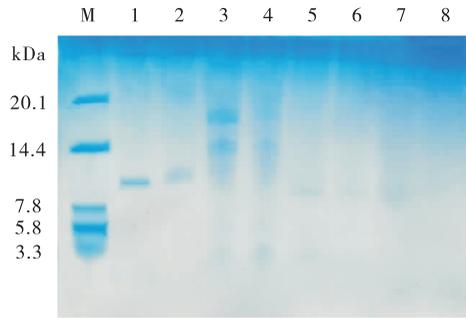


图3 PV和PV-Rib消化产物的SDS-PAGE  
Figure 3 The SDS-PAGE of digestive products in PV and PV-Rib

Figure 3 The SDS-PAGE of digestive products in PV and PV-Rib

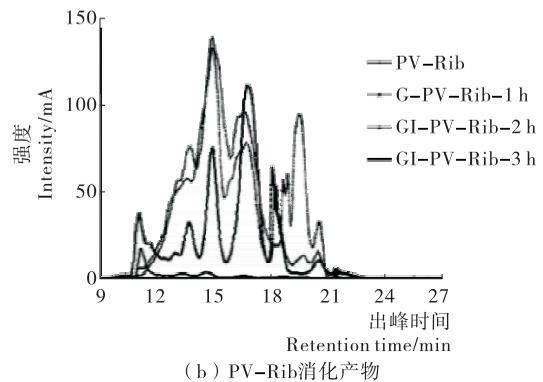
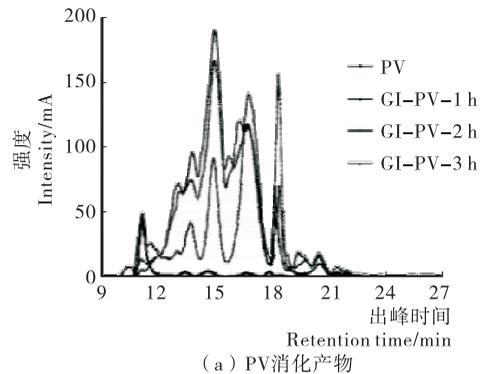


图4 PV和PV-Rib消化产物的高效液相图谱  
Figure 4 The HPLC profile of digestive products in PV and PV-Rib

高效液相色谱试验。

### 2.4 高效液相色谱

以标准品分子量的对数( $\lg M_w$ )为横坐标,以保留时间( $RT$ )为纵坐标作线性分析,拟合后得到的方程为: $RT = -4.2526 \lg M_w + 28.128 (R^2 = 0.9947, P < 0.05)$ ,相关性良好。PV和PV-Rib消化产物的高效液相图谱如图4所示。与PV相比,PV-Rib的出峰时间从11.05 min

提前到 10.47 min, 峰强有所降低; PV 和 PV-Rib 的消化产物在 11.05 min 和 10.47 min 处的主峰强度逐渐减弱, 出峰时间不断延长, 并产生了一系列新的洗脱峰。说明核糖与 PV 发生共价交联后产物的分子量增加, 出峰时间提前, 峰强降低。消化过程中, PV 和 PV-Rib 随着消化时间的延长不断被蛋白酶分解, 于是出现强度不一的新峰, 这也与 SDS-PAGE 的结果一致。

PV 和 PV-Rib 经消化产物的分子量分布如图 5 所示, 肽段的含量用肽段组分的面积与所有峰面积的比值来表示, 按分子量大小将其分为 >9 000, 7 000~9 000, 5 000~7 000, 3 000~5 000, 1 000~3 000, 500~1 000, <500 Da 7 个范围。分析发现 PV 和 PV-Rib 经胃消化 1 h 后 >9 000 Da 的肽段分别降低了 40.0% 和 31.0%, 1 000~3 000 Da 的肽段分别增加了 13.0% 和 13.5%; 经胃肠道消化 2 h 后 5 000~9 000 Da 肽段基本消失; <500 Da 肽段的数量先增加后降低。这表明分子量 >9 000 Da 的肽段对胃蛋白酶的抗消化能力较弱, 5 000~9 000 Da 的肽段对胰蛋白酶的抗消化能力较弱; 在胃蛋白酶作用下产生的 <500 Da 肽段在胰蛋白酶的作用下重新聚合<sup>[22]</sup>。分子量 <3.5 kDa 的肽段一般不具有免疫反应性, 但试验发现 PV 和 PV-Rib 经消化后仍保持一定的致敏性, 在 GI-3h 甚至出现了增加, 可能也与

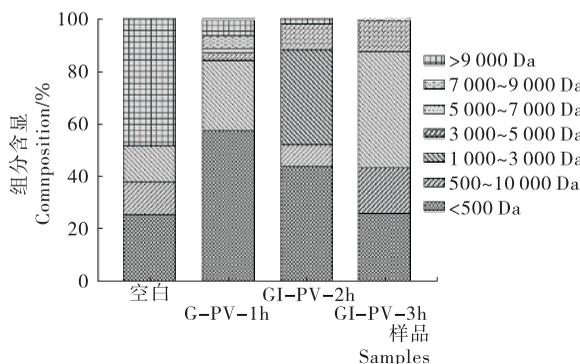
<500 Da 小分子肽段的重新聚合有关。糖基化 PV 被酶解后分子上的抗原表位被破坏, 但依旧有部分线性表位存在, 随着小分子肽段的重新聚合, 可能又形成了含有某些抗原决定簇的氨基酸序列<sup>[23]</sup>。

### 2.5 内源荧光

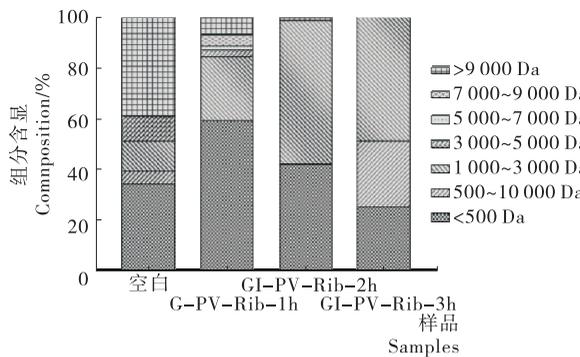
PV 和 PV-Rib 消化产物的内源荧光光谱如图 6 所示。消化前 PV 的发射波长在 300 nm 附近, PV-Rib 的发射波长出现红移, 消化后 PV 和 PV-Rib 在 348 nm 处有新发射峰, 其强度随消化时间的延长先降低后升高。有所不同的是, PV 消化产物的发射波长均出现红移, 且消化时间与红移程度呈正相关, 而 PV-Rib 只有在新发射峰处出现了红移, 在 300 nm 处却出现蓝移。这些结果表明糖基化后 PV 的 Tyr 残基所处微环境的亲水性增加, 在消化过程中 PV 与 PV-Rib 肽链的结构展开使内部的 Trp 残基逐渐被暴露, PV-Rib 部分消化产物 Tyr 残基的疏水性增加<sup>[24]</sup>, 肽段的重新聚合使二者产物的 Trp 残基逐渐被掩埋。说明糖基化 PV 致敏性下降主要是由于核糖对其抗原表位的修饰作用, 而消化可进一步破坏其构象表位, 随消化时间的延长线性表位也不断减少, 但其仍保持一定致敏性, 说明小分子短肽的特殊序列依然会使机体对蛋白过敏。

### 2.6 同步荧光

PV 和 PV-Rib 消化产物的同步荧光光谱如图 7 所



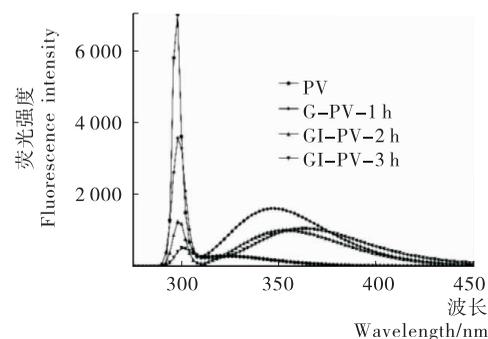
(a) PV 消化产物



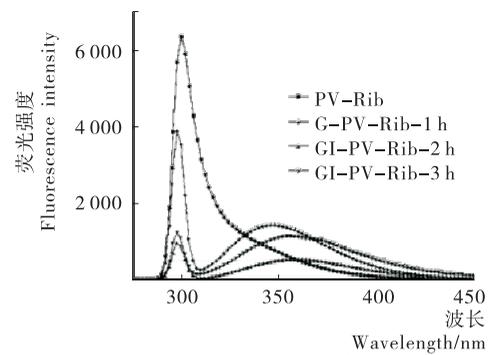
(b) PV-Rib 消化产物

图 5 PV 和 PV-Rib 消化产物的分子量分布

Figure 5 The molecular weight distribution of digestive products in PV and PV-Rib



(a) PV 消化产物



(b) PV-Rib 消化产物

图 6 PV 和 PV-Rib 消化产物的内源荧光光谱

Figure 6 The intrinsic fluorescence spectra of digestive products in PV and PV-Rib

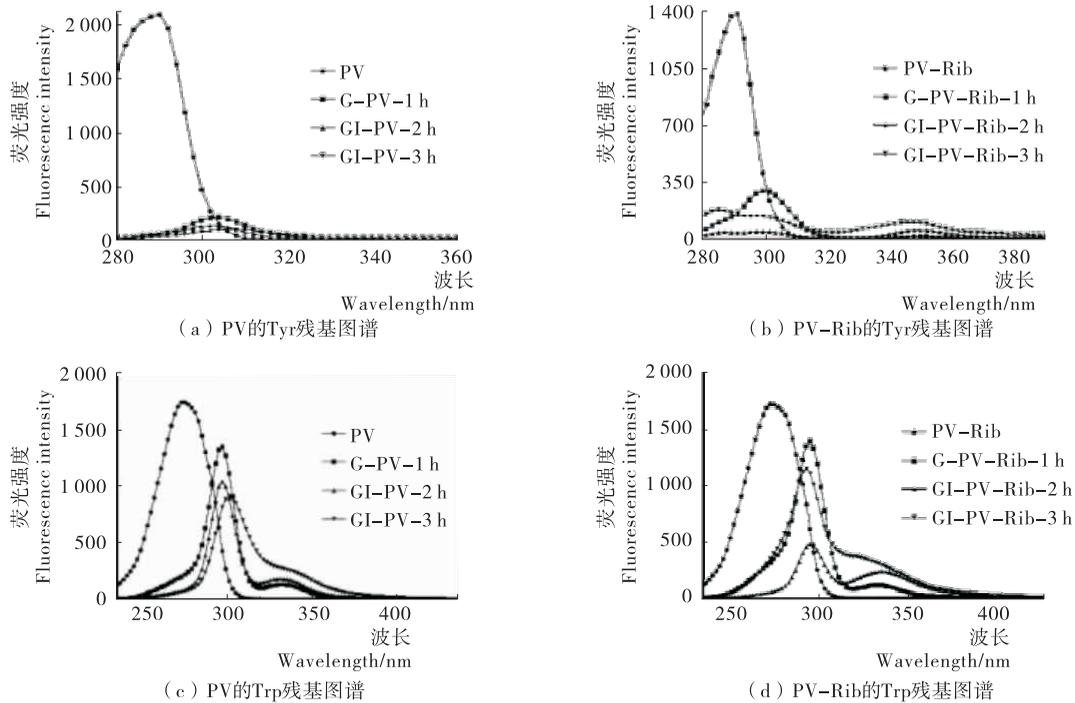


图 7 PV 和 PV-Rib 消化产物的同步荧光光谱

Figure 7 The synchronous fluorescence spectra of digestive products in PV and PV-Rib

示。消化后 PV 和 PV-Rib 的 Tyr 和 Trp 的荧光强度都出现降低,二者均出现了新的发射峰,发射波长也出现了红移;随着消化时间的延长,Tyr 的荧光强度逐渐降低,Trp 的荧光强度先增加后降低。消化过程中,PV 和 PV-Rib 的消化产物中 Tyr 和 Trp 的微环境发生了变化,并产生了从 Tyr 到 Trp 残基的能量转移<sup>[25]</sup>,可能是在消化过程中蛋白质结构的展开使 Tyr 和 Phe 的贡献减少<sup>[26]</sup>;PV 和 PV-Rib 分子中的 Tyr 残基对胃肠道的消化更为敏感,可能与氨基酸的极性有关<sup>[27-28]</sup>。这些结果也与分子量、致敏性和内源荧光的研究结果一致,表明糖基化和消化都能显著改变 PV 的构象,通过修饰和破坏其抗原表位来降低 PV 的致敏性,也进一步说明了糖基化结合胃肠道消化是降低鳕鱼 PV 致敏性较为有效的方法。

### 3 结论

糖基化鳕鱼小清蛋白经体外模拟消化后发现,胃消化 1 h 后产物的 IgE 和 IgG 结合能力降低速率最快,胃肠消化 2 h 时最低,3 h 略有增加,消化性也出现降低;胃蛋白酶酶解产生的分子量 < 500 Da 的肽段在胰蛋白酶的作用下会重新聚集;产物均产生了新的发射峰和红移,发射峰的荧光强度呈先降低后增加趋势。这表明糖基化改性结合体外模拟消化可有效降低鳕鱼小清蛋白的致敏性。但消化吸收过程中蛋白质的过敏表位会发生显著变化以及消化产物会引起机体在致敏与激发阶段的免疫系统变

化还需要进一步研究。

### 参考文献

- [1] SHARP M F, LOPATA A L. Fish allergy: In review[J]. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 2014, 46(3): 258-271.
- [2] SICHERER S H, MUÑOZ-FURLONG A, SAMPSON H A. Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey[J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2004, 114(1): 159-165.
- [3] NAJLAJE MEJRIT O A M E. Fish consumption associated with reduction of fish allergy: A comparative study between children and adults in Fez-Meknes region[J]. *Nutrition & Food Science*, 2018, 48(1): 136-149.
- [4] 吕相征, 刘秀梅, 杨晓光. 健康人群食物过敏状况的初步调查[J]. *中国食品卫生杂志*, 2005, 17(2): 119-121.
- [5] ARIF S H, JABEEN M, HASNAIN A. Biochemical characterization and thermostable capacity of parvalbumins: The major fish-food allergens[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2007, 31(1): 121-137.
- [6] ZHAO Yong-juan, CAI Qiu-feng, JIN Teng-chuan, et al. Effect of Maillard reaction on the structural and immunological properties of recombinant silver carp parvalbumin[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 75: 25-33.
- [7] 杨汝晴. 鱼类小清蛋白分离纯化、性质分析及磷酸化改性[D]. 厦门: 集美大学, 2018: 15-29.
- [8] 高卿, 李振兴, 米娜莎, 等. 海鲈鱼肌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.
- [9] JUNG W, PARK P, AHN C, et al. Preparation and antioxidant potential of maillard reaction products from (MRPs) chitoooligomer[J]. Food Chemistry, 2014, 145: 173-178.
- [10] 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: 40-48.
- [11] JONGH H, LÓPEZ C, TIMMERMAN E, et al. Digestibility and IgE-binding of glycosylated codfish parvalbumin[J]. BioMed Research International, 2013, 2 013(8): 1-10.
- [12] 沙小梅, 胡姿姿, 涂宗财, 等. 基于体外模拟消化的糖基化草鱼鱼鳞明胶抗氧化性研究[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(3): 58-64.
- [13] KTARI N, FAKHFAKH N, BALTIR, et al. Effect of degree of hydrolysis and protease type on the antioxidant activity of prptein hydrolysates from cuttlefish (*Sepia officinalis*) by-products[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2013, 22(5): 436-448.
- [14] 宋启东, 涂宗财, 王辉, 等. 超声协同糖基化对蛋清粉致敏性及结构的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(5): 1-5, 26.
- [15] YANG Wen-hua, TU Zong-cai, WANG Hui, et al. High-intensity ultrasound enhances the immunoglobulin (Ig) G and IgE binding of ovalbumin[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 97(9): 2 714-2 720.
- [16] KIM D, SHIN W. Characterisation of bovine serum albumin-fucoidan conjugates prepared via the Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 1-6.
- [17] DA SILVA PINTO M, LÉONIL J, HENRY G, et al. Heating and glycation of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\beta$ -casein: Aggregation and in vitro digestion[J]. Food Research International, 2014, 55: 70-76.
- [18] WADA Y, LONNERDAL B. Effects of different industrial heating processes of milk on site-specific protein modifications and their relationship to in vitro and in vivo protein digestibility[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(18): 4 175-4 185.
- [19] CORZO-MARTÍNEZ M, SORIA A, BELLOQUE J, et al. Effect of glycation on the gastrointestinal digestibility and immunoreactivity of bovine  $\beta$ -lactoglobulin[J]. International Dairy Journal, 2010, 20(11): 742-752.
- [20] 于滢. 几种淡水鱼过敏原小清蛋白的纯化鉴定及性质研究[D]. 杭州: 中国计量学院, 2015: 44-54.
- [21] 徐雨佳, 钟俊桢, 刘成梅, 等. 糖基化对  $\beta$ -乳球蛋白致敏性的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 82-85, 100.
- [22] 张彬, 刘贺, 徐婧婷, 等. 大豆蛋白酶解物的抗消化性及离子强度对其聚集的影响[J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 632-637.
- [23] 王章存, 王佩, 安广杰, 等. 风味蛋白酶水解大豆分离蛋白的抗原性及功能特性变化[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(3): 48-52.
- [24] 江连洲, 李佳妮, 邹晓霜, 等. 花青素对大豆蛋白体外胃消化结构的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 34-42.
- [25] KALAPATHY U, HETTIARACHCHY N, RHEE K. Effect of drying methods on molecular properties and functionalities of disulfide bond-cleaved soy proteins[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1997, 74(3): 195-199.
- [26] LIU Guang-xian, LIU Jun, TU Zong-cai, et al. Investigation of conformation change of glycated ovalbumin obtained by Co-60 gamma-ray irradiation under drying treatment[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2018, 47: 286-291.
- [27] 朱姝冉, 张淼, 周光宏, 等. 利用光谱技术分析加热温度对肌红蛋白结构的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 35-39.
- [28] 吴名草, 金邦荃, 陈许明, 等. 紫外照射下高铁肌红蛋白变化的同步荧光光谱指认[J]. 激光与光电子学进展, 2013, 50(5): 197-203.

## 信息窗

### 韩国下半年加大对食品、医药品的安全管理

《韩国食品医药品安全处》6月26日报道资料介绍,韩国食品医药品安全处(简称食药处)自10月起规定畜产品加工业和食用蛋类企业在批准经营之前,必须接受食品安全管理(HACCP)认证,每3年为一周期,期满后重新接受认证。

自12月开始,韩政府对儿童喜爱的8大食品(饼干糖果、面包、巧克力、香肠、饮料、速食品、面条、特殊用途食品等)实施 HACCP 义务化认证,并且对所有的保健功能性食品全面实施 GMP 义务化安全管理。7月开始,韩政府对奶制品的抗生素及农药残留进行检查,12月开始要求奶制品出口国必须提供抗生素等残留检测

报告书。

为了彻底战胜新冠肺炎疫情,韩政府要求食品制造业从业者佩戴口罩义务化、餐饮店配备手消毒剂义务化。对于进口食品的海外厂家将扩大实施以“单据审查”代替实地调查。

药品方面,韩政府加大支持划时代生物医药新品的开发,同时加强对基因治疗药、医疗器械等全周期的安全管理。为了保障国民知情权,自7月开始,韩国正式实施药品成分信息公开制,8月份将通过“医药品安全国家”网页里分阶段公开。

(来源: <http://news.foodmate.net>)