

食品过敏原检测方案探究



ROMER LABS

马文良

汇报内容



食品不良反应

有毒性食品

- 对所有人都有影响
- 第一次接触就会发作
- 例如：黄曲霉毒素
氰化物
致病菌



无毒性的食品

食物不耐受

- 食物各不相同
- 酶促的
- IgG介导



食物过敏

- 过敏人群免疫系统产生的不良反应
- 第二次接触过敏原才会导致过敏反应
- 几乎所有的过敏原都是蛋白质 (10-70kDa)
- 过敏反应是由**IgE**介导

什么是食品过敏原？

- 食品过敏原是指食物中能够引起机体免疫系统异常反应的成分。
- 进入人体后，机体对之产生异常免疫反应，导致机体生理功能的紊乱和/或组织损伤，进而引发一系列临床症状。
- 食品过敏反应具有特异性，各种免疫病生理机制均可涉及。一般来说，食品过敏原为分子量介于**10 000~70 000**之间的蛋白或糖蛋白，占食品总蛋白的极小一部分，分别属于不同的蛋白家族。但是微量的食品过敏原蛋白即可引起严重的过敏反应。

特点

- 第一次接触：敏化作用
 - 没有反应
 - 免疫系统产生特异性抗体
- 第二次接触：过敏反应
 - 过敏原被特异性识别
 - 释放组胺+其他化学物质

过敏症状



食物过敏症状

眼

痒，眼睛及嘴唇周围产生肿胀。

全身症状

苍白，脉动缓慢，血压低，休克。

呼吸器官

鼻塞，流鼻涕，咳嗽，喷嚏，喉咙肿胀，呼吸困难，哮喘。

皮肤

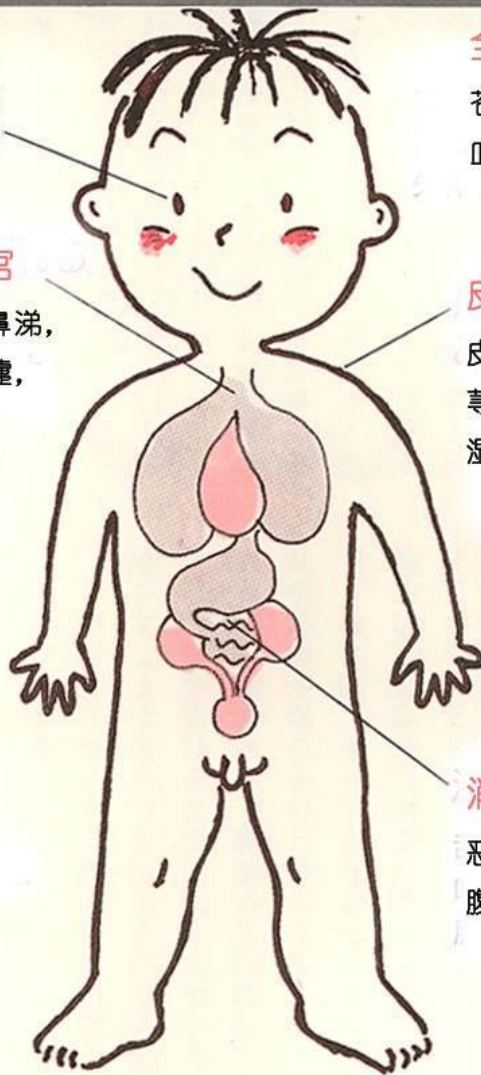
皮肤瘙痒及脱皮，荨麻疹，湿疹恶化。

神经

头疼。

消化器官

恶心，呕吐，腹痛，腹泻。



普遍性



25%的人认为他们有食物过敏



2 - 3%的成年人对食物过敏



5 - 8%的儿童对食物过敏

食品过敏原

任何食品都可能引起过敏反应，但最常见的过敏原是：

甲壳类
贝类



鱼



牛奶



蛋类



大豆



小麦



花生



坚果



如何避免过敏反应？

不食用



但是在生活中很难避免某些食物的摄入（特别是牛奶，鸡蛋，小麦和花生）所以唯一办法是通过食品生产商标识以识别食品不含某种成分。

标识法规



2004年8月，美国 《食品过敏原标识和消费者保护法案》

牛奶，蛋，鱼，甲壳类，贝类，树坚果，花生，小麦，大豆



欧盟法规 No. 1169/2011

牛奶，蛋，鱼，甲壳类，坚果，花生，谷物含麸质，大豆，芹菜，芥末，芝麻，亚硫酸盐，软体动物，羽扇豆



2001年日本 《食品安全法》

小麦、荞麦、鸡蛋、牛奶、虾、蟹和花生



《澳大利亚和新西兰食品标准法典》标准1.2.3

《强制警告和建议声明和通告》

牛奶，蛋，鱼，甲壳类，坚果，花生，谷物含麸质，大豆，芝麻，亚硫酸盐，蜂王浆，蜂花粉，蜂胶

标识法规

Allergens	EU	USA	Canada	Australia/ NZ	Japan
荞麦					✓
小麦/麦麸	>20 mg/kg	>20 mg/kg	✓	✓	✓
甲壳类	✓	✓	✓	✓	✓
鸡蛋	✓	✓	✓	✓	✓
鱼	✓	✓	✓	✓	
花生	✓	✓	✓	✓	✓
大豆	✓	✓	✓	✓	
牛奶	✓	✓	✓	✓	✓
坚果	✓	✓	✓	✓	
芹菜	✓				
芥末	✓		✓		
芝麻	✓		✓	✓	
亚硫酸盐	>10 mg/kg		>10 mg/kg	>10 mg/kg	
羽扇豆	✓				
贝类	✓		✓		
蜂王浆				✓	

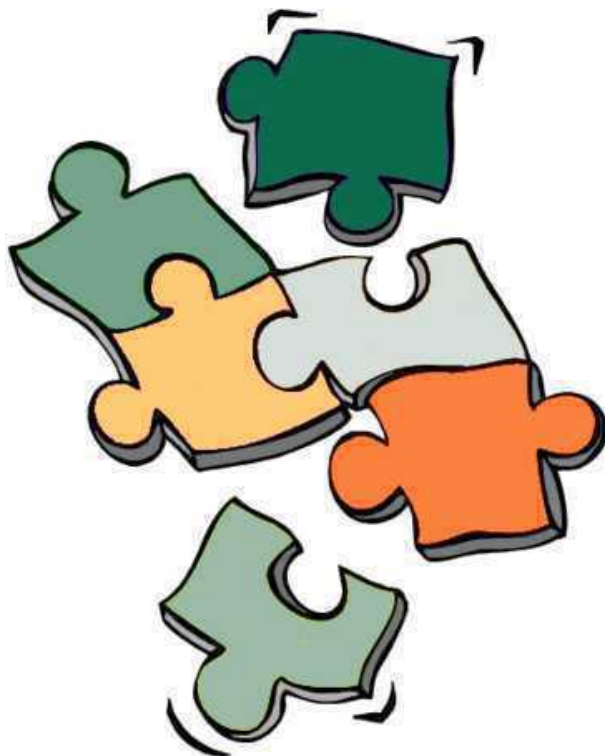
为什么要检测过敏原？

食品过敏原=食品安全风险

商标保护

法律& 标准

产品召回



“不含过敏原” 市场

媒体的关注

面临的挑战

- 已知过敏原中只有很少一部分可获得高纯度的蛋白
- 高纯度的蛋白质不代表食物样本
- 食物标准中没有过敏原检测的参考方法
- 基于抗体的方法，如**ELISA**或试纸条，作为蛋白质分析的核心方法

需要解决的问题...

- 取样
- 计量单位
- 食品加工处理
- 基质影响
- 检出限
- 标准物质及换算
- 参考物质及参考方法



取样

- 哪里应该检测？
- 多长时间检测一次？
- 取样的大小？
- ...



需要检测什么？

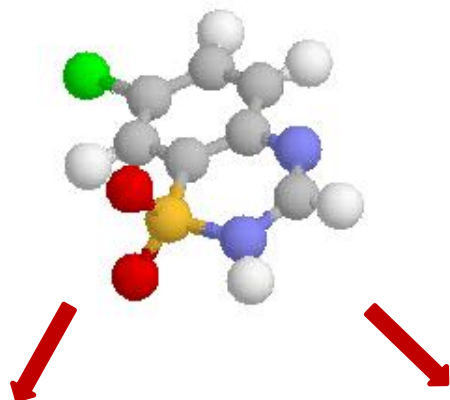
- 原材料
- 成品
- 冲洗水
- 表面



计量单位

过敏原 蛋白质

e.g. 花生蛋白



总蛋白

致敏蛋白

过敏原 内容

e.g. 花生含量



关于单位的一些争论

导致过敏的原因是什么？

→ 致敏蛋白

我们检测的是什么？

→ 特异性蛋白或总蛋白

要标识的是什么？

→ 整个食物

不同蛋白的混合物，内容多样

特异性蛋白并不是总是可用的

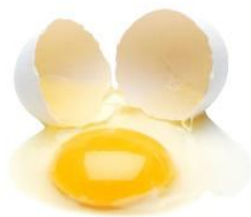
如果是稳定保守的，那么就可以用

总蛋白与定性结果相关



食品加工

- 多数食品样品都经过加工处理
 - 蛋白质构象变化
 - 水解成多肽
- 导致不可检测



基质的影响

- 无穷多个不同的食物基质
- 每个食品厂/配方都不一样
- 多酚、单宁、pH值、盐、脂肪...
- 无普适性方法



检出限

- 只针对麸质
→ 水解后的麸质呢???
- 分析花生含量
- 试剂盒 1: 阳性 - 1ppm
($LOD = 0.5ppm$)
- 试剂盒 2: 阴性
($LOD = 2ppm$)

多肽也很危險



标准物质及换算

- 应该检测什么？
(原生的, 加工后的, ...)
- 标准物质是否稳定？
(牛奶- 酪蛋白- β -乳球蛋白)

- 换算因子:

STI → 大豆蛋白 → 大豆 → 豆奶...



参考物质及方法

- 没有参考方法
- 没有参考物质



过敏原是如何进入产品的?

配方

成分,预混原料,重加工... ..

交叉污染

- 存储材料
- 生产(称量、混合、生产线,不恰当清洁...)
- 遗留物,清洁
- 工作人员

→ 不均匀分布!

交叉污染

- 人
- 公共设备
- 重加工
- 加工助剂
- 原材料搬运
- 生产中的空气
- 包装
- 清洗
- 供应链
- 存储
- 运输



Source: UK Food Standards Agency, 2006

原料



Picture source: <http://allergytraining.food.gov.uk/default.aspx>

产品包装

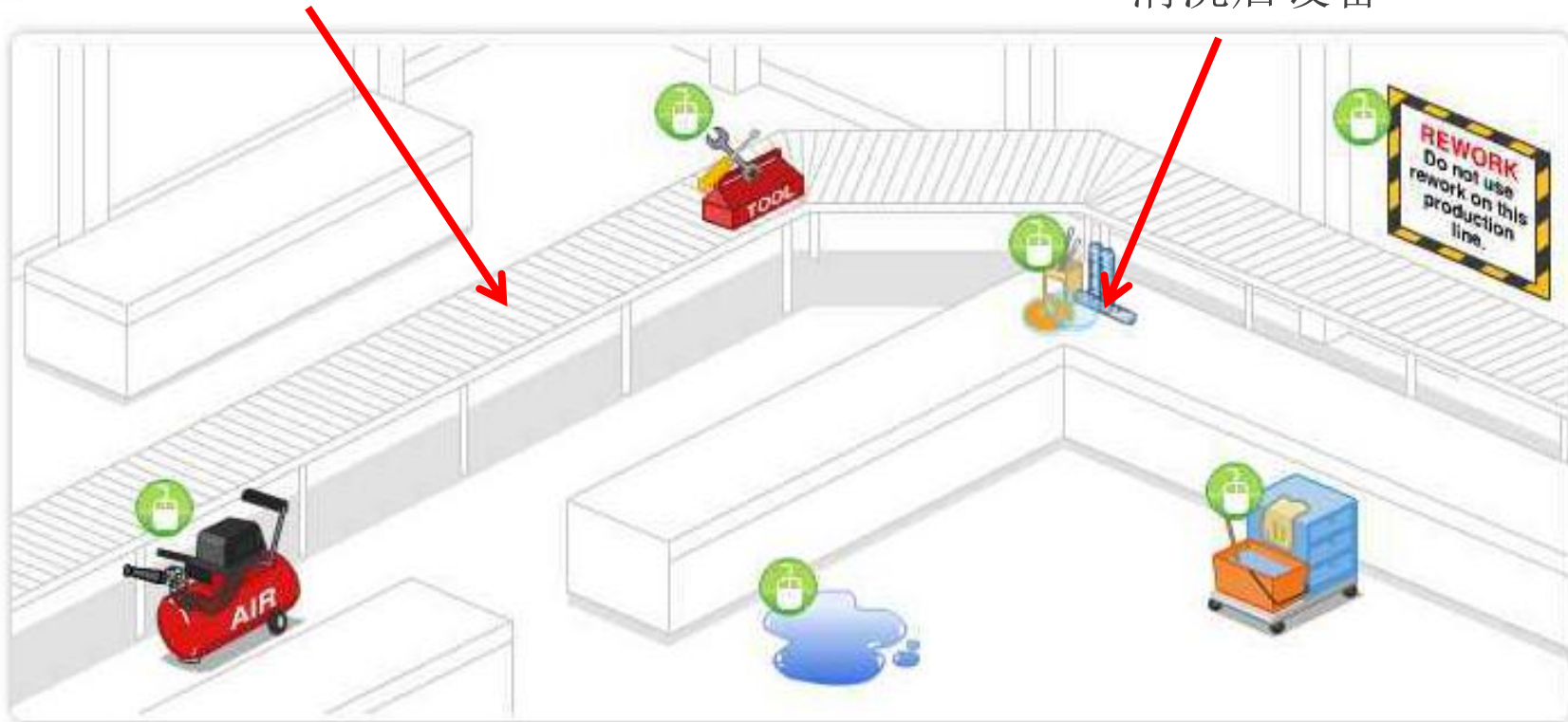


Picture source: <http://allergytraining.food.gov.uk/default.aspx>

清洗

清洗后流水线

清洗后设备

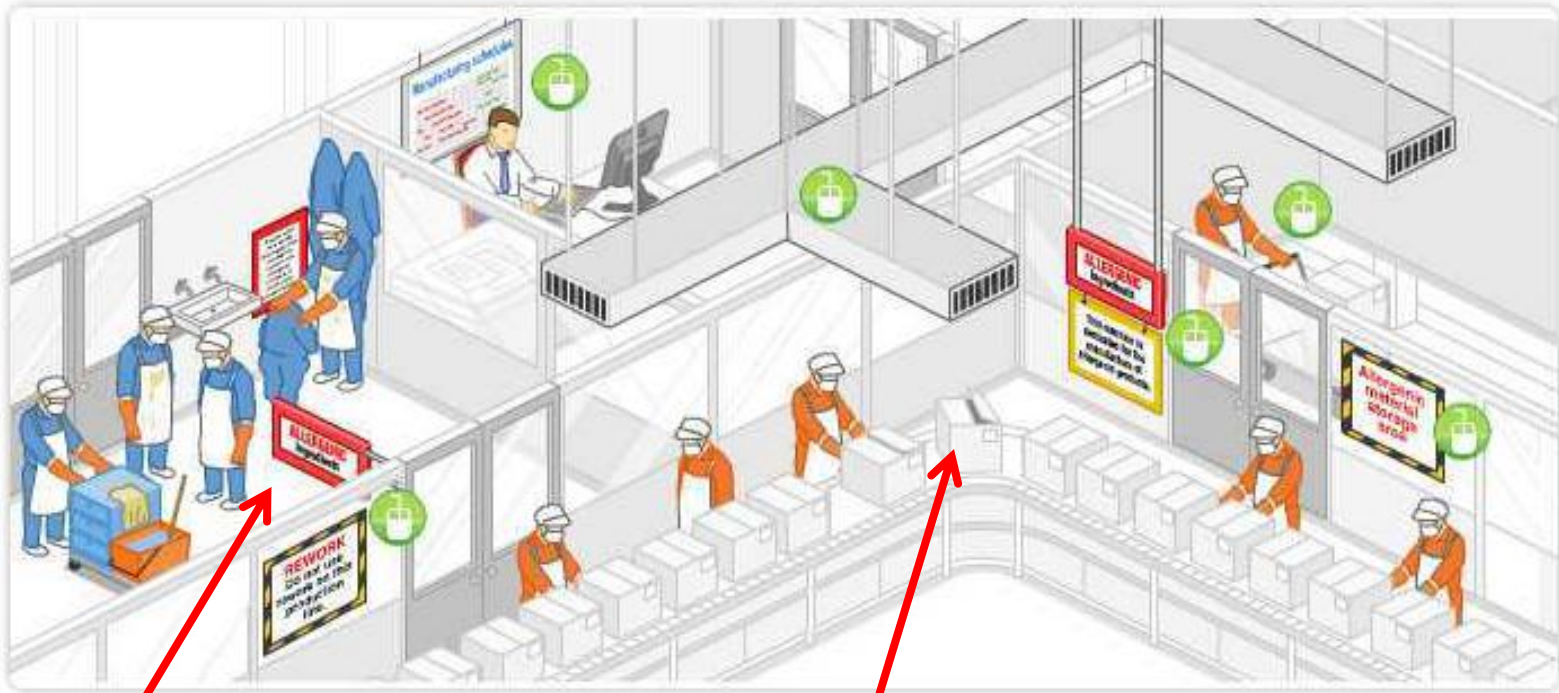


儲存



Picture source: <http://allergytraining.food.gov.uk/default.aspx>

产品



再加工样品检测

成品样品检测

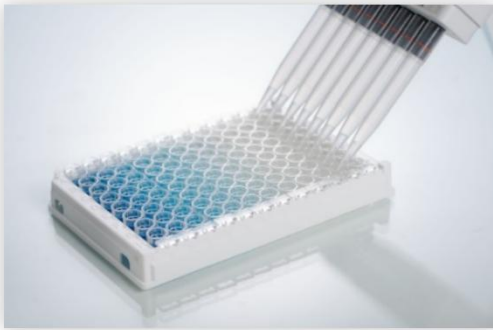
工厂内检测

分析实验室

商业化分析方法

通过检查蛋白质 或 DNA

ELISA



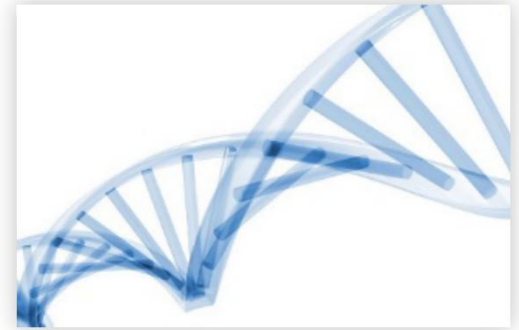
AgraQuant® Allergen

Lateral Flow Assay



AgraStrip® Allergen

PCR/RT-PCR



Analytical Service

Romer Labs 食品过敏原 检测方案



Romer Labs® - 过敏原检测专家



AgraStrip® 试纸条

18 种不同的过敏原检测试纸条



AgraQuant® ELISA 检测试剂盒

22 种不同的检测试剂盒



AgraQuant® PLUS ELISA 快速检测试剂盒

10 种不同的快速检测试剂盒



ISO 17025 实验室 可以对过敏原进行检测

能够检测的食品

甲壳类



鱼

组胺

溶菌酶



蛋清



卵清蛋白

牛奶



酪蛋白

β -乳球蛋白

芥末



羽扇豆



麸质



大豆



芝麻



花生



榛子



腰果



核桃



杏仁



开心果





麸质检测



Making the World's Food Safer®



谷类蛋白质的分类

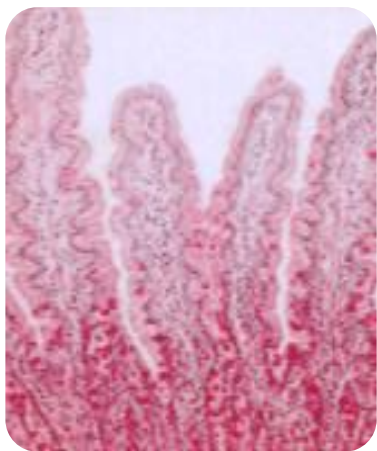
根据溶解性分类

溶解于...	蛋白名称
水	清蛋白
NaCl 溶液	球蛋白
40 – 70% 乙醇	醇溶谷蛋白
剩余的蛋白	谷蛋白

} 麸质

麸质(在小麦中)由丙胺和谷氨酸组成，约占蛋白质总含量的80%。

乳糜泻



a2-醇溶蛋白中一段
33个氨基酸(56 - 88)多肽

LQLQPFPPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQP



Anderson et al, Nat Med 2000;6:337-342
Arentz-Hansen et al. J Exp Med 2000; 191:603-621
Shan et al. Science 2002; 297: 2275-2279

抗体

抗体	G12	R5	Skerrit
特异性	QPQLPY 多肽	QQFPF 多肽	HMW(高分子量)麦 麸蛋白和 ω -麦胶蛋 白

G12抗体是针对引起的乳糜泻患者的免疫反应的QPQLPY肽(33肽)。

G12识别了醇溶蛋白的有毒成分

G12被推荐用于水解食品，在水解食品中，醇溶蛋白被降解

G12与大豆没有交叉反应

G12能够检测燕麦品种的毒性

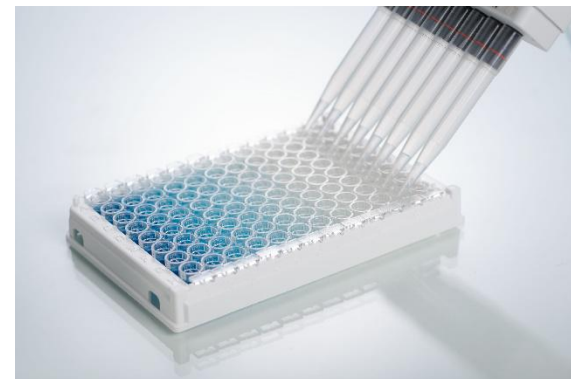
G12是R5抗体特异性的60000倍



AgraQuant® 麸质 G12



- 夹心法 **ELISA**
- **5** 种标准品 (0, 4, 20, 80, 200 ppm)
- 检出限: 2 ppm
- 定量范围: 4 – 200 ppm
- 认证情况: AOAC-OMA 认证
AACC International Method 38-52.01



Thanks for your attention!



Questions?



手机: **18810927255**



Making the World's Food Safer®



Thank you!

www.romerlabs.com

