

纯芝麻酱中花生致敏蛋白 *Ara h2*、*Ara h3* 及芝麻蛋白 *2S albumin* 的分析鉴定比较

任秀¹, 王亚萍¹, 白继超¹, 周巍², 张晓东¹, 陈怡文¹, 崔生辉^{1*}, 林兰^{1*}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

(2. 河北省食品检验研究院, 河北省食品安全重点实验室, 河北石家庄 050071)

摘要: 针对花生致敏蛋白 *Ara h2*、*Ara h3* 及芝麻蛋白 *2S albumin*, 使用实时荧光定量 PCR 法 (Real-time PCR) 及酶联免疫吸附法 (ELISA) 对纯芝麻酱中上述蛋白进行检测。两种方法的特异性、重复性方法学验证显示均良好。验证后使用实时荧光定量 PCR 法对纯芝麻酱 DNA 进行芝麻蛋白 *2S albumin* 基因、花生蛋白 *Ara h2* 基因的检测, 使用酶联免疫吸附法对花生致敏蛋白 *Ara h3* 检测。实时荧光定量 PCR 法检测 90 批样品均含有芝麻成分, CT 值为 22.00~33.80, 其中 45 批次还检出花生成分, CT 值为 25.60~38.60; 酶联免疫吸附法除检出此 45 批次外还另检出 38 批次含有花生成分。通过结果对比分析及灵敏度检测研究发现, 酶联免疫吸附法检出限更低。二者检测结果虽有差异, 但不矛盾, 均可用于纯芝麻酱中花生源检测。高含量样品检测时可选择实时荧光定量 PCR 法, 低含量或无法预估的样品可选择酶联免疫吸附法。目前无芝麻酱中过敏原检测相关标准, 该研究可作为基础研究的可靠数据并建议监管部门尽快建立相关方法, 更好的规范市场行为, 保障人民的饮食安全。

关键词: 芝麻酱; 花生; 芝麻; 实时荧光定量 PCR; 酶联免疫吸附

文章编号: 1673-9078(2022)04-62-68

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0487

Analysis and Comparison of Peanut Allergen Proteins *Ara h2*, *Ara h3* and Sesame Protein *2S albumin* in Pure Sesame Paste

REN Xiu¹, WANG Yaping¹, BAI Jichao¹, ZHOU Wei², ZHANG Xiaodong¹, CHEN Yiwen¹, CUI Shenghui^{1*}, LIN Lan^{1*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

(2. Hebei Food Safety Key Laboratory, Hebei Food Inspection and Research Institute, Shijiazhuang 050071, China)

Abstract: In this study, real-time PCR (RT-PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect peanut allergenic proteins *Ara h2*, *Ara h3* and sesame protein *2S albumin* in pure sesame paste. The specificity and reproducibility of the two methods were shown to be good. After verification, real-time PCR was used to detect the sesame protein *2S Albumin* gene and peanut allergen *Ara h2* gene, and ELISA was used to detect the peanut allergen *Ara h3* protein. The 90 batches of samples detected by real-time PCR test contained sesame components (with CT value ranging from 22.00 to 33.80), and among which 45 batches of samples contained peanut components (CT value: 25.60~38.60). Besides these 45 batches, ELISA also allowed the detection of peanut components in another 38 batches. By comparing and analyzing the results of the two methods and through sensitivity analysis research, it was found that the ELISA method had a lower detection

引文格式:

任秀, 王亚萍, 白继超, 等. 纯芝麻酱中花生致敏蛋白 *Ara h2*、*Ara h3* 及芝麻蛋白 *2S albumin* 的分析鉴定比较[J]. 现代食品科技, 2022, 38(4):62-68

REN Xiu, WANG Yaping, BAI Jichao, et al. Analysis and comparison of peanut allergen proteins *Ara h2*, *Ara h3* and sesame protein *2S albumin* in pure sesame paste [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(4): 62-68

收稿日期: 2021-05-07

基金项目: 国家重点研发计划项目重点专项 (2018YFC1603900)

作者简介: 任秀 (1989-), 女, 主管药师, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物学、分子生物学, E-mail: wanwan329@sina.cn

通讯作者: 崔生辉 (1972-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: cuishenghui@aliyun.com; 共同通讯作者: 林兰 (1973-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 食品与药品检验检测, E-mail: linlan@nifdc.org.cn

limit. Although the results of the two methods were different, they were not contradictory, with both suitable for the detection of peanut sources in pure sesame samples. The real-time PCR method is appropriate for the samples with a high peanut content, whilst the ELISA method can be selected for samples with a low peanut content or unpredictable samples. At present, there are no relevant standards for the detection of allergens in sesame paste. This study provides reliable data for basic research, and the results suggest that the regulatory authorities should establish relevant methods as soon as possible to supervise market behavior and ensure people's dietary safety.

Key words: sesame paste; peanut; sesame; real-time PCR; ELISA

芝麻味甘、性平,有补血明目等多种功效,可用于治疗头发早白、贫血萎黄等症^[1,2]。芝麻酱由炒熟的芝麻仁研磨而成,呈黏稠糊状,有香味,可调味可佐餐^[3],其中含丰富蛋白质及矿物质^[4],受到广大消费者的喜爱。芝麻与花生售价悬殊,一些企业为获得更高的利润,在芝麻酱中掺入花生成分,甚至使用霉烂花生、玉米糕粉加入其它植物油和添加剂等制作没有芝麻的芝麻酱^[5]。1995年,联合国粮食与农业组织(FAO)认定了8种最常见的致敏食物,可引起90%以上食物过敏反应,花生即为其中之一^[6]。文献报道,世界范围内花生过敏人群不在少数,美国约为1.1%^[7],丹麦约为0.2%~0.4%^[8],英国约为0.5%^[9]。我国对花生过敏的人群也在增多。经调查显示,协和医院变态反应科约有4%就诊患者因食用花生而引起过敏^[10]。花生中的致敏物质热稳定性高、耐酸、耐酶解,一般的生产方式无法去除^[11],仅100 μg花生足以引起敏感人群轻度过敏,如荨麻疹^[12],若摄入较多,则会引起严重的过敏反应,如皮炎、哮喘、呼吸困难乃至死亡^[13]。因此,为保证消费者的饮食安全,很多发达国家在食品包装标签中强制要求标识花生等过敏原成分^[14]。

目前国内外检测过敏成分主要针对过敏原蛋白和DNA残留进行^[15],主要方法有酶联免疫吸附法(ELISA)、免疫印迹法、聚合酶链式反应法(PCR)、实时荧光定量PCR法(Real-time PCR)、生物传感器法及质谱法等。这些方法中,酶联免疫吸附法发展较为成熟,实时荧光定量PCR检测法特异性较高^[16,17],二者各有优缺点,检测结果也有一定差异。张晓东等^[18]使用实时荧光定量PCR法与酶联免疫吸附法在核桃露(乳)饮品中检测花生和大豆成分也印证这一发现。

针对芝麻检测的主要过敏蛋白是芝麻2S albumin蛋白(又名2S白蛋白),在芝麻蛋白中所占比例较高,约为25%,是主要的致敏蛋白。目前权威认可的花生过敏原有11种,Ara h2、Ara h3是主要作为检测的过敏原,可被90%花生过敏患者识别,其中Ara h2被认为是致敏性最强的花生过敏原。

查阅文献,目前暂无文献报道实时荧光定量PCR检测法与酶联免疫吸附法应用于芝麻酱中花生源检测结果对比分析。2017年原国家市场监督管理总局发布的食品补充检验方法《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》(BJS 201707)(以下简称补充检验方法)中^[19],推荐应用实时荧光定量PCR方法特异性检测植物蛋白饮料中的花生源性成分。本研究使用酶联免疫吸附法和补充检验方法中推荐的实时荧光定量PCR法对市售纯芝麻酱中花生源性成分进行了检测及对比。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试剂

十六烷基三甲基溴化铵缓冲液(CTAB),德国amresco公司;蛋白酶K(20 mg/mL),德国Roche公司;DNA提取液(酚:氯仿:异戊醇=25:24:1),北京索莱宝公司;DNeasy Plant Mini Kit试剂盒,德国Qiagen公司;PCR试剂盒,中国Takara公司;Qubit™ dsDNA BR Assay kit,美国赛默飞世尔公司;PA3-EK-96花生过敏原检测试剂盒,美国BioFront公司。

CTAB裂解液:20 g/L CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 0.1 mol/L Tris-HCl, 0.02 mol/L EDTA, pH=8.0。

1.1.2 引物及探针

参照《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》(BJS 201707)补充检验方法提供的芝麻源和花生源引物及探针序列(表1),由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成,经PAGE方法进行纯化。

1.1.3 样品

纯芝麻酱样品采集:从超市(48批次)、菜市场(12批次)及网络店家(30批次)采购芝麻酱样品90批次,标签标识均声称仅使用芝麻作为原料。

其他样品采集:花生、芝麻、核桃、杏仁、榛子、大豆实物样品,均购于北京大型超市,组织研磨仪粉碎成粉末后待用。

表1 芝麻源和花生源检测用引物及探针序列

Table 1 Primer and probe sequence for detection

名称序列 (5'-3')	基因来源
芝麻源 5'端引物	CCAGAGGGCTAGGGACCTTC
芝麻源 3'端引物	CTCGGAATTGGCATTGCTG
芝麻探针	FAM-TCGCAGGTGCAACATGCGACC-TAMRA
花生源 5'端引物	GCAACAGGAGCAACAGTTCAAG
花生源 3'端引物	CGCTGTGGTGCCCTAAGG
花生探针	FAM-AGCTCAGGAACTTGCCCTAACAGTGCG-Eclipse

1.2 仪器与设备

SWB25 恒温振荡水浴, 美国赛默飞世尔公司; PL2002 电子天平, 瑞士梅特勒托利多公司; Qubit 1.0 核酸蛋白定量仪, 美国 Invitrogen 公司; ND2000 核酸蛋白分析仪, 美国赛默飞世尔公司; CFX96 实时荧光定量 PCR 仪, 德国 Bio-Rad 公司; TissueLyser II 组织研磨仪, 德国 QIAGEN 公司; Synergy HT 多功能酶标仪, 美国 BioTek 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR 方法

1.3.1.1 DNA 提取

将芝麻酱样品静置, 弃上层油层后, 混匀, 称取 300 mg 芝麻酱样品于 2 mL 离心管中, 加入适量灭菌玻璃珠, 使用组织研磨仪在 290 Hz 频率下研磨 3 min。研磨后, 加入 600 μ L CTAB 缓冲液和 10 μ L 蛋白酶 K, 56 $^{\circ}$ C 恒温振荡 30 min。振荡结束后, 吸取消化液 500 μ L, 2000 r/min 离心 15 min 后, 吸取上清液至新的 2 mL 离心管中, 加入等体积 -20 $^{\circ}$ C 预冷的异丙醇, 震荡均匀, 12000 r/min 离心 20 min 后, 弃上清液, 将沉淀用柱式 DNA 提取试剂盒进行纯化。花生等实物样品 DNA 使用 DNeasy Plant Mini Kit 试剂盒, 参考说明书方法进行提取。提取后使用 Qubit 1.0 核酸蛋白定量仪及 ND2000 核酸蛋白分析仪进行 DNA 浓度及纯度测定。

1.3.1.2 实时荧光定量 PCR 检测

实时荧光定量 PCR 方法进行纯芝麻酱中芝麻蛋白 *2S albumin* 基因及花生致敏蛋白 *Ara h2* 基因检测。检测反应体系为 25 μ L, 其中 10 \times PCR buffer 缓冲液 2.5 μ L, dNTP mix (2.5 mmol/L) 1 μ L, 50 μ mol/L 上游及下游引物各 0.2 μ L, 50 μ mol/L 探针 0.2 μ L, 5 U/ μ L Taq 酶 0.15 μ L, DNA 模板 2 μ L, 用无菌去离子水补至 25 μ L。反应条件如下: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s (收集荧光), 40 个循环; 12 $^{\circ}$ C 保存。每个样品独立重复检测三次,

每次检测时设置两个平行复孔。

1.3.2 酶联免疫吸附法

1.3.2.1 蛋白提取

参考试剂盒说明书方法进行。具体方法如下: 将芝麻酱样品静置, 弃上层油层后, 混匀, 称取 100 mg 芝麻酱样品于 1.5 mL 离心管中, 加入 900 μ L 预热至 100 $^{\circ}$ C 的 1 \times 抽提缓冲液, 混匀并短时震荡使管中物品悬浮。置于 99 $^{\circ}$ C 恒温震荡水浴中孵育 10 min, 孵育期间使用 950 r/min 转速进行震荡。结束后, 室温 2000 r/min 离心 10 min, 取上清液 200 μ L 转移至 96 孔检测板中。

1.3.2.2 花生致敏蛋白 *Ara h3* 酶联免疫吸附法检测

将检测板在室温下孵育 10 min 后, 弃去孔中物品, 在吸水纸上拍打去除剩余液体。用 1 \times 洗涤缓冲液 (WB) 洗涤三次。每次用量 \geq 200 μ L。而后在每孔中加入 100 μ L 1 \times 花生抗体耦合物 (CON)。将检测板置于黑暗环境中室温孵育 10 min。弃去孔中物品, 再次洗涤。在每孔中加入 100 μ L HRP 底物 (SUB)。将检测板置于黑暗环境中孵育 10 min。在每孔中加入 100 μ L 淬灭溶液 (STOP)。使用酶标仪在 450 nm 处读取各孔的吸光度值。结合三阶多项式曲线拟合, 进行花生致敏蛋白 *Ara h3* 成分的含量计算。每个样品独立重复检测三次, 每次每个样品设置两个平行复孔。每次样品检测同时测定试剂盒提供的标准蛋白, 以用于标准曲线的绘制。

1.3.3 方法学验证

实时荧光定量 PCR 方法称取 300 mg 样品提取 DNA, 酶联免疫吸附法称取 100 mg 样品提取蛋白, 按照以下方法进行验证。

特异性: 芝麻、核桃、杏仁、榛子、大豆进行检测, 与花生比较结果。

重复性: 花生样品提取后独立进行三次重复检测。

灵敏度: 花生样品提取后, 无菌去离子水进行 10 倍系列稀释, 从 10^{-1} 稀释至 10^{-6} 后进行检测。

1.4 数据处理

实时荧光定量 PCR 法: 查看样品检测的原始扩增曲线是否正常, 若存在扩增曲线不典型、异常或扩增 CT 值结果与直观可见结果不符时, 在荧光信号阈值设置中将荧光本底信号扣除以进行校正, 结果保留两位小数。

酶联免疫吸附法: 根据花生过敏原检测试剂盒中所带标准蛋白质控样品检测结果, 绘制 OD 值与蛋白浓度的标准曲线。将样品检测的 OD 值结果带入标准曲线计算所测得的蛋白浓度, 结果保留两位小数。

2 结果与讨论

2.1 两种花生成分检测方法的验证结果

芝麻、核桃、杏仁、榛子、大豆及花生实物样品粉末提取 DNA 后, 使用 Qubit 1.0 核酸蛋白定量仪进行浓度测定, 提取的 DNA 浓度均大于 10 ng/μL, A260/280 吸光度比值均在 1.8~2.2 之间。使用花生 *Ara h2* 基因引物及探针对芝麻、核桃、杏仁、榛子、大豆及花生 DNA 进行荧光定量 PCR 检测, 扩增 CT 值均大于 40 (见图 1); 同时使用花生 *Ara h3* 蛋白酶联免疫吸附法检测试剂盒对上述样品进行检测, 除花生外, 其余样品结果均显示为阴性 (见表 2)。

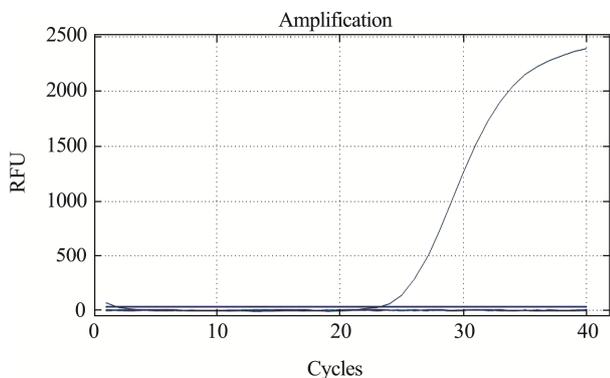


图 1 Real-time PCR 特异性检测结果

Fig.1 Specific test results of real-time PCR

表 2 实时荧光定量 PCR 法及酶联免疫吸附法特异性检测结果

Table 2 Test results of real-time PCR and ELISA

序号	源性成分	实时荧光定量 PCR 法 (CT 值)	酶联免疫吸附法
1	花生	24.10	≥80.00 mg/kg
2	芝麻	>40.00	未检出
3	核桃	>40.00	未检出
4	杏仁	>40.00	未检出
5	榛子	>40.00	未检出
6	大豆	>40.00	未检出

使用实时荧光定量 PCR 法对从花生样品提取的 DNA 进行三次独立重复检测, CT 值基本一致

(Mean_{CT}=23.54, RSD=1.4%) (见图 2); 使用酶联免疫吸附法对从花生样品提取的蛋白进行三次重复检测, 结果均为阳性 (见表 3)。

验证结果显示, 两种花生成分检测的方法, 特异性及重复性良好、稳定。因此, 本研究所用的两种方法均适用于芝麻酱样品中花生源的检测, 可为今后相关研究提供基础数据。

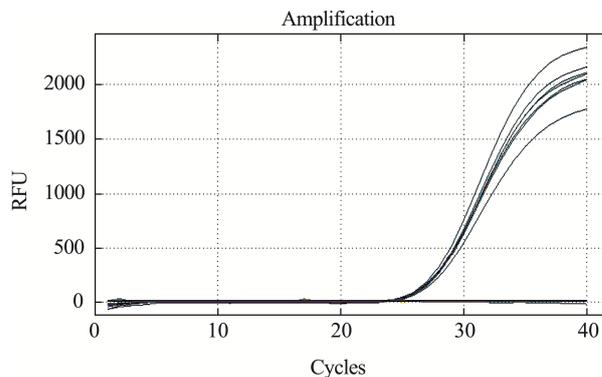


图 2 Real-time PCR 重复性检测结果

Fig.2 Repeatability test results of real-time PCR

表 3 实时荧光定量 PCR 法及酶联免疫吸附法重复性检测结果

Table 3 Repeatability test results of real-time PCR and ELISA

次数	实时荧光定量 PCR 法 (CT 值)	酶联免疫吸附法
1	23.60±0.40	检出
2	23.30±0.30	检出
3	23.70±0.40	检出

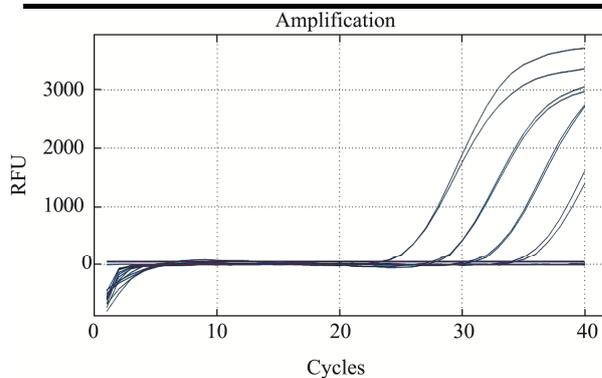


图 3 Real-time PCR 灵敏度检测结果

Fig.3 Sensitivity test results of real-time PCR

表 4 实时荧光定量 PCR 及酶联免疫吸附法灵敏度检测结果

Table 4 Sensitivity test results of real-time PCR and ELISA

稀释度	CT 值	蛋白检测浓度/(mg/kg)
原液	23.30±0.10	≥80.00
10 ⁻¹ 稀释度	27.60±0.30	≥80.00
10 ⁻² 稀释度	30.60±0.40	≥80.00
10 ⁻³ 稀释度	34.00±0.30	≥80.00
10 ⁻⁴ 稀释度	>40.00	≥80.00
10 ⁻⁵ 稀释度	>40.00	35.60
10 ⁻⁶ 稀释度	>40.00	6.80

实时荧光定量PCR方法可对花生样品 10^{-3} 稀释度DNA提取液检出, 10^{-4} 稀释度不可检出;酶联免疫吸附法均可对花生样品 10^{-1} 至 10^{-6} 稀释度蛋白提取液检出(见图3)。可见酶联免疫吸附法灵敏度更高,具体检测结果汇总见表4。

2.2 样品检测结果

2.2.1 实时荧光定量PCR法检测结果

使用Qubit 1.0核酸蛋白定量仪进行测定显示,从90批次芝麻酱样品中提的DNA浓度介于0.10 ng/ μ L至45.80 ng/ μ L之间,A260/280吸光度比值均在1.8~2.2之间。通过实时荧光定量PCR方法,90批次样品DNA均检出芝麻蛋白2S albumin基因,CT值介于22.00~33.80之间,检测结果见表5。使用实时荧光定

量PCR方法与酶联免疫吸附方法进行花生成分检测验证时,花生样品均可检出,芝麻、核桃等其余5种样品均未能检出,无交叉影响,方法重复检测3次后结果一致、稳定。其中45批次样品DNA(50.00%)检测出花生致敏蛋白Ara h2基因,其CT值介于25.60~38.60之间(见表5)。

表5 实时荧光PCR法检测芝麻源DNA结果

Table 5 Results of real-time PCR detection of sesame-derived

DNA		
样本数量/批	实时荧光定量PCR法(CT值)	DNA浓度/(ng/ μ L)
36	22.00~25.00	4.18~45.80
41	25.00~29.50	0.10~14.40
13	30.20~33.80	0.10~0.67

2.2.2 酶联免疫吸附法检测结果

表6 实时荧光PCR法和酶联免疫吸附法检测花生源结果

Table 6 Results of real-time PCR and ELISA detection of sesame-derived DNA

样本数量/批	实时荧光定量PCR检测结果(CT值)	DNA浓度/(ng/ μ L)	实时荧光定量PCR检测结果	蛋白含量/(mg/kg)	酶联免疫吸附法检测结果
45	25.60-38.60	0.10~23.00	检出	≥ 80.00	检出
17	>40.00	0.10~30.40	未检出	≥ 80.00	检出
21	>40.00	0.10~34.40	未检出	2.60~78.00	检出
7	>40.00	8.34~45.80	未检出	未检出	未检出

90批次芝麻酱样品中,使用酶联免疫吸附法,83批次样品中检出花生过敏蛋白Ara h3,其中有62批次蛋白含量的检测值大于80.00 mg/kg,45批次与实时荧光定量PCR法花生致敏蛋白Ara h2基因检测结果一致;其余21批次的蛋白含量在2.60~78.00 mg/kg之间,这些样品实时荧光定量PCR法均未检出花生致敏蛋白Ara h2基因(表6)。

2.3 讨论

实时荧光定量PCR方法检测芝麻2S albumin基因时,所有样品均可检出,可见市售芝麻酱均使用了芝麻作为加工原料,未存在不使用芝麻制作的造假行为。理论上,CT值与待扩增样品DNA含量成反比,DNA浓度越高,CT值越小。本研究中CT值小于30.00的为77批次纯芝麻酱存在DNA浓度很低的样品(0.1 ng/ μ L),不符合理论情况。实时荧光定量PCR方法与酶联免疫吸附法检测花生成分时,酶联免疫吸附法检测出的阳性样品更多,方法更灵敏。酶联免疫吸附方法与实时荧光定量PCR方法灵敏度有大于1000倍的差异(见表4)。在90批次真实样品的花生成分检测中,酶联免疫吸附法检出花生成分的样品比实时荧光定量PCR检测方法检出花生成分的样本多38个,主要集中在酶联免疫吸附法检出蛋白含量较低的浓度

范围内(≤ 80.00 mg/kg)。在酶联免疫吸附法检出花生成分的蛋白含量 ≥ 80.00 mg/kg时,有72.60%(45/62)的样品可被实时荧光定量PCR方法检出。

芝麻酱进行加工制作时,需要经过除杂、清洗和烘焙等工艺^[20],其中烘烤和磨浆最为关键^[21]。烘烤时原料会经过约150℃高温处理15~20 min后迅速降到25℃研磨,会严重破坏DNA结构,放置过程也会缓慢降解,即使DNA浓度可检测(见表5)也无法进行正常的PCR扩增反应或扩增CT值滞后。另外,实时荧光定量PCR方法基于花生过敏原Ara h2致敏蛋白的基因,检测时要通过检测编码过敏蛋白的基因进行间接检测,芝麻酱加工工艺会在一定程度上将DNA及蛋白分离,PCR手段检测结果也会受到影响,以致实时荧光定量PCR方法灵敏度受到限制。酶联免疫吸附法检测基于花生过敏原Ara h3蛋白,此蛋白属于Cupin超家族(Cupin Superfamily)中11S球蛋白六聚体(豆球蛋白)的一种,结构上有至少6个 β -折叠形成的桶状结构,比较稳定,其三级结构具耐热性^[22],因此检测时具有更好的灵敏度。

纯芝麻酱中检出花生源成分的情况时有发生。查阅文献,袁茵等^[23]使用PCR方法检测17批次纯芝麻酱样品,发现64.70%(11/17)的样品中含有花生成分;谢文佳等^[24]使用LAMP技术检测市场流通环节标

识为纯芝麻酱的 41 批次样品中植物源成分, 43.90% (18/41) 的样品中检出花生源成分。二人检测结果中花生检出率与本研究荧光定量 PCR 方法花生检出率 (50.00%, 45/90) 基本一致。由于检测芝麻酱中花生源成分时, 未见应用酶联免疫吸附法进行相关研究的报道, 因此无法比较本研究与其他研究人员检测数据是否一致。

3 结论

3.1 本研究中, 实时荧光定量 PCR 方法更方便快捷, 但对于样品中花生含量较低的样品检测时存在一定难度, 可能存在假阴性结果。而酶联免疫吸附法虽检测价格较高, 但灵敏度高, 可检出的花生含量更低。两种方法检测结果在高浓度样品中具同一性, 在考虑加工工艺、食品样品特点等情况后, 预估花生成分含量较高的食品样品可选择使用本研究中实时荧光定量 PCR 方法检测, 较低或无法预估的则可使用本研究中酶联免疫吸附法检测。

3.2 目前本研究方法只能进行样品中花生源定性及含量小于 80.00 mg/kg 浓度下的半定量检测, 无法具体测算样品中所含花生及芝麻比例。鉴于一些厂家生产线可能存在多个产品共线加工的情况, 本研究还无法区分交叉污染。下一步我们将更加深入研究, 希望能对样品中花生源成分检出是否存在恶意添加行为找到线索。

3.3 本研究中检测的样品均为纯芝麻酱, 厂家未在标签标示中说明可能存在其他过敏原情况。依据《预包装食品标签通则》(GB 7718), 花生为必须标识的致敏物质, 无论用作配料还是加工带入均应提示。若属于过敏人群的消费者认为纯芝麻酱中只有芝麻成分而误食, 则会造成不可设想的严重后果。目前我国现有的芝麻酱相关标准为国家粮食局发布的《LS/T 3220-2017 芝麻酱》行业标准, 其中涉及的主要为感官、微生物及理化检测指标, 并无过敏原检测标准。监督执法人员在日常执法工作中会陷入即使厂家有违法违规行为却无法可依、无法惩处的困境。综上, 建议相关监管部门加大市场流通环节纯芝麻酱样品标签标识不符情况的查处力度, 尽快建立芝麻酱中过敏原检测的相关规范或标准, 推动及规范市场更加有序, 保障人民饮食安全。

参考文献

[1] 沈旭丽. 芝麻的营养成分及保健价值[J]. 中国食物与营养, 2006, 7: 51-52
SHEN Xuli. The nutritional components and health value of

sesame [J]. Food and Nutrition in China, 2006, 7: 51-52
[2] 时侠清, 董三白, 胡莉. 芝麻的营养价值与食疗[J]. 安徽科技学院学报, 1993, 3: 36-38
SHI Xiaqing, DONG Sanbai, HU Li. The nutritional value and dietotherapy of sesame [J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 1993, 3: 36-38
[3] 谢放华. 改善芝麻酱稳定性的研究[J]. 食品研究与开发, 1994, 1: 8-10
XIE Fanghua. Study on improving the stability of sesame butter [J]. Food Research and Development, 1994, 1: 8-10
[4] 尚小磊, 侯利霞. 芝麻酱稳定性研究现状[J]. 中国调味品, 2012, 37(10): 1-3, 11
SHANG Xiaolei, HOU Lixia. Research progress in the colloidal stability of sesame paste [J]. China Condiment, 2012, 37(10): 1-3, 11
[5] 刘国群, 张淼, 黄晓琴, 等. 我国传统调味品芝麻酱掺假技术研究现状[J]. 中国调味品, 2017, 4: 174-177
LIU Guoqun, ZHANG Miao, HUANG Xiaojin, et al. Research status on detection techniques of adulteration about Chinese traditional condiment sesame paste [J]. China Condiment, 2017, 4: 174-177
[6] 黄玉霞, 梁金玲, Lisa Wang, 等. 食品中花生过敏原及其检测方法的研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(22): 320-324
HUANG Yuxia, LIANG Jinling, WANG Lisa, et al. Research progress of peanut allergen and its detection methods [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(22): 320-324
[7] Sicherer S H, Muoz Furlong A, Sampson H A. Prevalence of peanut and tree nut allergy in the United States determined by means of a random digit dial telephone survey [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2003, 112(6): 1203-1207
[8] Osterballe M, Hansen T K, Mortz C G, et al. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults [J]. Pediatric Allergy & Immunology, 2010, 16(7): 567-573
[9] Scott Howard Sicherer, Anne Muñoz-Furlong B A, A Wesley Burks M D, et al. Prevalence of peanut and tree nut allergy in the US determined by a random digit dial telephone survey [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1999, 113(2): S98-S99
[10] 马月瑯, 邓列华. 花生过敏症[J]. 实用皮肤病学杂志, 2014, 7(1): 34-37
MA Yuetang, DENG Liehua. Peanut allergy [J]. Journal of Practical Dermat, 2014, 7(1): 34-37
[11] Bedford B, Yu Y, Wang X, et al. A limited survey of dark

- chocolate bars obtained in the United States for undeclared milk and peanut allergens [J]. *Journal of Food Protection*, 2017, 80(4): 692-702
- [12] Stephan O, Vieths S. Development of a real-time PCR and a sandwich ELISA for detection of potentially allergenic trace amounts of peanut (*Arachis hypogaea*) in processed foods [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2004, 52(12): 3754-3760
- [13] 田阳,饶欢,薛文通.花生致敏原 Ara h1 的重组表达与纯化[J].*中国食品学报*,2020,20(8):20-28
TIAN Yang, RAO Huan, XUE Wentong. Expression and purification of recombinant peanut allergen Ara h1 [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(8): 20-28
- [14] Faber M A, Donn  I, Herrebosch E, et al. Sensitization profiles to peanut allergens in Belgium; cracking the code in infants, children and adults [J]. *Acta Clinica Belgica*, 2016, 71(1): 32-37
- [15] 吉坤美,陈家杰,王海燕,等.实时定量 PCR 技术检测食品中花生过敏原 Ara h1 基因成分[J].*食品研究与开发*,2010,12: 188-193
JI Kunmei, CHEN Jiajie, WANG Haiyan, et al. Development of a TaqMan real-time quantitative PCR for detection of peanut allergen Ara h1 DNA residue in foods [J]. *Food Research and Development*, 2010, 12: 188-193
- [16] 麻丽丹,曹际娟,高海燕,等.实时荧光 PCR 法检测食品中芝麻过敏原成分[J].*食品科学*,2009,12:213-214
MA Lidan, CAO Jijuan, GAO Haiyan, et al. Real-time fluorescent PCR detection of allergen in sesame [J]. *Food Science*, 2009, 12: 213-214
- [17] 韩远龙,吴志华,闫飞,等.花生过敏原检测方法研究进展[J].*食品科学*,2012,33(13):305-308
HAN Yuanlong, WU Zhihua, YAN Fei, et al. Research progress in peanut allergen detection [J]. *Food Science*, 2012, 33(13): 305-308
- [18] 张晓东,宋佳兴,陈怡文,等.2 种用于检测市售核桃露(乳)饮品中花生,大豆成分方法的比较分析[J].*食品安全质量检测学报*,2020,11(17):430-434
ZHANG Xiaodong, SONG Jiaying, CHEN Yiwen, et al. Comparative analysis of 2 methods for detection of peanut and soybean in walnut dew (milk) drinks [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(17): 430-434
- [19] 国家食品药品监督管理总局.植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定(2017 年第 75 号)[EB/OL].[2017-06-21].<http://news.foodmate.net/2017/06/433275.html>
China Food and Drug Administration. Identification of plant-derived components in vegetable protein beverages No.75, 2017 [EB/OL]. [2017-06-21]. <http://news.foodmate.net/2017/06/433275.html>
- [20] LS/T 3220-2017.中华人民共和国粮食行业标准芝麻酱[S]
LS/T 3220-2017. China People's Republic Standards of the Grain Industry of the Sesame Paste [S]
- [21] 李蕙蕙,鲁永超,何四云,等.热干面芝麻酱生产中 HACCP 体系的应用[J].*武汉商学院学报*,2014,28:48-50
LI Huihui, LU Yongchao, HE Siyun, et al. Application of HACCP in production of sesame paste [J]. *Journal of Wuhan Commercial Service College*, 2014, 28: 48-50
- [22] 徐国强,倪海东,杨明,等.食物过敏原蛋白家族分类及其结构特点[J].*检验检疫学刊*,2012,5:66-76
XU Guoqiang, NI Haidong, YANG Ming, et al. The classification and structural characteristics of food allergen protein families [J]. *Inspection and Quarantine Science*, 2012, 5: 66-76
- [23] 袁茵,陈世琼,刘晓莉,等.芝麻酱成分真实性的 PCR 定性检测[J].*食品科技*,2009,9:277-280
YUAN Yin, CHEN Shiqiong, LIU Xiaoli, et al. Authentic test of sesame paste by PCR method [J]. *Food Science and Technology*, 2009, 9: 277-280
- [24] 谢文佳,石盼盼,陈蕾,等.基于 LAMP 技术检测纯芝麻酱中的多种植物源性成分[J].*中国调味品*,2020,45(2):157-160
XIE Wenjia, SHI Panpan, CHEN Lei, et al. Detection of various plant-derived components in pure sesame paste based on LAMP technology [J]. *China Condiment*, 2020, 45(2): 157-160