

花生过敏性评估方法及食品加工对其过敏性影响的研究进展

Research progress of peanut allergenicity assessment methods and the effect of food processing on its allergenicity

陈 款 王 涛 李 倩 姜松松

CHEN Kuan WANG Tao LI Qian JIANG Songsong

(扬州大学旅游烹饪学院, 江苏 扬州 225127)

(College of Tourism and Culinary, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225127, China)

摘要:花生是“8 大类”过敏原食物之一,因其诱发严重的临床症状及日益上升的发病率而受到广泛关注。文章概述了花生过敏原(Ara h 1-18)的结构特性、免疫特性及体内和体外评估方法,总结了不同食品加工对花生致敏性的研究进展,并展望了未来食品加工技术对消减花生致敏性的研究方向。

关键词:花生;过敏原;致敏性评估;消减技术;食品加工

Abstract: Peanut is one of the "Big Eight" allergen foods. It has been noticed by public due to its serious clinical symptoms and high incidence rate. This review introduced structures and immune characteristics of peanut allergens (Ara h 1-18). The assessment methods (both *in vitro* and *in vivo*) was also introduced. Finally, the research progress of different food processing on the allergenicity of peanut were summarized. The future research direction of food processing on reducing the allergenicity of peanut were prospected.

Keywords: peanut; allergen; allergenicity evaluation; reduction technologies; food processing

花生营养丰富、口感香溢,是优质植物蛋白的良好来源,在日常膳食中占据重要地位。同时,作为“8 大类”过敏原食物之一^[1],其在全世界范围内受到了广泛的关注。对比近年来流行病学调查结果发现,花生过敏发病率持续增长^[2],严重影响着人类的生活质量和生命安全。调

查^[3]显示,花生过敏在一般人群中的发病率约为 1.5%,其过敏流行率还会因年龄、种族和地区而异。在美国花生过敏发病率约为 2.2%^[4],澳大利亚约为 3%^[3],欧洲约为 9.8%^[5]。在中国,一项对大学生自我报告食物过敏的调查^[6]指出,花生过敏患病率约为 0.6%;黄颖璇等^[7]对顺德龙江地区儿童过敏性疾病进行统计分析,发现花生过敏患者占据食物过敏患者的 5.9%。花生过敏患者极少量食用花生及其制品时便可诱发严重的临床症状^[8],主要表现为皮肤系统、呼吸系统、消化系统和神经系统在内的全身性过敏反应,如皮肤瘙痒、血管神经性水肿、鼻结膜炎、哮喘和腹泻等,严重时会引发休克甚至危及生命^[9]。同时,花生过敏往往具有持续性,可能伴随患者终身难以治愈^[10]。

目前,预防花生过敏最有效的方法就是避免接触花生及花生制品。然而,花生作为加工食品中的一类重要原材料,被广泛应用于糕点、菜肴和饮品中,消费者在膳食中难以避免不会接触到花生过敏原。因此,花生过敏原消减技术的相关研究在预防花生过敏、保障公众健康等方面具有重要意义。

诱发食物过敏的结构基础是抗原表位。抗原表位是过敏原分子中决定抗原特异性的特殊化学基团,是诱发食物过敏的结构基础。抗原表位根据结构特点可分为线性表位和构象表位。食品加工通过改变过敏原的结构,从而破坏、掩蔽过敏原抗原表位,进而消减过敏原致敏性^[11]。如 Tian 等^[12]发现水煮处理通过改变花生过敏原结构破坏了其抗原表位,使花生的致敏性降低。Wang 等^[10]表明油炸可以降低花生与 IgE 的结合能力,推测高温过程可能掩盖了蛋白质的线性表位或破坏其构象表位,从而降低了花生过敏原蛋白的致敏性。当然,在食品加工过程中往往会发生各种复杂的物理/化学变化,可能

基金项目:烹饪科学四川省高等学校重点实验室资助项目(编号:PRKX2021Z01);扬州大学生科技创新基金项目(编号:X20220884)

作者简介:陈款,女,扬州大学在读本科生。

通信作者:姜松松(1989—),男,扬州大学讲师,研究生导师,博士。E-mail:17600189209@163.com

收稿日期:2023-02-24 **改回日期:**2023-06-03

会使原本被掩盖的抗原表位暴露,或形成新的抗原表位,从而导致过敏原致敏性增加^[13]。不同过敏原的致敏性变化在不同的食品加工中不能一概而论。

因此,致敏性评估方法的研究对了解花生过敏原致敏性变化具有重要意义。体内法和体外法是评估过敏原致敏性变化的重要试验技术。体内试验结果可靠,体外检测安全可行,对食物过敏原进行体内外致敏性评估在致敏性研究中占有重要地位。文章结合现有相关文献及

数据,对比分析了不同食品加工技术对花生致敏性的影响,以期花生脱敏研究及致敏性消减技术提供科学指引。

1 花生过敏原

截至 2022 年,已有 18 种花生过敏原被世界卫生组织—国际免疫学联合会所收录,分别被命名为 Ara h 1~18(见表 1),其中 Ara h 1、Ara h 2 和 Ara h 3 被认为是花

表 1 18 种花生致敏蛋白
Table 1 18 peanut allergenic proteins

过敏原	种属	分子质量/kDa	等电点	异构体	特性
Ara h 1	Cupin (Vicillin-type, 7S globulin)	64.00	4.55	Ara h 1.0101	高度稳定的同源三聚体,热稳定性强,耐酶解,不易消化 ^[14]
Ara h 2	Conglutin (2S albumin)	17.00	5.20	Ara h 2.0101 Ara h 2.0201	结构稳定,热稳定性强,耐消化 ^[15]
Ara h 3	Cupin (Legumin-type, 11S globulin, Glycinin)	63.00 37.00	5.50	Ara h 3.0101 Ara h 3.0201	六聚体,热稳定性强,耐酶解
Ara h 4	renamed to Ara h 3.02, number not available for future submissions		5.50		与 Ara h 3 有 4 个相同的 IgE 结合位点
Ara h 5	Profilin	15.00	4.60	Ara h 5.0101	与 Bet v 2 蛋白高度相似 ^[14]
Ara h 6	Conglutin (2S albumin)	15.00	5.20	Ara h 6.0101	5 个二硫键,结构稳定,热稳定性强,耐酸和酶解 ^[14]
Ara h 7	Conglutin (2S albumin)	15.00	5.60	Ara h 7.0101 Ara h 7.0201 Ara h 7.0301	含量低
Ara h 8	Pathogenesis-related protein, PR-10, Bet v 1 family member	17.00	5.03	Ara h 8.0101 Ara h 8.0201	对热敏感,胃消化不稳定,与桦树花粉过敏病人血清中 IgE 反应强烈
Ara h 9	Nonspecific lipid-transfer protein type 1	9.80	9.00~10.00	Ara h 9.0101 Ara h 9.0201	热稳定性较强,耐酶解,地中海地区主要过敏原 ^[16]
Ara h 10	oleosin	16.00	9.61 9.36	Ara h 10.0101 Ara h 10.0102	
Ara h 11	oleosin	14.00	10.08	Ara h 11.0101 Ara h 11.0102	
Ara h 12	Defensin	8.00 12.00 5.18		Ara h 12.0101	致敏性小,属于防御素 ^[17]
Ara h 13	Defensin	8.00 11.00 5.47		Ara h 13.0101 Ara h 13.0102	致敏性小,属于防御素 ^[17]
Ara h 14	Oleosin	17.50		Ara h 14.0101 Ara h 14.0102 Ara h 14.0103	由中心疏水结构域和亲水的 N 端和 C 端组成
Ara h 15	Oleosin	17.00		Ara h 15.0101	二聚体,DKARDVKDRKDYAG 表现出最高的 IgE 结合亲和力 ^[18]
Ara h 16	Non-specific lipid transfer protein type 2; nsLTP-2	8.50		Ara h 16.0101	
Ara h 17	Non-specific lipid transfer protein type 1, nsLTP-1	11.00		Ara h 17.0101	

生中重要的过敏原蛋白^[19]。

1.1 Ara h 1

目前,SDAP 过敏原蛋白结构数据库中已收录了 21 个Ara h 1 的线性 B 细胞表位序列(见表 2)。其中表位 AA25-34、AA65-74 和 AA89-98 位于 Ara h 1 蛋白的 N 端区域,而表位 AA498-507 位于 C 端区域,与豌豆球蛋白具有显著的同源性,并且这 4 个多肽都是免疫显性的 IgE 结合表位,单个氨基酸变化会对 IgE 的结合特征产生显著影响^[20]。

表 2 Ara h 1 的 IgE 结合表位
Table 2 Ara h 1 IgE Binding Epitopes

序号	氨基酸序列	位置
1	AKSSPYQKKT	25~34
2	QEPDDLKQKA	48~57
3	LEYDPRLVYD	65~74
4	GERTRGRQPG	89~98
5	PGDYDDDRRQ	97~106
6	PRREEGGRWG	107~116
7	REEREEDWRQP	123~132
8	EDWRRPSHQQ	134~143
9	QPRKIRPEGR	143~152
10	TPGQFEDFFP	294~303
11	SYLQEFSTRNT	311~320
12	FNAEFNEIRR	325~334
13	EQEERGQRRW	344~353
14	DITNPINLRE	393~402
15	NNFGKLFEVK	409~418
16	RRYTARLKEG	498~507
17	ELHLLGFGIN	525~534
18	HRIFLAGDKD	539~548
19	IDQIEKQAKD	551~560
20	KDLAFPGSGE	559~568
21	KESHFVSARP	578~587

1.2 Ara h 2

Ara h 2 中共含有 14 个线性 IgE 结合表位被收录在 SDAP 过敏原蛋白结构数据库(见表 3)。它有两种异构体 Ara h 2.01 和 Ara h 2.02,Ara h 2.02 比 Ara h 2.01 多插入 12 个氨基酸,并且在这段氨基酸序列中含有一个主要的 IgE 结合位点 AA70-75(DPYSPS),所以 Ara h 2.02 的相对分子质量大于 Ara h 2.01 的,且具有较强的致敏性^[21]。

1.3 Ara h 3

在 SDAP 过敏原蛋白结构数据库中获取 Ara h 3 的 4 个IgE 结合表位(见表 4),其中表位 3 和 4 位于 Ara h 3

表 3 Ara h 2 的 IgE 结合表位
Table 3 Ara h 2 IgE binding epitopes

序号	氨基酸序列	位置
1	HASARQQWEL	18~27
2	QWELQGDR	24~31
3	DRRCQSQLER	30~39
4	LRPCEQHLMQ	42~51
5	KIQRDEDS	52~59
6	RDPYSP	62~67
7	SQDPYSPS	68~75
8	LQGRQQ	120~125
9	KRELRNL	130~135
10	QRCDLDEVE	146~153
11	RDPYSPSPYDRRGAG	62~83
12	RRCQSQLERANLRPC	31~45
13	GRDPYSPSQDPYSPS	61~75
14	ELQGDRRCQSQLERA	26~40

表 4 Ara h 3 的 IgE 结合表位
Table 4 Ara h 3 IgE binding epitopes

序号	氨基酸序列	位置
1	IETWNPNNQEFECAG	33~47
2	GNIFSGFTPEFLEQA	237~251
3	VTVRGGLRILSPDRK	276~290
4	DEDEYEYDEEDRRRG	303~317

的酸性链,该区域不容易被外界条件破坏,具有较好的耐受性,并且表位 3 可以被所有 Ara h 3 过敏患者血清特异性识别,被称为免疫优势表位^[18]。

2 花生致敏性评估方法

食物致敏性评估是衡量致敏性变化的重要标准,表 5 对食物致敏性评估方法进行了总结,以便于研究学者找到合适的评价方法。

2.1 体外模拟消化

体外模拟消化是指采用适宜条件在体外模拟体内的消化和吸收情况。大多数研究^[22]证实,食物过敏原的致敏性与其抗消化性一般呈正相关。因此,可将消化稳定性作为间接评价过敏原致敏性的参考指标。

在评估食物过敏原致敏性时,主要模拟口腔、胃和十二指肠消化。Wang 等^[10]在体外模拟胃液和肠液消化探究不同烹饪方式对花生过敏原抗消化性的影响,发现水煮和油炸花生与生花生相比消化稳定性降低,且油炸花生更明显,初步证实了油炸花生的致敏性最低。皮潇文等^[23]采用高压蒸汽联合纳豆芽孢杆菌发酵处理花生浆,研究发现花生致敏性降低主要发生在胃液消化阶段,胃

表 5 花生致敏性评估方法对比

Table 5 Comparison of methods for assessing peanut allergenicity

花生致敏性评估方法	优点	缺点
体外模拟消化	操作简单、经济灵活、重现性好、试验周期短	间接参考指标,多用于对食物过敏原致敏性的初步评价
酶联免疫吸附试验	灵敏度高、特异性强、操作方便、可定性和定量	特异性取决于抗原的制备,交互反应发生概率较高
免疫印迹试验	分析容量大、敏感度高、特异性强	试验操作繁琐费时,受环境因素影响较大,结果不稳定
细胞模型	易于培养和维持,可以直接反映食物过敏原致敏性	无法体现机体体内环境中细胞间的相互作用
动物模型	与人体相似的生理学特性,避免直接在人体上进行试验所带来的风险,试验结果更接近实际情况	易受环境、年龄等因素影响,目前还没有一种动物能够满足理想动物模型的所有要求

肠液连续消化效果比单一消化酶解更显著。另有研究^[24]对生花生和烤花生进行体外模拟口腔—胃—十二指肠消化,结果显示烘烤提高了花生的消化率,且经刷状缘膜酶消化处理后烘烤花生致敏性降低。

然而,食物过敏原的消化稳定性并不是触发过敏反应的必要条件,两者之间缺乏直接关联,且消化结果易受消化条件、消化环境等多因素影响,仅从体外模拟消化试验评估致敏性存在一定的局限性。因此,研究者多将体外模拟消化试验用于对食物过敏原致敏性的初步评价,并在后续的试验设计中加入其他致敏模型和评价方法,以增强数据结果的可靠性。

2.2 血清学分析

血清学试验主要是根据过敏原蛋白与阳性血清中 IgE 的结合能力大小进行致敏性评价。目前,酶联免疫吸附(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试验和免疫印迹(Western blotting, WB)试验是最为常用的两种方法。

2.2.1 ELISA ELISA 是一种定性或定量检测,利用抗原和抗体的特异性反应结合酶对底物的高效催化作用实现物质分离测定的固相酶分子免疫分析技术。常见的 ELISA 类型有直接法、间接法、夹心法和竞争法。

李颖超等^[25]研究高温高压处理对 Ara h 1 致敏性的影响,间接 ELISA 结果显示,高温高压处理后 Ara h 1 的免疫反应性显著降低。Yu 等^[26]分别用碱性蛋白酶、菠萝蛋白酶、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶处理花生仁,并通过夹心 ELISA 定量检测 Ara h 1、Ara h 2 和 Ara h 6 的含量,研究发现碱性蛋白酶是降低花生致敏性最有效的酶。常雪娇^[27]通过竞争 ELISA 证实烘焙加工会使 Ara h 2 的 IgE 结合能力增强,提高其潜在的致敏性。目前,ELISA 技术的发展已较为成熟,但每种类型的 ELISA 都有一定的优缺点,研究者可针对不同的试验目的采取不同种类的方法,并联合其他的试验技术对花生过敏原的致敏性进行综合评估。

2.2.2 WB WB 是在凝胶电泳和抗原抗体检测的基础上发展起来的免疫测定技术,可以直观地显示过敏原蛋白与 IgE 的结合情况并比较其强弱。但 WB 试验受环境

因素影响较大,结果不稳定,且只能进行定性和半定量分析。因此,通常将 WB 与 ELISA 联合使用以提高结果的准确度。Zhang 等^[28]研究热加工处理对 Ara h 2 致敏性的影响,WB 和 ELISA 结果显示,表位 3、6、7 与 IgE 的结合能力在煮沸、糖基化和油炸处理后均显著降低。Mikiashvili 等^[29]的 WB 和 ELISA 分析结果表明,烘烤花生经不同蛋白酶处理后 Ara h 1、Ara h 2、Ara h 3 和 Ara h 6 含量减少,且花生过敏原蛋白与 IgE 的结合能力发生不同程度的降低。高美须等^[30]通过 WB 和 ELISA 试验评估 56 个花生品种的致敏性,结果表明不同品种花生致敏性存在明显差异。

目前,单独的 WB 试验还不能完全有效地评估食物过敏原蛋白的致敏性。因此,研究者还需进一步探索,联合不同的评价模型验证食品加工技术在消减食物致敏性方面的安全性和有效性,为降低食物过敏原致敏性提供理论依据。

2.3 细胞模型评价

细胞模型是指在体外模拟体内环境(无菌、适当温度、酸碱度和一定营养条件等),使细胞生长繁殖并维持主要结构和功能的一种技术。

参与花生过敏过程的免疫细胞主要有树突状细胞、嗜碱性粒细胞和肥大细胞等。Wang 等^[31]利用骨髓树突状细胞(Bone marrow-derived cells, BMDCs)对烘烤花生进行致敏性评价,结果显示 Ara h 3 经烘烤后, BMDCs 的 IL-5、IL-10 和 IL-13 基因的表达显著增加, IL-12 表达下调,说明烘烤促进了 Ara h 3 蛋白的抗原摄取递呈过程,从而增强了 Ara h 3 的致敏性。

常用的嗜碱性粒细胞模型有大鼠嗜碱性细胞白血病细胞(Rat basophil leukemia cells, RBL-2H3)和人外周血嗜碱性粒细胞(Human peripheral blood eosinophil leukemia cells, KU812)。RBL-2H3 细胞与肥大细胞的许多特性和功能类似,可被 IgE/抗原复合物激活释放组胺、白三烯、5-羟色胺(5-HT)、 β -氨基己糖苷酶等炎性介质,常作为肥大细胞的代替模型,目前已被广泛应用于评价花生过敏原致敏性的研究中。Rao 等^[32]通过构建 RBL-2H3 细胞模型证实发芽花生的致敏性较低。史云凤

等^[33]试验结果显示重组 Ara h 1 蛋白可以诱导 RBL-2H3 细胞发生脱颗粒,释放 β -氨基己糖苷酶,进一步说明重组 Ara h 1 蛋白具有较强的致敏性。另外一种嗜碱性粒细胞-KU812 是一种人类来源的能够在体外稳定培养的免疫细胞,更接近人类生理机能,也常用来评估蛋白样品的致敏性。Zhou 等^[34]通过 KU812 细胞试验证明烘烤可以增强花生的致敏性,表现在组胺和 β -氨基己糖苷酶释放增加。曲欣等^[35]用脂质过氧化物修饰的 Ara h 1 蛋白刺激 KU812 细胞,发现氧化修饰后 Ara h 1 刺激 KU812 细胞释放组胺和 IL-4 的能力显著下降,表明 Ara h 1 过敏原性降低。此外,肥大细胞相对于嗜碱性粒细胞,含有种类更多数量更大的炎性颗粒,过敏反应发生时能释放更多的生物活性物质,已成功应用于致敏性评价。但从骨髓源分化出来的肥大细胞需要 4~6 周才能成熟,耗时久、成本高等缺点使其不适合用于食物过敏原检测,因此商业化细胞在致敏性评价中应用更为广泛^[36]。

2.4 动物模型评价

动物试验弥补了体外试验只能局部反映过敏原性质的缺陷,可在体内全面客观地模拟食物过敏反应的发生,成为辅助评价食物致敏性的重要工具。非啮齿类动物在组织结构、生理及代谢等方面与人类相似,但其体积大、致敏周期长、致敏蛋白剂量大且价格昂贵,因此多被用于过敏相关机制的探究而较少用于致敏性评价^[37]。鼠类体积小,繁殖周期短、价格便宜、免疫学资料丰富,是比较理想的评价食物蛋白致敏性的动物模型。

应用于花生致敏性评价的小鼠品系包括 C57BL/6、C3H/HeJ、BALB/c 小鼠等。其中 BALB/c 小鼠是近交高 IgE 应答品系,优先产生 Th2 型免疫应答和 IgE 抗体,最常被用来评价食物蛋白的潜在致敏性^[38]。Wu 等^[39]采用 BALB/c 小鼠模型进行致敏性评价,结果显示弗吉尼亚型品种具有较高的 IgE 结合能力,而西班牙型品种的 IgE 结合能力最低。此外,C3H/HeJ 小鼠也常被用作进行口服花生的致敏动物模型中,Bansode 等^[40]评估多酚与花生蛋白的络合物对 C3H/HeJ 小鼠过敏反应的影响,证明多酚与花生蛋白络合可以降低 C3H/HeJ 小鼠血清中特异性 IgE 抗体水平,进而降低其致敏性。

相比于小鼠,BN 大鼠的体积适中,在单个动物上易观察到血清特异性抗体 IgE 和 IgG 的动态分析,致敏激发后可产生与人类相似的过敏症状,是评价花生致敏性的有效动物模型^[41]。Kroghsbo 等^[42]使用 BN 大鼠作为致敏模型,发现口服给药 BN 大鼠后烤花生对 Ara h 1 和 Ara h 2 的特异性 IgE 水平显著高于焯花生或花生酱。Bogh 等^[43]通过 BN 大鼠进行的试验研究表明,消化前后的 Ara h 1 都具有一定的致敏性。

近年来,随着致敏动物模型研究的不断深入,基因工程小鼠和人源化小鼠等新型动物模型逐渐被开发应用,

为评估花生潜在致敏性提供了新的依据。然而每种模型都存在一定的局限性,不同品系的小鼠对过敏原的识别和对过敏的敏感性均存在差异。因此,试验者在设计试验时需要根据研究目的和内容等众多因素综合分析,以选择最佳的动物模型,更好地进行致敏性评价。

3 加工方式对花生致敏性的影响

3.1 物理方法

3.1.1 辐照 辐照技术是利用电子加速器产生的电子或 X 射线或放射性同位素产生的 γ 射线对过敏原进行的电离辐射。该技术可以使蛋白质分子之间发生脱氨、脱羧、交联、降解、二硫键断裂等一系列化学反应,不同程度地影响过敏原与相应抗体的结合能力,引起过敏原免疫活性的降低或消失。Luo 等^[44]研究表明辐照处理 Ara h 6 后,其二级和三级结构发生显著变化。低剂量中存在的一些蛋白质和脂类可以保护 Ara h 6 上的表位免受自由基的损害,而当辐照剂量增加到 10 kGy 时,蛋白均形成不溶性聚集物,失去了对 Ara h 6 的保护作用,致敏性下降最为显著。此外,罗春萍等^[45]采用不同剂量⁶⁰Co- γ 辐照处理 Ara h 2,发现随着辐照剂量的增大,Ara h 2 与抗体的结合能力逐渐降低,推测可能是辐照过程中产生的羟自由基与氨基酸发生脱氨反应引发过敏原表位肽的交联或断裂。辐照处理能有效消减花生过敏原的致敏性,但它能否与其他消敏技术联合使用并开展实际应用,其安全性和可行性仍待进一步深入探究。

3.1.2 超高压 超高压是一种新型的食品加工技术,它通过影响花生蛋白的非共价键(疏水键、氢键和离子键),导致蛋白结构、表位和抗原性的改变^[46]。Long 等^[47]研究表明高压处理后 Ara h 2 的致敏潜能因压力水平和处理时间的不同而不断变化,在 100,200 MPa 下处理 2.5~30 min 对花生致敏性无明显影响,而用 400,500,600 MPa 处理 10 min 及以上时花生的免疫反应性显著降低,表现为血清中组胺和细胞因子(IL-4、IFN- γ 和 IL-10)释放减少。除此之外,Pan 等^[48]用 200,400,600 MPa 的高静压处理 Ara h 1 后发现,600 MPa 的压力条件下免疫反应性降低最显著。这可能是由于过量的压力让暴露的-SH 基团再氧化成二硫键,使得 Ara h 1 的结构重排形成新的多聚体, α -螺旋和 β -折叠结构减少,可能导致外部的氨基酸残基和免疫反应位点被大量掩蔽,从而降低了 Ara h 1 的免疫反应性。Huang 等^[49]也报道了类似的结果,600,800 MPa 处理 10 min 后可有效降低花生的致敏性,且该研究指出高压处理还可以保持花生的品质和营养成分,在消减花生致敏性方面有重要的意义和应用前景。

3.1.3 低温等离子体 等离子体是由紫外光子、离子、电子、自由基、分子和激发原子等活性物质组成的电离气

体^[50]。低温等离子体处理可能通过蛋白质变性、诱导蛋白质构象修饰等多种机制降低致敏性。Venkataratnam 等^[51]将干燥的脱脂花生粉和全花生在 80 kV 电压下的低温等离子体中处理不同时间,结果显示 Ara h 1 对应的蛋白条带无明显变化,但长时间的等离子体处理会诱导 Ara h 1 二级结构中 α -螺旋和 β -折叠含量改变,从而导致表位结合能力变化。随着持续时间的延长,Ara h 1 的致敏性逐渐降低。然而,在 Venkataratnam 等^[52]的另外一项研究中,改变等离子体处理条件后 SDS-PAGE 显示出相反的结果,主要的过敏原蛋白溶解度降低,可能形成了不溶性聚集体,引起过敏原结构变化,最终降低了花生的致敏性。由此可见,低温等离子体处理对于降低花生致敏性具有一定的潜力,有望成为花生致敏性的新型消减技术。

3.2 化学方法

3.2.1 糖化 糖化是在 ϵ -氨基与多糖的还原端羰基之间形成的一种非酶褐变反应,可以在多种食物热加工(如烘烤、煎炸)中自然发生,且无需酶的催化^[53]。糖化处理通过糖链的引入修饰过敏原表位,引起致敏性改变。如 Tian 等^[54]将花生重组蛋白 rAra h 1 与不同种类的糖分别在 40、100 °C 下加热 18 h 和 20 min,研究发现经蔗糖、D-果糖和葡萄糖胺糖化处理后 rAra h 1 致敏性升高,与高温组相比,低温组 IgE 结合能力增强更为显著。值得注意的是,低温组中麦芽糖糖化处理后 IgE 结合能力下降,推测可能是由于分子修饰导致抗原表位丢失,引起致敏性降低。Shi 等^[55]通过干热处理模拟糖化反应,随着反应时间的延长游离氨基含量减少、结合糖含量增多,表明葡萄糖分子通过共价相互作用与精氨酸和赖氨酸相连,以此推测糖化反应的进行,最终结果表现为糖化修饰上调了 rAra h 1 蛋白的致敏性。虽然糖化使 Ara h 1 与 IgE 的结合能力略有下降,但同时也增加了细胞脱颗粒的能力,从而引发了更为严重的过敏反应。

另一方面,有研究^[56]显示,超声可以破坏蛋白质分子结构之间的氢键和范德华力,对糖化有一定的修饰作用,两者结合处理通常具有较好的协同促进效应。但目前尚未发现超声辅助糖化对花生致敏性影响的报道,或可进行深入研究。

3.2.2 多酚处理 在食品加工过程中,蛋白质与多酚易存在于同一体系并发生相互作用进而影响其致敏性。任红涛等^[57]通过碱法、酶法、自由基法使 Ara h 1 与咖啡酸互作,研究发现 3 种互作接枝物与 IgG 的结合能力均低于对照组,可能是由于与多酚的共价结合掩盖了包埋于分子内部的表位,其中碱法处理后 Ara h 1 致敏性下降最为显著。多酚与花生蛋白的相互作用还会引起蛋白结构发生变化,张驰^[58]探究花生蛋白与 6 种多酚间的相互作用及复合物脱敏效果,结果显示多酚处理后可溶性蛋白

含量降低,部分氨基酸残基疏水性下降,使其空间结构展开,且二级结构中 α -螺旋和 β -转角含量减少,结构变得松散,最终表现出较好的体外 IgE 结合抑制能力。此外,Bansode 等^[40]发现花生蛋白与多酚的复合物可以通过抑制 IgE 水平和减少肥大细胞中 CD63 激活介导的脱颗粒来降低花生的过敏反应。

多酚具有很多有益的生理功效,通过植物多酚与花生过敏原蛋白之间的相互作用来消减花生致敏性成为一种新的方法。深入了解其他的多酚类型,探究复合多酚及多种方法之间的联合使用在降低花生致敏性方面仍具有重要意义。

3.2.3 其他化学方法 除了糖化可以对花生致敏性产生影响外,还有一些其他的化学处理方法,如烷基化、糖基化和酸处理等。Apostolovic 等^[21]研究表明花生经乙酰胺烷基化处理后,过敏原蛋白二级结构中 α -螺旋含量降低,而 β -转角和无规卷曲含量增加。且 ELISA 结果显示烷基化后 Ara h 2 和 Ara h 6 与 IgE 的结合能力显著降低,表现出较低的致敏性。Tian 等^[54]发现葡萄糖胺糖基化反应(转谷氨酰胺酶催化)过程中形成的聚集物增加了空间位阻,造成花生抗原表位的破坏,进而阻碍了脱颗粒信号的传导过程,最终导致 rAra h 1 的免疫原性降低。此外,Lee 等^[59]研究发现,乙酸处理显著降低了 Ara h 1 和 Ara h 2 的致敏性,可能是由于在酸性环境下花生过敏原蛋白的表面生物活性发生改变。

通过化学方法消减过敏原致敏性具有重要意义,但如何去除混合物中的化学残留物仍是一个未解决的问题,因此需要更多的研究来发现如何将化学处理更好地应用于花生。

3.3 生物方法

3.3.1 发酵 发酵是最古老的食物加工方式之一,花生蛋白经微生物发酵后被降解成低分子量的多肽,并通过修饰或破坏线性和构象表位影响其致敏性。Pi 等^[60]研究表明高压灭菌辅助纳豆芽孢杆菌发酵后花生蛋白分子量降低,两者结合可以有效消减花生致敏性。随后,他们发现植物乳杆菌和乳杆菌混合发酵相比于单一菌株发酵,花生与 IgE 的结合能力降低更为显著,这可能是因为含有更多类型的酶和发酵代谢产物,它们之间的结合反应使得表位的掩蔽和破坏程度更大^[61]。发酵技术在降低花生致敏性方面显示出巨大优势,但仍有大量微生物发酵菌种的功能特性尚未挖掘,未来还需继续优化发酵条件,利用细胞模型和动物模型进一步验证发酵的脱敏效果。

3.3.2 基因工程 基因工程可在分子水平上直接作用于表位中的关键氨基酸,通过靶向修饰从根本上改变花生的内源基因,从而影响致敏表位的表达,达到改变致敏性的目的。现已有研究表明运用基因工程改造可以获得低

致敏性的 Ara h 2, 任林妹^[62]通过突变关键氨基酸设计出 Ara h 2 的 5 种突变体, 研究表明突变后的 Ara h 2 与 IgE 的结合能力均降低, 这可能是由于缺少二硫键的束缚, 使其构象表位发生改变。Zhou 等^[63]建立 BALB/c 小鼠模型进一步评估 Ara h 2 突变对生物个体潜在致敏性的影响, 研究发现突变后 Mut 1 和 Mut 3 组致敏小鼠血清中 IgE、IgG、IgG1 和 IgG2a 的水平明显低于未处理组, 且突变体 Mut 1 可诱导小鼠脾脏淋巴细胞中低水平的 Th2 型细胞因子, 从而过敏症状减轻。此外, Bublin 等^[64]通过基因工程技术对 Ara h 2 和 Ara h 6 进行改造, 结果显示突变过敏原在保持 T 细胞反应性的同时降低花生致敏性, 但一些过敏患者血清对改良后的过敏原仍保持较高水平的 IgE 免疫反应性。基因工程能够较为高效地改变花生过敏原的致敏性, 但由于突变后可能会存在致敏性增强的现象, 且对于基因食品的安全性存在一定争议, 能否将基因工程实际应用于花生致敏性的消减仍需进一步证实。

4 结语

花生富含丰富的营养而深受人们喜爱, 但因其较强的致敏性可能会给花生过敏患者带来重大风险, 限制了其在食品行业的开发和应用。文章讨论的花生致敏性消减技术, 如辐照技术、超高压技术、低温等离子体技术、发酵技术和基因工程技术等可在不同程度上降低花生过敏原蛋白的致敏性, 但每种方法都存在自身的局限性。超高压处理虽保持了花生原有的风味和营养, 但对设备要求高, 投资相对较大。低温等离子体处理会加速脂肪的氧化, 辐照和基因食品的安全性仍具有争议。与单一方法相比, 联合使用两种或两种以上方法既可以弥补单一方法的不足, 通常还具有较好的协同促进作用, 因此探究多种方法之间联合处理的可能性成为未来研究的重难点, 如超声辅助糖化处理、动态高压微流态化辅助糖化处理等。此外, 通过构建多级评价结构模型全面评估花生蛋白的致敏性, 深入研究花生致敏性变化的作用机制, 探讨花生过敏原构象改变与抗原表位之间的关联性仍具有重大意义。

参考文献

[1] LÓPEZ-PEDROUSO M, LORENZO J M, GAGAUAM, et al. Current trends in proteomic advances for food allergen analysis[J]. *Biology*, 2020, 9(9): 1-13.

[2] LANGE L, KLIMEK L, BEYER K, et al. White paper on peanut allergy-part 1: Epidemiology, burden of disease, health economic aspects[J]. *Allergo Journal International*, 2021, 30(8): 261-269.

[3] GREENHAWT M, SHAKER M, WANG J L, et al. Peanut allergy diagnosis: A 2020 practice parameter update, systematic review, and GRADE analysis[J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2020, 146(6): 1 302-1 334.

[4] GUPTA R S, WARREN C M, SMITHB M, et al. The public health

impact of parent-reported childhood food allergies in the United States[J]. *Pediatrics*, 2018, 142(6): e20181235.

[5] SHREFFLER W G, BAUMERT J L, REMINGTONB C, et al. The importance of reducing risk in peanut allergy: Current and future therapies[J]. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 2018, 120(2): 124-127.

[6] FENG H, LIU Y, XIONG X J, et al. Epidemiological survey of self-reported food allergy among university students in China [J]. *Medicine*, 2022, 101(31): e29606.

[7] 黄颖璇, 谭改玲, 刘玲. 顺德龙江地区儿童过敏性疾病流行现状及致敏原分布[J]. *中国医学创新*, 2020, 17(15): 54-58.

HUANG Y X, TAN G L, LIU L. Epidemicsituation and allergen distribution of allergic diseases in children in longjiang district of shunde[J]. *Medical Innovation of China*, 2020, 17(15): 54-58.

[8] PALLADINO C, BREITENEDER H. Peanut allergens[J]. *Molecular Immunology*, 2018, 100: 58-70.

[9] TIAN Y, LIU C L, XUE W T, et al. Crosslinked recombinant-Ara h 1 catalyzed by microbial transglutaminase: Preparation, structural characterization and allergic assessment [J]. *Foods*, 2020, 9(10): E1508.

[10] WANG T, HUANG Y T, TANG X L, et al. Effects of different cooking methods on peanut allergenicity [J]. *Food Bioscience*, 2022, 47: 101757.

[11] 张九凯, 于悦, 于宁, 等. 芝麻过敏原及其致敏性消减技术研究进展[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(4): 5-15.

ZHANG J K, YU Y, YU N, et al. Research progress in sesame allergens and their mitigation technologies [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(4): 5-15.

[12] TIAN Y, RAO H, ZHANG K, et al. Effects of different thermal processing methods on the structure and allergenicity of peanut allergen Ara h 1[J]. *Food Science & Nutrition*, 2018, 6(6): 1 706-1 714.

[13] 胡纯秋, 高金艳, 陈红兵. 花生过敏原在加工中的变化[J]. *食品科学*, 2006, 27(12): 784-788.

HU C Q, GAO J Y, CHEN H B. Thechanges of peanut allergens during processing[J]. *Food Science*, 2006, 27(12): 784-788.

[14] FAISAL S, AIMIN S, JON A, et al. Peanut allergy: Characteristics and approaches for mitigation[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2019, 18(5): 1 361-1 387.

[15] SAYERS R L, JOHNSON P E, MARSH J T, et al. The effect of thermal processing on the behaviour of peanut allergen peptide targets used in multiple reaction monitoring mass spectrometry experiments[J]. *The Analyst*, 2016, 141(13): 4 130-4 141.

[16] PI X W, WAN Y, YANG Y L, et al. Research progress in peanut allergens and their allergenicity reduction [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 93: 212-220.

[17] GENG Q, ZHANG Y, SONG M, et al. Allergenicity of peanut allergens and its dependence on the structure[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2023, 22(2): 1 058-1 081.

- [18] SCHWAGER C, KULL S, BEHREND S, et al. Peanut oleosins associated with severe peanut allergy: Importance of lipophilic allergens for comprehensive allergy diagnostics [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017, 140(5): 1 331-1 338.
- [19] JAYASENA S, SMITS M, FIECHTER D, et al. Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(6): 1 849-1 855.
- [20] BURKS A W, SHIN D, COCKRELL G, et al. Mapping and mutational analysis of the IgE-binding epitopes on Ara h 1, a legume vicilin protein and a major allergen in peanut hypersensitivity[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 245 (2): 334-339.
- [21] APOSTOLOVIC D, LUYKX D, WARMENHOVEN H, et al. Reduction and alkylation of peanut allergen isoforms Ara h 2 and Ara h 6; characterization of intermediate and end products [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 2013, 1 834(12): 2 832-2 842.
- [22] SUN N, LIU Y, LIU K L, et al. Gastrointestinal fate of food allergens and its relationship with allergenicity[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022, 21(4): 3 376-3 404.
- [23] 皮潇文, 董彪, 吴晓江, 等. 纳豆芽孢杆菌液态发酵对花生理化指标及其蛋白在消化过程中致敏性的影响[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(8): 49-54.
- PI X W, DONG B, WU X J, et al. Effects of liquid fermentation by bacillus natto on the physicochemical properties of peanut and allergenicity of peanut protein during digestion [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(8): 49-54.
- [24] DI STASIO L, TRANQUET O, PICARIELLO G, et al. Comparative analysis of eliciting capacity of raw and roasted peanuts: The role of gastrointestinal digestion[J]. *Food Research International*, 2020, 127: 108758.
- [25] 李颖超, 赵良, 钱和. 高温高压处理对花生致敏蛋白 Ara h1 及其免疫反应性的影响[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(20): 32-36.
- LI Y C, ZHAO L, QIAN H. Effects of autoclaving on the immunoreactive properties of allergenic protein Ara h1 from peanut seeds[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(20): 32-36.
- [26] YU J M, MIKIASHVILI N. Effectiveness of different proteases in reducing allergen content and IgE-binding of raw peanuts[J]. *Food Chemistry*, 2020, 307: 125565.
- [27] 常雪娇. 烘焙加工对花生主要过敏原蛋白 Ara h 2 的结构和致敏性影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2021: 51.
- CHANG X J. Effect of baking process on the structure and allergenicity of peanut main allergen protein Ara h 2 [D]. Nanchang: Nanchang University, 2021: 51.
- [28] ZHANG W J, ZHU Q Q, ZHANG T, et al. Thermal processing effects on peanut allergen Ara h 2 allergenicity in mice and its antigenic epitope structure[J]. *Food Chemistry*, 2016, 212: 657-662.
- [29] MIKIASHVILI N, YU J N. Changes in immunoreactivity of allergen-reduced peanuts due to post-enzyme treatment roasting[J]. *Food Chemistry*, 2018, 256: 188-194.
- [30] 高美须, 王传堂, 许舒婷, 等. 花生品种缺失过敏蛋白的筛选和品种间过敏原性的比较[J]. *花生学报*, 2020, 49(4): 23-30.
- GAO M X, WANG C T, XU S T, et al. Screening of peanut varieties with deficiency of allergen and comparison of allergenicity among peanut varieties[J]. *Journal of Peanut Science*, 2020, 49(4): 23-30.
- [31] WANG M J, WANG S, SUN X, et al. Study on mechanism of increased allergenicity induced by Ara h 3 from roasted peanut using bone marrow-derived dendritic cells[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(3): 755-764.
- [32] RAO H, CHEN C K, TIAN Y, et al. Germination results in reduced allergenicity of peanut by degradation of allergens and resveratrol enrichment[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2018, 50: 188-195.
- [33] 史云凤, 张彤, 陈沁. 花生过敏原 Ara h 1 蛋白的原核表达及致敏性分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(6): 121-127.
- SHI Y F, ZHANG T, CHEN Q. Prokaryotic expression of peanut allergen Ara h 1 and its allergenicity[J]. *Food Science*, 2019, 40 (6): 121-127.
- [34] ZHOU H F, WU Z H, CHANG X J, et al. The effect of roasting on peanut allergens' digestibility, allergenicity, and structure[J]. *Food Bioscience*, 2021, 44: 101454.
- [35] 曲欣, 吕晓静, 刘芸, 等. 脂质过氧化物对花生过敏原致敏性的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(4): 1 334-1 340.
- QU X, LU X J, LIU Y, et al. Effect of lipid peroxides on the allergenicity of peanut allergen [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(4): 1 334-1 340.
- [36] 周微芳, 范卓妍, 姜松松, 等. 食品致敏性评价的动物和细胞模型研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017(4): 1 120-1 126.
- ZHOU W F, FAN Z Y, JIANG S S, et al. Advances in animal and cell models for the evaluation of food allergy[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017(4): 1 120-1 126.
- [37] 王峥, 李秀敏, 苗晋鑫. 食物过敏小鼠模型研究进展[J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 570-577.
- WANG Z, LI X M, MIAO P X. Advances in murine models for food allergies [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2020, 28(4): 570-577.
- [38] 胥可, 凌晓斐, 张振玲. 啮齿类动物模型在食品致敏性评价中作用的研究进展[J]. *现代预防医学*, 2017, 44(9): 1 681-1 684.
- XU K, LIN X F, ZHANG Z L. Research progress on rodent models use in the evaluation of the allergenicity of foods [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2017, 44(9): 1 681-1 684.
- [39] WU Z H, ZHOU N L, XIONG F Q, et al. Allergen composition analysis and allergenicity assessment of Chinese peanut cultivars [J]. *Food Chemistry*, 2016, 196: 459-465.
- [40] BANSODE R R, RANDOLPH P D, PLUNDRICH N J, et al. Peanut

- protein-polyphenol aggregate complexation suppresses allergic sensitization to peanut by reducing peanut-specific IgE in C3H/HeJ mice[J]. *Food Chemistry*, 2019, 299: 125025.
- [41] HUANG J J, LIU C J, WANG Y B, et al. Application of in vitro and in vivo models in the study of food allergy[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2018, 7(4): 235-243.
- [42] KROGH S B, RIGBY N M, JOHNSON P E, et al. Assessment of the sensitizing potential of processed peanut proteins in Brown Norway rats: Roasting does not enhance allergenicity[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96475.
- [43] BØGH K L, KROGH S B, DAHL L, et al. Digested Ara h 1 has sensitizing capacity in Brown Norway rats [J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2009, 39(10): 1 611-1 621.
- [44] LUO C P, HU C Q, GAO J Y, et al. A potential practical approach to reduce Ara h 6 allergenicity by gamma irradiation[J]. *Food Chemistry*, 2013, 136(3/4): 1 141-1 147.
- [45] 罗春萍, 胡纯秋. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 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): 1 349-1 355.
- LUO C P, HU C Q. Effects of $^{60}\text{Co}-\gamma$ Irradiation on the conformation and antigenicity of peanut allergen Ara h 2 [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences* 2019, 33(7): 1 349-1 355.
- [46] HUANG H W, HSU C P, YANG B, et al. Potential utility of high-pressure processing to address the risk of food allergen concerns [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(1): 78-90.
- [47] LONG F Q, YANG X, SUN J, et al. Effects of combined high pressure and thermal treatment on the allergenic potential of peanut in a mouse model of allergy[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2016, 35: 133-138.
- [48] PAN D, TANG B L, LIU H P, et al. Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on immunoreactivity and spatial structure of peanut major allergen Ara h 1[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2020, 13(1): 132-144.
- [49] HUANG H W, YANG B B, WANG C Y. Effects of high pressure processing on immunoreactivity and microbiological safety of crushed peanuts[J]. *Food Control*, 2014, 42: 290-295.
- [50] DONG X, WANG J, RAGHAVAN V. Critical reviews and recent advances of novel non-thermal processing techniques on the modification of food allergens[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(2): 196-210.
- [51] VENKATARATNAM H, SARANGAPANI C, CAHILL O, et al. Effect of cold plasma treatment on the antigenicity of peanut allergen Ara h 1 [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 52: 368-375.
- [52] VENKATARATNAM H, CAHILL O, SARANGAPANI C, et al. Impact of cold plasma processing on major peanut allergens[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 1-11.
- [53] ZHAO Y J, CAI Q F, JIN T, 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.
- [54] TIAN Y, LIU C, ZHANG K E, et al. Glycosylation between recombinant peanut protein Ara h 1 and glucosamine could decrease the allergenicity due to the protein aggregation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 127: 109374.
- [55] SHI Y F, WANG M J, DING Y T, et al. Effects of Maillard reaction on structural modification and potential allergenicity of peanut 7S globulin (Ara h 1) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(15): 5 617-5 626.
- [56] 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.
- SONG Q D, TU Z C, WANG H, et al. Effect of ultrasounds synergistic glycosylation on the sensitization and the structure of egg white powder[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(5): 1-5, 26.
- [57] 任红涛, 石奇磊, 李静, 等. 花生致敏蛋白 Ara h1 与咖啡酸互作对其抗原性的影响[J]. *农业工程学报*, 2022, 38(8): 288-296.
- REN H T, SHI Q L, LI J, et al. Effects of interaction between peanut allergenic protein Ara h1 and caffeic acid on its antigenicity[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2022, 38(8): 288-296.
- [58] 张驰. 多酚与花生蛋白相互作用及其对花生蛋白致敏性的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2021: 85.
- ZHANG C. The interaction of polyphenols with peanut protein and its effect on the allergenicity of peanut protein [D]. Chongqing: Southwest University, 2021: 85.
- [59] LEE J O, SUNG D, PARKS H, et al. Effect of acid treatment on allergenicity of peanut and egg[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(7): 2 116-2 121.
- [60] PI X W, FU G M, DONG B, et al. Effects of fermentation with *Bacillus natto* on the allergenicity of peanut[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 141: 110862.
- [61] PI X W, FU G M, YANG Y, et al. Changes in IgE binding capacity, structure, physicochemical properties of peanuts through fermentation with *Bacillus natto* and *Lactobacillus plantarum* along with autoclave pretreatment [J]. *Food Chemistry*, 2022, 392: 133208.
- [62] 任林妹. 结构定向改造对花生过敏原 Ara h 2 潜在致敏性影响研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2021: 48.
- REN L M. Study on the potential sensitization of peanut allergen Ara h 2 by structure-oriented Modification [D]. Nanchang: Nanchang University, 2021: 48.
- [63] ZHOU X Y, REN L M, ZHANG Y, et al. Effect of structural targeted modifications on the potential allergenicity of peanut allergen Ara h 2[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(1): 836-845.
- [64] BUBLIN M, KOSTADINOVA M, RADAUER C, et al. Engineering of structural variants of the major peanut allergens Ara h 2 and Ara h 6 for allergen-specific immunotherapy [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2019, 143(3): 1 226-1 229.