Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2423-3544
Online ISSN: 2423-3803

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

Effect of processing on food allergens

Jafar Mohammadzadeh Milani[1], Mohadeseh Sadat Mousavi Hosseini[2*]

[1] Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran,
[1] M.Sc. student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
Email: mohadeseh137726@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2023-4-17
Revised: 2023-8-27
Accepted: 2023-11-6

Keywords:
Allergy
Allergen
Processing
Food substance

ABSTRACT

Background and objective: Today, food allergies are increasing in different societies, and consumers have become more aware of food sensitivities, including allergies, and receive the necessary training. Recently, proposed food allergen labeling requirements in the European Union and the United States have increased awareness of food allergies among consumers, food manufacturers, and regulatory agencies. It is important to note that there is a lack of systematic and statistically valid data on true food allergies worldwide. It may also be underreported or simply undiagnosed in underdeveloped and developing countries. Considering that Asian countries constitute a major part of the world's population, the actual incidence of food allergies may be significantly higher than estimates and/or documentation. Therefore, efforts should be made to reduce food allergens.

Findings: Food allergens are usually proteins. As studies have shown, protein denaturation and/or hydrolysis during food processing can be used to produce less allergenic and some allergen-free products. According to the findings, food processing can affect the allergenicity of food proteins. Small allergenic proteins can be physically removed from some foods. In contrast, for larger proteins, enzymatic hydrolysis, chemical modification, or a combination of physical, chemical, and biochemical processes are often required to reduce or eliminate food allergenic genes.

Conclusion: As mentioned, food allergy is increasing and a global health concern. Among the measures thought to reduce food allergies, there are relatively effective food processing techniques, especially thermal and ultrasound methods that reduce the allergenicity of food proteins by changing structural epitopes through increasing cross-linking of proteins or they are useful by modifying linear epitopes through fragmentation. Also, more studies on the effects of food processing on the clinically relevant reactivity of food allergens in the body are necessary. This article is a short review on the effects of dry and wet heat process of food, irradiation, ultrasound, fermentation, proteolytic process, cold plasma, etc, in this field. Also, examples of the effects of processes on the stability of food allergens are presented.

Cite this article: Mohammadzadeh Milani, J., Mousavi Hosseini, M.S. 2023. Effect of processing on food allergens. *Food Processing and Preservation Journal*, 15(2), 55-76.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/FPPJ.2023.21277.1754
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵۴۴-۲۴۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲۴۲۳

اثر فراوری بر آلرژن‌های مواد غذایی

جعفر محمدزاده میلانی[1]، محدثه سادات موسوی حسینی[2*]

[1] استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[2] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، رایانامه: mohadeseh137726@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۸
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۵

واژه‌های کلیدی:
آلرژی
آلرژن، فراوری
ماده غذایی

چکیده

سابقه و هدف: امروزه آلرژی‌های غذایی در جوامع مختلف در حال افزایش است و مصرفکنندگان در مورد حساسیت‌های غذایی از جمله آلرژی‌ها آگاه‌تر شده‌اند و آموزش‌های لازم را می‌بینند. اخیرا، طرح الزامات برچسب‌گذاری آلرژی‌زای غذایی در اتحادیه اروپا و ایالات متحده، آگاهی مصرف‌کنندگان، تولیدکنندگان موادغذایی و آژانس‌های نظارتی را نسبت به آلرژی‌های غذایی افزایش داده است. توجه به این نکته مهم است که داده‌های سیستماتیک و معتبر آماری در مورد آلرژی‌های غذایی واقعی در سطح جهانی وجود ندارد. همچنین ممکن است در کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه نیز کمتر گزارش شود یا به سادگی تشخیص داده نشود. با توجه به اینکه کشورهای آسیایی بخش عمده‌ای از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهند، بروز واقعی آلرژی‌های غذایی ممکن است به طور قابل توجهی بالاتر از برآوردها و یا مستندات باشد. بنابراین، باید در کاهش آلرژی‌زایی موادغذایی تلاش کرد.

یافته‌ها: آلرژن‌های غذایی معمولا از جنس پروتئین هستند. همان‌طور که مطالعات نشان داده‌اند، دناتوره شدن پروتئین و یا هیدرولیز در طی فراوری موادغذایی می‌تواند برای تولید محصولات با آلرژی زایی کم تر و بعضا فاقد آلرژن استفاده شود. طبق یافته‌ها فراوری موادغذایی می‌تواند بر آلرژی‌زایی پروتئین‌های ماده‌غذایی تأثیر بگذارد، پروتئین‌های کوچک آلرژی‌زا می‌توانند به‌طور فیزیکی از برخی غذاها حذف شوند. در مقابل در مورد پروتئین‌های بزرگ‌تر، هیدرولیز آنزیمی، اصلاح شیمیایی یا ترکیبی از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیوشیمیایی اغلب برای کاهش یا حذف ژن‌های آلرژی‌زای ماده‌غذایی مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری: همانطور که گفته شد آلرژی غذایی در حال افزایش و یک نگرانی بهداشت جهانی است. از جمله تدابیر اندیشیده شده برای کاهش آلرژی به موادغذایی تکنیک‌های فراوری موادغذایی نسبتا موثر وجود دارد، به ویژه روش‌های حرارتی و اولتراسوند که برای کاهش آلرژی‌زایی پروتئین‌های موادغذایی با تغییر اپی‌توپ‌های ساختاری از طریق افزایش اتصال عرضی پروتئین‌ها یا با اصلاح اپی‌توپ‌های خطی از طریق قطعه قطعه شدن مفید می‌باشند. همچنین انجام مطالعات بیشتری بر اثرات فرآیند موادغذایی بر واکنش‌پذیری مرتبط بالینی آلرژن‌های غذایی در بدن ضروری است. این مقاله، مروری کوتاه بر آثار فرآیند حرارتی خشک و مرطوب موادغذایی، پرتودهی، اوالتراسوند، تخمیر، فرآیند پروتئولیز، پلاسمای سرد و... در این

زمینه است. همچنین، نمونه‌هایی از اثرات فرآیندها بر پایداری آلرژن‌های غذایی ارائه می‌شود.

استناد: محمدزاده میلانی، ج.، موسوی‌حسینی، م.س. (۱٤۰۲). اثر فراوری بر آلرژن‌های مواد غذایی. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۵(۳)، ۷٦-۵۵.

DOI:

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

آلرژی غذایی که به‌عنوان یک پاسخ ایمنی به پروتئین‌های غذایی تعریف می‌شود، هشت درصد از کودکان خردسال و دو درصد از بزرگسالان را در کشورهای غربی تحت تاثیر قرار می‌دهد و به نظر می‌رسد شیوع آن‌ها مانند سایر بیماری‌های آلرژیک در حال افزایش است. علاوه بر کهیر و بیش‌دفاعی[1] ناشی از پاسخ‌های ایمنی توسط آنتی‌بادی، اختلالات سلولی مانند ازوفاژیت ائوزینوفیلیک[2] و انتروکولیت[3] ناشی از پروتئین غذایی نیز افزایش یافته است. در حال حاضر، مدیریت آلرژی غذایی شامل آموزش به بیماران برای جلوگیری از مصرف آلرژن مسئول و شروع درمان در صورت مصرف ماده‌ی آلرژی‌زا است. با این حال، استراتژی‌های جدید، از جمله ایمنی درمانی[4] زیرزبانی، خوراکی و موارد دیگر با دورنمای امیدوارکننده در حال بررسی هستند (۱).

آلرژی غذایی نوع I که به عنوان پاسخ بدن از طریق ایمونوگلوبولین E[5] به یک آلرژن در یک منبع غذایی تعریف می‌شود، مشخص نیست چرا ماده غذایی که بیشتر افراد بدون ضرر و به خوبی تحمل می‌کنند، باعث واکنش آلرژیک در افراد حساس می‌شود که در این خصوص مکانیسم دقیق آلرژی‌های غذایی ناشناخته باقی‌مانده است. به نظر می‌رسد اتصال ایمونوگلوبولین E بر سطح سلول‌های بافت پیوندی نرم[6] توسط آلرژن یک مرحله اجباری در ایجاد یک پاسخ آلرژیک در یک فرد حساس باشد. بخشی از یک آنتی ژن که توسط ایمونوگلوبولین E شناسایی می‌شود، اپی‌توپ[7] نامیده می‌شود. اپی‌توپ‌ها به طور کلی به دو دسته خطی[8] یا ساختاری[9] طبقه بندی می‌شوند که در آن یک اپی‌توپ خطی از یک زنجیره پیوسته از اسیدهای آمینه تشکیل شده است، ولی یک اپی‌توپ ساختاری شامل اسیدهای آمینه غیر پیوسته‌ای است که یک موتیف[10] سه بعدی یا ساختاری را تشکیل می‌دهد (۲). تشخیص آلرژن‌های غذایی از سال ۲۰۰۰ تا به امروز مورد توجه سازمان‌های نظارتی و صنایع غذایی قرار گرفته است. تشخیص آلرژن‌های غذایی بر اساس شرح حال بیمار، تجزیه و تحلیل رژیم غذایی بیمار، تست‌های پوستی، اندازه گیری ایمونوگلوبولین E خاص در سرم خون و... بنا شده است. روش‌های مختلفی که برای ارزیابی آلرژی غذایی به کار می‌روند برای تشخیص یا تعیین کمیت آلرژن‌ها، استفاده کارآمد از تکنیک‌های مختلف برای تغییر واکنش‌پذیری آلرژن‌های موادغذایی ضروری است. اکثر آلرژی‌های موادغذایی مبتنی بر ایمونوگلوبولین E هستند و واکنش آلرژن اغلب با پتانسیل آن برای اتصال با آنتی‌بادی‌های ایمونوگلوبولین E نشان داده می‌شود. متداول‌ترین روش مورد استفاده برای تشخیص آلرژی‌زایی یک آنتی‌ژن شامل آزمایشات درون تنی[11]، برون تنی[12] و برون زیوه‌ای [13]می‌باشد. این آزمایشات برای تشخیص وجود ایمونوگلوبولین E در سرم خون استفاده می‌شوند. آزمایشات برون تنی دارای جنبه‌های مفید بسیاری هستند، زیرا هنگام استفاده از افراد انسانی ارزان، سریع و بی‌ضرر هستند. از سوی دیگر، سنجش‌های درون تنی نتایج دقیق‌تری را در مقایسه با سنجش‌های برون تنی ارائه می‌دهند، اما استفاده از سوژه‌های انسانی یا حیوانی می‌تواند پرهزینه و زمان‌بر باشد و این سنجش‌ها ممکن است تهدیدی برای افراد باشد (۳).

[1] Anaphylaxis
[2] Eosinophilic esophagitis
[3] Enterocolitis
[4] Immunotherapy
[5] IgE
[6] Mast cells
[7] Epitope
[8] Linear
[9] Conformational
[10] Motif
[11] In vivo
[12] In vitro
[13] Ex vivo

جدول ۱- نام گذاری آلرژن‌های موادغذایی (٤)

خانواده پروتئین[1]	نام پروتئین	وزن مولکولی	خانواده گیاه‌شناسی[2]	منبع آلرژن[3]	آلرژن[4]
خانواده پرولامین[5]	۲S آلبومین	۵ کیلودالتون	*Brassicales*	*Brassica juncea*، خردل شرقی *Brassica nopus*، کلزا *Brassica rapa*، شلغم *Sinopis atba*، خردل زرد	Bra j 1 Bra n 1 Bra r 1 Sin a 1
			Ericales	*Bertholletia excelsia*، فندق برزیلی	Ber e 1
			Fabates	*Arachis hypogaea* ، بادام زمینی	Ara h 2 Ara h 6 Ara h 7
			Fagales	*Juglans nigra* ، گردوی سیاه *Juglans regia*، گردوی انگلیسی	Jug n 1 Jug r 1 Jug r 4
			Lamiales	*Sesamum indicum*، کنجد	Ses I 1 Ses I 2
			Malphigiales *Sapindules*	*Ricinus communs*، کرچک	Ric c 1
			Sapindules	*Anacardium occidentale*، بادام هندی *Pistacia vera*، پسته	Ana o 3 Pis v 1
	nsLTP	۷ کیلودالتون	*Asparagales*	*Asparagus officinalis*، مارچوبه	Aspa o 1
			Asterales	*Lactuca sativa*، کاهو	Lac s 1
			Brassicales	*Brassica oleracea*، کلم	Bra o 1
			Fagales	*Castanea sativa*، فندق *Corylus avellana*، فندق *Juglans regia* ، گردوی انگلیسی	Cor s 8 Cor a 8 Jug r 3
			Poales	*Triticum aestivum*، گندم *Zea mays*، ذرت	Tri a 14 Zea m 14
			Rosales	*Fragaria ananassa*، توت فرنگی *Malus domestica*، سیب	Fra a 3 Mal d 3

[1] Protein Family
[2] Botanical Family
[3] Allergen Source
[4] Allergern
[5] Prolamin superfamily

خانواده پروتئین[1]	نام پروتئین	وزن مولکولی	خانواده گیاه‌شناسی[2]	منبع آلرژن[3]	آلرژن[4]
				Prunus armentiaca، زردآلو *Prunus armentiaca*، گیلاس *Prunus domestica*، آلو *Prunus persica* ، هلو *Pyrus communis*، گلابی *Rubus idaeus*، تمشک	Pru ar 3 Pru a 3 Pru d 3 Pru p Pyr c 3 Rub I 3
			Rosids	*Vitis vinifera*، انگور	Vit v 1
			Sapindales	*Citrus limon*، لیمو *Citrus reticuata* ، *نارنگی* *Citrus sinensis*، پرتقال	Cit I 3 Cit r 3 Cit s 3
			Solanales	*Lycopersicon esculentum*، گوجه فرنگی	Lyc e 3
	آلفا-آمیلاز	۷۲ کیلودالتون	*Poales*	*Hordeum vulgare*، جو	Hor v 15 Hor v 16
	پرولامین‌های غلات	۱۳ کیلودالتون	*Poales*	*Hordeum vulgare*، جو *Triticum aestivum*، گندم *Secale cereale*، *چاودار*	Hor v 21 Tri a 19 Tri a 26 Sec c 20
	ژرمینوس[7]	۲۷ کیلودالتون	*Sapindales*	*Citrus sinensis*، *پرتقال*	Cit s 1
	ویسیلین‌ها[8]	۱۵۲ کیلودالتون	*Fabales*	*Arachis hypogaea*، بادام‌زمینی *Lens culinaris*، عدس *Pisum sativum*، نخود	Ara h 1 Len c 1 Pis s 1 Pis s 2
خانواده فرعی کوپین[6]			*Fagales*	*Corylus avellana*، فندق *Juglans nigra*، گردوی سیاه *Juglans regia*، گردوی انگلیسی	Cor a 11 Jug n 2 Jug r 2
			Lamiales	*Sesamum indicum*، کنجد	Ses I 3
			Sapindales	*Anacardium occidentale*، بادام هندی *Pistacia vera*، پسته	Ana o 1 Pis v 3

[6] Cupin superfamily
[7] Germins
[8] Vicillins

نام گذاری آلرژن‌های موادغذایی: تا کنون فهرست آلرژن‌ها در اتحادیه بین‌المللی انجمن‌های ایمونولوژیک[9] شامل ۱۳۰ ماده‌غذایی آلرژی‌زای گیاهی است. براساس همسانی توالی، این آلرژن‌ها را می‌توان تنها در ۲۷ خانواده از ۹۰۰۰ خانواده پروتئینی شناخته شده طبقه‌بندی کرد. این خانواده‌ها شامل ابر خانواده‌های [10]پرولامین[11] و کوپین[12]، پروتئین‌های مرتبط با بیماری زایی[13]، پروفیلین‌ها[14]، پروتئین‌های شبه تائوماتین[15]، اولئوسین‌ها[16]، اکسپانسین‌ها[17] و تعدادی آنزیم و مهارکننده‌های پروتئاز[18] هستند. طبقه‌بندی بر اساس شباهت‌های ساختاری و در نتیجه بیوشیمیایی و عملکردی، دیدگاه جدیدی در مورد مولکول‌ها ارائه می‌دهد و ممکن است به پاسخ به سؤالات در مورد آلرژی‌زایی پروتئین‌های مختلف کمک کند. این امر کمک می‌کند تا به صورت بالینی مولکول‌های حساسیت‌زا تعریف شده و واکنش‌های جانبی بین آلرژن‌های غذایی و همچین واکنش‌های میان آلرژن‌های غذایی با مولکول‌های آلرژن از سایر منابع توضیح داده شوند (٤).

طبقه بندی آلرژی‌های موادغذایی: آلرژی‌های غذایی اختلالات آتوپیک[19] هستند که به طور کلی به سه دسته تقسیم بندی می‌شوند، دسته ای که وابسته به ایمونوگلوبولین E هستند، دسته دوم که از آلرژی های غذایی مستقل از ایمونوگلوبولین E می‌باشند و دسته سوم توسط هر دو مسیر وابسته به ایمونوگلوبولین E و مستقل از ایمونوگلوبولین E مشخص می‌شوند. دسته دیگری از آلرژی‌های غذایی آتوپیک نیستند، مانند بیماری سلیاک[20] که متمایز است (۵).

[9] International Union of Immunological Societies (IUIS)
[10] Super Family
[11] Prolamin
[12] Cupin
[13] Pathogenesis related proteins
[14] Profilins
[15] Thaumatin-like proteins
[16] Oleosins
[17] Expansins
[18] Protease inhibitors
[19] Atopic
[20] Coeliac disease

شکل ۱- سه دسته اصلی طبقه بندی آلرژی‌های موادغذایی (٦)

جدول ۲- طبقه بندی آلرژی‌های موادغذای[34]ی (۵)

زیرنوع[35]	شیوع[36]	گروه‌سنی درگیر[37]	آلرژن‌های معمول[38]	علایم غیرمعمول[39]	تشخیص[40]	درمان[41]
آلرژی غذایی وابسته به [42]ایمونوگلوبولین E						
بدون زیرنوع[43]	۱۰-۰/٤٪	کودکان بیشتر از بالغین	شیر، تخم مرغ، گندم، سویا، بادام زمینی، آجیل	خارش، کهیر، آنژیوادم، درد شکم، استفراغ، خس خس	سطح سرمی ایمونوگلوبولین E، SPT[44] و OFC[45]، تست RAST[46]	استاندارد: خودداری از مصرف موادغذایی آلرژی‌زا و اقدامات پزشکی

34
35 Subtype
36 Prevalence
37 Age group affected
38 Common allergens
39 Usual symptoms
40 Diagnosis
41 Treatment
42 LgE-mediatated food allergy
43 No subtype
44 Skin prick test
45 Oral food challenge
46 Radioallergosorbent test

زیرنوع[۳۵]	شیوع[۳۶]	گروه‌سنی درگیر[۳۷]	آلرژن‌های معمول[۳۸]	علایم غیرمعمول[۳۹]	تشخیص[۴۰]	درمان[۴۱]
			درختی، صدف و ماهی	سینه، کاهش فشار خون		فوری تحقیقات: OIT[۴۷]، SLIT[۴۸]، EPIT[۴۹] اومالیزوماب[۵۰]
آلرژی غذایی ترکیبی وابسته به ایمونوگلوبولین E و غیر وابسته به آن[۵۱]						
آلرژی غذایی وابسته به التهاب پوست[۵۲] آتوپیک[۵۳]	۲۷-۳۷٪ از بیماران با درماتیت‌آتوپیک. ۱۴-۲۷٪ از بیماران با درماتیت آتوپیک خود اظهاری	کودکان بیشتر از بالغین	شیر، تخم مرغ، گندم، سویا، بادام زمینی، آجیل درختی، صدف و ماهی	تشدید التهاب پوست با مصرف ماده-غذایی آلرژی‌زا (علاوه بر علایم معمول آلرژی غذایی وابسته به ایمونوگلوبولین E)	سطح سرمی ایمونوگلوبولین E، SPT و OFC، تست RAST	استاندارد: خودداری از مصرف موادغذایی آلرژی‌زا تحقیقات: OIT، SLIT، EPIT و اومالیزوماب
EoE[۵۴]	بیش از ۵۰ بیمار در هر ۱۰۰ هزار نفر	کودکان و بالغین (۳:۱ مرد به زن)	شیر، گندم، تخم مرغ، گوشت، سویا و مرغ	استفراغ، ناتوانی در رشد، دشواری در بلع[۵۵]، فشار غذایی و تپش قلب	بیوپسی از مری نشان دهنده تراوش ائوزینفیل پس از ۳-۲ ماه از مصرف مهار کننده پمپ پروتون برای از بین بردن بیماری رفلاکس معده-مری به عنوان عامل بیماری	استاندارد: استروئیدهای معمول و یا خودداری از مصرف ماده‌غذایی آلرژی‌زا
سایر اختلالات گوارشی ائوزینوفیلیک	نادر	EC[۵۷]: نوزادان، EG[۵۸]: بالغین	EC: شیر و سویا EG: احتمالا شیر، سویا، تخم	علایم باتوجه به منطقه درگیر و لایه درگیر (مخاطی،	افزایش تعداد ائوزینوفیل در بیوپسی گوارشی، ائوزینوفیل در آسیب در صورتی	استاندارد: استروئید برای EC و EG. خوددرای از مصرف مواد آلرژی‌زا

47 Oral immunotherapy
48 Sublingual immunotherapy
49 Epicutaneous immunotherapy
50 Omalizumab
51 Mixed lgE – and cell – mediated food allergy
52 Dermatitis
53 Food-allergy Associated atopic dermatitis
54 Eosinophilic oesophagitis
55 Dysphagia
56 Other eosinophilic gastrointestinal disorders (EC, EG or EGE)
57 Eosinophilic colitis
58 Eosinophilic gastritis

زیرنوع[۳۵]	شیوع[۳۶]	گروه‌سنی درگیر[۳۷]	آلرژن‌های معمول[۳۸]	علایم غیرمعمول[۳۹]	تشخیص[۴۰]	درمان[۴۱]
		بیشتر از کودکان، EGE[۵۹]: بالغین	مرغ، آجیل، صدف و گوشت قرمز؛ EGE: سبب شناسی وابسته به آلرژی غذایی ندارد	عضلانی یا سروزی) متفاوت است	که لایه سروزی درگیر شده باشد. سایر دلایل افزایش ائوزینوفیل باید رد شود	
آلرژی غذایی مستقل از ایمونوگلوبولین E [۶۰]						
FPIES[۶۱]	داده‌های کم: در یک مطالعه ۰/۳۴٪ از نوزادان با FPIES به شیر گاو	نوزادان و کودکان	شیر، سویا، برنج، جو دوسر و تخم مرغ	مواجه متناوب با ماده آلرژی‌زا: استفراغ شدید. مواجه طولانی مدت با ماده آلرژی‌زا : استهال و کاهش رشد	جلوگیری از ماده آلرژی‌زا غذایی و چالش غذایی	استاندارد: خوددرای از ماده آلرژی‌زا
FPIP[۶۲]	داده‌های کم: در یک مطالعه ۰/۱۶٪ از نوزادان با FPIP به شیر گاو	نوزادان	شیر، سویا، گندم و تخم مرغ	خونریزی مقعدی	جلوگیری از ماده آلرژی‌زا غذایی و چالش غذایی	استاندارد: خوددرای از ماده آلرژی‌زا
FPE[۶۳]	داده‌های محدود	نوزادان و کودکان کم سن	شیر، سویا، گندم، و تخم مرغ	چربی در مدفوع ناشی از سوء جذب، استهال و مشکل رشد	جلوگیری از ماده آلرژی‌زا غذایی و چالش غذایی همراه با بیوپسی از ژئوژنوم نشان دهنده آتروفی ویلی‌های روده و هایپرپلازی کریپت‌های روده	استاندارد: خوددرای از ماده آلرژی‌زا [۶۴]

59 Eosinophilic gastroenteritis
60 Non-lgE-mediated food allergy
61 Food protein-induced enterocolitis syndrome
62 Food protein-induced proctocolitis
63 Food protein enteropathy

در سطح جهانی، صنعت فراوری موادغذایی تأثیر اقتصادی قابل توجهی دارد و با افزایش جمعیت، تقاضا برای غذاهای فراوری شده همچنان در حال افزایش است. برخی مصرف کنندگان غذاهای فراوری شده را به دلایل زیادی خریداری می‌کنند: ۱) بهبود کیفیت ماده‌غذایی مانند طعم، بافت، طعم، رنگ.۲)حفظ و بهبود ایمنی ماده‌غذایی. ۳) راحتی، لذت و تنوع. ٤) بدست آوردن یا تولید محصولات جانبی مفید. ۵) افزایش فروش و یا درآمد. علاوه بر فراوری موادغذایی صنعتی، مقدار قابل توجهی از ماده‌غذایی توسط مصرف کنندگان در خانه و در محیط‌های سازمانی فراوری می‌شود. انتخاب روش فرآیند می‌تواند تحت تأثیر زیرساخت‌های موجود، نوع محصول، مقیاس فرآیند، ترجیح مصرف کننده، خصوصیات‌های حسی محصول باشد (۱).

روش‌های مختلف فراوری موادغذایی: فراوری موادغذایی می تواند با تغییر خواص ماده غذایی، آن را ایمن تر کند. علاوه بر این، ممکن است ماندگاری موادغذایی را نیز افزایش دهد. روش‌های مختلف فرآیند به‌عنوان مثال، فیزیکی، شیمیایی یا بیوشیمیایی ممکن است بر آلرژی‌زایی محصول غذایی تأثیر بگذارد. روش‌های فراوری موادغذایی ممکن است کاهش، افزایش یا گاهی اوقات هیچ تاثیری بر پتانسیل آلرژی‌زایی ماده‌غذایی نداشته باشد. علاوه بر این، گاهی اوقات فرآیند ممکن است منجر به تشکیل آلرژن‌های کاملاً جدیدی شود که به عنوان نئوآلرژن‌ها[52] یا نئوآنتی‌ژن‌ها[53] شناخته شوند و باعث افزایش آلرژی ماده‌غذایی فراوری شده می‌شوند. به‌طورکلی، معمولا حذف کامل آلرژن‌ها از ماده‌غذایی از طریق فراوری مواد غذایی امکان‌پذیر نیست، بنابراین، ترکیبی از روش‌های مختلف فراوری را می‌توان در کنار هم به عنوان گزینه بهتری مورد استفاده قرار داد. فرآیندهای پرتودهی، انجماد، خشک کردن، تخمیر، پروتئولیز آنزیمی و عملیات حرارتی نمونه‌هایی از روش‌های فراوری موادغذایی هستند (۷)، همچنین قابل ذکر است که تاثیر گرمایش اهمی به عنوان یک فرآیند نگهداری، به دسترسی گرما به آن نقطه ماده غذایی و حفظ دمای خاصی درهر نقطه از غذا برای مدت زمان کافی جهت غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد. خواص فیزیکی-شیمیایی محصول برای دسترسی به شرایط گرمایشی یکنواخت بسیار مهم هستند. از آن‌جا که قدرت میدان الکتریکی اعمال شده کم است، عمدتا اثرات حرارتی وارد عرصه می‌شوند. علاوه بر اثرات حرارتی گرمایش اهمی، توجه به واکنش‌های الکتروشیمیایی بالقوه در سطح تماس بین الکترودها و ماده‌غذایی و همچنین اثرات غیرحرارتی میدان الکتریکی، بسته به شرایط فرآیند، ضروری است. بنابراین، کنترل فرآیند برای جلوگیری از چنین اثراتی که گاهی اوقات نامطلوب است، بسیار مهم است (۱).

فرآیند پرتودهی شامل قرار گرفتن ماده‌غذایی در معرض اشعه ایکس، پرتوهای گاما یا الکترون‌ها برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها و بهبود ماندگاری است. شرایط بهینه برای رشد میکروبی بالاتر از ۱۰ درجه سانتیگراد است. بنابراین، انجماد محصولات موادغذایی معمولاً برای کاهش فساد و جلوگیری از رشد میکروبی انجام می‌شود. خشک کردن یکی از قدیمی‌ترین روش‌هایی است که برای نگهداری موادغذایی استفاده می‌شود. علاوه بر این، خشک کردن ماده‌غذایی، ذخیره‌سازی و حمل و نقل را در مقایسه با سایر روش‌های فرآیند آسان‌تر و کم هزینه‌تر می‌کند. تخمیر غذا می‌تواند منجر به افزایش خاصیت

[52] Neoallergens
[53] Neoantigen

مغـذی و طـول عمـر آن شـود. از آن‌جـایی کـه بـه آلرژی‌زایی محصولات ماده‌غـذایی مربـوط مـی‌شـود، هیـدرولیز آنزیمـی و عملیـات حرارتـی معمولـاً از روش‌هایی برای به حداقل رساندن پتانسیل آلرژی‌زایی موادغذایی استفاده می‌شود. علاوه بر این، در هیدرولیز آنزیمی، پروتئین غذا توسط عملکرد انحصـاری و یـا متوالی آندوپروتئازها[54] (آلکالـاز[55]) و اگزوپروتئازهـا[56] هیدرولیز می‌شود تـا پتانسـیل آلـرژی‌زایـی را کـاهش دهد. عملیات حرارتی می‌تواند ارزان‌ترین و آسان‌ترین راه برای کاهش آلرژن پروتئین‌های ماده‌غذایی باشد.

همچنین، عملیات حرارتی شامل استفاده از دمـای بالا است کـه میکروارگانیسـم‌ها را از بـین مـی‌بـرد و آنزیم‌ها را غیرفعال می‌کند تا از ایمنـی غـذا اطمینـان حاصل شود. بلانچ کـردن، پاسـتوریزه کـردن، کنسـرو کردن، اتوکلاو کردن، بخارپز کردن، جوشاندن، برشـته کردن، سرخ کردن و حرارت دادن با مایکروویو برخی از روش‌های رایج عملیات حرارتی هستند که امـروزه مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷). همچنین هنوز چنـین نتیجه گیری اثبات نشده اسـت کـه عملیـات حرارتـی ارزان تر ین و آسان ترین راه کاهش آلرژن هـا باشـد هم از نظر کارایی و هم از نظر هزینـه ای. بـه علـاوه، فرآیند اولتراسوند یک فناوری سازگار با محیط زیست است که بسیار کارآمد و ملایم است که نه تنها کارایی فرآیند و کیفیت محصول را بهبود می‌بخشد، بلکـه در هزینه نیز صرفه‌جویی می‌کند (۸).

اثر فرآیندهای حرارتی بـر آلرژن‌هـا: همـانطور کـه گفته شد فرآیند حرارتی می‌توانـد بـا ایجـاد تغییـرات شیمیایی و همچنین تغییـرات در سـاختار پروتئینـی و حلالیت ماده‌غذایی، بـر آلـرژی‌زایـی آلـرژن آن تـأثیر بگذارد. از طریق پیداش نئوآلرژن ها. با توجه به شـیوع بالای آلرژی به حبوبات تلاش‌های متعـددی بـرای بـه حـداقل رسـاندن پیونـدهای خـاص آلـرژی‌زای پروتئین‌های حبوبات انجام شده است. همانگونـه کـه بالاتر ذکر شـد عملیـات حرارتـی تـاثیر مثبـت قابـل توجهی بر آلرژی زایـی پـروتئین‌هـا نـدارد و در اکثـر گزارشات حتی باعث افزایش خاصـیت آلـرژی زایـی شده است. از طریق پیداش نئوآلرژن‌ها به نظر می‌رسد تا حدودی، فرآیند حرارتـی روشـی مـوثر در کـاهش مشکل آلرژی‌زایی مرتبط با بیشتر آلرژن‌های حبوبـات باشد. فرآیند حرارتـی مـی‌توانـد خـواص فیزیکـی و ایمونولوژیـک پـروتئین را تحـت تـاثیر قـرار دهـد، می‌تواند ساختار، عملکـرد، حلالیـت، قابلیـت هضـم، اپی‌توپ‌هـای اتصـال بـه ایمونوگلوبـولین E و پاسـخ سلول‌هـای T را تغییـر دهـد (۱). درضـمن تـاثیر آن ممکن است به دما، مـدت زمـان فرآینـد، نـوع روش عملیات حرارتی مورد استفاده خشک (آون گذاری) یا مرطوب ، بستگی داشته باشد. همچنین بررسی‌ها نشان داده است در مورد بهبود خواص مـواد آلـرژی‌زدایـی شده نیز عملیات حرارتی رطوبتی موثر می‌باشد (۹).

مدت زمان عملیات حرارتی و دما بسـته بـه نـوع پروتئین تأثیرات متفاوتی بر آنتی‌ژن‌هـا دارد. در مـوارد کمی، اتوکلاو در مقایسه با جوشاندن موثرتر بـه نظـر مـی‌رسـد. در مـواردی نیـز، حـرارت‌دهـی بوسـیله مایکروویو نسبت به سایر روش‌های عملیات حرارتی مؤثرتر واقع شده است (۱۰). مطالعه انجام شده توسط ماندولت و همکاران (۲۰۰۵) اثر متضاد برشته کردن و جوشـاندن آلرژن‌هـای بـادام‌زمینی را نشـان داد زیـرا آلرژن‌ها با جوشاندن کاهش یافتند در حالی که برشـته کردن پتانسیل آلرژی Ara h 1 و Ara h 2 را افزایش داد. افزایش آلرژی‌زایی بادام‌زمینی هنگام برشته کـردن ممکن است به دلیل تغییرات ساختاری در آلرژن‌هـای Ara h باشد (۱۱).

[54] Endo Proteases
[55] Alcalase
[56] Exoproteases

یانگ و همکاران (۲۰۱۸) برای روشن شدن ارتباط بین عملیات حرارتی و آلرژی‌زایی Ara h 1، تغییرات ساختاری آلرژن را تجزیه و تحلیل کردند. دریافتند با جوشاندن می‌توان ساختار سه‌بعدی Ara h 1 را تغییر داد. Ara h 1 بادام‌زمینی پخته شده در طول دوره‌های مختلف جوش، تخریب و تجمع را نشان می‌دهد (۱۲). کارادو و همکاران (۲۰۱۱) پروتئین‌های مقاوم در برابر حرارت را هم در عصاره نخود خام و هم در عصاره‌های پخته شده را بررسی کردند. دریافتند که جوشاندن عصاره نخود به مدت ۳۰ دقیقه هیچ تاثیری بر پروتئین‌های واکنش‌پذیر نداشت. با این حال، جوشاندن به مدت ٦۰ دقیقه پروتئین‌های واکنش‌پذیر را تا حدودی کاهش داد. اتوکلاو کردن به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱/۲ اتمسفر برای کاهش تعداد پروتئین‌های آلرژی‌زا کافی بود (۱۳).

کارادو و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که پروتئین عدس پس از جوشیدن، نئوآلرژن‌هایی را در محدوده ۱۲ تا ۱٦ کیلو دالتون تولید می‌کند، در حالی که شدت باندهای پروتئینی در محدوده ۲۵ تا ٤۵ کیلو دالتون کاهش می‌یابد. با این حال، آلرژن اصلی یعنی Len c 1 پس از جوشاندن ظرف ۳۰ دقیقه از بین می‌رود، اما هیچ تاثیری بر پروتئین‌های آلرژی‌زا ندارد (۱٤). کوماری و همکاران (۲۰۰٦) دریافتند برشته کردن ماش سیاه به مدت ۱۵ دقیقه تعداد پروتئین‌های واکنش‌گر را تا ۱۷ عدد افزایش می‌دهد. برشته کردن منجر به تشکیل برخی پروتئین‌های آلرژی‌زای جدید شد، در حالی که تعداد کمی از پروتئین‌های آلرژی‌زای اولیه ناپدید شدند. با این حال، جوشاندن ماش سیاه به مدت ۱۵ دقیقه تعداد پروتئین‌های واکنش‌گر را به ۱۱ پروتئین آلرژی‌زای ٥٦، ٤۷، ٤۳، ۳۰، ۲۸، ۲۵، ۲۳، ۲۰، ۱۸، ۱۲ و ۷ کیلو دالتون کاهش داد. هنگامی که ماش سیاه به‌مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد، تنها ۹ پروتئین آلرژی‌زا قابل شناسایی بود و پروتئین‌های ٥٦ و ۲۸ کیلو دالتون قابل ردیابی نبودند (۱۵).

کارادو و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند با افزایش زمان جوش، کاهش پروتئین‌های آلرژی‌زا در سویا اتفاق میفتد. علاوه بر این، تیمار کاهش فشار کنترل شده فوری [57] در ۳ بار به مدت ۱ و ۳ دقیقه منجر به تغییر کمی در پروتئین‌های واکنش‌پذیر موجود در سویا شد، در حالی که کاهش قابل‌توجهی در پروتئین‌های واکنش‌گر در تیمار کاهش فشار کنترل شده فوری به میزان ٦ بار به مدت ۳ دقیقه مشاهده شد (۷).

پروتئین‌های سفیده تخم مرغ، اوآلبومین[58]، اوموکوئید[59]، اوترانسفرین[60] و لیزوزیم[61] آلرژن های شناخته شده هستند. ژانگ و مین (۲۰۰۲) نشان دادند که کربوکسی متیلاسیون و عملیات حرارت‌دهی منجر به کاهش ۲۲/٦، ۱۸/٦ و ۲۳/۸٪ در اتصال ایمونوگلوبولین E سرم بیماران به اوترانسفرین، اوموکوئید و لیزوزیم شد. اگر چه این مطالعات در شرایط آزمایشگاهی انجام شد، داده‌ها نشان می‌دهند که ترکیب پروتئین و برهمکنش آن با عوامل محیطی در ارزیابی پتانسیل آلرژی‌زایی پروتئین‌های مورد نظر تاثیرگذار هستند (۱٦).

اثر فرآیند اولتراسوند روی آلرژن‌ها: فرآیند اولتراسوند یک فناوری نوظهور است که به‌طور گسترده‌ای برای فراوری و نگهداری موادغذایی استفاده می‌شود. این فرآیند با موفقیت برای غیرفعال کردن آنزیم‌ها، کمک به استخراج مواد، همگن کردن امولسیون‌ها، و تسریع فرآیندهای بهبود خواص ماده غذایی، رسیدن و پیری میوه‌ها استفاده می‌شود.

[57] Instant Controlled Pressure-Drop (DIC)
[58] Ovalbumin (OA)
[59] Ovomucoid (OVM)
[60] Ovotransferrin (OTf)
[61] Lysozyme (Lyz)

اولتراسوند با شدت بالا توسط امواج مکانیکی در محدوده فرکانس ۱۰۰- ۲۰ کیلوهرتز انجام می‌شود. انرژی بالا با افزایش تشکیل حباب‌های گازی در مواد-غذایی باعث تغییرات فیزیکی و شیمیایی می‌شود و منجر به فشردگی و تجزیه‌ی متناوب حباب‌ها می‌شود تا در نهایت از هم‌پاشیدگی آن‌ها در اندازه‌ی بحرانی هر حباب رخ دهد (۸).

افزایش دما و فشار (به‌ترتیب تا ۵۰۰۰ کلوین و ۱۰۰۰ اتمسفر) در مجاورت حباب‌های از هم گسیخته، مبنایی برای تغییر ترکیب آلرژن‌ها و واکنش پذیری آن‌ها است. ساختار پروتئین‌های ماده‌غذایی آلرژی‌زا به طور متفاوتی با باز شدن، تجمع، اتصال متقابل و گاهی اکسیداسیون و گلیکوزیلاسیون[62] با روش‌های مختلف فرآیند تغییر می‌کند. تغییرات ساختاری از طریق اختلال در اپی‌توپ‌های خطی یا ساختاری در پروتئین‌ها با روش‌های فراوری می‌تواند مستقیماً بر آلرژی‌زایی محصولات غذایی تأثیر بگذارد. اپی‌توپ‌های خطی تحت تأثیر هیدرولیز اسیدی یا آنزیمی قرار می‌گیرند، در حالی که اپی‌توپ‌های ساختاری می‌توانند با باز شدن یا تجمع پروتئین‌های آلرژی‌زا آشکار یا پنهان شوند.آلرژی‌زایی و یکپارچگی آنتی‌ژنی گاهی اوقات بدون شفاف سازی مناسب توسط بعضی از محققین استفاده می‌شود. ساختار اپی‌توپ‌ها توسط آنتی‌بادی‌های ایمونوگلوبولین G [63] یا ایمونوگلوبولین E شناخته می‌شوند، درحالی که آلرژی‌زایی عبارت است از توانایی پروتئین‌های غذایی برای تحریک یک حساسیت آلرژیک. فرآیند حرارتی و غیرحرارتی پروتئین‌های آلرژی‌زا را اصلاح می کند و بر توانایی آنتی‌بادی‌ها برای اتصال به پروتئین‌های اصلاح شده تأثیر می‌گذارد و احتمال ایجاد یک واکنش آلرژیک را به خصوص توسط ایمونوگلوبولین E کاهش می‌دهد. اصلاح پروتئین‌ها توسط اولتراسوند در درجه اول به پدیده حباب‌زایی یا کاویتاسیون[64] نسبت داده می‌شود. اثرات کاویتاسیون ایجاد شده توسط فروپاشی حباب‌ها ممکن است مسئول اصلاح ساختاری پروتئین‌ها و تغییر عملکرد آن‌ها باشد.

به‌طور خلاصه، امواج صوتی تولید شده توسط اولتراسوند از طریق یک محیط عبور می‌کنند که منجر به یک سری رویدادهای فشرده سازی و پراکنده شدن می‌شود. نیروهای جذبی بین مولکول‌ها در فاز مایع در هنگام پراکنده شدن، در سطوح توان بالاتر بیشتر می‌شود و به دلیل کاویتاسیون، حباب‌هایی را تشکیل می‌دهند. تداخل هر حباب با حباب مجاور خود باعث فروپاشی می‌شود و آزاد شدن انرژی باعث افزایش دما و فشار در محیط می‌شود. در شدت‌های کم (یا فرکانس های بالا)، جریان آکوستیک[65] (جریان صوتی حرکت و اختلاط درون سیال بدون تشکیل حباب) مکانیسم اصلی است. شدت‌های بالاتر (فرکانس‌های پایین) به‌دلیل تولید، رشد و فروپاشی حباب‌های بزرگ که باعث آزاد شدن انرژی‌های بالاتر می‌شود، باعث ایجاد کاویتاسیون صوتی می‌شود (۳).

لی و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر قدرت امواج اولتراسوند را بر آلرژی زایی و ویژگی های بافتی میگوی خام و آب پز بررسی کردند. تیمار اولتراسوند به طور قابل توجهی آلرژی زایی میگوی پخته شده را در مقایسه با میگوی خام کاهش داد و موجب کاهش اتصال IgE به هر دو عصاره پروتئین خام میگو و تروپومیوزین جدا شده، در نتیجه منجر به کاهش قابل توجهی در حساسیت زایی شد. این یافته‌ها با آنالیز الایزا نیز تأیید شد (۱۷).

قابل ذکر است که در بررسی استانیک و همکاران (۲۰۱۲) استفاده از امواج فراصوت (در فرکانس ۲۰

[62] Glycosylation
[63] Immunoglobulin G
[64] Cavitation
[65] Acoustic

کیلوهرتز و دامنه ۱۲۵ میکرومتر به مدت ٦۰ دقیقه) تأثیر مثبت زیادی بر فراوری لبنیات داشت زیرا ارزش تغذیه‌ای شیر را حفظ کرد و پتانسیل آلرژی‌زایی بتا-لاکتوگلوبولین را افزایش نداد (۸).

چوداری و همکاران (۲۰۱۳) کاهش ٢٤ درصدی حساسیت زایی پروتئین سویا را با استفاده از تیمار فراصوت با شدت بالا توسط یک پردازنده اولتراسونیک ۳۷ کیلوهرتز به مدت ۱۰ دقیقه گزارش کردند. تیمار اولتراسوند در ۳۷ کیلوهرتز منجر به کاهش حساسیت زایی پروتئین‌های سویا با برهم زدن ساختار ثانویه پروتئین ها شد (۱۸).

همچنین، در مطالعه لی و همکاران (۲۰۱۳) تیمارهای اولتراسوند نه تنها میزان پروتئین‌های محلول را افزایش داد، بلکه دو سطح آلرژن اصلی Ara h 1 و Ara h 2 را در بادام زمینی کاهش داد و منجر به مهار خاصی در اتصال ایمونوگلوبولین E شد. درضمن ترکیبی از تیمار اولتراسوند و تیمار آنزیمی متوالی مغز بادام زمینی بوداده، تقریباً Ara h 1 و Ara h 2 را کاملاً حذف کرد و به طور قابل توجهی اتصال ایمونوگلوبولین E عصاره بادام زمینی را کاهش داد (۳).:

اولترافیلتراسیون[٦٦]: فرآیندهای غشایی، مانند اولترافیلتراسیون (غشای مولکولی کات آف ۱۰ کیلودالتون) به طور گسترده در مقیاس صنعتی استفاده می‌شود. فرآیندهای غشایی با مفاهیم شیمی سبز[٦٧] همسو هستند، یعنی سازگار با محیط زیست هستند، باقیمانده‌های مضر تولید نمی‌کنند، انرژی کم مصرف می‌کنند و به آسانی قابل استفاده هستند. به‌عنوان مثال در ارتباط با اولترافیلتراسیون، برنا و همکاران (۲۰۰۰) از وسترن بلات و مهار ایمونوبلات به‌عنوان ابزار ارزیابی استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که آلرژن‌های هلو پایدار هستند (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ و ۳۰ دقیقه). همچنین آن‌ها بیان کردند که اولترافیلتراسیون (با کات آف[٦٨] ۱۰ کیلو دالتون) می‌تواند پلی پپتیدهای آلرژی‌زا با جرم مولکولی کم (١٤ کیلو دالتون) را حذف کند (۱۹).

برنا و همکاران (۲۰۰۰) از وسترن بلات و مهار ایمونوبلات به‌عنوان ابزار ارزیابی استفاده کردند و اشاره کردند اولترافیلتراسیون (توده مولکولی اسمی غشایی با قطع ۱۰ کیلو دالتون) می تواند پلی پپتیدهای آلرژی زا با جرم مولکولی کم (جرم مولکولی ١٤ کیلو دالتون) در میوه هلو را حذف کند (۲۰).

با توجه به پژوهش ون برستیجن و همکاران (١٩٩٤) به نظر می رسد که اولترافیلتراسیون هیدرولیزها برای به دست آوردن یک محصول ضد حساسیت ضروری است. حداقل جرم مولکولی برای ایجاد ایمنی زایی و حساسیت زایی هیدرولیزهای پروتئین آب پنیر بین ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ دالتون به نظر می رسد، بنابراین، مقدار کات آف وزن مولکولی فیلترهای مورد نیاز باید در این محدوده باشد. اگرچه شواهدی مبنی بر اینکه پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده از نظر تغذیه ای پایین تر از کازئین است وجود نداشت، طعم کمی تلخ ممکن است مصرف غذا را کاهش دهد (۲۱).

تابش گاما[٦٩]: تابش گاما به طور گسترده‌ای برای نگهداری موادغذایی به ویژه گیاهان، ادویه ها و چای استفاده شده است. میکروب‌ها و آنزیم‌ها را می‌توان با استفاده از دوزهای متفاوت تابش گاما غیرفعال کرد. پروتئین‌هایی که در معرض تابش قرار گرفته‌اند، تغییرات ساختاری متمایز ناشی از تجمع، قطعه قطعه شدن و اصلاح اسیدهای آمینه را نشان می‌دهند که بر حلالیت پروتئین‌ها، ساختار ثانویه و سوم آن‌ها و

[66] Ultrafiltration
[67] Green chemistry
[68] Cut-off
[69] Gamma radiation

واکنش پذیری ایمنی آن‌ها تأثیر می‌گذارد. مشخص شده که بخش اصلی ساختار آنتی‌ژنی وابسته به ترکیب پروتئین در اثر تابش از بین می‌رود، اما برخی خصوصیات آنتی‌ژنیسیته[1] (توانایی یک آنتی‌ژن برای القای پاسخ ایمونولوژیک زمانی که بدن انسان با آن مواجه می شود) ناشی از اپی‌توپ‌های وابسته به توالی حتی در دوزهای بالاتر تابش نیز باقی می‌ماند. در برخی موارد، تابش، آلرژی‌زایی را افزایش داده است، که احتمالاً به دلیل قرار گرفتن در معرض اپی‌توپ‌های خطی می‌باشد (۲۲).

در مطالعه یعقوبی نیا و همکاران (۲۰۱۹)، پسته با استفاده از پرتودهی گاما در دوزهای ۱، ۱۰ و ۱۰۰ کیلوگری پرتودهی شد. میزان اتصال آنتی‌بادی‌های موش‌ها و آنتی‌بادی‌های انسانی به آلرژن‌های عصاره پسته از طریق آنالیز وسترن بلات مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها یک رابطه معکوس را بین سرعت اتصال آنتی‌بادی‌ها به آلرژن‌های پسته و دوز تابش گاما نشان می‌دادند. با وجود این یافته‌های امیدوارکننده، نتایج ارزیابی حسی نشان داد که تابش گاما باعث تغییرات نامطلوب در ویژگی‌های حسی پسته، به‌ویژه در دوز ۱۰۰ کیلوگری می‌شود. به طور کلی به نظر می‌رسد پرتودهی گاما روشی موثر در کاهش آلرژی‌زایی پسته باشد (۲۲).

در مطالعه لی و همکاران (۲۰۰۱) با هدف ارزیابی کاربرد پرتودهی گاما در مواد غذایی به عنوان روشی برای کاهش حساسیت به شیر انجام شد. آلفا-کازئین شیر گاو و بتا-لاکتوگلوبولین شیر گاو به عنوان پروتئین شیر استفاده شد. با استفاده از ایمونوگلوبولین IgE و IgGهای خرگوش حساس به آلفا-کازئین و بتا-لاکتوگلوبولین شیر، تغییرات حساسیت‌زایی و آنتی‌ژنی پروتئین‌های تابش‌شده مشاهده شد. آلرژی‌زایی و آنتی‌ژنی پروتئین های تحت تابش با شیب های مختلف منحنی های مهار تغییر یافت. ناپدید شدن نوار در الکتروفورز ژل سدیم دودسیل سولفات-پلی آکریل آمید و افزایش کدورت نشان داد که حلالیت پروتئین ها در اثر تابش کاهش می‌یابد و این کاهش ممکن است ناشی از تجمع پروتئین‌ها باشد. این نتایج نشان داد که اپی توپ‌های روی آلرژن های شیر از نظر ساختاری با تابش گاما تغییر می‌کند (۲۳).

مطالعه بیون و همکاران (۲۰۰۰) به‌منظور ارزیابی پرتودهی گاما در مواد غذایی به‌عنوان روشی برای کاهش حساسیت به میگو بدون عوارض جانبی انجام شد. پروتئین پایدار حرارتی میگو[2] (HSP) جدا شد و در ۰، ۱، ۳، ۵، ۷، یا ۱۰ کیلو گری در شرایط محلول (یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و همینطور میگوی تازه تحت تابش گاما قرار گرفت. توانایی ایمونوگلوبولین E بیماران دارای حساسیت به میگو برای اتصال به HSP تحت تابش، وابسته به دوز کاهش می یابد. مقدار HSP دست نخورده در محلول پرتودهی شده با تابش گاما بسته به دوز کاهش یافت. بسته به دوز، توانایی اتصال ایمونوگلوبولین E به آلرژن‌ها در عصاره‌های میگوی تحت تابش کاهش یافت (۲٤).

موریاما و همکاران (۲۰۱۳) سطوح آلرژن های غذایی در سویای پرتودهی شده با گاما (۰، ۲، ۵، ۵، ۷، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری) را مورد بررسی قرار دادند. پس از ۳ ماه نگهداری، برخی از پروتئین‌ها با تابش در دوزهای بالا تخریب شدند. آنالیزهای الایزا نشان داد که تغییر قابل توجهی به جز کاهش در مهارکننده تریپسین سویا در محتوای آلرژن وجود ندارد (۲۵). با توجه به مرور تحقیقات انجام شده میتوان نتیجه گرفت تابش اشعه گاما تا حدی ممکن

[1] Antigenicity

[2] Heat shock protein

است بتواند در شرایط مطلوب برخی از آلرژن‌های موادغذایی را کاهش دهد.

تخمیر: فرآیند تخمیر می‌تواند DNA را تجزیه کرده و پروتئین‌ها را هضم کنند. با این حال، اطلاعات علمی در مورد اثرات تخمیر بر آلرژن‌های ماده‌غذایی نسبتاً اندک است (۱). به عنوان نمونه‌ای از تخمیر، هیدرولیز پروتئین‌های شیر پس از تخمیر توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک[1] ممکن است اثرات مهمی بر قابلیت هضم شیر و تولید پپتیدهای فعال زیستی داشته باشد. علاوه بر این، پروتئولیز می‌تواند برخی از اپی‌توپ‌ها را از بین ببرد و در نتیجه آلرژی به شیر را کاهش دهد. اخیراً، علاقه زیادی به استفاده از باکتری‌های اسید-لاکتیک و خواص تعدیل کننده ایمنی آن‌ها مشاهده شده است. همچنین، علاوه بر باکتری‌های اسیدلاکتیک، پروتئازهای سایر میکروارگانیسم‌ها، حیوانات یا گیاهان نیز برای هیدرولیز پروتئین‌های شیر و کاهش ویژگی آنتی‌ژنی آن‌ها استفاده می‌شوند (۲۶).

ایهن و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که تخمیر لاکتوباسیلی شیر باعث پروتئولیز بتا-لاکتوگلوبولین[2]، یکی از پروتئین‌های شناخته شده‌ی آب پنیر به عنوان یک آلرژن می‌شود، اما در مقایسه با همتای خود از شیر پاستوریزه تخمیر نشده، اتصال ایمونوگلوبولین E را کاهش نمی دهد. با این حال، هیدرولیز تریپسین بتا-لاکتوگلوبولین به نظر می‌رسد به طور قابل توجهی اتصال ایمونوگلوبولین E را کاهش دهد (۲۷).

همچنین بو و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقات نتیجه گرفتند که تخمیر باکتری‌های اسید لاکتیک می تواند به طور قابل توجهی حساسیت‌زایی پروتئین‌های آب پنیر در شیر بدون چربی را کاهش دهد. سویه‌های ترکیبی L. هلوتیکوس [3] و S. ترموفیلموس[4] موثرترین در کاهش آنتی ژن آلفالاکتوآلبومین و بتالاکتوگلبولین بودند. اقدامات هم‌افزایی بین سویه‌های ترکیبی مشاهده شد. آنتی‌ژن‌های مذکوردر شش ساعت تخمیر و در روز صفر و پنج از ذخیره سازی سرد به مقدار کمتری کاهش یافتند (۲۸).

فرآیند پروتئولیز: فرآیند پروتئولیز برای کاهش آلرژی‌زایی موادغذایی مورد بررسی قرار گرفته است. فرآیند پروتئولیز بر اساس هضم آنزیمی پروتئین‌ها است که ممکن است باعث تخریب اپی‌توپ‌های آلرژی‌زا شود. به شرطی که ساختار اپی‌توپ یک ماده‌غذایی آلرژی‌زا شناخته شده باشد و یک پروتئاز خاص برای حمله انتخابی به اپی‌توپ در دسترس باشد، این فرآیند می‌تواند برای کاهش یا از بین بردن پتانسیل آلرژی‌زایی یک ماده‌غذایی خاص اعمال شود. چالش‌های مرتبط با این تکنیک عبارتند از ترکیب صحیح اپی‌توپ و پروتئاز، وجود اپی‌توپ‌های متعدد، تخریب ساختارهای پروتئینی دیگر که برای ویژگی های کیفی غذا مهم هستند و دسترسی به اپی‌توپ‌ها در پروتئین یا روی آن. برای مثال آرد گندم هیپوآلرژن با استفاده از برومیلین، پروتئازی که نزدیک دنباله‌ی پرولین را می‌شکافد و اپی‌توپ Gln-Gln-Gln-Pro-Pro متصل شونده به گلوتنین گندم را تجزیه می‌کند، تولید شد که از یک فرآیند آنزیمی سه مرحله ای به ترتیب از برومیلین، سلولاز و اکتیناز استفاده کردند که آرد گندم با میزان آلرژی‌زایی کم را ایجاد کرد (۲۹). با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در صورت حذف گلوتن برای بهبود خواص محصول فیزیکو شیمیایی، آرد ارزن و صمغ زانتان اضافه شد و موثر واقع شد. بنابراین، می‌توان از تاثیر افزودنی‌ها برای بهبود خواص هنگام حذف گلوتن استفاده کرد (۳۰).

سن و همکاران (۲۰۰۲) نقش ساختار پروتئین، به ویژه پیوندهای دی سولفیدی را در پایداری پروتئولیتیک Arah 2، یک آلرژن اصلی در بادام زمینی،

[1] Lactic acid bacteria (LAB)
[2] Beta-lactoglobulin
[3] L. helveticus
[4] S. thermophilus

نشان دادند. محققین گزارش دادند که پیوندهای دی سولفید دناتوره شده و کاهش می‌یابد، این محققان تغییرات قابل‌توجهی را در ساختار ثانویه Arah2 پس از کاهش پیوندهای دی سولفید مشاهده کردند. نشان داده شده است که حضور کربوهیدرات‌ها بر حساسیت‌زایی در شرایط آزمایشگاهی پروتئین‌های بادام‌زمینی تحت‌تأثیر پروتئولیز (پپسین، به دنبال آن مخلوط تریپسین/کیموتریپسین) تأثیر می‌گذارد (۳۱).

طبق تحقیقات ایون و همکاران (۲۰۱۷) در طی پنیرسازی، بخش پروتئین آب پنیر و دو آلرژن اصلی آن، آلفالاکتوآلبومین و بتالاکتوگلبولین، حذف می‌شوند. به‌طورکلی، کیموزین، αS1-CN را در چندین مکان در مراحل اولیه رسیدن هیدرولیز می‌کند. در مطالعات مربوط به رسیدن پنیر چدار، کمتر از ۱۵ درصد از αS1-CN اصلی پس از ۹۰ روز دست نخورده باقی ماند. پلاسمین، یک پروتئاز شیر محلی، اساسا β-CN را در طول پروتئولیز اولیه هیدرولیز می‌کند. همچنین مقداری از κ-CN که پس از انعقاد در پنیر باقی می ماند تا حد زیادی در مراحل اولیه رسیدن به پروتئولیز مقاوم است (۳۲). لازم است به این نکته توجه شود که در بسیاری از تحقیقات که از هیدرولیز پروتئین ها برای بهبود یا اصلاح خواص مختلف نظیر آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی یا تولید پپتید های زیست فعال استفاده می شود آلرژی‌زایی محصولات جدید نادیده گرفته می‌شود. در بسیاری از این تیمار های بخصوص هیدرولیز های ناکامل آلرژی زایی پروتئین‌های جدید افزایش می‌یابد.

خالص سازی[1]: محصولات غذایی ممکن است به طور طبیعی شامل آلرژن های ناشی از گرد و غبار، گرده گیاهان و حتی آلوده به میکروب ها و عومل بیماری‌زا باشند. پس برای از بین برد این عومل باید خالص سازی به خصوص در مورد روغن های گیاهی صورت گیرد. خالص سازی اغلب شامل فرآیند فیزیکی و یا شیمیایی یک ماده‌غذایی اساسی به منظور استخراج و یا خالص‌سازی ترکیبات خاص از غذا (مانند روغن‌های گیاهان یا لسیتین از دانه‌های سویا یا آفتابگردان) است. فرآیند خالص سازی یک محصول ماده‌غذایی را عاری یا تقریباً عاری از ترکیبات اولیه همراه می‌کند. در مورد روغن‌های گیاهی یا فرآورده‌های مشتق شده، فرآیند خالص سازی محصولات را عاری از پروتئین، کربوهیدرات، آب، خاکستر، فیبر و بیشتر مواد معدنی که به طور طبیعی همراه هستند، می‌کند. بسته به درجه خالص سازی، محصولات ممکن است حاوی مواد باقیمانده باشند یا نباشند.

روغن‌های گیاهی خالص سازی شده به صورت شیمیایی یا فیزیکی تولید می‌شوند. هر دو فرآیند معمولاً شامل حرارت دادن در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، عملیات اسیدی، خنثی سازی، سفید کردن و در نهایت بوزدایی در دماهای بین ۲۳۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد هستند. خالص سازی کامل روغن‌های مشتق شده از گیاه منجر به حذف تقریباً کامل پروتئین (که مسئول واکنش‌های آلرژیک است) می‌شود. داده‌های موجود نشان می‌دهد که روغن‌های اصلی خالص سازی شده (بادام زمینی، سویا، ذرت، آفتابگردان، پالم) واکنش‌های آلرژیک را در اکثریت قریب به اتفاق افراد مستعد تحریک نمی‌کنند و برای مصرف توسط افراد آلرژیک، بی‌خطر در نظر گرفته می‌شوند. با این حال، روغن‌های خالص سازی نشده و نیمه خالص سازی شده می‌توانند واکنش‌های آلرژیک را در افراد حساس تحریک کنند و واکنش‌های بیش دفاعی به روغن دانه ممکن است اتفاق بیفتد.

لسیتین سویا به طور گسترده‌ای به عنوان امولسیفایر و تثبیت کننده در صنایع غذایی و دارویی

[1] Purification

استفاده می‌شود. این ماده عمدتاً از سویا با فرآیندی نسبتاً آسان شامل تقطیر، استخراج آبی و سانتریفیوژ تولید می‌شود. چندین مطالعه نشان دادند که محتوای پروتئین باقیمانده موجود در بسیاری از لسیتین‌های تجاری موجود در سویا ممکن است پتانسیل آلرژی‌زایی را نشان دهد. بنابراین، ایمنی لسیتین و همچنین روغن دانه، عمدتا به حذف کامل پروتئین در طول فرآیند خالص سازی بستگی دارد (۳۳).

فرآیند فشار هیدرواستاتیک بالا[1]: فشار هیدرواستاتیک بالا را می‌توان برای تغییر خواص ساختاری موادغذایی به منظور بهبود کیفیت بافت اعمال کرد. فشار هیدرواستاتیک بالا، به‌عنوان یک فرآیند جدید غیر حرارتی، می‌تواند ساختارهای دوم، سوم و چهارم پروتئین‌ها را تغییر دهد و برخی از ساختارهای اپی‌توپ را تغییر دهد که می‌تواند آلرژی‌زایی را در موادغذایی کاهش دهد و خواص عملکردی پروتئین‌های غذایی را بهبود بخشد.

فرآیند فشار هیدرواستاتیک بالا با موفقیت برای تغییر ساختار آلرژن و در نتیجه کاهش فعالیت آلرژی‌زا در برنج استفاده شده است. هنگامی که فشار بالا (۱۰۰–۴۰۰ مگاپاسکال) به دانه‌های برنج غوطه‌ور شده در آب اعمال شد، پروتئین‌های با وزن مولکولی کم، از جمله آلرژن‌های اصلی برنج، آزاد شدند و هیچ تغییر ساختاری آشکاری در بدنه‌های پروتئینی مشاهده نشد. حذف آلرژن‌ها با فشار به تنهایی برای از بین بردن خاصیت آلرژی‌زایی کافی نبود. با این حال، آلرژی‌زایی محصول تقریبا به طور کامل با فشار در حضور آنزیم‌های پروتئولیتیک حذف شد (۳٤). البته تولید محصول بدون آلرژی از طریق این فرایند بسیار گران تمام می شود و فعلا در سطح آزمایشگاهی است.

[1] High hydrostatic pressure (HHP)

میدان الکتریکی پالسی[2]: میدان الکتریکی پالسی[3] به‌عنوان یک تکنیک نوظهور غیر حرارتی در صنایع غذایی برای حفظ یا حتی بهبود کیفیت ماده‌غذایی در نظر گرفته می‌شود. شدت میدان الکتریکی به‌طورکلی از ۰/۱ تا ۸۰ کیلو ولت بر سانتی‌متر برای یک ماده‌غذایی متغیر است. ماده غذایی در این روش بین دو الکترود قرار گرفته یا در محدوده زمانی نانوثانیه تا میلی‌ثانیه، از آن عبور می‌کند. میدان الکتریکی پالسی نه تنها برای غیرفعال کردن آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود، بلکه برای اصلاح ساختار پروتئین‌های غذایی به منظور ایجاد تغییرات در ویژگی‌های عملکردی آن‌ها نیز استفاده می‌شود. اگرچه مکانیسم‌های دقیق فرآیند میدان الکتریکی پالسی مشخص نیست، اما مشخص شده است که میدان الکتریکی پالسی منجر به دناتوره شدن و تغییرات ساختارهای دوم و سوم پروتئین‌ها در اثر یونیزه شدن گروه‌های شیمیایی خاص یا تخریب برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین آن‌ها می‌شود (۳۵).

یانگ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که تیمار میدان الکتریکی پالسی با شدت بالا در ۳۵–۲۵ کیلوولت بر سانتی‌متر برای ۱۸۰–۶۰ لیتر سفیده تخم مرغ به طور قابل توجهی، ساختارهایی مانند مارپیچ آلفا[4] و خواص ایمنی اوآلبومین موجود را تغییر داد (۳٦).

پلاسمای سرد[5]: پلاسمای سرد به عنوان یک فناوری غیر حرارتی جدید در نظر گرفته می‌شود که به دلیل مصرف انرژی کمتر و دمای پایین‌تر در مقایسه با سایر روش‌های فرآیند مرسوم عمدتاً در غیرفعال‌سازی میکروبی و آلودگی‌زدایی موادغذایی مورد توجه قرار گرفته است. سیستم فرآیند پلاسما عمدتاً از یک ژنراتور پلاسما با فرکانس بالا و الکترود سرامیکی تشکیل شده است. پلاسما به‌عنوان حالت چهارم ماده،

[2] Pulsed electric field
[3] Pulsed Electric Fields (PEF)
[4] Alpha Helix
[5] Cold plasma

گازی است که تا حدی یونیزه شده است که از گونه‌های فعالی مانند یون‌ها، فوتون‌های [1] ماورائ بنفش، الکترون‌ها، رادیکال‌های آزاد، مولکول‌ها و اتم‌های برانگیخته تشکیل شده است. این گونه‌های واکنش‌پذیر می‌توانند با پروتئین‌ها تعامل داشته باشند و ساختار آن‌ها را تغییر دهند.

ونکاتاراتنام و همکاران (۲۰۲۰) آرد بادام زمینی خشک و بدون چربی و بادام زمینی کامل را تحت تاثیر پلاسمای اتمسفر سرد با ولتاژ ۸۰ کیلوولت برای زمان‌های مختلف تیمار (۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠ دقیقه) تیمار کردند. نتایج نشان داد که میزان کاهش خاصیت آنتی‌ژنی آرد بادام زمینی بدون چربی و بادام زمینی کامل با روش تشخیص آلرژن الایزا[2] در مجاورت و واکنش با آلبومین سرم گاوی تا ٤٣ درصد بود، همچنین تغییرات ساختار ثانویه آلرژن‌های بادام زمینی نیز مشاهده شد (۳۷).

همچنین ونکاتاراتنام و همکاران (۲۰۲۰) مطالعه ای به منظور بررسی اثر پلاسمای سرد بر روی آلرژن های اصلی بادام زمینی (Ara h 1 و Ara h 2) انجام دادند. برای این منظور، آرد بادام زمینی خشک، کامل(WP) و آرد بادام زمینی بدون چربی(DPF) تحت یک تخلیه هوای اتمسفر با استفاده از راکتور پلاسمای سرد پین به صفحه برای مدت زمان‌های مختلف تیمار شدند. با افزایش قرار گرفتن در معرض پلاسما، تجزیه و تحلیل SDS-PAGE کاهش حلالیت پروتئین آلرژن های اصلی بادام زمینی را نشان داد. تغییرات در آلرژی‌زایی و ساختار Ara h 1 و Ara h 2 با استفاده از الایزا مورد بررسی قرار گرفت. الایزا در رقابت با پروتئین‌های خالص‌شده از WP یا DPF تیمار شده با پلاسما، آنتی‌ژنیسیته کاهش یافته را برای Ara h 1 و Ara h 2 نشان داد (۳۷).

در مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۲۱)، اثرات تیمار پلاسمای سرد اتمسفری[3] (ACP) بر ویژگی‌های ساختاری، فیزیکوشیمیایی و آلرژی‌زای ایزوله پروتئین سویا[4] (SPI) بررسی شد. پراکندگی SPI تحت تیمارهای ACP در فرکانس‌های مختلف (۸۰ تا ۱۰۰ هرتز) و مدت زمان (۱ تا ۱۰ دقیقه) قرار گرفت تا اثرات شرایط قرار گرفتن بررسی شود. تحت شرایط خاص (۱۲۰ هرتز، ۵ دقیقه)، سطح اتصال IgE SPI تا ۷۵٪ در مقایسه با شاهد کاهش یافت. تیمار متوسط محصولاتی با عملکرد بهبود یافته و کاهش آلرژی‌زایی به همراه داشت، در حالی که قرار گرفتن در معرض گسترده باعث از بین رفتن قابلیت فروش به دلیل تجمع پروتئین شد (۳۸).

روش‌های تشخیص آلرژن‌ها قبل و بعد از فراوری

الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید سدیم دودسیل سولفات[5]: اشکال مختلفی از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید (PAGE) وجود دارد و هر شکل می تواند انواع مختلفی از اطلاعات را در مورد پروتئین‌های مورد نظر ارائه دهد. دناتوره کردن و احیای سدیم دودسیل سولفات PAGE (SDS-PAGE) با یک سیستم بافر ناپیوسته پرکاربردترین روش الکتروفورز است و PAGE پروتئین‌ها را عمدتاً بر اساس جرم جدا می کند. صفحه‌ی پروتئین غیردناتوره‌شونده، که به آن Native-PAGE نیز می‌گویند، پروتئین‌ها را بر اساس نسبت جرم/بارشان جدا می‌کند. PAGE دو بعدی پروتئین‌ها را با نقطه ایزوالکتریک در بعد اول و بر حسب جرم در بعد دوم جدا می کند.

پس SDS-PAGE پروتئین‌ها را عمدتاً بر حسب جرم جدا می کند زیرا ماده شوینده یونی سدیم دودسیل

[1] Uv photons
[2] ELISA
[3] Atmospheric Cold Plasma
[4] Soy Protein Isolate
[5] Sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

سولفات[1] دناتوره شده و به پروتئین‌ها متصل می شود تا آن‌ها را به طور یکنواخت دارای بار منفی کند. بنابراین، هنگامی که یک جریان اعمال می شود، تمام پروتئین های متصل به سدیم دودسیل سولفات در یک نمونه از طریق ژل به سمت الکترود با بار مثبت مهاجرت می‌کنند. پروتئین‌هایی که جرم کمتری دارند، سریع‌تر از آنهایی که جرم بیشتری دارند، به دلیل اثر الک ماتریکس ژل، از طریق ژل عبور می‌کنند. پس از جدا شدن توسط الکتروفورز، پروتئین‌ها را می‌توان در یک ژل با لکه‌های مختلف شناسایی کرد، برای تشخیص با وسترن بلات روی یک غشاء منتقل کرد و/یا جدا کرد و برای تجزیه و تحلیل با طیف‌سنجی جرمی استخراج کرد.

برای تجزیه و تحلیل نوع غیراحیایی، پروتئین بومی قبل از جداسازی با سدیم دودسیل سولفات تیمار می‌شود تا بارهای بومی پروتئین پوشیده شود. برای تجزیه و تحلیل احیایی، نمونه با سدیم دودسیل سولفات و یا دی تیوتریتول[2] یا بتا مرکاپتواتانول برای کاهش ساختار پروتئین بومی تیمار می شود. تفاوت بین الکتروفورز ژل احیاکننده و غیراحیایی این است که تحت شرایط احیا، برهمکنش بین دو پلی پپتید مختل می شود. با این حال، تحت شرایط غیراحیایی، برهمکنش‌ها حفظ می شوند. بنابراین، این دو شرایط به ما امکان می دهد تا برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین را شناسایی کنیم. یک عامل احیاکننده مانند دی تیوتریتول وقتی به نمونه های پروتئین اضافه می شود به عنوان یک عامل احیاکننده، برای کاهش پیوندهای دی سولفیدی پروتئین‌ها و پپتیدها استفاده می شود. از تشکیل پیوندهای دی سولفیدی درون مولکولی و بین مولکولی بین باقی مانده‌های سیستئین پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (۳۹). در این روش ابتدا پروتئین استخراج شده در هر چاهک بارگذاری می‌شود و ژل‌ها ابتدا به مدت ٤٠ دقیقه رنگ آمیزی‌شده، سپس در محلول رنگ‌بر[3] رنگبری می‌شوند (٤٠). استانداردهای نشانگر پروتئین برای شناسایی و تخمین آلرژن‌های اصلی و جرم مولکولی آن‌ها استفاده می‌شود. برای تعیین کمیت آلرژن‌ها، ژل‌ها اسکن شده و با یک تصویرگر مولکولی آنالیز می‌شوند. آلرژن‌های اصلی و ترکیب نسبی آن‌ها بر اساس شدت نوار و مساحت کل زیر واحدهای آن‌ها محاسبه خواهد شد (٤١).

کروماتوگرافی مایع با طیف سنج جرمی[4]: این رویکرد همراه با ژنوم اخیرا منتشر شده، امکان بررسی خانواده‌های آلرژن، ایزوفرم‌ها، تغییرات هیدروکسی پرولین[5] و مقادیر آن را فراهم می‌کند. مقایسه این روش با توجه به کمی سازی مقدار آلرژن‌های شاخص نشان می‌دهد که هر دو تکنیک با هم تطابق بسیار خوبی داشته اند و کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا[6] برای کمی سازی این موارد مناسب است. با این حال، برای اندازه‌گیری ایزوفرم‌های متغیر آلرژن مورد نظر و آلرژن‌های با فراوانی کمتر نیاز به استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با طیف سنج جرمی[7] می‌باشد و با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا به راحتی نمی‌توان به دست آورد (٤٢).

گو و همکاران (۲۰۱۸) از روش LC-MS/MS برای تشخیص چندگانه هشت ماده آلرژی‌زا در ماتریس شکلات استفاده کردند. واضح‌ترین نشانگرهای پپتیدی ابتدا با آزمایش بررسی بدون هدف

[1] Sodium dodecyl sulfate
[2] Dithiothreitol
[3] Destainer
[4] LC-MS/MS
[5] Hydroxyproline
[6] Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)
[7] Liq
uid Chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

با استفاده از طیف‌سنج جرمی با وضوح بالا چهار قطبی مدارگرد شناسایی شدند. از این روش برای شناسایی آلرژن‌های شیر، سویا، بادام زمینی، آجیل درختی موجود در نمونه‌های شکلات استفاده شد. در نهایت، این روش با موفقیت برای بررسی آلرژن‌های متعدد در شکلات‌های تجاری موجود با برندهای مختلف با هدف تعیین اختلافات احتمالی بین محتوای آلرژن و برچسب‌گذاری آلرژن‌های غذایی اعمال شد (۴۳).

شفکک و موسر (۲۰۰۴) از هضم آنزیمی پروتئین کل همراه با کروماتوگرافی مایع / طیف سنجی جرمی پشت سر هم (LC/MS/MS) برای تایید وجود یک آلرژن اصلی بادام زمینی در بستنی استفاده کردند. چندین پپتید به‌دست‌آمده از هضم آنزیمی فراوان‌ترین آلرژن بادام‌زمینی، Arah 1، به‌عنوان نشانگرهای زیستی پپتیدی خاص برای پروتئین بادام‌زمینی شناسایی شدند. یکی از اجزای کلیدی روش استفاده از فیلترهای قطع جرم مولکولی برای غنی‌سازی Ara h 1 در عصاره‌های پروتئینی بود. با استفاده از این روش بر روی نمونه های بستنی حاوی سطوح مختلف پروتئین بادام زمینی، سطح کمتر از ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم Ara h 1 به طور معمول قابل تشخیص است. این روش ابزاری بدون ابهام برای تایید وجود آلرژن بادام زمینی، Ara h 1، در موادغذایی فراهم می کند و به راحتی می توان آن را برای تشخیص سایر آلرژن های غذایی تغییر داد (۴۴).

روش تست الایزا : روش ایمونوسوربنت مرتبط با آنزیم، که به نام الایزا شناخته می‌شود، معمولاً برای تعیین کمیت حساسیت‌زایی آلرژن‌ها استفاده می‌شود. پروتئین‌های ماده‌غذایی مورد نظر توسط بافر کربنات (۵۰ میلی مولار، pH 9.6) تا ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر رقیق می‌شوند. سپس نمونه ها به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در هر چاهک به صفحه میکروتیتر اضافه شده و پس از کوبیده شدن در دمای ٤ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت، از بافر TBS-Tween برای شستشوی چاهک ها استفاده می‌شود. بافر مسدود کننده (۰,۰۱ مول در لیتر TBS حاوی ۰,۱٪ (w/v) سرم گاو، pH 7.5) برای مسدود کردن صفحه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت و سرم خون بیمار استفاده می‌شود. سرم خون بیمار برای ایجاد آنتی‌بادی علیه آلرژن آن ماده غذایی خاص اضافه می‌شود. پس از شستشو با بافر TBS-Tween به مدت سه بار، پراکسیداز با برچسب IgE ضد انسان (کاتالوگ A9667، sigma) به‌عنوان آنتی‌بادی ثانویه مورد بررسی قرار می‌گیرد. (رقیق شده ۱:۱۰۰۰۰ (v:v) در بافر مسدود کننده) (۱۰۰ میکرولیتر در چاه) دما و زمان در طول فرآیند انکوباسیون به ۳۷ درجه سانتیگراد و ۱ ساعت محدود می شود. ۳،۳،۵،۵-تترا متیل بنزیدین (TMB) حاوی ۰,۰۳ درصد پراکسید هیدروژن در ۰,۱ mol/L PBS به هر چاهک در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اضافه شده و به مدت چند دقیقه واکنش نشان می‌دهد. در نهایت جذب در ٤٥٠ نانومتر خوانده می‌شود. برای سه نمونه مختلف، آزمایش‌ها سه بار انجام شد و از میانگین و انحراف معیار برای تحلیل معنی‌داری استفاده می‌شود.

برای استفاده از کیت الایزا به‌طورکلی کیت الایزا شامل مجموعه‌ای از استانداردهای کالیبراسیون است که برای تولید منحنی استاندارد دانسیته نوری در مقابل غلظت آلرژن مورد نظر استفاده می‌شود. براساس پروتکل کیت الایزا براساس شدت تغییر رنگ در طول موج مناسب ماده با دستگاه میکروپلیت خوان اندازه‌گیری خواهد شد (۳۳). به عنوان مثال برای تشخیص آلرژن‌های بادام زمینی، عصاره ی بادام زمینی با محلول استونیتریل/آب (٤٠:٦٠ v/v) مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده می‌شود. مجددا ۵ میلی‌لیتر آب اضافه شده و پس از هم زدن به مدت ۳۰

ثانیه، به ویال‌های سانتریفیوژ منتقل می‌شود و در دمای بیش از ٤ درجه سانتیگراد در مدت ١٠ دقیقه ١٣٠٠٠ دور سانتریفیوژ شده تا ته‌نشینی کامل شود. از بخش رویی فیلتر شده برای آنالیز با کیت کنار گذاشته شده و سپس توسط کیت الایزا مورد آزمایش قرار می‌گیرد (٤٥).

تجزیه و تحلیل کارایی اتصال IgE توسط وسترن بلات: در این روش پروتئین‌های خاص بدون توجه به بار الکتروشیمیایی اولیه، بر اساس جرم مولکولی آن‌ها جدا می‌شوند. ابتدا نمونه ها برای الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید (PAGE) آماده می‌شوند و سپس در معرض بلات و مسدود کردن قرار می‌گیرند. سپس با آنتی‌بادی اولیه و به دنبال آن آنتی‌بادی ثانویه واکنش داده می‌شود و سپس با مزدوج آلکالین فسفاتاز بیوتین نشاندار شده با آویدین و به دنبال آن سوبسترا واکنش نشان می‌دهد. مرحله آخر، شناسایی آلرژن‌های مشتق از پروتئین است. روش وسترن بلات به عنوان آزمایش تایید تخم مرغ و شیر در روش های رسمی ژاپنی انجام می‌شود. کیت‌های وسترن بلات برای تخم مرغ و شیر، ، توسط مؤسسه علوم زیستی موریناگا[1] تولید و تجاری شده است. این تکنیک از الکتروفورز ژل دودسیل سولفات سدیم (SDS)-پلی آکریل آمید (SDS-PAGE) برای جداسازی هزاران پروتئین موجود در یک نمونه استفاده می‌کند. سپس پروتئین جدا شده به غشاء [پلی وینیلیدین دی فلورایـد (PVDF) یا نیتروسلولز] منتقل می‌شود، جایی که آن‌ها به آنتی‌بادی‌های مخصوص پروتئین‌های هدف متصل می‌شوند.

روش شناسی وسترن بلات شامل ١) جداسازی اولیه پروتئین‌های بافت هدف بر روی یک ژل الکتروفورز بر اساس وزن مولکولی آنها است، ٢) انتقال پروتئین‌های جدا شده به یک نوار کاغذ و ٣) قرار گرفتن در معرض سرم رقیق شده. اگر آنتی‌بادی‌های یکی از پروتئین‌های بافتی در سرم وجود داشته باشد، به نواری با وزن مولکولی مناسب روی کاغذ متصل می‌شوند. آنتی بادی دوم با نشانگر متصل رنگ آمیزی می‌کند و اجازه می‌دهد تا آنتی‌بادی متصل شده از سرم بیمار را مشاهده کنید. پروتئین‌های روی کاغذ که رنگ‌آمیزی ندارند، ویژگی آنتی‌بادی را تأیید می‌کند.

وسترن بلات یک تکنیک بسیار حساس و کارآمد است که ما از آن برای تشخیص اتصال IgE به هضم پروتئین‌های شیر و تخم مرغ استفاده کرده ایم. با توجه به اهمیت مقاومت پروتئین‌های غذا در برابر هضم معده در ظرفیت آنها برای تعدیل پاسخ ایمنی، ما در این فصل ارزیابی واکنش IgE یک آلرژن مربوط به شیر گاو، بتا-کازئین، توسط وسترن بلات پس از هضم شبیه‌سازی شده را شرح می‌دهیم (٤٦).

به‌عنوان مثال پروتئین ماده‌غذایی استخراج شده از ماده‌غذایی خام مثلا بادام زمینی خام، سرخ شده و آب پز با احیا مجدد SDS-PAGE مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد و سپس به مدت ٩٠ دقیقه در ولتاژ ٨٠ ولت به غشاهای نیتروسلولزی منتقل می‌شود، سپس غشا در بافر مسدود کننده (٥٪ (w/v) چربی‌زدایی شده قرار خواهد گرفت. سرم تلفیقی بیمار (رقیق شده ١:١٠ (v:v) در بافر مسدود کننده) به‌عنوان تامین کننده IgE برای انکوباسیون غشاء در طول شب در دمای ٤ درجه سانتی گراد استفاده می‌شود (٤٧).

نتیجه‌گیری

فراوری موادغذایی می‌تواند بر آلرژی‌زایی پروتئین‌های آن تأثیر بگذارد. این اثرات به عوامل مختلفی بستگی دارد، از جمله آلرژن و خواص بیوشیمیایی و ایمونولوژیکی آن، ماتریکس ماده‌غذایی، شرایط فرآیند، ترمودینامیک برهمکنش آلرژن-

[1] Morinaga Institute of Life Sciences

ایمونوگلوبولین E، مشخصات بیمار از قبیل (حد آستانه آلرژن، حد تحمل و پایداری آلرژن و واکنش آلرژیک به یک آلرژن خاص). اغلب برای کاهش یا حذف ژن‌های آلرژن ماده‌غذایی، هیدرولیز آنزیمی، اصلاح شیمیایی یا ترکیبی از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیوشیمیایی مورد نیاز است. به طور کلی فراوری موادغذایی ممکن است به غیرفعال کردن اپی‌توپ‌های ساختاری خاص در برخی، اما نه همه آلرژن‌ها کمک کند و بعید است که اپی توپ‌های خطی را از بین ببرد. هیدرولیز آنزیمی ممکن است به حذف اپی‌توپ‌های خاص کمک کند. با این حال، از منظر کیفیت و مقبولیت محصولات غذایی، هیدرولیز پروتئین ممکن است منجر به تغییرات نامطلوب یا غیرقابل قبول در ساختار مواد غذایی و ویژگی‌های حسی شود. همچنین اعمال یک فرایند خاص ممکن است خاصیت آلرژی‌زایی را افزایش دهد. بنابراین، مطالعات دقیق و جامع‌تر برای نتیجه دقیق تر برای استفاده از روش‌های فراوری موادغذایی به منظور کاهش آلرژن مورد نیاز است.

References

1. Sathe, S. K., & Sharma, G. M. 2009. Effects of food processing on food allergens. Molecular nutrition & food research, 53(8): 970-978.
2. Murch, S. 2005. Clinical manifestations of food allergy: The old and the new, Eur. J. Gastroenterol. Hepatol, 17: 1287-1291.
3. Nayak, B., Li, Z., Ahmed, I., & Lin, H. 2017. Removal of allergens in some food products using ultrasound. In Ultrasound: Advances for food processing and preservation. Academic Press, 267-292.
4. Hauser, M., Egger, M., Wallner, M., Wopfner, N., Schmidt, G., & Ferreira, F. 2008. Molecular properties of plant food allergens: a current classification into protein families. The Open Immunology Journal, 1: 1-12.
5. Yu, W., Freeland, D. M. H., & Nadeau, K. C. 2016. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. Nature Reviews Immunology, 16(12): 751-765.

Satitsuksanoa, P., Jansen, K., Głobińska, A., Van de Veen, W., & Akdis, M. 2018. Regulatory immune mechanisms in tolerance to food allergy. Frontiers in immunology, 9: 2939.

6. Satitsuksanoa, P., Jansen, K., Głobińska, A., Van de Veen, W., & Akdis, M. 2018. Regulatory immune mechanisms in tolerance to food allergy. Frontiers in immunology, 9: 2939.
7. Verma, A. K., Kumar, S., Das, M., & Dwivedi, P. D. 2012. Impact of thermal processing on legume allergens. Plant foods for human nutrition, 67(4): 430-441.
8. Yuan, S., Li, C., Zhang, Y., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., & Yao, W. 2021. Ultrasound as an emerging technology for the elimination of chemical contaminants in food: A review. Food Science & Technology, 109: 374-385.
9. Aalami, M., Ziaiifar, A. M., & Maghsoudlou, Y. 2021. Effect of heat-moisture treatment of brown rice flour and natural additives on the properties of gluten-free frozen cake batter. Food Processing and Preservation, 13(3): 115-131. (In Persian)
10. Sathe, S. K., & Sharma, G. M. 2009. Effects of food processing on food allergens. Molecular nutrition & food research, 53(8): 970-978.
11. Mondoulet, L., Paty, E., Drumare, MF., Ah-Leung, S., Scheinmann, P., Willemot, RM., Wal, JM., & Bernard, H. 2005. Influence of thermal processing on the allergenicity of peanut proteins. Agricultural and Food Chemistry, 53: 4547-4553.
12. Palladino, C., & Breiteneder, H. 2018. Peanut allergens. Molecular immunology, 100: 58-70.
13. Cuadrado, C., Cabanillas, B., Pedrosa, MM., Muzquiz, M., Haddad, J., Allaf, K., Rodriguez, J., Crespo, JF., & Burbano, C. 2011. Effect of instant controlled pressure drop on IgE

antibody reactivity to peanut, lentil, chickpea and soybean prote. Int Arch Allergy Immunol, 156: 397-404.
14. Cuadrado, C., & Pedrosa, M. 2017. Legume Allergenicity: The effect of food processing In Legumes for Global Food Security. Jimenez-Lopez, JC, Clemente, A., Eds.
15. Kumari, D., Kumar, R., Sridhara, S., Arora, N., Gaur, SN., & Singh BP. 2006. Sensitization to black gram in patients with bronchial asthma and rhinitis: Clinical evaluation and characterization of allergens. Allergy 61: 104–110.
16. Mine, Y., & Zhang, J. W. 2002. Comparative studies on antigenicity and allergenicity of native and denatured egg white proteins. Agricultural and Food Chemistry, 50: 2679-2683.
17. Li, Z., Caolimin, L., Jamil, K., 2006. Reduction of allergenic properties of shrimp (Penaeus Vannamei) allergens by high intensity ultrasound. European Food Research and Technology 223: 639-644.
18. Choudhary, R., Gautam, D., Perez-Alvarado, G., Kinsel, M., 2013. Effect of high intensity ultrasound treatment in reducing the allergenicity of isolated cow's milk and soy proteins. In: Presented during IFCON 2013 in CFTRI Mysore Dec 18-21.
19. Maleki, S. J., & Sathe, S. K. 2006. The effects of processing methods on allergenic properties of food proteins. Food allergy, 309-322.
20. Brenna, O., Pompei, C., Ortolani, C., Pravettoni, V., et al., 2000.Technological processes to decrease the allergenicity of peach juice nectar, J. Agric. Food Chem. 48: 493-497.
21. Van Beresteijn, E. C., Peeters, R. A., Kaper, J., Meijer, R. J., Robben, A. J., & Schmidt, D. G. 1994. Molecular mass distribution immunological properties nutritive value of whey protein hydrolysates. Journal of Food Protection, 57(7): 619-625.
22. Naei, V. Y., Sankian, M., Moghadam, M., Farshidi, N., Ayati, S. H., Hamid, F., & Varasteh, A. R. 2019. The influence of gamma radiation processing on the allergenicity of main pistachio allergens. Biochemistry & molecular biology, 7(2): 150.
23. Lee, J. W., Kim, J. H., Yook, H. S., Kang, K. O., Lee, S. Y., Hwang, H. J., & Byun, M. W. 2001. Effects of gamma radiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins. Journal of food protection, 64(2): 272-276.
24. Byun, M. W., Kim, J. H., Lee, J. W., Park, J. W., Hong, C. S., & Kang, I. J. 2000. Effects of gamma radiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. Journal of food protection, 63(7): 940-944.
25. Moriyama, T., Yano, E., Kitta, K., Kawamoto, S. I., Kawamura, Y., & Todoriki, S. 2013. Effect of gamma irradiation on soybean allergen levels. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 77(12): 2371-2377.
26. Golkar, A., Milani, J. M., & Vasiljevic, T. 2019. Altering allergenicity of cow's milk by food processing for applications in infant formula. Critical reviews. Food science and nutrition, 59(1): 159-172.
27. Ehn, B. M., Allmere, T., Telemo, E., Bengtsson, U., & Ekstrand, B. O. 2005. Modification of IgE binding to β-lactoglobulin by fermentation and proteolysis of cow's milk. Agricultural and Food Chemistry, 53(9): 3743-3748.
28. Bu, G., Luo, Y., Zhang, Y., & Chen, F. 2010. Effects of fermentation by lactic acid bacteria on the antigenicity of bovine whey proteins. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(12): 2015-2020.
29. Poms, R. E., & Anklam, E. 2004. Effects of chemical, physical, and technological processes on the nature of food allergens. AOAC International, 87(6): 1466-1474.
30. Mohajer Khorasani, S., Aalami, M., Kashaninejad, M., & Shahiri Tabarestani, H. 2021. Effect of adding millet flour and Xanthan gum on the physicochemical and sensorial properties of gluten-free cake. Food Processing and Preservation, 13(1): 57-70. (In Persian)
31. Sathe, S. K., Teuber, S. S., & Roux, K. H. 2005. Effects of food processing on the stability of food allergens. Biotechnology advances, 23(6): 423-429
32. Ivens, K. O., Baumert, J. L., Hutkins, R. L., & Taylor, S. L. 2017. Effect of proteolysis during Cheddar cheese aging on the detection of milk protein residues by ELISA. Journal of Dairy Science, 100(3): 1629-1639.

33. Poms, R. E., & Anklam, E. 2004. Effects of chemical, physical, and technological processes on the nature of food allergens. AOAC International, 87(6): 1466-1474.
34. Yao, Y., Jia, Y., Lu, X., & Li, H. 2022. Release and conformational changes in allergenic proteins from wheat gluten induced by high hydrostatic pressure. Food Chemistry, 368: 130805.
35. Dong, X., Wang, J., & Raghavan, V. 2021. Critical reviews and recent advances of novel non-thermal processing techniques on the modification of food allergens. Critical reviews. Food science and nutrition, 61(2): 196-210.
36. Li, Y., Zhang, S., Ding, J., Zhong, L., Sun, N., & Lin, S. 2022. Evaluation of the structure-activity relationship between allergenicity and spatial conformation of ovalbumin treated by pulsed electric field. Food Chemistry, 388, 133018.
37. Venkataratnam, H., Cahill, O., Sarangapani, C., Cullen, P. J., & Barry-Ryan, C. 2020. Impact of cold plasma processing on major peanut allergens. Scientific reports, 10(1): 1-11.
38. Zhang, Q., Cheng, Z., Zhang, J., Nasiru, M. M., Wang, Y., & Fu, L. 2021. Atmospheric cold plasma treatment of soybean protein isolate: Insights into the structural, physicochemical, and allergenic characteristics. Journal of Food Science, 86(1): 68-77.
39. Kielkopf, C. L., Bauer, W., & Urbatsch, I. L. 2021. Sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. Cold Spring Harbor Protocols, 2021(12): pdb-prot102228.
40. Kurien, B. T., & Scofield, R. H. 2012. Extraction of proteins from gels: a brief review. Protein electrophoresis: methods and protocols, 403-405.
41. Yu, M., Zhou, Y., Wang, X., Xie, M., Zhang, B., Yu, H., & Sun, Z. 2021. Effect of ultrasonic pre-treatment on Ara h 1 in peanut sprouts. Ultrasonics Sonochemistry, 75: 105607.
42. Marsh, J. T., Palmer, L. K., Koppelman, S. J., & Johnson, P. E. 2022. Determination of Allergen Levels, Isoforms, and Their Hydroxyproline Modifications Among Peanut Genotypes by Mass Spectrometry. Frontiers in Allergy, 3.
43. Gu, S., Chen, N., Zhou, Y., Zhao, C., Zhan, L., Qu, L., ... & Ding, Y. 2018. A rapid solid-phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous screening of multiple allergens in chocolates. Food Control, 84: 89-96.
44. Shefcheck, K. J., & Musser, S. M. 2004. Confirmation of the allergenic peanut protein, Ara h 1, in a model food matrix using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). Journal of agricultural and food chemistry, 52(10): 2785-2790.
45. Jayasena, S., Koppelman, S. J., Nayak, B., Taylor, S. L., & Baumert, J. L. 2019. Comparison of recovery and immunochemical detection of peanut proteins from differentially roasted peanut flour using ELISA. Food chemistry, 292: 32-38.
46. Benedé, S., López-Fandiño, R., & Molina, E. 2017. Assessment of IgE reactivity of β-casein by western blotting after digestion with simulated gastric fluid. Food Allergens: Methods and Protocols, 165-175.
47. Meng, S., Li, J., Chang, S., & Maleki, S. J. 2019. Quantitative and kinetic analyses of peanut allergens as affected by food processing. Food Chemistry: X, 1: 100004.