

牛乳过敏原及加工技术 对其致敏性的影响

谭 梦¹, 华家才¹, 冯凤琴^{1,2,3}

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江杭州 310058;

2. 馥莉食品研究院, 浙江杭州 310058;

3. 浙江省农产品加工技术研究重点实验室, 浙江杭州 310058)

摘 要:对婴幼儿来说,牛乳营养丰富,是母乳最好的替代品,但牛乳中的蛋白质可能会引起过敏。牛乳中的主要过敏原是酪蛋白、 β -乳球蛋白和 α -乳白蛋白。本文从牛乳过敏原的结构和抗原表位、热处理、发酵和酶处理等不同的加工技术对牛乳蛋白致敏性的影响和过敏原标记检测方法三个方面进行了综述,为开发低致敏牛乳制品提供借鉴。

关键词:牛乳过敏原,加工技术,检测

Cow's milk allergen and effects of processing technology on its allergenicity

TAN Meng¹, HUA Jia-cai¹, FENG Feng-qin^{1,2,3}

(1. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Fuli Institute of Food Science, Hangzhou 310058, China;

3. Zhejiang Key Laboratory for Agro-Food Processing, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Cow's milk has rich nutrition and it is the best substitute for breast milk. However, its protein may cause allergy. The major allergen is casein, β -lactoglobulin and α -lactalbumin. This paper firstly illustrated the structure and epitope of cow's milk major allergen, and then discussed the effects of milk processing technology including heat treatment, fermentation and enzymatic hydrolysis on its allergenicity, and finally introduced the labeling and detection methods of allergen, which can provide reference for producing hypoallergenic dairy products.

Key words: milk allergen; processing technology; detection

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)05-0384-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.05.070

食物过敏是各国政府和公众广泛关注的食品安全问题之一。据统计,全球有2.2~2.5亿人对食物过敏^[1]。联合国粮农组织划定,牛奶、鸡蛋、鱼、甲壳动物或者贝类、花生、大豆、坚果和小麦为最常见的八类过敏食物^[2]。牛乳含有3.3%~3.5%的蛋白质,营养丰富,是母乳最好的替代品,但牛乳中的蛋白质可能会引起过敏反应。对婴幼儿来说,牛乳过敏是最常见的过敏疾病,发病率高达2%~7.5%^[3]。牛乳过敏严重影响了婴幼儿的生长发育,甚至威胁其生命。因此,系统研究牛乳过敏原种类、结构,寻求减轻牛乳过敏的新技术和过敏原的标记检测方法,对我国开发低致敏牛乳制品具有深远的理论和实践意义。

1 牛乳过敏原蛋白的组成和特征

牛乳过敏是牛乳过敏原蛋白所引发的食物不良反应,主要是IgE介导的由免疫机制调节的变态反

应。牛乳和人乳在蛋白组成上存在一定差异(见表1),牛乳含有人乳中并不存在的 α -酪蛋白及 β -乳球蛋白,其次 α -乳白蛋白和免疫球蛋白的含量也较少,这导致婴幼儿配方奶粉中需要脱除某些蛋白或者调整不同蛋白比例以模拟人乳组成。

研究表明,牛乳中最主要的过敏原是酪蛋白、 β -乳球蛋白和 α -乳白蛋白^[5]。这些蛋白都含有可以被免疫系统识别的抗原表位,包括构象表位和线性表位。构象表位的活性依赖于构象,线性表位则是依赖于氨基酸序列的一级结构。目前,已有很多学者通过化学法或酶法切割、肽文库技术和肽扫描技术进行了过敏原表位定位(见表2)。酪蛋白是牛乳中最主要的蛋白质,占总蛋白的80%左右,分为 α_{S1} -、 α_{S2} -、 β -、 κ -酪蛋白,大部分对酪蛋白过敏的患者对这四种酪蛋白均过敏。大部分酪蛋白以胶束形式存在,

收稿日期: 2015-06-18

作者简介: 谭梦(1991-),女,硕士研究生,研究方向: 功能蛋白改性, E-mail: sherrytan0813@163.com。

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2013AA102207-3)。

具有柔性和热稳定性。 β -乳球蛋白占总蛋白的 10%，不存在于人乳中，由于其耐胃酸和胃蛋白酶消化，因此可通过肠道进入血液循环，约有 82% 的牛乳过敏患者对 β -乳球蛋白过敏。牛乳 α -乳白蛋白与人乳 α -乳白蛋白有 74% 的氨基酸同源，但是仍是一种主要过敏原，这说明其致敏性可能主要依赖于构象表位。

表 1 牛乳和人乳的蛋白组成^[4]

Table 1 The main composition of cow's milk and human milk^[4]

蛋白质	牛乳(g/L)	人乳(g/L)
α -酪蛋白	13.0	-
β -酪蛋白	9.3	2.2
κ -酪蛋白	3.3	0.4
α -乳白蛋白	1.2	1.9
β -乳球蛋白	3.2	0
免疫球蛋白	0.7	1.3
血清白蛋白	0.4	0.4
乳铁蛋白	0.1	1.5
乳过氧化物酶	0.03	-
溶菌酶	0.0004	0.1
其他	0.8	1.1

2 加工技术对牛乳致敏性的影响

牛乳及其制品需通过一定的加工处理，以确保其微生物安全性，提高风味和质地，虽然充分了解过敏原的结构特点有助于研究其致敏性，但在食品加工过程中蛋白质结构会发生变化，继而引起其致敏性强弱改变，故研究加工技术对其致敏性的影响更具现实意义和指导作用。

2.1 热处理

热处理是牛乳及其制品加工保藏过程最常用的方法。针对牛乳常见的热处理方式为高温短时巴氏杀菌和超高温瞬时杀菌，不同的热处理方式对于牛乳蛋白致敏性影响不尽相同，加热可以诱导过敏原蛋白构象发生变化，一方面可能会导致蛋白质失活聚集，掩蔽抗原表位，降低致敏性；另一方面，可能会引起蛋白质结构舒展开来，使得内部掩盖的抗原表

位暴露，增强其致敏性。这取决于处理方法的强弱和不同蛋白的热敏性强弱。Rytkönen 等^[9]发现，在大鼠中的胃肠道粘膜反应上，热变性 β -乳球蛋白 (90 ℃ 30 min) 较不经热处理组会诱发更密集的免疫反应。Bu^[10]等在不同温度条件下分别加热乳清分离蛋白 20 min 后，测定其抗原性，结果发现当加热温度为 50~90 ℃ 时， α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白的抗原性增加，但是当温度高于 90 ℃ 时，两种蛋白质的抗原性均显著下降。Mehr^[11]等研究了完全避免摄入牛乳的过敏患者对强加热牛乳的口服耐受性，参与实验的 70 名儿童中有 51 名 (73%) 儿童可以忍受强加热的牛乳，19 名 (27%) 出现了不同程度的反应。

热处理时，乳蛋白除了自身结构会舒展或相互聚集外，还会和牛乳制品中的还原糖 (如乳糖) 发生美拉德反应。美拉德反应使得牛乳蛋白的 α 或 ϵ -氨基与还原糖中的羰基以共价键相连，形成蛋白质-糖共价复合物，这不仅可以改善蛋白质的功能特性，如乳化性、溶解性、起泡性、成膜性等，而且被引入糖分子的空间位阻和电荷作用可以修饰蛋白的抗原表位，降低其致敏性。Wu 等人^[12]研究了 β -乳球蛋白与低聚果糖，低聚半乳糖和低聚异麦芽糖的美拉德反应，通过 ELISA 法分析反应前后 β -乳球蛋白与 IgE 和 IgG 结合能力发现， β -乳球蛋白与这些功能性低聚糖的美拉德反应产物均能显著降低其抗原性。Enomoto 等^[13]利用干热法，将麦芽五糖结合到 α -乳白蛋白上降低了其抗原性。美拉德反应降低牛乳致敏性与反应条件和反应程度有关。乳清分离蛋白与葡萄糖的美拉德反应结果显示，不同的反应底物质量比 (0.17~7.83)、温度 (40~60 ℃) 和时间 (24~120 h) 条件下， β -乳球蛋白的抗原性下降从 42%~96% 不等^[14]。值得注意的是，美拉德反应容易造成碱性氨基酸的损失，副产物丙烯酰胺等也会对人体健康产生不利影响^[15]，用于低敏性婴幼儿奶粉中需考虑其营养性和安全性。

热处理改变牛乳致敏性受很多因素如牛乳组成、加工条件和消费者个体差异等的影响，开发低过敏性乳制品，需要控制热处理条件，避免引起抗原性

表 2 牛乳中主要过敏蛋白的性质和结构特征^[6-8]

Table 2 The characteristics and structure of major allergens in cow's milk^[6-8]

名称	分子量 (kDa)	等电点	氨基酸残基数	二硫键数	结构特征	主要抗原表位 (位)
α_{S1} -酪蛋白	23.6	4.91~5.00	199	0	分子间疏水相互作用形成非刚性三级结构	123~132, 69~78
α_{S2} -酪蛋白	25.2	5.19~5.39	207	1	-	171~180
β -酪蛋白	24.0	5.11~5.53	209	-	每分子结合 5 个磷酸根，形成高度磷酸化区	-
κ -酪蛋白	19.0	5.43~5.64	169	1	在 C 末端结合有六碳糖、岩藻糖和唾液酸等	155~164, 13~22
β -乳球蛋白	18.3	5.14~5.41	162	2	通常二聚体形式，高度结构化的蛋白质	41~60, 102~124, 149~162
α -乳白蛋白	14.2	4.8	123	4	球状单体蛋白	42~49, 60~80, 91~96

表3 降低牛乳致敏性的发酵菌种

Table 3 The strains which can reduce cow's milk allergenicity

菌种	作用过敏原
干酪乳杆菌	α -乳白蛋白, β -乳球蛋白, α -酪蛋白, β -酪蛋白 ^[20-21]
鼠李糖乳杆菌	α -乳白蛋白, β -乳球蛋白, α -酪蛋白, β -酪蛋白 ^[22]
瑞士乳杆菌	α _{s1} -酪蛋白; β -酪蛋白 ^[23]
德氏乳杆菌保加利亚亚种	β -乳球蛋白 ^[24]
混合菌种(德氏乳杆菌和嗜热链球菌 1:1混合)	α -乳白蛋白, β -乳球蛋白 ^[25]
混合菌种(嗜热链球菌唾液亚种分别和嗜酸乳杆菌,罗伊氏乳杆菌,德氏乳杆菌瑞士亚种,德氏乳杆菌保加利亚亚种,干酪乳杆菌,副干酪乳杆菌副干酪亚种 1:1混合)	β -乳球蛋白 ^[26]

增强的情况发生。

2.2 发酵

在食品工业中,发酵是一种传统的加工技术。发酵的牛乳制品除了具有生物活性、减少肠道致病菌的功能外,还能调节免疫力,减少过敏症状。牛乳经过发酵后,其抗原性会大大降低,其原因可能有两种,一是乳酸菌具有复杂的蛋白酶系,发酵过程中产生的蛋白酶、肽酶使得牛乳蛋白分解成肽和氨基酸,破坏了一些抗原表位,从而降低其致敏性,二是乳酸菌本身具有调节免疫系统的作用,能促进 I 型和 II 型干扰素的产生,降低炎症性细胞因子 IL-4 和 IL-5 的分泌^[16],从而起到降低过敏的效果。

1999 年, Wroblewska^[17] 对灭菌乳采用嗜温和嗜热乳酸菌发酵,凝乳后用兔多克隆抗体间接竞争 ELISA 法测定上清液中乳清蛋白的残余抗原性,发现发酵后乳清蛋白的抗原性比生牛乳降低了 99% 以上。在此之后,众多学者发现乳酸菌发酵可以有效降低 α -乳白蛋白, β -乳球蛋白,酪蛋白的抗原性(见表 3),且不同乳酸菌混合发酵具有协同效果^[18]。然而,发酵过程中牛乳蛋白抗原性的变化取决于发酵菌种和条件, Ehn 等^[19] 研究发现,乳酸菌发酵牛乳后,虽然色谱显示降解了 β -乳球蛋白,但并不能显著降低其 IgE 的结合能力,这说明在某些条件下乳酸菌蛋白酶并不能完全破坏过敏蛋白上 IgE 的结合表位,或者是使得内部表位暴露更易与抗体发生反应。

2.3 酶处理

随着食品酶制剂的快速发展,蛋白水解酶已经广泛用于处理各类过敏原,降低其致敏性。蛋白酶能够水解大分子的蛋白质生成小分子肽和氨基酸,破坏一些引起过敏反应的空间表位和线性表位,使得致敏性降低。目前研究较多的酶主要有胃蛋白酶、胰蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶及木瓜蛋白酶等。Prakash 等^[27] 用中性蛋白酶水解酪蛋白,体外间接 ELISA 结果显示,当水解度为 5% 时,抗原性降低了 70%~80%。在小鼠模型中发现,饲喂胰蛋白酶乳清蛋白水解物组较完整乳清蛋白组,小鼠血浆中具有显著低的特异性 IgE 含量和组胺水平,且 IL-4 和 IL-5 的分泌量也显著降低,这说明酶水解可以降低乳清蛋白致敏性^[28]。单一种类的酶具有水解位点局限性,多种酶的复配使用不仅能够更好的降低牛乳蛋白抗原性,还能减少苦味的生成^[29]。酶水解具

有条件温和、高效性、节约能源等优点,丹麦 Arla 和新西兰 Fonterra 等公司已开发出不同程度的水解乳清蛋白产品,为低敏婴幼儿配方奶粉提供了原料。虽然水解产品抗原性显著降低,但并不能完全消除。不同的水解模型和水解度可能会导致肽组成和口感上的差异,水解过程中各产物对其致敏性与风味的影响机理,还需要进一步的研究。

2.4 其他加工技术

近年来,一些对食品风味和营养影响较小的非热物理加工方法越来越受到重视。高压、辐照、微波、高强度超声波等加工方式可能使得蛋白内部结构展开或者氢键断裂、蛋白聚合、抗原表位掩盖或者暴露,从而改变牛乳致敏性。Kleber^[30] 在不同温度下,用 200~600 MPa 处理 β -乳球蛋白,间接竞争 ELISA 法测定其抗原性,结果表明高压处理增强了 β -乳球蛋白的抗原性,可能是非共价键的作用力使得蛋白结构展开,更容易与抗体结合。辐射作为一种杀菌技术,也可改变过敏蛋白的分子结构,掩盖抗原表位,从而降低乳蛋白的过敏性^[31]。Lee 等^[32] 发现了牛乳中 α -酪蛋白和 β -乳球蛋白经 γ 射线照射后,用过敏患者血清进行 ELISA 实验,结果两种蛋白抗原性均降低,可能是 γ 射线照射改变了抗原表位的结构。

3 过敏原的标记和检测

3.1 过敏原的标记

食物过敏还没有有效的治疗方法。过敏患者需严格规避含有过敏原的食物和配料。因此,过敏患者选择食品很大程度上依赖于准确的过敏原标签和公开的配料信息。一些国家已经提出过敏原标签的立法。2004,美国颁布了食物过敏原标签和消费者保护法案,要求除美国农业部管辖的肉制品、禽肉制品和蛋制品外,所有在美国销售的包装食品必须标明 8 类过敏食物加工原料。2008 年,欧盟要求所有导致过敏或不良反应的成分都必须标识。我国对食物过敏原的研究和关注相对落后,2012 年 4 月实施的《GB 7718-2011 食品安全国家标准预包装食品标签通则》对八类致敏食物的标签提出规范性要求,但属于推荐标示内容。该规定已是我国预包装食品标签过敏原标识的极大进步,推动了食品产品信息向公开化的方向发展。目前绝大多数规定只适用于原配料有意添加的情况,并未定义过敏原的阈值,也未

对食品行业如何针对过敏原交叉反应提供指导建议。

3.2 过敏原的检测

高效、准确的检测过敏原含量是保证过敏原标签标示制度顺利实施的条件之一。酶联免疫吸附技术(ELISA)^[2]因其灵敏度高、快速方便且不需要昂贵的仪器等优点,是多个国家推荐的过敏原检测方法,常用于食品安全和临床检验等领域,可以定性和定量分析过敏原。邓小芳^[33]自制相应的单克隆抗体及多克隆抗体牛奶过敏原的双抗体夹心 ELISA 检测方法,酪蛋白检测限可以达到 0.55 ng/mL。随着试剂生产技术的发展,检测食物过敏原的商业试剂盒应运而生,极大的方便了过敏原的定量检测。2008 年 3 月实施的《中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 SN/T 1961.1-2007》中将 ELISA 法运用于花生过敏成分的检测上。但是,关于牛乳过敏原检测方法的标准还未出台。ELISA 法的局限性主要是基质成分的交叉反应性和动物抗体抗原表位无法真正地反映过敏患者抗原表位,且一次只能检测一种过敏原。在实际情况下,过敏原种类繁多,再加之交叉污染的存在,如何快速、准确、高通量地检测出食物中的过敏原成为该领域需重点关注的问题。

4 展望

牛乳营养价值高,是婴儿的主要食物来源,但是可能会导致婴幼儿过敏,严重影响了其生长发育。在中国,治疗婴幼儿过敏患者采用的手段都是暂时的避免牛乳制品的摄入,容易造成婴幼儿营养不良。因此,开发低敏性牛乳制品是解决牛乳过敏问题的有效途径。目前,关于牛乳过敏原表位方面的研究已经取得一些成绩,但是酪蛋白的 T 细胞表位定位,乳铁蛋白线性表位定位等尚未解决,需要对其过敏原抗原表位进行更为系统的研究,从而为开发低致敏牛乳制品提供理论依据。通过控制处理条件,一些加工技术已经可以有效降低牛乳蛋白的致敏性,但是加工过程中可能引起新的抗原表位的暴露,某些加工副产物的安全性需要进行评估。另外,大多数过敏原和残余抗原性的测定来源于体外 ELISA 法,需要结合生物信息学、免疫血清学、动物或者细胞致敏模型的建立等多种手段开展多级评价模式,得到更加全面准确的结果。

参考文献

[1] Mills E N, Mackie A R, Burney P, et al. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe[J]. *Allergy*, 2007, 62(7): 717-722.

[2] Hajeb P, Selamat J. A Contemporary Review of Seafood Allergy[J]. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 2012, 42(3): 365-385.

[3] Li H Q. Intensive reading of World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) guideline[J]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2012, 50(7): 516-518.

[4] Pereira P C. Milk nutritional composition and its role in human

health[J]. *Nutrition*, 2014, 30(6): 619-627.

[5] Fritsche R. Role for technology in dairy allergy[J]. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2003.

[6] 宋宏新, 潘洁, 薛海燕. 牛乳蛋白抗原性研究现状概述[J]. *中国酿造*, 2011(01): 17-21.

[7] 罗永康, 沈小琴, 李朝慧. 牛乳蛋白过敏原改性的研究[J]. *中国乳品工业*, 2005(10): 5-9.

[8] 李欣, 陈红兵. 牛奶过敏原表位研究进展[J]. *食品科学*, 2006(11): 592-598.

[9] Rytönen J, Karttunen T, Karttunen R, et al. Effect of heat denaturation on β -lactoglobulin-induced gastrointestinal sensitization in rats: Denatured β LG induces a more intensive local immunologic response than native β LG[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2002, 13(4): 269-277.

[10] Bu G H, Luo Y K, Zheng Z, et al. Effect of heat treatment on the antigenicity of bovine α -lactalbumin and β -lactoglobulin in whey protein isolate[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2009, 20(3): 195-206.

[11] Mehr S, Turner P J, Joshi P, et al. Safety and clinical predictors of reacting to extensively heated cow's milk challenge in cow's milk-allergic children[J]. *Annals of allergy, asthma, & immunology*, 2014, 113(4): 425-429.

[12] Wu X, Liu M, Xia L, et al. Conjugation of functional oligosaccharides reduced *in vitro* allergenicity of β -lactoglobulin[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2013, 24(4): 379-391.

[13] Enomoto H, Hayashi Y, Li C P, et al. Glycation and phosphorylation of α -lactalbumin by dry heating: Effect on protein structure and physiological functions[J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(7): 3057-3068.

[14] Bu G H, Luo Y K, Lu J, et al. Reduced antigenicity of β -lactoglobulin by conjugation with glucose through controlled Maillard reaction conditions[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2010, 21(2): 143-156.

[15] Xu Y, Cui B, Ran R, et al. Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: Current status and future prospects[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 69(0): 1-12.

[16] Cross M L, Stevenson L M, Gill H S. Anti-allergy properties of fermented foods: an important immunoregulatory mechanism of lactic acid bacteria? [J]. *Int Immunopharmacol*, 2001, 1(5): 891-901.

[17] Jedrychowski L, Wroblewska B. Reduction of the antigenicity of whey proteins by lactic acid fermentation[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 1999, 11(1): 91-99.

[18] Kleber N, Hinrichs J. Antigenic response of β -lactoglobulin in thermally treated bovine skim milk and sweet whey[J]. *Milchwissenschaft*, 2007, 62(2): 121-124.

[19] Ehn B, Allmere T, Telemo E, et al. Modification of IgE Binding to β -Lactoglobulin by Fermentation and Proteolysis of Cow's Milk[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(9): 3743-3748.

[20] Yao M J, Xu Q, Luo Y K, et al. Study on reducing antigenic response and IgE-binding inhibitions of four milk proteins of

(下转第 393 页)

using microextraction by packed sorbent and gas chromatography with mass spectrometric detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2014, 811 (6) : 29–35.

[42] Chin–Chen M L, Carda–Broch S, Peris–Vicente J, et al. Evaluation of biogenic amines in fish sauce by derivatization with 3,5–dinitrobenzoyl chloride and micellar liquid chromatography [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, 29 (1) : 32–36.

[43] Shalaby A R. Significance of biogenic amines to food safety and human health [J]. *Food Research International*, 1996, 29 (7) : 675–690.

[44] Shukla S, Park H K, Lee J S, et al. Reduction of biogenic amines and aflatoxins in Doenjang samples fermented with various Meju as starter cultures [J]. *Food Control*, 2014, 42 (2) : 181–187.

[45] Ruiz–Capillas C, Jiménez–Colmenero F. Biogenic amines in meat and meat products [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2005, 44 (7–8) : 489–599.

[46] Gianotti V, Chiuminatto U, Mazzucco E, et al. A new hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of seven biogenic amines in cheese [J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1185 (2) : 296–300.

[47] Mey E D, Klerck K D, Maere H D, et al. The occurrence of N–nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their

occasional relation [J]. *Meat Science*, 2014, 96 (2) : 821–828.

[48] Arbulu M, Sampedro M C, Gómez–Caballero A, et al. Untargeted metabolomic analysis using liquid chromatography quadrupole time–of–flight mass spectrometry for non–volatile profiling of wines [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 858 (9) : 32–41.

[49] Martuscelli M, Arfelli G, Manetta A C, et al. Biogenic amines content as a measure of the quality of wines of Abruzzo (Italy) [J]. *Food Chemistry*, 2013, 140 (3) : 590–597.

[50] Wang Y, Li F, Zhuang H, et al. Effects of plant polyphenols and α –tocopherol on lipid oxidation, residual nitrites, biogenic amines, and N–nitrosamines formation during ripening and storage of dry–cured bacon [J]. *LWT–Food Science and Technology*, 2014, 60 (1) : 199–206.

[51] GB 2762–2012, 食品中污染物限量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[52] Iammarino M, Taranto A D, Cristino M. Endogenous levels of nitrites and nitrates in wide consumption foodstuffs: Results of five years of official controls and monitoring [J]. *Food Chemistry*, 2013, 140 (4) : 763–771.

[53] 刘广福, 王硕, 朱兴旺, 等. 接种发酵和自然发酵酸菜的亚硝酸盐含量对比分析 [J]. *中国酿造*, 2013, 32 (7) : 74–76.

[54] Akyüz M, Ata Ş. Determination of low level nitrite and nitrate in biological, food and environmental samples by gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Talanta*, 2009, 79 (3) : 900–904.

(上接第 387 页)

Lactobacillus casei 1134 [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95 (6) : 1303–1312.

[21] Shi J, Luo Y K, Xiao Y, et al. Effects of fermentation by *Lactobacillus casei* on the antigenicity and allergenicity of four bovine milk proteins [J]. *International Dairy Journal*, 2014, 35 (1) : 75–80.

[22] Yao M J, Luo Y K, Shi J, et al. Effects of fermentation by *Lactobacillus rhamnosus* GG on the antigenicity and allergenicity of four cows' milk proteins [J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2014, 25 (4) : 545–555.

[23] Strahinic I, Lukic J, Terzic–Vidojevic A, et al. Use of *Lactobacillus helveticus* BGRA43 for Manufacturing Fermented Milk Products [J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2013, 51 (2) : 257–265.

[24] Pescuma M, Hébert E M, Rabesona H, et al. Proteolytic action of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 656 reduces antigenic response to bovine β –lactoglobulin [J]. *Food Chemistry*, 2011, 127 (2) : 487–492.

[25] Bu G H, Luo Y K, Zhang Y, et al. Effects of fermentation by lactic acid bacteria on the antigenicity of bovine whey proteins [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 90 (12) : 2015–2020.

[26] Kleber N, Weyrich U, Hinrichs J. Screening for lactic acid bacteria with potential to reduce antigenic response of β –lactoglobulin in bovine skim milk and sweet whey [J].

Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2006, 7 (3) : 233–238.

[27] Prakash E, Pushpa B P, Jayaprakasha H M, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on antigenicity (allergenicity) of casein fractions of cow and buffalo milk [J]. *Journal of food science and technology*, 2004, 41 (4) : 390–393.

[28] Duan C C, Yang L J, Ai L L, et al. Effects of enzymatic hydrolysis on the allergenicity of whey protein concentrates [J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2014, 13 (4) : 231–239.

[29] Wroblewska B, Karamac M, Amarowicz R, et al. Immunoreactive properties of peptide fractions of cow whey milk proteins after enzymatic hydrolysis [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2004, 39 (8) : 839–850.

[30] Kleber N, Maier S, Hinrichs J. Antigenic response of bovine β –lactoglobulin influenced by ultra–high pressure treatment and temperature [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007, 8 (1) : 39–45.

[31] Byun M, Lee J, Yook H, et al. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2002, 63 (3–6) : 369–370.

[32] Lee J W, Kim J H, Yook H S, et al. Effects of gamma radiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins [J]. *Journal of food protection*, 2001, 64 (2) : 272–276.

[33] 邓小芳. 食品中四种重要过敏原酶联免疫检测方法的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2012.