

芸豆凝集素蛋白致敏性的研究进展

高宽, 何述栋*

(合肥工业大学食品与生物工程学院, 农产品生物化工教育部工程研究中心,
农产品精深加工安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230601)

摘要: 芸豆在世界范围内广泛种植, 是我国重要的经济豆类之一, 具有较强的营养价值。然而因芸豆未煮熟或食用不当而引起的食品安全事件时有发生, 一般认为是由芸豆凝集素蛋白的毒理学作用引起的。免疫学研究表明, 芸豆凝集素蛋白可能是芸豆中的主要过敏原, 在国外研究中得以重视, 而我国尚未有系统性报道。本文总结了关于芸豆凝集素蛋白的免疫学研究进展, 分析了芸豆凝集素蛋白作为过敏原的依据, 总结了目前消减芸豆凝集素蛋白致敏性的食品加工策略, 以期对芸豆低敏食品研发以及芸豆蛋白开发利用提供理论依据。

关键词: 芸豆; 凝集素; 致敏性; 加工技术

Research Progress in the Allergenicity of Kidney Bean Lectins

GAO Kuan, HE Shudong*

(Engineering Research Center of Bio-process, Ministry of Education, Key Laboratory for Agricultural Products Processing of Anhui Province,
School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Kidney beans are one of the most important economic legumes in China, and are cultivated extensively worldwide for their high nutritional value. However, food safety incidents caused by improper or inadequate cooking of kidney beans have occurred from time to time, which are generally believed to be associated with the toxicological effects of kidney bean lectins. Immunological studies show that lectins may be the major allergen in kidney beans, which have attracted significant research interest in foreign countries but have not been systematically reported in China. Therefore, in order to provide a theoretical basis for the development of hypoallergenic kidney bean foods and the rational development and utilization of kidney bean proteins, this article summarizes recent progress in immunological research on kidney bean lectins, analyzes the evidence that kidney bean lectins are allergens, and reviews food processing strategies for reducing the allergenicity of kidney bean lectins.

Keywords: kidney bean; lectin; allergenicity; processing technology

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221107-072

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)21-0396-09

引文格式:

高宽, 何述栋. 芸豆凝集素蛋白致敏性的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(21): 396-404. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221107-072. <http://www.spkx.net.cn>

GAO Kuan, HE Shudong. Research progress in the allergenicity of kidney bean lectins[J]. Food Science, 2023, 44(21): 396-404. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221107-072. <http://www.spkx.net.cn>

芸豆, 学名菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.), 是世界各地广泛种植和消费的古老经济豆类之一^[1]。芸豆生长期短、对温度和土壤要求不严格且栽培过程简单, 因此, 芸豆在我国种植区域广泛^[2], 对农村经济发展有显著促进作用。目前, 我国是世界重要的芸豆生产、出口大

国, 种植面积位列前三, 年产量超过82万 t^[3]。近年来, 我国芸豆出口量保持在30万 t以上, 与大宗粮食相比, 价格更具优势, 经济价值显著^[4]。芸豆中蛋白质量分数高(20%~25%), 碳水化合物(50%~60%, 质量分数)、维生素、膳食纤维和矿物质含量丰富^[5], 是叶酸的

收稿日期: 2022-11-07

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目(2308085MC107); 安徽省科技重大专项(202203a06020021)

第一作者简介: 高宽(1998—)(ORCID: 0000-0002-1157-5630), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。

E-mail: 2021111394@mail.hfut.edu.cn

*通信作者简介: 何述栋(1984—)(ORCID: 0000-0002-1155-4928), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品科学。

E-mail: shudong.he@hfut.edu.cn

良好来源^[6],因此,芸豆也是许多温带、亚热带和热带国家饮食中的重要原料^[7]。然而,在日常生活中,使用未加工及加工不当的芸豆食品极易引发食物中毒。Xie Lei等^[8]对我国1994—2010年的食物中毒报告进行调查发现,因食用芸豆产生的食品安全事件排名第一,占总事件的34.6%,影响人数达到1 066人;且仅在2021年内,芸豆引起的食物中毒报道人数达到2 047人,为植物性食品安全事件第一位,占比53.46%^[9]。可见,随着社会经济的发展,芸豆在现代饮食和食品加工中的利用程度越来越高,所引发的食品安全事件频率也在不断的增加,亟需相关科研工作者关注其饮食安全性。

Sun Yufeng等^[10]在对芸豆蛋白的相关危险分析中发现,芸豆中的凝集素蛋白可能是诱发其造成食物毒理学安全事件的主要原因。对凝集素蛋白的传统认知为非免疫来源的碳水化合物结合糖蛋白,能够特异性识别和可逆地结合碳水化合物,但不会改变其结构^[11]。据报道,芸豆种子中总蛋白的质量分数在17%~23%之间,其中2.4%~5.0%是芸豆凝集素蛋白^[12]。有研究表明,豆科凝集素蛋白可以产生抗营养作用,是一种典型的“抗营养因子”^[13]。纯化的芸豆凝集素蛋白在较高剂量(50 mg/kg m_b)时会诱导Sprague-Dawley大鼠肠道增生、改变绒毛结构、降低二糖酶活性、增加肠道通透性和激活免疫系统,破坏肠道黏膜的完整性^[14-15],导致整个动物体出现厌食症状,营养(蛋白质、脂质和VB₁₂)吸收受影响,生长缓慢^[16-17],严重时出现胸腺和脾脏萎缩,胰岛素分泌减少,腹胀时四肢萎缩、负氮平衡甚至是死亡^[18]。同时,有研究表明,由凝集素蛋白诱导肠道损伤引起的肠道生态失调,易导致消化水解凝集素蛋白的菌群或者酶功能降低,这可能是凝集素蛋白诱发毒理学作用的另一个重要机制^[16,19]。在使用煮熟芸豆进行的临床试验中,未发现与使用分离凝集素蛋白和生豆粉相同的机体反应症状,这可能由于芸豆凝集素蛋白热变性,易被胃肠道所消化,不会以完整蛋白结构造成毒理学作用或者透过肠道被抗原递呈细胞(肠道一般为树突状细胞(dendritic cell, DC))所摄取^[20]。而保持蛋白完整形式可能正是凝集素蛋白引起致敏反应的前提条件,即存在潜在的致敏性,在对摄入凝集素蛋白的BALB/c小鼠研究中,小鼠肠道受损的同时出现了明显的过敏症状^[21]。

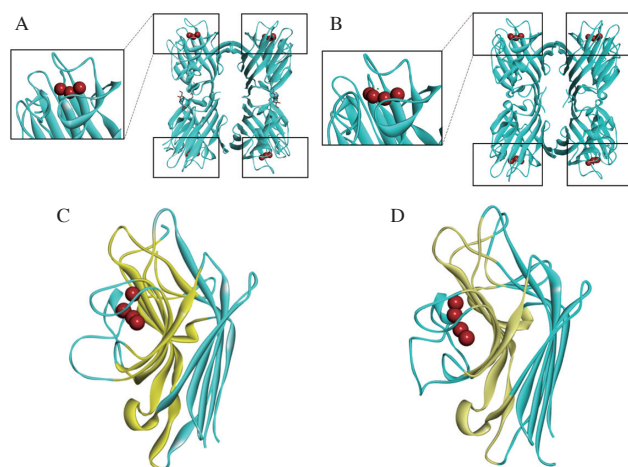
近年来,在印度、巴基斯坦、加拿大、澳大利亚和英国等国家,有关芸豆引起的过敏反应事件时有发生^[22-24]。英国报告了25起由生的或未煮熟的红芸豆引起的食物过敏反应事件,总计患者约100人^[25]。在2003—2014年间,我国报告了124起与芸豆相关的致敏事件,患者达到7 526人^[10]。在摩洛哥的114名过敏患者(76名儿童和38名成年人)中,51%的儿童和39%的

成年人血清中含有对白芸豆蛋白有特定反应的免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE),表明摩洛哥人口对芸豆蛋白过敏原非常敏感^[26]。Kasera等^[27]发现芸豆中有4种潜在的蛋白致敏原,分别是凝集素、菜豆素、 α -淀粉酶抑制剂前体和第3组晚期胚胎发育丰富蛋白,通过液相色谱-串联质谱分析和酶联免疫吸附试验,确定凝集素为芸豆中主要的过敏原蛋白。Bender等^[28]研究发现,芸豆凝集素蛋白诱发的致敏通常出现在食用未处理完全的芸豆2 h后,表现为恶心、呕吐、腹泻和腹痛等症状。

目前,已有较多研究表明芸豆饮食不当导致的过敏反应均与凝集素蛋白未失活有高度的相关性^[29-30],但在我国还未引起足够的重视。因此,为明晰芸豆凝集素蛋白的相关作用机制,本文总结了近期关于芸豆凝集素蛋白的毒理学和致敏性研究报道,以期为芸豆安全食品研发和利用提供一定的理论基础。

1 芸豆凝集素蛋白结构

凝集素存在于许多可食用的植物中,特别是在豆科植物中^[31]。作为储藏蛋白,不同豆类凝集素蛋白的含量差异也很大。芸豆籽粒中总蛋白的质量分数在17%~23%之间,其中2.4%~5.0%是凝集素;大豆含有34%的蛋白质,其中0.8%是凝集素;利马豆凝集素约占总蛋白质量的0.8%,而豌豆凝集素约为总蛋白质量的0.6%^[32-34]。目前,已有超过70种不同类型的凝集素实现从豆科植物中分离和纯化^[35]。如图1所示,芸豆凝集素蛋白含有红细胞凝集素和白细胞凝集素的两种单体,特异性识别N-乙酰乳糖胺型的复杂聚糖^[36],一般为典型的同源四聚体构型 β -三明治结构^[37]。



A.白细胞凝集素同源四聚体结构图(PDB数据库:1FAT);B.红细胞凝集素同源四聚体结构图(PDB数据库:5AVA);C.白细胞凝集素单体;D.红细胞凝集素单体。框内为识别复杂聚糖的结合位点。

图1 芸豆凝集素蛋白构象

Fig. 1 Conformation of kidney bean lectins

2 芸豆凝集素蛋白致敏性

早期研究一直关注于芸豆凝集素蛋白的抗营养性质及毒性,近年来,越来越多的研究发现芸豆凝集素蛋白具有一定的致敏性。图2总结了芸豆凝集素致敏性的研究认知过程。1992年,意大利一名患有胃肠道念珠菌病8个月的年轻女士(26岁)在注射芸豆凝集素蛋白后5 min,注射区域表现出明显的过敏反应,眼睑水肿,经免疫和过敏测试发现,凝集素蛋白在体外淋巴细胞转化实验中呈阳性,表明凝集素蛋白可能会引起I型免疫反应^[38]。2011年,据*Allergy*期刊报道,一名来自法国的没有特应性病史的23岁女性食用煮熟的芸豆后,引发全身反应,且30 min后出现过敏性休克,皮肤点刺实验(skin prick test, SPT)结果表明芸豆凝集素蛋白呈现出强烈的IgE结合能力,因此,芸豆凝集素蛋白被认为是一种潜在的食物过敏原^[39]。2013年,印度学者首次报道对芸豆蛋白过敏原进行纯化研究,确定其主要为分子质量31 kDa的凝集素蛋白,对25名易过敏志愿者中的14人进行皮肤测试,11人(78%)的SPT为芸豆凝集素的蛋白阳性,并且在芸豆凝集素蛋白阳性患者样本($n=15$)中发现组胺水平显著提高^[40]。以上研究表明芸豆凝集素蛋白是一种食物过敏原,在医疗诊断中具有临床相关性。

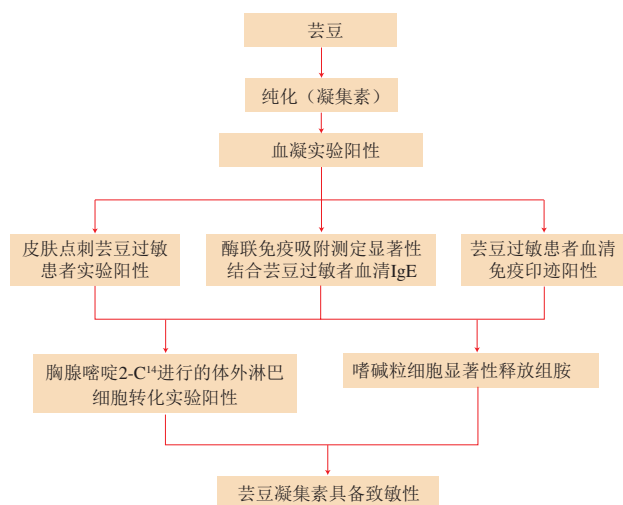


图2 芸豆凝集素蛋白致敏性的研究过程^[38-40]

Fig. 2 Flow chart of research on the allergenicity of kidney bean lectins^[38-40]

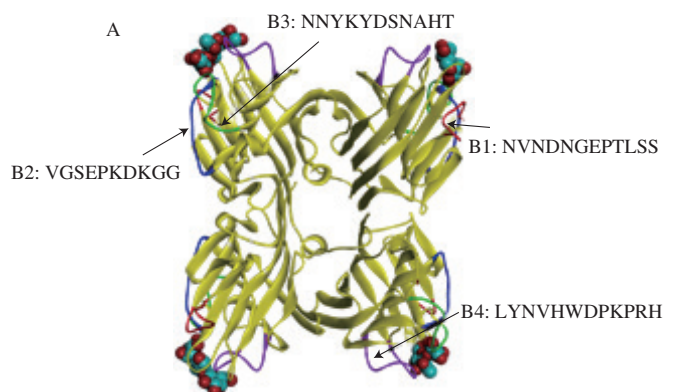
3 芸豆凝集素蛋白的抗原表位分析

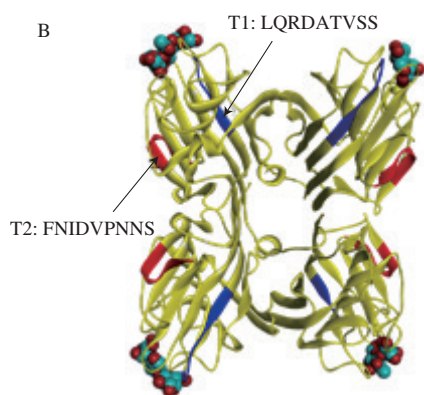
凝集素呈现致敏性的根本原因在于其表面或者内部的抗原表位。抗原表位又称抗原决定簇,是指免疫应答中,能与T细胞或B细胞表位受体或抗体发生特异结合的蛋白特定结构和氨基酸序列^[41]。目前普遍认为,在机体的免疫反应过程中,免疫细胞表面受体难以识别整个过敏原蛋白质分子,所以只能针对抗原表位,即特异性地

识别抗原上的一段氨基酸序列,而不是针对完整的抗原分子^[42]。过敏原蛋白的免疫原性,主要由其抗原表位决定,即由抗体识别的蛋白质部分,按与抗原受体结合细胞的不同,分为B细胞抗原表位和T细胞抗原表位^[43]。

近年来,许多豆科凝集素蛋白过敏原的蛋白三维结构和抗原表位已经通过先进的生物信息学方法被分析和讨论。大量研究发现具有低空间位阻(表面暴露)、高柔韧性及表面可及性的多肽片段更有可能参与特异性抗体的结合, β -转角和无规卷曲结构多出现在蛋白质表面,与抗体结合的几率较大,具有高抗原表位的可能性^[44-45]。凝集素蛋白如果空间结构保持稳定,那么可能难以在胃肠道中被消化,从而完整地透过肠道,诱导免疫产生。有研究分析了已知3D结构(实验或建模结构)过敏原中连续IgE表位的氨基酸分布情况,发现蛋白质界面的疏水残基,如苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和甲硫氨酸,出现在表位界面中的概率较低,而丙氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、甘氨酸和赖氨酸更有可能出现在表位中,尤以赖氨酸最为突出^[45]。

He Shudong等^[44]在对黑龟豆凝集素蛋白B细胞表位的研究中发现,氨基酸组成占比较高的是组氨酸、酪氨酸、脯氨酸、天冬酰胺和赖氨酸残基。前人研究表明,酪氨酸和组氨酸残基的存在将促进蛋白质界面中心的形成,具有高IgE结合能力^[46]。同时,过敏原蛋白外部带正电荷的氨基酸,如丙氨酸和亮氨酸,可提高其表面可及性,显著增加其抗原表位肽的IgE结合能力^[47]。而高疏水性氨基酸更易出现在T细胞抗原表位肽中,且抗原表位肽区域内的多个位置都表现出高的抗原性^[44]。所以,高疏水性带正电荷的氨基酸残基可能在黑龟豆凝集素蛋白抗原表位构成中发挥重要作用。赵金龙^[48]利用同源建模研究黑龟豆凝集素蛋白的结构,并对B及T细胞抗原表位进行分析预测,通过酶联免疫吸附、促淋巴细胞增殖和细胞因子释放实验,成功鉴定出了黑芸豆凝集素蛋白的4个B细胞抗原表位(B1、B2、B3和B4)和2个T细胞抗原表位(T1和T2)(图3),所有抗原表位表现出较强的疏水性和电正性,且B1、B2、B3、B4和T1细胞抗原表位分布在蛋白表面,具备较强的表面可及性。





A. B细胞抗原表位; B. T细胞抗原表位。箭头所指不同色彩区域为抗原表位空间分布情况。

图3 黑龟豆凝集素蛋白潜在的抗原表位分布

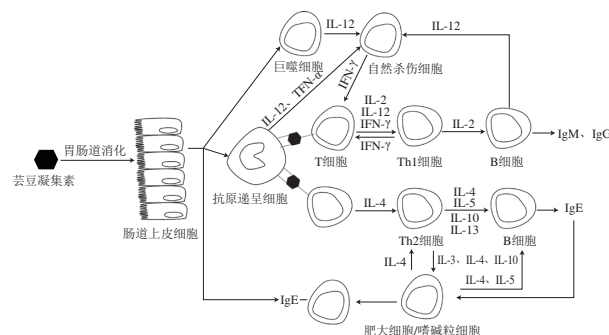
Fig. 3 Localization of the sequential epitopes identified at the molecular surface of the black turtle bean erythroagglutinating homotetramer^[49]

4 芸豆凝集素蛋白的致敏机制研究

Kumar等^[50]采用柱色谱、IgE免疫印迹和反相高效液相色谱(reversed phase-high performance liquid chromatographic, RP-HPLC)技术对红芸豆致敏蛋白进行研究,发现凝集素蛋白具有较强的热稳定性和抵抗蛋白水解酶的能力,通过BALB/c小鼠构建致敏模型,发现分子质量为29.5 kDa的PHA-L能促进更高水平的总IgE、特异性IgE和组胺表达,表明PHA-L具有过敏原的特征。Kumar等^[51]使用芸豆凝集素蛋白对BALB/c小鼠进行腹腔注射致敏,发现小鼠体内IgE和免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)水平显著性升高,与对照组相比,在PHA处理的小鼠中观察到血浆组胺、胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)和肥大细胞蛋白酶1(mast cell protease-1, mMCPT-1)水平分别增加2.0、2.5倍和2.0倍,而这3种因子在诱导食物过敏中起到关键作用^[52-55]。

Rougé等^[56]确定芸豆凝集素蛋白(120 kDa, 四聚体形式)是芸豆中的主要蛋白过敏原,由耐热变性和消化蛋白水解的低聚蛋白组成,表面具有易与IgE结合的表位,这可能是其致敏的主要原因。Kasera等^[40]使用Q-琼脂糖柱(阴离子交换剂)纯化芸豆过敏原,使用凝胶过滤和RP-HPLC收集高浓度洗脱物,纯化出31 kDa的凝集素蛋白分子,经酶联免疫吸附和免疫印迹分析可知,该蛋白分子可以引起88%的芸豆阳性患者产生过敏反应。

如图4所示,目前认为芸豆凝集素蛋白的过敏反应主要是IgE介导的免疫应答反应,同时也存在非IgE介导的免疫反应,例如IgE和IgG共同介导的过敏反应或免疫复合物介导的免疫反应^[57]。



IL. 白细胞介素(interleukin); IFN- γ . 干扰素 γ (interferon γ); TFN- α . 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α); IgM. 免疫球蛋白M(immunoglobulin M)。

图4 芸豆凝集素致敏机制

Fig. 4 Mechanism of sensitization to kidney bean lectins

芸豆凝集素蛋白过敏原初次进入机体后,未被胃肠道消化的凝集素蛋白进入肠道,因肠道细菌和上皮细胞都携带凝集素蛋白的糖受体(N-乙酰氨基葡萄糖),这使得凝集素能够与肠道细菌、肠道上皮细胞或两者都结合。凝集素与上皮细胞的结合可能导致炎症、紧密连接的损伤和肠漏,这被认为是凝集素蛋白的毒理学作用,同时也是其进入自身免疫的途径^[58-60]。凝集素蛋白穿过肠道,被抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APCs)所捕获,通过胞吞作用将凝集素内化,经泛素选择性地依附在内溶酶体,被降解为小分子肽段,如果其中含有抗原表位肽,那么过敏原信息将会以人类主要组织相容性复合体-抗原肽复合物的形式分布在递呈细胞表面。然后,抗原表位肽被特异性T细胞受体上的初始CD4⁺T细胞所识别,导致其增殖并分化成1型/2型辅助性T细胞(helper T cell 1/ helper T cell 2, Th1/Th2)。通过诱导包括细胞因子和来自于树突细胞的共刺激分子的释放可促进初始T细胞的活化。

Th1细胞的主要效应功能在于细胞介导免疫和炎症,包括活化其他免疫细胞如巨噬细胞、B细胞和CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞的细胞溶解和其他效应功能^[61]。在Th1细胞分化中起关键作用的两种细胞因子分别是IFN- γ 和IL-12。APCs分泌的IL-12能活化信号传导及转录激活蛋白4,从而促进0型辅助性T细胞分化为Th1。而信号传导及转录激活蛋白4能活化转录因子信号传导及转录激活蛋白1和T细胞转录因子(T-box expressed in T cells, T-bet)促进IFN- γ 产生,这是Th1分化的另一个因素。T-bet被认为是Th1分化的主要调节因子,因为它诱导更多的IFN- γ 表达,形成增强Th1细胞极化的正反馈环^[62-63]。最终, Th1细胞促使B细胞释放IgG和IgM,形成II、III型超敏反应。在II型超敏反应中, IgG和IgM可高效激活补体和释放过敏毒素,导致平滑肌收缩,血管通透性增加,肥大细胞随着组胺和TFN- α 的释放而活化^[64]。

并可与巨噬细胞和自然杀伤细胞表面的Fc受体结合,产生抗体促进吞噬作用和抗体依赖性的细胞介导的细胞毒性作用等^[65]。对于III型超敏反应,抗原和抗体在血管和组织中形成免疫复合物,在体液免疫应答不足的情况下,免疫复合物可以持续存在并聚集在血管壁和组织中并引起炎症反应,而且反复接触过敏原会导致过量的IgG抗体,伴有局部超免疫和免疫复合物的形成,免疫复合物通过Fc γ 受体与白细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和肥大细胞结合,激活它们并引起炎症反应^[64]。

Th2细胞可产生对机体免疫反应中具有重要作用的细胞因子,如IL-4、IL-5和IL-13等。在Th2细胞的辅助下,可促使抗原特异性B淋巴细胞分化为能产生IgE抗体类别转换的浆细胞,也称效应B细胞。分泌的IgE参与血液循环,并与含有特异性IgE受体(Fc ϵ RI)的肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面结合,导致这些细胞对特定过敏原形成敏感性^[57,66]。当机体再次接触同一过敏原后,过敏原蛋白吸附IgE抗体和Fc ϵ RI产生交联。此结合可激活免疫受体酪氨酸激活基序,最终打开与非受体酪氨酸激酶的对接位点。经过一系列的复杂反应之后,钙离子从细胞中释放,并且造成肥大细胞和嗜碱性粒细胞的脱粒。这一脱粒过程可导致组胺、氨基己糖苷酶、白三烯和前列腺素D等致敏中间介质的释放,这些介质才是Th2途径过敏症状的直接原因,表现为I型超敏反应^[57,67]。

Haas等^[68]发现凝集素蛋白具有诱导人嗜碱性粒细胞分泌IL-4和IL-13的能力,由于凝集素可以在口服后进入循环,因此它们可能在诱导早期IL-4分泌中发挥作用,以将免疫反应转换为Th2反应和I型过敏反应。同时,Shibasaki等^[69]发现芸豆凝集素蛋白与IgE有很强的亲和能力,诱导组胺释放。另有研究者利用红芸豆凝集素蛋白构建小鼠致敏模型,发现小鼠中TNF- α 、IFN- γ 、趋化因子配体5、趋化因子配体2、转录因子GATA结合蛋白3、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17和T-bet水平显著提高,同时增强了特异性IgE、IgG等免疫球蛋白水平,使过敏症状更为突出,并利于 β -己糖苷酶和其他过敏介质的释放,表明凝集素蛋白可引起Th1和Th2途径的同时表达^[70];另外,在喂养生芸豆的小鼠体内发现了IgG水平的显著增长^[71];此外,口服和静脉注射小鼠芸豆凝集素蛋白,在小鼠体内均会发现血清特异性IgG和免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA)抗体^[72-73];对小鼠腹腔注射凝集素蛋白,发现还会增强淋巴细胞的有丝分裂能力,强化巨噬细胞的吞噬能力^[74]。以上研究表明,芸豆凝集素蛋白的过敏机制较为复杂,存在多种形式。

5 食品加工控制措施

5.1 物理处理

加热可诱发食物蛋白过敏原的结构变化,包括蛋白质展开、二级和三级结构的改变、分子内和分子间共价和非共价相互作用的形成等,可以通过破坏或暴露构象表位来改变致敏性^[75]。此外,加热还可以提高芸豆凝集素蛋白在胃肠道中的消化敏感性,从而进一步降低其致敏性^[76]。先前的研究表明,瞬时高压处理后扁豆种子的凝集素蛋白IgE结合能力显著降低^[77]。纯化的红芸豆凝集素蛋白在50 MPa静水压处理下结构开始展开,然后逐渐形成熔融球状;当压力不低于450 MPa时,芸豆凝集素蛋白可能发生分子重排和分子聚合,从而丧失致敏性^[78-79]。另有研究发现,当被25 kGy的 γ 射线辐照处理后,芸豆凝集素蛋白的特异性IgE结合率降低了约34%^[80]。在干燥或50%水分质量分数条件下,芸豆凝集素蛋白经过辐照剂量不高于30 kGy的 γ 射线辐照处理后,结构仍然保持完整,但在10 kGy剂量的水溶液中观察到凝集素蛋白的二级和三级结构完全被破坏,表明在辐照处理中水分条件的重要性^[81]。

5.2 化学改性

研究表明,使用聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯(polyethylene glycol-succinimidyl carbonate, PEG-SC)、聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯(polyethylene glycol-succinimidyl succinate, PEG-SS)和聚乙二醇-琥珀酰亚胺基丙酸酯(polyethylene glycol-succinimidyl propionate, PEG-SPA)偶联修饰黑芸豆凝集素蛋白可以提高空间位阻,降低凝血活性和致敏性,并改善芸豆蛋白粉的凝胶特性^[82-83]。也有研究表明,在pH<1.5的酸性环境下孵育芸豆凝集素,发现蛋白 α -螺旋比例显著降低,伴随着聚合物的解离,二硫键断裂,疏水性显著增加;同时,黑芸豆凝集素蛋白的酶解位点暴露增多,消化率显著提高^[84]。当pH值调节为中性时,酸性条件下展开的凝集素蛋白结构会重新折叠,但在蛋白结构重组时可能会发生错位,约有15%的构象差异,此时,凝集素蛋白的血凝活性降低了50%,IgE结合能力也降低,表明糖结合位点与致敏性可能有一定的相关性^[85-86]。

5.3 生物诱导

在萌发处理24 h后,黑芸豆样品中的凝集素蛋白含量降低了46%,48 h后减少76%^[87]。萌发4 d红芸豆的凝集素蛋白含量降低了86%^[88]。同样,萌发处理7 d后,白芸豆凝集素蛋白含量下降了85%^[89]。在萌发处理过程中,蛋白水解和碳水化合物官能团的一些修饰可能会显著降低凝集素的活性^[90]。此外,发芽24 h后协同高压(121 $^{\circ}$ C)灭菌30 min可以完全消除芸豆中凝集素蛋白活性^[88]。发酵超过72 d可以破坏扁豆中几乎所有的凝集素活性^[91]。在自然发酵和乳酸发酵过程中均发现了

凝集素蛋白含量的降低^[92]。在发酵过程中,食物蛋白过敏原的线性表位和构象表位会被水解,酸化诱导蛋白构象改变^[93]。酶水解方法主要通过使用蛋白水解酶或细胞酶来破坏线性抗原表位。用碱性蛋白酶和风味酶处理后,芸豆中可溶性蛋白提取物的IgE结合能力降低了(62.2±7.7)%,嗜碱性粒细胞中组胺的释放量明显减少,并且只有10%的患者表现出过敏症状^[94]。

目前,还有些技术虽然未被用于芸豆凝集素的研究当中,但是已经在其他豆类过敏原蛋白的研究中进行了验证。如RNA干扰技术已成功用于抑制花生中过敏蛋白Ara h 2的形成^[95]。糖基化修饰有助于降低大豆凝集素过敏原的敏感性^[96]。一些分子,如多酚,可以与蛋白质过敏原结合,通过阻碍IgE表位的暴露来抑制IgE识别。例如,蓝莓果实中的原花青素C1和绿原酸用于与花生过敏原Ara h 2相互作用,可以改变蛋白质的二级结构,使IgE结合能力分别降低了37%和50%^[97]。在超声波作用下,食物蛋白质结构受到空化现象和传质增强的影响而发生改变,最终影响其致敏特性^[96,98]。已有研究表明,超声(300 W)处理30 min后大豆凝集素IgE结合能力降低了51.39%^[99]。在胰蛋白酶作用下连续超声处理花生,花生过敏原Ara h 1和Ara h 2的免疫反应性降低50%^[100]。还有低温等离子体处理、脉冲光处理、脉冲电场等技术,也可以使大豆和花生的过敏原蛋白发生构象改变,进而影响致敏性的变化^[101-103]。

6 结 语

芸豆的食用安全意义重大。目前,关于芸豆蛋白质的研究已经逐渐让人们意识到,凝集素蛋白不仅具备毒理学特性,更具有致敏免疫特点。虽然凝集素蛋白的致敏性在体内或者体外动物实验中得以验证,但凝集素蛋白如何在细胞和分子层面被抗原递呈及对细胞极化和对细胞因子释放的细节还不清晰。因此,可在未来研究过程中以致敏细胞模型和动物模型为对象,深入开展相关免疫机制研究。凝集素蛋白的空间构象、抗原表位分析是凝集素免疫调控机制的研究基础。在现代食品加工过程中,已经运用一定物理、化学、生物等技术手段有效抑制凝集素蛋白的致敏性,但是在这些处理方法中存在一些特殊的增加致敏性的情况发生,这主要是由于蛋白构象的变化与致敏性的关系尚不明确。所以,积极开展凝集素蛋白结构研究,尤其是明确抗原表位的具体位置、协同食品加工技术手段实现凝集素蛋白的靶向修饰或改性,将是未来芸豆低敏食品开发的重要研究方向。

参考文献:

- [1] PUNIA S, DHULL S B, SANDHU K S, et al. Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) starch: a review[J]. Legume Science, 2020, 2(3): e52. DOI:10.1002/leg3.52.
- [2] 王晓梅. 芸豆引种与优质丰产栽培技术及推广[J]. 基层农技推广, 2022, 10(4): 92-94.
- [3] 张洪学. 创中国芸豆品牌 发展出口创汇农业[J]. 中国种业, 2008(11): 68. DOI:10.19462/j.cnki.1671-895x.2008.11.043.
- [4] 程黔. 近年我国杂粮市场发展状况[J]. 粮食与油脂, 2008(8): 33-35.
- [5] SINGH A, GUPTA A, SHARMA S. Kidney beans: nutritional properties, biofunctional components, and health benefits, handbook of cereals, pulses, roots, and tubers[M]// BANGAR S P, SIROHA A, KUMAR M. Handbook of cereals, pulses, roots, and tubers (1st ed). Boca Raton: CRC Press, 2021: 357-376.
- [6] SHI J, XUE S J, KAKUDA Y, et al. Isolation and characterization of lectins from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*)[J]. Process Biochemistry, 2007, 42(10): 1436-1442. DOI:10.1016/j.procbio.2007.07.015.
- [7] BLAIR M W, WU J, WANG S. Editorial: food legume diversity and legume research policies[J]. The Crop Journal, 2016, 4(5): 339-343. DOI:10.1016/j.cj.2016.09.001.
- [8] XIE Lei, WANG Yingwei, GUAN Shanyue, et al. Prospects and problems for identification of poisonous plants in china using DNA barcodes[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2014, 27(10): 794-806. DOI:10.3967/bes2014.115.
- [9] 李红秋, 贾华云, 赵帅, 等. 2021年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(4): 816-821.
- [10] SUN Yufeng, LIU Jiameng, HUANG Yatao, et al. Phytohemagglutinin content in fresh kidney bean in China[J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 405-413. DOI:10.1080/10942912.2019.1590399.
- [11] KOCOUREK J, HOŘEJŠÍ V. Defining a lectin[J]. Nature, 1981, 290: 188. DOI:10.1038/290188a0.
- [12] CAMPOS-VEGA R, LOARCA-PIÑA G, OOMAH B D. Minor components of pulses and their potential impact on human health[J]. Food Research International, 2010, 43(2): 461-482. DOI:10.1016/j.foodres.2009.09.004.
- [13] BEEBE S, GONZALEZ A V, RENGIFO J. Research on trace minerals in the common bean[J]. Food and Nutrition Bulletin, 2021, 21(4): 387-391. DOI:10.1177/156482650002100408.
- [14] ALATORRE-CRUZ J M, PITA-LÓPEZ W, LÓPEZ-REYES R G, et al. Effects of intragastrically-administered tepary bean lectins on digestive and immune organs: preclinical evaluation[J]. Toxicology Reports, 2018, 5: 56-64. DOI:10.1016/j.toxrep.2017.12.008.
- [15] RAMADASS B, DOKLADNY K, MOSELEY P L, et al. Sucrose co-administration reduces the toxic effect of lectin on gut permeability and intestinal bacterial colonization[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2010, 55(10): 2778-2784. DOI:10.1007/s10620-010-1359-2.
- [16] BANWELL J, BOLDT D, MEYERS J, et al. Phytohemagglutinin derived from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*): a cause for intestinal malabsorption associated with bacterial overgrowth in the rat[J]. Gastroenterology, 1983, 84(3): 506-515. DOI:10.1016/0016-5085(83)90074-4.
- [17] LINDEROTH A, PRYKHODKO O, AHRÉN B, et al. Binding and the effect of the red kidney bean lectin, phytohaemagglutinin, in the gastrointestinal tract of suckling rats[J]. British Journal of Nutrition, 2006, 95(1): 105-115. DOI:10.1079/bjn20051612.
- [18] FREED D L J. Lectins in food: their importance in health and disease[J]. Journal of Nutritional Medicine, 2009, 2(1): 45-64. DOI:10.3109/13590849109084100.

- [19] PUSZTAI A, GRANT G, SPENCER R J, et al. Kidney bean lectin-induced *Escherichia coli* overgrowth in the small intestine is blocked by GNA, a mannose-specific lectin[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1993, 75(4): 360-368. DOI:10.1111/j.1365-2672.1993.tb02788.x.
- [20] NCIRI N, CHO N, MHAMDI F E, et al. Toxicity assessment of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) widely consumed by Tunisian population[J]. Journal of Medicinal Food, 2015, 18(9): 1049-1064. DOI:10.1089/jmf.2014.0120.
- [21] HE Shudong, ZHAO Jinlong, ZHANG Yi, et al. Effects of low-pH treatment on the allergenicity reduction of black turtle bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lectin and its mechanism[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(4): 1379-1390. DOI:10.1021/acs.jafc.0c06524.
- [22] ARAKALI S R, GREEN T D, DINAKAR C. Prevalence of food allergies in South Asia[J]. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 2017, 118(1): 16-20. DOI:10.1016/j.anai.2016.09.441.
- [23] BHATTACHARYA K, SIRCAR G, DASGUPTA A, et al. Spectrum of allergens and allergen biology in India[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2018, 177(3): 219-237. DOI:10.1159/000490805.
- [24] RODHOUSE J, HAUGH C, ROBERTS D, et al. Red kidney bean poisoning in the UK: an analysis of 50 suspected incidents between 1976 and 1989[J]. Epidemiology & Infection, 1990, 105(3): 485-491. DOI:10.1017/s095026880004810x.
- [25] BENDER A E, REAIDI G B. Toxicity of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) with particular reference to lectins[J]. Journal of Plant Foods, 1982, 4(1): 15-22. DOI:10.1080/0142968X.1982.11904243.
- [26] BOUSFIHA A, LOTFI A. Effect of heat and enzymatic treatments on human IgE and rabbit IgG sensitivity to white bean allergens[J]. Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology, 2013, 12(3): 304-311.
- [27] KASERA R, SINGH B P, LAVASA S, et al. Kidney bean: a major sensitizer among legumes in asthma and rhinitis patients from India[J]. PLoS ONE, 2011, 6(11): e27193. DOI:10.1371/journal.pone.0027193.
- [28] BENDER A, REAIDI G. Toxicity of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) with particular reference to lectins[J]. Journal of Plant Foods, 1982, 4(1): 15-22. DOI:10.1080/0142968X.1982.11904243.
- [29] KASERA R, SINGH A B, LAVASA S, et al. Purification and immunobiochemical characterization of a 31 kDa cross-reactive allergen from *Phaseolus vulgaris* (kidney bean)[J]. PLoS ONE, 2013, 8(5): e63063. DOI:10.1371/journal.pone.0063063.
- [30] KASERA R, SINGH B P, LAVASA S, et al. Kidney bean: a major sensitizer among legumes in asthma and rhinitis patients from India[J]. PLoS ONE, 2011, 6(11): e27193. DOI:10.1371/journal.pone.0027193.
- [31] PEUMANS W J, VAN DAMME E J. Lectins as plant defense proteins[J]. Plant Physiology, 1995, 109(2): 347-352. DOI:10.1104/pp.109.2.347.
- [32] RÜDIGER H, GABIUS H J. Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications[J]. Glycoconjugate Journal, 2001, 18(8): 589-613. DOI:10.1023/a:1020687518999.
- [33] WONG J H, NG T B. Purification of a trypsin-stable lectin with antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 301(2): 545-550. DOI:10.1016/S0006-291X(02)03080-2.
- [34] YE X Y, NG T B, TSANG P W K, et al. Isolation of a homodimeric lectin with antifungal and antiviral activities from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds[J]. Journal of Protein Chemistry, 2001, 20(5): 367-375. DOI:10.1023/A:1012276619686.
- [35] 戴大章. 饲料中植物凝集素的检测方法与灭活技术研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2003: 4.
- [36] GOLDSTEIN I J, PORETZ R D. 2. Isolation, physicochemical characterization, and carbohydrate-binding specificity of lectins[M]// LIENER I E, SHARON N, GOLDSTEIN I J. The lectins: properties, functions, and applications in biology and medicine. New York: Academic Press, 1986: 33-247. DOI:10.1016/b978-0-12-449945-4.50007-5.
- [37] BARRE A, DAMME E, SIMPLICIEN M, et al. Are dietary lectins relevant allergens in plant food allergy?[J]. Foods, 2020, 9(12): 1724. DOI:10.3390/foods9121724.
- [38] SCHIAVINO D, NUCERA E, MURZILLI F, et al. Anaphylactic shock after skin test with phytohaemagglutinin[J]. Allergy, 1992, 47: 121-122. DOI:10.1111/j.1398-9995.1992.tb05099.x.
- [39] ROUGÉ P, CULERRIER R, THIBAU F, et al. A case of severe anaphylaxis to kidney bean: phaseolin (vicilin) and PHA (lectin) identified as putative allergens[J]. Allergy, 2011, 66(2): 301-302. DOI:10.1111/j.1398-9995.2010.02466.x.
- [40] KASERA R, SINGH A B, LAVASA S, et al. Purification and immunobiochemical characterization of a 31 kDa cross-reactive allergen from *Phaseolus vulgaris* (kidney bean)[J]. PLoS ONE, 2013, 8(5): e63063. DOI:10.1371/journal.pone.0063063.
- [41] OYARZUN P, ELLIS J J, GONZALEZ-GALARZA F F, et al. A bioinformatics tool for epitope-based vaccine design that accounts for human ethnic diversity: application to emerging infectious diseases[J]. Vaccine, 2015, 33(10): 1267-1273. DOI:10.1016/j.vaccine.2015.01.040.
- [42] SORIA-GUERRA R E, NIETO-GOMEZ R, GOVEA-ALONSO D O, et al. An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: implications on vaccine development[J]. Journal of Biomedical Informatics, 2015, 53: 405-414. DOI:10.1016/j.jbi.2014.11.003.
- [43] WANG Yongfei, HE Shudong, ZHOU Fanlin, et al. Detection of lectin protein allergen of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and desensitization food processing technology[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(49): 14723-14741. DOI:10.1021/acs.jafc.1c02801.
- [44] HE Shudong, ZHAO Jinlong, ELFALLEH W, et al. *In silico* identification and *in vitro* analysis of B and T-cell epitopes of the black turtle bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lectin[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2018, 49(4): 1600-1614. DOI:10.1159/000493496.
- [45] OEZGUEN N, ZHOU B, NEGI S S, et al. Comprehensive 3D-modeling of allergenic proteins and amino acid composition of potential conformational IgE epitopes[J]. Molecular Immunology, 2008, 45(14): 3740-3747. DOI:10.1016/j.molimm.2008.05.026.
- [46] BRINDA K V, VISHVESHWARA S. Oligomeric protein structure networks: insights into protein-protein interactions[J]. BMC Bioinformatics, 2005, 6: 296. DOI:10.1186/1471-2105-6-296.
- [47] NAIR S, KUKREJA N, SINGH B, et al. Identification of B cell epitopes of alcohol dehydrogenase allergen of *Curvularia lunata*[J]. PLoS ONE, 2011, 6: e20020. DOI:10.1371/journal.pone.0020020.
- [48] 赵金龙. 质子化诱导调控芸豆凝集素蛋白致敏性的构效关系研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019: 20-36.
- [49] BARRE A, DAMME E J M V, SIMPLICIEN M, et al. Are dietary lectins relevant allergens in plant food allergy?[J]. Foods, 2020, 9(12): 1724. DOI:10.3390/foods9121724.
- [50] KUMAR S, SHARMA A, DAS M, et al. Leucoagglutinating phytohemagglutinin: purification, characterization, proteolytic digestion and assessment for allergenicity potential in BALB/c mice[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2014, 36(2): 138-144. DOI:10.3109/08923973.2014.884136.

- [51] KUMAR S, VERMA A K, SHARMA A, et al. Phytohemagglutinins augment red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) induced allergic manifestations[J]. Journal of Proteomics, 2013, 93: 50-64. DOI:10.1016/j.jprot.2013.02.003.
- [52] BLÁZQUEZ A B, MAYER L, BERIN M C. Thymic stromal lymphopoietin is required for gastrointestinal allergy but not oral tolerance[J]. Gastroenterology, 2010, 139(4): 1301-1309. DOI:10.1053/j.gastro.2010.06.055.
- [53] SIRACUSA M C, SAENZ S A, HILL D A, et al. TSLP promotes interleukin-3-independent basophil haematopoiesis and type 2 inflammation[J]. Nature, 2011, 477: 229-233. DOI:10.1038/nature10329.
- [54] STENTON G R, VLIAGOFTIS H, BEFUS A D. Role of intestinal mast cells in modulating gastrointestinal pathophysiology[J]. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 1998, 81(1): 1-15. DOI:10.1016/S1081-1206(10)63105-5.
- [55] VERMA A K, KUMAR S, TRIPATHI A, et al. Chickpea (*Cicer arietinum*) proteins induce allergic responses in nasobronchial allergic patients and BALB/c mice[J]. Toxicology Letters, 2012, 210(1): 24-33. DOI:10.1016/j.toxlet.2012.01.011.
- [56] ROUGÉ P, CULERRIER R, THIBAU F, et al. A case of severe anaphylaxis to kidney bean: phaseolin (vicilin) and PHA (lectin) identified as putative allergens[J]. Allergy, 2011, 66(2): 301-302. DOI:10.1111/j.1398-9995.2010.02466.x.
- [57] KUMAR S, VERMA A K, DAS M, et al. Clinical complications of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) consumption[J]. Nutrition, 2013, 29(6): 821-827. DOI:10.1016/j.nut.2012.11.010.
- [58] HAMID R, MASOOD A. Dietary lectins as disease causing toxicants[J]. Pakistan Journal of Nutrition, 2009, 8(3): 293-303. DOI:10.3923/pjn.2009.293.303.
- [59] KING T P, PUSZTAI A, CLARKE E M. Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectin-induced lesions in the small intestine: 1. light microscope studies[J]. Journal of Comparative Pathology, 1980, 90(4): 585-595. DOI:10.1016/0021-9975(80)90107-3.
- [60] SJÖLANDER A, MAGNUSSON K E, LATKOVIC S. The effect of concanavalin A and wheat germ agglutinin on the ultrastructure and permeability of rat intestine: a possible model for an intestinal allergic reaction[J]. International Archives of Allergy and Applied Immunology, 1984, 75(3): 230-236. DOI:10.1159/000233621.
- [61] BERGER A. Science commentary: Th1 and Th2 responses: what are they?[J]. BMJ, 2000, 321: 424. DOI:10.1136/bmj.321.7258.424.
- [62] RAPHAEL I, JOERN R R, FORSTHUBER T G. Memory CD4⁺ T cells in immunity and autoimmune diseases[J]. Cells, 2020, 9(3): 531. DOI:10.3390/cells9030531.
- [63] ZHU J, YAMANE H, PAUL W E. Differentiation of effector CD4⁺ T cell populations*[J]. Annual Review of Immunology, 2010, 28: 445-489. DOI:10.1146/annurev-immunol-030409-101212.
- [64] AVERBECK M, GEBHARDT C, EMMRICH F, et al. Immunologic principles of allergic disease[J]. Journal of the German Society of Dermatology, 2007, 5(11): 1015-1027. DOI:10.1111/j.1610-0387.2007.06538.x.
- [65] UNKELESS J C, SCIGLIANO E, FREEDMAN V H. Structure and function of human and murine receptors for IgG[J]. Annual Review of Immunology, 1988, 6(1): 251-281. DOI:10.1146/annurev.iy.06.040188.001343.
- [66] MATSUO H, YOKOOJI T, TAOGOSHI T. Common food allergens and their IgE-binding epitopes[J]. Allergology International, 2015, 64(4): 332-343. DOI:10.1016/j.alit.2015.06.009.
- [67] KUMAR S, VERMA A K, DAS M, et al. Molecular mechanisms of IgE mediated food allergy[J]. International Immunopharmacology, 2012, 13(4): 432-439. DOI:10.1016/j.intimp.2012.05.018.
- [68] HAAS H, FALCONE F H, SCHRAMM G, et al. Dietary lectins can induce *in vitro* release of IL-4 and IL-13 from human basophils[J]. European Journal of Immunology, 1999, 29(3): 918-927. DOI:10.1002/(sici)1521-4141(199903)29:03<918::Aid-immu918>3.0.Co;2-t.
- [69] SHIBASAKI M, SUMAZAKI R, ISOYAMA S, et al. Interaction of lectins with human IgE: IgE-binding property and histamine-releasing activity of twelve plant lectins[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 1992, 98(1): 18-25. DOI:10.1159/000236160.
- [70] KUMAR S, VERMA A K, SHARMA A, et al. Phytohemagglutinins augment red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) induced allergic manifestations[J]. Journal of Proteomics, 2013, 93(20): 50-64. DOI:10.1016/j.jprot.2013.02.003.
- [71] NCIRI N, CHO N. New research highlights: impact of chronic ingestion of white kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L. var. Beldia) on small-intestinal disaccharidase activity in Wistar rats[J]. Toxicology Reports, 2017, 5: 46-55. DOI:10.1016/j.toxrep.2017.12.016.
- [72] KROGHSSBO S, MADSEN C, POULSEN M, et al. Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHA-E lectin or Bt toxin in Wistar rats[J]. Toxicology, 2008, 245(1/2): 24-34. DOI:10.1016/j.tox.2007.12.005.
- [73] LAVELLE E C, GRANT G, PUSZTAI A, et al. Mucosal immunogenicity of plant lectins in mice[J]. Immunology, 2000, 99(1): 30-37. DOI:10.1046/j.1365-2567.2000.00932.x.
- [74] HOU Yufang, HOU Yubao, LIU Yanyan, et al. Extraction and purification of a lectin from red kidney bean and preliminary immune function studies of the lectin and four chinese herbal polysaccharides[J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, 2010: 217342. DOI:10.1155/2010/217342.
- [75] ZUBCEVIC N, DAMIR S, FOCAK M, et al. Effects of plant lectins on human erythrocyte agglutination[J]. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research, 2016, 17(3): 207-214. DOI:10.1515/sjecr-2016-0031.
- [76] HE Shudong, SIMPSON B K, SUN Hanju, et al. *Phaseolus vulgaris* lectins: a systematic review of characteristics and health implications[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(1): 70-83. DOI:10.1080/10408398.2015.1096234.
- [77] TAKÁCS K, GUILLAMON E, PEDROSA M M, et al. Study of the effect of instant controlled pressure drop (DIC) treatment on IgE-reactive legume-protein patterns by electrophoresis and immunoblot[J]. Food and Agricultural Immunology, 2014, 25(2): 173-185. DOI:10.1080/09540105.2012.759539.
- [78] LIU Cencen, ZHAO Mouming, SUN Weizheng, et al. Effects of high hydrostatic pressure treatments on haemagglutination activity and structural conformations of phytohemagglutinin from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) [J]. Food Chemistry, 2013, 136(3): 1358-1363. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.09.082.
- [79] LU Yunjun, LIU Cencen, ZHAO Mouming, et al. Structure and activity changes of phytohemagglutinin from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) affected by ultrahigh-pressure treatments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(43): 9513-9519. DOI:10.1021/acs.jafc.5b03337.
- [80] KASERA R, SINGH A B, KUMAR R, et al. Effect of thermal processing and γ -irradiation on allergenicity of legume proteins[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(10): 3456-3461. DOI:10.1016/j.fct.2012.07.031.

- [81] MALLIKARJUNAN N, MARATHE S, RAJALAKSHMI D, et al. Effect of ionizing radiation on structural and functional attributes of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lectin[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 59(1): 300-307. DOI:10.1016/j.lwt.2014.04.052.
- [82] HE Qian, SUN Xinabao, HE Shudong, et al. PEGylation of black kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate with potential functional properties[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2018, 164: 89-97. DOI:10.1016/j.colsurfb.2018.01.029.
- [83] YANG Y, HE Q, SUN H, et al. PEGylation may reduce allergenicity and improve gelling properties of protein isolate from black kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Food Bioscience, 2018, 25: 83-90. DOI:10.1016/j.fbio.2018.08.005.
- [84] HE Shudong, SIMPSON B K, NGADI M O, et al. *In vitro* studies of the digestibility of lectin from black turtle bean (*Phaseolus vulgaris*) [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 397-404. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.10.045.
- [85] BISWAS S, KAYASTHA A M. Unfolding and refolding of Leucoagglutinin (PHA-L), an oligomeric lectin from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2004, 1674(1): 40-49. DOI:10.1016/j.bbagen.2004.04.017.
- [86] HE Shudong, ZHAO Jinlong, CAO Xiaodong, et al. Low pH-shifting treatment would improve functional properties of black turtle bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate with immunoreactivity reduction[J]. Food Chemistry, 2020, 330: 127217. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127217.
- [87] TRUGO L C, MUZQUIZ M, PEDROSA M M, et al. Influence of malting on selected components of soya bean, black bean, chickpea and barley[J]. Food Chemistry, 1999, 65(1): 85-90. DOI:10.1016/S0308-8146(98)00207-6.
- [88] SHIMELIS E A, RAKSHIT S K. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa[J]. Food Chemistry, 2007, 103(1): 161-172. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.08.005.
- [89] SAVALKOU F H, TAMMINGA S, LEENAARS P P, et al. The degradation of lectins, phaseolin and trypsin inhibitors during germination of white kidney beans, *Phaseolus vulgaris* L.[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 1994, 45(3): 213-222. DOI:10.1007/bf01094091.
- [90] COFFEY D G, UEBERSAX M A, HOSFIELD G L, et al. Stability of red kidney bean lectin[J]. Journal of Food Biochemistry, 1992, 16(1): 43-57. DOI:10.1111/j.1745-4514.1992.tb00432.x.
- [91] CUADRADO C, HAJOS G, BURBANO C, et al. Effect of natural fermentation on the lectin of lentils measured by immunological methods[J]. Food and Agricultural Immunology, 2002, 14(1): 41-49. DOI:10.1080/09540100220137655.
- [92] MARTÍN-CABREJAS M A, SANFIZ B, VIDAL A, et al. Effect of fermentation and autoclaving on dietary fiber fractions and antinutritional factors of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(2): 261-266. DOI:10.1021/jf034980t.
- [93] RAHAMAN T, VASILJEVIC T, RAMCHANDRAN L. Effect of processing on conformational changes of food proteins related to allergenicity[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 49: 24-34. DOI:10.1016/j.tifs.2016.01.001.
- [94] KASERA R, SINGH A, LAVASA S, et al. Enzymatic hydrolysis: a method in alleviating legume allergenicity[J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 76: 54-60. DOI:10.1016/j.fct.2014.11.023.
- [95] DODO H W, KONAN K N, CHEN F C, et al. Alleviating peanut allergy using genetic engineering: the silencing of the immunodominant allergen Ara h 2 leads to its significant reduction and a decrease in peanut allergenicity[J]. Plant Biotechnology Journal, 2008, 6(2): 135-145. DOI:10.1111/j.1467-7652.2007.00292.x.
- [96] EKEZIE F G C, CHENG Junhu, SUN Dawen. Effects of nonthermal food processing technologies on food allergens: a review of recent research advances[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 74: 12-25. DOI:10.1016/j.tifs.2018.01.007.
- [97] PLUNDRICH N J, COOK B T, MALEKI S J, et al. Binding of peanut allergen Ara h 2 with *Vaccinium* fruit polyphenols[J]. Food Chemistry, 2019, 284: 287-295. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.01.081.
- [98] CHEMAT F, ZILL E H, KHAN M K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18(4): 813-835. DOI:10.1016/j.ultsonch.2010.11.023.
- [99] YANG Hui, GAO Jinyan, YANG Anshu, et al. The ultrasound-treated soybean seeds improve edibility and nutritional quality of soybean sprouts[J]. Food Research International, 2015, 77: 704-710. DOI:10.1016/J.FOODRES.2015.01.011.
- [100] LI Hao, YU Jianmei, AHMEDNA M, et al. Reduction of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2, in roasted peanuts by ultrasound assisted enzymatic treatment[J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 762-768. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.03.049.
- [101] MEINLSCHMIDT P, UEBERHAM E, LEHMANN J, et al. The effects of pulsed ultraviolet light, cold atmospheric pressure plasma, and gamma-irradiation on the immunoreactivity of soy protein isolate[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 38: 374-383. DOI:10.1016/j.ifset.2016.06.007.
- [102] VANGA S K, SINGH A, KALKAN F, et al. Effect of thermal and high electric fields on secondary structure of peanut protein[J]. International Journal of Food Properties, 2016, 19(6): 1259-1271. DOI:10.1080/10942912.2015.1071841.
- [103] YANG W W, MWAKATAGE N R, GOODRICH-SCHNEIDER R, et al. Mitigation of major peanut allergens by pulsed ultraviolet light[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(7): 2728-2738. DOI:10.1007/s11947-011-0615-6.