



Właściwości immunogenne wybranych produktów żywnościowych

Barbara Wróblewska, Lucjan Jędrychowski

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polska Akademia Nauk, Olsztyn

Immunogenic properties of selected food products

Summary

Food allergy is caused mainly by cow milk, eggs, fish, citrus fruits and peanuts. Excluding the above-mentioned products from the diet for atopic people is the most effective way of dealing with the problem. Additionally some food components can cross react and some hidden allergens can occur in food products. The estimation of the allergenic properties of various food products appears to be a very important problem nowadays.

The main cow milk whey allergens (α -la and β -lg) and one of the most important peanut allergens Ara h 1 were examined by using the ELISA method. The above-mentioned allergens affect the immunoreactive properties of dairy products (kefir, yoghurt, cheese and child formulas) and sweet confectioneries (chocolate products, chocolate bars, sweet cream spreads). This article presents the data of selected food products.

Key words:

α -la, β -lg, whey protein, peanut, Ara h 1, ELISA, immunogenic properties, dairy products.

Adres do korespondencji

Barbara Wróblewska,
Instytut Rozrodu Zwierząt
i Badań Żywności,
Polska Akademia Nauk,
ul. Tuwima 10,
10-747 Olsztyn;
e-mail:
Barbara.Wroblewska@pan.
olsztyn.pl

1. Wprowadzenie

W produkcji żywności obecnie proponowane są nowoczesne technologie oraz możliwość zastosowania nowych substancji mających wpływ na jakość i atrakcyjność towarów. Powoduje to niejednokrotnie zmiany właściwości funkcjonalnych i biologicznych, w tym zmiany w zakresie immunogenności poszczególnych produktów żywnościowych. Jednostki charakteryzujące się osobniczą nadwrażliwością na obce gatunkowo białka oraz nie-

które substancje zawarte w pożywieniu, takie jak barwniki, konserwanty (siarczany), czy też popularny ostatnio dodatek glutaminianu sodu, często zapadają na alergię pokarmową. Wiele jest czynników, które sprawiają, że ludzie są coraz bardziej podatni na wszelkiego rodzaju alergię. Można wskazać dwie główne grupy czynników: uwarunkowania genetyczne pacjenta oraz wpływ środowiska (1). Genetyczne dziedziczenie cech jest niezaprzeczalnym faktem i w wyniku występowania atopii można spodziewać się zwiększonego stopnia ryzyka zapadalności na tę chorobę u poszczególnych osobników. Do czynników zewnętrznych zalicza się zmiany środowiskowe spowodowane m.in. zanieczyszczeniem środowiska, zbyt wczesnym zaprzestaniem karmienia piersią, bądź jego całkowity brak, zwiększoną ekspozycją na alergeny, biernym oraz czynnym paleniem papierosów.

Alergia pokarmowa jest to reakcja nadwrażliwości związana z nieprawidłową odpowiedzią immunologiczną organizmu, w której układ ten reaguje nadmiernie na zwyczajowo spożywane pokarmy lub związki dodawane do żywności. Reakcje te występują u ludzi z predyspozycją genetyczną (2). Najczęściej przypisuje się właściwości alergizujące takim pokarmom jak mleko krowie, jaja, ryby, cytrusy i orzeszki ziemne. Alergia pokarmowa pojawiająca się u niemowląt i dzieci do lat 5 jest głównie spowodowana nadwrażliwością na białka mleka. Stwierdzono, że w grupie niemowląt karmionych piersią częstość występowania alergii na mleko wynosi 0,5%, zaś w grupie dzieci karmionych sztucznie 1,9-4,4%. Zalecaną zasadą postępowania w takich przypadkach jest zastosowanie diety eliminacyjnej, czyli czasowe lub stałe usunięcie z diety szkodliwego bądź źle tolerowanego składnika pokarmowego, a zastąpienie jego innym składnikiem. Przy czym okazuje się, że alergia na białka soi pojawia się u podobnej liczby pacjentów, a w 14% przypadków notuje się współistnienie obydwu rodzajów schorzenia. W późniejszym wieku alergię pokarmową zazwyczaj zanikają lub zmieniają formę objawów. Wyjątkiem jest uczulenie na orzeszki ziemne, które należy do długotrwałych chorób (3). Obecnie mając na uwadze prozdrowotne właściwości żywności zwraca się uwagę na potrzebę oznaczania produktów etykietą, na której producent gwarantowałby „niealergizujący” jej charakter. W świetle obecnej wiedzy, jak się wydaje, jest to jednak niemożliwe, chociażby ze względu na wybitnie indywidualny charakter reakcji alergicznych pacjentów, a co z tym jest związane, odmienność objawów klinicznych.

W minionej dekadzie zaobserwowano zdecydowany wzrost reakcji alergicznych spowodowanych spożywaniem orzeszków arachidowych (*Arachis hypogaeae*), co niejednokrotnie kończyło się szokiem anafilaktycznym (4). Główny alergen orzeszków ziemnych, Ara h 1, należący do grupy wicilin, posiada masę cząsteczkową 63,5 kD, a jego punkt izoelektryczny wynosi 4,55 (5). W badaniach immunometrycznych prowadzonych metodą ELISA, w których zastosowano przeciwciała monoklonalne wykazano, że alergen Ara h 1 posiada cztery różne epitopy – miejsca antygenowe (6). Stwierdzono także, że jest on również całkowicie odporny na działanie wysokiej temperatury (7). Dawka progowa białka arachidowego, która może pobudzić organizm do walki z alergenem jest bardzo zróżnicowana. U niektórych pacjentów dawka prowokująca, poda-

wana w ilości jedynie 100 µg białka arachidowego, jest w stanie wzbudzić reakcję alergiczną, u innych zaś pierwsze objawy reakcji alergicznej zaobserwowano dopiero po spożyciu 2 mg tego białka. Zauważono także, że są pacjenci, alergicy, nie reagujący na obecność alergenu arachidowego nawet po spożyciu 50 mg mączki z orzeszków ziemnych (8). Praktycznie jedynym skutecznym sposobem, dla osób cierpiących na alergie pokarmowe wywoływane spożyciem arachidów, jest unikanie kontaktów z potencjalnym alergenem. Często jednak jest to trudne. Śladowe ilości orzeszków arachidowych mogą znajdować się w różnych produktach żywnościowych, co nie zawsze jest deklarowane na etykiecie towaru, w tym także napojów i kosmetyków. Zagrożeniem dla zdrowia może okazać się spożywanie takich produktów spożywczych, których poszczególne składniki będą wykazywały duże podobieństwo immunologiczne do potencjalnego alergenu tzn. będą charakteryzować się wysokim poziomem reakcji krzyżowych z alergenem Ara h1. Dlatego też możliwość określania obecności białek alergennych arachidów jest niezwykle istotną analizą.

2. Materiały i metody

W przedstawionej pracy oszacowano właściwości immunogenne wybranych produktów przemysłu mleczarskiego (jogurtów, kefirów, serów i odżywek dziecięcych) wobec przeciwciał poliklonalnych skierowanych do α -laktoalbuminy (α -la) i β -laktoglobuliny (β -lg), wyprodukowanych w Zakładzie Enzymów i Alergenów Żywności w Olstynie. Immunoreaktywność białek serwatkowych oszacowano metodą współzawodniczącą (*competitive*) ELISA. Obecność głównego alergenu orzeszków ziemnych (*Arachis hypogaeae*) Ara h 1 w produktach przemysłu cukierniczego oznaczono metodą kanapkową ELISA. Analizie immunometrycznej poddano wyroby cukiernicze takie jak czekolady, batoniki i kremy do smarowania pieczywa pochodzące z różnych firm. Wśród wyrobów były takie, dla których producent podawał w składzie obecność orzeszków ziemnych, a także i takie, które nie zawierały tej deklaracji. Do oszacowania zawartości Ara h 1 zastosowano immunometryczny test RIDASCREEN® Peanut firmy R-Biopharm. W prezentacji wyników nie podano dokładnych nazw produktów oraz firm je produkujących.

2.1. Przygotowanie prób produktów mleczarskich

Wybrane produkty mleczarskie zakupiono w sklepach. Roztwory ekstraktów do badań przygotowano w następujący sposób. Stężenie białka w kefirach i jogurtach zmniejszono poprzez rozcieńczenie produktów mleczarskich z wodą destylowaną, natomiast odżywki dziecięce rekonstruowano według procedury zalecanej przez producenta i wirowano w celu oczyszczenia próby z części stałych, np. ryżu. Sery poddawano homogenizacji w obecności 0,5 M roztworu cytrynianu sodu, utrzy-

mując temperaturę 40-50°C, a następnie sączono przez bibułę typu Whatman. Użytkany w ten sposób przesącz przeznaczano do analizy.

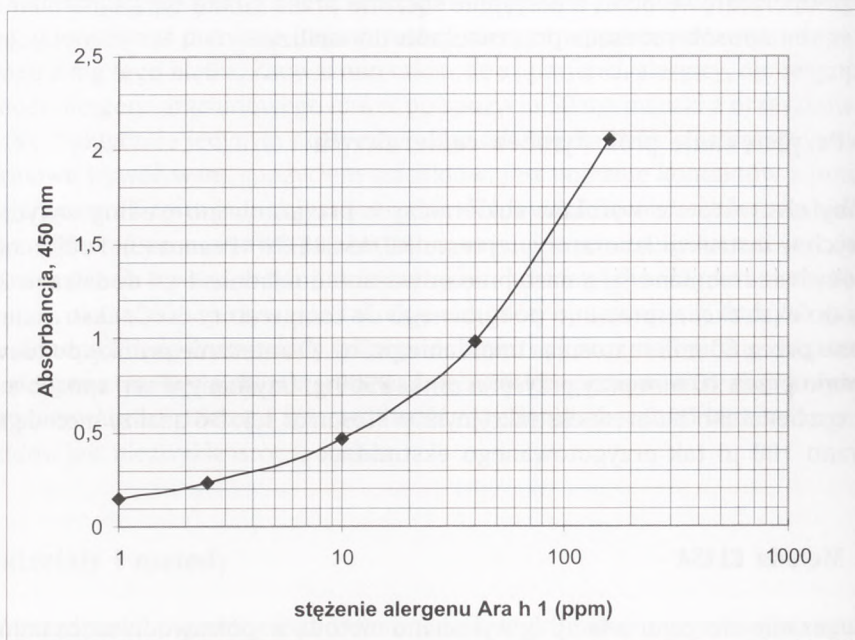
2.2. Przygotowanie prób wyrobów cukierniczych

Próby ekstraktów z wyrobów cukierniczych przygotowano według wytycznych zawartych w instrukcji laboratoryjnej testu RIDASCREEN® Peanut (9). Pobierano ok. 5 g próby, rozdrabniano ją, a następnie odważano dokładnie 1 g i dodawano 20 ml buforu do ekstrakcji, uprzednio podgrzanego do temperatury 60°C. Ekstrakcję prowadzono przez 60 minut stosując mieszanie próby. Ostatecznie próbkę poddawano wirowaniu przez 10 min przy przyspieszeniu 2500 g. Uzyskany w ten sposób supernatant rozcieńczano buforem ekstrakcyjnym w stosunku 1:5. Do analizy metodą ELISA pobierano 100 µl tak przygotowanego ekstraktu.

2.3. Metoda ELISA

Oznaczanie alergenu α -Ia i β -Ig wykonano metodą współzawodniczącą immunoenzymatyczną (*competitive*) ELISA, opisaną we wcześniejszej publikacji (10). Przeciwciała skierowane do wymienionych białek uzyskano w Zakładzie Enzymów i Alergenów Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie (11). Wszystkie niezbędne odczynniki do analizy metodą ELISA pochodziły z firmy Sigma.

W badaniach dotyczących oznaczania Ara h 1 stosowano metodę kanapkową ELISA. Do wykonania testu wykorzystano mikroplótkę pokrytą przeciwciałem poliklonalnym, skierowanym do głównego alergenu orzeszków arachidowych Ara h 1. Następnie do części studzienek dodano roztwory standardu w stężeniach 0, 2,5, 10, 40, 160 ppm, a do pozostałych przygotowane ekstrakty prób w ilości 100 µl. Całość inkubowano w ciągu 30 minut, w temperaturze pokojowej. W kolejnych etapach analizy mikroplótkę płukano 4 razy i dodawano 100 µl koniugatu immunoglobuliny z peroksydazą. Po delikatnym wymieszaniu, mikroplótkę poddawano powtórnej inkubacji w ciągu 30 min, w temperaturze pokojowej. Powtarzano proces płukania jw. i dodawano jednocześnie do każdej studzienki substratu oraz chromogenu zawierającego tetrametylobenzydynę. Po zmieszaniu obydwu analitów i inkubacji przez 30 min w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła, zatrzymywano reakcję enzymatyczną stosując dodatek 1 M roztworu kwasu siarkowego w ilości 100 µl na studzienkę. Pomiaru absorbancji dokonywano wobec próby ślepej, przy długości fali wynoszącej 450 nm. Zawartość alergenu Ara h 1 w próbach określono na podstawie wyznaczonej krzywej standardowej (rys. 1).



Rys. 1. Krzywa standardowa dla alergenu Ara h 1.

3. Wyniki

3.1. Oszacowanie zawartości immunoreaktywnej α -la i β -lg w produktach mleczarskich

Oznaczając zawartość immunoreaktywnej α -la i β -lg w wybranych produktach mleczarskich, uzyskane wyniki przedstawiono w porównaniu do immunoreaktywności poszczególnych białek w mleku surowym, którą przyjęto jako 100%. Procesy termiczne i biotechnologiczne stosowane podczas produkcji kefiru mają znaczący wpływ na obniżenie immunoreaktywności α -la i β -lg (tab. 1). Próby oznaczone K1, K2 i K3 były przygotowane w warunkach laboratoryjnych, zaś próby oznaczone K4 i K5 były handlowo dostępnymi produktami. Stwierdzono, że próby wyprodukowane ze szczególnym uwzględnieniem warunków technologicznych oraz higienicznych, charakteryzują się niewielką immunoreaktywnością α -la, w zakresie 0,14-2,18% i β -lg w zakresie 0,13- 4,88% w stosunku do mleka surowego. Próby zakupione w sklepie, posiadały o wiele wyższą immunoreaktywność, na poziomie 43,47% (α -la) i 35,73% (β -lg). Podobne zależności stwierdzono podczas analizy prób jogurtów w stosunku

do zawartości α -la. W próbach przygotowanych w warunkach laboratoryjnych, określono, że poziom immunoreaktywnej α -la został zredukowany do wartości poniżej 1%, zaś handlowo dostępne jogurty charakteryzowały się zawartością tego białka w granicach 3,74-20,81%. Pozostała immunoreaktywność β -lg we wszystkich próbach wynosiła kilkanaście procent, bez względu na pochodzenie prób. Analizie immunometrycznej zostały również poddane sery pochodzące z różnych wytwórni. Procesy technologiczne i biotechnologiczne, którym poddawane jest mleko podczas produkcji sera, również wpływają na obniżenie immunoreaktywnych właściwości gotowych produktów w odniesieniu do obydwu białek serwatkowych. W wymienionych produktach mleczarskich najwyższą stwierdzoną zawartością α -la było 8,73%, zaś w przypadku β -lg wartości wahały się w granicach 17,42-37,78% w stosunku do immunoreaktywności obserwowanej w mleku surowym. Poddano również ocenie grupę mlecznych odżywek dziecięcych: z dodatkiem zbóż, ryżu i aromatów owocowych. Były to produkty przeznaczone do podawania dzieciom zdrowym, bez szczególnego uwzględnienia cierpiących na choroby alergiczne. Poziom stwierdzonej immunoreaktywnej α -la był w granicach 0,62-5,68%, zaś β -lg ok. kilku procent, a w jednym przypadku, przekroczył 30% (tab. 2).

Tabela 1

Zmiany immunoreaktywnych właściwości białek serwatkowych pod wpływem namnażania czystych kultur kefirowych oraz w produktach handlowych

Rodzaj szczepionki lub produktu	Pozostała immunoreaktywność α -la i β -lg w stosunku do mleka surowego	
	α -la (%)	β -lg (%)
próby kefirów		
K1	0,14	0,13
K2	0,91	3,53
K3	2,18	4,88
K4	43,47	35,73
K5	27,02	6,46
próby jogurtów		
J1	9,53	5,02
J2	17,73	6,07
J3	7,52	16,45
J4	3,74	12,41
J5	12,52	12,12
J6	20,81	17,07
J7	8,95	22,55
Jog 12	0,97	19,44
Jog 14	0,15	21,55
Jog 17	0,96	12,74
Jog K	0,64	17,91
Jog H	0,62	11,77

Tabela 2

Ocena wybranych produktów mleczarskich pod względem ich immunoreaktywności wynikającej z obecności α -laktoalbuminy i β -laktoglobuliny

Rodzaj produktu handlowego	Pozostała immunoreaktywność α -la i β -lg w stosunku do mleka surowego	
	α -la (%)	β -lg (%)
próby serów		
S1	7,21	23,43
S2	6,33	25,01
S3	6,01	17,42
S4	8,73	25,62
S5	4,52	37,78
S6	1,02	31,73
S7	1,03	33,21
S8	0,72	18,29
odżywki dziecięce		
kaszka mleczno-zbożowa	5,68	7,23
odżywka mleczna 1	1,84	8,67
odżywka mleczna 2	1,33	7,28
odżywka mleczno-ryżowa z bananami	0,62	33,43
kaszka mleczno-ryżowa z morełami	4,14	7,40
kaszka mleczno-ryżowa z naturalnym aromatem jabłkowym	1,29	4,95
kaszka mleczno-ryżowa z malinami	3,16	5,74

3.2. Oszacowanie zawartości Ara h 1 w produktach cukierniczych

Zawartość Ara h 1 oszacowaną dla orzeszków ziemnych wynoszącą 20 tys. ppm przyjęto jako zawartość antygeny w pozytywnej próbie kontrolnej (tab. 3). Wśród poddanych analizie produktów pierwszą grupę stanowiły takie, których etykiety nie zawierały informacji dotyczącej obecności orzeszków arachidowych w składzie wyrobu. Była to czekolada pełnomleczna z orzechami laskowymi, czekolada mleczna i czekolada deserowa. W wymienionych produktach stwierdzono zawartość alergenu Ara h 1 na poziomie 1100-7000 ppm (tab. 3). Pomimo że produkty te teoretycznie nie miały zadeklarowanej zawartości arachidów, jednak zaobserwowano bardzo wyraźną reakcję z przeciwciałem. Fakt ten może mieć zasadnicze znaczenie dla osób uczulonych na orzeszki arachidowe albowiem uzyskane dane wskazują na obecność determinanty antygenowej reagującej tak jak Ara h 1. Drugą grupę produktów stanowiły słodczyce o składzie wskazującym na użycie orzeszków arachidowych jako jednego ze składników. Były to dwa batoniki oznaczone w tabeli 3 jako „P” i „K”, orzechowo-czekoladowy krem do smarowania pieczywa 1 i 2, czekolady z arachidami oznaczone jako „F” i „A”, oraz czekolada mleczna z bakaliami. W tych próbach spodziewano się wyniku dodatniego. Zawartość oznaczonego alergenu Ara h 1 dla tych produktów mieściła się w granicach 1000-1800 ppm (tab. 3).

Tabela 3

Wyniki oznaczania alergenu Ara h 1 w wybranych surowcach i produktach przy użyciu testu RIDASCREEN Peanut, firmy R-Biopharm GmbH

Surowiec/produkt*	Wynik średni absorbancji 450 nm	Zawartość alergenu, ppm
orzechowo-czekoladowy krem do smarowania – 1	0,483	1 000
czekolada pełnomleczna z orzechami laskowymi	0,516	1 100
czekolada mleczna	0,617	1 700
czekolada deserowa	1,425	7 000
batonik z orzeszkami ziemnymi – „P”	2,036	15 000
batonik z orzeszkami ziemnymi – „K”	2,082	16 000
orzechowo-czekoladowy krem do smarowania – 2	2,087	16 000
czekolada z orzeszkami ziemnymi – „F”	2,125	17 000
czekolada z orzeszkami ziemnymi – „A”	2,189	18 000
czekolada mleczna z bakaliami	2,189	18 000
orzeszki ziemne – <i>Arachis hypogea</i>	2,195	20 000

* przy nazwach ocenianych surowców zostały pominięte nazwy gatunkowe, natomiast wyszczególniając kolejne produkty cukiernicze zastosowano nazwy ogólne bez podawania firm produkujących wymienione wyroby.

4. Dyskusja

Alergia pokarmowa jest coraz częściej obserwowaną i rozpowszechnioną chorobą. Jednym z głównych surowców wywołujących reakcje nadwrażliwości jest mleko krowie. Spożywane od najmłodszych lat przez niemowlęta i dzieci obciążone atopią, często stanowi zagrożenie dla zdrowia, albowiem może doprowadzić do szoku anafilaktycznego. Dlatego też nieodzowne, jak się wydaje, jest dążenie do modyfikacji składu białkowego, w kierunku zmniejszenia, bądź eliminacji właściwości alergennych. Określaniem wpływu tak uzyskiwanych hydrolizatów na zdrowie pacjentów zajmują się lekarze alergolodzy, oceniając manifestacje kliniczne organizmu po spożyciu odżywkę, a także stosują techniki analityczne pozwalające oszacować poziom poszczególnych przeciwciał ogólnych i specyficznych (głównie IgE) (12-14). Trudno jednakże znaleźć publikacje, w których autorzy przedstawiliby wyniki dotyczące immunoreaktywności poszczególnych produktów przemysłu mleczarskiego, znajdujące się na rynku handlowym. Będąc świadomym takich informacji, można komponować dietę według potrzeb i wymagań pacjenta. Dużą rolę obok znanych źródeł potencjalnych alergenów, odgrywają tzw. „alergeny ukryte”, których obecności nie spodziewamy się w danym pokarmie, a także możliwość wystąpienia reakcji krzyżowych dających również reakcje alergiczne (15).

W pracy oszacowano immunoreaktywność czterech grup produktów mleczarskich, różniących się pomiędzy sobą technologią produkcji. We wszystkich produktach podstawowym surowcem było mleko, poddane pasteryzacji. Ten proces ter-

miczny ma znaczący wpływ na obniżenie właściwości immunoreaktywnych, aczkolwiek całkowicie ich nie likwiduje (11). Bardzo znaczący wpływ na immunoreaktywność gotowych produktów mają egzogenne enzymy bakterii fermentacji mlekowej, wchodzące w skład kultur kefirowych i jogurtowych. Stwierdzono, że immunoreaktywność próbek zmodyfikowanych w warunkach laboratoryjnych przez kultury stosowane do produkcji napojów fermentowanych w odniesieniu do α -li była obniżona o ponad 99%. Zawartość β -lg w wyniku działania kultur mikrobiologicznych kształtowała się na nieco wyższym poziomie. Immunoreaktywność β -lg w próbkach badanych jogurtów sięgała kilkunastu procent, co może wskazywać na zróżnicowane działanie poszczególnych szczepów.

Podczas wyrobu serów podpuszczkowych następuje wytrącenie pankazeinianu wapnia i oddzielenie białek serwatkowych. W wyniku takich procesów można by się spodziewać znacznego obniżenia immunoreaktywności obydwu alergenów białek serwatkowych α -la i β -lg w gotowym produkcie. Ich obecność w głównej mierze zależy od stopnia osuszenia ziarna w czasie obróbki gęstwy serowej. Dodatkowym czynnikiem wpływającym na zawartość wymienionych białek są procesy proteolityczne uzależnione od współdziałania enzymów koagulujących, enzymów wchodzących w skład zakwasów serowarskich i kwasowości sera. W wyniku zmiany immunoreaktywności serów wynikającej z obecności α -la stwierdzono pewne zróżnicowanie wyników (tab. 2). Sery wysoko dogrzewane (S1, S2, S3, S4) charakteryzowały się wyższą pozostałą immunoreaktywnością α -la, na poziomie 6,01-8,73%, ser pleśniowy, S6 – 1,02%, zaś ser S8 przy produkcji, którego stosuje się proces ultrafiltracji mleka, zawierał jedynie 0,72% α -la. Rozpatrując immunoreaktywność β -lg nie zauważono tak wyraźnych wzajemnych zależności, a jej zawartość kształtowała się na stosunkowo wysokim poziomie 18,29-37,73% w stosunku do mleka sroowego.

Grupa produktów mleczarskich takich jak odżywki dziecięce skierowana jest do grupy osób potencjalnego ryzyka alergii, tj. niemowląt, u których dopiero następuje kształtowanie się funkcji jelita, poprzez zasiedlanie bakteriami. Czasami równowaga jelitowa jest trudna do osiągnięcia wskutek uwarunkowań genetycznych bądź środowiskowych. W takich przypadkach żywienie chorego jest wspomagane odżywkami wyprodukowanymi na bazie mleka krowiego. Informacja o ich alergenicności mogłaby być np. wskazówką dla matki w doborze najlepszej diety. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że odżywki i kaszki charakteryzują się pozostałą immunoreaktywnością α -la do 5,68%, zaś β -lg do 8,67%, zaś w jednym przypadku ilość ta była dużo wyższa i wynosiła 33,43% (tab. 2).

Orzeszki arachidowe ze względu na swoje walory sensoryczne są coraz chętniej używanym dodatkiem do różnych rodzajów żywności. Stanowią także źródło taniego i wartościowego białka roślinnego. Jednocześnie charakteryzują się pożądaną cechą zmiany lepkości żywności, która często decyduje o zastosowaniu ich w technologii żywności, szczególnie w kuchni azjatyckiej i amerykańskiej (15).

W pracy poddano analizie różne wyroby czekoladowe. Produkty, w których składzie firmy nie deklarowały obecności orzeszków arachidowych, także wykazywały

obecność alergenu arachidowego Ara h 1, na dosyć wysokim poziomie 1100-7000 ppm. Niektórzy z autorów podają jako przyczynę takiego stanu rzeczy mimowolne zanieczyszczenie linii produkcyjnej cząsteczkami białka orzeszków arachidowych (17). Inni zaś podkreślają istotny i bardzo trudny do analizy problem tzw. „ukrytych alergenów” (18,16,19). Pojawiła się konieczność oznaczania dokładnego składu surowcowego poszczególnych produktów, na ich etykietach, z uwzględnieniem produktów o potencjale alergennym. Stanowi to, jak się wydaje, konieczny warunek mogący pomóc w doborze prawidłowej diety, głównie dla ludzi cierpiących na schorzenia alergiczne. Podstawą prawidłowego leczenia jest unikanie jakiegokolwiek kontaktu z substancją wywołującą alergię. Prawo szwajcarskie wymaga, aby na etykiecie towaru były wyszczególnione wszystkie składniki, które zostały zastosowane w wyrobie w ilości powyżej 2% ogólnej masy. W przypadku tzw. „mieszanki warzywnej” deklarowana jej ilość winna być podawana na etykiecie powyżej 10% ogólnej masy. W przypadku dodatku do żywności orzeszków ziemnych pojawia się problem, albowiem arachidy są zaliczane do rodziny botanicznej roślin strączkowych, natomiast jako dodatek do wyrobów nie występują zazwyczaj w ilości powyżej 10%. Tym samym nie ma potrzeby zaznaczania ich obecności na etykiecie towaru. Biorąc pod uwagę aspekty zdrowotne konieczne, jak się wydaje, jest wprowadzenie zmian legislacyjnych (19). W próbkach produktów czekoladowych wyprodukowanych w Polsce, w których składzie zaznaczono obecność orzeszków arachidowych, podczas analizy immunometrycznej stwierdzono obecność alergenu Ara h 1 na poziomie 15 000-18 000 ppm. Ostatnio metody analityczne z wykorzystaniem reakcji antygen-przeciwciała w analizie żywności stają się coraz powszechniejsze.

5. Wnioski

W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono przydatność metod immunometrycznych ELISA do oznaczania głównych alergenów mleka krowiego α -la i β -lg oraz orzeszków arachidowych Ara h 1. Przedstawiona praca jest przyczynkiem do pokazania możliwości analitycznych współczesnych metod badawczych polegających na specyficznej reakcji antygen-przeciwciała.

Literatura

1. de Swert L. F. A., (1999), *Eur. J. Pediatr.*, 158, 89-94.
2. Zagórecka E., Piotrowicz J., Kaczmarski M., Piotrowska-Jastrzębska J., (2000), *Przemysł Spożywczy*, 7, 8-10.
3. David T. J., (2000), *British Medical Bulletin*, 56 (1), 34-50.
4. Maleki S. J., Kopper R. A., Shin D. S., Chun-Wook Park, Compadre C. M., Sampson H., Burks A. W., Bannon G. A., (2000), *The J. of Immunology*, 164, 5844-5849.
5. Burks A. W., Williams L. W., Helm R. M., Connaughton C., Cockrell G., O'Brien T., (1991), *J. Allergy Clin. Immunol.*, 88(2), 172-179.

6. Burks A. W., Cockrell G., Connaughton C., Helm R. M., (1994), *J. Allergy Clin. Immunol.*, 993 (4), 743-750.
7. Koppelman S. J., Bruijnzeel-Koomen C. A., Hessing M., de Jongh H. H., (1999), *J. Biol. Chem.*, 19, 274 (8), 4770-4777.
8. Keck-Gassenmeier B., Benet S., Rosa C., Hischenhuber C., (1999), *Food and Agricultural Immunology*, 11, 243-250.
9. RIDASCREEN® Peanut, Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of peanut, R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany Art. No. R 6201.
10. Wróblewska B., (1996), *Studia nad eliminacją alergennych właściwości białek serwatkowych mleka w wybranych procesach technologicznych i biotechnologicznych*, praca doktorska, Olsztyn.
11. Wróblewska B. Jędrychowski L., (2001), *Biotechnologia*, 3, 54,1 189-201.
12. Lin R. Y., Schwartz L. B., Curry A., Pecola G. R., Knight R. J., Lee H-S., Bakalchuk L., Tanenbaum C., Westfal R. E., (2000), *J. Allergy Clin. Immunol.*, July, 65-71.
13. Szabó I., Eigenmann P. A., (2000), *Allergy*, 55, 42-49.
14. Sütas Y., Kekki O.-M., Isolauri E., (2000), *Clinical and Experimental Allergy*, vol. 30, 1121-1128.
15. Wróblewska B., (1999), *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, (19) 2, 5-14.
16. Borelli S., Anliker M. D., Wuthrich B., (1999), *Dtsch. Med. Wochenschr Oct.*, 15, 124 (41), 1197-2000.
17. Moneret Vautrin D. A., (1998), *Aller. Immunol (Paris)*, Jan, 30, 1, 9-13.
18. Brett G. M., Bull V. J., Morgan M. R., (1998), *Allergy* 53, (46 Suppl.), 1109-1110.
19. Hogendijk S., Eigenmann P. A., Hauser C., (1998), *Schweiz Med. Wochenschr*, Jul 21, 128, 29-30, 1134-1137.