

Vplyv spracovania potraviny na alergenicitu

Miriama Medeková

Bakalářská práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Miriama MEDEKOVÁ**
Osobní číslo: **T06368**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Vliv zpracování potraviny na alergenicitu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Vysvětlení základních pojmů týkající se alergie.
2. Dělení a projevy alergií.
3. Přehled alergizujících potravin.
4. Změna alergenicity při zpracování potravin.
5. Stanovení alergenů v potravinách.
6. Výskyt alergií v zemích EU.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] PRUŽINEC, P. Alergia a antihistaminiká. Bratislava : Bonus, 2005, 158 s. ISBN 8096849166.

[2] HRUBIŠKO, M. a kol. Alergologie. Martin : Osveta, 2003. s. 519. ISBN 8080631107.

[3] LEIBOLD, G. Alergie. Praha : Svoboda-Lebertas, 1993, 133 s. ISBN 8020503153.

[4] CRESPO, J. a kol. Food allergy: nuts and tree nuts. British Journal of Nutrition, 96, 2006, 95-102s.

[5] <http://www.alergie.cz/Edukacni-brozury.aspx>.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Monika Černá

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2010

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2010

Ve Zlíně dne 15. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: *Medelová Hana*

Obor: *CHTP*

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně *20.5.2010*

Medelová
.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Abstrakt slovensky

Všade prítomnosť alergénov v ľudských potravinách spojená s ľudskou informovanosťou o potravinovej alergii zaručuje vhodné preventívne opatrenia na ochranu citlivých spotrebiteľov pred nežiaducim obťažovaním potravinovou alergiou. Pokusy o zníženie alebo odstránenie potravinovej alergie cez spracovanie potravín sa stretlo s rôznymi výsledkami. Dôvodom pre používanie spracovania potravín znížením alebo odstránením alergenicity a obmedzenie pri používaní tohto prístupu sú opísané v tejto práci.

Kľúčová slova: Potravinová alergia, alergén, spracovanie, teplota

ABSTRACT

Abstrakt v anglickom jazyku

The ubiquitous presence of allergens in the human food supply coupled with increased awareness of food allergies warrants undertaking appropriate preventive measures to protect sensitive consumers from unwanted exposure to offending food allergens. Attempts to reduce or eliminate food allergenicity through food processing have met with mixed results. The rationale for using food processing to reduce or eliminate allergenicity and limitations to using this approach are described in this thesis.

Keywords: Food allergy, allergen, processing, temperature

Pod'akovanie

Ďakujem Mgr. Monike Černej za ochotu a odborné rady, ktorými mi pomohla pri tvorbe bakalárskej práci. Ďakujem tiež mojej rodine a za podporu počas celého štúdia.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ZÁKLADNÉ POJMY TÝKAJUCE SA ALERGIE	12
1.1 POTRAVINOVÁ ALERGIA	12
1.1.1 Alergická reakcia.....	13
1.2 POTRAVINOVÁ INTOLERANCIA.....	14
2 PREHĽAD ALERGIZUJÚCICH POTRAVÍN A ICH PREJAVY	15
2.1 ADITIVA AKO POTRAVINOVÉ ALERGÉNY	15
2.1.1 Potraviny nového typu a alergia	16
2.2 POTRAVINOVÉ ALERGÉNY ŽIVOČÍŠNEHO A RASTLINNÉHO PÔVODU.....	17
2.2.1 Živočíšne potravinové alergény	18
2.2.1.1 Ryby.....	18
2.2.1.2 Kôrovce a mäkkýše.....	18
2.2.1.3 Mlieko a jeho produkty.....	19
2.2.1.4 Vajce	19
2.2.2 Rastlinné potravinové alergény	19
2.2.2.1 Obilniny	20
2.2.2.2 Orechy a semená	20
2.2.2.3 Ovocie a zelenina.....	20
2.3 PREJAVY ALERGIE	21
3 ZMENA ALERGENICITY PRI SPRACOVANÍ POTRAVÍN	22
3.1.1 Spôsoby spracovania potravín.....	23
3.1.2 Mikroštruktúra potravín a jej vplyv na biologickú dostupnosť proteínov	24
3.1.3 Spracovanie potravín a jeho vplyv na štruktúru proteínov a na alergický potenciál.	24
3.1.4 Kovalentná modifikácia proteínov prostredníctvom spracovania potravín	26
3.1.5 Spracovanie indukovanej chemickej modifikácie proteínov.....	27
3.1.6 Pochopenie účinku spracovania na alergický potenciál riadenia rizík	27
3.1.7 Účinky spracovania na stabilitu alergénov.....	28
3.1.8 Tepelné spracovanie.....	29
3.1.8.1 Vlhké teplo.....	30
3.1.8.2 Suché teplo.....	31
3.1.8.3 Vplyv teploty na potravinové alergény	31
3.1.9 Netepelné spracovanie.....	32
3.1.9.1 Klíčenie.....	32
3.1.9.2 Chemické ošetrenie.....	33
3.1.9.3 Proteolýzy a hydrolýzy.....	33
3.1.9.4 Ultrafiltrácia.....	34
3.1.9.5 Skladovanie.....	34
3.1.9.6 Kombinácia procesov.....	34
3.1.9.7 Fermentáciou proti alergénom	35

4	STANOVENIE ALERGÉNOV V POTRAVINÁCH.....	36
4.1	IMMUNOBLOTTING V DETEKcii ALERGÉNOV	36
4.2	ELISA.....	37
4.2.1	Princíp ELISA testov.....	37
4.2.2	Sandwich ELISA	38
4.2.3	Kompetitívna ELISA	39
4.2.4	Výhody a nevýhody ELISA.....	40
4.3	PCR – POLYMERÁZOVÁ REŤAZOVÁ REAKCIA	41
4.3.1	Princíp PCR.....	41
4.3.2	Modifikácie PCR.....	43
4.3.2.1	Asymetrická PCR.....	43
4.3.2.2	Nested PCR.....	44
4.3.2.3	Multiplexová PCR	44
4.3.3	Najčastejšie zdroje kontaminácie metódy PCR.....	44
4.3.4	Trendy budúcnosti.....	45
4.4	BIOSENZORY A SPR TECHNOLOGIA	45
4.5	NOVÝ TEST NA STANOVENIE POTRAVINOVÝCH ALERGÉNOV	46
5	VÝSKYT POTRAVINOVÝCH ALERGIÍ V EÚ	47
5.1	PROJEKT EUROPREVALL	47
5.2	VÝSKUM V RÁMCI EUROPREVALL O PERCENTE OSÔB S ALERGIU NA POTRAVINY V SPOLOČENSTVE.....	47
5.3	PERCENTO ĽUDÍ S ALERGIU NA POTRAVINY V SPOLOČENSTVE.....	49
5.3.1	Deti a alergia na potraviny	50
5.3.2	Dospelí a alergia na potraviny.....	51
5.3.3	Geografické rozdiely	51
5.3.4	Rozdiely medzi pohlaviami.....	51
5.4	EURÓPSKA “BIELA KNIHA“ ALERGIE.....	51
	ZÁVER	53
	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	54
	ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK.....	62
	ZOZNAM OBRÁZKOV	63
	ZOZNAM TABULIEK	64
	ZOZNAM GRAFOV	65

ÚVOD

Väčšina ľudí pestrú stravu zvláda bez problémov. Potravina a jej vplyv na zdravie jedinca je téma veľmi často diskutovaná vo vzdelávacích prostriedkoch a je preto pochopiteľné, že až 20 % ľudí svoje zdravotné ťažkosti dáva do súvislosti s príjmom potravy. Avšak nie každý zdravotný problém vyvolaný požitím potravy musí znamenať, že človek má na danú potravinu alergiu, ale u malého percenta ľudí však určité potraviny alebo zložky potravín môžu vyvolať účinky v rozsahu od miernej reakcie až po ťažké alergické reakcie. Alergia na potraviny sa stáva chorobou storočia, predstavuje významný zdravotný, ekonomický a spoločenský problém u nás aj vo svete. Je fenoménom, význam ktorého v poslednej dobe stále narastá.

Na riešenie tohto problému sa podieľa viacero odborných národných, európskych a svetových spoločností. V porovnaní s toxickými látkami, ktoré ohrozujú všetkých konzumentov potravín, sú alergény rizikové len pre určitú skupinu konzumentov. Preto nemožno potraviny s obsahom alergénnych zložiek považovať za zdraviu škodlivé. Je však vhodné oboznámiť spotrebiteľa na prítomnosť alergénu v potravine. Alergia môže postihnúť kohokoľvek bez ohľadu na vek, pohlavie, rastu alebo sociálno-ekonomického statusu. Vo všeobecnosti je známe, že alergia sa vyskytuje častejšie u detí, ale prvý výskyt sa môže stať v každom veku alebo sa bude opakovať po mnohých rokoch remisie. U citlivých osôb môžu veľmi dôležitú úlohu zohrávať faktory ako sú hormóny, stres, fajčenie alebo dráždivé zložky životného prostredia.

Liečba tohto civilizačného ochorenia je pomerne zložitá, avšak dajú sa však minimalizovať jej prejavy. Základným pravidlom minimalizácie je vyhýbať sa kontaktu s alergénom a dôležité presné označenie na obale výrobku.

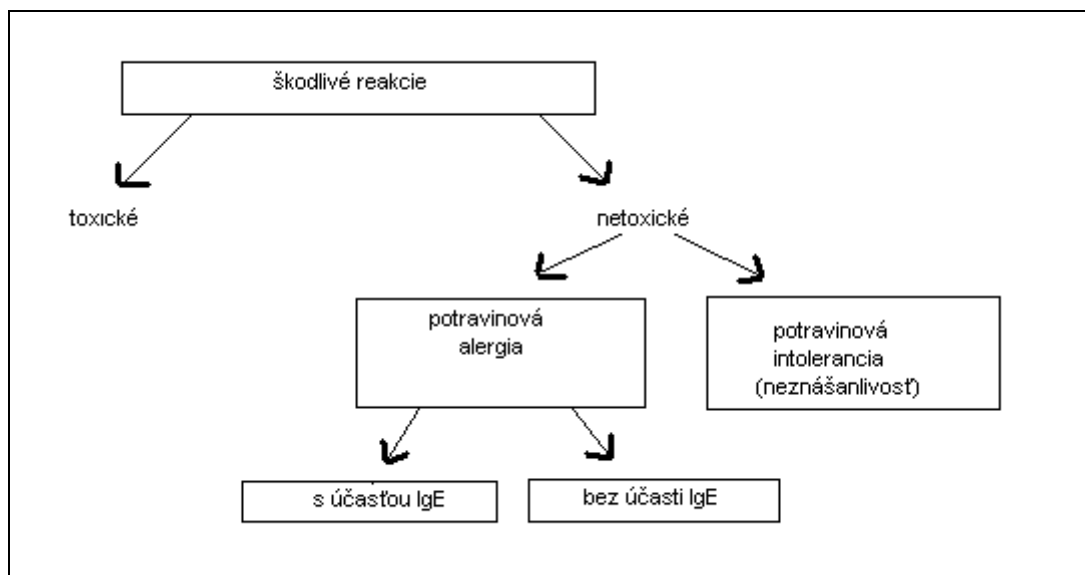
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZÁKLADNÉ POJMY TÝKAJUCE SA ALERGIE

Prvý krát pojem alergia použil viedenský pediater Clemens von Pirquet v roku 1906. U svojich pacientoch si totiž prvý krát všimol zvláštne reakcie na rôzne druhy látok, medzi ktoré zaradil aj niektoré potraviny [1]. Nežiaduca reakcia na potraviny môže byť spôsobená alergiou na potraviny alebo potravinovou intoleranciou. Alergia je vo všeobecnosti fyziologická reakcia spôsobená, keď imunitný systém chybné identifikuje bežne neškodné látky ako škodlivé pre telo. Alergia je vo svojej podstate “porucha imunity” keď normálne neškodné látky fungujú negatívne ako alergény, a sú napádané imunologickou obranou organizmu [2].

1.1 Potravinová alergia

Termín potravinová alergia (alergia na potraviny) sa používa veľmi voľne a veľmi často sa nesprávne vzťahuje na mnohé nepriaznivé reakcie na potraviny, ktoré nie sú v pravom zmysle slova alergia. Nepriaznivé až škodlivé reakcie na potraviny sa dajú rozdeliť na dve skupiny – na reakcie toxické a netoxické (obr. 1) [3].



Obr.1 Prehľad nepriaznivých (škodlivých) reakcií na potraviny

Potravinová alergia je len z časti príčinou nežiaducich reakcií na potraviny. Definícia potravinovej alergie musí spĺňať následné predpoklady. Za prvé musí ísť o klinicky

reprodukateľnú reakciu na dotýčnú potravinu, alebo jej súčasť a za druhé musí byť preukázaná patologická imunitná reakcia [4].

Potravinová alergia je abnormálna reakcia tela na určitú potravinu. Imunitný systém chráni organizmus pred vplyvom škodlivých cudzích bielkovín vyvolaním reakcie na jej elimináciu. Dôležité je, že potravinová alergia sa odlišuje od potravinovej intolerancie, ktorá nemá vplyv na imunitný systém, aj keď niektoré príznaky môžu byť spoločné [1]. Potravinová alergia sa vyvíja u jedincov s vrodenu predispozíciou a vplyvom vnútorných faktorov, ktoré ovplyvňujú rozvoj precitlivenosti (nezrelosť imunitného systému tráviaceho traktu alebo jeho sekundárny deficit napr. po črevnej infekcii atď). U postihnutých jedincov dochádza po opakovanom požití k rozvoju patologickej imunitnej reakcii [5].

1.1.1 Alergická reakcia

Reakcie pri požití potravy sú veľmi pestré a sú vyvolávané rôznymi príčinami. Reakcie na potraviny možno deliť na:

- **Imunologicky podmienené reakcie** – reakcia okamžitej precitlivenosti sprostredkovaná IgE protilátkami, bunkový typ reakcie sprostredkované senzibilizovanými T-lymfocytmi.
- **Neimunologický mechanizmus** – navodený pochybením enzýmu, tzv. idiosynkrazia, reakcia na prídavné látky, reakcia na histamin alebo tyramin v potrave (napr. v makrelách, banánoch, syroch, jahodách, čokoláde, ananásu atď.) [6].

Vlastná alergická reakcia spočíva v tom, že imunitný systém reaguje tvorbou protilátok (bielkovín, ktoré sa špecificky naviažu na alergén a tak ho deaktivujú a vylúčia z organizmu). Existujú rôzne typy protilátok, jedna z nich, ktorá vyvoláva alergickú reakciu na potraviny, je označovaná ako IgE (imunoglobulin E). Protilátka IgE sa sama naviaže na alergén a vyvoláva alergickú odozvu. Pri alergickej reakcie zaisťuje IgE uvoľňovanie signálnych molekúl do krvného riečišťa, čím okamžite vyvoláva symptómy typické pre potravinovú alergie [7].

1.2 Potravinová intolerancia

Pri potravinovej intolerancii je postrádateľná látka alebo látky, ktoré v organizme napomáhajú pri spracovaní potravín. V prípade požitia škodlivej zložky potravín telo nie je schopné spracovať danú potravinovú zložku a dostavuje sa netypická reakcia organizmu (zvracanie, hnačka, dávenie, kožné prejavy, plynatosť, bolesť brucha alebo kŕče). Látkou, ktorá telu chýba, alebo ktorej má telo nedostatok, väčšinou bývajú enzýmy štiepiace intolerantnú zložku. Potravinová intolerancia je oveľa častejšia ako potravinová alergia. Mnohí ľudia si myslia, že majú potravinovú alergiu na určitú potravinu. V skutočnosti však len asi 1 % (u detí asi 5 %) trpí na alergiu [8].

2 PREHLAD ALERGIZUJÚCICH POTRAVÍN A ICH PREJAVY

Potraviny sa skladajú zo základných látok: bielkovín, cukrov a tukov. Alergén je považovaný za látku, ktorá sa dostane do tela a pri styku s bunkami imunitného systému vyvoláva alergickú reakciu [9]. Sú to látky prevažne proteínového alebo glykoproteínového charakteru s molekulovou hmotnosťou zvyčajne 5 – 100 kD. Za istých okolností sa však alergénom môžu stať aj látky nebielkovinového charakteru (sacharidy, lipidy alebo anorganické látky) [10]. Potravinové alergény sú látky, ktoré sa nachádzajú v rôznych, často bežných potravinách. Možno ich rozdeliť na alergény rastlinného pôvodu a živočíšneho pôvodu. V oboch druhoch potravín sa môžu vyskytovať rôzne druhy aditív. V potravinách rastlinného pôvodu sa môžu vyskytovať alergény pochádzajúce z rôznych obilnín, strukovín, orechov a semien, ovocia, zeleniny a rôzneho korenia. Medzi najčastejšie alergény živočíšneho pôvodu patria ryby, kraby, krevety, ale aj produkty hovädzieho dobytku (hlavne mlieko), prasiat a tak isto aj slepačie vajcia [6].

2.1 Aditíva ako potravinové alergény

Moderná doba, súčasný životný štýl a stravovacie návyky kladú vysoké nároky na rýchlosť a jednoduchosť pri príprave bežných pokrmov [5]. Do komerčne pripravovaných potravín sa na zvýšenie trvanlivosti, zlepšenie farby, chute, vône alebo konzistencie pridáva množstvo látok (prírodných alebo syntetických), ktoré sa súhrne nazývajú aditíva. Aditíva podobne ako samé potraviny môžu vyvolať nežiaduce reakcie: alergicky sprostredkované IgE (napr. červeň pridávaná do mäsa) i nealergické farmakologické (napr. tartrazin). Diagnostika na tieto prídavné látky je mimoriadne zložitá, pretože ich prítomnosť sa nie vždy dá zistiť. Tieto látky by na potravinách mali byť označené názvom alebo kódom aditíva. V súčasnosti je známych viac ako 3 000 takto deklarovaných látok. Patria sem farbivá, konzervačné látky, príchute “zjemňovače”, látky zlepšujúce konzistenciu potravín [10,11]. Priemerný jedinec skonzumuje ročne asi 4,5 kg potravinových prísad, čo je asi dvakrát viac ako pred tridsiatimi rokmi. Behom života zjeme priemerne 60 – 65 ton jedla z toho asi 280 kg potravinových prísad, tzv. “éčiek” [11].

V EÚ sa aditíva označujú ako „E“ spolu s trojmiestnym číslom medzinárodného číselného systému. Výrobcovia sa musia riadiť podľa smernice Európskeho Parlamentu a Rady 2003/89/ES, ktoré predpisujú aj ich povolenú koncentráciu. Používanie aditív je

prísne kontrolované [12]. Medzi ďalšie alergénne zložky potravín patrí oxid siričitý, siričitany a niektoré enzýmy [11].

Tabuľka č.1: Vhodné a nevhodné potraviny z hľadiska možnosti vývoja alergie [13].

Vhodné	Nevhodné
Zelenina: zelená uhorka, cuketa, patizón, baklažán, fenikel, mrkva, kaleráb, špenát, cvikla, pór, karfiol, tekvica, brokolica, ružový kel	Mlieko: kravské, kozie, ovčie, mliečne výrobky Vajcia Sója aj sójové mlieko
Ovocie: hrušky, sladké jablká, melón, čerešne, hrozno, slivky, marhule, banán	Ryby: morské aj sladkovodné
Obilniny: ryža, proso, ovos, kukurica, jačmeň	Mäso: údeniny, výrobky obsahujúce konzervované mäso
Mäso: hydina, hovädzie mäso, jahňacie, králik	Zelenina: zeler, kel, šampiňóny, cibuľa, red'kvička, chren, ríbezle
Nápoje: čaj, šalvia, čierna baza, fenikel	Ovocie: citrusové a exotické ovocie, jahody, egreše, ríbezle
Ovocné šťavy: jablčná, hrušková, hroznová	Orechy: arašidy, vlašské, pistácie, mandle, lieskové, kešu
Oleje: rastlinné, kukuričný, sezamový, olivový	Sladkosti: čokoláda, kakao, med Koreniny

2.1.1 Potraviny nového typu a alergia

Existuje veľa literárnych druhov o postojoch spotrebiteľov ku GM potravinám, a to zvlášť v Európe. Prijateľnosť GM potravín pre spotrebiteľa určuje rada faktorov. Veľa obáv u spotrebiteľov týkajúcich sa GM potravín súvisí s neistotou, pokiaľ ide o dlhodobé účinky na zdravie obecné, vrátane zvýšeného alergizujúceho potenciálu pri vnesení proteínu nového typu do potravinového reťazca. Príkladom tohto je 2S albumin z para

orechov, na ktorý je rada spotrebiteľov alergická a ktorý bol použitý v transgennej sóji. Hoci procesom génových modifikácií sa môžu vnášať do potravín nové alergizujúce proteíny, môže sa tento proces využiť k odstránení existujúcich (prítomných) alergénov. V súčasnej dobe nie je známe, či by boli spotrebiteľia ochotní kupovať a konzumovať tieto hypoalergénne potraviny, alebo či by prijateľnosť pre spotrebiteľov závisela na tom, ako závažná je u spotrebiteľa alergická reakcia [14].

2.2 Potravinové alergény živočíšneho a rastlinného pôvodu

Alergie môžu vyvolať v podstate všetky druhy potravín alebo zložka potraviny. V Európe však bolo stanovených 14 potravinových alergénov, ktoré predstavujú väčšinu potravinových rizík a z toho dôvodu podliehajú legislatívnemu označeniu [7]. V prílohe III smernice 2000/13ES je stanovený zoznam zložiek potravín, ktoré musia byť uvedené na etiketách potravín, pretože môžu u citlivých osôb vyvolať nežiadúce reakcie. Do tohto záznamu sú radené:

- Vajcia
- Zeler
- Obilniny obsahujúce gluten
- Ryby
- Lupina (strukovina rodu *Fabacea*)
- Mlieko
- Mäkkýše
- Horčica
- Arašidy
- Sezamové semeno
- Mušle
- Sója
- Oxid siričitý (používaný ako antioxidant a konzervačné činidlo, napr. sušené ovocie, víno, spracované zemiaky)

- Orechy [15].

2.2.1 Živočišne potravinové alergény

Ako už bolo uvedené v predchádzajúcej kapitole, medzi živočišne potravinové alergény patria ryby, kraby, krevety, produkty hovädzieho dobytku (hlavne mlieko), prasiat a tak isto aj slepačie vajcia [6].

2.2.1.1 Ryby

Potravinová alergia na mäso morských rýb je známa už zo začiatku modernej alergológie. Alergia na ryby sa vyskytuje najčastejšie v dospelosti, ale rovnako môže postihnúť aj deti. Je veľmi často aj celoživotná [16]. Morské ryby spôsobujú alergické reakcie častejšie ako sladkovodné ryby. Alergény rýb sú vo všeobecnosti bielkoviny rybieho mäsa. Hlavný rybý alergén je proteín viažuci kalcium – parvalbumin [10]. Alergickú reakciu môžu vyvolať nízkomolekulárne látky, napríklad histamin, ktorý môže byť uvoľňovaný v rybacích konzervách. Histamin je amín vznikajúci dekarboxyláciou histidinu. Klinický obraz pri alergii na histamin je rovnaký, ako pri klasickej alergii, pretože (endogénny) histamin sa podieľa na všetkých alergických reakciách, na ktorých sa účastní IgE [17].

Závažné alergické prejavy sa môžu prejaviť aj po požití inej stravy pripravenej v tom istom oleji, resp. na tej istej panvici, na ktorej sa predtým pripravovala ryba. Lokálnu, ale i celkovú reakciu môže vyvolať kontakt kože alergika s rybou. Prevalancia alergie na ryby je rôzna v rôznych geografických oblastiach a závisí od expozície určitého druhu [10].

2.2.1.2 Kôrovce a mäkkýše

Kraby, krevety, raky, homáre, granáty a iné patria do veľkej skupiny kôrovcov, tak isto ako ústice a iné lastúrniky, chobotnice do skupiny mäkkýšou. Alergia na kôrovce a mäkkýše je významná celosvetovo. Alergény kôrovcov sú termostabilné, rozpustné vo vode a dostávajú sa do vzduchu pri varení.

Alergické reakcie pri konzumácii mäkkýšou sú časté. Skrížená reaktivita medzi alergénmi jednotlivých skupín je malá, pretože každá trieda má jedinečné alergény [10].

2.2.1.3 Mlieko a jeho produkty

Mlieko a mliečne výrobky sú nájdené v mnohých potravinách. Zjavné formy sú mlieko, smotana, syr, maslo, zmrzlina či jogurt [1]. Okrem konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov sa mlieko konzumuje aj v skrytej podobe a to v cukrárenstve [10].

Špecifickým problémom je alergia na bielkovinu kravského mlieka. Hlavnými alergénmi kravského mlieka sú kazeiny obsiahnuté v mliečnej zrazenine a α -laktalbumin a β -laktalbumin. Tento typ alergie postihuje predovšetkým deti, ide o niekoľko percent detí [18]. Kravské mlieko je spolu s alergiou na vajcový bielok najčastejšou príčinou nežiaducich potravinových alergií [10].

2.2.1.4 Vajce

Vajce patrí k významným zdrojom alergénov a predstavuje širokú dostupnú, rozšírenú potravinu s vysokým obsahom výživných látok. Hlavnými alergénmi vaječného bielka sú ovomukoid, ktorý je relatívne rezistentný voči teplu a tráviacim enzýmom, a taktiež aj ovoalbumin, ovotransferin a lyzozym [19,20].

Vaječný bielok je viacej alergizujúci ako žĺtok. Obsahuje viacej ako dvadsať alergizujúcich proteínov [21]. Aj mnohé potravinové výrobky obsahujú vaječné súčasti. Preto ľudia, ktorí majú prehnane reakcie organizmu na alergény vajec, by si mali dať pozor na pekárenské výrobky, zákusky, cukrovinky, omáčky, koláče, dressingy a na mnohé iné potraviny [20]. Vzhľadom na to, že niektoré potravinárske výrobky obsahujú len niektoré z dvoch zložiek vajcia, alergik by mal byť oboznámený, ktorá ho ohrozuje. Príznaky potravinovej alergie sa môžu vyskytnúť u niektorých ľudí po priamom požití alebo po požití vajca ako suroviny určenej na výrobu. Tepelnou úpravou žĺtku sa znižuje jeho alergenicita. Teplota pri ktorej začínajú bielkoviny meniť svoje vlastnosti je okolo 60 °C [21].

2.2.2 Rastlinné potravinové alergény

Potravinová alergia na antigény rastlinného pôvodu je častejšie u dospelých, väčšinou ako dôsledok inhalačnej senzibilizácie, najčastejšie peľovými alergénmi. Do skupiny rastlinných potravinových alergénov patria predovšetkým obilniny, strukoviny, orechy a semená, ovocie, zelenina, ale aj rôzne korenie [10].

2.2.2.1 *Obilniny*

V hospodárskom kontexte sa týmto názvom označujú všetky kultúrne rastliny pestované pre plody s vysokým obsahom škrobu, vhodné najmä na prípravu múky alebo kaše [10]. Bežné semená obilnín sú známymi alergénmi. Zaraďujú sa medzi ne jačmeň, pšenicu, raž, kukuricu, ryžu, ovos a proso [22].

Plody obilnín sú bohaté na bielkoviny, ktoré sa líšia napr. rozpustnosťou: albumíny (voda), globulíny (zriedené slané roztoky), prolamíny – gliadíny (70% etanol). Významnou súčasťou obilnín je glutén (lepok). Je to komplex gliadínov a glutelínov. Nezávisle od typu imunologickej reakcie treba pri intolerancii lepku vylúčiť zo stravy pšenicu, raž, jačmeň a ovos [10].

2.2.2.2 *Orechy a semená*

Častou príčinou potravinovej alergie sú orechy [23]. Orechmi (orieškami) sa nazývajú semená rastlín chránené tvrdým obalom (škrupinou). K tejto skupine sa priradujú aj menšie semená. Viacero druhov orechov a semien môže vyvolať alergickú reakciu. Je zaujímavé, že dospelí s alergiou na orechy a semená môžu konzumovať arašidy (respektíve strukoviny), ale deti precitlivené na arašidy sú často alergické aj na rôzne orechy a semená. Mnohé z týchto druhov potravín, respektíve požívatín (jedlý gaštan, oriešky kešu, mandle, sezamové semienka, slnečnicové jadierka), môžu ohrozovať aj ako skryté alergény v najrozličnejších jedlách (múčniky, pečivo, chlieb, sladkosti...), často bez označenia [10].

V našich podmienkach najčastejšími príčinami alergie sú alergény z vlašských orechov a lieskových orechov. Menej časté sú alergie na mandle, kešu, pistácie, poprípade kokosové orechy [3].

2.2.2.3 *Ovocie a zelenina*

V dnešnej modernej dobe je trh zásobovaný rôznymi druhmi ovocia či zeleniny. Ovocie a zelenina zastávajú v jedálničku človeka významné miesto ako zdroj minerálov, vitamínov a vlákniny. Presná hranica medzi ovocím a zeleninou neexistuje, a tak sú zaradené do jednej kapitoly. Neznáme (exotické) druhy ovocia môžu vyvolať alergické prejavy vzhľadom na prítomnosť krížovo reagujúcich alergénov s peľom a u nás bežným ovocím, zeleninou, korením. Mnohé z nich nemajú slovenský názov [3].

Z jednotlivých druhov zeleniny sa alergické ťažkosti vyskytujú po konzumácii rajčín a zeleru. Žalúdočné príznaky, ktoré niektorí ľudia pociťujú po cesnaku alebo uhorkách, nemajú väčšinou alergický pôvod [3]. Presná incidencia a prevalencia potravinovej alergie po požití ovocia a zeleniny nie je známa. Mnohé alergény sú termolabilné, tepelná úprava zoslabuje ich alergénosť[10].

2.3 Prejavy alergie

Alergické príznaky môžu začať v priebehu niekoľkých minút až hodín po požití jedla a líšia sa závažnosťou a dĺžkou ich trvania [7]. Môžu sa prejaviť v celom gastrointestinálnom trakte, v respiračnom systéme, na koži, alebo celkovou reakciou [24]. Rôzne alergény vyvolávajú rôzne klinické prejavy. Tieto prejavy závisia na tkanive, v ktorom sa uskutočnila alergická reakcia [3].

Prejavy zo strany tráviaceho ústrojenstva je nechutenstvo, vracanie, hnačky, brušné koliky, pálenie žáhy, afty na sliznici dutiny ústnej, eventuálne mapy na jazyku. Orálny alergický syndróm je väčšinou spôsobený čerstvou zeleninou, ovocím, orechmi, ale ja korením – prejavuje sa svrbením pier, ústnej dutiny, hrdla, prípadne aj opuchom a začervenaním okolo pier. Niekedy sa príznaky obmedzujú len na škriabanie v krku. Medzi kožné prejavy patrí svrbenie, žihľavka, opuchy tváre a iných častí tela a atopickým ekzémom. Prejavy na dýchacích cestách sú svrbenie nosa, kýchanie, upchanie nosa, kašeľ a astma. Medzi bezprostredne ohrozujúce život patrí anafylaktická reakcia, ktorá je sprevádzaná pocitom nevoľnosti, sčervenanie pokožky, svrbenia, zhoršeným dýchaním, búšením srdca, výrazný pocit strachu a točením hlavy [3].

3 ZMENA ALERGENICITY PRI SPRACOVANÍ POTRAVIN

Postupy spracovania potravín a ich štruktúra môže meniť alergizujúce vlastnosti potravín. Potravinové alergény môžu behom tepelného i netepelného spracovania v potravinárskom priemysle, behom skladovania a behom úpravy potraviny doma podliehať zmenám, ktoré môžu viesť k zmene alergenicity. Zmena môže byť v zmysle redukcie alergenicity v dôsledku inaktivácie a deštrukcie alergénu, alebo môžu v spracovanej potravine vzniknúť nové alergény. Neplatia žiadne všeobecné platné pravidlá pre všetky potraviny a pre určitý spracovateľský postup. Tieto zmeny sú veľmi komplexné a nie sú ľahko predvídateľné. Vplyv technológie na odstránenie alebo zníženie množstva alergénov je spojený s odstránením či narušením aktívnych miest alergénnych proteínov, ktoré sa nazývajú epitopy. Obecne je možné využiť tri základné postupy: odstránenie epitopov (napríklad olúpaním broskyne sa podstatne zníži obsah niektorých alergénov), narušenie epitopov (napríklad tepelným zahrievaním alebo enzymatickým štiepením vyvolá zmenu epitopu tak, že sa zníži alergénny potenciál) a konečné tzv. maskovanie epitopov (napríklad zablokovaním epitopov naviazaním inej látky) [25].

Nedostatok poznatkov v tejto oblasti však neumožňuje dostatočne predvídať a minimalizovať dopad spracovania potravín na ich alergenicitu [26]. Fyzikálno-chemické zmeny a spôsob akým sa členia v priebehu trávenia môžu zmeniť formu alergénu v ktorej je prevzatý do celej črevnej sliznicovej bariéry a predložený imunitnému systému [27]. Alergickým pacientom tak nemôžu poskytnúť primerané rady ohľadom toho, čo je bezpečné konzumovať [28]. Jedna zo základných otázok výskumu potravinovej alergie, najmä vo vzťahu k alergii sprostredkovanej IgE, znie: Čo spôsobuje, že niektoré potraviny a potravinové proteíny alergizujú oveľa viac ako iné? Napriek tomu, že schopnosť vyvolať potravinovú alergiu sa predpokladá u veľa potravín a že jedinec sa zrejme môže stať precitliveným na takmer akúkoľvek potravinu, štúdiá prevalencie potravinovej alergie ukazujú, že určité potraviny dominujú [29].

Príčina toho, prečo niektoré potraviny dominujú v schopnosti vyvolávať alergiu, nie je objasnené. Čiastočne sa môžu viazať na individuálnu predispozíciu k atopii, ale je jasné, že dôležité sú ďalšie faktory. Jedným z takýchto faktorov je spracovanie potravín, známe už v ranných časoch potravinovej alergie. Spracovanie potravín na ich schopnosť

senzibilizácie je dôležitý. Proces spracovania narušuje štruktúru proteínov a ovplyvňuje tak alergenicitu vzhľadom k väzbe IgE a spusteniu reakcie u precitlivených jedincov [25].

3.1.1 Spôsoby spracovania potravín

Skutočnosť, že spracovanie ovplyvňuje alergénnosť nie je nový pojem, a vzhľadom na konečné štúdiá v posledných rokoch bola téma oživená [30]. Skúmanie vplyvu spracovania štruktúry potravín na ich alergénne vlastnosti je nevyhnutne veľmi obtiažne, pretože potraviny sú v svojej podstate veľmi zložité látky. Spracovanie potravín sa vyvinulo už v rannej histórii ľudstva ako účinný spôsob konzervácie (sušenie, údenie, nakladanie, nasolovanie). Potraviny sa upravovali tak, aby boli poživatelné, zbavené toxínov a faktorov znižujúcich ich nutričnú hodnotu. V prvom rade môže spracovanie zahŕňať odstránenie nejedlých tkanív alebo konzervovanie. Príkladom bolo ohrievanie orechov v šupine, aby sa zabránilo rastu plesní a aby sa zneškodnil hmyz. Pri príprave pšeničnej múky, sóje a srvátky sa používajú zložitejšie metódy spracovania. Na zabránenie pokazenia a na zlepšenie funkčných vlastností potravinových prísad sa používa kombinácia mokrého a suchého procesu spracovania, často s tepelnou úpravou a úpravou pH. Nakoniec zloženie potravín zahŕňa výrobu zložitých hotových potravinových výrobkov, od koláčov, chleba a pečiva, cez omáčky, zmrzliny a hotové jedlá, ktoré kombinujú mnohé rôzne prísady [25].

Takmer všetky tieto spracovateľské procesy môžu nie úplne známym spôsobom narušiť štruktúru a vlastnosti potravinových proteínov. Následne sa tak môže ovplyvniť schopnosť daného proteínu pôsobiť ako alergén, a to buď senzibilizáciou dovtedy zdravého jedinca, alebo vyvolaním alergickej reakcie. Mnohé spracovateľské postupy zmenia potravinové proteíny na nerozpustnú masu, často v spojitosti s tukmi, cukrami a diétnou vlákninou. Tieto proteíny nie sú potom prístupné vylúhovaním v jednoduchom soľnom roztoku, ktorý sa bežne používa pre sérologické alebo klinické analýzy, čo ďalej komplikuje zisťovanie vplyvu spracovania potravín na alergický potenciál. Spracovanie taktiež zavádza do potravín nové štruktúry, časť z nich im dáva formu a štruktúrne vlastnosti. Patria sem peny (napr. snehové pusinky, obalované a šľahané výrobky) a gélové spleti nachádzajúce sa vo varenom vaječnom bielku, želatínových géloch alebo jogurtoch). Tieto štruktúry môžu ovplyvniť spôsob, akým sa proteíny uvoľňujú, štiepia počas trávenia a prezentujú imunitnému systému počas senzibilizácie a pri vyprovokovaní jednotlivých

fáz alergickéj odpovede [25]. Napríklad pred niekoľkými rokmi bolo dokázané, že na tuky bohatá čokoládová hmota obohatená o rastlinný tuk pridávaný na stlmenie arašidov ovplyvňuje kinetiku uvoľňovania alergénov a zosilňuje ťažké alergické reakcie [31].

3.1.2 Mikroštruktúra potravín a jej vplyv na biologickú dostupnosť proteínov

Potraviny sú v skutočnosti zložitými zmesami proteínov a v dôsledku tepelnej úpravy sa proteíny rozvinujú, čo vedie k tvorbe proteínových zhlukov. Zhluky sa formujú ako dôsledok teplom indukovaného preskupenia disulfidových väzieb a proteínovo proteínových interakcií, ktoré sú často vedené expozíciou hydrofóbných povrchov, ukrytých za normálnych okolností v jadre pôvodne zloženého proteínu. Takéto interakcie môže odhaliť nové epitopy, ktoré sa formujú pomocou spojení medzi jednotlivými molekulami proteínov. Práca s týmito systémami je jedna z najzložitejších, pretože sú nerozpustné. Niektoré štruktúry môžu zachytávať proteíny, čím zabraňuje ich rozpustnosť v tekutinách, ako sú sliny, žalúdočná a duodenálna šťava. Napriek tomu, ako významné je pochopenie spôsobu, ako ľudia trpiaci alergiou získavajú včasné príznaky nastávajúcej alergickéj reakcie z primárne orálnych signálov, vieme len veľmi málo o tom, ako štruktúra potravín a jej zloženie ovplyvňuje vylúhovanie alergénov do slín a následnú expozíciu orálnych slizníc. Podobne málo sa vie o uvoľňovaní alergénov z potravinových štruktúr v hornej časti gastrointestinálneho traktu a tiež o tom, ako môže tento proces ovplyvniť kinetiku a závažnosť alergickéj reakcie [25].

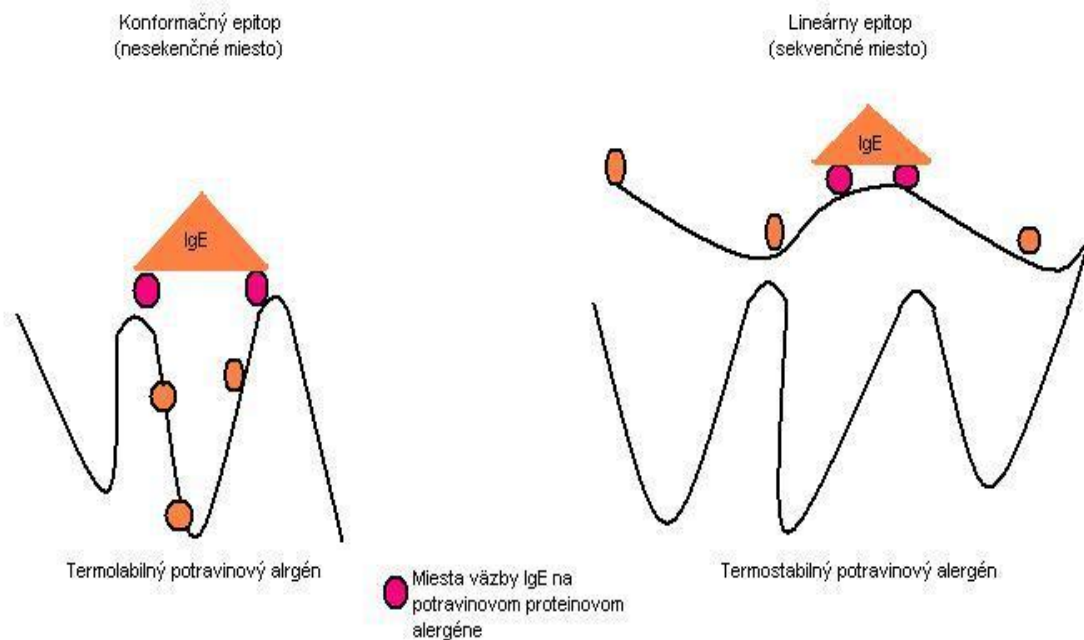
3.1.3 Spracovanie potravín a jeho vplyv na štruktúru proteínov a na alergický potenciál.

Získanie úplnej predstavy o tom, ako môžu potravinové proteíny ovplyvniť alergenicitu, si vyžaduje pochopiť, ako spracovanie narušuje štruktúru a vlastnosti potravinových proteínov na molekulovej a makroskopickéj úrovni [32]. Jednou z najdokonalejšie preskúmaných potravinových proteínov sú hlavné proteíny srvátky β -laktoglobulín a α -laktalbumín, ktoré sa podarilo popísať pomocou metód, ako je magneticko rezonančná spektroskopia a röntgenová difrakcia. α -laktalbumín sa používa ako model pre skúmanie skladania proteínov, pretože zaujíma stav roztavenej globuly, ktorá je len čiastočne poskladaná. Teplom indukovaná čiastočne skladaná forma je kineticky znehybnená v dôsledku medzimolekulovej výmeny disulfidov a zachováva

väčšinu zo svojej pôvodnej sekundárnej štruktúry natívneho proteínu. V rozvinutom stave proteínu sa v dôsledku zvýšenej flexibility polypeptidov môžu vytvoriť nové epitopy, ktoré sú za normálnych okolností ukryté vo vnútri proteínu a na povrch sa dostávajú až čiastočným rozvinutím proteínu. Podobným spôsobom sa pravdepodobne budú po tepelnom spracovaní správať všetky globulárne proteíny, obzvlášť tie, ktoré majú vnútromolekulové disulfidové väzby [25].

Jedna z hlavných alergénových rodín, ktorá zrejme stráca schopnosť vyvolať alergickú reakciu v spracovaných potravinách, je nadrodina rastlinných potravinových alergénov *Bet v 1*. Niektoré alergény (ako *Bet v 1* profilínu) sú termolabilné. *Bet v 1* ma konformačný epitop (miesto na rozpoznanie IgE je výsledkom zloženia reťazca protínu, čím sa dostávajú do tesnej blízkosti molekuly, ktoré sú inak, pri rozťahnutom reťazci, od seba vzdialené (obr.2) [33]. Tieto proteíny spôsobujú syndróm skríženej alergie medzi peľom a ovocím/zeleninou [34]. Aj keď úprava čerstvého ovocia, napríklad jablka, vedie k strate alergénneho potenciálu homológa *Bet v 1*, predpokladá sa, že homológy sú vo všeobecnosti termostabilné [25]. Varením, spracovaním alebo konzervovaním ovocia obsahujúceho *Bet v 1* sa teda alergén stáva nealergénnym. Táto konformácia či zloženie sa teplom narušuje [33]. Toto ale neplatí pre iné potraviny, ako je zelerový koreň, ktorý si zachováva alergénny potenciál aj po varení [35].

Druhou alergénovou rodinou zodpovednou za alergiu na rastlinné potraviny je proamínová nadrodina, v ktorej jednou z hlavných podrodín sú lipidové transferové proteíny (LTP) [36]. Panalergén LTP je lineárny izotop s miestom na rozpoznanie IgE, ktoré nie je závislé na zložení proteínu (obr.2), preto sa zahrievaním jeho alergenicita nemení. LTP je stabilný voči teplu i kyselinám a varenie jeho alergenicitu neznižuje. Je zaujímavé, že teplo môže výnimočne alergenicitu potravín zvyšovať. Príkladom je burský oriešok. "Surový" burský oriešok vykazuje pomerne nízku alergenicitu, ale praženie burských orieškov pri veľmi vysokých teplotách ich alergenicitu rýchlo zvyšuje zmenou konformácie protínu omnoho viac než varenie pri nízkych teplotách [33].



Obr.2 Konformačné verzus lineárne izotopy potravinových alergénov [33].

3.1.4 Kovalentná modifikácia proteínov prostredníctvom spracovania potravín

Spracovanie potravín môže priniesť aj nové modifikácie proteínov. Niektoré z modifikácií môžu vznikáť mimovoľne počas spracovania, ale niektoré sa skúmajú s ohľadom na možnosť zníženia alergenicity potravín. Za pomoci transglutaminázy (enzým, ktorý vytvára nové väzby medzi glutaminovými reziduami a nové modifikácie), ktorá sa využíva na zlepšenie funkčných vlastností arašidových proteínov ako potravinárska prísada. Tvorba priečných väzieb v tomto prípade zjavne neovplyvnila schopnosť viazať protilátky, čo sa stanovilo pomocou komerčnej dostupnej súpravy na detekciu arašidového alergénu [37].

Ďalšou zo stratégií, ktorá sa skúma za účelom zníženia alergenicity proteínov bohatých na disulfidové väzby, je ošetrovanie pomocou proteínu zvaného trioredoxín, ktorý dokáže katalyzovať ich preskupovanie. Táto látka, pôvodne známa svojou schopnosťou znižovať alergenicitu β -laktoglobulínu, alergénu kravského mlieka, sa teraz používa na zníženie alergenicity cereálnych proteínov. Tioredoxíny sú ale prítomné kdekoľvek v prírode a nachádzajú sa u zvierat aj rastlín [25].

Chýbajú relevantné podrobné štúdiá o účinku spracovania na štruktúru alergénu, o význame tejto zmeny v spracovaných potravinách a o dopade na klinickú reaktivitu. Mnohé výskumné aktivity sa objavujú na poli výskumu potravín, najmä s cieľom identifikovať spracovateľské stratégie a nové spracovateľské techniky, ktoré môžu znížiť alergenicitu potravín [38].

3.1.5 Spracovanie indukovanej chemickej modifikácie proteínov

Jedna z hlavných chemických modifikácií, ktorá sa vyskytuje v potravinách počas spracovania je reakcia medzi voľnými amino skupinami proteínov a aldehydov alebo keto skupiny cukrov z ktorých je známa Maillardova reakcia. Takéto non-enzymatické reakcie glykánov môžu následne podstúpiť ďalšie rozsiahle prestavby, ktoré vedú k sérii štruktúrne rozmanitých zlúčenín známe ako Amadorove produkty alebo pokročilé glykácie finálnych produktov (AGEs). Formácie týchto produktov sú postihnuté druhom non-redukujúcich cukrov, pH, vodnou aktivitou, a je dôležitá aj ich prchavosť. Preskupovanie produktov môže viesť ku krížovému spájaniu potravinových proteínov.

Maillardove zmeny môžu mať vplyv na alergénnosť potravinových bielkovín. Tieto zmeny môžu mať krížovú väzbu arašidových alergénov *Ara h 1* a *Ara h 2* k vytvoreniu vysokej molekulárnej hmotnosti kameňiva IgE, ktoré sa viažu účinnejšie, ako neupravené alergény a sú aj viac odolné voči žalúdočnému tráveniu. IgE väzby na modifikovaných proteínoch sú čiastočne inhibované protilátky AGE adducts. [27].

3.1.6 Pochopenie účinku spracovania na alergický potenciál riadenia rizík

Avšak súčasné vedomosti o vplyve spracovania potravín na štruktúru alergénu naznačuje, že neexistujú jasné pravidlá o tom, ako rôzne alergény reagujú na spracovanie potravín. Pre niektoré elergény ako *Bet v 1* (nachádzajúce sa v ovocí a zelenine) sa ich alergenicita znižuje varením, ale mnohé iné alergény môžu mať alergenicitu nezmenenú alebo sa alergenicita môže aj zvýšiť. Vplyv spracovania, ktorému je alergén vystavený súvisí s typom citlivosti, štruktúrnymi vlastnosťami a vnútornou stabilitou. Tabuľka č.2 obsahuje vplyvy spracovania na rôzne typy potravinových alergénov. Vyšetrovanie účinku spracovania štruktúry alergénu alebo alergického potenciálu je stále na začiatku, ale dve oblasti, ktoré zostávajú zabudnuté sú vplyvy spracovanie potravín na senzibilizáciu, ktoré

modifikujú alergénny potenciál a spôsob, akým sa môžu meniť prahové hodnoty pre elicitáciu alergickej reakcie u citlivých jedincov [27].

Tabuľka .č 2: Vplyv spracovania potravín na rôzne typy potravinových alergénov [27].

Typ spracovania Potravín	Účinok tepelného spracovania	Druhy potravinových Alergénov
<i>Spracovanie labilných Alergénov</i>	Rozvíjanie proteínov, zmeny polyfenolov, zmeny vykonané Maillar.reak adukované v potravinách bohatých na cukor	<i>Bet v 1</i> homológ z ovocia a zeleniny napríklad ako <i>Mal d 1, Pru av 1</i>
<i>Čiastočne–denaturované alergény</i>	Čiastočne vznikajúce bielkoviny, agregácie tvoriť sieť ako emulgátory okolo tukov alebo zrôsolovateľné systémy	Cupins alergény, ako <i>Ara n 1</i> z arašidov, lipocalins ako β -Lg a α -laktalbumin z mlieka
<i>Alergény schopné refold</i>	Rozvíjanie proteínov v obmedzenom rozsahu počas zahriatia, ale chladením sa znovu skladajú späť	Prolamin patriaci do nsLTP a 2S albumin su-rodín ako <i>Mad d 3</i> ; tropomyosiny, parvalbuminy
<i>Mobilné rheomorph proteíny</i>	Proteíny neprímu tuhé konformácie, sú veľmi mobilné a následne nenedaturujú pri tepelnom spracovaní	Kaseiny, prolamin pšenice (gluten) ovomukoid

3.1.7 Účinky spracovania na stabilitu alergénov

Porcie bielkovinových jedál, ktoré môžu spôsobiť alergickú reakciu, môžu byť jednoduché, pretiahnuté na niekoľko aminokyselín po primárnej štruktúre, alebo to môže byť jedinečný trojdimenziálny motív štruktúry proteínov, respektíve len lineárne a konformačné epitopy. Alergénne proteíny môžu obsahovať jeden epitop, ktorý sa opakuje, alebo môžu mať niekoľko rôznych epitopov na alergén. Vzťah medzi povahou alergénnych

epitopov a zodpovednosťou za klinické príznaky, vrátane závažnosti symptómov sú nejasné. Pochopenie týchto vzťahov je veľmi dôležité pri navrhovaní spôsobov, ako znížiť/odstrániť alergénnosť alergénov. Vzhľadom k potravinám alebo k zložkám potravín, sú často na palete podmienok spracovania zmeny v imunodominantných epitopoch, ktoré môžu potenciálne ovplyvniť alergénne vlastnosti proteínu. Spracovanie môžu zničiť existujúce epitopy na proteiny, alebo môžu vytvárať nové neoalergénne formácie, v dôsledku zmeny konformácie proteínu. Formácie neoalergénov boli uznané po dobu najmenej tri roky, a čiastočne sa môže vysvetliť, prečo niektorí ľudia môžu tolerovať opracované potraviny alebo zložky potravín [39].

Posledný neoalergén bol opísaný u pekanových orechov a pšeničnej múky [40,41]. Viac obvyčajnejšie boli metódy spracovania spojené so zníženou alergenicitou alebo so žiadnym významným vplyvom. U konformačných epitopov sa väčšinou očakáva, že budú viac náchylné na spracovanie vyvolané deštrukciou ako u lineárnych epitopov v nejakom alergéne. U lineárnych epitopov je najpravdepodobnejšie, že budú zmenené, ak budú lineárne epitopy hydrolyzované. Alternatívne, môžu byť lineárne chemicky upravené počas spracovania potravín, alebo musia byť úmyselne zmenené zavedením mutácií prostredníctvom genetického inžinierstva. Spracovania potravín zahrňujúce tepelné ako aj netepelné spracovanie. Každý typ ošetrovania sa musí líšiť v jeho vplyve na epitopy, musí byť individuálny prístup a je potrebné pri hodnotení starostlivo zvážiť stabilitu alergénu [42].

3.1.8 Tepelné spracovanie

Tepelné spracovanie môže byť vykonané suchým teplom (rúra na pečenie, olej na pečenie, infračervený ohrev, ohmický ohrev) alebo mokré vykurovacie podmienky, ako sú tie, ktoré vznikli pri varení vo vodnom prostredí, mikrovlnné varenie, tlakové varenie (autoklávovanie), blanžírovanie, varenie a parenie. Medzi metódy netepelného spracovania patrí ožarovanie, namáčanie, klíčenie, kvasenie, vysoko tlakové spracovanie, ošúpanie a olúpanie alergenných epitopov, a tým znížiť alebo zvýšiť alergénnosť a teda potenciálne zmeniť alergénnosť pochybných potravín. Zmena štruktúry bielkovín môže viesť k zničeniu epitopov, alebo nemajú žiadny vplyv na alergénnosť [42].

Potravinové alergény sú zvyčajne rezistentné voči teplu, a preto by nemali byť dotknuté znateľne spätným tepelným spracovaním pri spracovaní potravín [43]. Tepelné spracovanie podporuje denaturáciu, stratu terciárnej štruktúry a agregácia alergénov

naznačuje, že imunitný systém bude reagovať na lineárnej sekvencii aminokyselín v alergéne na mieste konformačnej štruktúry. Avšak, niektoré výnimky existujú. Alergénnosť čerstvého ovocia a zeleniny a obzvlášť citlivé na vykurovanie [44]. Mikrovlnný ohrev ničí alergénnosť jablka. Alergén tresky *Gad c 1*, je odolný voči tepelnému spracovaniu [45].

Kravske mlieko si zachováva svoju alergenicitu aj po intenzívnom tepelnom spracovaní, kondenzácií, sušení a odparovaní, ale alergény izolované z kravskeho mlieka sú náchylné k rôznym stupňom tepla [46]. U kazeinu bola hlásená alergénnosť po tepelnom ošetrení 100 °C, zatiaľ čo na alergénnosť srvátkových bielkovín môže byť znížená pri 80 – 90 °C po dobu 30 minút, α -laktalbumin je len málo rezistentný voči teplu [47, 48].

Ovoalbumin a ovomukoid sú hlavnými alergénmi vajec [49]. Zníženie alergénnosti ovoalbuminu o 90 % bolo preukázané pri tepelnom ošetrení 100 °C po dobu 3 minút, ale v ďalšej štúdií bol ovalbumin rezistentný voči ohrevu 80 °C po dobu 10 min. Ovomukoid si zachováva vyvolanie alergie aj po dlhšom zahrievaní pri 100 °C. Alergény strukovín sú všeobecne celkom teplo stabilné. Hlavný alergén arašidov je stabilný voči teplu 100 °C, aj keď pár drobných arašidových alergénov sú tepelne labilné [50]. Komerčné spracovanie arašidových výrobkov, vrátane arašidového masla a rôznych múk si zachovávajú svoju alergénnosť. Bolo zistené, že alergenicita 11S a 7S frakcií podstatne poklesli pri 80 °C po dobu 60 min a 120 °C po 60 min, v neskorších pokusoch bolo zistené, že na alergénnosť troch hlavných frakcií sójových bielkovín bola len minimálne ovplyvnená teplom pri teplote 37 °C po dobu 60 min, 56 °C po dobu 60 min, 100 °C po dobu 5 min, 100 °C po dobu 20 min alebo 100 °C po dobu 60 min [51].

3.1.8.1 Vlhké teplo

In vitro vyšetrením dodecyl sulfánom sodným – polyakrilamidového gelu elektroforézou tuniaka a lososa odhalila výrazné straty definovateľných podielov proteínov v extraktoch rybích konzerv a konvenčne varených rýb, a immunoblotting rozborom preukázali minimálne IgE špecifické väzby. Navyše sa znížila alergenicita konzervovaného tuniaka a lososa preukázaná testom ELISA a ústnej skúšky, z konzerv lososa u dvoch pacientov alergických na lososa. Tieto nálezy naznačujú, že niektoré z hlavných alergénov zodpovedajú za IgE sprostredkovanie potravinovej alergie na ryby [52].

Štúdie o alergii ovocia kiwi poskytujú a obzvlášť ukazujú príklad vplyvu tepelného spracovania na alergiu. Časť heterogenicity a variability výsledkov rôznych štúdií na stabilitu alergénov kiwi vznikne skrížená reaktivita s niekoľkými ďalšími alergénmi, ako sú peľový alergén, ale aj z heterogenicity bielkovín [53]. Obchodným spracovaním ovocia kiwi varením pri pare 100 °C a počas 5 minútovej homogenizácie, bolo nedávno oznámené odstránenie necitlivosti na kiwi u niektorých alergizujúcich detí na kiwi [54]. IgE väzobná schopnosť β -laktoglobulínu, ako izolovaného čistého proteínu, alebo ak sa nachádza v plnotučnom mlieku, bola študovaná inhibícia IgE protilátok závažné pomocou inhibície [78]. Mierny alebo významný pokles IgE viazania bolo pozorované medzi nevykurovaným a teplom ošetreným β -laktoglobulínom [55].

3.1.8.2 Suché teplo

Za pomoci Maillardovej reakcie a enzymatického hneďnutia boli hlásené zmeny zničenia konformačných epitopov u čerešňového alergénu *Pru av 1* [56]. Tiež bolo zistené, že pražením sa znížila alergénosť lieskových orechov, najmä u pacientov citlivých na peľ brezy. Toto vyšetrenie tiež zistilo, že 5/17 alergénnych pacientov na peľ brezy boli pozitívny na pečené lieskové oriešky. Ak Maillardove reakcia sama o sebe je schopná znížiť IgE reaktívnych epitopov, dôležitých pre ľudské alergie. Tieto dve štúdiá naznačujú, že je dôležité zvážiť či je pacient citlivý na konformačný, lineárny alebo obidva typy epitopov. Na druhej strane bolo tepelným spracovaním preukázané zvýšenie IgE väznosť, činnosťou dvoch hlavných alergénov burských arašidov *Ara h 1* a *Ara h 2*. Maleki *et al.* naznačujú, že tepelným spracovaním sa môže zvýšiť alergénosť arašidov [57].

3.1.8.3 Vplyv teploty na potravinové alergény

Tepelné ošetrenie môže alergénne účinky znížiť (napríklad u syrovátkových bielkovín), zvýšiť (napríklad u pražených arašidov alebo varenej šošovice) alebo neovplyvniť (napríklad u kôrovcov). Britská organizácia, ktorá vznikla za účelom podpory ľudí s alergiou *Anaphylaxis campaign* sa s využitím materiálu britského úradu FSA a úradu EFSA a po rade konzultácií sa pokúsila vyhodnotiť vplyv tepelného ošetrenia na niektoré alergénne potraviny.

Arašidy – bielkovina spôsobujúca alergickú reakciu je veľmi odolná, pražené arašidy dokonca môžu zvýšiť alergickú reakciu.

Vlašské ořechy – tepelné ošetření může alergickou reakci zmierniť. K ostatným orechom nie ku k dispozícii podklady.

Mlieko – alergia býva vyvolaná u jednotlivých osôb rôznymi bielkovinami. Pasterácia mlieka (relatívne nízke teploty) alergénny účinok významne neznižia. Vysoké teploty rozložia syrovátkové bielkoviny a účinok zníži, ale kasein rozloží len z časti.

Vajce – podobne ako u mlieka, niektoré bielkoviny sa vysokou teplotou rozložia ale iné nie. Účinok závisí na typu bielkoviny, na ktorú je osoba alergická.

Ryby – bielkovina parvalbumin je stabilná, alergická reakcia sa nemení. Niektoré osoby reagujú alergicky na tepelne opracované ryby, nikoli na surové.

Kôrovce – alergická reakcia sa po tepelnom opracovaní nemení.

Pšenica – pri pečení a varení sú síce niektoré bielkoviny rozložené, ale väčšina je stabilná, alergická reakcia sa neznižuje.

Ovocie – záleží na tom, či sú jednotlivci alergický na profilíny (podobná štruktúra ako peľ brezy, táto bielkovina je nestabilná, alergický účinok sa tepelne znižuje) alebo na bielkoviny prenášajúce tuky (tie sú stabilné, účinok sa nemení).

Zeler – zahrievanie znižuje len čiastočne alergickú reakciu.

Horčica – alergická reakcia sa neznižuje.

Šošovica – rovnako ako u arašidoch môže tepelne upravená šošovica vyvolávať silnejšiu reakciu [58].

3.1.9 Netepelné spracovanie

3.1.9.1 Klíčenie

Počas klíčenia katalytickým enzýmom ako proteínáza a amyláza mobilizuje uložené živiny proteínov a sacharidov, respektíve zabezpečuje rast sadeníc. Preto klíčenie môže pomôcť k odstráneniu niektorých epitopov v skladovaných bielkovín v závislosti na enzýmovej špecifickosti a citlivosti epitopov na enzými, ktoré sú aktívne počas obdobia klíčenia. Je jasné, že sú potrebné ďalšie štúdiá na určenie, či klíčenie je účinný pri znižovaní alebo odstránení alergie semien. Semená, ktoré sú často používané pri príprave

kapusty (sójové bôby, fazuľa Mung) by mohli byť prirodzenou voľbou pre takéto štúdie [57].

3.1.9.2 Chemické ošetrovanie

Väčšina potravinových alergénov sú odolné voči extrémnym hodnotám pH, pretože musia prežiť drsné hodnoty v kyslom prostredí žalúdka, aby sa ukázal ich alergénny vplyv. Napríklad *Ara h 1* hlavné arašidové alergény sú stabilné pri pH 2,8 – 11,0 a vaječný albumín je stabilný pri pH 3,0 [59]. Avšak alergény čerstvého ovocie a zeleniny sú voči kyslému prostrediu labilné a prestanú vykonávať svoj alergénny vplyv po stretnutí so žalúdočným prostredím. Rôzne chemické ošetrovania boli skúmané v snahe znížiť alergenicitu potravinových bielkovín. Zníženie alergénnej aktivity ovomukoidu a vaječného albumínu sa pokúšali znížiť kationovými bromidmi. Pri ovomukoide nebola alergénna aktivita ovplyvnená, kým pri albumíne sa znížila [60].

3.1.9.3 Proteolýzy a hydrolyzy

Potravinové alergény sú všeobecne rezistentné voči proteolýze alebo hydrolyze. Napríklad, *Gad c 1*, ktorý je hlavný alergén tresky, bolo zistené, že je pomerne odolný voči proteolýze, ako kombinácia štyroch proteáz bolo potrebné zničiť IgE viazanie [61]. Alergény vajec, arašidov, sóje sú odolné voči proteolytickým procesom [51]. V štúdiu, ktorú vykonal Astwood a jeho kolektív [62], komerčnej a kyslej hydrolyzy sójových proteínov bolo zistená ich alergenicita, rovnako ako aj pri fermentovaných sójových výrobkoch ako sú sójové omáčky, tempeh a tofu.

Proteolytické alebo hydrolytické štiepenie alergénov denaturuje konformačné IgE viazanie epitopov, ktoré môžu byť prítomné, rovnako ako zničenie sekvenčne IgE viazanie epitopov proteínov. Aj keď sa tieto procesy môžu eliminovať IgE väzobnej aktivity, môžu tiež viesť k horkej chuti z prítomnosti malých peptidáz. Priemysel dojčenskej výživy bojoval niekoľko rokov s proteolytickými procesmi pri kravskom mlieku a sójovom proteíne, aby sa pokúsili vyrobiť chutný hypoalergénnu formulu pre potraviny alergénne dieťa. Rozsiahla hydrolyza kazeínu zníži alergénnosť do značnej miery. Jedna obchodná dojčenecká výživa na trhu je založená na kazeinovom hydrolyzáte, ktorý obsahuje 70 % voľných aminokyselín a peptidov s dĺžkou reťazca z 5 – 8 aminokyselinový zvyškov [62]. Zatiaľ väčšina hypoalergénnych dojčenských výživ na trhu, sú založené na extenzívnej

hydrolyze, bola tiež preukázaná alergia u niektorých mliečne citlivých dojčiat [63]. Ostatné hypoalergénne potraviny boli vyrobené s použitím enzymatických proteolytických procesov. Hypoalergénna pšenica bola vyrobená úpravou z pšeničnej múky s rôznymi proteázami, ako sú bromelain, actinase, transglutaminázy alebo kolagenázy. Podobne hypoalergénna ryža bola vyrobená proteolitickými enzýmami alebo pomocou enzýmu actinase a následnému zníženiu tlaku na odplynenie [64].

3.1.9.4 Ultrafiltrácia

Výrazná teplotná stabilita bola hlásená u alergénov broskýň. Iba záverečný ultrafiltračný krok bol schopný produkovať hypoalergény broskyňovej šťavy. Avšak žiaduce sensorické vlastnosti hotového výroku, ako je zákal šťavy (ktorý sa zvyčajne prisudzuje sacharidom, peptidom a celulóze) a pocit v ústach (pripisovaný uhl'ohydrátom, minerálom a viskozite) boli hlásené pri ultrafiltrácii, možno kvôli fyzikálnemu odstráneniu molekúl rozhodujúcich o sensorických vlastnostiach [65].

Fyzikálne ošetrenie môže v niektorých prípadoch ovplyvniť alergénnosť. Alergén sóje môže byť odstránený na ultraodstredivke, aj keď to má len obmedzenú účinnosť, ako *Gly m 1* nie je alergén pre väčšinu sójových alergikov [64].

3.1.9.5 Skladovanie

Pomocou IgE western blotting bolo preukázané, že pšenica a jačmeň (nie však ovsené) proteinové extrakty uložené v 50% glycerole boli stabilné až do 21 mesiacu pri teplote 4 °C a 10 mesiacov pri 20 °C. Ak bol použitý 0,4% fenol ako konzervant, väčšina alergénnosti bielkovín sa stratila po 1 mesiaci skladovania [66].

3.1.9.6 Kombinácia procesov

Dube *et al.* oznámili, že spoločné metódy spracovania často používaných pri mangových džúsoch a čisté spracovanie, vrátane rozpadu tkanív, zohrievaní počas peelingu, rozvlákňovanie, blanšírovanie a pasterizačnom opatrení nijako významne neznížili stabilitu alergénov manga a 40 kDa proteínu. Podobne Apple lipid transfer protein (LTP), hlavný alergén v jablkách, a nešpecifické lipid transfer protein (nsLTP) v cherry bola hlásená stabilita voči tepelnému opracovaniu [67]. Hodnotenie stability antigénu bielkovín v mandliach, kešu, vlašských orechov podrobené rôznym metódam spracovania

vrátane γ -žiarenia samostatne alebo v kombinácií s blanširovaním, varením za vyššieho tlaku, rúry na pečenie, vyprážanie, mikrovlnným ohrevom sa bielkoviny javili antigénovo stabilné. Kým tepelné spracovanie môže inaktivovať niektoré štruktúrálné epitopy, takéto zaobchádzanie je nepravdepodobné pri odstránení alergénosti mandlí, kešu a vlašských orechov [68].

Častou kombináciou proteolýzy alebo hydrolýzy s inými procesmi ako je tepelné ošetrenie, ultrafiltrácia alebo odstredenie sa používa na výrobu hypoalergénnej dojčenskej výživy. Kombináciou procesov je potrebné pristupovať s opatrnosťou. Balgo *et al.* vo svojich štúdiách uvádzajú, že β -lactoglobulin bol selektívne odstránený po digescii s thermolysinom pod vysokým hydrostatickým tlakom ($100 - 300 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$), kým produkt postrádal β -lactoglobulin, bol ale stále obsiahnutý α -laktalbumin, ďalší hlavný alergén kravského mlieka [63]. Proteolytické trávenie srvátky s následnou tepelnou úpravou sa ukázal ako sľubný v hypoalergénnom vývoji dojčenskej výživy [69].

3.1.9.7 Fermentáciou proti alergénom

Vedecké informácie o účinkoch kvasenia na potravinové alergény sú pomerne obsiahle. Sójová omáčka je príkladom fermentovaných potravín s obsahom pšenice a sóje. Jednotlivé výrobky sa môžu líšiť, ale bolo nedávno dokázané, že alergény sóje sú zachované v konečnom produkte. Avšak uchované imunoreaktivity podľa hodnotenia inhibičných testov β -laktoglobulinu boli významne narušené v niektorých fermentovaných acidofilných mliečnych výrobkoch, ako sú jogurty v porovnaní s non-fermentovaných, pravdepodobne v dôsledku kombinovaného účinku proteolýzy a kyseliny indikovanej denaturáciou bielkovín [70]. Pomocou zmesi mliečnych baktérií a *Streptococcus lactis* sa môže dosiahnuť zníženie alergénov v mlieku a v srvátke. Podľa výskumníkov z Univerzity Hohenheim (SRN) je možné fermentáciou mlieka a srvátkovej zmesi (1:1) mliečnych baktérií a *Streptococcus lactis* znížiť obsah β -laktoglobulinu až o 90 % v mlieku a respektíve o 70 % v srvátke. V materskom mlieku sa nevyskytuje táto srvátková bielkovina, ktorá je hlavným alergénom kravského mlieka pre kojencov a deti (vyvoláva 80 % alergií, pokiaľ ide o mlieko). Problém ale zatiaľ je, že bol testovaný len vplyv na antigény, nie aktuálny alergénny potenciál. V ďalšom výskume musí byť vyrobené také množstvo produktu, aby bolo možné previesť klinické skúšky ohľadom zníženia alergického účinku [71].

4 STANOVENIE ALERGÉNOV V POTRAVINÁCH

Potravinové alergie predstavujú vznikajúci problém s bezpečnosťou potravín a povinného označovania príslušných potravinových alergénov. Existuje len málo overených detekčných metód, ktoré sú k dispozícii pre obmedzený počet potravinových alergénov. Imunologická detekcia potravinovej alergie sa môže týkať buď ľudského séra IgE protilátky alebo zvierat. Enzým–spojené imunosorbent testy sú v súčasnosti metódou voľby pre určenie alergénov v rôznych potravinových výrobkoch. PCR testy sú sľubné nástroje pre budúcnosť. Výkonné parametre metód, ako je citlivosť, špecifickosť, limit detekcie, ich využitie a reprodukovateľnosť sú podrobne preskúvané [72].

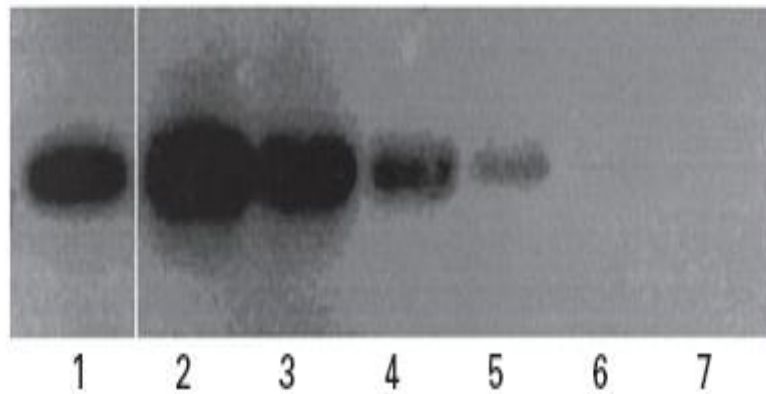
Automatizácia a rýchlejšie metódy sú dynamické oblasti záujmu pre detekciu alergénov v potravinách, a to ako v laboratórnych podmienkach aj pri spracovaní potravín. Testy možno automatizovať na zníženie ručnej manipulácie pri konkrétnych testoch, zrýchľovanie analýzy a znížiť ľudské chyby. Avšak niekoľko rýchlych metód bolo vyvinutých pre použitie na analýzu alergických reziduí s presnosťou, jednoduchosťou prevádzky a prijateľnej prevádzkovej rýchlosti. Rýchle metódy zvyčajne nevyžadujú laboratória a výsledky možno získať na mieste [73].

4.1 Immunoblotting v detekcii alergénov

Od svojho zavedenia zdravotníckych vied immunoblotting alebo Western blotting sa ukázali byť veľmi silnými výskumnými nástrojmi a jednými z najrýchlejších rozšírených. Hľadanie v PubMed pomocou kľúčových slov 'immunoblotting', 'potravina a alergén', vyústil v takmer 500 nájdených hľadaní, z ktorých prvé siahajú do druhej polovice roku 1980 [74].

Je otázkou, ktoré protilátky by mali byť použité pre detekciu alergénov v potravinových výrobkoch. Väčšina potravín a alergických pacientov má IgE protilátky, ktoré sú ďaleko potravinovo–špecifické nie non–špecifické. Dokonca aj keď sú klinicky alergický na jedlo, ich IgE protilátky takmer vždy krížovo reagujú na iné potraviny. Tieto protilátky môžu byť potenciálne použité pre detekciu potravinových alergénov v extraktoch potravinách (produktov). Príklad je uvedený v (obr. 3.). A mAb vznesenej proti hlavému brezovému alergénu *Bet v 1*, mAb 5H8 bol nájdený v krížovej reakcii na hlavný alergén v jablku, *Mal d 1*. Semi–kvantitatívna detekcia z *Mal d 1* v extrakte jablku je možné použiť

štandardné krivky vyčistenej *Mal d 1*. Podobné postupy je možné použiť pre mnohé iné potravinové alergény. Polyklonálne antiséra vznesené proti čistým potravinovým alergénom môžu byť použité miesto mAbs. Výhodou mono–polyklonálnych antisér (špecifických) je, že zvyčajne majú vyššiu afinitu ako mAbs, čo vedie k nižším detekčným limitom [74].



Obr.3 Semi-kvantitatívna detekcia Mal d 1 v jablku. Monoklonálna protilátka 5H8 vznesená proti Bet 1 bola použitá pre detekciu Mal d 1 v extrakte z Golden Delicious jablka. Pruhy 2-7 obsahujú štandardné krivky afinitu čistého Mal d 1.

4.2 ELISA

Bolo zistené, že imunostanovenie ako Enzým–imunosorbentný test (testy ELISA) má značné uplatnenie v klinickej diagnostike. Sú to v skutočnosti metódy voľby, ale mali doteraz malý vplyv na analýzu potravín. Avšak od roku 1990 došlo k zvýšeniu počtu používania techník ELISA pre enviromentálne kontaminanty v potravinách. Bohužiaľ, len málo ktoré boli hlásené u potravinových alergénov [73].

4.2.1 Princíp ELISA testov

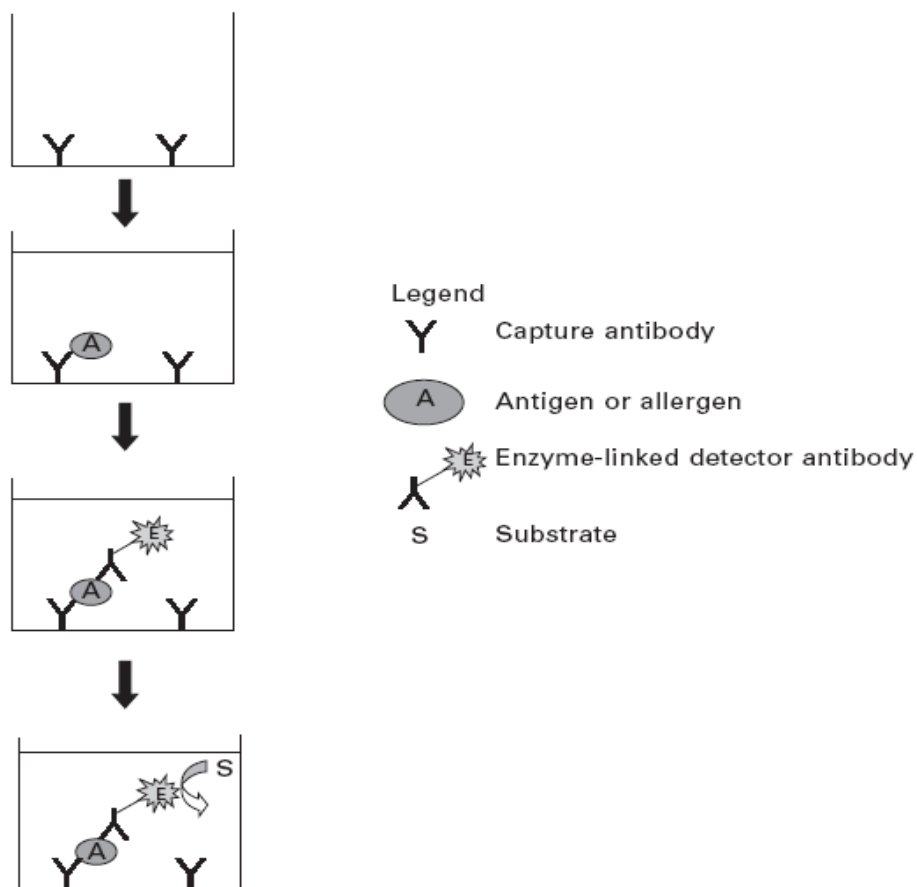
Imunochemické metódy pre analýzu enviromentálnych kontaminantov sú veľmi relatívne nové v analytickej chémii. Tieto metódy sú založené na použití špecifických protilátok ako detektor pre analytický záujem, ako sú potravinové alergény. V tejto súvislosti sa nerozlišuje alergén medzi antigénom, môžu byť vzájomne zameniteľné. Imunostanovenia sú rýchle, citlivé, selektívne a sú vo všeobecnosti rentabilné.

Imunostanovenia môžu byť navrhnuté ako rýchle, field–prenosné, semi–kvantitatívne metódy, alebo ako štandardné kvantitatívne laboratórne postupy. Sú vhodné pre analýzu veľkého množstva vzoriek, a často sa nevyžadujú dlhé prípravy roztokov, ako je tomu v prípade chromatografie. ELISA testy sú založené na použití enzýmu spojeného s protilátkou proti zisteniu väzby antigen (Ag) a protilátky (Ab). Enzým premení bezfarebný substrát (chromogén) na farebný produkt, čo naznačuje prítomnosť Ag:Ab. V potravinárskom priemysle sú ELISA testy zvyčajne používané pre detekciu antigénov ako sú alergény, pesticídy, mykotoxíny alebo patogénov vo vzorke. Sú dve formy pre meranie antigénu:

- Sandwich ELISA (obr.4)
- Kompetetívne ELISA (obr.5) [73].

4.2.2 Sandwich ELISA

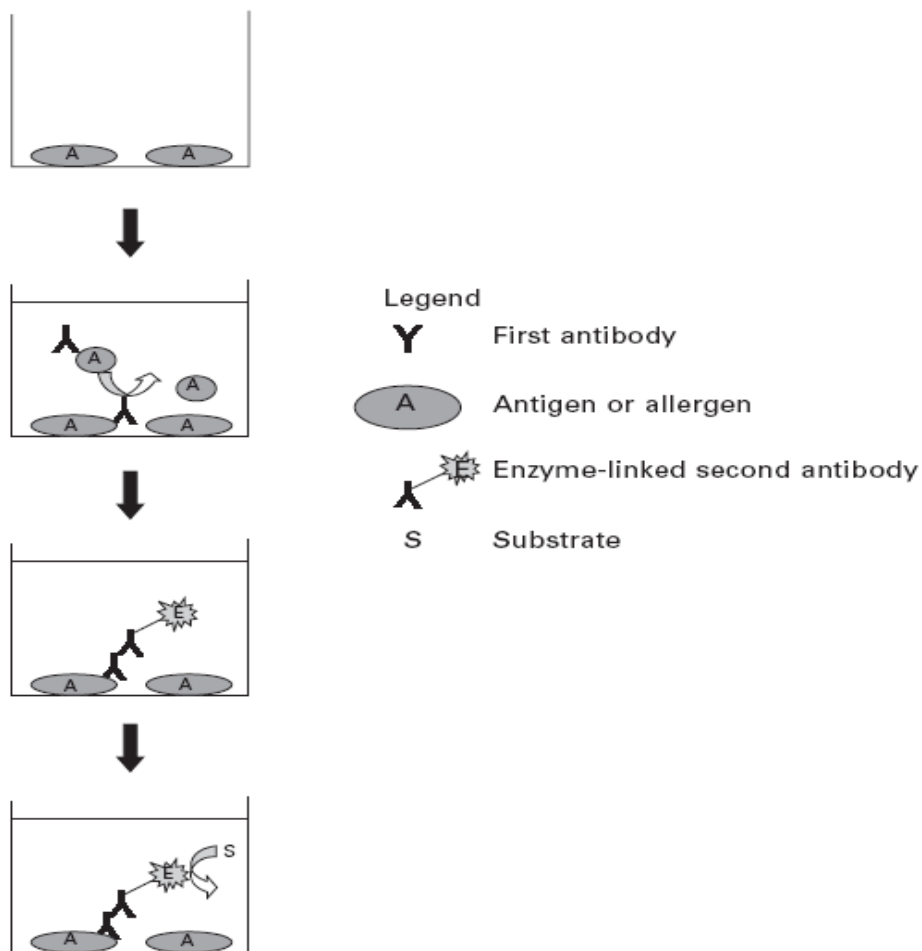
Sendvič ELISA je citlivý test, ktorý dokáže detekovať a kvantifikovať koncentráciu špecifických rozpustných proteínov. Sandvičová ELISA môže byť špecifickejšia, pretože protilátky namierené proti dvom alebo viacerým zreteľným epitopom sú povinné. Základná sendvičová ELISA metóda využíva viac ako vysoko čisté, konkrétne protilátky, ktoré sú absorbované na mikroplatničkových doskách. Imobilné látky slúžia k špecifickému zachyteniu ich zodpovedajúcich antigénov, ako sú potravinové alergény, ktoré sú prítomné vo vzorkách. Po umytí naviazaného materiálu, sú zachytené antigény detekované pomocou enzýmu konjugované protilátky (detektory protilátok). Nasledujúce prídanie chromogénneho substrátu-obsahujúce riešenie, úroveň farebného produktu vytvorený viazaním, enzým-spojený protilátkami môžu byť merané spektrofotometricky pomocou ELISA–doštičky na vhodnej vlnovej dĺžke. Kým výsledky sendvičovej ELISA môžeme kvantifikovať proti kalibračnej krivke, intenzita zmeny je zhruba proporcionálna na koncentráciu alergénu vo vzorke, to je čím intenzívnejšia zmena farby, tým vyššie množstvo alergénu vo vzorke. Prípadne, kvantitatívne výsledky môžu byť výsledky vizualizované proti použitému štandardu [73].



Obr.4 Typická sendvičová ELISA [73].

4.2.3 Kompetitívna ELISA

Kompetitívna inhibícia ELISA je technika, ktorá používa jeden epitop prístup k Ab rozpoznať alergénne zvyšky vo vzorke. V konkurečnom teste, Ag je potiahnutý na jamky a roztok obsahujúci obmedzenú sumu prvej Ab spolu s Ag alebo analyzovanej látky sa pridáva. Táto metóda je založená na zásade, že Ag vo vzorke sa bude viazať k Ab a potom súťažiť o záväznosť povlaku Ag na jamky. Po neviazaný Ab je umytie, druhý Ab-enzýmový konjugát slúži na detekciu viazanej Ag:Ab komplex v jamkách. V tomto formáte, vyrobená farba je nepriamo úmerná, teda vyššia farba nižšia koncentrácia bielkoviny [73].



Obr.5 Typická kompetitívna inhibícia ELISA. Prvá protilátka reaguje s viazaným antigénom, a označená druhá protilátka reaguje s primárnou protilátkou [73].

4.2.4 Výhody a nevýhody ELISA

Výhody:

- Použitie jednoduché, rýchle a môže byť automatizované
- Citlivé (v nízkom ppm rozsahu)
- Pohodlné a štandardizovaných 96 formátov, ktoré môžu prejsť do jamkových pásov
- Selektívne pre alergénne reziduá
- Dostupnosť označených činidiel

- Rýchla redukcia dát
- Nízke počiatkové náklady
- Prenositeľnosť

Nevýhody:

- Dlhý vývojový čas
- Možná krížová reaktivita
- Matrixové efekty
- Potenciálne pozitívne falšovanie z hluku alebo matice [73].

4.3 PCR – polymerázová reťazová reakcia

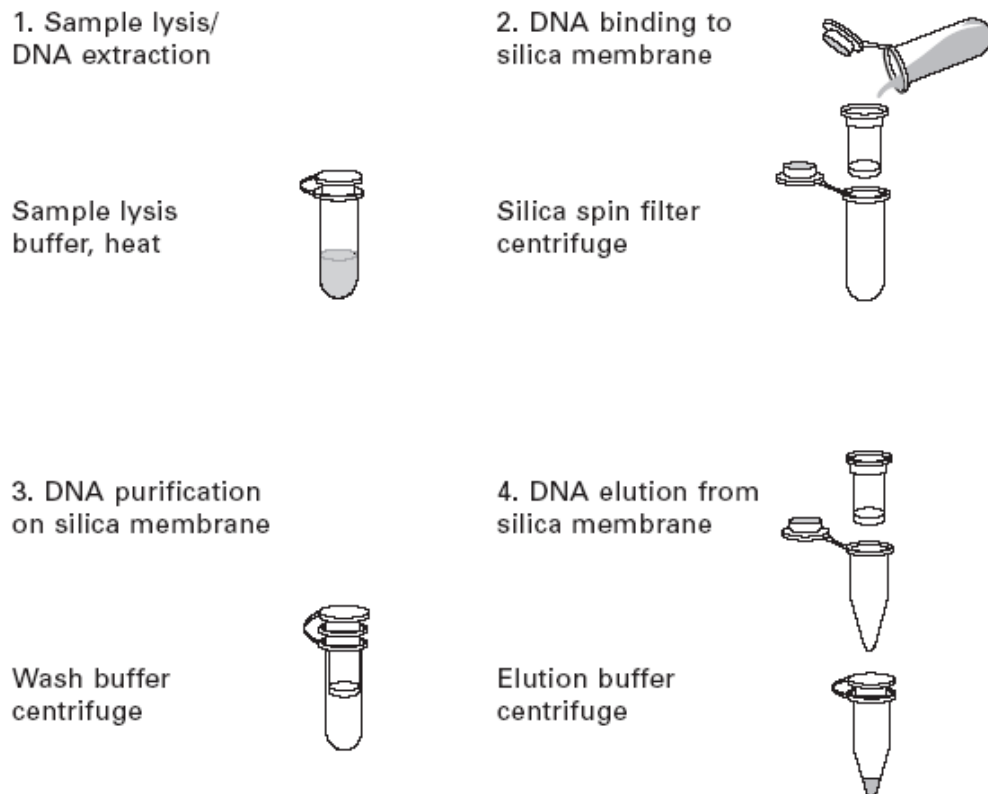
Polymerázová reťazová reakcia bola vyvinutá vedeckými pracovníkmi biotechnologickej firmy Cetus Corporation v USA v polovici 80. rokov 20. storočia. Objaviteľom tejto metódy bol v roku 1983 molekulárny genetik Kary B. Mullis, ktorý po prvý krát vykonal mnohonásobnú *in vitro* replikáciu v skúmavke. V októbri roku 1993 za objav PCR získal Nobelovu cenu za chémiu. O rastúcom význame PCR svedčí stúpajúci počet publikácií venovaných každoročne tejto metóde. Od niekoľkých v roku 1984 na približne 10 000 v roku 1990 až na 30 000 do roku 1998 [75]. Polymerázová reťazová reakcia je technika široko používaná v molekulárnej biológii, mikrobiológii, genetike, diagnostike, foreznej vede, klinických laboratóriách a v mnohých ďalších vedách [76]. PCR metóda bola preukázaná ako DNA metóda založená pre identifikáciu geneticky modifikovaných organizmov (ako sú transgénna sója a kukurica v rôznych potravinárskych výrobkoch), patogénnych potravín súvisiace s rastlinným alebo živočíšnym druhom [72].

4.3.1 Princíp PCR

Každá analýza PCR sa skladá z troch po sebe nasledujúcich krokov:

1) Extrakcia DNA a čistenie (obr.6) – pri analytických metódach, ktoré rozpoznávajú skryté alergény bola navrhnutá citlivosť 10 ppm (mg/kg) alebo menej alergénnych potravín v zloženej potravine. Potreba pre detekciu alergénnych potravín na tejto úrovni je podporovaný double-blind placebo kontrolovanej potravinovej výzvy (DBPCFC), štúdie

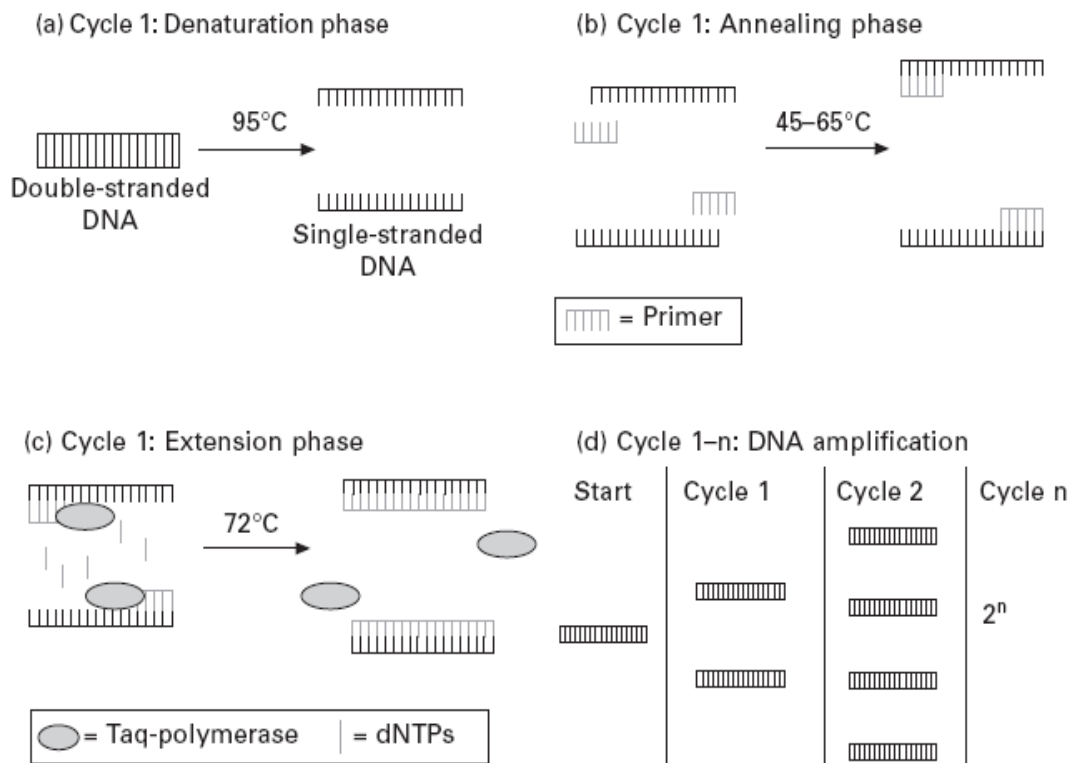
ktoré ukázali, že iba 100 μ g arašidov môže vyvolať miernu alergickú reakciu na citlivých jednotlivcov.



Obr.6 Extrakcia DNA a čistenie založené na DNA väzbe oxido kremičitej membrány: charakteristické kroky v DNA izolácii a potrebné reagentie a spotrebný materiál [77].

- 2) Aplikácia špecifickej sekvencie DNA.
- 3) Detekcia amplifikovaných PCR produktov.

Táto sekcia ukazuje konkrétne kroky v polymerázovej reťazovej reakcie so zvláštnym zreteľom na detekciu alergénnych potravín. Základom pre PCR je tepelne – stabilná DNA polymeráza, ktorá je schopná doplniť konkrétny DNA fragment, ktorý je lemovaný dvomi osobitnými oligonukleotidmi (priméry). Všeobecne platí, že PCR je teplotne závislá reakcia, ktorá sa skladá z radu 25 – 45 cyklov, s každým cyklom skladajúcim sa z troch fáz, ako je denaturácia, žihanie a rozšírenie fázy (obr.7). Všetky fázy sú vykonané v jednej reakčnej fľaštičke pri definovanej teplote [77].



Obr.7 Princíp PCR.

- Po tepelnej denaturácie genómovej DNA
- Sekvence-špecifické priméry sa viažu na jeden plietol DNA počas žihacej fázy
- Následne, Tag DNA polymerázy rozširuje priméry vyplnením hore chýbajúcej časti s desoxynucleotidetriphosphates
- Exponenciálna amplifikácia produktov PCR je zobrazená [77].

4.3.2 Modifikácie PCR

4.3.2.1 Asymetrická PCR

Asymetrická PCR je modifikácia PCR, ktorá umožňuje preferenčnú syntézu len jedného vlákna z duplexu DNA tým, že jeden z primerov je v nadbytku. Ako produkt PCR tak vzniká jednovláknová DNA vhodná napríklad pre sekvenovanie [75].

4.3.2.2 *Nested PCR*

V PCR sa môže docieľiť zvýšenie citlivosti pomocou hniezdového (nested alebo seminested) usporiadania. Typický postup hniezdovej amplifikácie zahŕňa prvú časť (15 až 30 cyklov) s jedným párom primeru a druhou časťou (15 až 30 cyklov) s využitím druhého páru primerov komplementárnych k miestu vo vnútornej sekvencii primárneho amplikonu. Medzi oboma časťami sa PCR produkt prenáša do novej skúmavky. Táto technika má výhody aj nevýhody. Jej citlivosť je značne vysoká. Často môže byť detekovaná jediná kópia cieľovej molekuly v reakčnej skúmavke bez použitia hybridizácie so značnou sondou. Pre prvú reakciu sa použije prvá sada oligonukleotidov, v druhej, nested reakcii sa použije oligonukleotidy, ktoré sú navrhnuté pre fragment získaný ako produkt prvej PCR. Táto obľúbená modifikácia ma radu aplikácií, niektoré vystačia so sadu troch primerov [75].

4.3.2.3 *Multiplexová PCR*

Významnou modifikáciou je multiplexová (mnohonásobná) PCR. Táto reakcia je veľmi výkonná metóda k testovaniu bodových mutácií v jednej amplifikačnej reakcii. V multiplexnej PCR je použité viacero párov špecifických primerov komplementárnych rôznym cieľovým sekvenciám v jednej amplifikačnej reakcii. Súčasná amplifikácia niekoľkých cieľov naraz sa prevádza s niekoľkými zámermi:

- sledovať zmeny v rozsiahlych oblastiach DNA,
- sledovať rôzne segmenty cieľového genómu,
- zahrnúť vnútorná kontrola amplifikovateľnosti vzorku,

Najzložitejšia je fáza prípravná, kde je nutné vypracovať také reakčné podmienky, aby amplifikačné reakcie pre každý testovaný úsek genomickej DNA neprebíhala iba v prípade, že sa jedná o mutáciu v tom ktorom príslušnom mieste [75].

4.3.3 **Najčastejšie zdroje kontaminácie metódy PCR**

Medzi najčastejšie zdroje kontaminácie, ktoré narušujú analýzu metód PCR sú:

- Kontaminácia reagensmi používaných pre PCR reakcie, ktoré už boli niekoľkokrát použité,

- Akumulácia produktov PCR reakcií (amplikonov) v laboratóriách pri opakovaných amplifikáciách rovnakých cieľových sekvencií
- Pomerne veľké množstvo cieľových molekúl DNA alebo RNA prítomných vo vyšetrovaných vzorkách [75].

4.3.4 Trendy budúcnosti

Niekoľko vedeckých štúdií naznačujú, že DNA-založené metódy môžu byť aplikované na analýzu skrytých alergénov v hotových potravinových výrobkoch a môžu doplniť použitie ELISA testov. Niektoré alergénne potraviny a matice môžu byť vhodnejšie pre PCR a iné vhodnejšie pre analýzu ELISA. ELISA skúšky môžu byť vhodné pre detekciu vajec a mlieka ako alergénne potraviny, keďže rozlišovanie medzi fylogeneticky príbuznými orechmi, rybami a kôrovcami môžu byť ľahšie dosiahnuteľné metódami založené na PCR. V budúcnosti, vývoj metód k izolácii amplifiable DNA pre vysoké výnosy a vysokú čistotu ďalej pomôže k zlepšeniu použiteľnosti PCR pri detekcii skrytých alergénnych potravín [77].

4.4 Biosenzory a SPR technológia

Biosenzory sú analytické prístroje, ktoré sa skladajú z biologicko uznaného elementu (napríklad buňky, proteiny alebo oligonukleotidy), v priamom kontakte s prevodníkom, ktorý produkuje signál, ktorý je ďalej spracovávaný, a ktorý je úmerný koncentrácií špecifického analytu. Prevodníky môžu byť optické, amperometrické, potenciometrické alebo akustické. V súčasnej dobe, analýza potravín pomocou SPR je rýchlo rastúcim polom. Zatiaľ najväčší rozvoj bol v oblasti vitamínov a rezidui veterinárnych liečiv. Príklady bielkovín SPR potravinových imunologických stanovení sú detekcie Stafylokokových enterotoxínov, protilátky salmonel u kurčiat a hubového aflatoxínu B1. Detekcia najrôznejších mliečnych bielkovín bola zaznamenaná v niekoľkých skupinách. SPR nástroje sú k dispozícii z rôznych komerčných zdrojov. SPR detekcia je nezávislá na rádioaktívnom, fluorescenčnom alebo enzýmovom štítke. V porovnaní s koncovým bodom analýzy ako je ELISA a raketové imunoelektroforézy, analýzy SPR poskytujú aj ďalšie informácie ako napríklad môže kvantifikovať množstvo protilátok imobilizovaných na povrchu čipu [78].

4.5 Nový test na stanovenie potravinových alergénov

Spolkový úrad pre posudzovanie rizika (BfR) v Nemecku vyvíjajú nový systém testovania alergénov, ktorý bude k dispozícii na začiatku roku 2012. Výrobcom potravín umožní stanoviť malé množstvá vo výrobkoch behom desať minút. Hovorca BfR uvádza, že systém je založený na troch metódach : PCR, ELISA a spojením oboch týchto metód. Výsledkom je, že prevádzanie testov bude jednoduchší, lacnejší a citlivejší ako umožňujú doterajšie metódy. Pomocou uvedeného testu sa stanovia rôzne alergény, bude možné ich analyzovať paralelne. Stanovia sa aj alergény, ktoré boli už doteraz náročné detekovať. Nová metóda BfR napomôže znížiť nejednoznačnosť v uvedení alergénov na obaly výrobkov, v ktorých sú alergény obsiahnuté náhodne. Uvedený výskumný projekt zameraný na vývoj novej testovacej metódy podporilo Spolkové ministerstvo pre potraviny, poľnohospodárstvo a ochranu spotrebiteľa v Nemecku [79].

5 VÝSKYT POTRAVINOVÝCH ALERGIÍ V EÚ

5.1 Projekt EuroPrevall

EuroPrevall je multi-disciplinárny výskumný projekt. Projekt začal v júni 2005 a skončil v decembri 2009, hoci mnohé z publikácií vyplývajúce z projektu budú stále v procese pripravovaných. EuroPrevall bol financovaný Európskou úniou a je najväčší projekt na potravinové alergie financovaných EÚ s rozpočtom cez 14 miliónov euro. Projekt bol koordinovaný Clare Mills na Ústave potravinárskeho výskumu vo Veľkej Británii a má 67 členských organizácií v 24 krajinách sveta a viac ako 250 zamestnancov podieľajúcich sa na projekte. Partneri sú najmä v Európe s 17 európskych členských štátov zapojených v projekte, ale sú tu aj partneri zo Sibíru, Indie a Číny. Výskum sa zamerá na charakterizujúce vzory a prevalencie potravinovej alergie v Európe u dojčiat, detí a dospelých, a to prostredníctvom EuroPrevall. Projekt však skúmal tiež vplyv potravinovej alergie na kvalitu života a jej ekonomické náklady spojené s potravinovou alergiou, diagnostickú techniku, vyšetovanie a spracovanie potravín za účelom zníženia alergénneho potenciálu. EuroPrevall výskumné štúdie boli rozdelené do piatich rôznych tém:

1. Epidemiológia potravinovej alergie v celej Európe
2. Životné prostredie, strava, mikróby a paraziti a ich úloha pri rozvoji potravinovej alergie
3. Alergén, štruktúra potravín
4. Sociálno-ekonomický dopad potravinovej alergie
5. Správa potravinovej alergie po celej Európe [80].

5.2 Výskum v rámci EuroPrevall o percente osôb s alergiou na potraviny v spoločenstve

Viac ako 8500 novorodencov, z 9 rôznych krajín v Európe (obr.8), sa bude podieľať na štúdií, ktorá bude skúmať výskyt potravinovej alergie v prvých 2,5 roku života. Výskumní pracovníci budú vykonávať testovanie alergie, ak dieťa vykazuje príznaky príbuzné potravinovej alergie. Budú zisťovať, či výskyt potravinovej alergie je rovnaký vo

všetkých krajinách s odlišnou kultúrou a podnebím. Ak budú rozdiely existovať, výskumní pracovníci budú skúmať či rozdiely môžu vysvetľovať napríklad rôzne stravovacie návyky. Štúdie EuroPrevall s novorodencami je najkomplexnejšie prešetrovanie potravinovej alergie v prvých rokoch života k dnešnému dňu. Okrem toho sa bude približne 30 000 detí v školskom veku a dospelých z 10 európskych krajín (obr.9) podieľať na prieskume. Pokiaľ ide o štúdiá s novorodencami, výskumní pracovníci majú za cieľ určiť percento detí a dospelých s rôznymi druhmi alergie na potraviny. Štúdie v školskom veku sa budú konať v školách pomocou dotazníkov, kde sa výskumníci budú pýtať detí o symptómy, ktoré môžu súvisieť s potravinovou alergiou. Výskumní pracovníci budú vykonávať testovanie detí, ktoré vykazujú príznaky nožnej alergie na potraviny. Výskumníci určia dospelých pre štúdium, napríklad pomocou pacientov od praktických lekárov.

Vďaka týmto štúdiám, by sme mali mať oveľa jasnejší obraz o skutočnom percente ľudí s alergiou na potraviny v bežnej populácii a o rozdieloch, ktoré môžu existovať v celej Európe [80].



Obr.8: Krajiny v štúdií novorodencov

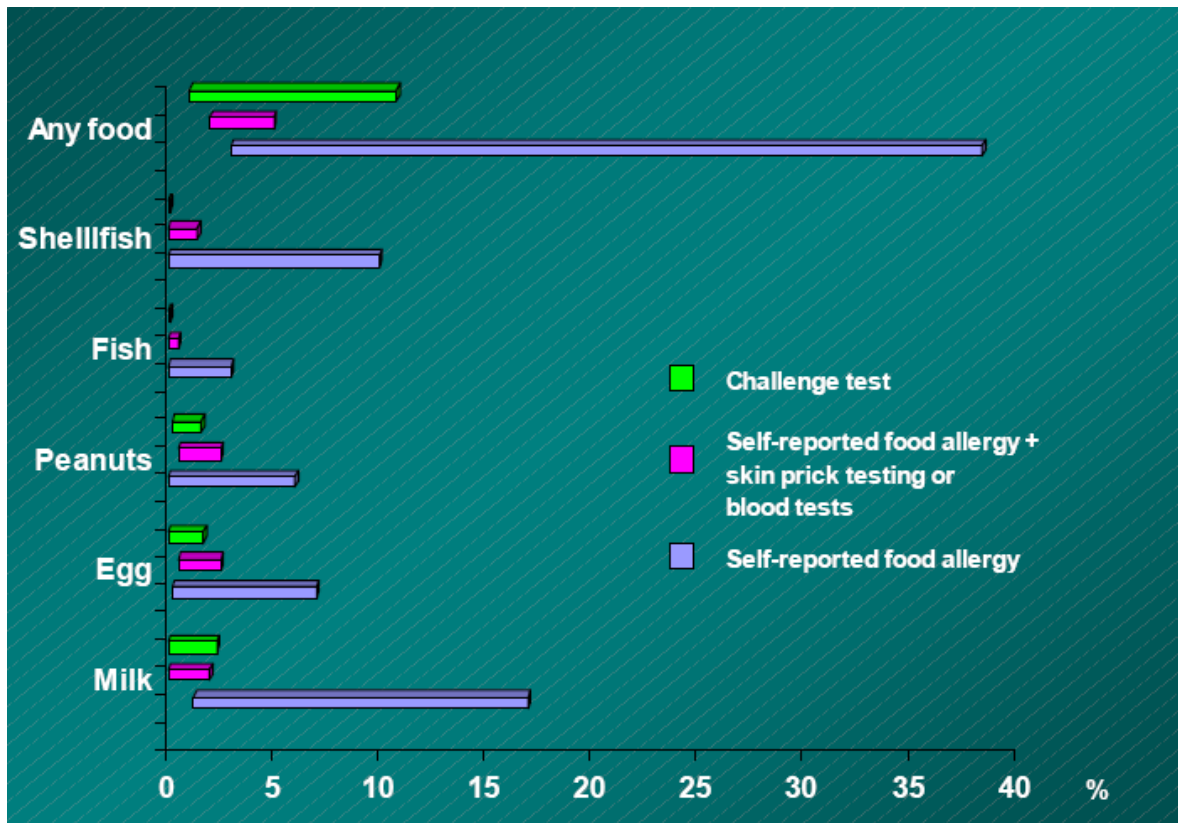


Obr.9: Krajiny v štúdií detí a dospelých

5.3 Percento ľudí s alergiou na potraviny v spoločnosti

Je dôležité vedieť percento ľudí s alergiou na potraviny. U jedinci s alergiou na potraviny sa objavia príznaky po požití potraviny, ktorá je pre drvivú väčšinu obyvateľstva súčasťou zdravej výživy. Jediný spôsob ako pre alergika riadiť potravinovú alergiu je vyhnúť sa potravinám, ktoré spôsobujú alergickú reakciu. Mnoho ľudí verí, že percento ľudí s alergiou na potraviny sa zvyšuje. Avšak až na niekoľko výnimiek, nie sú žiadne údaje, ktoré môžu objasniť, či je to v skutočnosti pravda. Jedná sa o klinický dojem, že výskyt zmien potravinovej alergie sa líši s vekom a v rôznych zemepisných oblastiach, napríklad v dôsledku rôznych stravovacích vzorcov. Ak skutočne tieto zmeny existujú, malo by to byť veľkou pomocou pre vedcov, ktorí sa snažia zistiť, prečo sa u niektorých ľudí vyvíja potravinová alergická reakcia. Nedávno výskumníci v EuroPrevall prezerali viac ako 900 publikovaných štúdií na posúdenie percenta ľudí s alergiou na potraviny. Viac ako 120 potravín boli popísané ako látky spôsobujúce potravinové alergie, ale iba v obmedzenom počte tých, spôsobujúce najväčšie alergické reakcie. Päťdesiat jeden štúdií o potravinových alergiách hodnotené u reprezentatívnej vzorke, boli použité na odhad percenta ľudí trpiacich na potravinovú alergiu. Súčasťou štúdií boli aj percentá ľudí s alergiou na akékoľvek jedlo a na konkrétne alergie na mlieko, vajcia, arašidy, ryby a mäkkýšov. Tieto potraviny boli vybrané, pretože mali najvyšší počet štúdií [80, 81].

Graf č.1 ukazuje rozdiely nájdené v rôznych štúdiách. Vedci zistili, že u opýtaných ľudí v prieskume na otázku, či majú potravinovú alergiu, 3 až 38 % odpovedalo, že majú, hoci len málo štúdií mali údaje nad 20 %. Aj tí ľudia, ktorí veria, že majú potravinovú alergiu sa musia potýkať s potravinami pri ktorých si myslia že sú príčinou ich alergie. Avšak iba u 1–11% z týchto ľudí bola potravinová alergická reakcia potvrdená. Väčšina štúdií, v ktorých bola potravinová alergická reakcia klinicky preukázaná správa v percentách medzi 1 až 5 % z celkového počtu obyvateľov, ktorý mali akúkoľvek alergiu na potraviny. Takže je tu veľký rozdiel medzi percentom ľudí, ktorí si myslia, že majú potravinovú alergiu a medzi percentom ľudí u ktorých bola diagnostikovaná potravinová alergická reakcia [80, 82].



Graf č.1: Výsledky z nedávnej analýzy EuroPrevall

Výskumníci analyzovali, či by bolo možné kombinovať výsledky rôznych štúdií a odhad celkového percentuálneho podielu ľudí s alergiou na potraviny v spoločnosti. Analýza ukázala, že výsledky medzi štúdiami sú tak pestré, že nebolo zmysluplné kombinovať výsledky a vypočítať buď celkový podiel osôb s alergiou na jedlo alebo podiel osôb alergických na určité potraviny. Jedno vysvetlenie pre veľkú rozmanitosť je to, že sú tam skutočné rozdiely medzi jednotlivými krajinami a spôsob akým tieto štúdiá boli navrhnuté. Jedna štúdia v 15 krajinách sveta rovnakou metódou ukázala rozdiely v potravinovej alergii 4,6 – 18 %. Nedávna analýza naznačuje na nutnosť pre výskumných pracovníkov používať rovnakú metódu pre diagnostikovanie potravinovej alergie s cieľom využiť výsledky na odhadnutie percenta ľudí s alergiou na potraviny v spoločnosti, a pozrieť sa na prípadné regionálne rozdiely [82].

5.3.1 Deti a alergia na potraviny

Okrem toho, čo vidieť z grafu, vedci zistili, že alergia na mlieko a vajcia má tendenciu byť bežnou medzi 0 – 4 rokom dieťaťa. To je v súlade s klinickou skúsenosťou.

Mnoho detí vo veku 3 – 5 rokov s alergiou na mlieko a vajcia vyrástli z alergie. Ostatné potraviny často spôsobujúce alergické reakcie u starších detí sú arašidy, ryby a orechy, Táto alergia často pretrváva po celý život [80, 82].

5.3.2 Dospelí a alergia na potraviny

Klinické dôkazy naznačujú, že ovocie, zelenina, orechy, arašidy sú zodpovedné za väčšinu alergických reakcií u dospelých. Väčšina alergických reakcií sa spúšťa z dôvodu krížovej reakcie v dôsledku alergie na peľ alebo latex [80].

5.3.3 Geografické rozdiely

Výskyt potravinovej alergie sa pravdepodobne líši v rôznych geografických oblastiach, napríklad z dôvodu odlišných stravovacích zvyklostí. Alergia na ryby sa zdá byť viacej častejšia v krajinách ako Nórsko, Portugalsko a Japonsko, kde sú ryby spracované vo väčšom množstve, než vo väčšine ostatných krajín. Ďalším príkladom je alergia na lieskové orechy, ktorá sa zdá byť viac obyčajná v zemepisných oblastiach bohatých na brezový peľ, pretože je krížová reaktivita medzi peľom brezy a lieskového orecha [80].

5.3.4 Rozdiely medzi pohlaviami

Málo informácií existuje na rodové rozdiely v potravinovej alergie u detí. U dospelých, je to tak, že potravinové alergie sú častejšie u detí. Je to dojem získaný od lekárov. Avšak nie je známe, či je táto nerovnosť spôsobená fyziologickými rozdielmi alebo máme hľadať rozdiely v zdraví medzi mužmi a ženami [80].

5.4 Európska “Biela kniha“ alergie

“Biela kniha” sa venuje alergickým ochoreniam, vyvolaným exogénnymi neinfekčnými faktormi, ktoré sú inhalované, prehltané, prípadne injikované, alebo ktoré prichádzajú do kontaktu so sliznicou. Patria k ním aj potravinová alergia. “Biela kniha” poskytuje základné údaje o súčasnej alergologickej praxi v Európe a načrtáva reálne cesty, ako možno dosiahnuť zlepšenie starostlivosti o alergikov. Zlepšenie odbornej prípravy v alergológii a zdokonalenie alergickej starostlivosti o deti a dospelých by prispeli

k lepšiemu “zdraviu” astmatikov a alergikov. “Biela kniha” navrhuje ucelený systém opatrení od odporúčaní, vedúcich od harmonizácie a zjednotenia štruktúry, organizácie a zdrojov až k prevencii a liečbe alergií. Patrí sem aj jednotný systém postgraduálneho vzdelávania v celej Európe a zlepšenie spolupráce praktických lekárov a špecialistov. Zodpovedné inštitúcie Európskej únie by si mali byť vedomé komplexnosti a významu diagnostiky a liečby alergií. Najviac by ma mali odborníci uznať urgentnú potrebu zdrojov nielen na podporu výskumu, ale tiež pre vybudovanie centralizovaného systému zdravotnej starostlivosti v Európe, zaručujúceho štandardizáciu v alergológii a klinickej imunológii. Stále významnejšiu úlohu majú dnes organizácie pacientov laikov, ktorí si navzájom odovzdávajú skúsenosti z boja s alergiou [83].

ZÁVER

Každý je neustále vystavený vplyvu okolitého prostredia. A rovnako ako pokožka, i tráviaci systém je v neustálom kontakte s látkami, ktoré prostredie poskytuje. V črevách sú za pomoci tráviacich enzýmov štiepené bielkoviny, tuky a sacharidy, ktoré sa potom v podobe molekúl vstrebávajú črevnou stenou do krvi. K alergii dochádza, keď sa črevná šľava, z dôvodov jej poškodenia, dostávajú do krvi i časti potravy, ktoré môžu vyvolať alergiu. Postupy spracovania potravín môžu zmeniť alergizujúce vlastnosti potravín a to do takej miery, že alergický potenciál danej potravy zníži na minimum alebo sa jej alergický potenciál zvýši a vyvolá alergickú reakciu.

Alergie možno označiť za „mor“ 21. storočia. Keď rakúsky lekár Clemmens von Pirquet pred sto rokmi definoval alergiu, nemohol ešte vedieť a ani tušiť, na koľko látok od peľu až po potraviny budú ľudia alergický.

Ako sa menia stravovacie návyky ľudí, stretávajú sa s exotickjšími potravinami a s následným nárastom výskytu a rozširovaním spektra potravinových alergií. Napríklad od prvého popisu alergie na kiwi v roku 1981 došlo k dvadsaťnásobnému zvýšeniu tohto druhu alergie.

V Európskej únii je dnes polovica všetkých popísaných prípadov anafylaktických reakcií spôsobená potravinovými alergiami. Potravinové alergie výrazne ovplyvňujú kvalitu života rodiny s postihnutým jedincom. Potreba osobitnej prípravy jedál, obmedzený výber pripravovaných potravín, strach z reakcie pri stravovaní sa v reštauráciách, školských a závodných jedálňach komplikujú bežný život rodiny a nezanedbateľná je aj finančná náročnosť diétnych opatrení. Preto je dôležité dodržiavať najmä preventívne opatrenia. Problematika potravinovej alergie je nesmierne široká. Vo svojej rozmanitosti patrí medzi diagnózu, ktorá našej pozornosti v mnohých formách uniká. Preto je nesmierne dôležité na ňu v každodennom živote myslieť.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] VIDO, L., GUEOVIČ, J., JURÍŠ, P. Výsledky cielených kontrol potravinových alergénov v košickom kraji. *Slovenský veterinársky časopis*, 2007, roč. 32, č. 1, s. 9–10.
- [2] ABAFFYOVÁ, Z. Potravinové alergie. [on line] [Cit. 2010-02-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.pneumoalergo.sk/index.php>>.
- [3] FERENČÍK, M., et al. *Imunitný systém*. Vydání první české. Praha: Grada Publishing, a.s., 2005. s. 140–165. ISBN 80-247-1196-6.
- [4] NEVORAL, J., et al. *Výživa v dětském věku*. Vydání první. Jinočany: Nakladatelství H & H Vyšehradská, s. r. o., 2003. 434 s. ISBN 80-86-022-93-5.
- [5] ETTLEROVÁ, K. Potravinová anafylaxe a označovanie balených potravín. *Alergie*, 2004 roč. 4, č. 6, s. 248–252.
- [6] MLADÍK, M. *Dětské lékařství pro studenty ošetrovatelství*. Opava:2008. s.155 ISBN 978-80-7248-472-0.
- [7] Food allergy and food intolerance. [on line]. [Cit. 2010-02-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.eufic.org/article/sk/5/24/artid%food-allergies/>>.
- [8] TRUSKOVÁ, I. Bezpečnosť potravín a verejné zdravie. *Úrad verejného zdravotníctva*. Príspevok odznel na 3 európskom seminári, Tatranská Lomnica, 2008.
- [9] HINTERBUCHNER, E. *Alergie a imunita (3.časť)* [on line]. [Cit. 2010-02-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.zdravcentra.sk/cps/rde/xchg/zcsk/xs1/17982.html>>
- [10] HRUBIŠKO, M., et al. *Alergológie*. Martin : Osveta, 2003. 519 s. ISBN 80-8063-110-7.
- [11] LOPAŠOVSKÝ, L., et al. *Alergény a bezpečnosť dehydratovaných potravín*. [on line]. [Cit. 2010-02-12]. Dostupný z WWW: <http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo_no2_2009.pdf>

- [12] GOLIAN, T. *Čo obsahujú potraviny*. [on line]. [Cit. 2010-01-01]. Dostupný z WWW <<http://www.asu.sk/potraviny2.htm>>.
- [13] ČIERNA, I. *Prevenca potravinovej alergie*. [on line]. [Cit. 2010-03-20]. Dostupný z WWW: <http://www.solen.sk/index.php?pagr=pdf_viewpdf_id=3991>.
- [14] POSPÍŠILOVÁ, M. Potraviny nového typu a alergie. *Trend in food Science and technology*, 2006, roč. 17, č. 6, s. 289–299.
- [15] Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2007/68/ES z 27. novembra 2007
- [16] *Potravinové alergény*. [on line]. [Cit. 2010-02-22]. Dostupný z WWW: <http://www.alergia.sk/index.php?page=static_page&id=38/sub=15>.
- [17] LEIBOLD, G. *Alergie*. Praha : Svoboda – Lebertas, 1993, 133 s. ISBN 80-205-0315-3.
- [18] DRÁPAL, J., et al. *Vliv spracovania potraviny na alergenicitu*. [on line]. [Cit. 2010-01-02]. Dostupný z WWW: <<http://chpr.szu.cz/vedvybor/vvp.htm>>
- [19] MAROUNEK, M., et al. *Fyziologie a hygiena výživy*. VVŠ PV Vyškov, 2000. s. 84. ISBN 80-7231-057-7.
- [20] PRUŽINEC, P. *Alergia a antihistaminiká*. Bratislava : Bonus, 2005, 158 s. ISBN80-968491-6-6.
- [21] BIDAT, E. – LOIGEROT, CH. *Alergie u detí*. Praha : Portál s.r.o, 2005. 148 s. ISBN 80-7178-936-4.
- [22] RIMÁROVÁ, K., LOVAYOVÁ, V. Alergény a lepok v potravinách, prístupy k ich detekcii a označovaniu v EÚ. In: *Hygiena alimentarium XXVIII: Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov*. Štrbské Pleso–Vysoké Tatry, 2007.
- [23] CRESPO, J., et al. Food allergy: nuts and tree nuts. *British Journal of Nutrition*, 2006, vol. 96, p. 95–102.
- [24] KAYSEROVÁ, H. Provokatéři na tanieri. *Zdravie*, 1999, roč. 55, č. 4, s. 10–12.

- [25] E.N. CLARE MILLS., ALAN R. MACKIE. *Vplyv spracovania potravín na ich alergenicitu*. [on line]. [Cit. 2010-02-15]. Dostupný z WWW: <<http://www.prolekare.cz/pdf?id=1724>>.
- [26] R. W., PRIMRO, S. B. Principles of gene manipulation. *Blackwell Science*, Oxford, 1994, vol. 5, p. 34
- [27] E.N.CLARE., et al. Impact of food Processing on the Structural and Allergenic Properties of Food Allergens. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2009, vol. 53, p. 963–969.
- [28] OSTRÝ, V., et al. *Vliv zpracování potraviny na alergenicitu*. Státní zdravotní ústav, Brno, 2004, s. 1–17.
- [29] RONA R. J., et al. The prevalence of food allergy: a metaanalysis. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, vol. 120, p. 638–646.
- [30] MALEKI, S.J. Food processing: effects on allergenicity. *Cur Opin Allergy Clin Immunol*, 2004, vol. 4, p. 241–245.
- [31] GAJHEDE M., et al. X-ray and NMR structure of Bet v 1, the origin of birch pollen allergy. *Nature Struct Biol*, 1996, vol. 3, p. 1040–1045.
- [32] VAN, REGENMORTE. *Molecular dissection of protein antigens*. In. Van Regenmortel MHV, editor. *Structure of Antigens Vol 1* Florida: CRC Press Inc; 1992, p. 1–28.
- [33] ZUBERBIER, VAN REE. *Ktoré potraviny sú problémové?* [on line]. [Cit.2010-03-21]. Dostupný z WWW:<<http://www.alergia.sk/files/potravinove%20a%20ergoe.pdf>>.
- [34] GRIMSHAW, K., et al. Presentation of allergens in diferent food preparations affects the nature of the allergic reaction: a case series. *Clin Exp Allergy*, 2003, vol. 33, p. 1581–1585.
- [35] BALLMER, WEBER., et al. Influence of food processsing on the alergenicity of celery: DBPCFC with celery spice and cooked celery in patients with celery allergy. *Allergy*, 2002, vol. 57, p. 228–235.

- [36] JENKINS J.A., et al. Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an in silico analysis. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, vol. 115, p. 163–170.
- [37] CLARE, D. A., GHARTS G, SANDERS TH. Transglutaminase polymerization of peanut proteins. *J Agric Food Chem*, 2007, vol. 55, p. 432–438.
- [38] BEHRENDT, T., et al. Specific immuno-modulation and therapy by means of high pressure treated allergens. *High Press Res*, 2007, vol. 27, p. 63–67.
- [39] SPIES, J. R. Allergens. *J Agric Food Chem*, 1974, vol. 22, p. 6–30.
- [40] MALANIN, K., et al. Anaphylactic reaction caused by neoallergens in heated pecan nut. *Allergy*, 1995, vol. 50, p. 91–134.
- [41] LEDUC, V., et al. Anaphylaxis to wheat isolates: immunochemical study of a case proved by means of double-blind, placebo-controlled food challenge. *J. Allergy Clin Immunol*. 2003, vol. 111, p. 9–897 .
- [42] SANCHEZ, C; FRÉMONT, S. Consequences of heat treatment and processing of food on the structure and allergenicity of component proteins. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, 2003, vol. 43, p. 13–20.
- [43] BOCK, S.A. Natural history of food sensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol*. 1982, vol. 69, p. 173–177.
- [44] DREBORG, S., et al. Allergy to Apple, carrot and potato in children with birch pollen allergy. *Allergy*, 1983, vol. 38, p. 167–172.
- [45] COLLIN – WILLIAMS, C., et al. Allergy to food other than milk. *In Food Intolerance*, Chandra, R. K., Ed.; Elsevier, New York, 1984, p. 137–186.
- [46] BAHNA, S., et al. Milk hypersensitivity. 1. Pathogenesis and symptomatology. *Ann. Allergy*, 1983, vol. 50, p. 218–223.
- [47] FIOCCHI, A., et al. Meat allergy: II – Effects of food processing and enzymatic digestion on the allergenicity of bovine and ovine meats. *J. Am. College Nutrition*, 1995, vol. 14, p. 245–250.
- [48] AAS, K. What makes an allergen an allergen. *Allergy*, 1978, vol. 33, p. 3–14.

- [49] CHIAROMONTE, L., et al. Common food allergens. *In Food Allergy*, 1988, p. 89–106.
- [50] BARNET, D., et al. Partial characterization of an allergenic glycoprotein from peanut. *Biochim. Biophys. Acta*, 1986, vol. 882, p. 97–105.
- [51] BURKS, A., et al. Allergenicity of peanut and soybean extracts altered by chemical or thermal denaturation in patients with atopic dermatitis and positive food challenges. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, vol. 90, p. 889–897.
- [52] BERNHISEL, J., et al. Fish hypersensitivity: clinical prevalence of altered fish allergenicity caused by various preparation methods. *J Allergy Clin Immunol*, 1992, vol. 90, p. 9–622.
- [53] ALAMAN, A., et al. Allergy to kiwi: a double-blind, placebo controlled food challenge study in patients from a birch-free area. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, vol. 113, p. 50–543.
- [54] FIOCCHI, A., et al. Tolerance of heat-treated kiwi by children with kiwi fruit allergy. *Pediatric Allergy Immunol*, 2004, vol. 15, p. 8–454.
- [55] EHN, B., et al. Modification of IgE binding during heat processing of the cow's milk allergen β -lactoglobulin. *J Agric Food Chem*, 2004, vol. 52, p. 398–1403.
- [56] GRUBER, P., et al. Maillard reaction and enzymatic browning affect the allergenicity of Pru av 1, the major allergen from cherry. *J Agric Food Chem*, 2004, vol. 52, p. 7–100.
- [57] DAUSSANT, J., et al. Characterization of proteins and allergens in germinating castor seed by immunochemical techniques. *J Agric Food Chem*, 1976, vol. 48, p. 7–493.
- [58] SUKOVÁ, I. Vplyv teploty na potravinové alergény. *Kvalita potravín*, 2009, roč.3, 16 s.
- [59] ELSAYED, S., et al. Tryptic cleavage of a homogeneous cod fish allergen and isolation of two active polypeptide fragments. *Immunochemistry*, 1972, vol. 9, p. 647–661.

- [60] ELSAYED, S., et al. Antigenic and allergenic determinants of ovalbumin. Peptide mapping, cleavage at the methionyl peptide bonds and enzymic hydrolysis of native and carboxymethyl OA. *Int. Arch Allergy. Appl. Immunol*, 1986, vol. 79, p. 101–107.
- [61] DAUL, B., et al. Identification of a common major crustacea allergen. *J. Allergy Clin. Immunol*, 1992, vol. 89, 194 p.
- [62] ASTWOOD, J., et al. Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nature Biotech.*, 1996, vol. 14, p. 1269–1273.
- [63] BALDO, B., et al. Milk allergies. *Aust. J. Dairy Technol*, 1984, vol. 39, p.120–128.
- [64] ASSELIN, J., et al. Effects of in vitro proteolysis on the allergenicity of major whey proteins. *J. Food Science*, 1989, vol. 54, p. 1037–1039.
- [65] BRENNA, O., et al. Technological processes to decrease the allergenicity of peach juice and nectar. *J Agric Food Chem*, 2004, vol. 48, p. 7–493.
- [66] VARJONEN, E., et al. Stability od cereal allergens. *Clin Exp Allergy*, 1996, vol. 26, p. 43–436.
- [67] DUBE, M., et al. Effect of technological processing on the allergenicity of mangoes. *J Agric Food Chem*, 2004, vol. 52, p. 45–3938.
- [68] SU, M., et al. Impact of γ -irradiation and thermal processing on the antigenicity of almond, cashew nut and walnut proteins. *J Sci Food Agric*, 2004, vol. 84, p. 25–119.
- [69] BERNHISEL, J., et al. Clinical relevance of altered fish allergenicity caused by various preparation methods. *J. Allergy Clin. Immunol*, 1992, vol. 90, p. 622–629.
- [70] HELFE, S. J., et al. Soy sauce retains allergeniciry throught the fermentation production process. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, vol. 115, 32 p.
- [71] POSPÍŠILOVÁ, M. *Fermentací proti alergenům*. [on line]. [Cit.2010-03-19]. Dostupný z WWW :<<http://www.bezpecnostpotravin.cz/Index.aspx?ch=549&typ=1&val=96712&ids=3577>>.

- [72] BESLER, M. *Detection of food allergens. Mildestieg 17, D-22307 Hamburg, Nemecko.*
- [73] YEUNG, J. *Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for detecting allergens in foods.* [on line]. [Cit. 2010-03-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.amazon.com/Basic-Concept-Biochemistry-Student-Survival/dp/0071356576>>.
- [74] R,VAN REE., et al., Immunoblotting in allergen detection. [on line]. [Cit. 2010-03-20]. Dostupné na WWW :<<http://www.amazon.com/Basic-Concept-Biochemistry-Student-Survival/dp/0071356576>>.
- [75] PCR – polymerázová řetězová reakce. Zdravotný ústav so sídlom v Ostrave, [on line]. [Cit.2010-01.01]. Dostupný z WWW:<http://www.zuova.cz/informace/nrlpab07.php>.
- [76] SCHWAGELE, F. Polymerase Chain Reaction-PCR-Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung in der Lebensmittelanalytik. *Roche magazine*, 40, Mitteilungsblatt der BAFF, 1998.
- [77] HOLZHAUSER, T. *Polymerase chain reaction (PCR) methods for the detection of allergenic foods.* [on line]. [Cit.2010-03-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.amazon.com/Basic-Concept-Biochemistry-Student-Survival/dp/0071356576>>.
- [78] JONSSON, H., et al. *Detecting food allergens with a surface plasmon resonance immunoassay.* [on line]. [Cit. 2010-03-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.amazon.com/Basic-Concept-Biochemistry-Student-Survival/dp/0071356576>>.
- [79] KVASNIČKOVÁ, A. *Nový test na stanovení alergenů.* [on line]. [Cit. 2010-03-19]. Dostupný z WWW: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/Index.aspx?ch=549&typ=1&val=96712&ids=3577>>.
- [80] Lay Publications. [on line]. [Cit.2010-03-19]. Dostupný z WWW: <<http://www.europrevall.org/Publications/Lay/lay.html>>.

- [81] How many people. [on line]. [Cit.2010-03-19]. Dostupný z WWW:
<<http://www.foodallergens.info/Facts/HowMany.html>>.
- [82] Project summary. [on line]. [Cit.2010-03-19]. Dostupný z WWW:
<<http://www.euoprevall.org/Summary/Summary.html>>.
- [83] Biela kniha alergie. [on line]. [Cit. 2010-03-19]. Dostupné z WWW:
<<http://www.alergie.cz/biela-kniha.aspx>>.

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

IgE	Imunoglobulín E
GM	Geneticky modifikované
LPD	Lipidové transferové proteíny
β -Lg	β -laktoglobulín
PCR	Polymerázová reťazová reakcia
Ag	Antigén
Ab	Protilátky
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
Bfr	Spolkový úrad pre posudzovanie rizík v Nemecku
EÚ	Európska únia
EFSA(FSA)	Európsky úrad pre bezpečnosť potravín
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay
Bet v 1	Alergén peľu brezy
Ara h 1 a Ara h 2	Arašidový alergén
Cad c 1	Alergén tresky
Gly m 1	Alergén sóje
Pru av 1	Alergén čerešne
Mal d 1	Alergén jablka

ZOZNAM OBRÁZKOV

Obrázok č.1	Prehľad nepriaznivých (škodlivých) reakcií na potraviny.....	12
Obrázok č.2	Konformačné verzus lineárne epitopy potravinových alergénov.....	26
Obrázok č.3	Semi.kvantitatívna detekcia Mal d 1 v jablku.....	38
Obrázok č.4	Typická sendvičová ELISA.....	40
Obrázok č.5	Typická kompetitívna inhibícia ELISA.....	41
Obrázok č.6	Extrakcia DNA a čistenie založené na DNA väzbe.....	43
Obrázok č.7	Princíp PCR.....	44
Obrázok č.8	Krajiny v štúdií novorodencov.....	49
Obrázok č.9	Krajiny v štúdií detí a novorodencov.....	49

ZOZNAM TABULIEK

Tabuľka č.1	Vhodné a nevhodné potraviny z hľadiska možnosti vývoja alergie.....	12
Tabuľka č.2	Vplyv spracovania potravín na rôzne typy potravinových alergénov.....	28

ZOZNAM GRAFOV

Graf č.1	Výsledky z nedávnej analýzy EuroPrevall.....	51
----------	--	----