

BARBARA WRÓBLEWSKA, AGATA SZYMKIEWICZ, LUCJAN
JĘDRYCHOWSKI

WPLYW PROCESÓW TECHNOLOGICZNYCH NA ZMIANY ALERGENNOŚCI ŻYWNOSCI

Streszczenie

Konieczność przetwarzania surowców roślinnych i zwierzęcych w celu umożliwienia długotrwałego jej przechowywania, a następnie bezpiecznej konsumpcji wymaga stosowania różnych procesów technologicznych. Podczas produkcji żywności surowce podlegają licznym procesom termicznym (pasteryzacja, działanie ultradźwiękami i mikrofalami, prażenie, autoklawowanie) i nietermicznym (modyfikacje enzymatyczne, fermentacja, kiełkowanie, ultrafiltracja, radiacja promieniami γ , działanie wysokim ciśnieniem, homogenizacja, mechaniczne rozdrabnianie). Oprócz zmian właściwości fizycznych czy uzyskania trwałości mikrobiologicznej w większości przypadków zmienia się także potencjał alergenny gotowego produktu. Wprowadzanie większej ilości żywności przetworzonej uważa się za jedną z głównych przyczyn wzrostu liczby osób uczulonych na pokarmy. Nowe technologie produkcyjne mogą obniżyć alergenność produktów w stosunku do użytych surowców lub być bezpośrednią przyczyną pojawiania się nieznanych dotąd alergenów, stanowiących problem identyfikacyjny układu immunologicznego.

Słowa kluczowe: alergeny pochodzenia zwierzęcego, alergeny pochodzenia roślinnego, panalergeny, procesy technologiczne

Wstęp

Alergeny pokarmowe nie mają wspólnej budowy chemicznej i strukturalnej, która mogłaby jednoznacznie wskazywać na ich zdolność do alergizacji. Większość naturalnie występujących alergenów pokarmowych jest zazwyczaj białkami lub glikoproteinami o masie cząsteczkowej od 10 000 do 40 000 Da. Jednakże spotykane są również reakcje alergiczne wywoływane przez cząsteczki o masie mniejszej, tj. 3 000 i większej - do 100 000 Da. Wielkość cząsteczek alergenu, jest związana przede wszystkim ze zdolnością jego przenikania przez błonę śluzową i jego immunogennością [10].

Przeciwciała nie reagują z całą cząsteczką antygeny lecz z pewnym określonym jej fragmentem, zwanym epitopem (determinantą antygenową). W obrębie jednego

antygeny może znajdować się wiele epitopów, (tzw. antygeny poliwalentne lub wielowartościowe), które mogą być identyczne lub różne. Nie wszystkie epitopy zawarte w cząsteczce alergenu mają identyczną zdolność do indukcji odpowiedzi immunologicznej. Można wśród nich wyróżnić epitopy immunodominacyjne, przeciw którym w znacznej mierze skierowana jest powstająca odpowiedź immunologiczna. Przeciwciała (a właściwie ich ściśle określone fragmenty-paratopy) wiążą się z epitopami antygenów za pomocą wielu niekowalencyjnych wiązań: wodorowych, elektrostatycznych, hydrofobowych i van der Waalsa. Ich indywidualne siły wiążące są niewielkie w porównaniu z wiązaniami kowalencyjnymi, lecz duża ich liczba prowadzi w efekcie do dużej energii całkowitej wiązania [46].

Struktura budowy epitopów (białkowych) może być: liniowa, nakładająca się lub przestrzenna. Epitopy większości naturalnych alergenów (w stanie natywnym) mają strukturę przestrzenną. Gwarantuje to lepsze dopasowanie do struktury paratopu przeciwciała. Odształcenie lub zniszczenie struktury przestrzennej cząsteczki alergenu białkowego wywołane np. ogrzewaniem, denaturacją lub przyłączeniem haptenu prowadzi do zniszczenia epitopów przestrzennych. Może jednak powodować również tworzenie się nowych lub też uwidocznienie się determinant ukrytych, co przejawia się w zmianie właściwości immunogennych alergenu. Epitopy liniowe są bardziej odporne niż przestrzenne na działanie czynników denaturacyjnych, ale mogą ulegać zmianom w wyniku fragmentacji łańcucha polipeptydowego - modyfikacji enzymatycznej czy blokowania pewnych grup funkcyjnych przez modyfikacje chemiczne.

Wpływ procesów technologicznych na zmiany alergenicności produktów pochodzenia zwierzęcego

Mleko

Jednym z najlepiej przebadanych produktów pod względem zmian właściwości alergennych jest mleko. Obróbka technologiczna mleka obejmuje różne procesy m.in. pasteryzację, homogenizację, standaryzację składu. Mogą one mieć wpływ na zmianę alergenicności uzyskanego produktu poprzez zmiany w obrębie białek (kazeina, β -laktoglobulina (β -lg) i α -laktoalbumina (α -la), które są głównymi alergenami mleka.

Wpływ wysokiej temperatury

W badaniach nad alergenicnością białek mleka stwierdzono, że stosowanie wysokiej temperatury może powodować wzrost lub zmniejszenie alergenicności bądź nie powodować żadnych zmian. Interakcje pomiędzy białkami i innymi składnikami żywności zachodzą niejednokrotnie bez stosowania podwyższonej temperatury i wpływają bezpośrednio na zmiany konformacyjne alergenów, powodując zmiany termostabilności. Jedną z najpoważniejszych konsekwencji działania wysokiej temperatury wydaje

się być wzrost immunoreaktywości tj. zdolności wiązania z IgE przez niektóre alergeny mleka, co może być następstwem reakcji Maillarda. Powstające nowe struktury cukrowo-białkowe mogą stanowić determinanty odpowiedzialne za połączenia alergenów z przeciwciałami [31].

Homogenizacja

Wpływ procesu homogenizacji na zmianę alergenicności białek mleka jest niejednoznaczny. Badając zmiany struktury matrycy białkowej podczas homogenizacji stwierdzono, że w mleku niehomogenizowanym białka antygenowe są ułożone wewnątrz miceli kazeinowej, a podczas homogenizacji są one ujawniane na zewnątrz. Myszy żywione mlekiem homogenizowanym wykazywały podwyższone miano specyficznej immunoglobuliny klasy E, zwiększoną masę fragmentu jelita i degranulację komórek tłuszczowych, a nawet szok anafilaktyczny [41]. Nadwrażliwość myszy w stosunku do mleka homogenizowanego wzrastała wprost proporcjonalnie do zawartości tłuszczu. Niezależnie od drogi podawania mleka (dożylnie lub podskórnice) obserwowano u zwierząt takie same reakcje [42]. W badaniach prowadzonych na szczurach stwierdzono, że w grupie, której podawano dootrzewnowo pasteryzowane mleko homogenizowane zaobserwowano wzrost odpowiedzi humoralnej [16]. W badaniach z udziałem osób uczulonych na mleko zaobserwowano większą tolerancję w stosunku do mleka niehomogenizowanego, co tłumaczy się zwiększeniem powierzchni cząsteczek tłuszczu, które mogą absorbować alergenne białka. Zmniejszenie rozmiaru kuleczek tłuszczowych wskutek homogenizacji ułatwia przenikanie ich przez barierę jelitową i wpływa na zwiększenie możliwości uczulenia przez białka związane z tłuszczem.

Pomimo, że wiele osób potwierdza lepszą tolerancję mleka niehomogenizowanego niż homogenizowanego, to jednak badania kliniczne nie wykazały różnic pomiędzy możliwością tolerancji obydwu rodzajów mleka przez pacjentów uczulonych na białka mleka krowiego [22].

Hydroliza enzymatyczna

Jest to proces wykorzystywany podczas produkcji preparatów mlekozastępczych na bazie kazeiny lub białek serwatkowych dla dzieci chorych na alergię pokarmową, wywołowaną spożywaniem mleka. W zależności od stopnia hydrolizy białek produkowane są hydrolizaty o różnym stopniu hydrolizy oraz mieszanki elementarne (koktajle aminokwasowe) podawane w postaci wlewów dożylnych. W celu hydrolizy stosowane są enzymy proteolityczne pochodzenia zwierzęcego (trypsyna, chymotrypsyna, pepsyna, pankreatyna), roślinnego (papaina), bakteryjnego (*Bacillus subtilis*) i grzybowego (*Aspergillus oryzae*) [60]. Zmiana właściwości immunoreaktywnych uzależniona jest od warunków prowadzenia hydrolizy. Stwierdzono, że hydroliza pepsyną

przewodzona w środowisku o pH 2-3 nie miała wpływu na zmianę alergenicności białek mleka, natomiast pH = 4 doprowadziło do zwiększenia alergenicności wszystkich białek z wyjątkiem β -lg [50]. Trawienie proteolityczne białek może być również przyczyną powstawania nowych substancji o właściwościach alergicznych oraz wpływających na pojawienie się niekorzystnych cech sensorycznych [15]. Nie ma obecnie na rynku mlecznej odżywkę hypoalergiczną całkowicie pozbawioną białek alergicznych.

Proces fermentacji mlekowej

Często osoby nietolerujące mleka krowiego mogą bezpiecznie spożywać otrzymane z niego produkty fermentowane. Są one pozbawione laktozy (główna przyczyna nietolerancji mleka), która jest naturalnym źródłem cukru dla rozwijających się w środowisku mleka drobnoustrojów. Jednocześnie podczas procesu fermentacji białka ulegają zmianom prowadzącym do znacznego obniżenia ich alergenicności [24]. Znanym i niezaprzeczalnym faktem jest istniejący związek pomiędzy spożywaniem mlecznych produktów fermentowanych a odpornością organizmu ludzkiego. Zauważono, że spożywanie jogurtu lub kefiru obniża stężenie IgE w surowicy krwi. Lecznicy wpływ drobnoustrojów polega na ułatwieniu zmian prekursorowych komórek Th0 w kierunku ciągu komórkowego Th1, a ściślej na możliwości zachowania właściwych proporcji pomiędzy różnicującymi się komórkami na dwie podgrupy Th1 i Th2.

Ostatnio duże znaczenie w prozdrowotnym oddziaływaniu żywności przyznaje się niektórym grupom drobnoustrojów, szczególnie probiotykom, które wpływają immunomodulująco na organizm ludzki. Wykazano, że szczep *Lactobacillus rhamnosus* GG ma zdolność do zmniejszania, a nawet likwidacji fagocytozy indukowanej alergenami mleka. Jednocześnie powoduje zablokowanie receptorów odgrywających rolę w procesie fagocytozy na neutrofilach i monocytach [37]. Ma on zdolność modulowania symptomów klinicznych u dzieci atopowych i chorych na egzemę oraz dermatitis. Ponadto działalność probiotyków polega głównie na zwiększeniu wydzielania cytokiny IFN- γ , a także wzmożeniu wydzielania IL-2 i IL-12 [61]. Podanie doustne preparatów probiotycznych decyduje o zwiększonej produkcji tzw. immunoglobuliny wydzielniczej klasy A (IgA) w jelicie myszy [38], szczurów [8] oraz ludzi [25, 39]. Obserwowany jest przy tym także wzrost aktywności fagocytów i limfocytów. Podczas produkcji mlecznych produktów fermentowanych, oprócz tradycyjnych szczepów i szczepionek, coraz częściej stosowane są, jako dodatkowo kultury probiotyczne, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium*.

Jaja

Jaja są drugim, po mleku, obcogatukowym pokarmem dziecka. Najwięcej uczuleń na jajo (głównie białko) stwierdza się w 4÷5 roku życia, raczej nie później niż w pierwszej dekadzie. Najczęściej uczulającymi białkami są owotransferyna, owomu-

koid i owoalbumina, natomiast lizozym i owomucyna wydają się mniej alergenne. Wśród białek obecnych w żółtku jaja uwagę zwracają apowitelina I i IV, które mogą uczulać poprzez drogi oddechowe [40]. Badając wpływ różnych czynników, głównie termicznych, na zmiany alergenności białek jaj stwierdzono, że zastosowanie wysokiej temperatury powoduje zmniejszenie alergenności owomukoidu. Badania wskazują, że pacjenci lepiej tolerują jaja gotowane niż surowe [26]. Podczas monitoringu klinicznego z udziałem większej grupy chorych potwierdzono, że ok. 77% pacjentów dobrze tolerowało dietę z niewielką zawartością gotowanych jaj. Badania te są kontynuowane w kierunku uzyskania produktu mogącego pobudzać ustną tolerancję na jaja [35].

Owoce morza

W Polsce spożywanie skorupiaków, takich jak: krewetki, kraby, langusty i raki nie jest powszechne. Natomiast na świecie wiele ludzi ceni ich mięso, a konsumpcja zajmuje istotną pozycję. Główny alergen krewetki (*Penaeus vannamei*) stanowi termostabilna tropomiozyna. Podejmowane badania pozwoliły stwierdzić, że alergenność tego białka ulega znacznej redukcji podczas zastosowania ultradźwięków [62] bądź promieni gamma [63].

Wpływ procesów technologicznych na zmiany alergenności produktów pochodzenia roślinnego

Nasiona roślin strączkowych

Nasiona roślin strączkowych, podobnie jak orzechy i zboża, zawierają alergeny, wykazujące dużą stabilność i odporność na stosowane powszechnie procesy technologiczne [6, 49, 57]. Wysoki potencjał alergizujący tych białek wynika przede wszystkim z ich stabilnej struktury. Główny alergen orzeszków ziemnych Ara h 1 występuje w postaci trimeru o bardzo zwartej strukturze. Chroni to cząsteczkę przed trawieniem proteazami, czyni odporną na denaturację oraz umożliwia przejście przez jelito cienkie [51]. Dodatkowo główne epitopy Ara h 1, rozpoznawane przez limfocyty B zlokalizowane są w tych obszarach kontaktów między podjednostkami trimeru wicyliny orzeszków, które są naturalnie chronione przed degradacją proteazami. Są to obszary, w których zgromadzone są aminokwasy hydrofobowe uczestniczące w tworzeniu trzeciorzędowej struktury [4, 29].

Procesy termiczne

Stwierdzono, że pacjenci z alergią na surowe orzechy wykazują taką samą wrażliwość na mąkę uzyskaną z tych nasion, podobnie jak to ma miejsce w przypadku nasion soi [6]. Termiczne procesy, jakim poddawana jest żywność, prowadzą do różnorodnych nieenzymatycznych, biochemicznych reakcji. Jednymi z najczęściej występujących reakcji podczas termicznej obróbki żywności są reakcje Maillarda. Produkty

końcowe tych reakcji odgrywają istotną rolę w kształtowaniu smaku i zapachu gotowych produktów spożywczych, wpływają też na ich alergenicność [30]. Duża różnorodność stosowanych procesów termicznych (różne parametry – temperatura i czas) decydują o tym, że w obrębie poszczególnych alergenów zachodzą zmiany na różnym poziomie. Alergeny nasion roślin strączkowych należą do różnych grup białek, o zróżnicowanej stabilności termicznej. Dlatego trudno jednoznacznie stwierdzić, jak dany proces wpływa na końcową alergenicność gotowego produktu. Tym niemniej z badań wynika, że termiczne procesy, takie jak gotowanie czy smażenie powodują na ogół częściowe zredukowanie potencjału alergizującego nasion roślin strączkowych. Wykazano, że gotowanie nasion soi w temp. 100°C przez 1 godz. nie wpłynęło w sposób istotny na zmniejszenie zdolności wiązania IgE głównych jej alergenów [12], natomiast prowadzenie procesu w ciągu 2 godz. znacznie zmniejszyło alergenicność nasion soi w stosunku do alergenicności surowych nasion [34]. W badaniach prowadzonych w naszym zespole stwierdzono znaczne obniżenie immunoreaktywności białek groszku zielonego na skutek zastosowanych procesów, takich jak: gotowanie, sterylizacja, konserwowanie czy mrożenie [54]. Proces gotowania zmniejszył, ale nie zredukował całkowicie alergenicności nasion grochu, co zostało potwierdzone w badaniach *in vivo* z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych [53]. Alergeny nasion soczewicy również wykazują wysoką odporność na stosowanie podwyższonej temperatury. Z gotowanych nasion wyizolowano frakcje, które były rozpoznawane przez specyficzne IgE pacjentów z objawami alergii na soczewicę [23, 48].

Orzeszki ziemne najczęściej poddawane są procesowi prażenia, który może przyczynić się do wzrostu alergenicności ich głównych alergenów. Ekstrakt otrzymany z prażonych orzeszków reagował z serum alergicznych pacjentów na poziomie ok. 90 razy wyższym niż ekstrakt uzyskany z surowych nasion. Stwierdzono, że zarówno Ara h 1, jak i Ara h 2, obecne w orzeszkach prażonych, wiążą IgE na wyższym poziomie. Proces prażenia powoduje tworzenie form wysoce stabilnych trimerów Ara h 1. Alergen ten wyizolowany z prażonych orzeszków charakteryzował się mniejszą rozpuszczalnością [27, 28]. Stwierdzono, że gotowanie (100°C, 60 min) orzeszków prażonych (13-16 min, 163-177°C) nie wpłynęło na obniżenie zdolności wiązania IgE zarówno przez Ara h 1, jak i Ara h 2 [12].

Procesy nietermiczne

Nasiona roślin strączkowych, zwłaszcza soi, poddawane są wielu innym procesom, które mają wpływ na ich właściwości alergenne. Herian i wsp. [20], badając alergenicność różnych produktów sojowych, stwierdzili, że sos sojowy uzyskany w wyniku kwasowej hydrolizy wykazywał 70% inhibicję wiązania IgE w teście RAST, hydroli-zowane białko sojowe – 40%, tofu (25-30%), a miso (20%). Inni badacze również po-

twierdzili, że proces fermentacji nie likwiduje całkowicie alergenności białek soi [19] czy grochu [3].

Hydroliza enzymatyczna, która jest na ogół bardzo skutecznym procesem zmniejszenia alergenności białek mleka, od dawna znalazła zastosowanie również w stosunku do białek soi [14], ciecierzycy [13], a także grochu [55].

Najnowsze badania jednoznacznie potwierdzają, że procesy enzymatyczne, jakie uruchamiane są podczas kiełkowania, prowadzą do zdecydowanego obniżenia immunoreaktywnych właściwości najbardziej alergennych białek grochu i soczewicy, a przede wszystkim soi i fasoli mung, które są najczęściej wykorzystywane do otrzymywania kiełków.

Oleje roślinne

Surowe oleje roślinne otrzymywane z nasion roślin strączkowych na ogół zawierają pewne ilości białek, które mogą wywoływać reakcje alergiczne. Powszechna opinia głosi, że podczas procesów rafinacji białka alergenne zostają usunięte i jadalne oleje roślinne pozbawione są właściwości uczulających (głównie w odniesieniu do oleju sojowego) [56]. Nie wszyscy badacze zgadzają się z tym stanowiskiem. Dane literaturowe dowodzą, że białka o charakterze alergennym mogą przedostawać się do oleju jadalnego (zwłaszcza otrzymywanego z orzeszków ziemnych) i wywoływać objawy alergii pokarmowej u osób szczególnie wrażliwych [33]. Należy przypuszczać, że pojawiające się rozbieżności w uzyskiwanych wynikach mogą być skutkiem różnych metod rafinacji olejów wykorzystywanych w badaniach [21].

Zboża

W zbożach (pszenica, owies, jęczmień, ryż) wykryto ok. 16 różnych białek wiążących IgE [58]. Najwyższą aktywność alergenną wykazują niskocząsteczkowe gluteny pszenicy: α -gliadyny i γ -gliadyny. ω -5gliadynę opisano jako najważniejszy alergen pszenicy o nazwie Tri a 19. Jest on niezwykle istotny przy wywoływaniu alergii pokarmowej u dzieci. Może być przyczyną reakcji anafilaktycznej występującej po spożyciu mąki pszennej przez osoby szczególnie wrażliwe. Stwierdzono, że ω -5gliadyna z pszenicy reaguje krzyżowo z γ -70 i γ -35 sekalinami z ryżu (Sec c 20) i z γ -3 hordeiną z jęczmienia (Hor v 21) [36]. Alergen ten charakteryzuje się wysoką stabilnością i zachowuje swą aktywność alergenną nawet po procesie pieczenia chleba czy gotowania makaronów [58].

Watanabe i wsp. [59] dowodzą, że zastosowanie kolagenazy i transglutaminazy umożliwia uzyskanie hypoalergicznego mąki z pszenicy, która mogłaby być konsumowana przez osoby wrażliwe na pszenicę. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że zastosowanie aktywności znaczenie zmniejszyło alergenność nasion ryżu, ale nie potwierdziły tego badania prowadzone wśród pacjentów z alergią na ryż [59]. W Japonii sprzeda-

wany jest ryż o zmniejszonej zdolności alergizacji, co uzyskano dzięki zastosowaniu wysokiego ciśnienia [32]. Wydaje się, że dopiero wykorzystanie inżynierii genetycznej jest skuteczną metodą otrzymania hypoalergiczných zbóż (ryżu, kukurydzy czy soi) [5].

Stwierdzono, że niektóre białka (głównie rozpuszczalne albuminy) o charakterze alergennym mogą przedostawać się w czasie procesu technologicznego produkcji piwa i być przyczyną alergicznej reakcji (z szokiem anafilaktycznym włącznie) po spożyciu tego napoju przez osoby szczególnie wrażliwe [57].

Owoce i warzywa (panalergeny)

Mianem panalergenów określane są alergeny o wysokim podobieństwie homologicznym, najczęściej o niewielkim ciężarze molekularnym 8000–18 000 Da, pełniące podobne funkcje i pochodzące z różnych źródeł, najczęściej roślin. Podobnie jak inne alergeny, mogą wywoływać reakcje alergiczne o zróżnicowanych symptomach chorobowych, ale w praktyce klinicznej najczęściej utożsamiane z syndromem alergii jamy ustnej występującym przy spożywaniu surowych owoców i warzyw. Do najczęściej wymienianych panalergenów należą białka odpowiedzialne za transport lipidów (ang. Lipid Transfer Proteins – LTP), białka związane z patogenezą (ang. Pathogenesis-Related Proteins – PR) najczęściej indukowane przez patogeny lub stropy środowiskowe, profiliny (białka organizmów eukariotycznych), lipokaliny - białka zwierzęce produkowane w wątrobie i gruczołach wydzielniczych, a służące jako nośniki witamin, steroidów, lipidów i feromonów, oleozyny (białka o masie cząsteczkowej 18 000 Da, biorące udział w formowaniu ciał tłuszczowych arachaidów), enzymy i inhibitory enzymów (α -amylaz i proteaz), a także białka zapasowe (albuminy 2S) soi, orzechów i gorzycy [1, 2, 9, 11]. Bardzo liczną grupę panalergenów stanowią alergeny homologiczne do głównego alergenu pyłków brzozy Bet v1 (PR-10), występujące w wielu owocach i warzywach [44].

Panalergeny mają bardzo zróżnicowane właściwości. W większości są niestabilne w podwyższonej temperaturze i łatwo ulegają destrukcji pod wpływem enzymów proteolitycznych. Spora grupa panalergenów surowych owoców i warzyw utożsamiana jest z syndromem śluzówki jamy ustnej (ang. Oral Allergy Syndrome – OAS), ponieważ wywołuje reakcje alergiczne z elementami układu immunologicznego śluzówki jamy ustnej, a traci swoje właściwości alergenne w wyniku trawienia w przewodzie pokarmowym (wpływ kwasu solnego i enzymów trawiennych). Alergeny homologiczne do głównego alergenu pyłku brzozy (Bet v1), takie jak Mal d1 (jabłko), Pyr c1 (gruszka), Pru av1 (wiśnia), czy Pru p1 (brzoskwinia) ulegają destrukcji pod wpływem pepsyny i tracą właściwości alergenne w ciągu kilku sekund [2]. Niektóre alergeny łatwo ulegają destrukcji w wyniku prostych procesów technologicznych (mrożenie, gotowanie, sterylizacja). Niekiedy usunięcie mechaniczne lub chemiczne skórki powoduje usunięcie alergenów skumulowanych w zewnętrznej warstwie owoców [43] lub

zmniejszenie ich stężenia [18]. Blanszowanie owoców w zasadowym środowisku w temp. ok. 60°C stosowane przy chemicznym usuwaniu skórek z brzoskwiń, czy ultrafiltracja soków, mogą w znacznym stopniu przyczynić się do zmniejszenia alergenicności owoców i uzyskiwanych z nich soków. Mało stabilne alergeny występujące w jabłku mogą utracić swe alergenne właściwości nawet podczas przechowywania pociętych owoców w temperaturze pokojowej [52]. Natomiast etylen, stosowany przy przechowywaniu jabłek, może indukować chitynazy, które są alergenami [52]. Właściwości alergenne chitynaz klasy I są eliminowane w wyniku procesów termicznych i dlatego przetwory z jabłek poddane ogrzewaniu nie wywołują reakcji alergicznych typowych w przypadku uczuleń lateksowo-owocowych.

Nie wszystkie alergeny występujące w owocach i warzywach są tak labilne. Alergeny należące do białek typu LTP wykazują stosunkową dużą odporność na wysoką temperaturę [17, 45]. Związane jest to ze stabilną strukturą α -heliksu, wzmocnioną czterema mostkami disiarczkowymi. Struktura tych białek powoduje, że są one odporne również na proteolizę.

Antygeny pokarmowe, zaliczane do grupy panalergenów, mogą ulegać znacznym zmianom pod wpływem obróbki kulinarnej potraw, podczas trawienia i wchłaniania składników pokarmowych w organizmie [7]. W ich wyniku może dochodzić do zmniejszenia właściwości alergennych, ale w niektórych przypadkach do ich zwiększenia. Stwierdzono, że takie procesy, jak zastosowanie technologii wysokich ciśnień (600 MPa, 20°C), naświetlanie promieniami γ (10 kGy), stosowanie wysokiego napięcia (10 kV, 50 min) nie eliminowały właściwości alergennych wynikających z obecności alergenów o charakterze profilin (np. alergen selera Api g1). Nieefektywne w stosunku do niektórych panalergenów (Pru p1, Mal d1, Api g1, Ara h1) okazały się procesy termiczne (121°C, 30 min). Świadczy to o zdecydowanej stabilności struktury epitopów wymienionych alergenów. Jednocześnie alergeny z grupy profilin są odporne na działanie proteaz [52].

Praca była prezentowana podczas VIII Konferencji Naukowej nt. „Żywność XXI wieku – Żywność a choroby cywilizacyjne”, Kraków, 21–22 czerwca 2007 r.

Literatura

- [1] Asensio T., Crespo J.F., Sanchez-Monge R., Lopez-Torreon G., Somoza M.L., Rodriguez J., Salcedo G.: Novel plant pathogenesis-related protein family involved in food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, **114**, 896-899.
- [2] Asero R., Mistrello G., Roncarolo D., de Vries S. C., Gautier M. F., Ciurana C. L., Verbeek E., Mohammadi T., Knul-Brettlova V., Akkerdaas J. H., Bulder I., Aalberse R.C., van Ree R.: Lipid transfer protein: A pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2001, **124**, 67-69.

- [3] Barkholt V., Jørgensen P.B., Sørensen D., Bahrenscheer J., Haikara A., Lemola E., Laitila A., Frøkiær H.: Protein modification by fermentation: effect of fermentation on the potential allergenicity of pea. *Allergy*, 1998, **53** (SI 46), 106-108.
- [4] Barre A., Borges J.F., Rougé P.: Molecular modelling of the major allergen Ara h1 and other homotrimeric allergens of the cupin superfamily: a structural basis for their IgE-binding cross-reactivity. *Biochimie*, 2005, **87**, 499-506.
- [5] Batista R., Nunes B., Carmo M., Cardoso C., José H.S., de Almeida A.B., Manique A., Bento L., Ricardo C.P., Oliveira M.M.: Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, **116**, 403, 410.
- [6] Besler M., Steinhart H., Paschke A., Stability of food allergenicity of processed foods-review. *J. Chromatography B*, 2001, **756**, 207-228.
- [7] Beyer K., Morrow E., Li X.M., Bardina L., Bannon G.A., Burks A.W., Sampson H.A.: Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, **107** (6), 1077-1081.
- [8] Bielecka M., Biedrzycka El., Wróblewska B., Jedrychowski L., Zduńczyk Z.: Effect of bifidobacteria on anti-Salmonella IgA level in rat serum. *Medical Science Monitor, Inter. Med. J. for Exp. Clin. Res.*, 2000, **6**, S3, 130.
- [9] Borges J.P., Jauneau A., Brulé C., Culerrier R., Barre A., Didier A., Rougé P.: The lipid transfer proteins (LTP) essentially concentrate in the skin of Rosaceae fruits as cell surface exposed allergens. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, **44**, 535-542.
- [10] Bredehorst R., David K.: What establishes a protein as an allergen? *J. Chromatography B*, 2001, **756**, 33-40.
- [11] Breiteneder H., Radauer C.H.: A classification of plant food allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, **113**, 821-830.
- [12] Burks A.W., Williams L.W., Connaughton C., Cockrell R.M., Helm J.: Identification and characterization of a second major peanut allergen, *Ara h* II, utilizing the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, **90**, 889-897.
- [13] Clemente A., Vioque J., Sánchez-Vioque R., Pedroche J., Millán F.: Production of extensive chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates with reduced antigenic activity. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **4**, 3776 - 3781.
- [14] Cordle, C. T.: Control of food allergies using protein hydrolysates. *Food Technol.*, 1994, **48** (10), 72-76.
- [15] El-Agamy E.I.: The challenge of cow milk protein allergy. *Small Ruminant Research*, 2007, **68**, 64-72.
- [16] Feng C.G., Collins A.M.: Pasteurisation and homogenisation of milk enhances the immunogenicity of milk plasma proteins in a rat model. *Food Agric. Immunol.*, 1999, **11**, 251-258.
- [17] Fernández Rivas M.: Cross-reactivity between fruit and vegetables. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2003, **31** (3), 141-146.
- [18] Fernández-Rivas M., Cuevas M.: Peels of Rosaceae fruits have a higher allergenicity than pulps. *Clin. Exp. Allergy*, 1999, **29**, 1239-1247.
- [19] Hefle S.L., Lambrecht D.M., Nordlee J.A.: Soy sauce retains allergenicity through the fermentation production process. *J Allergy Clin Immunol.*, 2005, **115**, 32
- [20] Herian A.M., Taylor S.L., Bush R.K.: Allergenic reactivity of various soybean products as determined by RAST inhibition. *J. Food Sci.*, 1993, **58**, 385-388.
- [21] Hidalgo F.J., Zamora R.: Peptides and proteins in edible oils: Stability, allergenicity, and new processing trends. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, **17**, 56-63.
- [22] Host A., Samuelsson E.G.: Allergic reactions to raw, pasteurized, and homogenized/pasteurized cow milk: A comparison. A double-blind placebo-controlled study in milk allergic children. *Allergy*, 1988, **43**, 113-118.

- [23] Ibañez D., Martínez M., Marañón F., Fernández-Caldas E., Alonso E., Laso T.: Specific IgE determinations to crude and boiled lentil (*Lens culinaris*) extracts in lentil-sensitive children and controls. *Allergy*, 1999, **54**, 1209-1214.
- [24] Jędrychowski L., Wróblewska B.: Reduction of the antigenicity of whey proteins by lactic acid fermentation. *Food Agric. Immunol.*, 1999, **11**, 91-99.
- [25] Kaila M., Isolauri E., Soppi E., Virtanen E., Laine S., Arvilommi H.: Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr. Res.*, 1992, **32**, 141-144.
- [26] Lourdes Snchez S.J., Ma Dolores Perez, Maria Lavilla, Conesa C., Calvo M.: Effect of heat treatment on hen's egg ovomucoid: An immunochemical and calorimetric study. *Food Res. Intern.*, 2007, **40**, 603-612.
- [27] Maleki S.J., Champagne E.T., Chung S.Y., Raufman J.P.: The effects of processing on the allergenic properties of peanut proteins. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, **106**, 763-769.
- [28] Maleki S.J., Champagne E.T., Chung S.Y., Khalifah R.G.: Allergic and biophysical properties of peanut proteins before and after roasting. *Food Allergy and Intolerance*, 2001, **2** (3), 211-221.
- [29] Maleki S.J., Kopper R.A., Shin D.S., Park Ch.W., Comparde C.M., Sampson H., Burks A.W., Bannon G.A.: Structure of the major peanut allergen Ara h1 may protect IgE-binding epitopes from degradation. *J. Immunol.*, 2000, **164**, 5844-5849.
- [30] Maleki S.J., Viquez O., Jack T., Dodo H., Champagne E.T., Chung S.Y.: The major peanut allergen, Ara h 2, functions as a trypsin inhibitor, and roasting enhances this function. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, **112**, 190-195.
- [31] Michalski M.C., Januel C.: Does homogenization affect the human health properties of cow's milk? *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, **17**, 423-437.
- [32] Mills E.N.C., Madsen C., Shewry P.R., Wichers H.J.: Food allergens of plant origin – their molecular and evolutionary relationships. *Trends Food Sci. Technol.*, 2003, **14**, 145-156.
- [33] Morenet-Vautrin D.A., Kanny G.: Update on threshold doses of food allergens: Implications for patients and the food industry. *Current Opinion in Allergy and Clin. Immunol.*, 2004, **4**(3), 215-219.
- [34] Muller U., Weber W., Hoffman A., Franke S., Lange R., Vieths S.: Commercial soybean lecithins: a source of hidden allergens? *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1998, **207**, 341-351.
- [35] Nowak-Węgrzyn A.H., Sicherer S.H., Shreffler W.G., Thanik E., Mofidi S., Noone S., Sampson H.A.: A Trial of a diet containing baked egg in children with egg allergy. *J Allergy Clin. Immunol.*, 2007, p 194.
- [36] Palosuo K., Alenius H., Varjonen E., Kalkkinen N., Reunala T.: Rye gamma-70 and gamma-35 secalins and barley gamma-3 hordein cross-react with omega-5 gliadyn, a major allergen in wheat-dependent, exercise-induced anaphylaxis. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, **31**, 466-473.
- [37] Pelto L., Isolauri E., Lilius E.M., Nuutila J., Salminen S.: Probiotic bacteria downregulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin. Exp. Allergy*: 1998, **28**, 1474-1479.
- [38] Perdigon G. S., Alvarez M., Medici E., Ventini G.S., de Giori M. N., de Kairuz, de Ruiz Holgado A.P.: Effect of yogurt with different storage periods on the immune system in mice. *Milchwissenschaft*, 1995, **50**, 367-371.
- [39] Perdigon G., Alvarez S., de Macias M.E., Roux M.E., de Ruiz Holgado A.P.: The oral administration of lactic acid bacteria increases the mucosal intestinal immunity in response to enteropathogens. *J. Food Protect*, 1990, **53**, 404 -410.
- [40] Poulsen L.K.: *In vivo* and *in vitro* techniques to determine the biological activity of food allergens. *J. Chromatography B*, 2001, **25**, 41-55
- [41] Poulsen O.M., Hau J.: Homogenization and allergenicity of milk. Some possible implications for the processing of infant formulae. *North European Food and Dairy J.*, 1987, **53** (7), 239-242.

- [42] Poulsen O.M., Nielsen B.R., Basse A., Hau J.: Comparison of intestinal anaphylactic reactions in sensitized mice challenged with untreated bovine milk and homogenized bovine milk. *Allergy*, 1990, **45 (5)**, 321–326.
- [43] Pyle J., Yu H., Kolattukudy P.E.: Identification of a lipid transfer protein as the major protein in the surface wax of broccoli (*Brassica oleracea*) leaves. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1994, **311**, 460-468.
- [44] Ricci G., Righetti F., Menna G., Bellini F., Miniaci A., Masi M.: Relationship between Bet v1 and Bet v2 specific IgE and food allergy in children with grass pollen respiratory allergy. *Molecular Immunol.*, 2005, **42**, 1251-1257.
- [45] Richard C., Leduc V., Battais F.: Plant lipid transfer proteins (LTPs): biochemical aspect in panallergen-structural and functional features and allergenicity. *Allerg Immunol. (Paris)*, 2007, **39(3)**, 76-84.
- [46] Roitt I., Brostoff J., Male D.: *Immunologia*. Wyd. II. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa i Wydawnictwo Medyczne Słotwiński Verlag, Brema 2000.
- [47] Sanchez-Monge R., Blanco C., Perales A. D., Collada C., Carrillo T., Aragoncillo C., Salcedo G.: Class I chitinases, the panallergens responsible for the latex-fruit syndrome, are induced by ethylene treatment and inactivated by heating. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, **106 (1 Pt 1)**, 190-195.
- [48] Sánchez-Monge R., Pascual C.Y., Diaz-Perales A., Fernández-Crespo J., Martínez-Esteban M., Salcedo G.: Isolation and characterization of relevant allergens from boiled lentils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, **106**, 955-961.
- [49] Sathe S.K., Teuber S.S., Roux K.H.: Effects of food processing on the stability of food allergens, *Biotechnology Advances*, 2005, **23**, 423-429
- [50] Schmidt D.G., Meijer R.J., Slangen C.J., van Beresteijn E.C.: Raising the pH of the pepsin-catalyzed hydrolysis of bovine whey proteins increases the antigenicity of the hydrolysates. *Clin. Exp. Allergy*, 1995, **25 (10)**, 1007–1017.
- [51] Shin D.S., Compadre C.M., Maleki S.J.: Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h 1, an abundant and highly allergenic peanut protein. *J. Biol. Chem.*, 1998, **273**, 13753-13759.
- [52] Soler-Rivas C., Wichers H.J.: Impact of (bio)chemical and physical procedures on food allergen stability. *Allergy*, 2001, **56 (67)**, 52-55.
- [53] Szymkiewicz A., Jędrychowski L.: Determination of pea proteins allergenicity with the use Balb/c mouse, *Central European J. Immunol.*, 2006, **31 (1-2)**, 63-69.
- [54] Szymkiewicz A., Jędrychowski L.: Influence of selected technological processes on immunogenic properties of pea proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52, SI 1**, 100-103.
- [55] Szymkiewicz A., Jędrychowski L.: Reduction of immunoreactive properties of pea globulins as the result of enzymatic modification. *Acta Alimentaria*, 2005, **34 (3)**, 295-306.
- [56] Taylor S.L., Nordlee J.A., Sicherer S.H., Sampson H.A., Levy M.B., Steiman H.: Soybean oil is no allergenic to soybean-allergic individuals. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, **113**, 99-106.
- [57] Tsuji H., Kimoto M., Natori Y.: Allergen in major crops. *Nutrition Research*, 2001, **21**, 925-934.
- [58] Varjonen E., Björkstén F., Savolainen J.: Stability of cereal allergens. *Clin. Exp. Allergy*, 1996, **26 (4)**, 436-443.
- [59] Watanabe M., Miyakawa J., Ikezawa Z., Suzuki Y., Hirao T.: Production of hypoallergenic rice by enzymatic decomposition of constituent proteins. *J. Food Sci.*, 2004, **55**, 781-783.
- [60] Zawadzka-Krajewska A.: Preparaty mlekozastępcze stosowane w leczeniu alergii pokarmowej u niemowląt. *Alergia*, 2006, **2**, 31-33.
- [61] Zawisza E.: Kefir, jogurt i doustne antygeny bakteryjne leczą alergię. *Alergia i Ty*, 2000, **2 (5)**, 38.
- [62] Zhenxing L., Lin H., Cao L., Khalid J.: Effect of high intensity ultrasound on the allergenicity of shrimp. *J. Zhejiang University (Science B)*, 2006, **7 (4)**, 251-256.

- [63] Zhenxing L., Lin H., Cao L., Khalid J.: The influence of gamma irradiation on the allergenicity of shrimp (*Penaeus vannamei*). J. Food Eng., 2007, **79** (3), 945-949.

EFFECT OF TECHNOLOGICAL PROCESSES ON CHANGES IN THE FOOD ALLERGENICITY

S u m m a r y

Different technological processes are required in food industry to process plant- and animal-derived raw materials in order to make the long-term storage of foodstuffs possible and their consumption safe. During the production of foodstuffs, various technological methods, both thermal (pasteurization, ultrasounds, microwaves, roasting, and autoclaving) and non-thermal (enzymatic modifications, sprouting, ultra-filtration, gamma-radiation, high pressure, homogenization, and grinding) are used to process raw materials. Apart from the changes in physical properties and the microbial stability gained, in most cases, the allergenic potential of ready-made product is changed, too. Higher quantities of processed foods are introduced into the market and this fact is one of the main reasons why the number of persons allergic to food increases. The novel processing technologies can either decrease the allergenicity of final products as compared to that of raw materials or they can be a direct cause of new, up to now unknown allergens, constituting an identification problem for immune systems.

Key words: animal-derived allergens, plant-derived allergens, pan-allergens, technological processes 