

## MONITORING OF A GLUTEN CONTENT IN SELECTED MEAT PRODUCTS FROM THREE BIGGEST MEAT PRODUCERS IN SLOVAKIA

*Marcel Mati, Ladislav Staruch*

### ABSTRACT

The work is focused on a monitoring of a gluten content in selected meat products from three biggest and most popular meat producers in Slovakia. Gluten is a type of protein complex which is typical naturally presented component of wheat, barley and rye. Flour from this sources with natural gluten content is also added into the some type of meat products and other foodstuffs for a technological reasons hand in hand with economic reasons. Some of the gluten quantities could be hazardous for sensitive people as celiatics and allergic to gluten. Within the context of this reasons there is a need to control the amounts of this hidden type of gluten inclusive of spice mixes using in a meat production. Monitoring by itself was realized with a use of the sandwich ELISA RIDASCREEN® Fast Gliadin test. ELISA means enzyme linked immunosorbent assay. It is based on a specific reaction among the enzyme and antigen leading to a creation of a complex. This test provides us exact quantification of a gluten content in this type of food products using a colorimetric reaction of a complex by observing of all fundamentals of this technique. There were analysed 16 meat products and 5 types of spice mixes in total.

**Keywords:** gluten, ELISA test, gluten intolerance, gluten allergy

### ÚVOD

Celiakia je permanentná potravinová intolerancia na lepok, ktorý je prirodzene prítomný v obilninách akými sú pšenica, jačmeň a raž (Petr, Michalík et al., 2003). O bezpečnosti bielkovín z ovsa pre celiatikov sa stále vedú otvorené vedecké debaty (Black, Orfila, 2011). Celiakia je bližšie definovaná ako stav organizmu, pri ktorom je abnormálnym spôsobom zmenšená prirodzená plocha črevnej sliznice (sploštením črevných klkov), a tento stav sa dá morfológicky upraviť dodržiavaním tzv. „bezlepkovej diéty“ (Abdulkarim, Murray, 2003). Prvýkrát bola celiakia popísaná Samuelom Gee v roku 1880 vo Veľkej Británii (Walker, Murray, 2010). Súvislosť medzi konzumáciou lepku a prejavmi ochorenia bola dokázaná počas druhej svetovej vojny (Abdulkarim, Murray, 2003). V súčasnosti je výskyt tohto ochorenia približne 1:100 (Sollid, Koshla, 2011). Klasickými prejavmi ochorenia sú hnačka, bolesti v brušnej oblasti a úbytok hmotnosti, čo dokazujú štúdie na probandoch postihnutých celiakiou (Olén, Askling et al., 2011). Okrem klasických prejavov ochorenia vznikajú ďalšie, ktoré sú dôsledkom nedostatočného vstrebávania dôležitých zložiek výživy v procese trávenia. Ide o osteoporózu, bolesti kĺbov, chronickú únavu, poranenia kože, anémiu a iné (Fasano, 2009). Výrazné histologické zmeny sa pri dodržiavaní bezlepkovej diéty podľa dostupných štúdií prejavujú už za 3 mesiace a za 2 roky diéty sa pacienti s celiakou stávajú prakticky asymptomatickí (Anderson, 2008). Štúdie dokazujú, že celiakia sa môže vyskytnúť u jedincov prakticky v ľubovoľnom veku (Mukherjee, Egbuna, Brar et al., 2010). Celiakiou bývajú postihnuté najčastejšie deti a dospelí vo veku okolo štyridsať rokov (Petr, Michalík

et al., 2003). Štandardom pri spoľahlivej diagnóze celiakie je biopsia tenkého čreva, o ktorej potrebe rozhodujú sérologické testy (Ludvigsson, Green, 2011). Príčina tejto intolerancie je stále skúmaná. Vedecké závery však dosiaľ predpokladajú najväčší vplyv pri vzniku ochorenia genetickým dispozíciám jedincov. Tieto závery sú podporené výskumami poukazujúcimi na to, že ak malo jedno z detí- jednovaječných dvojčiek celiakiu, u toho druhého sa vyskytovala rovnako až v 75 % prípadov (Gutierrez-Achury, Coutinho de Almeida et al., 2011). Pšeničný lepok je potravinovou komoditou, ktorá je známa svojim použitím v pekárskom priemysle. Využívaný je však aj v ostatných odvetviach potravinárskeho priemyslu, medzi ktoré patrí aj mäsová výroba. Lepok je nositeľom viskózoelastických vlastností a pri výrobe mäsových výrobkov sa používa najčastejšie vo forme múky na zvýšenie väzby vody vo výrobku a ako plnidlo, čo je pozitívne z ekonomického i technologického hľadiska (Asgar et al., 2010).

Lepok je komplexnou bielkovinou zloženou majoritne z nasledovných bielkovín:

V alkohole rozpustných gliadínov (u pšenice), sekalínov (u raže), alebo hordeínov (u jačmeňa) (Abdulkarim, Murray, 2003).

V alkohole nerozpustných glutenínov (Tatham, Shewry, 2008).

Gliadíny (sekalíny, či hordeíny) predstavujú obsahovo približne 50 % bielkovín lepku. ELISA RIDASCREEN® Fast Gliadin test je založený práve na zaistení kvantity gliadínu, ktorej vynásobením známym koeficientom rovným 2 dostaneme výsledný obsah lepku v potravinárskom výrobku. Gliadín je tiež považovaný za potenciálny alergén (Wang, Young, Karl, 2010). ELISA

testy poskytujú vo všeobecnosti citlivú a selektívnu metódu na detekciu veľkej skupiny antigénov v rôznych matriciach. Existujú dva základné typy ELISA metód: sendvičová ELISA metóda, ktorú sme pri analýze použili a kompetitívna ELISA metóda. Sendvičová analýza je založená na tvorbe komplexu medzi protilátkou, imobilizovanou na tuhej fáze a antigénom z extraktu skúmanej vzorky. Následným prídavkom druhej protilátky a jej naviazaním vzniká komplex protilátka-antigén-protilátka (tzv. sendvičový komplex). Stanovenie množstva gliadínu vo vzorke je položené na báze kolorimetrickej reakcie s následným meraním absorbancie pomocou spektrofotometra. Kompetitívna ELISA metóda využíva naopak špecifický antigén imobilizovaný na tuhej fáze (Hnasko, Lin, McGarvey et al., 2011). Vyššiu citlivosť než ELISA testy má metóda PCR (polymerázová reťazová reakcia). Ide približne o 10 x lepšiu citlivosť. Systém real time PCR má detekčný limit pre stanovenie gliadínu na úrovni 0,16 ppm, čo znamená citlivejšiu metódu najmä pre stopové množstvá gliadínu, na ktorých kvantifikáciu už ELISA nestačí. Nevýhodou PCR metódy je ale nutnosť prítomnosti pomnožiteľnej deoxyribonukleovej kyseliny vo vzorke a schopnosť detegovať kontamináciu vzorky nukleovými kyselinami práve tej obilniny, ktorej prítomnosť bielkovín chceme stanoviť (Hulín et al., 2008). ELISA metóda stanovenia lepku vo vzorkách bola z vyššie spomínaných dôvodov prijatá komisiou Codex Alimentarius za metódu číslo 1 pri danom type stanovení (van Eckert, Bond et al., 2010). Nariadenie Komisie Európskeho Spoločenstva č. 41/2009 z 20. januára 2009 o zložení a označovaní potravín vhodných pre osoby trpiace neznášanlivosťou gluténu (lepku) na základe vzájomnej podobnosti celiatičkov (čo sa týka ich prahu citlivosti) pre uľahčenie ich života rozlišuje a nariaďuje nasledovné označovanie potravinárskych výrobkov v Európskej únii:

Tzv. „bezgluténové“ výrobky sú výrobky, ktoré obsahujú menej ako 20 mg lepku na kilogram hotového výrobku. Výrobky s „veľmi nízkym obsahom“ lepku - sú tie, ktoré obsahujú viac ako 20 mg lepku na kilogram hotového výrobku, ale menej ako 100 mg lepku na kilogram hotového výrobku (keďže celiatici ešte tieto množstvá lepku tolerujú) (Vyhláška č. 41/2009).

### MATERIÁL A METÓDY

Na obsah lepku bolo celkovo analyzovaných 21 vzoriek. Išlo o 16 vzoriek mäsových výrobkov od troch rôznych výrobcov (A, B, C) a 5 druhov koreniacich zmesí dodaných od dvoch výrobcov mäsových výrobkov (B a C), ktoré používajú vo svojich výrobkoch, a ktoré pre nich vyrábajú iné firmy. K analýze bol použitý ELISA RIDASCREEN® Fast Gliadin test, ktorý je sendvičovou ELISA metódou, ktorý využíva monoklonálne protilátky R5 (Fric, Gabrovská, Nevorál, 2011). Test využíva protilátky imobilizované na tuhej fáze, ktorou býva najčastejšie takzvaná mikrotitračná platnička. Pomocou

takto zakotvených protilátok sú zachytávané špecifické (alergénne) bielkoviny z analyzovaných vzoriek. Takto zachytené bielkoviny sú detegované ďalšími proteínšpecifickými protilátkami, ktoré sú označené enzýmom umožňujúcim kolorimetrickú reakciu. Výsledná koncentrácia antigénu/ alergénu je priamo úmerná intenzite zafarbenia, ktorá je nameraná pomocou spektrofotometra. Detekčný limit metódy je 2 ppm gliadínu, čo zodpovedá po prepočítaní 4 ppm gluténu (lepku). Dolný kvantifikačný limit testu je 5 ppm gliadínu, čo zodpovedá 10 ppm gluténu (lepku) a vrchný limit je 80 ppm gliadínu (JEMO TRADING, 2010).

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky v tab. 1 dokazujú, že analyzované výrobky od firmy A, ktoré sú označované ako bezgluténové sú takto označované právom. V prípade výrobku Pečeňový syr paštéta (vzorka č. 34) toto označenie chýba napriek tomu, že podľa výsledkov analýz môže byť jeho nositeľom, čo by umožnilo ešte lepší prehľad celiatikom v sortimente výrobkov firmy A. Výrobok Pečená sekaná (vzorka č. 35) sa nezaraďuje medzi bezgluténové výrobky. Obsah lepku (gluténu) u analyzovanej vzorky tohto výrobku sme stanovili na úrovni viac ako 80 mg/kg hotového výrobku (80 ppm lepku), čo je viac ako limit kvantifikácie samotného testu a zároveň potvrdenie, že výrobok sa správne nezaraďuje medzi bezgluténové výrobky. Lepok sa do Pečenej sekanej dostáva pri výrobe prídavkom strúhanky. Firma A neposkytla k analýze žiadny druh nimi používaných koreniacich zmesí, ktoré by mohli byť zdrojom kontaminácie výrobkov. U mäsových výrobkov šlo o zmes výrobkov z kategórie mäkkých mäsových výrobkov a trvanlivých tepelne neopracovaných mäsových výrobkov.

Výsledky uvedené v tab. 2 dokazujú, že analyzované mäsové výrobky od firmy B a koreniacie zmesi od iných dodávateľov sú právom označované ako „bezgluténové“.

Tab. 3 podáva výsledky analýzy mäsových výrobkov od firmy C a koreniacich zmesí, pochádzajúcich od iných firiem, ktoré firma C používa vo výrobe. Mäsové výrobky pochádzali z kategórie trvanlivých tepelne neopracovaných mäsových výrobkov. U všetkých mäsových výrobkoch výsledky potvrdzujú správnosť označovania výrobkov za bezgluténové. U koreniacej zmesi Gombasecká bol zachytený obsah lepku na úrovni 12,19 mg na kilogram hotového výrobku, ktorý nepredstavuje riziko pre celiatikov, ale vzhľadom na označenie výrobku za „bezalergénny“ pri výrobe ktorého sa používa je tento výsledok mierne prekvapivý. Toto množstvo môže poukazovať na krížovú kontamináciu u výrobcu koreniacej zmesi. Navyše sa zmes pridáva do fermentovaného mäsového výrobku, o ktorých legislatíva hovorí, že: „Do trvanlivých tepelne neopracovaných mäsových výrobkov je zakázané používať vláknu a nemäsové bielkoviny“ (Výnos č. 1895/2004-100).

**Tab. 1** Obsah gluténu vo vzorkách mäsových výrobkov a koreniacich zmesí od firmy A

Vzorka	Číslo vzorky	ppb gliadínu	ppb *500	ppm gliadínu	ppm gluténu
Spišské párky classic	9	<10	<5000	<5	<10
Rusnácka klobása	11	<10	<5000	<5	<10
Spring nárez	13	<10	<5000	<5	<10
Saláma Austria	15	<10	<5000	<5	<10
Pečeňový syr paštéta	34	<10	<5000	<5	<10
Pečená sekaná	35	>80	>40000	>40	>80

**Tab. 2** Obsah gluténu vo vzorkách mäsových výrobkov a koreniacich zmesí od firmy B

Vzorka	Číslo vzorky	ppb gliadínu	ppb *500	ppm gliadínu	ppm gluténu
Údená medová šunka	1	<10	<5000	<5	<10
Pečená šunka	3	<10	<5000	<5	<10
Šunka špeciál	5	<10	<5000	<5	<10
Poľovnícke pliecko s cesnakom	6	<10	<5000	<5	<10
Jelenia klobása hubert	8	<10	<5000	<5	<10
Spišské párky premium	32	<10	<5000	<5	<10
koreniaca zmes Frankfurter combi	27	<10	<5000	<5	<10
koreniaca zmes Delikates pate mix	25	<10	<5000	<5	<10
koreniaca zmes Poltermax	29	<10	<5000	<5	<10

**Tab. 3** Obsah gluténu vo vzorkách mäsových výrobkov a koreniacich zmesí od firmy C

Vzorka	Číslo vzorky	ppb gliadínu	ppb *500	ppm gliadínu	ppm gluténu
Lovecká saláma	17	<10	<5000	<5	<10
Malokarpatská saláma	18	<10	<5000	<5	<10
Nitran saláma	20	<10	<5000	<5	<10
Uhorčík klobása	22	<10	<5000	<5	<10
Koreniaca zmes Gombasecká	30	12,19	6095	6,095	12,19
Koreniaca zmes Ponitran	31	<10	<5000	<5	<10

## ZÁVER

Výsledky analýz mäsových výrobkov od firmy A, B a C (uvedené v tabuľkách 1, 2 a 3), ktoré sme vykonali potvrdzujú, že mäsové výrobky, ktoré sú označované ako „bezgluténové“ spĺňajú limit pre zaradenie do takejto kategórie. Koreniaca zmes Gombasecká, ktorú používa firma C pri výrobe rovnomenného mäsového výrobku vykázala diskutabilný obsah lepku, uvedený v tab. 3 a diskutovaný vo výsledkoch. Celkovo však môžeme na základe získaných výsledkov konštatovať dodržiavanie metodiky HACCP a ISO 22000 vo výrobách mäsových výrobkov.

## LITERATÚRA

ABDULKARIM, A. S., MURRAY, J. A. 2003. Review article: the diagnosis coeliac disease. In *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 17, 2003, no. 8, p. 987.

ANDERSON, R. P. 2008. Coeliac disease: current approach and future prospects. In *Internal Medicine Journal*, vol. 38, 2008, no. 10, p. 792.

ASGAR, A. M., FAZILAH, A., HUDA, N., RAJEEV, B., KARIM, A. A. 2010. Nonmeat Protein Alternatives as Meat Extenders and Meat Analogs. In *Comprehensive Reviews in Food Safety*, vol. 9, 2010, no. 5, p. 513-529.

BLACK, J. L., ORFILA, C. 2011. Impact of coeliac disease on dietary habits and quality of life. In *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, vol. 24, 2011, no. 6, p. 582.

FASANO, A. 2009. Surprises from Celiac Disease. In *Scientific American*, vol. 301, 2009, no. 2, p. 54- 61.

JEMO TRADING spol. s r.o. 2010, Produktová špecifikácia: RIDASCREEN® Fast Gliadin.

FRIC, P., GABROVSKA, D., NEVORAL, J. 2011. Celiac disease, gluten- free diet, and oats. In *Nutrition Reviews*, vol. 69, 2011, no. 2, p. 108.

GUTIERREZ-ACHURY, J., COUTINHO DE ALMEIDA, R., WIJMENGA, C. 2011. Shared genetics in coeliac disease

and other immunemediated diseases. In *Journal of Internal Medicine*, vol. 269, 2011, no. 6, p. 591.

HULÍN, P., DOSTÁLEK, P., HOCHÉL, I. 2008. Metody stanovení lepkových bílkovin v potravinách. In *Chemické listy*, vol. 102, 2008, no. 5, p. 327- 337.

LUDVIGSSON, J. F., GREEN, P. H. 2011. Clinical management of coeliac disease. In *Journal of Internal medicine*, vol. 269, 2011, no. 6, p. 563.

MUKHERJEE, R., EGBUNA, I., BRAR, P., HERNANDEZ, L., MCMAHON, D. J., SHANE, E. J., BHAGAT, G., GREEN, P. H. 2010. Celiac Disease: Similar Presentations in the Elderly and Young Adults. In *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 55, 2010, no. 11, p. 3147.

OLÉN, O., ASKLING, J., et al. 2011. Coeliac disease characteristics, compliance to a gluten free diet and risk of lymphoma by subtype. In *Digestive and Liver Disease*, vol. 43, 2011, no. 11, p. 865.

HNASKO, R., LIN, A., MCGARVEY, A. J., STANKER, L. H. 2011. A rapid method to improve protein detection by indirect ELISA. In *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 410, 2011, no. 4, p. 726.

PETR, J., MICHALIK, I., TLASKALOVÁ, H., CAPOUCHOVÁ, I., FAMĚRA, O. URMINSKÁ, D., TUČKOVÁ, L. KNOBLOCHOVÁ, H. 2003. Extention of the Spectra of Plant Products for the Diet in Coeliac Disease, In *Czech Journal of Food Science*, vol. 21, 2003, no. 2, p. 59.

SOLLID, L. M., KOSHLA. 2011. Novel therapies for coeliac disease. In *Journal of Internal Medicine*, vol. 269, 2011, no. 6, p. 604.

TATHAM, A. S., SHEWRY, P. R. 2008. Allergens in wheat and related cereals. In *Clinical and Experimental Allergy*, vol. 38, 2008, no. 11, p. 1713.

VAN ECKERT, R., BOND J., RAWSON, P., KLEIN, CH. L., STERN, M., JORDAN, T. W. 2010. Reactivity of gluten

detecting monoclonal antibodies to a gliadin reference material. In *Journal of Cereal Science*, vol. 51, 2010, no. 2, p. 199.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 18. augusta 2005 č. 1895/2004 – 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mäsové výrobky.

Vyhláška č. 41/2009 Zb. Nariadenie Komisie (ES) z 20. januára 2009 o zložení a označovaní potravín vhodných pre osoby trpiace neznášanlivosťou gluténu.

WALKER, M. M., MURRAY, J. A. 2010. An update in the diagnosis of coeliac disease. In *Histopathology*, vol. 59, 2010, no. 2, p. 166.

WANG, X., YOUNG, O. A., KARL, D. P. 2010. Evaluation of Cleaning Procedures for Allergen Control in a Food Industry Environment. In *Journal of Food Science*, vol. 75, 2010, no. 9, p. 150.

### Acknowledgments:

This article was part of the project VEGA 1/0234/2009.

### Contact address:

Marcel Mati, Department of Biotechnology and Food Science, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, E-mail: marcel.mati@gmail.com

Ladislav Staruch, Department of Biotechnology and Food Science, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, E-mail: ladislav.staruch@stuba.sk