



# Ruoka-allergeenien määrittäminen

**Leena Maanpää-Pohjonen, Avainasiakaspäällikkö ja  
myyntitiimin vetäjä, FM**

**Eurofins Scientific Finland Oy**

**Turku 10.5.2017**

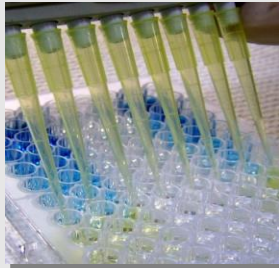
## Eurofins Scientific on maailman johtava bioanalyysipalvelujen tarjoaja:

- Yli **310** laboratoriota **39** maassa
- Henkilöstöä yli **28 000**
- Tarjoaa asiakkaidensa käyttöön yli **130 000** analyysimenetelmää
- Kyky reagoida nopeasti muuttuneisiin tilanteisiin
- Investoinnit tutkimukseen ja kehitykseen sekä ajanmukaisiin laitteistoihin merkittävät

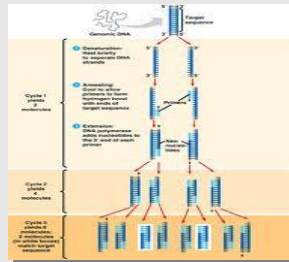


- Eurofins toiminut Suomessa 10 vuotta.
- Toimintamme Suomessa on keskitetty 11 eri paikkakunnalle (mm. Raisio, Kokkola, Tampere, Helsinki, Mikkeli, Lahti, Rovaniemi, Oulu)
- Suomen Eurofins tarjoaa:
  - *Elintarvike- ja rehuanalytiikkaa (mikrobiologia ja elintarvikekemialla)*
  - *Ympäristöanalytiikkaa*
  - *Eurofins-konsernin analyysivalikoiman*
- Suomen Eurofinsin liikevaihto n. 11 milj. € (v. 2016); vakituista henkilökuntaa kevään 2017 yritysostojen jälkeen noin 300.

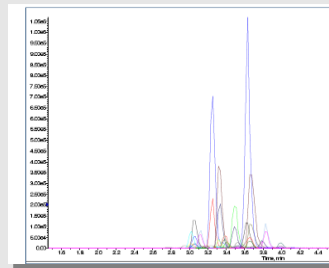




**ELISA**



**PCR**



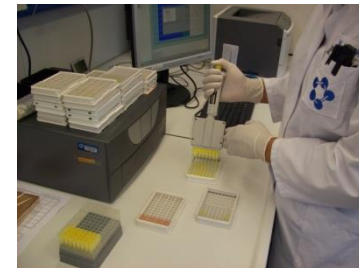
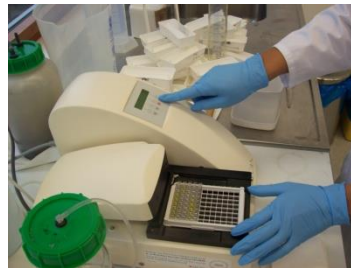
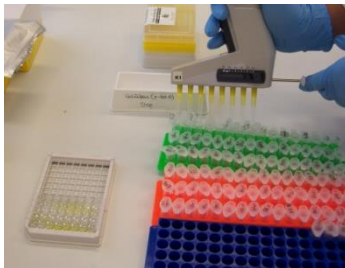
**LC/MS/  
MS**

## Edut

- ❖ Analysoidaan proteiinia
- ❖ Nopea
- ❖ Helppokäyttöinen
- ❖ Semi-kvantitatiivinen

## Puutteet

- ❖ Mitataan vain yhtä kohdemolekyyliä
- ❖ Antibodien ristireaktiot
- ❖ Eri antibodeja käytössä eri kiteissä



ELISA-MÄÄRITYKSET		
Allergeeni	Akkreditointi	Määrittärajat (LOQ)
Gluteeni	on	5 ppm gluteeni / 2.5 ppm gliadiini
Gluteeni oluesta ja täkkelyksestä	on	10 ppm gluteeni
Kananmuna	on	0.31 ppm kananmuna (kokomunaproteiini)
Lysotsyymi (kananmuna)	on	0,05 ppm lysotsyymi
Soija	on	0.31 ppm soijaproteiini
Soija	on	2.5 ppm soijajauho
Kaseiini (maitoproteiini)	on	0.2 ppm kaseiini (maitoproteiini)
Beta-laktoglobuliini (heraproteiini)	on	0.1 ppm beta-laktoglobuliini (heraproteiini)
Manteli	on	2.5 ppm manteli
Maapähkinä	on	0.31 ppm maapähkinä
Cashew-pähkinä	on	2 ppm cashew-pähkinä
Hasselpähkinä	on	0.5 ppm hasselpähkinän proteiini
Äyriäiset	on	0.02 ppm tropomyosiini
Nilviäiset	on	0.03 ppm tropomyosiini
Lupiini	on	0.5 ppm lupiinijauhon proteiini
Sinappi	on	2.5 ppm sinappi
Seesam	on	6 ppm sesam
Saksanpähkinä	on	3 ppm saksanpähkinä

## Edut

- ❖ Nopea
- ❖ Monen komponentin skriinaus mahdollista
- ❖ Hinnaltaan kohtuullinen

## Puutteet

- ❖ Epäsuora määrittely – mitataan DNA:ta – tulos positiivinen tai negatiivinen
- ❖ Tulos ei välttämättä korreloi esim. gluteenin määrän kanssa
- ❖ Jotkut allergisoivat elintarvikkeet eivät sisällä tarpeeksi DNA:ta (esim. maito, kananmuna)
- ❖ Kvalitatiivinen menetelmä, kvantitointi haasteellista

DNA-MÄÄRITYKSET (PCR)		
Allergeeni	Akkreditointi	Toteamisraja (LOD) kpl
→ Selleri	on	20 sellerispesifistä DNA-kopiota
→ Kala	on	20 kalaspesifistä DNA-kopiota
→ Pekaanipähkinä ja Saksanpähkinä	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
→ Pistaasipähkinä	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
Cashew-pähkinä	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
→ Macadamia-pähkinä	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
→ Viljat (vehnä, ruis, ohra)	on	20 viljaspesifistä DNA-kopiota
→ Kaura	on	20 kaurapesifistä DNA-kopiota
Hasselpähkinä	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
Manteli	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
Maapähkinä	on	20 pähkinäspesifistä DNA-kopiota
Soija	on	20 soijaspesifistä DNA-kopiota
Sinappi	on	20 sinappi/brassicaspesifistä DNA-kopiota
Lupiini	on	20 lupiinispesifistä DNA-kopiota
Seesam	on	20 seesamspesifistä DNA-kopiota
→ Herne	on	20 hernespesifistä DNA-kopiota

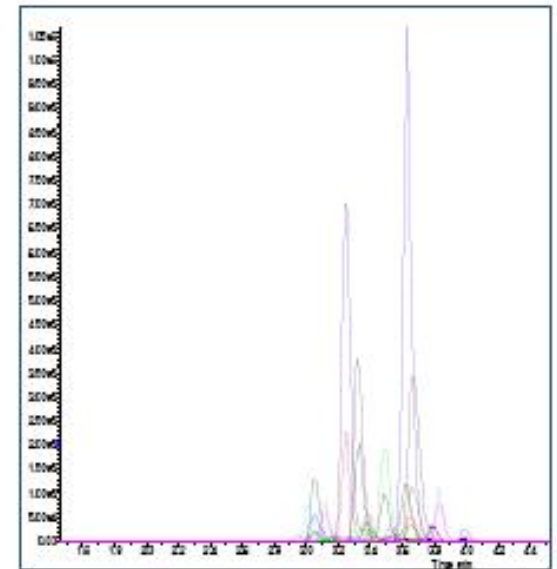


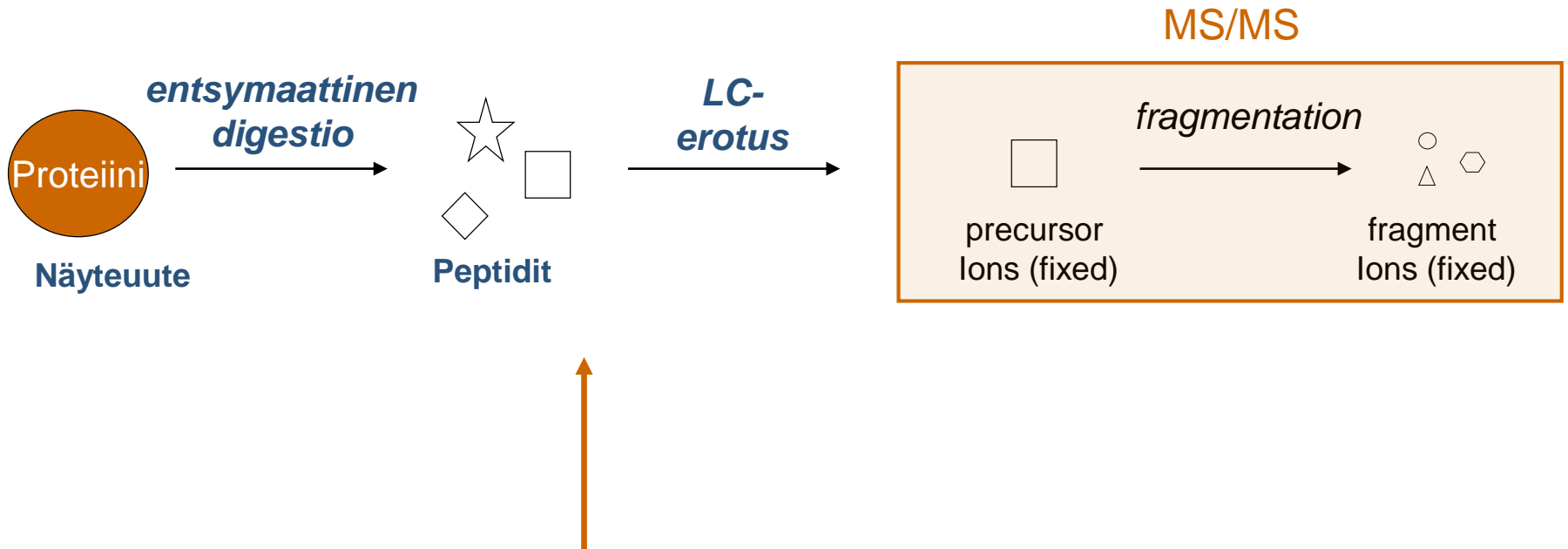
## Edut

- ❖ Määritetään suoraan proteiinia
- ❖ Suuri kapasiteetti
- ❖ Monen analyytin määrittäminen samalla analyysillä mahdollista
- ❖ Spesifinen ja herkkä
- ❖ Kvantitointi mahdollista

## Puutteet

- ❖ Tarvittavat laitteet ovat kalliita
- ❖ Teknisesti monimutkainen





## Vaatimukset:

- peptidien toistettavuus (reproducible)
- allergeenille spesifinen, yksiselitteinen aminohapposekvenssi

## MULTISCREEN-MÄÄRITYS (HPLC-MS/MS)

- Näytteen esikäsittely + valinnan mukaan 1-7allergeenia

Allergeeni	Akkreditointi *	Määritettävä proteiini
Maito	on	kaseiini (maitoproteiini)
Kanamuna	on	kananmunan valkuaisen proteiini (ovalbumiini)
Soija	on	glysiini (soijaproteiini)
Hasselpähkinä	on	globuliini (hasselpähkinän proteiini)
Maapähkinä	on	Ara maapähkinän proteiini
Manteli	on	Pruniini (mantelin proteiini)
Saksanpähkinä	on	Saksanpähkinän proteiini Jur r1

\*Menetelmä on akkreditoitu tällä hetkellä leipomotuotteille, leivälle ja jauhoille

## Gluteeni

- Yleisesti gluteeni määritetään käyttäen ns. Sandwich ELISA -testiä
- Poikkeuksen muodostavat fermentoidut ja hydrolysoidut elintarvikkeet (olut, tärkkelys jne.), jotka olisi syytä analysoida kompetitiivisella ELISA-testillä
- Mikäli kompetitiivista ELISA -menetelmää käytetään ei-hydrolysoiduille elintarvikkeille, on saatu tulos liian suuri.
- Molempiin testeihin laboratoriomme käyttää samoja antibodyjä (R5 Antibody), jotka ovat Codex alimentariuksen hyväksymiä.

## Laktoosi

- Ionikromatografisesti (HPAEC-PAD; high performance anion exchange chromatography – PAD)
- Entsymaattisesti (laktoosi hydrolysoidaan beta-galaktosidaasi-entsyymillä D-glukoosiksi ja D-galaktoosiksi. Laktoosi määritetään epäsuorasti joko glukoosina tai galaktoosina perustuen hapettumisreaktiossa muodostuvan NADH:n määrään.)
- Tuote laktoositon, jos laktoosia alle 10 mg/100 g (laktoosittomuuden yhteispohjoismainen konsensusraja-arvo),
- Tuote vähälaktoosinen, jos laktoosia tulee vähemmän kuin 1 g/100 g (yhteispohjoismainen konsensusraja-arvo).

## Sulfiitti

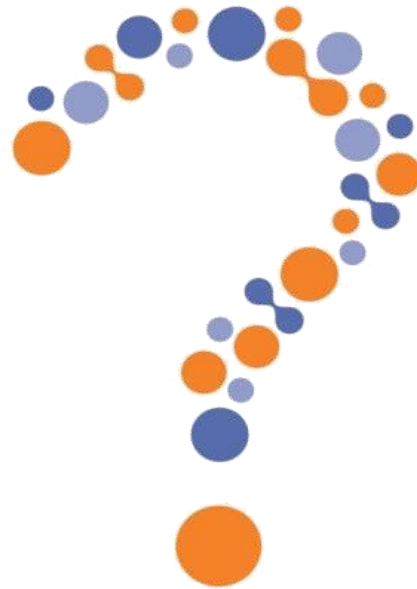
- Entsymaattinen (EN 1988-2) – elintarvikkeet (LOQ 10 mg/kg)
- Monier-Williams (titraus) – ei sovi valkosipulia, kaalia ja inkivääriä (ginger) sisältäville elintarvikkeille (LOQ 5 mg/kg)
- Zonneveld (titraus) – valkosipulia, kaalia, ja inkivääriä sisältäville näytteille (LOQ 5 mg/kg)

- Kaikki EU-allergeenilistassa<sup>1</sup> olevat yhdisteet voidaan analysoida akkreditoidulla menetelmällä.
- Raaka-aineista lopputuotteisiin, niin elintarvikevalmistajille kuin jälleenmyyjillekin
- Laboratoriomme suosittelee ensisijaisesti ELISA-menetelmiä
- Vaihtoehtona myös PCR-menetelmä sekä LC/MS/MS -tekniikkaan perustuva määrittäminen



<sup>1</sup>) Komission direktiivi 2007/68/EY3, Liite III a)

**Kiitos mielenkiinnostanne!**



**LeenaMaanpaa-Pohjonen@eurofins.fi**