

# Glutén kimutatása élelmiszerekből

Takács Krisztina – Gelencsér Éva

## Glutén

A glutén élelmiszerekből történő kimutatása a cöliákiás betegek védelme érdekében elengedhetetlen vizsgálat. A cöliákia patomechanizmusa ugyan nem teljesen ismert, de az eddigi ismereteink szerint tudjuk, hogy a cöliákias betegeknél a glutén fogyasztása vékonybél-nyálkahártya elváltozást okoz. Ez megköveteli az életreszóló gluténmentes diéta betartását, az ún. „zéró-tolerancia” elv követését. Vannak olyan kezelés alatt álló betegek, akiknél már egy morzsa elfogyasztása is súlyos tünetekkel jár, míg vannak olyan kezelt cöliákiás betegek is, akik -egyéntől függően eltérő mennyiségben- tolerálnak egy bizonyos mértékű glutén-fogyasztást. A maximális tolerálható napi gluténbevitelt számos tanulmányban vizsgálták (10 mg, vagy 30 mg), mégsem született meg a végső konklúzió arra vonatkozóan, hogy mennyi az a mennyiség, ami már bélboly elváltozást okoz (Dostálek et al., 2009).

Mivel egyrészt a búzagluténnek széleskörű a felhasználása íz és állományjavítóként különböző élelmiszeripari termékekben (pl. húsokban, édességekben), másrészt a gluténmentes élelmiszer véletlenszerűen kontaminálódhat coeliákia-aktív cereáliákkal betakarítás, szállítás, tárolás vagy feldolgozás során, a coeliákiás betegeknél rendkívül fontossá vált, hogy jobban figyeljenek a biztonságos gluténmentes diétára, a gluténmentes élelmiszerek ellenőrzésére és mindehhez legyen egy megbízható mérési módszer.

Maga a glutén a 41/2009/EK rendelet szerint búzából, rozsból, árpából, zabból és ezek keresztezett változataiból, valamint a származékaiból származó fehérjefrakció, amely nem oldódik vízben és 0,5 M NaCl oldatban. A glutén két frakcióra bontható: prolaminokra és glutelinekre. Búza esetében a glutén fehérjék monomer gliadinokból, és polimer gluteninekből állnak. Együtt a teljes fehérjetartalomnak a 80%-át képezik a magban. A gliadinok 40-70%-os alkoholban -, a gluteninek alkoholban redukáló kondíciók alatt és/vagy hígított savban/lúgban oldódnak. A gliadinok toxikus tulajdonsága jól ismert, közülük is az  $\alpha$ -gliadinok a legtoxikusabbak (Kahlenberg et al., 2006), míg a gluteninek toxikusságáról bizonytalan információkkal rendelkezünk. Számos kutatás történt a toxikusságot előidéző fehérje-szakaszok (epitópok) meghatározására, de eddig még nem sikerült teljesen feltérképezni. Ennek magyarázata búza esetén például az, hogy a búzafajták génjei több mint 50-150 gliadint kódolnak, amelyeket  $\alpha/\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\omega$ -gliadinok csoportjába sorolunk elektromobilitásuk és aminosav-szekvenciájuk alapján. A gluteninek is alacsony molekulatömegű glutenin alegységekre (LMW-GS), és magas molekulatömegű glutenin alegységekre (HMW-GS) csoportosíthatók. Ez a változatosság és az aminosav szekvenciáról való ismereteink hiányossága nehezíti meg a T-sejt által felismert toxikus epitópok kimutatását (Denery-Papini et al., 1999; Lundin et al., 2002).

## Glutén kimutatása analitikai eszközökkel

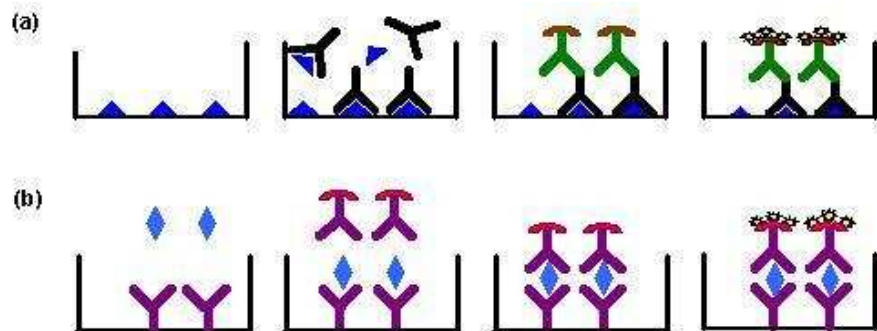
Élelmiszerekből a glutén analitikai eszközökkel kimutatható. A gluténmentes élelmiszerek megengedett gluténtartalma szabályokhoz kötött; a szabályozás évek óta revízió alatt van. Jelenleg a 2009. január 20.-i 41/2009/EK Bizottsági Rendelet fogalmazza meg a lisztérzékenyeknek (cöliákiásoknak) szánt élelmiszerek összetételére és címkézésére vonatkozó szabályokat. Ez alapján a lisztérzékenyeknek szánt élelmiszerek (ha ezek búzából, rozsból, árpából vagy ezek gluténcsökkentés céljából feldolgozott keresztezett változataiból

készült összetevők felhasználásával készülnek) legfeljebb 100 mg/kg glutént tartalmazhatnak. Ezek címkézése, kiserelése és reklámozása során a „rendkívül kis gluténtartalmú” megnevezést kell feltüntetni. A „gluténmentes” megnevezést akkor viselhetik, ha legfeljebb 20 mg/kg glutént tartalmaz az értékesített élelmiszer. Legfeljebb 20 mg/kg glutént tartalmazhatnak azok a cöliákiásoknak szánt élelmiszerek, amelyek búzát, rozst, árpát, zabot vagy ezek keresztezett változatait nem, de őket helyettesítő összetevőket tartalmaznak. Esetükben is a „gluténmentes” megnevezés feltüntethető. A zabot tartalmazó lisztérzékenyeknek készült élelmiszerek készítése vagy feldolgozása közben ügyelni kell arra, hogy ne szennyeződhessenek búzával, rozssal, árpával, vagy ezek keresztezett változataival és glutén tartalmuk legfeljebb 20 mg/kg lehet.

A glutén kimutatására többfajta módszer létezik: mikroszkópos, elektroforetikus, kromatografiás illetve immunológiai. Az élelmiszerekből történő glutén kvantitatív kimutatásának általános követelményrendszere szerint a vizsgálatnak elsősorban fehérje alapúnak, tehát immunológiai módszernek kell lennie. Ha létezik az immunológiai módszerrel azonos érzékenységű és specificitású módszer a nyers és feldolgozott, hőkezelt élelmiszerek kvantitatív mérésére, akkor az is megengedett vizsgálati lehetőség lehet. Ezen kívül az ellenanyagoknak reagálnia kell a toxikus gabonafehérjékkel és nem keresztreakálhatnak más gabonafehérjékkel és egyéb élelmiszer, valamint élelmiszeralkotó komponensével. A módszernek validálnak kell lennie, és ha lehetséges ellenőrzött referencia standarddal szemben, valamint a detektálási határértékének minimum 10 mg glutén/kg-nak kell lennie. A kvalitatív analízis, ami a glutén jelenlétét jelzi ELISA vagy DNS módszerrel történhet (CODEX STAN 118-1979).

A glutén immunológiai alapokon nyugvó kimutatása kétféle módon történhet. A mikrotiter lemezen végzett kimutatás idő- és műszer igényesebb, ugyanakkor kvantitatív és kvalitatív mérést is lehetővé tesz.

Általában kompetitív vagy szendvics ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, enzimmel jelzett immunszorbens vizsgálatok) elven működik



**1. ábra: Kompetitív indirekt ELISA (a) és szendvics ELISA (b) működési elve**

Az ELISA rendszerek úgynevezett kit formájában kerülnek forgalomba, amelyek egy optimalizált rendszert jelentenek, azaz tartalmazzák a vizsgálatához szükséges ellenanyaggal kötött mikrotiterlemezt, a megfelelően hígított vegyszereket, a standard oldatokat, a kontroll mintákat, a mintahígító folyadékot és a lemezmosó folyadékot



**2. ábra: Mikrotiterlemezen végzett ELISA**

A másik egy 5-10 percet igénybevevő, immunkromatográfia elven működő úgynevezett gyorsmódszer, amely a minták monitorozására, kvalitatív mérésre szolgál. Ezek a szűrőmódszerek megmutatják, hogy a megengedett értékhatár fölött vagy alatt van-e a minta glutén koncentrációja. A gyorsmódszerek kvalitatív mérésen kívül alkalmasak fél-



kvantitatív mérésre is. A gyorsteszték különböző kivitelezésben kaphatóak melyek működési elve azonos, de a specificitásuk eltérő lehet.

### 3. ábra: Különböző kivitelezésű glutén mérésre szolgáló gyorsteszték

Míg az ELISA vizsgálatok monoklonális, illetve poliklonális ellenanyagot használnak, addig az immunkromatográfiás gyorsteszték csak monoklonális ellenanyaggal dolgoznak. Főleg laboratóriumokban végzik ezeket a vizsgálatokat, de a gyorstesztéket otthon és/vagy az iparban a technológia különböző lépéseinél, minőség-ellenőrzési feladatoknál is alkalmazhatják.

Ezen tesztek folyamatos fejlesztés alatt állnak, hiszen a cél a minél nagyobb érzékenység, specificitás elérése. Ez nem könnyű feladat, hiszen számos nehézség adódik a glutén kimutatásával kapcsolatban. Kezdetben a prolaminokat látták coeliákia-aktív fehérjéknek, ezzel megmagyarázható, hogy miért a prolaminokat határozta meg a legtöbb ELISA. A kapott érték duplája lett a megbecsült glutén tartalom, amelynek alapja az volt, hogy a prolaminok és a glutelinek hasonló arányban vannak jelen a gluténban. Ezek a rendszerek az összes gliadin frakció ellen termeltetett poliklonális ellenanyaggal mérték. A rendszer hátránya volt, hogy nem volt megfelelően specifikus, mivel keresztreakciót adott a cöliákiasok számára nem-toxikus kukoricával. A későbbiekben egy adott gliadin frakció, a hőstabil  $\omega$ -gliadin frakció (Skerrit & Hill, 1990), majd egy adott prolamin fehérje-szekvencia, az úgynevezett R5 (Mendez et al., 2005) ellen termeltetett monoklonális ellenanyag alapú ELISA rendszereket fejlesztettek glutén detektálására. Ezek a különböző specificitáson alapuló mérési rendszerek a mai napig kereskedelmi forgalomban kaphatók. Ezen ismeretek tudatában felmerülhet a kérdés, hogy a glutén kimutatásával kapcsolatos törvénykezés valóban biztosítékot ad-e a termék tényleges gluténmentességéről. A probléma az volt, hogy a különböző ellenanyag alapú módszerrel kapott eredmények között nagy volt a differencia. Van Eckert és munkatársai (2000) bizonyították, hogy a különböző glutén kittel történő mérés során a glutén tartalom nagymértékben függött a használt ellenanyagtól és a gliadin referencia anyagtól, így a kalibrációs egyenes reproduktív felvételétől. Az azonos elven működő kitek esetében is probléma volt, hogy a gyártó- és forgalmazó cégek is különböző minőségű gliadin preparátumokat használtak kalibrációs standardként. A páciensek és a orvosok is alacsony detektálási határt várnak el, amelyet biztosítani nem könnyű az eredmények nagy variációja miatt. A WGPAT (*Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity*) éppen ezért lépéseket tett, hogy standardizálja a teszteket, biztosítva egy referencia gliadint (PWG-gliadin, *Prolamin Working Group-gliadin*), amelyet 28 európai búzából állítottak elő (Van Eckert et al., 2006).

Ezenkívül a glutén tartalom mérése gliadin meghatározáson alapszik, pedig a glutén oldhatósági alapon történő meghatározásában más gluteninből származó toxikus komponensek is beleérthetők. A kitek eltérően a gliadinok kioldására 40-70%-os etanolos kivonást kínálnak fel, ez sem pontosan leszabályozott. Nem ismert az sem, hogy az alkohol koncentráció milyen hatással van az analitikai jelet szolgáltató immunkémiai és enzimes reakciók lejátszására. Mindemelett a fehérje alapú módszerek másik problémája, hogy a technológiai kezelés gyakran jár hőkezeléssel, melynek során a fehérjék konformáció vesztésével kell számolnunk. Módszertani szempontból ez olyan problémát vet fel, hogy az antigén és az ellenanyag közötti affinitás romlik, ezért a módszer érzékenysége lényegesen csökken. A kitek élelmiszer-mátrix kontrollt sem tartalmaznak, amire a vizsgálati minták eredményeit lehetne vonatkoztatni. Számos probléma utal tehát rá, hogy foglalkozni kell a kimutathatóság nehézségeivel.

Az AOAC (*Association of Analytical Commission*) az  $\omega$ -gliadin alapú ELISA módszert ismeri el, míg a CAC (*Codex Alimentarius Commission*) az R5 alapú ELISA vizsgálatot javasolja. Az AOAC által ajánlott  $\omega$ -gliadin ellenanyag alapú módszer különösen a hőstabil

gliadin frakciók felismerésére irányult, így a glutén a natív élelmiszerek mellett a hőkezelt élelmiszerekből is kimutathatóvá vált. Az  $\omega$ -gliadin típusú ELISA szendvics rendszerben működik, az  $\omega$ -gliadin frakció elleni ellenanyaggal dolgozik és az extrakcióra 40%-os etanol használ. A módszer gyengesége, hogy az  $\omega$ -mobilitású frakció (6-20%) egy aránylag kis részét teszi ki az összes prolamin tartalomnak, mely a különböző gabonafajtákban változhat. Denery-Papini és munkatársai (1999) méréseikkel is bizonyították, hogy az extrapoláció a teljes gliadinra -44% - +80% hibatarományt eredményezett, azaz alá/fölébecsülte a rendszer a gliadin tartalmát. Valdés és munkatársai (2003) az árpa prolaminokra is hibás, negatív eredményeket kaptak. Karneva és munkatársai (2006) zab mintákat szennyeztek adott koncentrációjú árpával, és kísérletük során megállapították, hogy a rendszer nem képes pontosan mérni az árpa prolaminokat. A kis árpa koncentráció esetén etanolos kioldással a valóságnak megfelelő volt az eredmény, de amint nőtt az árpa koncentráció, az eredményt a rendszer alábecsülte. Abban az esetben, amikor extrakciós koktél-oldattal történt a fehérje-kioldás, sokkal magasabb értéket kaptak, mint amennyi valójában a mintában volt. A redukáló/diszaggregáló ágens megnövelte az extrahált fehérjék mennyiségét, amiket az ellenanyag felismert. Ennek ismeretében mondhatjuk, hogy a Skerrit-féle ELISA teszt nem teljesen következetes. Mivel nem egyforma mértékben ismeri fel az árpa és a rozs prolaminokat, a mérések gyakran nem reprodukálhatók. Vizsgálatok bizonyították, hogy a rendszer hidrolizált glutén mérésére nem alkalmas (Immer et al., 2003).

A CAC (*Codex Alimentarius Commission*) a szendvics R5-ELISA-t javasolja (CODEX STAN 118-1979). Az R5-ELISA  $\omega$ -szekalin (rozs prolamin) antigén ellen termeltetett monoklonális R5 ellenanyaggal dolgozik, amely a búza, árpa és rozs prolaminok összes frakcióját egyforma mértékben, ismeri fel a QQPFP pentapeptid és vele homológ szekvenciákon keresztül (QQQFP, LQPFP, QLPFP, ahol a Q: glutamin, P: prolin, F: fenilalanin, L: leucin) (Mendez et al., 2005). Ezek a szekvenciák hőrezisztensek, valamint ismétlődően fordulnak elő a prolaminokban, az  $\alpha$ -típusú prolaminoknál gyakrabban  $\gamma$ -, $\omega$ -típusú prolaminokban (Osman et al., 2001). Osman és munkatársai (2001) megállapították azt is, hogy a legfontosabb követelmény a felismerés tekintetében a pentapeptidben lévő FP dipeptid jelenléte. Ezzel a rendszerrel a glutén szintén kimutatható natív, illetve hőkezelt élelmiszerekből. Az extrahálás könnyítésére úgynevezett extrakciós koktél-oldatok szolgálnak (250 mM 2-merkaptó-etanol, 2 M guanidin hidroklorid koktél PBS-ben) (Garcia et al., 2005), melyekben az alkalmazott redukáló ágensek az immunreakciót bizonyítottan nem zavarják. A kalibrációs egyenest a PWG-gliadin standard-sor biztosítja. Az R5-ELISA hibája, hogy az árpa prolaminokra hibás pozitív eredményt ad (túlbecsül) PWG-gliadin standard használata esetén. Ugyanis búzával szennyezett termékekben az extrakciós koktél-oldat csak a monomer  $\alpha/\beta$ ,  $\gamma$  és  $\omega$ -gliadinokat oldja ki, míg a polimer kis/nagy molekulatömegű glutenin alegységeket (LMW/HMW-GS) nem. A glutén tartalmat a kapott gliadin tartalom értékének kétszeresével (faktor: 2) becsülik általánosságban, pedig ezek aránya 65:35 valójában. Ezzel szemben az árpával kontaminált élelmiszerekben az extrakciós koktél-oldat mindkét frakciót kioldja, azaz a monomer QQPFP-t tartalmazó  $\gamma$ -hordeineket, C hordeineket is, illetve a polimer QQPFP-ben gazdag B-hordeineket is. Az említett okok, illetve a PWG-gliadin standard alkalmazása a magyarázat arra, hogy miért becsüli túl (2,4-2,6-os faktorial szorozva) az R5-ELISA a valóságos árpa szennyezettség mértékét (Thompson et al., 2008). Karneva és munkatársai (2006) R5-ELISA-val zab minták ismert koncentrációkban alkalmazott árpa szennyezettségét mérték. A 60%-os etanolos extrakcióval is, és az extrakciós koktél-oldattal is 7-30x nagyobb hordein (árpa prolamin) tartalmat kaptak, mint ami valójában a mintában volt. Kis hordein koncentráció esetén az etanolos kioldással nagyobb hordein tartalmat mértek, mint az extrakciós koktél-oldattal, majd az árpa mennyiségének növelésével, a hordein tartalom még nagyobb mértékben túlbecsült lett. Hordein standard alkalmazása esetén ellenben a valóságnak megfelelő értéket kaptak a hordein szennyezettségre vonatkozóan

mindkét extrakciós eljárással. Mindemellett R5-ELISA vizsgálatokkal megállapították azt is, hogy az őrlést követő egy heti tárolás után a minták eltérő eredményt adtak az őrlés után rögtön lemert mintákhoz képest, tehát fontos szempontnak tekinthető a helyes mintaelőkészítés megválasztása is. Szintén a rendszer hibájaként hozható fel az is, hogy az R5 ellenanyag szóját is kimutatott. Magyarazatot nehéz rá találni miatt történhetett, de talán annak köszönhető, hogy az FP dipeptid a szójafehérjében is megtalálható. Mivel az FP dipeptid csak két aminosavat tartalmaz, gliadinon kívül sok más fehérjében/peptidben is jelen van, olyanokban is, amelyek cöliákiára nem utalnak (Kanerva et al., 2006). Az  $\omega$ -gliadin alapú szendvics ELISA-hoz hasonlóan a szendvics R5-ELISA sem képes pontosan hidrolizált glutént mérni (Immer et al., 2003). Ennek oka az, hogy a szendvics ELISA rendszerek két fehérje-epitópot (ellenanyagkötő részt) követelnek a vizsgált antigénből, amivel a fehérje hidrolizálódása, illetve részekre szakadása esetén nem biztos, hogy rendelkezik. Éppen ezért a glutén tartalom mérése nem lehet pontos, helyette az egy epitópot is már felismerő kompetitív ELISA ajánlott. Jelenleg ennek fejlesztése, kipróbálása folyik.

A detektálási rendszerek hibája összességében az, hogy (i) nincsenek számításba véve a gabonák prolamin csoportjai közötti különbségek, mivel csak gliadin-standardot biztosítanak a kitekhez, amelyek valójában csak a búza kontamináció kimutatására alkalmasak. Tehát a prolaminok kvantifikálása azon a feltevésen alapszik, hogy a gabonák prolamin frakciói egymáshoz hasonlóak. Ezenkívül (ii) a búza prolaminoknak körülbelül a fele alkoholban oldható, míg a maradék oldhatatlan marad (redukáló ágens hozzáadása nélkül). Ezzel szemben az árpa és a rozs prolaminjai alkoholban teljes mértékben oldhatóak, ami az eredményeket megzavarja. E pontatlanságot megelőzni nehéz, mivel a szennyezés forrása általában nem ismert. A különböző cereáliák prolaminjainak analizéséhez szükség lenne egy jobban illeszkedő referencia anyag használatára, egy megbízhatóbb kimutatási rendszerre, bár ez megkövetelné a szennyezés forrásának ismeretét.

Az eddigi glutén kimutatására készült tesztek a gliadinokra fókuszáltak, és nem a T-sejt stimuláló epitópokra, azaz sem az  $\omega$ -gliadin ellenanyag, sem az R5 ellenanyag nem ismeri fel teljes mértékben az immundomináns gliadin T-sejt stimuláló epitópjait (van den Broeck et al., 2009). Ezt a hibát kiküszöbölve a glutén kimutatásban mérőoldatként számít az új generációs monoklonális G12 antitest kifejlesztése, amely szelektíven a gliadin molekula patogén (immuntoxikus) szakaszát, azaz a coeliákiás betegek esetében az autoimmun válasz kiváltásáért felelős 33-mer elnevezésű (33 aminosavból álló) peptidszekvenciát ismeri fel (Morón et al., 2008). Ez a 33-mer peptidszakasz hat darab T-sejt epitópot tartalmaz.

A G12 ellenanyag alapú rendszer a 33-mer ( $\alpha$ -2 gliadin 57-89 aminosav szekvenciája: LQLQFPQPQLPYQPQLPYQPQLPYQPQPF) egyik peptidrésze (QPQLPY) ellen termeltetett ellenanyaggal dolgozik. Hidrolizált, hőkezelt élelmiszerek mérésére alkalmas. Szóját nem méri, így az R5 ellenanyag alapú mérés hibáját szintén kiküszöböli. Míg a korábbi kimutatási rendszerek zab glutén-tartalmának kimutatására nem voltak specifikusak, addig a G12 antitest a zabban is megtalálható lehetséges toxikus aminosav szekvenciára specifikus. Ez egy sokkal szelektívebb és  $6 \cdot 10^4$ -szer érzékenyebb vizsgálati módszer összehasonlítva az egyéb alkalmazható technikákkal. Még az újdonság erejével hat, így kevés információ áll rendelkezésünkre a gyakorlati használhatóságával kapcsolatban. G12 ellenanyag alapú rendszer kapható immunkromatográfiás teszt formájában és ELISA kitben egyaránt.

Összefoglalva elmondható, hogy a glutén élelmiszerekből történő kimutatása nagyon összetett, és számos problémát magában rejt, amelyek a jövőben feltétlenül megoldásra várnak.

A teljes irodalomjegyzék a szerzőknél, illetve a KÉKI (www.keki.hu) és a MÉTE (www.mete.hu) honlapján megtalálható.

CODEX STAN 118-1979

([http://www.codexalimentarius.net/download/standards/291/cxs\\_118e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/291/cxs_118e.pdf))

*Denery-Papini, S., Nicolas, Y. & Popineau, Y.* (1999): Efficiency and limitations of immunochemical assays for the testing of gluten-free foods. *Journal of Cereal Science*, 30 (2), 121-131.

*Garcia, E., Llorente, M., Hernando, A., Kieffer, R., Wieser, H. & Méndez, E.* (2005): Development of a general procedure for complete extraction of gliadins for heat processed and unheated foods. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 17 (5), 529-539.

*Karneva, P.M., Sontag-Strohm, T.S., Ryöppy, P.H., Alho-Lehto, P. & Salovaara, H.O.* (2006): Analysis of barley contamination in oats using R5 and  $\omega$ -gliadin antibodies. *Journal of Cereal Science*, 44, 347-352.

*Méndez, E., Vela, C., Immer, U. & Janssen, F.W.* (2005): Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 17 (10), 1053-1063.

*Morón, B., Cebolla, Á., Manyani, H., Álvarez-Maqueda, M., Megías, M., del Carmen Thomas, M., López, M. & Sousa, C.* (2008): Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, 405-414.

*Osman, A.A., Uhlig, H.H., Valdes, I., Amin, M., Mendez, E. & Mothes T.* (2001): A monoclonal antibody that recognizes a potential coeliac-toxic repetitive pentapeptide epitope in gliadins. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 13 (10), 1189-1193.

*Skerritt, J.H. & Hill, A.S.* (1990): Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38 (8), 1771-1778.

*Valdés, I., Garcia, E., Llorente, M. & Méndez, E.* (2003): Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 15 (5), 465-474.

*van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P.J., Chirido, F., Denery-Papini, S., Ellis, H.J., Ferranti, P., Goodwin, P., Immer, U., Mamone, G., Méndez, E., Mothes, T., Novalin, S., Osman, A., Rumbo, M., Stern, M., Thorell, L., Whim, A. & Wieser, H.* (2006): Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation. *Journal of Cereal Science*, 43 (3), 331-341.