

# グルテンフリー穀物 食品と飲料, グルテンの検知ー 3

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)<sup>1,2</sup>

竹内 美貴 (TAKEUCHI Miki)<sup>3</sup> 中村 智英子 (NAKAMURA Chieko)<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 神戸女子大学, <sup>2</sup> 日本穀物科学研究会会長, <sup>3</sup> 神戸女子短期大学

Key Words : グルテンフリー セリアック病

本論文「グルテンフリー穀物 食品と飲料, グルテンの検知-3」は, “Gluten-Free Cereal Foods and Beverages” (Edited by E. K.Arendt and F.D.Bello) 2008 by Academic Press (ELSEVIER), の第3章 Detection of gluten by Herbert Wieser の一部を翻訳し紹介するものである。

## 市販の ELISA キット

通常, 利用できるアッセイは, Codex のレギュレーションにとって重要な必須条件であるが, 僅か2-3の進んだ ELISA テスト法のみが市販の試験キットになっている。サンドイッチ ELISA は PAb を用いたものが Riedel-de Haen AG (Seelze, 独; article no.45213) 社から販売されている。抗血清はいろいろな小麦品種から天然のグリアジンと同一品種のグリアジンを加熱変性し, その混合物がウサギの免疫によってつくられた (Weisgerber, 1998)。マイクロタイター板 (ポリスチロール) は PAb でコートされている。検知抗体はホースラデッシュペルオキシダーゼでラベルされており, 基質溶液には tetramethylbenzidine/peroxide を含んでいる。グリアジンスタンダードは, 独小麦 13 品種のミックスを 70% エタノール抽出した物を用いた。マトリックス効果を押さえるために, サンプル抽出物は分析前に 1:5000 に薄める。検知限界は, 100mg グルテン/kg 食品で, 結果的にはグルテンフリー食品の制御 (コントロール) にはあまりに高すぎる。サンプルは1時間で調製し, 2.5 時間内に実験を行なう。

サンドイッチ ELISA は Skeritt and Hill (1990) によって進歩し, いくつかの会社で商品化され, たとえば Cortecs 社 (UK), Transia 社 (France), R-Biopharm 社 (独) である。ω-グリアジンに対し2種の MAb をウェル壁に付着し, 他の抗体はホースラデッシュペルオキシダーゼを結合し, 基質 percarbamide が検知に用いられる。発光体は 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid) (cortecs) あるいは tetramethyl benzidine (Transai, R-Biopharm) である。グリアジンスタンダードは小麦粉品種 Timgalen の 40% エタノール抽出液によってつくられた。サンプルは 40% エタノールで抽出され, 1:100 に希釈することで進められた。検知限界は約 10ng グリアジン/mL であり, 感度は会社から 20-100mg/kg と示された。アッセイはリングテストでうまく行き (Skeritt and Hill, 1991a), Association of Official Analytical Chemists (AOAC) で確認された。サンプル数の分析 (ソバ, 米粉, コーン, 小麦デンプン) は, グリアジンを入れこんだものであるが, しかしながら, 同じ ω-グリアジンに対する MAb をベースにした異なった市販の ELISA キットとはその結

果に大きな違いがあった (Sima ら 1999)。そこで著者が結論にしたのは、キットでは信頼を持って未知サンプル中のグリアジン含量を決めることは不可能であると。

グルテンフリー食事のコンプライアンスを改良するために、家庭用に簡単なプロトタイプの基本試験キットを作った (Skerritt and Hill, 1991b)。食品からは希釈塩酸で抽出し、その抽出液の1ドロップを抗体でコートしたチューブに入れ、酵素ラベルした抗体を加え、3分後、チューブは洗われ発色剤を加える。反応は2分後、硫酸の添加で止まる。家庭用キットは、定量的な実験室用キットと比較すると、定性的一致は非常にある。キットは食品を区別し、グルテンのわずか入った食品 (グルテンフリー食品として認められる) と、もう少し多くグルテンの入ったもの、しかしグルテン含量は受け入れられないもの、とを区別出来た。 $\omega$ -グリアジンに対する MAb の重大な欠点は、このタンパク質タイプの比率は小麦、ライ麦、大麦の貯蔵タンパク質によると比較的 low、強く品種に偏ることである。例えばグリアジンの小麦 16 品種のタイプの重量値は全グリアジンの 6.2-20.0% の範囲を示し、そこでその方法はかなりのシステム的エラーのもとになる (Wieser, *et al.*, 1994)。これはいろいろな小麦品種 (ふつうのもの, durum 小麦, spelt, emmer, einkorn) からのグリアジン区分に基づく研究によってはっきりした (Seilmeier and Wieser, 2003)。計算カーブはグリアジン区分の同一のタンパク質レベルにもとづいたもので、参照キットグリアジンとは大きくちがっており、そのため区分のグリアジン含量は一部、強く下回ったり、あるいは上回ったりする。

サンドイッチ ELISA で R5MAb にもとづくもの (Valdes ら 2003) が R-Biopharm 社 (独), Ingenasa 社 (Spain) から出された。R-Biopharm 社は 4 つの異なったキットをだし (Immer と Lauterbach, 2003), 小麦, ライ麦, 大麦からのプロラミンの検出をした。全てのシステムは、参照グリアジンに適合 (応) され、それ

は van Eckert *et al.*, 2006 にのべられ、2つの抽出方法が提案された (1 g サンプル /10mL); (i) 60% エタノールで正常に抽出, (ii) とくに加熱変性サンプルに対していわゆるカクテル (本誌 2018 Vol.60 No.11 p43 図 3.1) で抽出された。Ridascreen® Test Gjiadin (R7001) は 3 × 300 分インキュベーション時間をすすめ、6個の参照タンパク質濃度, 5ng/mL でスタートするものを供給した。検出限界は、両方のキットで 5-10mg グルテン /mL とわかった。3 番目のテスト, Ride® Quick Gliadin (R7003) は側方流動技術をベースにし, stick をふくむキットによるもので、そこに MAb が固定されている (Garcia *et al.*, 2002)。その stick は希釈サンプル抽出中に入れられ、もしサンプルに適当なプロラミンが入っていれば 5 分後、赤いラインが見える。アッセイは約 10mg グリアジン / kg の感度である。このアッセイはとくに適しているのは綿棒法で、プロラミンのコンタミ用の機械あるいはテーブルのような環境用のもののチェックに対して適している。Stick キット (stick グルテン) は Operon, S.A. (Guarte de Huerva, Zaragoza, Spain) でも売っている。最近、4 番目のテストが R-Biopharm, Ridascreen® Gliadin Competitive (R7011) から紹介された。

このアッセイはプロラミンからくる小ペプチドの検知ができ、とくにプロラミンの部分加水分解されたものですすみ、例えばそれは大麦抽出物, ビール (本誌 2018 Vol.60 No.11) のような物である。Ingenasa 社は 200 の ELISA システムを商品化し、それは R-Biopharm R7001 と R7002 に相当するものであり、Ingezim Gluten (Ranz, *et al.*, 2004), Ingezim SEMIQ (Rang *et al.* 2005) である。2つのキット (Ridascreen Gliadin と Ingerasa Ingezim Glute,) はリングテストに入る (Mendez *et al.*, 2005)。20 の研究所は 12 のコードしたサンプル (グリアジンを添加したあるいはグリアジンのコンタミ) のグリアジン含量の評価の為のコードしたフォームで参加し、各抽出物 3 段階に希釈したものをを用いて 2 回の実験を行なった。両キットで得

られたデータの統計処理は 11-25% の繰り返し性があり, 23-47% の再現性だった。はっきりとグリアジンのなしと含まれたサンプルの間の区別ができた。両キットはグリアジンコンタミの測定が有効であり, そして 3.0mg gluten/kg の感度で保証した。2005 年 R5ELISA は The Codex Committee of Method of Analysis and Sampling (CCMAS) によってタイプ I 法として指示され, そして最近の Draft Revised Codex Standard CL 2006/5-NFSDU (2006) によって推薦された。

### 電子化学センサー

#### (Electrochemical sensors)

最近, Institut für Mikrotechnik Mainz (IMM) が, これは EU プロジェクト CD-CHEF によって設定されたのだが, 食品のグルテン含量 (www.Imm-mainz.de) の測定にチップシステムを発表した。検知のために ELISA のいろいろなフォーマットと酵素リンクさせたオリゴヌクレオチッドアッセイ (ELONA) が生まれ, それでグルテンタンパク質の認知が可能だった。全てのセンサーは平常のものでレセプター分子 (抗体あるいはペプチド) は基質表面に固定する。抗原の結合後, 酵素反応が引き金であり, その結果蛍光あるいは電子化学信号が出る。オペレシエル検知のためにチップがデザインされ, そこでは多くの beam-guiding 成分がまとめられる。2つのエレクトロード (電極) (ワーキング電極として金板, レフェレンス, カウンター電極として Ag/AgCl 層) が, チップ中に電流測定用センサーとしてある。さらに, これらのチップシステムの有用性のために改良研究されねばならない。

### ポリメラーゼ鎖反応

#### (Polymerase chain reaction)

ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) は, 特異的 DNA の決定に基づいている。タンパク質分析と比べ, DNA 分析は感度の点で数オーダーさらに上である。ある DNA 配列の 2-3 分子は  $10^6$ - $10^8$  のファクターで短時間のうちに増強で

きる。PCR は加熱したものにまた応用されたがそれは DNA はタンパク質よりかなり加熱安定であるためだ。最初の PCR のステップは DNA 抽出と加熱であり, それは変性と単一の系に分離をすることが出来る。つづいて, プライマー (ターゲット DNA のあるポーションに対する相応する基本配列をもつオリゴデオキシヌクレオチド) は加えられ, 1本の糸の相応するセグメントとハイブリダイズする。4個のデオキシヌクレオチド 5'-トリフォスフェートとサーモステーブル DNA ポリメラーゼを添加して新しいコンプリメンタリストランド (糸) が合成される。DNA は 20-30 回のステップの繰り返しで増幅され, 電気泳動的に分析される (定量 PCR)。定量 PCR にとってまた "real-time PCR" と呼ばれるが, オリゴデオキシヌクレオチドで蛍光あるいは酵素マーカーでラベルされたものは用いられて, そして定量は蛍光あるいは色の強さで測定される。計算はスタンダード DNA フラグメントで行なわれた。両定性, 定量 PCR は自動的に DNA-Thermal Cycle の測定によって行なわれた。

Switzerland, ベルンの Luthyl のグループは, 初めてグルテン分析に対して PCR を用いた。Allmann, *et al.*: (1993) は高度に保護された真核生物 DNA 配列に対する特異的なプライマーを用いたが, それは PCR 増幅に供して可能であるものである。分離して核酸基質を与えるものである。このアッセイは 35 種異なった食品サンプルをテストし, 大麦添加から加熱加工食品のサンプルまでがある。小麦デンプンは非常に低いグリアジン含量であるが, 強くポジティブに反応し, さらに純粋なグリアジンあるいはグルテンで添加物としたものは検知されなかった。PCR と ELISA (Ridascreen<sup>®</sup> Gluten Kit) は, 小麦を入れたオートサンプルの分析によって比較された (Koppel, *et al.*, 1998)。その結果は次の事を示し, 小麦 PCR システムは ELISA システムより 10 倍感度が高く, 分離された DNA は増幅される事が示された。

定量的コンペテテブ (QC-) PCR システムは,

Dahinden, *et al.*, (2001) によって展開され、小麦、ライ麦、大麦のコンタミの検知に用いられた。このシステムは同時に小麦、ライ麦、大麦 DNA を認知し、それはクロロプラスト *tnL* ジーンの非コーディング域のベースに基づく物である。内部 DNA ストランドは 20bp 添加で元の PCR 生産物につくられる。QC-PCR システムは 15 商業上利用出来るグルテンフリーとラベルされた食品に応用され、ELISA (Ridascreen® Gluten Kit) と比較した。両方法とも殆どの場合同一の結果を示した。そしてグルテンフリー食品のテストに互いにサポート出来る事が提案された。リアルタイム PCR 利用メルテイグカーブ分析による食品の同定は Sandberg, *et al.*: (2003) によってつくられ、食品サンプル中とくに小麦、ライ麦、大麦、オート麦コンタミ区別用に作られた。PCR 法は ELISA と良い相関性があった (Transia Plate Gluten)。ゲル電気泳動を用いた融解曲線分析の有用性は、分析が同じ閉鎖したキャピラリーを増強の為に用いており、このためサンプル間のコンタミの危険性は除去された。Henterich, *et al.*, (2003) は、グリアジン検知用 one-step リアルタイム免疫-PCR を導入した。この技術では、R5MAb はオリゴヌクレオチドと結合する；グリアジン分析の感度は ELISA で達するレベルより 30 倍以上増加する。Mujico, *et al.*: (2004, 2005) は、小麦、ライ麦、大麦 DNA の測定のため 3 つの異なるリアルタイム PCR システムを進歩させた。3 システムの結合で、穀物のタイプの区別のみならず、小麦、ライ麦、大麦のオート麦サンプルへのコンタミの比率も決めた。この研究で示されたデータは殆どのオートサンプルはコンタミであり、主には大麦であった。PCR と R5ELISA の比較で、トウモロコシ粉、未加熱製品サンプルの分析比較は良い相関性があった (Mujiro and Mendez, 2006)。サマリーとして、実質 PUR システムの進歩は、免疫法 (例えば ELISA と Western blot) に対しグルテン分析捕捉的なものとして感度の高い方法である事がわかった。ビール、シロップ、モルト抽出のよう

な加水分解された食品からの DNA はしかしながら PCR システムでは、検知できない。

### マスマスペクトロメトリー

最近 matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) がタンパク質の分子マス決定に重要な方法となって来た。この技術は 1000 から 100000 までのマスの同時測定ができ、そこではクロマト的なピュアリフィケーションはできないが、数分で低ピコモルの範囲で出来る。それは完全なタンパク質のみならず、加水分解されたタンパク質でも分析できる。MALDI-TOF MS は 3 パーツに分かれている；マトリックスへの分析物の結合、レーザーによる分析物のイオン化と脱着、マスマスペクトロメーターによる分析物の分離と検知である。マトリックス (例えば *sinapinic acid*) は適当な揮発性溶剤にとり、分解物と混ぜ、金属板にスポットし、真空中で乾燥する。レーザー光 (殆どパルスを流す窒素レーザーで波長 337nm) は、そのスポットで燃やし、それから、分析物はイオン化し揮発相になる。多くのレーザースポットは、*signal-to-noise* 比 (信号対雑音比) を改良するのに用いられる。

マスマスペクトロメーターのタイプは殆ど MALDI と組み合わせて用いられたのが、TOF マスマスペクトロメーターである。イオンはレーザーで離され、短い高ボルテージのインパルスで強調され、さらにその *mass* (*m*) のチャージ (*z*) に対する比率 (*m/z*) でわけ、イオン化した分解物を空にしたフィールドフリーのドリフトチューブ中を横断させる時間の測定 (*microseconds*) を行なう。重いイオンはより高い物よりもゆっくりとなる。分離したイオンはチューブの端に達し適当なレコーダーによって検知され、シグナルは各イオングループにインパクトする。デジタル化したデータは次々レーザーショットから生まれ合計して TOF マスマスペクトラムを生じる。マドリッドの Mendez のグループは、初めて MALDI-

TOFMS を用いてセリアック毒プロラミンの同定に用いた (Mendez et al 1995)。この技術の高度の回析と感度はグリアジン, セカリン, ホールデン, アベニンのプロトン化した分子マスで用いられ, 解決のための典型的なマスパターンを示した。著者らは, MALDI-TOFMS が食品中のグルテンの同定に有用な新たな技術である事を提案した。サンプル調製は全く簡単であるとわかった (Camefesta, et al., 1997a)。実験はただプロラミンを含むアルコール抽出物を detergent (octyl- $\beta$ -D-glucopyranoside) と適当なマトリックス (sinapinic acid in acetonitrile (30%) /trifluoroacetic acid (0.1%)) と混合するだけである。この混合物の一部はステンレススチールの探りチップ (probe tip) 先端にのせ, 乾燥し, そして MALDI-TOF マススペクトロメーターで測定する。装置は外部から牛血清アルブミン, 馬心臓サイトクローム C の混合物で外部校正された。検出限界は, グリアジンでは 0.01mg/mL 抽出であった。プロラミン抽出物の還元剤利用は MALDI-TOF MS による分析のハンデキャップにはならない。30 種の食品 (小麦パン, 小麦デンプン, グルテンフリー食品) は, MALDI-TOF MS と研究室調製したサンドイッチ ELISA (Camefesta, et al., 1997b) とで同時に分析された。MS 結果は, 4-100mg グリアジン/kg の範囲で直線関係あり, そして ELISA のそれと良い相関性がある。セリアック病, 毒プロラミンの比較では, グリアジン, セカリン, ホールデン, アベニンが特徴的なマスプロフィールを示し, 穀物種の差別ができた (Camefesta, et al., 1998)。

小麦, らい麦, オートムギの異なった品種がほぼ同定され, 一方, 大麦ホールデンは異なった品種で各マスプロフィールが生じた。最近, MALDI-TOF MS はビール中のグルテンによるペプチドを特徴づけることに利用された (Iametti, et al., 2005, 2006), それはサンドイッチ ELISA では検知できなかった。最も相対的な違いはビール中のペプチドの MS プロフィールは低マス域 (<5000) であった。異なった国

でつくられたビールはそれぞれ大きくペプチドのプロフィールが異なるので, このことは各工場での実施はセリアック病ペプチドの存在と定量測定に重要な役割を演じるだろう。著者らは HPLC—MS をつなぐことによってアミノ酸配列の細かな分析をだし, それがセリアック病患者にとって必要な, 性質, 原因, 可能な有毒性を明らかにする必要手段であると提案する。

全体的に MALDI-TOF MS は食品中のグルテンの決定, 定量測定のための免疫学的アプローチに高度の価値のあるものであるということだ。その限界はこの実験道具であり, そのため 2-3 の特別の研究室では分析を行なう事が出来る。この研究所のサービスは免疫法の信頼性をはっきりさせるのに特別に使うべきであり, 選択的疑問サンプルの分析に使うべきである。

### カラムクロマトグラフィー

カラムクロマトグラフィーはずっと穀物タンパク質の特徴づけ, 分離, 定量に使われてきた。特別にはゲル濾過 (GP) クロマトグラフィーは分子量のちがいでわけ, 逆相 (RP) クロマトグラフィーでは異なった疎水性によって分けるが, これらは広く用いられている。HPLC (Kruger and Bietz 1994) の用いたベースは, 分析の時間をかなり短くしたことである (時には 30 分以下)。タンパク質の検知, 定量はカラムから出てくる物を, UV 吸収で行いその範囲は 200-220nm である。この波長では吸収ユニットは高度にタンパク質と相関性ある (Wieser, et al., 1998)。検知限界は約 1-2 $\mu$ g タンパク質である。欠点は, 検知技術はグルテンと非グルテンタンパク質の間の違いを見つけられぬことで, そこで複合食品の分析には使えない。にも関わらず, カラムクロマトグラフィーは利用価値がある。たとえば成分の決定, 対照タンパク質の定量 (Van Eckert et al., 2006) あるいは他の方法の結果の判断に価値がある (Wieser, et al., 1994)。しかしながら, 特別な場合にはカラムクロマトグラフィーはグルテン測定に用いる事が出来る。GP-HPLC の Sephadex 200HR への利

用は、一連の小麦デンプン中のグリアジンと全グルテン両方の定量に用いられ、次のステップの方法によった (Wieser and Antes, 2002) ; 60% エタノール (グリアジン) 10mL で 1g の抽出, あるいは 50% 2-propanol + 還元剤 (全グルテン) での抽出, 遠心分離, 真空遠心で 4mL の上清の乾燥, 500mL 溶出用溶剤中に溶かす, 100-200 $\mu$ L をカラムにうちこみ, UV 吸収は 210 あるいは 205nm の吸収測定。23 デンプンサンプルの分析はグリアジン含量が 15-574 $\mu$ g/kg であった (Mieser and Seilmeire 2003)。平均変異係数 (average coefficient of variation) は 2 サンプルでは  $\pm$ 2.6% であった。グリアジンのグルテニンに対する比率は大きな相違が見られ (0.2-4.9) , それは計算したグリアジン  $\times$  2 = グルテンで Draft Revised Codex Standard による計算とは合わない。

さらに小麦デンプンに加えて、他の生の材料でグルテンフリー食品の生産に用いられるものがテストされた。グルテン測定は本質的にはアップルファイバー、ソバひきわり、スパイスミックス、クルミ、きび、米粉で可能であった。脱脂ミルク、大麦粉では、しかしながら、GP-HPLC 法の正確な測定を邪魔する成分が入っていた。結論的にはカラムクロマトグラフィーは特別な場合にはグルテン分析の別報として使え、他の方法のコントロールになる。

## 結論と今後

小麦グルテンがセリアック病を悪化させるということが認知 (Dicke, 1950) されてから、比較的ゆっくりのプロセスでセリアック病—毒タンパク質の定量的測定に対する方法が進歩して来た。約 30 年がはじめの Codex Standard for Gluten Free Foods 1981 年の出来るまでにかかり、そこでは窒素測定の方法により小麦デンプンの分析のみという制限があった。このスタンダードの改訂は進行中で、the Draft Revised Codex Standard は Codex procedure のステップ 6 の段階である。一般的に大きな問題は、分析物 (グルテンタンパク質) がタンパク質成分及び

毒性の点で不完全な定義であることと、腹立たしい要因はグルテンタンパク質が食品加工中、しばしば変性するかあるいは酵素分解する点である。さらに適当な対照タンパク質の選択が、正確な結果を得るのに重要である点である。多くの分析法が免疫化学、PCR、MS、HPLC を基礎としてこの 25 年間発展してきたが、しかし僅か 2-3 のものが最小の要求性、感度、選択性、正確性、スピード利用性の点で合致したのみである。そこで Draft Revised Codex Standard は 1 つの方法の一般的アウトラインのみだし、免疫化学的なアプローチを薦めている。

ELISA は最もしばしば用いられる免疫測定法であり、異なった試験システムがマーケットに出て、一部リングテストもうまくいっている。サンドイッチ ELISA は Skeritt & Hill (1990) によってすすめられ、そこには加熱安定  $\omega$ -gliadin に対し MAb が含まれていて、長年用いられてきた。

この方法はしかしながら小麦、ライ麦、大麦種、各種の  $\omega$ -タイプタンパク質が各異なった性質のため、システム的なエラーを生じる。さらに最近、サンドイッチ ELISA は MAbR5 を使い、小麦、ライ麦、大麦プロラミンのセリアック病ウイルスエピトープを認知した。検知リミットは 3mg グルテン /kg であり、このテストはオートムギ、非毒性穀物とはクロス反応しない。加熱処理あるいはマトリックス効果から生じる問題は、このアッセイでは解決された。加水分解されたものに対して、修正した競合的 ELISA が提案された。試験キットは PWG グリアジンを対照タンパク質として含み、最近一括使用のために生産された。2005 年に R5 ELISA は the Codex Committee of Methods of Analysis and Sampling (CCMAS) よりタイプ I 法として推奨された。最近の Revised Draft Codex Standard and Proposed method は、完全ではないけれどもそれは Codex Std 118-1981 に比べて重要な進歩を示している。近々では ELISA はグルテン分析に対しての最初の選択をとるが、しかし変法が ELISA の結果をコントロールするのに必要

となるだろう。2点重要な問題が残っている。はじめのものはオート麦のセリアック病毒性の最終的な決定のことである。ここで問題は抗—アベニン抗体及び参照アベニンが試験システムに含まれるかどうかの問題である。2番目のことは、グルテン=2X プロラミンの計算式が根拠がなく、グルテリンに対しプロラミンの比率は強く穀物品種、種類にかかっており、穀物の違いによる加工品中で異なるためである。最近

の研究は、小麦グルテニンがプロラミン同様セリアック病を悪化させる事を示し、相応するライ麦, 大麦からのタンパク質でも有毒であった。しかしながら最近グルテニンに対する一致した抗体も比較タンパク質もない。そこでさらに仕事はプロラミンとグルテリン両方の決定方法を進歩させ、小麦, ライ麦, 大麦, 可能性あるオートムギ貯蔵タンパク質の全タイプを含む対照材料の生産を進めている。

## 参考文献

1. Allmann, M., Candrian, U., Hofelein, C., and Luthy, J.: Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food. *Z. Lebensm. - Wiss. Untersuch. Forsch.* **196**, 248-251. 1993.
2. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. 1984.
3. Untersuchung von Lebensmitteln. Immunologischer Nachweis von Proteinen in Backwaren (einschließlich Brot und blutenfreie Backwaren) und Süßwaren. Wien, Zurich ; Beuth-Verlag GmbH.
4. Anderson, R. P. and Wieser, H.: Medical applications of gluten-composition knowledge. In: Wrigley, C., Bekes, F., and Bushuk, W.: eds, *Gliadin and Glutenin the Unique Balance of wheat Quality*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 387-409. 2006.
5. Arentz-Hansen, H., McAdam, S. N., Molberg, Ø. *et al.*: Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues. *Gastroenterology* **123**, 803-809. 2002.
6. Aubrecht, E. and Toth, A. Investigation of gliadin content of wheat flour by ELISA method. *Acta Aliment.* **24**, 23-29. 1995.
7. Berger, E. and Freudenberg, E.: Bemerkungen über die antigenen Eigenschaften von Abbaustufen des Gliadins. *Ann. Paediatr.* **196**, 238-243. 1961.
8. Bermudo Redondo, M. C., Griffin, P. B., Garzon Rasanz, M., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Monoclonal antibody-based competitive assay for the sensitive detection of coeliac disease toxic prolamins. *Anal. Chim. Acta* **551**, 105-114. 2005.
9. Camafeita, E., Alfonso, P., Acevedo, B., and Mendez, E.: Sample preparation optimization for the analysis of gliadins in food by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **32**, 444-449. 1997a.
10. Camafeita, E., Alfonso, P., Mothes, T., and Mendez, E.: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric micro-analysis: the first on-immunological alternative attempt to quantify gluten gliadins in food samples. *J. Mass Spectrom.* **32**, 940-947. 1997b.
11. Camafeita, E., Solis, J., Alfonso, P., Lopez, A., Sorell, L., and Mendez, E.: Selective identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of different types of gluten in foods made with cereal mixtures. *J. chromatogr. A* **823**, 299-306. 1998.
12. Chirido, F. G., Anon, M. C., and Fossati, C. A.: Optimization of a competitive ELISA with polyclonal antibodies for quantification of prolamins in foods. *Food Agric. Immunol.* **7**, 333-343. 1995.
12. Chirido, F. G., Anon, M. C., and Fossati, C. A.: Development of high-sensitive enzyme immunoassays for gliadins quantification using the streptavidin-biotin amplification system. *Food Agric. Immunol.* **10**, 143-155. 1998.
13. Ciclitira, P. J. and Lennox, E. S.: A radioimmunoassay for  $\alpha$ - and  $\beta$ -gliadins. *Clin. Sci.* **64**, 655-659. 1983.
14. Codex document CX/NFSDU 00/4 Draft revised standard for gluten-free foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome:WHO. 2000.

15. Codex document CL 2006/5-NFSDU. Draft revised for gluten-free foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome:WHO. 2006.
16. Codex Stan 118-1981 Codex Standard for Gluten-Free Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome: WHO; p. 118. 1981.
17. Codex Standard for the Labelling of Prepacked Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. ROME; WHO. 2001.
18. Dahinden, L., von Büren, M., and Lüthy, J.: A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *Eur. Food Res. Technol.* **212**, 228-233. 2001.
19. Denery-Papini, S., Nicolas, T., and Popineau, Y.: Efficiency and limitations of immunochemical assays for the testing of gluten-free foods. *J. Cereal Sci.* **30**, 121-131. 1999.
20. Denery-Papini, S., Boucherie, B., Larré, C. *et al.*: Measurement of raw, heated and modified gluten after limited hydrolysis. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 71-73. 2002.
21. Dewar, D. H., Amato, A., Ellis, H. J. *et al.*: The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 483-491. 2006.
22. Dicke, W. K.: Coeliac disease. Investigation of the harmful effects of certain types of cereals on the patients with coeliac disease. PhD thesis. University of Utrecht. 1950.
23. Dona, V. V., Fossati, C. A., and Chirido, F. G.: Interference of denaturing and reducing agents on gliadin/antibody interaction In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin. Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 51-57. 2004.
24. Ellis, H. J., Doyle, A. P., Wieser, H., Sturgess, R. P., Day, P., and Ciclitira, P. J. Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a sequenced peptide of  $\alpha$  gliadin from the coeliac-activating domain I. *J. Biochem. Biophys. Methods* **28**, 77-82. 1994.
25. Ellis, H. J., Rosen-Bronson, S., O'Reilly, N., and Ciclitira, P. J.: Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a coeliac toxic peptide of gliadin. *Gut* **43**, 190-195. 1998.
26. Ellis, H. J., Pollock, E. L., Engel, W., Fraser, J. S., Rosen-Bronson, S., Wieser, H., and Ciclitira, P. J.: Investigation of putative immunodominant T cell epitopes in coeliac disease, *Gut* **52**, 211-217. 2003.
27. Ellis, H. J., Dewar, D. H., Gonzales-Cinca, N., Wieser, H., O'Sullivan, C., and Ciclitira, P. J.: Production of murine monoclonal antibodies to toxic gluten peptides and proteins, for use in ELISA. In: Stern, M., ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 53-57. 2006.
28. Ellis, H. J., Dewar, D. H., Gonzales-Cinca, N. *et al.*: Characterisation of monoclonal antibodies raised against HMW glutenin subunits In: Stern, M. ed. Proceedings of the 21th Meeting of the Working Group on Prolamin analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, 2007.
29. Ferre, S., Garcia, E., and Mendez, E.: Measurement of hydrolysed gliadins by a competitive ELISA based on monoclonal antibody R5, analysis of syrups and beers, In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 65-69. 2004.
30. Fraser, J. S., Engel, W., Ellis, H. J., *et al.*: Coeliac disease: *in vivo* toxicity of the putative immunodominant epitope. *Gut* **52**, 1698-1702. 2003.
31. Freedman, A. R., Galfre, G., Gal, E., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Monoclonal antibody ELISA to quantitate wheat gliadin contamination in gluten-free foods. *J. Immunol. Methods* **98**, 123-127. 1987.
32. Freedman, A. R., Galfre, G., Gal, E., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Western immunoblotting of cereal proteins with monoclonal antibodies to wheat gliadin to investigate coeliac disease. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **85**, 346-350. 1988.
33. Friis, S. U.: Enzyme-linked immunoabsorbent assay for quantitation of cereal proteins toxic in coeliac disease. *Clin. Chim. Acta* **178**, 261-270. 1988.
34. Fritschy, F., Windemann, H., and Baumgartner, E.: Quantitative determination of wheat gliadins in foods by enzyme-linked immunosorbent assay. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **181**, 379-385. 1985.
35. Galfre, G. and Milstein, C. Preparation of monoclonal antibodies: strategies and procedures. *Methods Enzymol.* **73**, 3-75. 1981.

36. Garcia, E., Hernando, A., Toribio, T., Genzor, C., and Mendez, E.: Test immunochromatographic rapid assay: a rapid, highly sensitive and semi-quantitative test for the detection of gluten in foodstuffs. In: Proceeding of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 55-64. 2002.
37. Garcia, E., Hernando, A., Mujico, J. R., Lombardia, M., and Mendez, E.: Matrix effects in the extraction and detection of gliadins in foods by R5 ELISA and MALDI-TOF mass spectrometry. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 59-64. 2004.
38. Gallrich, C., Schieberle, P., and Wieser, H.: Biochemical characterization and quantification of the storage protein (secalin) types in rye flour. *Cereal Chem.* **80**,102-109. 2003.
39. Henterich, N., Osman, A. A., Mendez, E., and Mothes, T.: Assay of gliadin by real-time immunopolymerase chain reaction. *Nahrung* **47**. 345-348. 2003.
40. Hemando, A., Garcia, F., Llorente, M. *et al.*: Measurements of hydrolysed gliadins in malts, breakfast cereals, heated/hydrolysed foods, whiskies and beers by means of a new competitive R5 ELISA. In: Stern, M. ed. Proceedings of 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 31-37. 2005.
41. Hill, A. S. and Skerritt, J. H.: Determination of gluten in foods using a monoclonal antibody-based competition enzyme immunoassay. *Food Agric. Immunol.* **2**. 21-35. 1990.
42. Iametti, S., Cappelletti, C., Oldani, A., Scafuri, L., and Bonomi, F.: Improved protocols for ELISA determination of gliadin in glucose syrups, *Cereal Chem.* **81**. 15-18. 2004.
43. Iametti, S., Bonomi, F., Ferranti, P., Picariello, G., and Gabrovskva, D.: Characterization of gliadin content in beer by using different approaches. In: Stern, M. ed. 2005.
44. Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity . Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 73-78.
45. Iametti, S., Bonomi, F., Ferranti, P., de Martino, A., and Picariello, G.: Characterization of peptides and proteins in beer by different approaches. 2006.
46. In:Stern, M. ed.: Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 47-52.
47. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: Ridascreen  $\odot$  R/Rida  $\odot$  R gliadin test systes. 2003.
48. In:Stern, M. ed.: Proceedings of the 17th Meeting of the Prolamin Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 45-52.
49. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: The question of extraction procedurs. 2005a.
50. In:Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau:Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.45-52.
51. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: Sandwich ELISA versus competitive ELISA: which approach is the more appropriate? 2005b.
52. In:Stern, M.ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.53-62.
53. Kahlenberg, F., Sanchez, D., Lachmann, I., Tuckova, L., Tlaskalva, H., Mendez, E., and Mothes, T.: Monoclonal antibody R5 for detection of putatively coeliac-toxic gliadin peptides, *Eur. Food Res. Technol.*, **222**, 78-82. 2006.
54. Kasarda, D. D.: Toxic cereal grains in coeliac disease. In: Feighery, C. and O'Farrelly, C. eds. *Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease*. Dublin: Oak Tree Press, pp. 203-220. 1994.
55. Köppel, E., Stadler, M., Lüthy, J., and Hübner, P.: Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzymelinked immunosorbent assay (ELISA). *Z. Lebens, Unters, Forsch.*, **206**. 399-403. 1998.
56. Kruger, E. and Bietz, J. A.: *HPLC-High-Performance Liquid Chromatography of Cereals and Legume Proteins*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. 1994.
57. Laffey, C., Madden, N., Fogarty, T., and Burke, P.: *Gluten testing: an Irish perspective*. 2005.
58. In:Stern, M.ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.63-68.

59. Lewis, J. H. and Wells, H. G.: The immunological properties of alcohol-soluble vegetable proteins. *J. Biol. Chem.* **66**, 37-48. 1925.
60. Malmheden Yman, I.: Detection of gluten/cereals in baby food samples collaborative study. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 65-74. 2006.
61. Marsh, M. N., Morgan, S., Ensari, A., *et al.*: *In vivo* activity of peptides 31-43, 44-55, 56-68 of  $\alpha$ -gliadin in gluten sensitive enteropathy (GSE). *Gastroenterology* **108**. A871. 1995.
62. Mckillop, D. F., Goslin, J. P., Stevens, F. M., and Fottrell, P. F.: Enzyme immunoassay of gliadin in food. *Biochem. Soc. Trans.* **13**, 486-487. 1985.
63. Meier, P., Windemann, H., and Baumgartner, E.: Zur Bestimmung des  $\alpha$ -Gliadin-Gehaltes in glutenhaltigen und 'glutenfreien' erhitzten Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **178**. 361-365. 1984.
64. Mendez, E., Camafeita, E., Sebastian, J. S., *et al.*: Direct identification of wheat gliadins and related cereal prolamins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* (Spec. Issue). S123-S128. 1995.
65. Mendez, E., Vela, C., Immer, U., and Janssen, F. W.: Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *Eur. J. Gastroentero Hepatol.* **17**, 1053-1063. 2005.
66. Molberg, Ø., Solheim, Flaete, N., Jensen, T., *et al.*: Intestinal T-cell responses to high-molecular-weight glutenins in celiac disease. *Gastroenterology* **125**, 337-344. 2003.
67. Morris, B. A. and Clifford, M. N.: Immunoassays in Food Analysis. London; Elsevier Applied Science. 1985.
68. Mujico, J. R., Lombardia, M., and Mendez, E.: Detection of wheat DNA in foods by a quantitative real-time PCR system: can the measurement of wheat DNA be used as a non-immunological and complementary tool in gluten technology? In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.91-98. 2004.
69. Mujico, J. R., Hernando, A., Lombardia, M., *et al.*: Quantification of wheat, barley and rye contamination in oat samples by real-time PCR. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.87-94. 2005.
70. Mujico, J. R. and Mendez, E.: Simultaneous detection/quantification of wheat, barley and rye DNA by a new quantitative real-time PCR system. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 39-45. 2006.
71. Osborne, T. B.: The proteins of the wheat kernel. Publication 84. Carnegie Inst., Washington, DC. 1907.
72. Ranz, A. I., Venteo, A., Vela, C., and Sanz, A.: Ingezim gluten. Immunoenzymatic assay for gluten detection using monoclonal antibody R5. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 37-49. 2004.
73. Ranz, A. I., Venteo, A., Cano, M. J., Vela, C., and Sanz, A.: Development of a new and rapid semiquantitative method for gliadin detection using R5 antibody. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 39-44. 2005.
74. Rumbo, M., Chirido, F. G., Fossati, C. A., and Anon, M. C.: Analysis of the effects of heat treatment on gliadin immunochemical quantification using a panel of anti-prolamin antibodies. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5719-5726. 2001.
75. Sandberg, M., Lundberg, L., Ferm, M., and Malmheden, Yman, I.: Real time PCR for the detection and discrimination of cereal contamination in gluten free foods. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 344-349. 2003.
76. Schofield, J. D., Bottlomey, R. C., Timms, M. F., and Booth, M. R.: The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphhydryl-disulphide interchange reactions. *J. Cereal Sci.* **1**, 241-253. 1983.
77. Seilmeier, W. and Wieser, H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. IV. Reactivity of gliadin fractions and components from different wheat species in a commercial immunoassay. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 360-364. 2003.
78. Shewry, P. R. and Tatham, A. S.: The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem. J.* **267**, 1-12. 1990.
79. Sima, A., van Eckert, R., and Pfannhauser, W.: Vergleich unterschiedlicher kommerzieller ELISA-Testsystem zur

- Bestimmung von Gluten. *Lebensmittelchemie* **53**, 40. 1999.
80. Skerritt, J. H.: A sensitive monoclonal-antibody-based test for gluten detection: quantitative immunoassay, *J. Sci. Food Agric.* **36**, 987-994. 1985.
  81. Skerritt, J. H.: Immunochemistry of cereal grain storage proteins, *Adv. Cereal Sci. Technol.* **9**, 263-338. 1998.
  82. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1771-1778. 1990.
  83. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Enzyme immunoassay for determination of gluten in foods: collaborative study. *J. AOAC* **74**, 257-264. 1991a.
  84. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Self-management of dietary compliance in coeliac disease by means of ELISA "home test" to detect gluten. *Lancet* **337**, 379-382. 1991b.
  85. Skerritt, J. H. and Underwood, P. A.: Specificity characteristics of monoclonal antibodies to wheat grain storage proteins, *Biochem. Biophys. Acta* **874**, 245-254. 1986.
  86. Skerritt, J. H., Devery, J. M., and Hill, A. S.: Chemistry, celiac-toxicity and detection of gluten and related prolamins in foods. *Panminerva Med.* **33**, 65-74. 1991.
  87. Sollid, L. M.: Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat. Rev. Immunol.* **2**, 647-655. 2002.
  88. Sorell, L., Lopez, J. A., Valdes, I., *et al.*: An innovative sandwich ELISA system based on an antibody cocktail for gluten analysis, *FEBS Lett.* **439**, 46-50. 1998.
  89. Spaenij-Dekking, E. H. A., Kooy-Winkelaar, E. M. C., Nieuwenhuizen, W. F., Drijfhout, J. W., and Koning, F.: A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of  $\alpha/\beta$ - and  $\gamma$ -gliadins. *Gut* **53**, 1267-1273. 2004.
  90. Spaenij-Dekking, L., Kooy-Winkelaar, Y., Stepniak, D., Edens, L., and Koning, F.: Detection and degradation of gluten. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 59-64. 2006.
  91. Stern, M., Ciclitira, P. J., van Eckert, R., *et al.*: Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **13**, 741-747. 2001.
  92. Sturgess, R., Day, P., Ellis, H. J.: *et al.*: Wheat peptide challenge in coeliac disease. *Lancet* **334**, 758-761. 1994.
  93. Theobald, K., Bohn, A., Thiel, M., Ulmer, W. T., and König, W.: Production of monoclonal antibodies against wheat flour components. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **72**, 84-86. 1983.
  94. Troncone, R., Vitale, M., Donatiello, A., Farris, E., Rossi, G., and Auricchio, S.: A sandwich enzyme immunoassay for wheat gliadin. *J. Immunol. Methods* **92**, 21-23. 1986.
  95. Vader, W., Kooy, Y., van Veelen, P. *et al.*: The gluten response in children with celiac disease is directed towards multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology* **122**, 1729-1737. 2002.
  96. Valdes, I., Garcia, E., Llorente, M., and Mendez, E.: Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **15**, 465-474. 2003.
  97. Van de Wal, Y., Kooy, Y. M. C., van Veelem, P. *et al.*: Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur. J. Immunol.* **29**, 3133-3139. 1999.
  98. Van Eckert, R.: Methodological and practical experience in gluten analysis. *Ernährung/Nutrition* **17**, 163-165. 1993.
  99. Van Eckert, R., Scharf, M., Wald, T., and Pfannhauser, W.: Determination of proteins with ELISA-methods: doubtful quantitative results? In: Amado, R. and Battaglia, R. eds. Authenticity and Adulteration of Food-the Analytical Approach. Proceedings of the 9th European Conference on Food Chemistry, FECS Event No. 220. Vol. 1. Zürich: Swiss Society of Food and Environmental Chemistry, pp. 263-268. 1997.
  100. Van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P. J. *et al.*: Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation. *J. Cereal Sci.* **43**, 331-341. 2006.
  101. Weisgerber, C.: ELISA for the detection of gliadin in food. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 12th Meeting of the Working Group on Protamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Eigenverlag, p.59. 1998.
  102. Wieser, H.: Cereal protein chemistry. In: Feighery, C. and O'Farrelly, C. eds, *Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease*. Dublin: Oak Free Press, pp. 191-202. 1994.
  103. Wieser, H.: The precipitating factor in celiac disease. In: Howdle, P. D., ed. *Bailliere's Clinical Gastroenterology*,

- Vol. 9: Coeliac Disease. London: Bailliere Tindall, pp. 191-207. 1995.
104. Wieser, H.: Investigating the extractability of gluten proteins from wheat bread in comparison with flour. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **A207**, 128-132. 1998.
105. Wieser, H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. *Eur. Food Res. Technol.* **211**, 262-268. 2000.
106. Wieser, H. and Antes, S.: Development of a non-immunochemical method for the quantitative determination of gluten in wheat starch. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.19-23. 2002.
107. Wieser, H. and Kieffer, R.: Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a microscale. *J. Cereal Sci.* **34**, 19-27. 2001.
108. Wieser, H. and Seilmeier, W.: Determination of gliadin and gluten in wheat starch by means of alcohol extraction and gel permeation chromatography. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 17th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.53-57. 2003.
109. Wieser, H., Belitz, H.-D., Idar, D., and Ashkenazi, A.: Coeliac activity of the gliadin peptides CT-1 and CT-2. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **182**, 115-117. 1986.
110. Wieser, H., Seilmeier, W., and Belitz, H.-D.: Quantitative determination of gliadin subgroups from different wheat cultivars. *J. Cereal Sci.* **19**, 149-155. 1994.
111. Wieser, H., Antes, S., and Seilmeier, W.: Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* **75**, 644-650. 1998.
112. Wieser, H., Bushuk, W., and MacRitchie, F.: The polymeric glutenins. In: Wrigley, C., Bekes, F., and Bushuk, W. eds. Gliadin and Glutenin: the Unique Balance of Wheat Quality. St. Paul. MN: American Association of Cereal Chemists. pp. 231-240. 2006.
113. Windemann, H., Fritschy, F., and Baumgarmer, E.: Enzyme-linked immuno sorbent assay for wheat  $\alpha$ -gliadin and whole gliadin. *Biochim. Biophys. Acta* **709**, 110-121. 1982.
114. Wrigley, C., Corke, H., and Walker, C. E.: Encyclopedia of Grain Science. Vol.1-3. Amsterdam: Elsevier Academic Press. 2004.