

BUGYI Zsuzsanna^{1*}, MUSKOVICS Gabriella¹, SCHALL Eszter¹, TÖRÖK Kitti¹, HAJAS Lívია¹, Katharina SCHERF², Majlinda XHAFAJ², Peter KOEHLER³, Regine SCHOENLECHNER⁴, Stefano D'AMICO⁵, Roland POMS⁶, TÖMÖSKÖZI Sándor¹

DOI: <https://doi.org/10.52091/EVIK-2022/4-4-HUN>

Érkezett: 2022. október – Elfogadva: 2022. december

Klasszikus témák új megvilágításban: a glutén mint speciális élelmiszerbiztonsági és analitikai kihívás

Kulcsszavak: glutén, cöliákia, immunanalitika, validálás, referencia anyag

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A glutén, vagy siker fehérjék táplálkozás-élettani szerepe és megítélése az utóbbi évtizedekben kettőssé vált. A glutén fehérjék egyrészt központi szerepet töltenek be a búza és más gabonák sítőipari minőségének kialakításában. Másrészt azonban egyre inkább előtérbe kerülnek olyan túlérzékenységi reakciók, melyeket szintén a glutén fehérjék váltanak ki az arra érzékeny populációban. A glutén által okozott rendellenességek közül 1% körüli globális előfordulásával az egyik legjelentősebb a lisztérzékenység, vagy más néven cöliákia, mely a vékonybél bolyhainak sorvadásával járó autoimmun betegség. A tünetek széles skáláját okozhatja, jelenleg egyetlen ismert kezelési módja az élethosszig tartó gluténmentes diéta. A diéta betartásának elősegítésére a jelenleg érvényes EU szabályozás 20 mg/kg-ban maximalizálja a gluténmentesként értékesíthető termékek gluténtartalmát. Ez pedig szükségessé teszi a glutén mennyiségének minél pontosabb meghatározását ebben az alacsony koncentráció-tartományban. A meghatározás rutinmódszere az immunanalitikai elven működő ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). A különböző ELISA módszerek validálása és eredményeik összehasonlíthatósága, vagyis az általuk szolgáltatott adatok megbízhatósága azonban problémát jelent. Cikkünk fő célkitűzése az ennek hátterében álló analitikai és fehérjekémiai kérdések, valamint a módszertan feltételrendszerének javítását célzó törekvések bemutatása. Emellett kitérünk a zab gluténmentes diétában betöltött különleges szerepére is, így kísérelve meg minél szélesebb körben rálátást nyújtani a glutén által képviselt élelmiszerbiztonsági és analitikai kihívásokra.

- ¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Gabonatudományi és Élelmiszermínőség Kutatócsoport, Magyarország
- ² Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Applied Biosciences, Department of Bioactive and Functional Food Chemistry, Németország
- ³ Biotask AG, Németország
- ⁴ University of Natural Resources and Life Sciences, Ausztria
- ⁵ AGES, Ausztria
- ⁶ MoniQA Association

BUGYI Zsuzsanna
MUSKOVICS Gabriella
SCHALL Eszter
TÖRÖK Kitti
HAJAS Lívია
Katharina SCHERF
Majlinda XHAFAJ
Peter KOEHLER
Regine SCHOENLECHNER
Stefano D'AMICO
Roland POMS
TÖMÖSKÖZI Sándor

bugyi.zsuzsanna@vbk.bme.hu
gabriella.muskovics@edu.bme.hu
schall.eszter@vbk.bme.hu
ktorok@gmail.com
hajas.livia@gmail.com
katharina.scherf@kit.edu
majlinda.xhaferaj@kit.edu
-
regine.schoenlechner@boku.ac.at
-
-
tomoskozi.sandor@vbk.bme.hu

<https://orcid.org/0000-0003-4040-087X>
<https://orcid.org/0000-0002-3528-8396>
<https://orcid.org/0000-0003-1660-8195>
<https://orcid.org/0000-0002-7045-0053>
<https://orcid.org/0000-0002-0288-313X>
<https://orcid.org/0000-0001-8315-5400>
<https://orcid.org/0000-0001-8473-253X>
<https://orcid.org/0000-0001-7766-9181>
<https://orcid.org/0000-0002-2014-7187>
<https://orcid.org/0000-0002-6702-7158>
-
<https://orcid.org/0000-0002-3444-8423>

2. Bevezetés

A búza és más gabonák, mint pl. a rozs, az árpa és a zab régóta az emberi étrend alapélelmiszerei közé tartoznak, mivel jelentősen hozzájárulnak a napi energia-, fehérje- és rostbevitelhez, emellett kiváló forrásai számos vitaminnak és bioaktív fitokemikáliának [1]. A búzában, rozsban és árpában (valamint keresztezett változataikban, pl. tritikáléban) található, összefoglaló néven gluténnek (sikérnek) nevezett fehérjefrakció központi szerepet tölt be ezen gabonák sütőipari minőségének kialakításában [2]. Ugyanakkor ezek a fehérjék (bizonyos esetekben más típusú fehérjékkel együtt) különböző túlérzékenységi reakciókat váltanak ki az arra érzékeny egyéneknél. Ezek közül, 1%-os becsült globális prevalenciájával, a legjelentősebb a lisztérzékenység vagy cöliákia. A cöliákia krónikus autoimmun betegség, mely genetikailag fogékony emberekben alakul ki glutén fogyasztásakor. A vékonybél gyulladásának és a bélbolyhok sorvadásának eredményeként a betegség tünetek széles körében nyilvánul meg, mint pl. felszívódási zavar miatti hiányállapotok, vérszegénység, gasztrointesztinális és egyéb atipikus jelenségek (pl. neurológiai zavarok, meddőség, stb.). Jelenleg a cöliákia nem gyógyítható, egyetlen kezelési módja az élethosszig tartó gluténmentes diéta [3, 4].

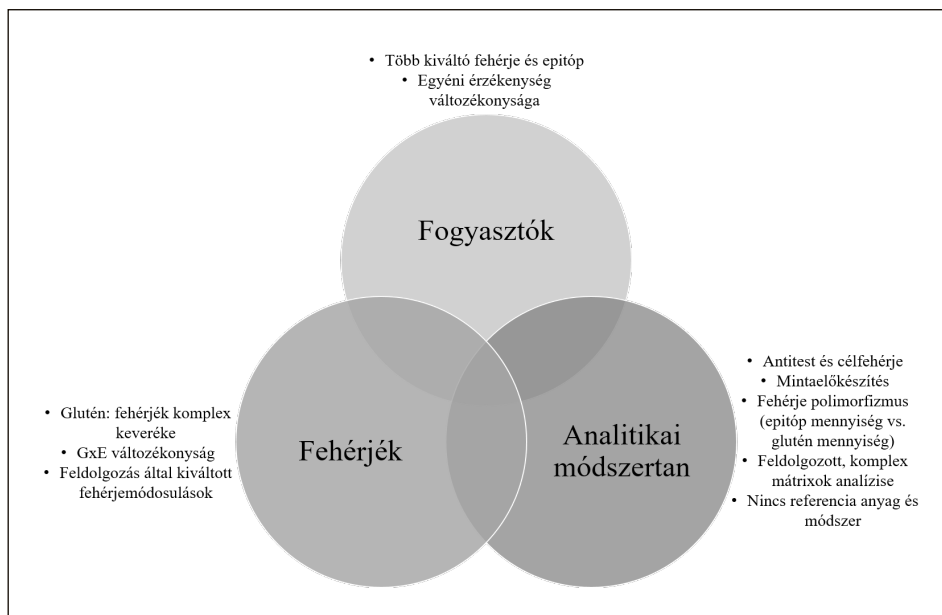
A diéta betartásának elősegítésére az élelmiszergyártók kötelesek jelölni termékeiken a glutén jelenlétét vagy annak hiányát, amennyiben a terméket kifejezetten a cöliakiás fogyasztók speciális igényeinek kielégítése érdekében hozták létre. A jelenlegi EU jogszabályok értelmében, a Codex Alimentarius ajánlásával összhangban, azok a termékek tekinthetők gluténmentesnek, melyek gluténtartalma legfeljebb 20 mg/kg [5, 6, 7]. A jogszabály szerint a glutén az alábbi definícióval írható le: „búzában, rozsban, árpában, zabban és ezek keresztezett változataiban, valamint származékaiban megtalálható fehérjefrakció, amellyel szemben bizonyos személyek intoleranciát mutatnak, és amely vízben és 0,5 M nátrium-klorid-oldatban egyaránt oldhatatlan” [6]. Ez a meghatározás azonban nem tükrözi hűen a glutén rendkívül összetett természetét. Ez a komplexitás egyrészt a glutént alkotó fehérjefrakciók magas számára, másrészt a genetikai és környezeti faktorokból eredő változékonyságra vezethető vissza. A glutén két fő alkotóelem-csoportját az alkohololdható prolaminok (búza gliadinok, rozs szekalinok, árpa hordeinek és zab aveninek), valamint az alkoholban oldhatatlan glutelinek (búzában: gluteninek) képzik. Míg a gliadinok monomer fehérjék, a glutelinek nagyméretű, aggregált biopolimerek [2, 8, 9]. Mindkét fehérjecsoportban azonosítottak különböző mértékű immunogénitással rendelkező cöliákia-toxikus epitópokat, a legmagasabb toxicitást egyes gliadin epitópok mutatják. In vitro és in silico módszerek segítségével igen nagyszámú potenciálisan toxikus epitóp azonosítható, de a betegekben kiváltott immunreakciók 90%-áért mindössze néhány, ún. immundomináns epitóp tehető felelőssé. A toxicitás becslését az epitópok nagy száma mellett tovább nehezíti, hogy azok mennyisége egy gabonafajon belül és gabonafajok között is változékonyságot mutat [10, 11, 12].

Annak ellenőrzésére, hogy a gluténmentesként értékesített termékek megfelelnek-e a jogszabályban rögzített 20 mg/kg-os glutén határértéknek, olyan analitikai módszerekre van szükség, melyek képesek pontos és megbízható mennyiségi meghatározásra ilyen alacsony koncentráció-tartományban is. A feladat megoldásához különböző módszerek érhetőek el, mint pl. a PCR (polimeráz-láncreakció) vagy tömegspektrométerrel kapcsolt folyadékromatográfiás eljárások. Rutinmódszerként azonban a specifikus antigén-antitest komplex kialakulásán és detektálásán alapuló ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) terjedt el. A módszer előnyei közé tartozik a specifikusság, a megfelelő érzékenység, az egyszerű kivitelezhetőség és a relatív alacsony költség. Bár a glutén meghatározásnak nincs referencia módszere, a Codex Alimentarius is az ELISA-t jelöli meg, mint a glutén mennyiségi meghatározásának ajánlott módszerét [5, 13].

Referencia módszer hiányában a piacon egyre több glutén ELISA kit jelent meg, és a módszer térhódításával párhuzamosan több olyan tanulmány látott napvilágot, mely arra hívta fel a figyelmet, hogy a különböző ELISA módszerek eltérő eredményeket szolgáltathatnak ugyanazon minta analízise során. Ez fontos kérdéseket vet fel a módszerek megbízhatóságával kapcsolatban [14, 15, 16].

3. A gluténanalitika specifikus problémái

A glutén ELISA-k eredményeinek változékonysága mögött több, egymással összefüggő, a módszerfejlesztést és -validálást jelentősen befolyásoló tényező áll, melyeket az **1. ábra** szemléltet.



1. ábra. A glutén mennyiségi meghatározását befolyásoló tényezők (saját szerkesztés)

A probléma gyökere részben a cöliákia patomechanizmusára és a glutén fehérjék komplexitására vezethető vissza. Mint a bevezetőben leírtuk, a cöliákiát számos glutén fehérje alegységen elhelyezkedő sokféle epitóp kiválthatja. Ezeknek az epitópoknak a különböző gabona fajokban és fajtákban megjelenő mennyisége erősen függ genetikai és környezeti tényezőktől. Részben ez az oka a referencia módszerek és referencia anyagok hiányának, ami nagyban megnehezíti a módszerek fejlesztését és érvényesítését. Ezek együttesen vezetnek az analitikai módszerek változékonyságához, mely végül az analitikai eredményekben megfigyelt eltérésekben csúcsonyul ki. A módszertani változékonyság főbb elemei az alkalmazott antitestek és célepitópok, a mintaelőkészítési lépések, valamint a kalibráló anyagok különbségei. Mindezek mellett nem szabad megfeledkezni az összetett mátrixok és az élelmiszer-feldolgozási folyamatok fehérjeszerkezetre és -oldhatóságra gyakorolt hatásáról sem, melyek a fehérjék extrahálhatóságának és immunaffinitásának módosításán keresztül tovább növelhetik a mérések bizonytalanságát. A tapasztalt nehézségek minél hatékonyabb kiküszöbölése érdekében a gluténanalitika módszertanának harmonizálása halaszthatatlan feladat, egyik kulcseleme pedig megfelelő referencia anyagok fejlesztése [17, 18, 19, 20, 21].

4. Referencia anyag fejlesztési törekvések a glutén mennyiségi meghatározásához

A glutén referencia anyag fejlesztésének kérdése több mint 20 éve foglalkoztatja a terület kutatóit, de általánosan elfogadott, tanúsítással rendelkező referencia anyag egyelőre nem áll rendelkezésre [17, 22]. A referencia anyag fejlesztés egyik legfontosabb mérföldköve az ún. PWG (Prolamin Working Group)-gliadin kidolgozása volt. A PWG-gliadint a 28 leggyakoribb európai búzafajta keverékéből készült lisztből izolálták, az anyag nagy tisztaságú és igen jól karakterizált, a mai napig előszeretettel alkalmazzák glutén ELISA kitek kalibráló anyagaként. Tanúsított referencia anyag státuszt azonban nem tudott megszerezni, mivel kétségek merültek fel előállításának reprodukálhatóságával és hosszútávú elérhetőségével kapcsolatban [17, 23].

A referencia anyag fejlesztési munkába kutatócsoportunk 2008-ban, az EU 6. Keretprogramjában zajló MoniQA Kiválóságshálózat (FOOD-CT-2006-036337) Allergén Munkacsoportjának tagjaként kapcsolódott be. Munkánk első fázisában olyan referencia anyag jelöltet állítottunk elő, mely ismert mennyiségű glutént feldolgozott élelmiszer-mátrixban tartalmaz (2. ábra). Gluténforrásként a már említett PWG-gliadint alkalmaztuk [24, 25]. Ezt az anyagot a későbbiekben felhasználtuk számos olyan kísérlethez, melyek segítségével igyekeztünk azonosítani azokat a tényezőket, melyek hibaforrást jelentenek az ELISA mérések során és hozzájárulnak az analitikai bizonytalansághoz [14, 19, 26, 27, 28].



2. ábra. A glutén referencia anyag jelölt modelltermék

Azonban, a PWG-gliadin hátrányaival kapcsolatos felvetések kapcsán a MoniQA Kiválóság-hálózat jogutódja, a MoniQA Association (<https://www.moniqa.org>) keretein belül továbbra is nemzetközi formában működő, a kutatócsoportunk által koordinált Referencia Anyag Munkacsoportban felmerült az igény egy új referencia anyag fejlesztésére. A Munkacsoport úgy határozott, hogy teljesen előlről, az alapoktól indulva gondolja újra a glutén referencia anyag fejlesztés problémakörét. Ehhez két alapvető kérdésre kerestük a választ. Az egyik, hogy a genetikai és környezeti változékonyság figyelembevételével melyik búzafajta vagy -fajták a legígéretesebbek egy globális mintapopuláció megfelelő reprezentálására. A másik pedig, hogy a glutént liszt, glutén izolátum vagy gliadin izolátum formájában tartalmazza-e az új referencia anyag. Ezen kérdések megválaszolására a Munkacsoport több kontinens számos országából összegyűjtött 23 köztermesztésben lévő búzafajtát, melyeket komplex analitikai módszertan (beltartalmi paraméterek, többféle glutén ELISA, elválasztástechnikai módszerek) alkalmazásával részletes jellemzésnek vetett alá. Az eredmények alapján egy olyan, kvalitatív és kvantitatív elemekre épülő kritériumrendszer jött létre, melynek segítségével kiválasztottunk 5 olyan búzafajtát, melyet alkalmasnak ítéltünk referencia anyagként történő felhasználásra [29, 30]. Ezt követően az 5 fajtából és keverékekből készített liszteket, glutén és gliadin izolátumokat vizsgáltuk meg fehérje-összetétel szempontjából, mely során jelentős eltéréseket nem tapasztaltunk. Így a munka konklúziójaként az 5 fajta keverékéből készült lisztet választottuk, mint új glutén referencia anyag. Alkalmazása mellett szól, hogy előállítása egyszerű, félüzemi léptékben is minőségi változás nélkül megvalósítható, és a gliadinok mellett minden egyéb fehérjetípust is tartalmaz [31, 32]. Ez különösen előnyös abból a szempontból, hogy a glutén ELISA módszerekkel szemben megfogalmazott egyik kritikai észrevétel, hogy többnyire gliadin egységben adják meg eredményeiket, melyeket egy kétszeres szorzó alkalmazásával váltanak át glutén egységre. Ez az eljárás abból a feltételezésből indul ki, hogy a gluténban a prolamin/glutelin arány 1:1. Azonban egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy ez az arány ettől jelentősen eltérhet, mely pontatlanságot okozhat az eredmények megadásakor [33]. Részben ennek köszönhetően a legújabb módszerfejlesztések is abba az irányba haladnak, hogy egyidőben több antitest alkalmazásával ne csak prolaminokat, hanem glutelineket is detektáljanak [34]. Ehhez a megközelítéshez pedig jól alkalmazható a liszt referencia anyag, mely a MoniQA Association égisze alatt elérhető analitikai hasznosításra.

A búza esetében tehát jelentősnek mondható előrelépések történtek a referencia anyag fejlesztés területén. Ugyanakkor a búza mellett a rozs és az árpa is igazoltan kiváltják a cöliákiát. Bár ezekről a gabonákról ebben a kontextusban jóval kevesebb információ áll rendelkezésre, az eddig ezen a területen született kutatások rámutatnak, hogy a glutén antitestek eltérő affinitással rendelkeznek a rozs és az árpa prolaminok felé. Ez végső soron a rozs vagy árpa kontaminációt tartalmazó minták gluténtartalmának alá- vagy túlbecsléséhez vezethet, ami felveti az igényt olyan új referencia anyagokra, melyeket kifejezetten rozsra és árpára fejlesztettek ki [35, 36].

Ezt az igényt felismerve nemzetközi kutatócsoportunk jelenleg azon dolgozik, hogy a fentebb búzára bemutatott kísérleteket és fejlesztő munkát megismételje rozs és árpa esetében is. Az eddig elvégzett munka során megtörtént egy több mint 120 árpa- és több mint 50 rozsmintából álló nemzetközi mintaszortiment begyűjtése és elsődleges analízise beltartalmi paraméterek, ELISA-val meghatározott gluténtartalom, és elválasztástechnikai módszerekkel meghatározott fehérjetartalom és -összetétel szempontjából. Az eredmények alapján ebben az esetben is szelektációs kritériumrendszert állítottunk fel.

Az ennek segítségével kiválasztott 7 rozs és 8 árpa fajta további vizsgálatai jelenleg zajlanak [publikáció folyamatban]. A munka várt kimenetele új rozs és árpa referencia anyagok létrehozása, melyek önállóan, vagy egymással és a búza referencia anyaggal kombinálva alkalmasak lehetnek a gluténanalitika feltételrendszerének javításához.

5. Egy rövid, de lényeges kitérő: zab és a gluténmentes diéta

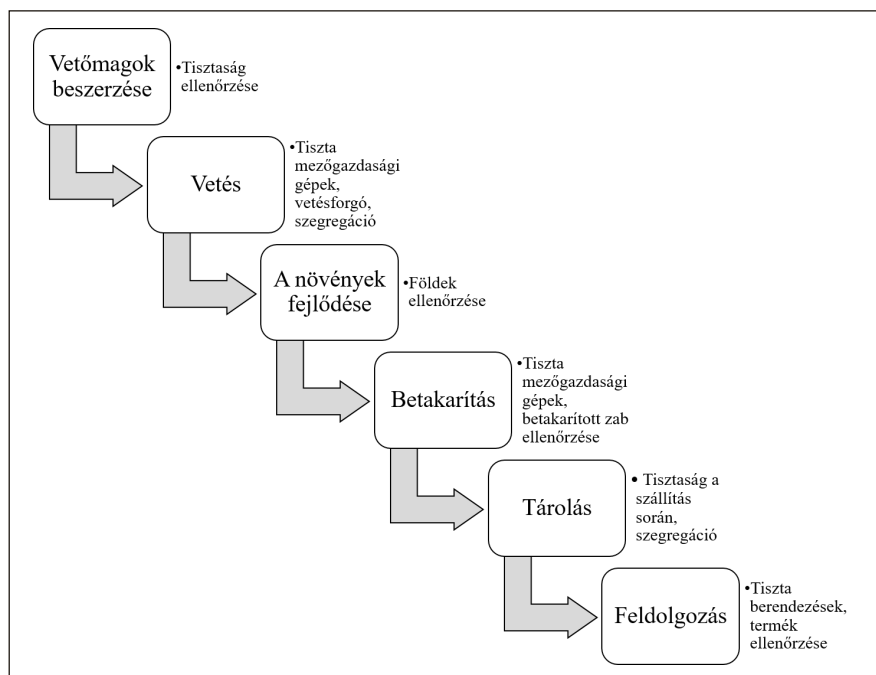
A korábbi fejezetekben sok szó esett a búzát, rozst és árpát érintő analitikai kérdésekről. Ugyanakkor a cöliákia kontextusában nem feledkezhetünk meg a zabról sem, melynek gluténmentes diétában betöltött szerepe régóta tartó szakmai vita tárgyát képezi. A gondatlanul összeállított gluténmentes diéta olyan táplálkozásélettani hátrányokkal járhat, mint a csökkent rost-, vitamin- és ásványianyag-bevitel, valamint a megnövekedett telített zsírsav bevitel és magasabb glikémiás terhelés [37]. Ezen hátrányok kiegyensúlyozásának kiváló eszköze lehetne a zab magas rost- és antioxidáns- és relatív magas telítetlen zsírsav-tartalmával [38].

A zabot alapvetően biztonságosként tartják számon a cöliakiás betegek számára, mivel a búzánál jelentősen kevesebb prolaminot tartalmaz, és a búza analóg fehérjéivel ellentétben a zab aveninek kevésbé állnak ellen az emésztőenzimeknek [39]. A zab cöliákia kiváltásában betöltött szerepére irányuló klinikai vizsgálatok túlnyomó többsége is arra a következtetésre jutott, hogy mérsékelt mennyiségben (gyerekeknek 20-25 g/nap, felnőtteknek 50-70 g/nap) a zabfogyasztás biztonságos remisszióban lévő cöliakiás betegek számára [40, 41]. Ugyanakkor néhány más klinikai tanulmány következtetése az, hogy bizonyos esetekben a zabfogyasztás kockázatot jelenthet a cöliakiás fogyasztók számára, és bár kis számban, de azonosítottak olyan zab avenin epitópokat, melyek kiválthatják a betegséget. Fontos továbbá, hogy a zab esetében is jelentős genetikai-környezeti változékonyság figyelhető meg, mely befolyásolhatja a potenciálisan toxikus epitópok jelenlétét, vagyis fontossá válik annak ellenőrzése, hogy a toxikus epitópok mely zabfajtákban vannak jelen és milyen mértékben [42, 43, 44, 45].

Ezt a kettősséget tükrözi a nemzetközi jogi szabályozás is. Míg Ausztrália és Új-Zéland kifejezetten tiltja a zab gluténmentes diétában történő alkalmazását [46], addig az EU-ban, az Egyesült Államokban és Kanadában engedélyezik a speciálisan cöliakiások számára készült ún. tiszta zab („pure oats”) bevezetését a diétába [6, 47, 48]. A tiszta zab előállításának kérdése kardinális jelentőségű, ugyanis különböző vizsgálatok rámutattak, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható zabtermékek 13-88 %-a szennyezett gluténnal különböző mértékben. A kontamináció az előállítási lánc bármely pontján bekövetkezhet [49, 50].

A tiszta zab előállítása tehát igen nagy körültekintést igényel, és két pillérre épül. Egyrészt gondoskodni kell arról, hogy a vetőmagként használt zabfajta ne tartalmazzon toxikus epitópokat, mely szükségessé teszi a zabfajták előszűrését és az erre alkalmas analitikai módszertan kidolgozását [51]. Az erre irányuló munkákban az utóbbi években kutatócsoportunk is részt vett [52, 53]. Másrészt biztosítani kell a glutén kontamináció elkerülését a teljes előállítási folyamat során. Ez komoly erőfeszítéseket igényel és olyan speciális protokollok betartását, melyek célja, hogy teljesen kiküszöböljék a gluténnal való szennyeződés lehetőségét (pl. vetőmagok tisztaságának biztosítása, termőföld parcellák közötti biztonsági sáv, kifejezetten csak erre a célra használt gépek, eszközök, elkülönített tárolás és feldolgozás, stb.) (3. ábra) [54]. A nemkívánatos glutén jelenlétének zabban történő kimutatása újabb analitikai kihívások elé állít minket. Bár az R5 antitesttel működő ELISA tesztek jó eszközök erre a célra, mivel zab fehérjékkel nem keresztreakálnak, míg búzával, rozssal és árpával igen (a fentebb bemutatott korlátok figyelembevételével), a zab esetében külön nehézséget jelent, hogy már néhány, egyéb gabonából származó maggal való szennyeződés is problémát okozhat. Hogy ennek a kockázatát minimálisra csökkentsék, kifejezetten tiszta zabok vizsgálatára tervezett speciális mintavételezési protokollokat hoztak létre [55, 56].

A zab gluténmentes diétában betöltött szerepe tehát a mai napig vitatott. Bár a zabfogyasztás táplálkozási előnyei egyértelműek, a zabok biztonságosságának tisztázása további klinikai vizsgálatokat igényel. Emellett tovább kell fejleszteni a tiszta zabok előállításának metódusait is, valamint a kapcsolódó analitikai módszereket.



3. ábra. A tiszta zab előállítási protokoll főbb lépései [57]

6. Összefoglalás

A glutén (sikér) fehérjék a gabonafogyasztás révén évezredek óta táplálkozásunk részét képezik, rendkívül fontos szerepet töltenek be számos alapélelmiszer minőségének kialakításában, így méltán szerepelnek hosszú ideje a gabonatudományi kutatások középpontjában. Az utóbbi években-évtizedekben azonban egy másik szerepük is előtérbe került azáltal, hogy olyan betegségekkel való kapcsolatuk bizonyosodott be, mint többek között a cöliákia, a nem-cöliakiás glutén-érzékenység vagy a búzaallergia. Cikkünkben a gluténmentes diétával kezelhető kórállapotok, elsősorban a cöliákia szempontjából kívántuk szemléltetni a glutén által képviselt speciális élelmiszerbiztonsági problémát és analitikai kihívásokat.

Látható, hogy bár az analitikai módszerek viszonylag széles repertoárjával rendelkezünk, nagyon fontos ismerni a módszerek nyújtotta lehetőségeket és a jelentkező korlátokat, különösen a rutinmódszerek számító ELISA esetében. Utóbbiak egy része a fehérjekémiai, immunológiai, klinikai ismeretek fejlődésével legalább részben kiküszöbölhető vagy javítható, ami indokolja a cikkben vázolt kutatási irányok folytatását. Más részük viszont a módszertan veleszületett adottságai miatt bizonyos szinten mindig jelen lesz, ami szükségessé teszi új módszertani megoldások létrehozását, melyre jó példa a proteomikai módszerek gyors fejlődése [58].

Végeredményben a glutén, mint élelmiszerbiztonsági probléma kezelése multidiszciplináris megközelítést igénylő feladat. Együttműködést igényel a klinikum, a jogalkotás, az élelmiszer-előállítás, az élelmiszer-analitika és egy sor egyéb terület részéről. Kutatócsoportunk a gluténanalitika feltételrendszerének fejlesztésén keresztül kapcsolódik ebbe a rendszerbe azzal a céllal, hogy a glutén mennyiségi meghatározás megbízhatóbbá tételével járuljon hozzá a cöliakiával élő fogyasztók biztonságához, életminőségének javításához.

7. Köszönetnyilvánítás

Bár jelen cikk elsősorban összefoglaló jellegű munka, benne említésre kerül számos olyan kutatási eredmény, mely a BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Gabonatudományi és Élelmiszerminőség Kutatócsoport, valamint számos hazai és külföldi partnerintézmény együttműködése nyomán keletkezett az elmúlt körülbelül 15 évben. A cikk szerzői ezúton szeretnék köszönetüket kifejezni minden olyan projektnek, intézménynek és kollégának, akik a bemutatott munkákhoz bármilyen módon hozzájárultak. Külön köszönjük továbbá azon közel 40 hallgatónk lelkiismeretes munkáját, akik szakdolgozatuk, diplomamunkájuk, TDK munkájuk vagy doktori értekezésük elkészítése során vették ki a részüket a kutatómunkából.

A cikkben bemutatott rozs és árpa referencia anyag fejlesztést célzó kutatás kapcsolódik az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból támogatott TKP2021 pályázati program, BME-EGA-02 számú projekt szakmai célkitűzéseinek megvalósításához.

8. Irodalom

- [1] Shewry P.R., Hey S.J. (2015): The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security* **4** (3) pp. 178-202. DOI: <https://doi.org/10.1002/fes3.64>
- [2] Wieser H. (2007): Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology* **24** pp. 115-119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
- [3] Lionetti E., Gatti S., Pulvirenti A., Catassi C. (2015): Celiac disease from a global perspective. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. **29** pp. 365-379. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2015.05.004>
- [4] Nasr I., Nasr I., Al Shekeili L., Al Wahsi H.A., Nasr M.H., Ciclitira P.J. (2016): Celiac disease, wheat allergy and non celiac gluten sensitivity. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*. **3** (4) pp. 336-340. DOI: <https://doi.org/10.15761/IFNM.1000155>
- [5] Codex Alimentarius (2008): Codex Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten. Codex Stan 118-1979 rev. 2008.
- [6] European Commission (2014): Commission Implementing Regulation (EU) No 828/2014 on the requirements for the provision of information to consumers on the absence or reduced presence of gluten in food. *Official Journal of the European Union*. **57** pp. 5-9.
- [7] European Parliament (2011): Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council on the provision of food information to consumers. *Official Journal of the European Union*. **54** pp. L304/18-63.
- [8] Koning F. (2015): Adverse effects of wheat gluten. *Annals of Nutrition & Metabolism*. **67** (suppl. 2) pp. 8-14. DOI: <https://doi.org/10.1159/000440989>
- [9] Schalk K., Lexhaller B., Koehler P., Scherf K.A. (2017): Isolation and characterization of gluten protein types from wheat, rye, barley and oats for use as reference materials. *PLoS ONE*. **12** (2) pp. e0172819. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172819>
- [10] Tye-Din J.A., Stewart J.A., Dromey J.A., Beissbarth T., van Heel D.A., Tatham A., Henderson K., Mannering S.I., Gianfrani C., Jewell D.P., Hill A.V.S., McCluskey J., Rossjohn J., Anderson R.P. (2010): Comprehensive mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease. *Science Translational Medicine*. **2** pp. 41-51. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001012>
- [11] Juhász A., Gell Gy., Békés F., Balázs E. (2012): The epitopes in wheat proteins for defining toxic units relevant to human health. *Functional & Integrative Genomics*. **12** pp. 585-598. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10142-012-0302-3>
- [12] Sollid L.M., Qiao S-W., Anderson R.P., Gianfrani C., Koning F. (2012): Nomenclature and listing of celiac disease relevant to gluten T cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules. *Immunogenetics*. **64** pp. 455-460. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00251-012-0599-z>
- [13] Scherf, K.A., Poms, R.E. (2016): Recent developments in analytical methods for tracing gluten. *Journal of Cereal Science*. **67** pp. 112-122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.006>
- [14] Bugyi, Zs., Török, K., Hajas, L., Adonyi, Zs., Popping, B., Tömösközi, S. (2013): Comparative study of commercially available gluten ELISA kits using an incurred reference material. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. **5** (1) pp. 79-87. DOI: <https://doi.org/10.3920/QAS2012.0174>
- [15] Alvarez, P.A., Boye, J. (2013): Comparison of gluten recovery in gluten-incurred buckwheat flour using different commercial test kits. *Food and Agricultural Immunology*. **25** (2) pp. 200-208. DOI: <https://doi.org/10.1080/09540105.2012.762901>
- [16] Bruins Slot, I.D., Bremer, M.G.E.G., van der Fels-Klerx, I., Hamer, R.J. (2015): Evaluating the performance of gluten ELISA test kits: The numbers do not tell the tale. *Cereal Chemistry*. **92** (5) pp. 513-521. DOI: <https://doi.org/10.1094/CCHEM-07-14-0166-R>
- [17] Diaz-Amigo, C., Popping, B. (2013): Accuracy of ELISA Detection Methods for Gluten and Reference Materials: A Realistic Assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **61** (24) pp. 5681-5688. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf3046736>
- [18] Pahlavan, A., Sharma, G.M., Pereira, M., Williams, K.M. (2016): Effects of grain species and cultivar, thermal processing, and enzymatic hydrolysis on gluten quantitation. *Food Chemistry*, **208**, 264-271. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.092>
- [19] Török K., Hajas L., Horváth V., Schall E., Bugyi Zs., Kemény S., Tömösközi S. (2015): Identification of the factors affecting the analytical results of food allergen ELISA methods. *European Food Research & Technology*. **241** (1) pp. 127-136. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2441-y>

- [20] Lacorn, M., Lindeke, S., Siebeneicher, S., Weiss, T. (2018): Commercial ELISA measurement of allergens and gluten: What we can learn from case studies. *Journal of AOAC International*. 101 (1) pp. 102-107. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0399>
- [21] Rzychon, M., Brohée, M., Cordeiro, F., Haraszi, R., Ulberth, F., O'Connor, G. (2017): The feasibility of harmonizing gluten ELISA measurements. *Food Chemistry*. 234 pp. 144-154. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.092>
- [22] Chambers, S.J., Brett, G.M., Mills, E.N.C., Morgan, M.R.A. (2001): Multiantigenic peptides as standards in immunoassays for complex proteins: use of LGQQQPFPPQQPY in an enzyme-linked immunosorbent assay for gluten. *Analytical Biochemistry*. 292 pp. 301-305. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.2001.5037>
- [23] van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P.J.,..., & Wieser, H. (2006): Towards a new gliadin reference material— isolation and characterisation. *Journal of Cereal Science*. 43 (3) pp. 331-341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.009>
- [24] Bugyi Zs., Török K., Hajas L., Adonyi Zs., Diaz-Amigo C., Popping B., Poms R., Kerbach S., Tömösközi S. (2012): Development of incurred reference material for improving conditions of gluten quantification. *Journal of AOAC International*. 95 (2) pp. 382-387. DOI: https://doi.org/10.5740/jaoacint.sge_bugyi
- [25] Bugyi Zs., Nagy J., Török K., Hajas L., Tömösközi S. (2010): Towards development of incurred materials for quality assurance purposes in the analysis of food allergens. *Analytica Chimica Acta*. 672 pp. 25-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.058> (IF: 4.311)
- [26] Török K., Hajas L., Bugyi Zs., Balázs G., Tömösközi S. (2015): Investigation of the effects of food processing and matrix components on the analytical results of ELISA using and incurred gliadin reference material candidate. *Acta Alimentaria*. 44 (3) pp. 390-399. DOI: <https://doi.org/10.1556/AAlim.2014.0018>
- [27] Török K., Horváth V., Horváth Á., Hajas L., Bugyi Zs., Tömösközi S. (2014): Investigation of incurred single- and multi-component model food matrices for the determination of food proteins triggering allergy and coeliac disease. *European Food Research & Technology*. 239 (6) pp. 923-932. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2289-6>
- [28] Török K., Hajas L., Horváth V., Schall E., Bugyi Zs., Tömösközi S. (2016): Identification of key effects causing weak performance of allergen analysis in processed food matrices. *Acta Alimentaria*. 45 (1) pp. 45-53. DOI: <https://doi.org/10.1556/066.2016.45.1.6>
- [29] Hajas L., Scherf K. A., Török K., Bugyi Zs., Schall E., Poms R. E., Koehler P., Tömösközi S. (2018): Variation in protein composition among wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to identify cultivars suitable as reference material for wheat gluten analysis. *Food Chemistry*. 267 pp. 387-394. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.005>
- [30] Hajas L., Scherf K., Bugyi Zs., Török K., Schall E., Köhler P., Tömösközi S. ELISA response and gliadin composition of different wheat cultivars grown in multiple harvest years. *Acta Alimentaria*. 2017. 46 (2): 187-195. doi: <https://doi.org/10.1556/066.2016.0019>
- [31] Schall E., Scherf K. A., Bugyi Zs., Török K., Koehler P., Schoenlechner R., Tömösközi S. (2020): Further Steps Toward the Development of Gluten Reference Materials - Wheat Flours or Protein Isolates? *Frontiers in Plant Science*. 11 pp. 906. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00906>
- [32] Schall E., Scherf K. A., Bugyi Zs., Hajas L., Török K., Koehler P., Poms R. E., D'Amico S., Schoenlechner R., Tömösközi S. (2020): Characterisation and comparison of selected wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and their blends to develop a gluten reference material. *Food Chemistry*. 313 pp. 126049 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126049>
- [33] Wieser, H., Kohler, P. (2009): Is the calculation of the gluten content by multiplying the prolamin content by a factor of 2 valid? *European Food Research and Technology*. 229 pp. 9-13. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1020-5>
- [34] Lacorn, M., Weiss, T., Wehling, P., Arlinghaus, M., Scherf, K. (2019): Quantification of Wheat, Rye, and Barley Gluten in Oat and Oat Products by ELISA RIDASCREEN® Total Gluten: Collaborative Study, First Action 2018.15. *Journal of AOAC International*. 102 (5) pp. 1535-1543. <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1535>
- [35] Lexhaller, B., Tompos, C., & Scherf, K.A. (2016): Comparative analysis of prolamin and glutelin fractions from wheat, rye, and barley with five sandwich ELISA test kits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 408 pp. 6093-6104. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9721-7>

- [36] Tanner, G.J., Blundell, M.J., Colgrave, M.L., & Howitt, C.A. (2013): Quantification of Hordeins by ELISA: The Correct Standard Makes a Magnitude of Difference. *Plos One*. 8 (2) pp. e56456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056456>
- [37] Vici, G., Belli, L., Biondi, M., Polzonetti, V. (2016): Gluten Free Diet and Nutrition Deficiencies: A Review. *Clinical Nutrition*. 35 (6) pp. 1236-1241. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.05.002>
- [38] Smulders, M.J.M., van de Wiel, C.C.M., van den Broeck, H.C., van der Meer, I.M., Israel-Hoevelaken, T.P.M., Timmer, R.D., ... Gillisen, L.J.W.J. (2018): Oats in healthy gluten-free and regular diets: A perspective. *Food Research International*. 110 pp. 3-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.031>
- [39] Hoffmanová, I., Sánchez, D., Szczepanková, A., & Tlaskalová-Hogenová, H. (2019): The pros and cons of using oat in a gluten-free diet for celiac patients. *Nutrients*. 11 (10) pp. 2345. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11102345>
- [40] Pinto-Sánchez, M.I., Causada-Calo, N., Bercik, P., Ford, A.C., Murray, J.A., Armstrong, D., ... Green, P. (2017): Safety of adding oats to a gluten-free diet for patients with celiac disease: Systematic review and meta-analysis of clinical and observational studies. *Gastroenterology*. 153 pp. 395-409. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.009>
- [41] Cohen, I.S., Day, A.S., Shaoul, R. (2019): To be oats or not to be? An update on the ongoing debate on oats for patients with celiac disease. *Frontiers in Pediatrics*. 7 pp. 384. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00384>
- [42] Silano, M., Di Benedetto, R., Maialetti, F., De Vincenzi, A., Calcaterra, R., Cornell, H.J., & De Vincenzi, M. (2007): Avenins from different cultivars of oats elicit response by coeliac peripheral lymphocytes. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 42 pp. 1302-1305. DOI: <https://doi.org/10.1080/00365520701420750>
- [43] Comino, I., Bernardo, D., Bancel E., Moreno, M.L., Sánchez, B., Barro, F., ... Sousa, C. (2016): Identification and molecular characterization of oat peptides implicated on coeliac immune response. *Food & Nutrition Research*. 60 pp. 30324. DOI: <https://doi.org/10.3402/fnr.v60.30324>
- [44] Hardy, M.Y., Tye-Din, J.A., Stewart, J.A., Schmitz, F., Dudek, N.L., Hanchapola, I., ... Anderson, K.P. (2015): Ingestion of oats and barley in patients with celiac disease mobilizes cross-reactive T-cells activated by avenin peptides and immuno-dominant hordein peptides. *Journal of Autoimmunity*. 56 pp. 56-65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.10.003>
- [45] Lundin, K.E.A., Nilsen, E.M., Scott, H.G., Løberg, E.M., Gjøen, A., Bratlie, J., ... Kett, K. (2003): Oats induced villous atrophy in coeliac disease. *Gut*. 52 pp. 1649-1652. DOI: <https://doi.org/10.1136/gut.52.11.1649>
- [46] Australia New Zealand Food Standards Code. Standard 1.2.8. F2021C00668.
- [47] The Federal Register. Food Labeling; Gluten-Free Labeling of Foods. 2013 Fall. 21 CFR 101.91
- [48] La Vieille, S., Pulido, O.M., Abbott, M., Koerner, T.B., Godefroy, S. (2016): Celiac disease and gluten-free oats: A Canadian position based on a literature review. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016 pp. 1870305. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/1870305>
- [49] Koerner, T.B., Cléroux, C., Poirier, C., Cantin, I., Alimkulov, A., Elemparo, H. (2011): Contamination in the Canadian commercial oat supply. *Food Additives and Contaminants*. 28 (6) pp. 705-710. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.579626>
- [50] Størsrud, S., Malmehden Yman, I., Lerner, R.A. (2003): Gluten contamination in oat products and products naturally free from gluten. *European Food Research & Technology*. 217 pp. 481-485. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1711970>
- [51] Giménez, M.J., Real, A., García-Molina, M.D., Sousa, C., Barro, F. (2017): Characterization of celiac disease related oat proteins: bases for the development of high quality oat varieties suitable for celiac patients. *Nature Scientific Reports*. 7 pp. 42588. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep42588>
- [52] Gell Gy., Bugyi Zs., Florides C. G., Birinyi Zs., Réder D., Szegő Zs., Mucsi E., Schall E., Ács K., Langó B., Purgel Sz., Simon K., Varga B., Vida Gy., Veisz O., Tömösközi S., Békés F. (2021): Investigation of protein and epitope characteristics of oats and its implications for celiac disease. *Frontiers in Nutrition*. 8 pp. 702352. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.702352>
- [53] Mucsi E., Szegő Zs. (2019): Fajtszelekciós módszertan kidolgozása gluténmentes diétába illeszthető zabfajták azonosításához. TDK dolgozat, BME-VBK

- [54] Allred, L.K., Kupper, C., Iverson, G., Perry, T.B., Smith, S., Stephen, R. (2017): Definition of the “Purity Protocol” for producing gluten-free oats. *Cereal Chemistry*. 94 (3) pp. 377-379. DOI: <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-17-0017-VO>
- [55] Fritz, R.D., Chen, Y. (2017): Kernel-based gluten contamination of gluten-free oatmeal complicates gluten assessment as it causes binary-like test outcomes. *International Journal of Food Science and Technology*. 52 pp. 359-365. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13288>
- [56] Chen, Y., Fritz, R.D., Kock, L., Garg, D., Davis, R.M., Kasturi, P. (2018): A stepwise, ‘test-all-positives’ methodology to assess gluten-kernel contamination at the serving-size level in gluten-free (GF) oat production. *Food Chemistry*. 240 pp. 391-395. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.153>
- [57] Váradi V. (2020): Tiszta zab és a gluténmentes diéta: nemzetközi jó gyakorlatok és hazai ajánlások. Szakdolgozat, BME-VBK
- [58] Alves, T.O., D’Almeida, C.T.S., Scherf, K.A., Ferreira, M.S.L. (2019): Modern approaches in the identification and quantification of immunogenic peptides in cereals by LC-MS / MS. *Frontiers in Plant Science*. 10 pp. 1470. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01470>