

Gabonafehérjék N-terminális aminosavai meghatározásának néhány módszertani kérdése

VARGA JÁNOS

Budapesti Műszaki Egyetem Élelmiszerkémia Tanszék

Érkezett: 1966. április 15.

A fehérjekutatás területén az utóbbi évtizedekben elvégzett sokoldalú kutatómunka nagymértékben gazdagította a fehérjékkel kapcsolatos ismereteinket. A fehérjék szerkezetkutatása azonban ma is a szerves kémia talán legbonyolultabb területe. Az intenzív kutatás ellenére még mindig sok a megoldatlan probléma. Néhány kiemelkedő eredmény azonban már eddig is született. Sikertült például megállapítani egyes polipeptidek és néhány egyszerűbb fehérje szerkezetét és számos a fehérjék szerkezetére általánosan érvényes alapelvet leszögezni.

A fehérjekutatás jelenlegi szakaszában jelentős szerephez jutott a fehérjék végcsoportjait képező aminosavak meghatározása. A végcsoportok meghatározása jelenti az első lépést a peptidláncokat felépítő aminosavak sorrendjének megállapításában, mennyiségi viszonyaik tisztázása pedig a peptidláncok és elágazások számára és természetére ad felvilágosítást. Az eddigi vizsgálatok fő súllyal a különböző állati eredetű fehérjéket és számos enzimet érintettek. Ezek viszonylag egyszerűbb felépítése és tiszta (homogén) frakciók könnyebb előállíthatósága miatt váltak a vizsgálatok anyagává. Ezekből egységes fehérje frakciók előállítására viszonylag jól kidolgozott módszerek állnak rendelkezésre (gél-elektroforézis, immunoelektroforézis, gélfiltráció stb.). Növényi fehérjék esetében és ezen belül is a búzafehérjéknél a vizsgálatok még kezdeti stádiumban vannak. A búzafehérjék bonyolult felépítése igen sok metodikai nehézséget támaszt. A jelenleg ismert és általában alkalmazott fehérjeelválasztási módszerekkel, mind az oldhatósági alapon, mind a szedimentálással előállított búzafehérje frakciók nem egységesek. További frakciókra való bontás az eddig ismert módszerekkel nehézkes, körülményes.

Egyedül a gélfiltráció az, amely az eddigi vizsgálatok alapján biztató eredményt hozott. Ahhoz, hogy a végcsoport analízisen túllépve primer aminosav szerkezetet sikerrel vizsgálhassunk, elengedhetetlen a homogén, tiszta fehérje-frakció előállítása.

A búzafehérjék táplálkozásunkban betöltött szerepük révén nagy jelentőségűek. A búzalisztból készült sütőipari termékek minőségének javítása céljából is fontos a bennük levő fehérjék ismerete;

Legbővebben a búzafehérje alkohololdható (gliadin) frakcióját tanulmányozták eddig, de történtek vizsgálatok, a többi frakció N-terminális aminosavak meghatározására is. Hazai kutatók közül *Kőrös* (1), *Dévényi*, *Szörényi* (2, 3) és *László*, *Nedelkovits*, *Kovács* (5), számolt be ilyen irányú vizsgálatokról. Külföldi közlemények közül megemlítem *Ramachandran* és *Mc Connel* (6), *Mills* (7), *Reznycsenko*, *Polotnova*, valamint *Meljteva* (8, 9) munkáit. Az újabb vizsgálatokról számolnak be *Fox* és *De Fontaine* (10) *Rohrlich* és *Schlüssler* (11, 12), valamint *Winzor* és *Zentner* (13) munkáikban. Az eddig vizsgálatok eredményeit *Winzor* és *Zentner* táblázatosan is összefoglalták. Ezt a táblázatot közlöm kiegészítve az azóta publikált újabb hazai és külföldi eredményekkel. (1. táblázat).

N-terminális aminosavak előfordulása búzafehérjében

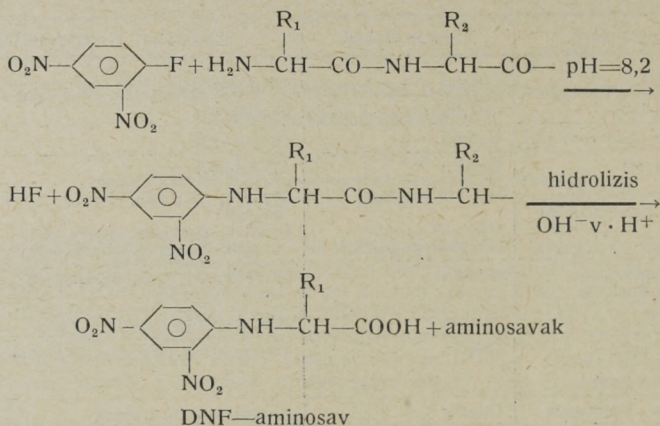
Kutatók neve	Fehérje frakció	Kimutatott N-végcsoportok
Körös (1)	Gliadin	Hisztidin
Dévényi (2)	Gliadin	Fenilalanin
Dévényi – Szőrényi (3)	Gliadin	Fenilalanin
Dévényi (4)	Gliadin	Fenilalanin
Lásztity – Nedelkovits – Kovács B. (5)	BL 112 gliadin BFF 55 gliadin San Pastore gliadin	Ciszteïn, hisztidin, alanin, aszparaginsav, treonin Ciszteïn, hisztidin, alanin, valin Ciszteïn, hisztidin, alanin, valin, treonin
Ramachandran – Mc Connel (6)	Gliadin	Glutaminsav, aszparaginsav, szerin, alanin, valin, hisztidin
Mills (7)	Gliadin	Aszparaginsav, szerin, valin
Reznyicsenkó – Polotnova – Cvetkova (8)	Gliadin	Glutaminsav, treonin, fenilalanin, leucin
Meljtjeva – Polotnova (9)	Gliadin	Aszparaginsav, treonin
Fox – de Fontaine (10)	Teljes búza	Lizin, (leucin, metionin, fenilalanin)
Rohrlich – Schlüssler (11)	Albumin-globulin, gliadin-glutenin	Valin, leucin, hisztidin
Rohrlich – Schlüssler (12)	Albumin-globulin, gliadin-glutenin	Glutaminsav, glicin, alanin, valin, leucin, hisztidin
Winzor – Zentner (13)	Sikér	Glutaminsav, aszparaginsav, szerin, treonin, glicin, alanin, valin, leucin, hisztidin

Az összesített eredményekből jól látható, hogy ugyanazon fehérjefrakció esetében is (például gliadin), a különböző kutatók más és más N-végcsoportot mutattak ki. Figyelemreméltó, hogy *Rohrlich* és munkatársai különböző fehérjefrakciók vizsgálatánál ugyanolyan végcsoportokat találtak. Az eltérő eredményeket *Reznyicsenkó* a kísérleti technika, főleg az aminosav azonosítási technika, ki nem elégtő pontosságára vezeti vissza. *Lásztity* és *Nedelkovits* a búzafaj, a termelési körülmények mellett, az elválasztás, frakcionális körülményeit tartják döntőnek. A vizsgálatok nehézségét bizonyítja az a tény, is, hogy az N-terminális aminosavak kvantitatív meghatározása gabonafehérjékben ezideig nem történt meg. A metodikai problémák ezen a téren is gátolják az előrehaladást. Ezért feltétlenül hasznosak azok a próbálkozások, amelyek részint a homogén fehérjefrakciók előállítására irányulnak, másrészt a metodikai problémákat igyekeznek tisztázni.

N-terminális aminosavak meghatározása DNFB-os módszerrel

Az N-terminális aminosavak meghatározására jelenleg két, jól bevált módszer alkalmazható. Az egyik *Sanger* (14) 2,4-dinitrofluorbenzolos eljárása, a másik az *Edman* (15), által bevezetett fenil-izotiocianátos módszer. Munkám jelenlegi szakaszában a *Sanger*-féle 2,4-dinitrofluorbenzolos eljárást alkalmaztam. A módszer alapelve: a vizsgálandó fehérjefrakciót lúgos közegben (pH = 8,2) 2,4-dinitrofluorbenzollal reagáltatjuk, majd a reakcióidő letelte után az oldatot HCl-el megsavanyítva a DNFB-fehérjét leválasztjuk. A kapott DNFB-fehérjét ezután hidrolizáljuk (teljes hidrolízis), majd a hidrolizátumból extraháljuk a

DNF aminosavakat (vízoldhatók kivételével). Röviden vázolva: az eljárás kémiai reakciójának lefolyása a következő:



Vizsgálati anyagok

Vizsgálataimhoz BL 112 lisztből a klasszikus *Osborne* (16) módszer szerint előállított fehérjefrakciókat használtam fel. Így a vízoldható albumin (és pszeudo globulin), 1 M-os NaCl-ban oldható globulin, a 70%-os alkoholban oldható gliadin, valamint 0,2%-os KOH-ban oldódó glutenin frakciót. E frakciókat vákuumos szárítás után porítottam és e porkészítményeket használtam a további kísérleteimhez és méréseimhez.

A vizsgálatok célja elsősorban számos módszertani probléma tisztázása, melyek az eddigi irodalmi adatok alapján nincsenek megnyugtatóan megoldva gabonafehérjékre. Így például nem eléggé tisztázottak a dinitrofenilezés pontos körülményei, továbbá a DNF-aminosavak elválasztása és azonosítása sem minden esetben kielégítő. A legkülönbözőbb kromatográfiás (leszálló, kör, két-dimenziós) eljárások végeredményét összehasonlítva a kapott N-terminális aminosavak eléggé különbözőek. Ezért a vizsgálatok során én is többféle elárást alkalmaztam a DNF-aminosavak azonosítására és csak azokat a DNF-aminosavakat fogadtam el valóban végcsoportként, melyeket a különböző módszerekkel mindig sikerült is teljes biztonsággal kimutatni. Emellett feleletet próbáltam kapni olyan kérdésekre is, hogy az egyes fehérje frakciók végcsoportjai különbözőek-e, vagy azonosak-e?

DNF-fehérje előállítása

1 g vizsgálandó fehérjét 10 ml 10%-os NaHCO₃-ban szuszpendáltam (csak részleges oldódás van). Ezután 20 ml 5%-os alkoholos 2,4-dinitrofluorbenzol oldatot adtam hozzá. Az elegyet fénytől elzárva szobahőmérsékleten 72 órán át rázatás közben reagáltattam. A 72 órás reakció eltelté után a kapott sárgaszínű elegyet néhány csepp cc. HCl-al megsavanyítottam, a levált sárga csapadékot centrifugáltam, majd alkohol-éter 1:1 arányú keverékével háromszor és végül éterrel is háromszor jól kimostam. (Erre a 2,4 dinitrofluorbenzol és az esetleg jelenlevő szabad DNF-aminosavak eltávolítása miatt van szükség). A kapott csapadékot sötét helyen szobahőmérsékleten szárítottam és további felhasználásig sötét, száraz helyen tároltam.

A fenti eljárásnál nehézséget okoz, hogy a búzafehérje frakciók 10%-os NaHCO_3 -ban nem, vagy csak kismértékben oldhatók. A szuszpendált fehérje a 2,4-dinitrofluorbenzollal nem eléggé exakt módon reagál és így előfordul, hogy ugyanaból a fehérje-frakcióból több dinitrofenilezést elvégezve a kapott végcsoportok mennyisége (az azonos kísérleti körülmények ellenére is) eltérő volt. Ennek kiküszöbölésére próbáltam meg az alábbi eljárást:

1 g fehérjét 30 ml etilénklórhidridben rázatás közben feloldottam. Hozzáadtam 10 ml desztillált vizet és 15 ml 10%-os NaHCO_3 -ot, végül 20 ml 5%-os alkoholos 2,4-DNFB oldatot. Szobahőmérsékleten fénytől elzárva, rázatás közben dinitrofenileztem. Különböző reakcióidőket próbáltam ki (12, 24, 36, 48 órát). A reakcióidő eltelte után az oldatot 350 – 400 ml desztillált vízbe öntöttem keverés közben. Rövid idő után a DNF-fehérje sárgaszínű csapadék formájában kiválik (vízbeöntés előtt néhány csepp koncentrált sósavval az oldatot megsavanyítjuk). Csapadékot centrifugálással elválasztottam, majd alkohol-éter egy-egy arányú keverékével háromszor, s végül éterrel kimostam.

DNF-fehérjék hidrolízise és azonosítása

A módszer elve, hogy a DNF fehérjét sósavval teljesen hidrolizáljuk és a hidrolízissel kapott DNF aminosavakat azonosítjuk.

0,2–0,3 g DNF fehérjét üvegampullába bemeztem, majd hozzáadtam 10–15 ml 5,6 n sósavat. Ezután az ampulla tartalmát nitrogén gázárammal levegőmentesítettem, majd leforrasztottam. Az ampullát homokba ágyazva 105 C°-on 18 órán keresztül hidrolizáltam. A hidrolízis után a hidrolizátumot desztillált vízzel háromszorosára hígítottam és peroxidmentes éterrel (25–25 ml) extraháltam. Az éteres oldatokat egyesítettem, majd desztillált vízzel háromszor mosva sósavmentesítettem. Végül vízmentes Na_2SO_4 -al szárítottam. Ezután fénytől elzárva vákuumban 30 C fokon szárazra pároltam. A maradékot 3 ml metanolban vettem fel. Az éterrel extrahált visszamaradó sósavas oldatot vákuumban sötét helyen 45 C fokon szárazra pároltam (a sósav teljes eltávolítására kétszer vízzel felvettem és ismételten szárazra pároltam). Végül 3 ml desztillált vízben oldottam fel a maradékot.

Az éteres oldatba a nem bázikus DNF-aminosavak jutnak, a vizes oldatba pedig a bázikus aminosavak és a DNF-ciszteinsav is. A kapott metanolos és vizes oldatból DNF-aminosavakat ismert DNF-aminosavak segítségével direkt módon határoztam meg. Az éteres (metanolos) fázis DNF-aminosavainak azonosítására az alábbi eljárásokat alkalmaztam:

a) Leszálló papír kromatográfia (Roverly citrátos módszere, 1,5 M-os foszfát puffer).

b) Papír elektroforézis.

A vizes fázisból a DNF aminosavakat:

a) Leszálló papírkromatográfiával (butanol-ecetsav-víz 4:1:5 arányú keverék).

b) Papírelektroforézissel határoztam meg.

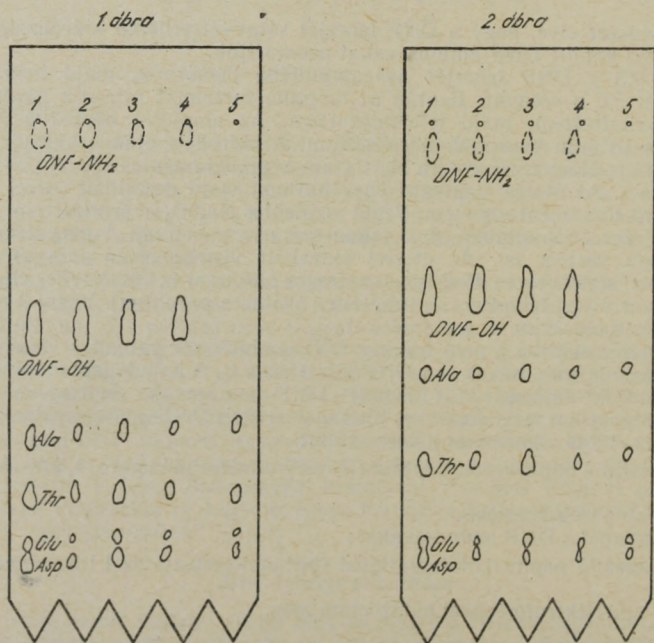
Roverly citrátos módszere. (17)

1 M-os citrát-HCl puffert használtam. (pH = 6,2). Az alkalmazott szűrőpapír Schleicher – Schüll 2043/b volt. A leszálló kromatográfia ideje 48 – 60 óra. Előnye ennek a módszernek, hogy a puffer hőmérsékletváltozásra nem érzékeny csak vizes fázisa van. Ha a vizsgált elegy nem bonyolult összetételű, az elválás jónak mondható. Az elválás sorrendje más mint a szerves fúttatókban. Jól elválnak egymástól a tirozin, lizin, glicin, fenilalanin, aszparaginsav, glutaminsav. 6 γ -nyi DNF aminosav már szemmel jól észlelhető foltot ad. A 4 DNF-fehérje hidrolizá-

tum éteres fázisainak aminosavai az 1. ábrán láthatók. A viszonylag nagy terjedelmű DNF-OH folt HCl-gázban elhalványodik. Alatta gyengeszínű folt észlelhető, mely valószínűleg glikokoll. Az ábrán nem jelöltem be, mert a másik módszerekkel nem sikerült jelenlétét megnyugtató módon igazolni. Valószínűleg a treonin jelzésével ellátott folt sem teljesen homogén. E kérdések tisztázására a vizsgálatokat tovább folytatom.

1,5 M-os foszfát pufferes rendszer. (17)

138 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -t és 71 g Na_2HPO_4 -ot oldottam 1000 ml desztillált vízben enyhe melegítés közben. (pH = 6.) A kromatografálás ideje 40–48 óra volt. A használt szűrőpapír Schleicher – Schüll 2043/b volt. Az elválási viszonyok hasonlóak a Rovey citrátos módszerénél leírtakhoz. A kapott kromatogram sematikus képét a 2. ábrán láthatjuk. A foszfátos pufferben történő elválasztás is csak egyszerű keverékek esetében használható. A DNF-OH folt ebben az esetben nehezebben távolítható el. Az alaninként jelzett folt valószínűleg itt sem homogén.

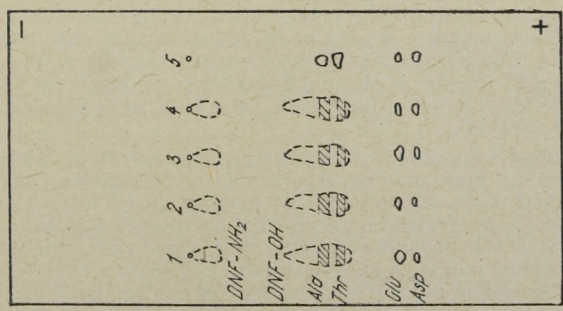


Magyarázat:

1. DNF - albumin hidrolizátum
2. DNF - globulin
3. DNF - gliadin
4. DNF - glutenin
5. Kontroll DNF - aminosavak

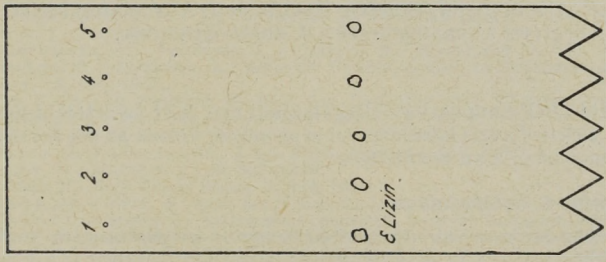
- DNF-NH₂ = 2,4 - dinitroanilin
 DNF-OH = 2,4 - dinitrofenol
 Ala - DNF - alanin
 Thr - DNF - treonin
 Glu - DNF - glutaminsav
 Asp - DNF - aszparaginsav

3. ábra



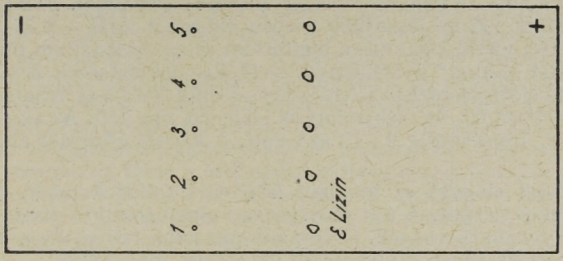
A számok és rövidítések jelentése azonos az előző ábrákkal

4. ábra



A számok jelentése azonos az előző ábrákkal

5. ábra



Papírelektroforézis

A módszerben az alábbi általam összeállított puffert használtam. 70 ml piri-dint és 12 g Na-acetátot 500 ml desztillált vízben oldottam. (pH = 6,2–6,4). Ebből 50 ml-t desztillált vízzel 1000 ml-re hígítottam és ezt használtam pufferként. Az elektroforézist „Labor” gyártmányú vertikális elektroforézis berende-zésben végeztem el. Az elektroforézishez Schleicher – Schüll 2043/b és Whatmann N^o szűrőpapírt használtam fel. Az elektroforézis ideje 2½ óra volt. Az alkalmazott feszültség 1000 V, áramerősség 9–13 mA volt. A kapott elfogram ábráját a 3. ábrán közlöm.

Az elektroforézisnél elnyúló és intenzív DNF-OH foltot kapunk, mely elfedi a treonin és alanin foltjait. A folt sósavgázban elhalványul és alatta elő-tűnnek a monoaminomonokarbonsavak. DNF-aminosavainak foltjai. Ez a mód-szer gyorsan ad tájékoztatást nem túl bonyolult keverékek analízisekor.

A vizes fázis DNF-aminosavainak azonosítása

Leszálló papírkromatográfias módszer

A kromatografáló oldat butanol-ecetsav-víz (4:1:5) keverék szerves fázisa volt. Az alkalmazott szűrőpapír Sch-Sch 2043/b volt. A kromatografálás idő-tartama 36 óra. Jellegzetes kromatogramot a 4. ábrán láthatunk.

Papírelektroforézis

Az éteroldható DNF-aminosavak vizsgálatánál már leírt összetételű puffert alkalmaztam. Az elektroforézis körülményei is azonosak voltak az ott leírtakkal. A kapott elfogramot az 5. ábra szemlélteti.

A vizsgálati eredmények összefoglalása

Az N-terminális aminosavak dinitrofluorbenzolos meghatározása során a NaHCO₃-os közegben végzett 72 órás dinitrofenilezési idő esetében is a vizsgált DNF-aminosavak mennyisége eltérő volt, amit a kromatogramok egyszerű megtekintése alapján is észlelni lehet. Ennek valószínű oka az, hogy egyes fehér-jék nem oldódnak teljesen és így a dinitrofenilezés nem mindig kvantitatív. Hogy a fehérjéket oldott állapotban dinitrofenilezhessem, kipróbáltam egy általam összeállított etilénklórhidrin módszerrel. A különböző ideig történő dinitrofeni-lezés eredményeit összehasonlítva, már a 24 órás reakcióidő letelte után a DNF-aminosavak mennyiségében változást nem tapasztaltam. Megfigyelhető továbbá, hogy az etilénklórhidrin módszer mindig közel azonos eredményre vezetett mennyiségi tekintetben több párhuzamos dinitrofenilezés esetében is. Meg kell azonban említeni, hogy az albumin és globulin frakció ilyen körülmények között dinitrofenilezve vízbeöntés után kvantitatíve nem válik ki (a teljes kiválást ace-ton hozzáadásával érhetjük el).

Megállapítható, hogy a kvalitatív vizsgálatnál eddig ismert és általában alkalmazott módszerek a monoaminodikarbonsavak elválasztására jók. Az elektroforézises vizsgálat ilyen tekintetben igen gyorsan ad felvilágosítást. A monoaminomonokarbonsavak elválasztása azonban a használt eljárásokkal nem megnyugtató. A DNF-OH folt ugyanis mindegyik módszernél ezen aminosavak DNF-származékaival együtt mozog. A DNF-OH folt sósavgázban elszintelenít-hető ugyan, de semmi biztosíték nincs arra nézve, hogy az esetleg kisebb mennyi-ségben jelenlevő DNF-aminosav foltok (amelyeket elfed) szintén nem gyengül-nek-e és így kiértékelésük nehezzé válik. De a DNF-OH folt alatt levő mono-aminomonokarbonsav foltok homogenitása sem bizonyos, sőt sok jel arra mutat,

hogy ezen foltok más szelektívebb módszerrel további DNF-aminosavakra választhatók szét.

Igen érdekes eredményt hozott a különböző fehérjefrakciók DNF-aminosavainak kvalitatív vizsgálata is. A különböző módszerekkel vizsgált éteres és vízoldható DNF-aminosavak mindegyik frakció esetében azonosak voltak. (alanin, treonin, aszparaginsav, glutaminsav, ill. ϵ -lizin). Ezekről az eredményekről röviden már a Magyar Biokémikus Társaság 1965. évi nagygyűlésén tartott előadásunkban is beszámoltunk. (18). Jelenlegi vizsgálataimban már a mennyiségi viszonyok meghatározása is folyamatban van és ezek azt mutatják, hogy mennyiségi téren a különböző gabonafehérje frakciók N-terminális aminosavaiban már eltérések mutatkoznak. E vizsgálatok további eredményeiről, valamint az N-terminális aminosavak kvalitatív vizsgálatának vékonyréteg kromatográfiás eredményeiről későbbi közleményemben számolok be.

I R O D A L O M

- (1) *Körös Z.*: Magyar Kém. Folyóirat 56, 131, 1950.
- (2) *Deutsch, T.*: Acta Physiol. Ac. Sci. Hung. 6, 209, 1954.
- (3) *Dévényi, T.* – *Szörényi, E.*: Acta Physiol. Ac. Sci. Hung. 9, 301, 1956.
- (4) *Dévényi, T.*: Biochimija Zrna. Szbornik. 40 Moszkva, 1958.
- (5) *Lásztity R.* – *Nedelkovits J.* – *Kovács B.*: Magyar Kém. Folyóirat, 70, 153, 1964.
- (6) *Ramachandran, L. K.* – *Mc Connel, W. B.*: Canadian Journ. Chem. 33, 1463, 1955.
- (7) *Mills, Y.*: Biochem. Biophys. Acta 18, 593, 1955.
- (8) *Reznycsenko, M.* – *Polotnova, L.* – *Cvetkova, V.*: Biochimija 23, 649, 1958.
- (9) *Meljtjeva, N.* – *Polotnova, L.*: Szbornik Naucsn. Labor. Leningradszkovo. Inszt. Szovjet. Torg. 12, 124, 1957.
- (10) *Fox, S. W.* – *De Fontaine, D.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92, 503, 1956.
- (11) *Rohrllich, M.* – *Schlüssler, H. J.*: Naturwiss. 44, 37, 1957.
- (12) *Rohrllich, M.* – *Schlüssler, H. J.*: ZUL 108, 405, 1958.
- (13) *Winzor, D. J.* – *Zentner, H.*: J. Sci. Food. Agric. 13, 428, 1962.
- (14) *Sanger, F.*: Biochem. J.: 39, 507, 1945.
- (15) *Edman, P.*: Acta Chem. Scand. 4, 284, 1950.
- (16) *Roverly, M.* – *Fabre, S.*: Bull. Soc. Chim. Biol. 35, 541, 1953.
- (17) *Dévényi T.* – *Gergely J.*: Aminosavak, peptidek, fehérjék Budapest, 1963.
- (18) *Lásztity R.*, *Nedelkovits J.*, *Varga J.*: Sikérfehérje frakciók egyes kémiai és reológiai tulajdonságainak vizsgálata. Előadás a Magyar Biokémiai Társaság II. Nagygyűlésén, Budapest.

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ N-ТЕРМИНАЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКАХ ЗЕРНА

Я. Варга

Автор исследовал N-терминальные аминокислоты, в белковых фракциях зерна (альбумин, глобулин, глиадин, глютеин) методом 2,4-динитрофенилбензола по Шангеру. Исследовал также условия динитрофенилирования. ДНФ-ированные аминокислоты разделил бумажной хроматографией и бумажным электрофорезом. Сопоставил результаты разных бумажнохроматографических исследований и применил новый буферный раствор собственной разработки для исследований бумажным электрофорезом.

Установил, что конечные группы фракций альбумина, глобулина, глиадина и глютеина одинаковые а именно: аспарагиновая – глютаминовая – кислота, треонин и аланин.

В связи с осуществлением исследований обращает внимание на некоторые методические вопросы.

EINIGE METHODISCHE FRAGEN ZUR BESTIMMUNG DER N-TERMINALEN AMINOSÄUREN VON GETREIDE-EIWEISSSTOFFEN

J. Varga

Verfasser prüfte N-terminale Aminosäuren von Getreideeiweissfraktionen (Albumin, Globulin, Gliadin, Glutenin) mittels der 2,4-Dinitrofluorbenzolmethode nach Sanger. Es wurden die Bedingungen der Dinitrophenylierung untersucht. Die DNF Aminosäuren wurden mittels Papierchromatographie und Papier-elektrophorese getrennt. Es wurden die Resultate der verschiedenen papier-chromatographischen Versuche miteinander verglichen und für die Papier-elektrophorese ein selbst zusammengestellter Puffer ausprobiert.

Verfasser stellte fest, dass die Endgruppen der Albumin-, Globulin-, Gliadin- und Gluteninfraktionen identisch sind. Im Laufe seiner Versuche machte er auf mehrere methodische Probleme aufmerksam.

SOME METHODOLOGICAL PROBLEMS IN THE DETERMINATION OF THE N-TERMINAL AMINO-ACIDS OF WHEAT PROTEINS

J. Varga

The N-terminal amino-acids of wheat protein fractions were examined with Sanger's 2,4-dinitrofluorobenzene method. Conditions of dinitrophenylation and methodological problems connected with it were studied; the formed DNF-amino-acids were separated by paper chromatography and paper electrophoresis. The various chromatograms were compared and a new buffer solution for electrophoresis was tested. It was found that the terminal groups of the albumine, globuline, gliadine and glutenine fractions were the same: namely aspartic acid, glutamic acid, threonine and alanine.

Some methodological problems of the investigations are pointed out.

DONNÉES CONCERNANT QUELQUES PROBLÈMES RHÉOLOGIQUES DE LA FABRICATION DU CHOCOLAT, II.

J. Varga

L'auteur a étudié dans ses détails par ses propres recherches et les données de la littérature la période de consolidation de la fabrication du chocolat. Il a étudié la formation de la viscosité des chocolats consolidés sous une teneur d'eau constante et variable, l'effet du beurre de cacao et de la grandeur des grains sur la viscosité, ainsi que la quantité optimale de la lécithine et du temps de son application. Il a établi qu'en outre du temps de la consolidation, le mode du traitement et la teneur en eau du chocolat influencent décisivement la viscosité du chocolat.

Il donne des informations numériques concernant la quantité optimale de la lécithine et le temps de son application.