

Az SDS-PAGE módszer alkalmazása az őszi búzafajták lisztminőségének megítélésében

Tóth Árpád – Sipos Péter – Borbély Mária –
Uri Csilla – Győri Zoltán

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,
Mezőgazdaságtudományi Kar,
Élelmiszertudományi és Minőségbiztosítási Tanszék, Debrecen
totharpad@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Cikkünkben ismertetjük az általunk alkalmazott SDS-PAGE módszert, annak kialakulását és használatának jelentőségét. Megállapítható, hogy a módszer széleskörű alkalmazhatóságának és a búza tartalékfehérjék elválasztásában elérhető nagyfokú érzékenységének köszönhetően a modern molekuláris biológiai kutatások egyik alappillérvé vált.

A módszer alkalmazását konkrét példa alapján szemléltetve célunk volt megvizsgálni, hogy egy gyenge sütőipari minőségű búzatételből lehet-e értékesebb lisztet előállítani a liszt szemcseméret szerinti frakcionálásával. Tanulmányoztuk az őszibúza-lisztből szitálással előállított, különböző szemcseméretű lisztfrakciók reológiai tulajdonságait. Az eredeti liszt B2-es sütőipari minőségű volt, melyből a 125-90 és 90-63 µm mérettartományú frakciókat találtuk szignifikánsan jobb minőségűnek (B1-es minőségi csoport). Ezen frakciók nyersfehérje-tartalma szintén statisztikailag igazolhatóan magasabb volt az eredeti liszt fehérjetartalmától. Felvetődött a kérdés, hogy ezen frakciók jobb sütőipari minőségét a magasabb fehérjetartalom, vagy más tényező okozta-e? Erre a kérdésre a magyarázatot a lisztminták fehérje-összetételében kerestük. A glutenin-frakciók elválasztását SDS-PAGE módszerrel végeztük, majd kiértékeljük az egyes molekulatömegfrakciók százalékos megoszlását. Ezután korrelációanalízist végeztünk, melynek eredményei alapján megállapítottuk, hogy az LMW-Glutenin D-csoportjának (52-60 kDa) mennyisége és a liszt szemcsefrakciók sütőipari értékszáma között szoros negatív korreláció áll fenn ($r = -0,855^*$), vagyis a glutenin frakció mennyisége negatívan befolyásolta a lisztminták sütőipari minőségét.

Kulcsszavak: őszi búza, sütőipari minőség, gél-elektroforézis

SUMMARY

The principle, development and importance of the SDS-PAGE method are presented in this article. The SDS-PAGE method has become one of the basic methods of molecular biological research, because it is widely applicable and its sensitivity is excellent in the separation of wheat storage proteins.

We have shown the application of this method with a concrete example. It was also tested whether, it was possible to obtain a better baking quality product from a large amount of poor quality less valuable wheat by fractioning the flour according to particle sizes after grinding. We studied the rheological properties of flours with different particle size fractions from the original flour. The baking quality of the original flour was B2. The 125-90 and 90-63 µm fractions have significantly better baking quality (B1) than the original flour. The protein contents of these flour fractions were also significantly higher than the protein content of the original flour. We had a question: what has influenced the

baking quality: the protein content or other factors? We searched for an explanation on these results in the protein composition of the flour samples. We studied the distribution of glutenin-fractions by SDS-PAGE method and evaluated them. We found with correlation analysis that the amount of LMW-Glutenin D-group (52-60 kDa) is in a strong, negative correlation to the baking quality ($r = -0,855^*$). Therefore, the baking quality of flour samples was influenced by this glutenin fraction.

Keywords: winter wheat, baking quality, gel-electrophoresis

BEVEZETÉS

A gabonanövények termése közül a búza termése teljesen egyedi, hiszen sikértartalma miatt kenyérfőzésre csak a búza lisztje alkalmas. A búzatermesztő országokban élő emberek esetében, a szinte mindennapos kenyér- és pékáru fogyasztás miatt, a búzafehérjék jelentik az emberi táplálkozás számára a fehérjék egyik legalapvetőbb forrását. Korántsem mindegy tehát, hogy egy búzamintának mekkora a sikérfehérje-tartalma, hiszen ez alapvetően meghatározza a sütőipari felhasználás irányát, lehetőségeit. Ezen túlmenően azonban hiába tartalmaz a búzaszem átlagon felüli sikérmennyiséget, ha annak minősége nem teszi lehetővé, hogy a lisztből kelesztéssel készülő termékeket állítsanak elő. A sikérfehérjék heterogén rendszerének megismerése csakis egy nagy felbontású vizsgálati módszerrel történhet, mint amilyen például az elektroforézis. A sikérfehérjéknek molekulatömegük alapján való elválasztásával lehetőség nyílik a búzaminták mélyreható jellemzésére, mely során fényt lehet deríteni a mennyiségi-minőségi ellentmondások okaira.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az elektroforézis története

Az elektroforézis módszere a következő elven alapszik: a töltéssel rendelkező, szeparálható molekulák oldatban, elektromos erőter hatására, különböző sebességgel az ellentétes polaritású elektród felé vándorolnak. Az elmozdulás mértéke függ: egyrészt a molekula alakjától, töltésétől, méretétől, másrészt a közeg pH-jától, viszkozitásától, a közeg ionburok képzésére való hajlamától, valamint az elektromos térerő nagyságától.

A fehérjemolekulák oldatban történő elválasztására tett első kísérletek Lodge (1886)

nevéhez fűződnek (Hajós, 1993). Közben Smirnow (1892) toxinoldatok elválasztásán dolgozott. A módszer gyorsan fejlődött (globulinok elektromos erőterben való elválasztása; Picton és Linder, 1897; Hardy, 1899) és hamarosan összefoglaló művek írására is sor került (Schwerin, 1914). A későbbiekben Tiselius (1937) bevezette a mozgó határfelületek módszerét. Az oldatban történő elválasztás után megjelentek a szilárd hordozóanyagok: üvegyapot (Coolidge, 1939), szilikagél (Conden et al., 1946), cellulóz (Porath, 1956), papír (Vámos, 1967). Ezeket a porózus, molekulaszűrő hatású anyagok használata követte: agaróz, keményítő, majd az akrilamid és az N,N'-metilén-bisz-akrilamid polimerizációs terméke a poliakrilamid (Hjerten et al., 1965; Radola, 1980; Andrews, 1988). Az elektroforézist SDS (Nátrium-dodecyl-szulfát) jelenlétében végezve lehetőségessé vált a molekulák kizárólag molekulatömeg alapján való elválasztása (Weber és Osborn, 1969).

A módszer alkalmas idegen fehérjék detektálására és azonosítására, fajtaazonosításra és -ellenőrzésre, ezeken túl a fehérjék szerkezetében klimatikus és agrotechnikai tényezők hatására bekövetkező változások vizsgálatára, illetve sok más egyéb tudományterületen való kutatásra is.

A búza tartalékfehérjéinek jellemzése

A búzafehérjéket Osborn-szerint felosztva négy fő csoportot kapunk. Az albuminok és a globulinok túlnyomórészt fiziológiailag aktív fehérjék, míg a gliadinok és gluteninek tipikus tartalékfehérjék, melyek együtt alkotják a sikért (Lásztity, 1999). A kemény, piros szemű őszi búza minősége a sikérfehérjétől függ. A gliadinok és gluteninek, mint heterogén fehérjecsoportok, összetevőikkel együtt specifikus funkcionális tulajdonságokkal rendelkeznek, ami összefüggésben áll a felhasználhatóságukkal (Triboi és Triboi-Blondel, 2001). A tartalékfehérjék molekuláris szerkezete meghatározza a kenyérfőzés folyamatára alatt lejátszódó kölcsönhatásokat (Bushuk, 1998). Általánosan elfogadott tény, hogy a sikérfehérjék több mint száz, különböző típusú polipeptid-aggregátum keverékéből állnak, melyek szerkezetét kovalens és nem kovalens kötések alakítják ki (Lásztity, 1996). A gluteninek a természetben előforduló legnagyobb fehérjemolekulák (Wrigley, 1996). A S-S hidak felszakítása után a gluteninokat SDS-PAGE rendszerben vizsgált elektroforetikus mobilitásuk alapján négy csoportra lehet osztani: A-, B-, C- és D-csoport. Az A-csoport (80-120 kDa molekulatömegeg) megfelel HMW-Gluteninek csoportjának (Payne és Corfield, 1979). A B-csoport (42-51 kDa) és a C-csoport (20-40 kDa) alkotják az LMW-Gluteninokat, melyek távoli rokonságban állnak a γ - és az α -gliadinokkal (Payne és Corfield, 1979; Payne et al., 1985; Thompson et al., 1994). Végül a D-csoport (52-60 kDa), mely szintén az LMW-Gluteninek csoportjába tartozik, meglehetősen erős savassága miatt a ω -gliadinokkal mutat hasonlóságot (Masci et al., 1993).

Az őszi búza lisztek reológiai tulajdonságainak meghatározása

Az őszi búza lisztből készült tészta legfontosabb minőségi paraméterei közé tartoznak a tészta reológiai tulajdonságai, melyek a tészta elaszticitási (rugalmasság) és viszkozitási (nyúlósság) tulajdonságait foglalják magukba (Walker és Hazelton, 1996). A liszt szemcseméretének a tészta reológiai tulajdonságokra való hatását kevés cikkben tanulmányozták, jóllehet a liszt szemcsemérete alapvetően befolyásolja a liszt minőségét (Yamamoto et al., 1996). Ezek egyike Hatcher et al. (2002) munkája, akik megállapítják, hogy a 85-110 μ m szemcseméretű lisztfrakció adta a legjobb minőségű és szöveti felépítésű végterméket, és emellett a vízfelvétele is ennek a frakciónak volt a legnagyobb. Vizsgálataink során a reológiai tulajdonságokat egy új műszerrel, egy Micro Z-arm Mixerrel határoztuk meg. A műszernek a kutatásban való alkalmazhatóságát és a hagyományos mérőműszerekhez történő összehasonlíthatóságát több alkalommal is vizsgálták (Tömösközi et al., 2002, 2003). A hagyományos Brabender Farinográf-fal mért vízfelvevő képesség eredmények és a Z-arm mixer eredményei között erős korrelációt tapasztaltak Haraszi et al. (2003).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgált búzaminta egy 2003-as kereskedelmi búzatételéből származó átlagminta. A minta őrlését egy CHOPIN LABORATORY MILL CD 1 (Chopin, Villeneuve-la-Garenne, France) malmon végeztük a 6367/9-1989 számú Magyar Szabványnak megfelelően, 67%-os kiörlés mellett. A lisztminta szemcseméret szerinti frakcionálását 250, 200, 160, 125, 90 és 63 μ m lyukátmérőjű sziták segítségével végeztük, mert Magyarországon a 250 μ m szemcseméret alatti liszt használható fel malmi, illetve sütőipari feldolgozásra.

Az eredeti, frakcionálatlan liszt és a különböző szemcseméretű lisztfrakciók vizsgálatát a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum Mezőgazdaságtudományi Kar Élelmiszertudományi és Minőségbiztosítási Tanszékének akkreditált laboratóriumában végeztük el. A reológiai tulajdonságok meghatározását egy FQA-2000 Micro Z-arm Mixer (Metefém, Budapest, Hungary) segítségével végeztük. A mérésekhez 4 g tömegű lisztmintát használtunk, a mérések ideje 15 perc volt. A görbék kiértékelése egy kísérleti szoftverrel történt, melyet Sipos Péter fejlesztett ki. Eredményeink helyességét CRM 563 számú hiteles lisztmintával ellenőriztük. A minták fehérjetartalmát az AACC 46-10 (Kjeldahl-method) számú nemzetközi szabvány alapján határoztuk meg. A fehérje frakciók előállítását Feillet et al. (1977) módszerével, a frakciók molekula tömegeloszlás vizsgálatát SDS-PAGE módszerrel történt Laemmli-féle puffer-rendszer (Laemmli, 1970) alkalmazásával, 15%-os akrilamid gélen, egy CONSORT E385 típusú Electrophoresis Power Supply (Belgium)

segítségével. A gél kiértékeléséhez Gene Tools v. 3.00.22 (Syn Gene, Cambridge, England) szoftvert használtunk.

A fehérjetartalom és a reológiai tulajdonságok meghatározását három ismétlésben végeztük, az eredményeket a minták szárazanyag-tartalmára vonatkozólag adtuk meg. Az adatokat egytényezős varianciaanalízissel és korrelációanalízissel, SPSS 11.5 for Windows és Excel 6.0 for Windows programok segítségével értékeltük ki, az SzD 5% értékét Sváb (1973) szerint számítottuk ki.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Az egytényezős varianciaanalízis eredményei szerint a tészta stabilitási idejének kivételével a szemcseméretnek 0,001% szinten szignifikáns hatása van a reológiai részparaméterek alakulására, és ebből következőleg a technológiailag legfontosabb két mutatóra, a vízfelvétele és sütőipari értékszámra is, valamint a fehérjetartalomra (1. táblázat).

1. táblázat

Az eredeti lisztminta és a különböző szemcseméretű lisztfrakciók reológiai tulajdonságai

Szemcseméret (µm)(1)	Tészta kialakulási idő (sec)(2)	Tészta stabilitási idő (sec)(3)	Tészta ellágyulási idő (sec)(4)	Vízfelvétel képesség (%) (5)	Sütőipari értékszám(6)	Fehérjetartalom (%) (7)	Tömegeloszlás (%) (8)
Eredeti liszt(9)	165±5	147±5	113±8	52,0±0,0	52,0±1,0	13,7±0,1	100
250-200	117±16	126±27	133±10	54,0±0,0	44,0±0,0	13,1±0,1	30,9
200-160	96,0±31,6	168±45	118±13	53,0±0,0	50,0±2,7	13,3±0,0	11,4
160-125	132±14	162±24	111±8	52,5±0,0	51,7±1,5	13,4±0,0	20,1
125-90	162±31	177±42	97,7±3,2	53,8±0,3	56,7±0,6	13,6±0,1	18,8
90-63	219±34	189±48	72,0±7,8	57,3±0,3	66,3±3,2	15,5±0,2	13,7
<63	108±9	189±56	129±15	54,0±0,0	47,0±3,6	12,7±0,1	5,1
SzD 5%(10)	43,87***	74,47	18,24***	0,30***	4,17***	0,21***	-

Table 1: Rheological properties of the original flour sample and the properties of the different flour fractions
Particle size(1), Development time(2), Stability time(3), Softening time(4), Water absorption capacity(5), Baking value(6), Protein content(7), Mass distribution(8), Original flour sample(9), LSD 5%(10)

A 125-90 µm szemcsenagyságú tartomány az eredeti liszt tömegének 18,8%-át, míg a 90-63 µm szemcsenagyságú frakció annak 13,7%-át tette ki. Így az eredeti lisztből, az eredeti liszt tömegének 32,5%-át kitevő, annál jobb sütőipari minőséggel rendelkező lisztet nyertünk ki, egyszerű szítással.

Felvetődött a kérdés, hogy ezen frakciók jobb sütőipari minőségét a magasabb fehérjetartalom vagy más tényező okozta-e? Erre a kérdésre a magyarázatot a lisztminták fehérje-összetételében kerestük. A glutenin-frakciók elválasztását SDS-PAGE módszerrel végeztük.

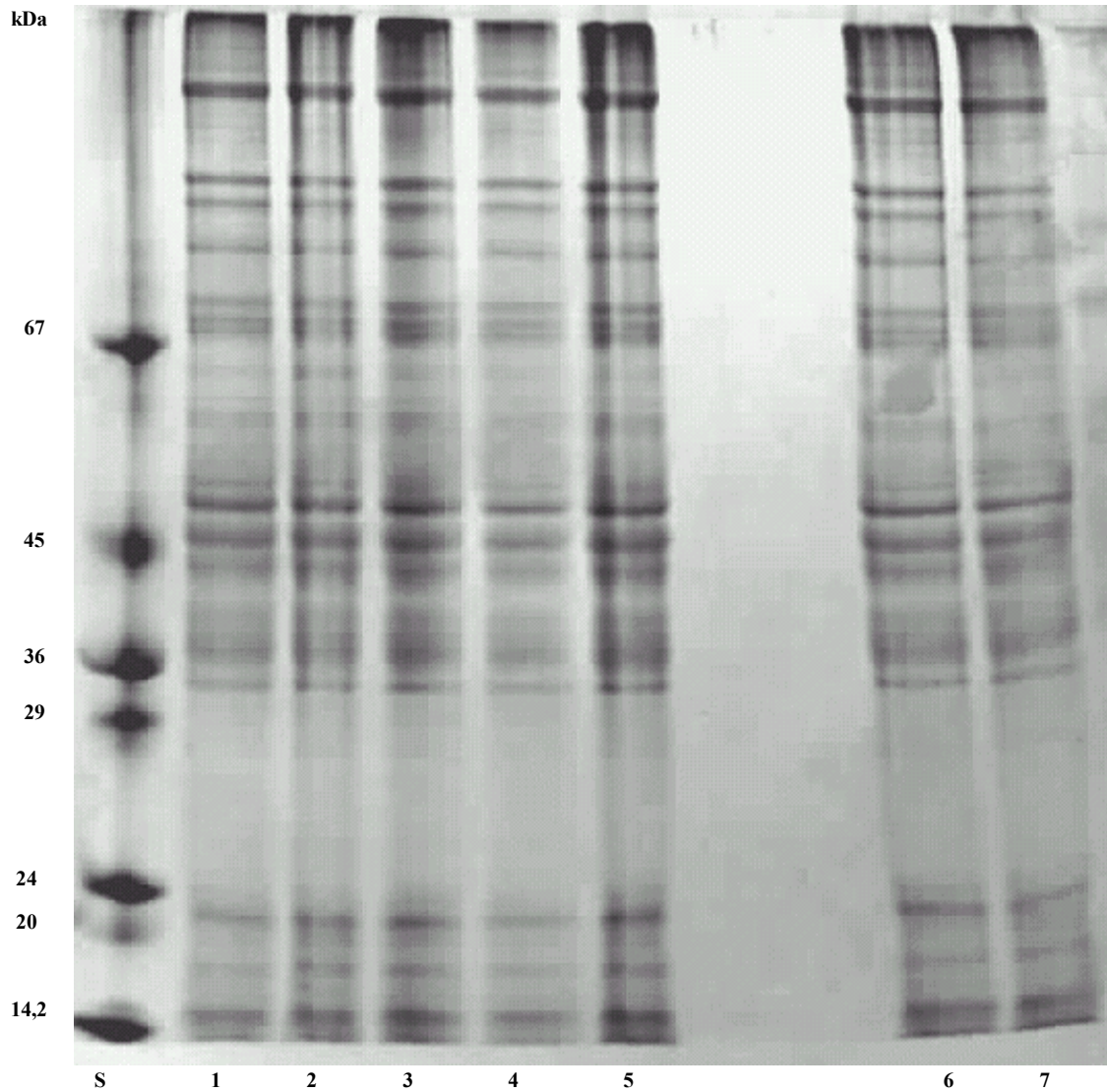
Az 1. ábra a bal oldali standard fehérje sáv mellett az eredeti liszt és csökkenő szemcseméret szerinti sorrendben a különböző liszt szemcsefrakciók glutenin-alegységeinek elektroferogramját mutatja. Ennek kiértékeléséhez egy denzitogramot vettünk fel, melynek bemutatására itt nincs mód. Megállapítottuk, hogy az azonos molekulásúlyt képviselő csúcsok a startvonaltól azonos távolságra jelennek meg, vagyis tökéletesen beazonosíthatók. Megállapítottuk továbbá, hogy a 70 kDa molekulásúly fölötti tartományban a legnagyobb abszorbanciákat a legjobb minőségű lisztminta esetében mértük. A 70-24 kDa közötti tartományban

az eredeti liszt adta a legnagyobb abszorbancia-értékeket. A 24 kDa alatti molekulásúlyú glutenin-alegységek a legrosszabb reológiai minőségű lisztminta esetében voltak jelen legnagyobb mennyiségben.

A fenti megállapítások alaposabb vizsgálata érdekében a szakirodalom szerint elvégeztük a gluteninek felosztást HMW-G (magas molekulásúlyú gluteninek), LMW-G (alacsony molekulásúlyú gluteninek) D-, LMW-G B- és LMW-G C-csoportokra.

Ezek százalékos arányát a lisztmintákban az összes gluteninhez viszonyítva a 2. ábrán ábrázoltuk. A szemcseméret csökkenésével növekvő tendenciát mutatnak a 20-40 kDa molekulásúlyú (LMW-G C-csop.) és 80-120 kDa molekulásúlyú (HMW-G) frakciók. A 42-51 kDa molekulásúlyú (LMW-G B-csop.) glutenin frakció a legkisebb szemcseméretű lisztfrakció (63 > µm) kivételével minden lisztmintában 22-24%-ban fordult elő. A lisztek szemcseméretének csökkenésével, a legkisebb szemcseméretű frakciót kivéve, az 52-60 kDa molekulásúlyú glutenin-frakció (LMW-G D-csop.) mennyiségében egyértelmű csökkenését állapítottuk meg.

1. ábra: A különböző szemcseméretű lisztminták glutenin-frakcióinak elektroferogramja



Jelmagyarázat (balról jobbra): S: standard kalibrációs kit (molekulatömegek: 67 kDa, 45 kDa, 36 kDa, 29 kDa, 24 kDa, 20 kDa, 14,2 kDa; SIGMA-ALDRICH); 1. eredeti liszt; 2. 250–200 µm; 3. 200–160 µm; 4. 160–125 µm; 5. 125–90 µm; 6. 90–63 µm, 7. 63 > µm szemcseméret frakciók(1)

Figure 1: SDS-PAGE electrohorograms of glutenin fractions of different particle size region of winter wheat flour
 Left to right: S: standard calibration kit (molecular weights: 67 kDa, 45 kDa, 36 kDa, 29 kDa, 24 kDa, 20 kDa, 14,2 kDa; SIGMA-ALDRICH); 1. original flour; 2. 250–200 µm; 3. 200–160 µm; 4. 160–125 µm; 5. 125–90 µm; 6. 90–63 µm, 7. 63 > µm particle size regions of flour(1)

2. ábra: A különböző szemcseméretű lisztminták glutenin-frakcióinak megoszlása

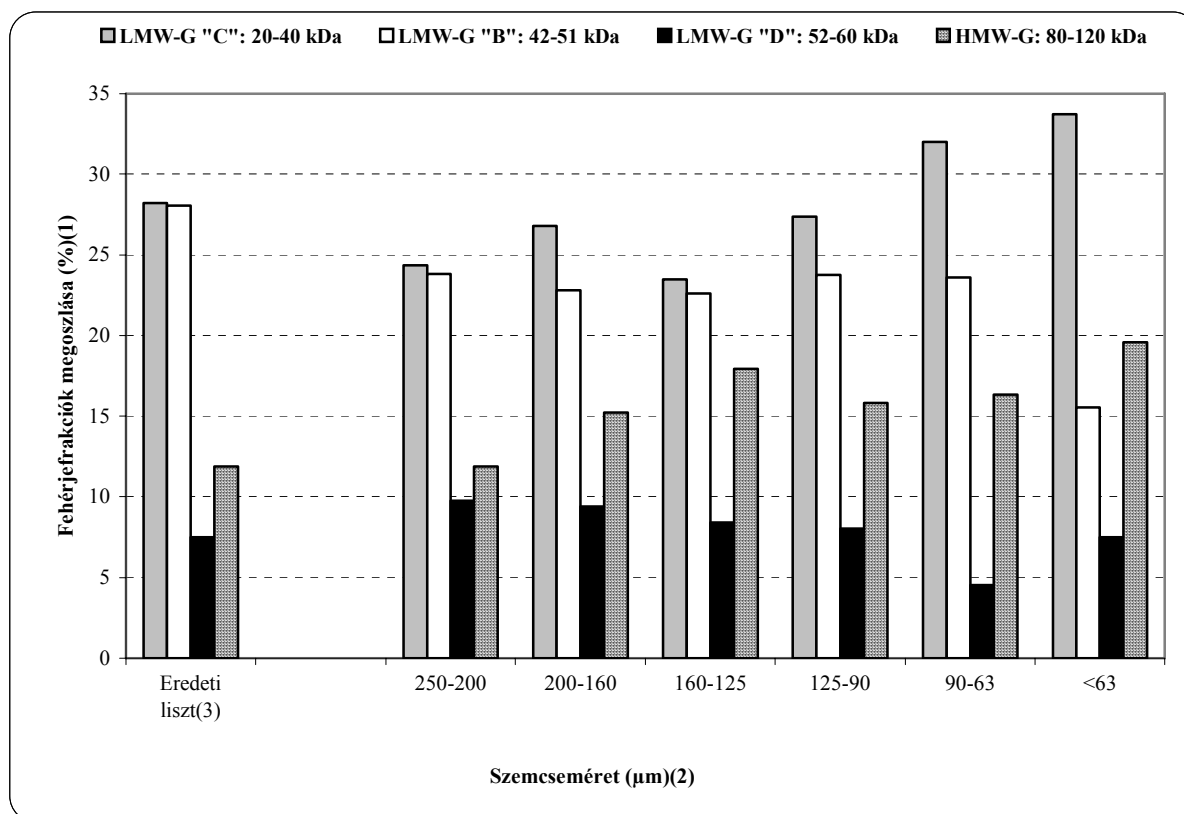


Figure 2: Distribution of glutenin-fractions of different flour samples
Distribution of glutenin-fractions(1), Particle size(2), Original flour(3)

A bemutatott tendenciák és a minták reológiai tulajdonságai között korrelációanalízissel kerestünk összefüggéseket (2. táblázat). Szoros negatív, szignifikáns kapcsolatot állapítottunk meg az 52-60 kDa molekulásúlyú glutenin-frakció (LMW-G D-csop.) mennyisége illetve a tészta kialakulási idő, a vízfelvő képesség és a sütőipari értékszám között. Szintén szoros, ám az előzőekből egyértelműen következően pozitív, szignifikáns kapcsolat áll fenn az imént említett glutenin-frakció és a tészta ellágyulási idő között.

KÖVETKEZTETÉSEK

A lisztminta szemcseméret szerinti frakcionálásával egymástól szignifikánsan eltérő sütőipari minőséggel rendelkező liszt szemcseméret-frakciókat kaptunk. Az egytényezős varianciaanalízis eredményei szerint a fenti megállapítás alól csak a tészta stabilitási idő képezett kivételt. A lisztből az eredeti lisztnél jobb minőségű lisztfrakciók

elválasztása egy kenyérfőzésre kedvezőbb adottságú nyersanyagot eredményez, míg a visszamaradt liszt keksz-, illetve egyéb, kelesztés nélkül készülő sütőipari termékek gyártásra használható fel eredményesebben.

A különböző szemcseméretű lisztfrakciók közül a legjobb minőségűben (90-63 µm) volt a legmagasabb a HMW-Gluteninek aránya. A legrosszabb minőségű lisztfrakció (250-200µm) pedig a 24 kDa alatti molekulásúlyú glutenin-alegységeket tartalmazta a többi lisztfrakciónál nagyobb mennyiségben. Statisztikailag is igazolhatóan azonban csak a szakirodalmi besorolás szerinti LMW-Gluteninek D-csoportjának mennyisége tudta szignifikánsan befolyásolni a vizsgált lisztminták reológiai minőségét. Ezen glutenin frakció mennyisége szoros, negatív kapcsolatban áll a sütőipari értékszámmal és fehérjetartalommal, így az egyébként is alacsony fehérjetartalmú lisztfrakciók fehérjéjében arányaiban nagyobb mennyiségben vannak jelen ezek a minőségcsökkenést determináló glutenin-alegységek.

A glutenin -frakciók mennyisége és a Micro Z-arm mixerrel mért minőségi paraméterek közötti korrelációs összefüggések

	LMW-G C-csop (20-40 kDa)	LMW-G B-csop (42-51 kDa)	LMW-G D-csop (52-60 kDa)	HMW-G (80-120 kDa)	Tészta kialakulási idő(1)	Tészta stabilitási idő(2)	Tészta ellágyulási idő(3)	Vízfelvevő képesség(4)	Sütőipari érték- szám(5)	Fehérje- tartalom(6)
LMW-G C-csop (20-40 kDa)	1									
LMW-G B-csop (42-51 kDa)	-0,639	1								
LMW-G D-csop (52-60 kDa)	-0,699	0,082	1							
HMW-G (80-120 kDa)	0,543	-0,708	-0,431	1						
Tészta kialakulási idő(1)	0,313	0,396	-0,855*	0,04	1					
Tészta stabilitási idő(2)	0,785	-0,441	-0,727	0,786	0,413	1				
Tészta ellágyulási idő(3)	-0,285	-0,432	0,822*	-0,138	-0,934**	-0,555	1			
Vízfelvevő képesség(4)	0,617	0,119	-0,856*	-0,047	0,825*	0,388	-0,705	1		
Sütőipari értékszám(5)	0,359	0,365	-0,855*	0,189	0,926**	0,613	-0,997**	0,728	1	
Fehérje- tartalom(6)	0,305	0,427	-0,841*	-0,025	0,915*	0,37	-0,909*	0,858*	0,908*	1

* P = 5%(7)

** P = 1%(8)

Table 2: Correlations between the quantity of glutenin-fractions and quality parameters of flour samples

Development time(1), Stability time(2), Softening time(3), Water absorption capacity(4), Baking value(5), Protein content(6), Probability level = 0.05(7), Probability level = 0.01(8)

IRODALOM

- Andrews, A.T. (1988): Electrophoresis. Theory, techniques, and biochemical and clinical applications, Oxford Scinces Publication, Clarendon Press. Oxford.
- Bushuk, W. (1998): Wheat breeding for end-product use. Euphytica, 100. 137-145.
- Consden, R.-Gordon, A.H.-Martin, A.J.P. (1946): Ionphoresis in silica jelly. Biochem. J., 40. 33-41.
- Coolidge, T.B. (1939): A simple cataphorsis apparatus. J. Biol. Chem., 127. 551-554.
- Feillet, P.-Fevre, F.-Kobrehel, K. (1977): Modifications in Durum Wheat Protein Properties During Pasta Dough Sheeting. Cereal Chemistry, 54. 3. 580-587.
- Hajós Gy. (1993): Elektroforézis és alkalmazása az élelmiszerfehérjék elválasztásában. Élelmiszervizsgálati közlemények, 39. 1. 6-25.
- Haraszi, R.-Békés, F.-Bason, M.L.-Dang, J.M.C.-Blakeney, J.L. (2003): Dough mixing studies on the micro Z-arm mixer. Abstracts of the 8th Gluten Workshop, 8-10 September, 2003, Viterbo. Italy, 24.
- Hardy, W.B. (1899): Movement of globulins in an electric field. J. Physiol., 24. 288.
- Hatcher, D.W.-Anderson, M.J.-Desjardins, R.G.-Edwards, N.M.-Dexter, J.E. (2002): Effects of Flour Particle Size and Starch Damage on Processing and Quality of White Salted Noodles. Cereal Chemistry, 79. 1. 64-72.
- Hjerten, S.-Jerstedt, S.-Tiselius, A. (1965): Electrophoretic particle sieving in polyacrylamid gels as applied to ribosomes. Anal. Chem., 11. 211-218.
- Laemli, U.K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. Nature, 227. 680-685.
- Lásztity, R. (1996): The chemistry of cereal proteins. CRC Press, Boca Ralton. New York. London. Tokyo.
- Lásztity, R. (1999): Cereal chemistry. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Lodge, A. (1886): D. A. Report (Thesis).
- Masci, S.-Lafiandra, D.-Porceddu, E.-Lew, E.J.L.-Tao, H.P.-Kasarda, D.D. (1993): D-glutenin subunits: N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine. Cereal Chemistry, 70. 581-585.
- Payne, P.I.-Corfield, K.G. (1979): Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. Planta., 145. 83-88.

- Payne, P.I.-Holt, L.M.-Jarvis, M.G.-Jackson, E.A. (1985): Twodimensional fractionation of the endosperm proteins of bread wheat (*Triticum aestivum*): Biochemical and genetic studies. *Cereal Chemistry*, 62. 319-326.
- Picton, H.-Linder, S.E. (1897): Solution and pseudo-solution. Part III. The Electrical Convection of Certain Dissolved Substances. *J. Chem. Soc.*, 71. 568-574.
- Porath, J. (1956): Methodological studies of zone-electrophoresis in vertical columns I. Fractionation in cellulose powder columns of substances of low molecular weight exemplified by amino acids and related compounds. *Biochim. Biophys. Acta*, 22. 151-175.
- Radola, B.J. (1980): Electrophoresis 79. Advanced methods, Biochemical and Clinical Applications, Walter de Gruyter. Berlin. New York.
- Schwerin, B. (ed.: Pratusnitz, P.H.-Reitstotter, J.) (1914): Rewieied in: Elektrophorese, elektroosmose, elektrodialyse in flüssigkeiten.
- Smirnow, A. (1892): *Berl. klin. Woch.* 32. 645.
- Sváb J. (1973): Biometriai módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Thompson, S.-Bishop, D.H.L.-Tatham, A.S.-Shewry, P.R. (1994): Exploring disulphide bond formation in a low molecular weight subunit of glutenin using a baculovirus expression system. In: *Gluten Proteins 1993. Association of Cereal Research: Detmold, Germany.* 345-355.
- Tiselius, A. (1937): A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. *Trans. Faraday Soc.*, 33. 524-531.
- Tömösközi, S.-Békés, F.-Haraszi, R.-Gras, P.W.-Varga, J.-Salgó, A. (2002): Application of micro Z-arm dough mixer in wheat research – Effect of protein addition on mixing properties of wheat dough. *Periodica Polytechnica Ser. Chem. Eng.*, 46. 1. 31-38.
- Tömösközi, S.-Kindler, A.-Varga, J.-Láng, L.-Bedő, Z.-Békés, F. (2003): Determination of breadmaking quality of wheat flour dough with different macro and micro mixers. Abstracts of the 8th Gluten Workshop, 8-10 Sept. 2003, Viterbo. Italy, 50-51.
- Triboi, E.-Triboi-Blondel, A.M. (2001): Environmental effects on wheat grain growth and composition. *Aspects of Applied Biology*, 64. 91–101.
- Vámos V.L. (1967): *Papírelektroforézis. Műszaki Könyvkiadó, Budapest.*
- Walker, C.E.-Hazelton, J.L. (1996): Dough Rheological Tests. *Cereal Foods World*, 41. 1. 23-28.
- Weber, K.-Osborn, M. (1969): The reliability of molecular weight determinations by Dodecyl Sulfate-Polyacralamide Gel Electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244. 4406-4412.
- Wrigley, C.W. (1996): Giant proteins with flour power. *Nature*, 381. 738-739.
- Yamamoto, H.-Worthington, S.T.-Hou, G.-Ng, P.K.W. (1996): Rheological properties and baking qualities of selected soft wheats grown in the United States. *Cereal Chemistry*, 73. 2. 215-221.