

## Gliadin enzimes hidrolízise és a hidrolízistermékek elválasztása

NEDELKOVITS JÁNOS

és

PÁKHNÉ, CSÉCSI-NAGY MÁRIA

Budapesti Műszaki Egyetem Élelmiszerkémia Tanszék

Érkezett: 1969. december 10.

Az utóbbi évtized a búzafehérje kémia és különösen a sikér komplex vizsgálata területén számos új, érdekes eredményeket hozott. Fontosabb adataink vannak a sikér aminosav összetételéről; az új korszerű elválasztási módszerek alkalmazásával sikerült nagyszámú frakcióra bontani a sikérkomplexet. A frakciók ultracentrifugás analízise, az oldatok optikai és reológiai vizsgálata, a diszulfid kötések redukciója és reoxidációja során keletkezett termékek tanulmányozása a sikérfehérjék szerkezetéről adott felvilágosítást. Eredményes vizsgálatok folytak a sikér kémiai szerkezete és reológiai sajátosságai közötti összefüggések kiderítése érdekében. Mindezekről több összefoglaló jellegű tanulmány (1, 2, 3, 4, 5) ad áttekintést.

Az eddig elért eredmények alapján a közeljövőben előtérbe fog kerülni a szerkezet behatóbb megismerése és ezen belül az aminosav szekvenciavizsgálat is. A jelenleg ismert módszerekkel az aminosavak sorrendjének meghatározása csak kisebb tagszámú peptideknél lehetséges. A fehérjék szekvencia-analízise a hidrolízistermékek analízise és a részeredmények mozaikszerű összegezése útján történhet.

A hidrolízis lehet teljes és részleges. Teljes hidrolízis során a fehérje vagy peptid alkotórészeire, szabad aminosavakra bomlik le. Ezt alkalmazzuk az aminosavösszetétel meghatározásánál. Részleges vagy parciális hidrolízist a szerkezet felderítésére alkalmazunk, amikor célunk a nagyobb molekulásúlyú vizsgálandó anyagot kisebb egységekre lebontani.

A búzasikér ilyen irányú vizsgálata területén mind ez ideig csak néhány kezdeti lépés történt. *Verma* és *McCalla* (6) a teljes sikér enzimes hidrolízisét tanulmányozta. 8%-os nátriumszalicilátban papainnal és 0,02 M aluminium-laktátban pepszinnel emésztették a diszpergált búzasikért. Azt találták, hogy a pepszin a sikért részben emésztetlenül hagyja, részben nagyobb peptidokat hasít le. Papainnal történt hidrolíziskor nagyobb számú és lényegesen kisebb molekulásúlyú peptidhez jutottak.

A gliadin enzimes hidrolízisét *Biserte* és *Han* (7) tanulmányozta. A gliadin frakcióiban – a fizikai heterogenitás ellenére a glutaminsav és prolin túlsúlya mindig kimutatható volt. A hidrolízátumok elektrokromatográfiás vizsgálata szerint a pepszines és pankreatinos hidrolízátum számos peptidet és aminosavat (mint pl. leucin, glutamin, glutaminsav stb.) tartalmaznak, azonban szabad prolin nem fordul elő bennük. Teljes enzimes hidrolízis után (pepszin-tripszin-kimotripszin-karboxipeptidáz-leucin-aminopeptidáz-prolináz-prolidáz) azt találták, hogy a szabad aminosavak száma és mennyisége határozottan növekedett. A legjellemzőbb a nagy mennyiségű szabad prolin megjelenése, ezenkívül glutaminsav, glutamin, leucin, alanin és fenilalanin is kimutatható volt; továbbá

két zóna, amely ninhidrinnel nem, csak *Pan* és *Dutcher* (8) szerinti reagenssel reagál. A 3,9 pH-jú pufferben végzett elektroforézisnél a két zóna savanyú és semleges frakcióra oszlik. Ezek egyikét piroglutaminsavnak találták, amely a glutaminsav és glutamin rovására alakul át az enzimes hidrolízis folyamán. A másik csoport főként glutaminsavból, valamint prolinból álló peptidkeveréket tartalmaz és semleges aminosavakat, amelyek további szétválasztása 2,4 pH-jú pufferben végzett elektroforézissel történt.

A hidrolizistermékeknel a dinitrofenilezhető N-terminálissal rendelkező aminosavak hiánya és az a tény, hogy ezek a peptidek ninhidrinnel nem reagálnak, egy

#### piroglutamin – X – X<sub>n</sub>

szerkezetet engednek feltételezni, ahol X egy prolint, glutaminsavat vagy glutamint jelent.

Az intézetünkben folyó széles körű búzafehérjekutatás keretében, támaszkodva a frakcionálás és a végcsoport analízis (9) területén elért eredményekre, tanulmányozzuk a frakciók parciális hidrolízisét és adatokat gyűjtünk a primer szerkezettel kapcsolatban. E közlemény keretében a gliadin frakcióval kapcsolatos, elsősorban módszertani jellegű kutatásaink eredményeit ismertetjük.

#### *A siker előállítása és a hidrolízis módszerei*

Vizsgálatainkhoz BL 112-es jelzésű lisztet használtunk. A búzalisztből szabvány körülmények között sikért állítottunk elő. Az így nyert sikért 70%-os etanolban szuszpendáltuk az alkohololdható frakciók kinyerése céljából. Az alkoholos oldatból a fehérjefrakciót desztilláltvízes hígítással (35% alk. tart.) csaptuk ki. A csapadékot centrifugálással különítettük el és kénsavas exszikkátorban szárítottuk.

Az alkohololdható fehérjefrakció enzimes hidrolízisét a következő enzimekkel végeztük: pepszin, tripszin, pankreatin, szubtilizin, bromelin, ficin és papain.

#### *Pepszines hidrolízis*

A szubsztrátum 1%-os oldatát sósavra nézve 0,01 N-ra állítottuk be, majd 1/30-ad rész kristályos pepszint (Merck-féle) adtunk hozzá. Mágneses keverővel 37 C°-os termosztátban 4 órán át kevertettük. A hidrolízist a pH megváltoztatásával állítottuk meg. A szilárd részeket eltávolítottuk és az oldatot liofileztük.

#### *Tripszines hidrolízis*

Kristályos tripszint (Worthington) 5 mg/ml koncentrációban desztillált vízben feloldottunk és sósavval 0,01 N-ra állítottunk be. 37 C°-on 16 órán át inkubáltuk. Ezt követően redős szűrőn szűrtük, majd semlegesítettük. Ez a sósavas preinkubáció a kismennyiségű kimotriptikus aktivitás eltávolítását szolgálja. 1 g fehérjefrakciót 100 ml 0,1 N ammóniumkarbonátban (8 pH) diszpergáltuk, 30 mg (1/30-ad rész) sósavval preinkubált tripszint adtunk hozzá, majd mágneses kevertetés mellett 4 órán keresztül inkubáltuk szobahőmérsékleten a 8 pH állandó értéken tartása mellett. A hidrolízist követően a reakcióelegyet 10 percre forrásban levő vízfürdőbe helyeztük és a leváló csapadékot szűrővel eltávolítottuk. Az oldatot liofileztük.

#### *Pankreatinos hidrolízis*

1 g fehérjefrakciót 100 ml 0,1 N ammóniumkarbonátban (8 pH) diszpergáltunk, majd 30 mg (1/30-ad rész) pankreatint (Kőbányai Gyógyszerárugyár)

adtunk hozzá. (Az enzimkészítmény feltehetően kis mennyiségben más fehérjebontó enzimet is tartalmazott.)

A reakcióelegyet mágneses kevertetés mellett 4 órán keresztül szobahőmérsékleten inkubáltuk. A hidrolízist forralással (10 perc forró vízfürdő) szakítottuk meg. A csapadékot szűrővel eltávolítottuk és a szűrletet liofileztük.

### *Szubtilizines hidrolízis*

1%-os 0,1 N ammóniumacetátban (8 pH) diszpergált fehérjefrakciót 1/30-ad rész kristályos szubtilizinnel (Serva-féle szubtilopeptidáz – A) 5 órán át reagáltattuk szobahőmérsékleten kevertetés mellett. A hidrolízist forralással állítottuk le (10 perc vízfürdő). Az oldatot szűrés után liofileztük.

### *Papainos hidrolízis*

1 g fehérjefrakciót 100 ml 6,8 pH-jú ammóniumkarbonát pufferben diszpergáltunk. 30 mg papaint (Nutr. Biochem. Corp.) adtunk hozzá és kevertetés mellett 37 C°-on 24 órán át inkubáltuk. A reakcióelegyet 10 percre forrásban levő vízfürdőbe helyeztük a hidrolízis leállítására végett. Az oldatot szűrtük és liofileztük.

### *Bromelines hidrolízis*

### *Ficines hidrolízis*

A hidrolízist mindkét esetben a papainnál leírt módon végeztük.

## *A hidrolizistermékek elválasztásának vizsgálata*

### *Elválasztás elektroforézissel*

A hidrolizistermékekből először próbaelválasztásokat végeztünk *Mikes-féle* vertikális papírelektroforézis készüléken (LABOR MIM típus). Az elektroforézist 5,6 pH-jú (10) és 3,9 pH-jú (7) piridin-ecetsav pufferben végeztük. Az elválasztáshoz Schleicher-Schüll 2043/a. papírt használtunk. Az elektroforézist különböző feszültségen (500 – 1500 V) és ideig (2 – 6 óra) végeztük. A ferogramokat szárítás után 1%-os acetonos ninhidrin oldattal permeteztük, majd 2 – 3 órán át 40 – 50 C°-on hívtuk elő.

A kapott eredmények alapján megállapítottuk, hogy ez az eljárás bonyolult összetételű peptidkeverékek szétválasztására nem bizonyult megfelelőnek a közel fekvő zónák összemosódása miatt. Ennek oka a papír nagy puffertartalma és a jelentékeny mértékben fellépő diffúzió.

A továbbiakban középfeszültségű, horizontális, hűtőlapos elektroforézis berendezést alkalmaztunk. Itt is először próbaelválasztásokat végeztünk. A hét különböző hidrolizátum mellett ismert aminosavakat tartalmazó kontrollanyagot vittünk fel. Whatman 3 MM szűrőpapírból a berendezésnek megfelelő méretet vágunk ki (42 × 34 cm) és az alkalmazott pufferrel átitattuk. Ezt követően több réteg száraz szűrőpapír között leitattuk, majd gumihengerrel a készülék száraz és tiszta hűtőlapjára hengereltük. A papír két szélére az elektródák irányában a papír szélességénél nagyobb celofán csíkot helyeztünk. Erre illeszkedik az elektródákkal összekötő szűrőpapírnyelv, amelyre a celofán csík visszahajlik.

A felcseppentést kapilláris segítségével végeztük, kb. 3 – 5 mg/cm anyagmennyiséggel. Az elektroforézis 1100 V feszültséggel 50 – 60 mA terheléssel történt.

Egydimenziós elektroforézisnél az elválasztást 90 perc után megszakítottuk. A nedves szűrőpapírt 40–50 fokos szárítószekrényben megszáritottuk.

A bonyolultabb összetételű rendszerek elválasztásánál kétféle puffer egyidejű alkalmazásával ún. „kettős pufferolású” elektroforézissel dolgoztunk (11). Így a savanyú és bázikus aminosavak, illetve peptidok jó felbontással választóhatók szét.

Kettős pufferolás esetén a papírnak a startvonalától az anód felé eső részét 5 pH-jú pufferrel, a katód felé eső részét 6,5 pH-jú pufferrel húztuk át, majd a felesleget leittattuk. Ennek megfelelően a puffertartályokat is 5, illetve 6,5 pH-jú pufferrel töltöttük fel.

#### *Az alkalmazott pufferek készítése*

- 5 pH-jú puffer: 10 ml piridin és 10 ml jégecet desztillált vízzel 1000 ml-re kiegészítve.
- 6,5 pH-jú puffer: 100 ml piridin és 4 ml jégecet desztillált vízzel 1000 ml-re kiegészítve.

Az elektroforézis kivitelezése után a megszáritott papírt 1%-os alkoholos ninhidrin oldaton áthúztuk, amelynek 100 ml-éhez 100 mg kadmiumacetátot tartalmazó 10 ml víz és 5 ml jégecet elegyét adtunk. Ez a nindirinnel előhívott szint rögzíti és a színerősséget néhány hétig megtarja. A „kettős pufferolású” elektroforézis jó felbontóképességét az 1. ábra szemlélteti.

A felső csíkot 6,5 pH-jú pufferben futtattuk, amikor már a bázikus aminosavak jó szétválása is tapasztalható. A középső csík „kettős pufferolással” készült; ennél mind a bázikus, mind a savanyú komponensek jól szétváltak. Az alsó papíresík 5 pH-jú pufferben futott; a bázikus aminosavak nem váltak szét, ellentétben a savanyú aminosavakkal.

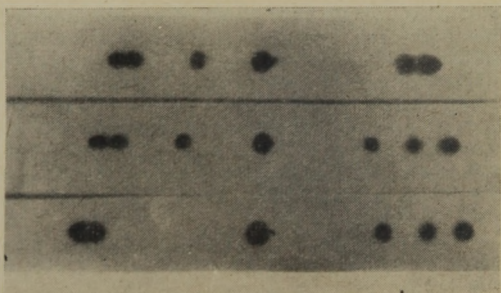
Az enzimes hidrolízistermékeknel – az első tapasztalatok alapján – tájékoztató vizsgálatokat végeztünk „kettős pufferolású” elektroforézissel. Az erről készült fényképen (2. ábra) látható, hogy a búzasikér alkohololdható frakcióját legjobban a szubtilizin és a pankreatin bontja. Ezek egydimenziós elektroforézisénel kb. 20–20 frakció különíthető el.

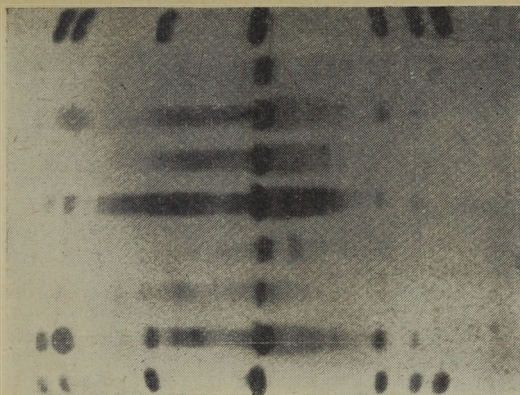
A 2. ábra két szélén látható anyag ismert összetételű aminosav keverék, amely a semleges aminosavakon kívül lizin, arginin, hisztidin, glutaminsav, aszparaginsav és ciszteinsav keverékét tartalmazza.

A pankreatinos hidrolizátum frakciói közül legnagyobb mennyiségben a szabad arginin, lizin és hisztidin fordul elő. A hisztidin és a nagymennyiségű peptidet tartalmazó semleges zóna között 3 élesen elkülönülő frakció látható. A lizin után következő halvány csík valamely bázikus peptid – valószínűleg lizil-lizin jelenlétére utal. A savanyú aminosavak közül a glutaminsav és aszpa-

1. ábra  
„Kettős pufferolású”  
elektroforézis

A felvitt aminosavak sorrendje  
balról jobbra: lizin, arginin,  
hisztidin, semleges aminosavak,  
glutaminsav, aszparaginsav és  
ciszteinsav





2. ábra

„Kettős pufferolású”  
elektroforézis

A felvitt anyagok sorrendje fentről lefelé: kontroll aminosavak, hidrolizátumok; papainos, bromelines, ficines, szubtilizines, tripszines és pankreatinos, kontroll aminosavak

raginsav azonosítható, ezenkívül számos peptid helyezkedik el a semleges zóna és a glutaminsav között. A szubtilizines hidrolizátumra jellemző a nagyszámú peptid megjelenése, viszont az azonosítható szabad aminosavak lényegesen kisebb mennyiségben vannak jelen. Ezek a következők: lizin, arginin, hisztidin, glutaminsav és aszparaginsav.

A tripszines hidrolizátumban a lizin, arginin, hisztidin, glutaminsav és az aszparaginsav nyomokban megjelenik, de valamennyi sokkal kisebb mennyiségben, mint a pankreatinos hidrolizátumnál.

A pepszines hidrolizátumra jellemző a sok semleges peptid mellett, a savanyú zónában élesen elhatárolható savanyú peptid megjelenése, amely csak ennél a hidrolizátumnál tűnik fel.

A ficines, bromelines hidrolizátumoknál a semleges peptidek vannak túlsúlyban; a lizin, arginin, glutaminsav és aszparaginsav mindkettőnél megjelenik, de a bromelinesnél nagyobb mennyiségben. A ficines bontáskor a lizin után egy még bázikusabb peptid található.

Az összes enzimes hidrolizátumra a glutaminsav hol kisebb, hol nagyobb mennyiségben való megjelenése jellemző.

„Finger print” technika alkalmazása

A peptidek hatékonyabb elválasztására elektrokromatográfiás módszert, a „finger print” technikát alkalmaztuk.

Az elválasztásokhoz Whatman 3 MM kromatográfiás szűrőpapírt használtunk. A hidrolizátumokat 4 különféle puffer, illetve kromatográfiás kifejlesztő szer alkalmazásánál vizsgáltuk:

– „kettős pufferolású” elektroforézis után (1100 V, 2 óra) a papírt megszáritottuk és 90°-kal elfordítva a *Dent* (12) által bevezetett butanolos kifejlesztőszert alkalmaztuk, amelynek összetétele: butanol-jégecet-víz 120:30:50 arányú keveréke. A kromatográfiás futtatás ideje felszálló rendszerben 16 óra.

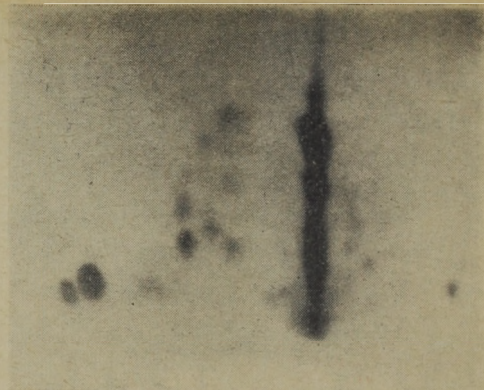
– „kettős pufferolású” elektroforézis után (1100 V, 2 óra) a papírt megszáritottuk, majd 90°-kal elfordítva a *Baglioni* (13) által leírt izoamilalkohol-piridin-víz 35:35:30 arányú elegyét felszálló rendszerben alkalmaztuk. A kifejlesztési idő 16 óra. (Az oldószerverkeveréknél igen fontos az összeöntés sorrendjének betartása!)

– „kettős pufferolású” elektroforézis után (1100 V, 2 óra) a papírt megszáritottuk és 1,9 pH-jú pufferrel bepermeteztük, az elvándorolt anyag zónáját

### 3. ábra

#### Pankreatinos hidrolizátum

„Kettős pufferolású” elektroforézis után kromatográfiás futtatás izoamilalkoholos rendszerben. A szétvált peptidok száma 46; ebből 25 bázikus, 6 semleges és 15 savanyú



gondosan kikerülve, az elmosódás elkerülése végett. A puffertartályokat 1,9 pH-jú pufferrel töltöttük meg, majd a szűrőpapírt 90°-kal elfordítva 2 óráig 1100 V-on végeztük az elektroforézist.

– 1,9 pH-jú pufferrel végzett elektroforézis után (1100 V, 3 óra) a papírt megszáritottuk és 90°-kal elfordítva a *Baglioni*-féle izoamilalkoholos felszálló rendszerben kromatografáltuk.

Az izoamilalkoholos oldószerkeverék előnye a *Partridge*-féle kétfázisú butanolos (butanol-jégecet-víz 4:1:5) és a *Dent*-féle homogén rendszerrel szemben, hogy kerekesebb foltokat ad és a „farokképződés” minimális. Hátránya viszont az, hogy a légtér nem lehet tetszőleges; túlságosan nagy légtér esetén nem alakul ki stabil egyensúly, ami egyenlőtlen vándorlásban nyilvánul meg (4).

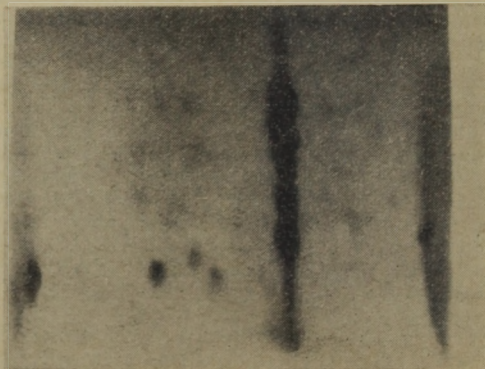
A pankreatinos hidrolizátumot „kettős pufferolás”-sal elektroforéztuk, a papírt megszáritottuk és 90°-kal elfordítva izoamilalkoholos felszálló rendszerben kromatografáltuk (3. ábra).

Bal oldalon a lizin és főként az arginin nagy mennyisége szembetűnő, jobb oldalon a glutaminsav látható. A semleges zónában feltűnő sárga foltként jelentkezik a prolin. A 4. ábrán a „kettős pufferolás” utáni butanolos rendszerben történt felszálló kromatográfiás módszer eredménye látható.

### 4. ábra

#### Pankreatinos hidrolizátum

„Kettős pufferolású” elektroforézis után kromatográfiás futtatás butanolos rendszerben. A szétvált peptidok száma: 53, ebből 25 bázikus, 6 semleges és 22 savanyú



E két fingerprint összehasonlításából az állapítható meg, hogy a savanyú komponensek a butanolos rendszerben jobban szétválnak, mint az izoamilalkoholosban.

A szubtilizines hidrolizátumban a szabad aminosavak mennyisége kisebb, viszont a peptidek száma nagyobb. E hidrolizátummal is kipróbáltuk mind a négyféle – az előzőekben ismertetett elektrokoromatográfiai módszert – és a legmegfelelőbbnek a „kettős pufferolású” elektroforézist, izoamilalkoholos rendszerben történő felszálló kromatográfiával kombinálva – találtuk. Ezzel a módszerrel határozottabb, kerekébb foltokat kaptunk és ennél az anyagnál a szétválás is jobbnak bizonyult, mint a butanolos rendszerben.

A tripszines hidrolizátum „diagonális elektroforézisénél” nem kaptunk olyan jó elválást, mint amikor 1,9 pH-jú pufferben futtattunk 3 órán keresztül és utána izoamilalkoholos felszálló rendszerben kromatografáltunk. A „kettős pufferolással” kombinált kromatográfia a nagyszámú semleges peptid jelenléte miatt nem bizonyult megfelelőnek.

A bromelines, ficines és pepszines hidrolizátumoknál a „kettős pufferolású” elektrokoromatográfiai módszerrel a semleges peptidek szétválása nem volt megfelelő. A „diagonális elektroforézisekkel” sem kaptunk megfelelő eredményeket, míg az 1,9-es pH-jú pufferben futtatott anyagok, izoamilalkoholos rendszerben történő felszálló kromatográfiával kombinálva jó szétválást eredményeztek. Példaképpen bemutatjuk a bromelines hidrolizátum elválasztásáról készült ábrát (5. ábra).

A mintegy 40–50, különböző módszerrel végzett vizsgálat után arra a következtetésre jutottunk, hogy a bonyolult peptidkeverékek szétválasztására a „kettős pufferolás” bizonyult a legmegfelelőbbnek. Ha a peptidkeverék sok savanyú komponenszt tartalmaz, akkor a butanolos rendszerben, felszálló kromatográfiával érhető el a legjobb elválasztás, míg az izoamilalkoholos rendszerben végzett kromatográfiával szebb; határozottabb foltokat lehet elérni.

A semleges peptidek szétválasztására legmegfelelőbbnek az 1,9 pH-jú pufferben végzett elektroforetikus futtatás, izoamilalkoholban felszálló rendszerű kromatográfiával kombinálva, bizonyult a legjobb felbontóképességűnek.

Táblázatosan összegezve a különböző endopeptidázokkal végzett hidrolízisek után nyert bomlástermékek alakulása a következő:

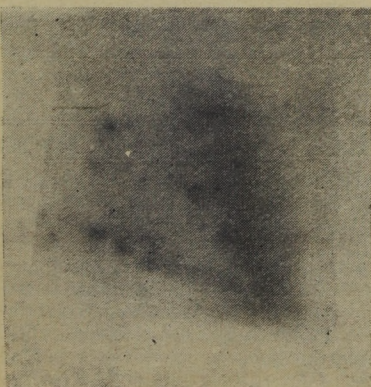
1. táblázat

Hidrolizáló enzim	Peptidek és aminosavak együttes száma
Szubtilizin .....	60–70
Pankreatin .....	46–53
Bromelin .....	38
Tripszin .....	37
Ficin .....	33
Pepszin .....	21

5. ábra

*Bromelines hidrolizátum*

Elektroforézis 1,9 pH-jú pufferben, kromatográfia izoamilalkoholos rendszerben. Szétvált peptidek száma: 38



- (1) Lásztity R.—Nedelkovits J.: Magyar Kém. Lapja 19, 360, 1964.
- (2) Lásztity R.: Die Nahrung 12, 1, 1968.
- (3) Lásztity R.: A siker kémiai szerkezete és reológiai sajátosságai közötti összefüggések. Doktori értekezés. 1968.
- (4) Pomeranz, Y.: Adv. in Food Research. 16, 335, 1968.
- (5) Elton, S. A. H.—Ewart, E. A. D.: Baker's Digest 47, 36, 1967.
- (6) Verma, S. C.—McCalla, A. G.: Cer. Chem. 43, 28, 1965.
- (7) Biserte, G.—Han, K.: Bull. Soc. Chim. Biol. 47, 597, 1965.
- (8) Pan, S. C.—Dutcher, J. D.: Anal. Chem. 28, 836, 1956.
- (9) Varga J.—Lásztity R.: Élelmiszertudomány 2, 185, 1968.
- (10) Dévényi T.—Gergely J.: Aminosavak, peptidek, fehérjék. Budapest. 1963.
- (11) Dévényi T.: Magyar Kémiai Folyóirat 69, 583, 1963.
- (12) Dent, C. E.: Biochem. J. 43, 169, 1968.
- (13) Baglioni, C.: Biochim. Biophys. Acta 48, 392, 1961.
- (14) Dévényi T.—Sajgo M.—Horváth E.—Szörényi B.: Magyar Kémiai Folyóirat 70, 123, 1964.

## ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ГЛИАДИНА И ОТДЕЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА

*Я. Неделкович и Пакхнэ-Чечи-М. Надь,*

Авторы знакомят результаты методических исследований касающихся ферментативного гидролиза глиадина.

Глиадин расщепляли разными протеолитическими ферментами, а образующиеся продукты расщепления отделяли электрофорезом и техникой „фингерпринт“.

Установили, что для отделения сложных систем подходящий способ бутанольной и изоамилалкольной хроматографии в сочетании с электрофорезом „двойного буферирования“.

Сообщают число продуктов расщепления полученных при гидролизе с разными эндопептидазами.

## ENZYMATISCHE HYDROLYSE DES GLIADINS UND TRENNUNG DER HYDROLYTISCHEN PRODUKTE

*J. Nedelkovits und P. M. Csécsi-Nagy*

Die Verfasser beschreiben die Resultate ihrer hauptsächlich methodischen Forschungen über die enzymatische Hydrolyse des Gliadins.

Das Gliadin wurde mit verschiedenen proteolytischen Enzymen abgebaut und die entstandenen Zersetzungsprodukte vermittels Elektrophorese und „Fingerprint“ Technik getrennt. Die Verfasser stellten fest, dass sich zur Trennung kompliziert zusammengesetzter Systeme ein mit einer „zweifach gepufferten“ Elektrophorese kombiniertes chromatographisches Verfahren mit Butanol bzw. Isoamylalkohol eignet.

En wird die Anzahl der Abbauprodukte angegeben, welche vermittels der mit verschiedenen Endopeptidasen durchgeführten Hydrolyse gewonnen wurden.

## ENZYMIC HYDROLYSIS OF GLIADIN AND THE SEPARATION OF THE HYDROLYSIS PRODUCTS

*J. Nedelkovits and P. M. Csécsi Nagy*

The results of the study primarily of methodological character, are given. Proteolytic enzymes of various origin were used to hydrolyse gliadin and the derivatives were separated by electrophoreses and "fingerprint" technique. To separate the intricate system of compounds the "doubly buffered" electrophoretic method combined with chromatography, using butanol or iso-amy-l-alcohol as solvent, proved the most efficient. The number of derivatives obtained by hydrolysis with various endopeptidases, is also given.