

Buğday Protein Fraksiyonlarının Jel Elektroferez (SDS-PAGE) İle Analizi, Amino Asit Bileşim ve Elektron Mikroskopik Görünüşlerinin Belirlenmesi^(*)

Dr. Nevzat ARTIK

Ankara Üniv. Zir. Fak. Gıda Bilimi ve Tek. Anabilim Dalı — ANKARA

GİRİŞ

Buğday, ülkemizde ve dünyada en çok tarımı yapılan ve tüketilen bir tahıldır. Tahıllar içinde sadece buğday unu, su katkısı ve yoğurma işlemi sonunda elastik bir hamur oluşturabilmektedir (BLOKSMA, 1978). Bu özellik nedeni ile buğday unundan ekmeğ üretmek mümkün olabilmektedir. Tahıl bilimcileri, hamura elastik niteliği kazandıran özelliğin suda çözünmeyen protein olan «gluten» olduğunu ortaya koymuşlardır.

Hamurun su ile yıkanması ile buğday proteininin suda eriyen kısımları olan globulin ve albumin ayrılmakta, geri kalan kısımdan yapışkan ve toplam proteinin % 80'ini oluşturan «gluten» elde edilmektedir. Her unun gluten kalitesi elde edilecek ekmeğin kalitesi ile doğrudan ilişkilidir.

Gluten, hemen hemen eşit oranlardaki gliadin (% 70 lik alkolde çözünür) ve gluteninden (% 70 lik alkolde çözünmez, asit ve alkalide çözünür) oluşmaktadır. Gliadin düşük molekül ağırlıklı birçok polipeptitten, glutenin ise yüksek moleküllü polipeptitlerden oluşmaktadır (MATSUMURA, 1985). Gliadin hamura akıcılık vermekte, yağ ve karbonhidratlar ile girişim

yapmasını sağlamakta, glutenin ise hamura elastikiyet vermektedir.

Jel elektroferez tekniklerinin gelişmesi ile buğday proteinlerinin yapısı daha iyi anlaşılma-ya başlanmıştır (JONES ve Ark., 1959; WOYCHIK, 1961). Jel elektroferez tekniği ve buğday protein analizleri sayesinde ekmeğ kalitesi iyileştirilebilmektedir. Ayrıca lizin gibi eksikliği önemli olan amino asitlerce zengin buğday çeşitlerinin ıslahı çalışmalarına yardım edilmektedir.

Gliadin, buğday proteinlerinin alkolde (% 70 etil alkol) çözünen kısmıdır. Prolini fazla içermesi nedeniyle «prolamın» adını da almaktadır. Seyreltik asit (0.01 M asetik asit), hidrojen bağı parçalayan çözelti (urea) ve hidrofobik bağı parçalayan çözeltilerde (sodyum dodesil sülfat) çözünebilmektedir. Alüminyum laktat çözeltisi (pH = 3.2) kullanılarak yapılan bir araştırmada jel elektroferez yöntemi ile gliadin α , β , ve ω olmak üzere 4 ayrı fraksiyona ayrılmıştır (JONES ve Ark., 1959). Başka bir araştırmada gliadin tek yönlü jel elektroferez tekniği ile 8 ayrı banda ayrılmıştır (ELTON ve EWART, 1962).

İki yönlü jel elektroferez yöntemi kullanılan diğer bir araştırmada ise gliadin 46 ayrı banda ayrılmıştır (MECHAM ve Ark., 1972; WRIGLEY ve Ark., 1973). Gliadin fraksiyonlarının amino asit bileşimlerinde yapılan bir araştırma ile belirlenmiştir (BIETZ ve WALL, 1972). Elde edilen bulgular Tablo 1'de gösterilmiştir.

(*) Bu araştırma Kyoto Univ. The Research Institute For Food Science Kyoto 611 (Japonya) da gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1: Gliadin Fraksiyonlarının Amino Asit Bileşimi (BIETZ ve WALL, 1972)

Amino Asit	Toplam Proteinin Molar Yüzdesi								
	Gamma 1	Gamma 2	Gamma 3	β 5	α 8	α 9	α 10	α 11	α 12
AspartikAsit	2.9	1.8	1.7	2.6	3.0	3.1	3.1	2.8	2.9
Threonin	1.7	2.0	2.2	1.7	1.6	1.6	1.6	1.7	1.8
Serin	5.3	4.9	4.2	5.3	5.2	5.0	4.9	5.1	4.8
GlutamikAsit	41.7	39.1	39.6	39.6	37.2	37.1	38.9	36.9	36.4
Prolin	15.1	18.7	18.9	15.8	15.5	16.7	15.4	15.7	16.2
Glisin	2.4	2.7	2.7	1.9	2.5	2.4	2.6	2.4	2.7
Alanin	3.4	3.0	3.2	3.5	2.9	2.7	2.9	2.8	2.9
Sistein	1.8	1.9	2.0	1.8	1.9	1.1	1.8	2.3	1.8
Valin	3.8	3.4	3.7	4.0	4.0	3.5	3.4	4.1	4.4
Methionin	0.9	1.7	1.4	1.1	1.2	1.3	1.8	1.1	0.9
İzolösin	3.9	3.7	3.5	3.8	4.1	4.1	4.0	3.9	4.2
Lösin	6.9	7.2	6.5	7.9	8.1	8.2	8.4	8.3	7.8
Tyrosin	3.1	0.5	0.4	2.5	3.1	3.1	3.0	3.0	3.1
Fenilalanin	3.7	5.2	5.6	3.7	3.9	4.2	3.0	3.8	3.9
Triptofan	0.2	0.6	0.5	0.1	0.3	0.3	0.1	0.3	0.3
Lisin	0.1	0.7	0.7	0.2	0.5	0.5	0.7	0.7	0.4
Histidin	1.5	1.4	1.6	2.3	2.5	2.6	2.2	2.3	2.6
Arginin	1.6	1.5	1.6	2.3	2.4	2.5	2.3	2.6	2.9

Tabloda izleneceği gibi gliadin fraksiyonları glutamik asit açısından zengindir. Toplam amino asitlerin % 36.4 - 41.7 sini glutamik asit oluşturmaktadır. Diğer önemli bir amino asit ise % 15.1 - 18.9 düzeyinde bulunan ve gliadine «prolamin» denilmesine neden olan prolindir. Tüm gliadin fraksiyonları düşük düzeyde lisin içermektedir. Lisin eksikliği başka bir araştırmada da vurgulanmıştır (HUEBNER ve WALL, 1974). Gliadinde lisin yanında histidin, arginin ve methioninde düşük düzeydedir.

Gliadinin SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez) ile belirlenen molekül ağırlıkları 11400, 44200, 69300 ve 78100 dalton düzeyindedir (BIETZ ve WALL, 1972; HAMA-UZU ve Ark., 1972; EWART, 1973; HAMA-UZU ve Ark., 1974). α ve ω gliadin kloroform, β gliadin ise metil alkolde çözünmektedir. Glutenin, buğday unu proteininin çözünen kısmının

yarısını oluşturmaktadır (ORTH ve BUSHUK, 1973).

Glutenin ve gliadinin buğday unundan ayrılması amacıyla iki yöntem geliştirilmiştir (JONES ve Ark., 1959). Her iki yöntemdede öncelikle buğday unundaki yağ n-bütül alkolle uzaklaştırılmaktadır. Yağsız undan elde edilen hamur % 0.1 NaCl ile yıkanarak gluten topçukları elde edilmektedir (LUSENA, 1950). Elde edilen gluten topçukları 0.01 M asetik asit içinde waring blender yardımı ile çözündürülür. Elde edilen karışım 20000 dev/dak.da santrifüj edilerek berrak bir çözelti elde edilir. Bu çözelti 98 --100°C de ısıtılarak proteaz enzimi inaktif hale getirilir. Daha sonra liyofilize edilerek «gluten» elde edilmektedir. Bu işlem sırasında toplam proteinin % 14'ü kayba uğramaktadır. Kayba albumin ve globulin neden olmaktadır. Elde edilen glutenden, glutenin ve gliadin ayrılmaktadır.

İkinci yöntemde gluten 0.01 M asetik içinde çözündürülmekte üzerine alkol yüzdesi % 70 olana dek etil alkol eklenmekte glutenin ve gliadin kısmı santrifüjle ayrılmaktadır. Yaklaşık olarak gluten kısmının yarısı glutenindir. Glutenin

protein fraksiyonlarının gliadinden farklı olduğu SDS-PAGE analizi ile ispatlanmıştır. Glutenin amino asit bileşim unsurlarında yapılan bir araştırmada belirlenmiştir (HUEBNER ve Ark., 1974): (Tablo 2).

Tablo 2 : Glutenin Fraksiyonlarının Amino Asit Bileşimi (HUEBNER ve Ark., 1974)

Amino Asit	Total Proteinin Molar Yüzdəsi				
	A 1	B 2	B 1	B 2	B 6
Triptofan	1.2	0.6	0.8	0.9	0.5
Lisin	3.3	2.4	0.8	0.9	1.0
Histidin	2.0	1.9	0.5	0.6	1.6
Arginin	3.8	3.1	1.2	1.5	2.1
Aspartik Asit	6.8	5.2	0.7	0.7	1.1
Threonin	4.1	3.8	2.9	3.2	3.3
Serin	7.0	8.3	6.2	7.2	7.4
Glutamik Asit	20.9	25.2	37.8	37.2	36.9
Prolin	9.3	10.3	14.4	12.7	11.7
Glisin	10.6	6.2	19.4	19.2	14.2
Alanin	6.5	5.2	2.0	2.4	2.6
Valin	5.4	5.6	1.8	1.8	2.8
Methionin	1.7	1.8	0.6	0.5	0.9
Izolösin	3.6	3.8	0.6	0.7	2.0
Lösin	3.8	8.0	4.3	4.1	5.0
Tyrosin	3.9	2.9	5.4	5.8	4.4
Fenilalanin	3.6	4.5	0.4	0.5	1.6

Tablo 2'de görüleceği gibi glutenin fraksiyonlarının amino asitleri içinde ilk sırayı glutamik asit almaktadır. Onu sırasıyla glisin, valin ve aspartik asit izlemektedir.

Ülkemizde buğday proteinlerinin jel elektroforez ile analizi amino asit bileşim ve elektron mikroskopik görünüşlerinin belirlenmesi üzerinde fazla bir literatür bilgisine rastlanamamıştır. Bu araştırma bu konuya katkıda bulunmak amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL ve METOD

Materyal

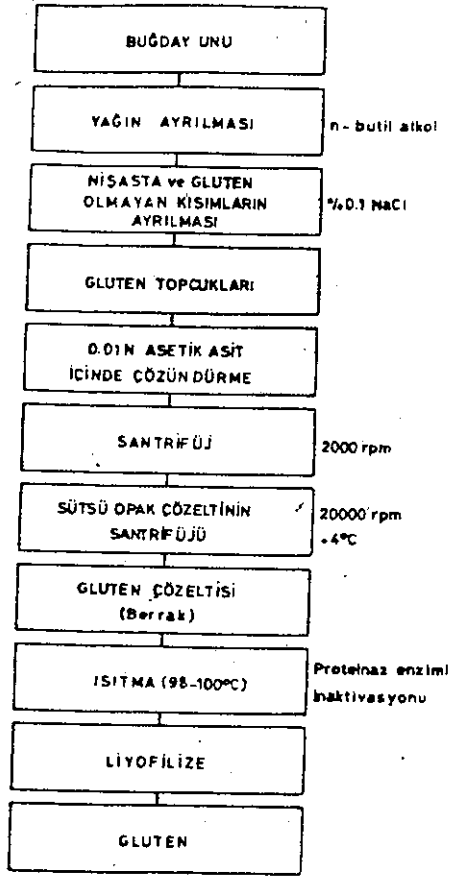
Türkiye'de yetiştirilen Triticum durum buğdayı Nisshin Flor Milling Co. (Kobe) de % 60

randıman verecek şekilde laboratuvar koşullarında öğütülmüştür. Elde edilen unun rutubeti % 13.12 ve proteini ise % 12.1 dir.

Metod

Gluten Hazırlama

Buğday proteinlerinin ayrılmasında öncelikli olarak gluten hazırlanmaktadır. Gluten hazırlamak için JONES ve Ark., (1959)'da belirtilen yöntem uygulanmıştır. Bu yöntem şekil 1 de şematize edilmiştir.



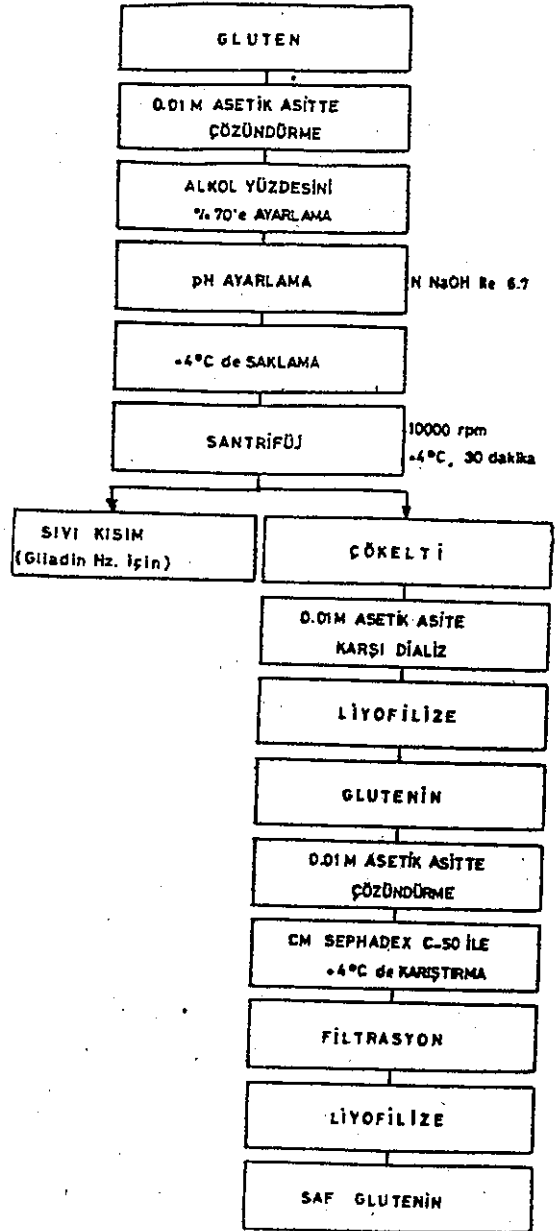
Şekil 1 : Buğday Unundan Gluten Eldesi

Bu amaçla 100 gram buğday unu 1000 ml n-bütül alkolle karıştırıldı. Magnetik karıştırıcıda 24 saat tutulan karışım Gauch filtresinden süzülerek yağsız un elde edildi. Unun içindeki alkolün uzaklaşması amacıyla filtre kağıdı üzerinde kurutuldu. Yağsız buğday unundan 50 gram % 0.1 NaCl içeren + 4°C deki damıtık su ile hafif katı hamur elde edecek şekilde yoğuruldu. Elde edilen hamur, nişasta ve gluten olmayan kısımların ayrılması amacıyla + 4°C deki % 0.1 lik NaCl ile elle yıkandı. Bu işlem için 10 litre % 0.1 lik NaCl çözeltisi yeterli olmaktadır. Yıkama işlemi sonunda 12.8 gram gluten elde edildi. Gluten jiletle küçük topucuklar halinde kesildi. Amino asit ve elektron mikroskopik analizler için örnek alınıp liyofilize edilerek amılan analizler için kullanıldı. Gluten parçacıkları, 0.01 M asetik asit içinde % 5 lik çözelti verecek şekilde çözündürüldü. Çökeltinin ayrılması amacıyla 20000 devir/dak., + 4°C de 30 dakika HITACHI 18 PR-3 sıcaklık kontrollu

santrifüj aygıtında santrifüj edildi. 180 ml çözelti elde edildi. Bu çözelti proteinaz enziminin inaktivasyonu amacıyla 98 - 100°C de 15 dakika ısıtıldı. Liyofilize edilip gluten elde edildi.

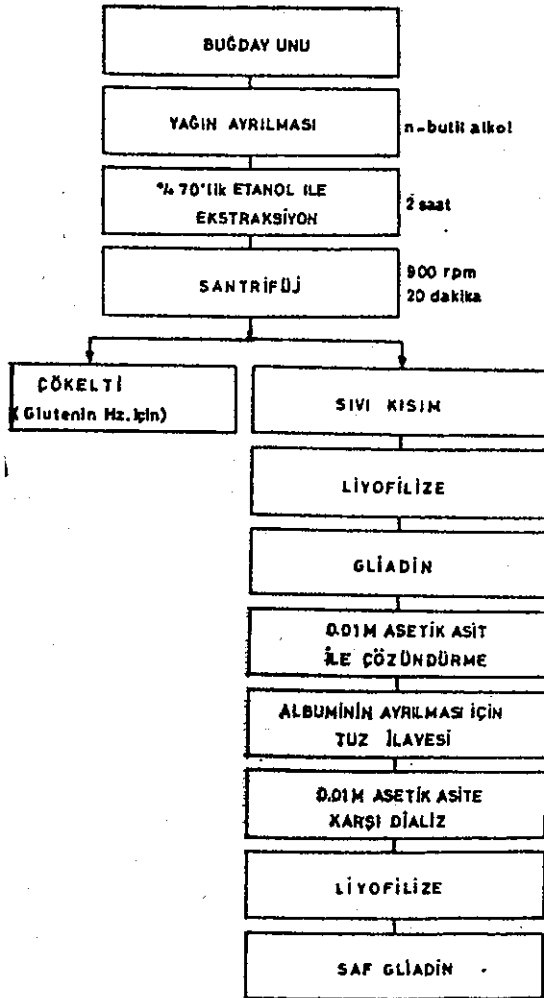
Glutenin Hazırlama

Glutenin hazırlamada NIELSEN ve Ark., (1962) de tanımlanan yöntem uygulandı (Şekil 2).



Şekil 2 : Glutenden Glutenin Eldesi

Bu amaçla 1 g gluten tartıldı ve 100 ml 0.01 M asetik asit içinde iyice çözüldürüldü. Çözelti pH derecesi NaOH ile 6.7 ye ayarlandı ve 12 saat + 4°C de saklandı. Süre sonunda + 4°C de HITACHI marka sıcaklık kontrollü santrifüj aygıtında 30 dakika santrifüj edildi. Sıvı kısım ayrıldı (gliadin hazırlığı için kullanılabilir) çökelti kısmı ise % 2 lik protein çözeltisi verecek şekilde 0.01 M asetik asit içinde çözüldürüldü. pH derecesi 0.01 M asetik asit ile 3.0'e ayarlandı ve 8/32 lik selüloz dializ tüpünde 0.01 M asetik asite karşı dializ uygulandı. Daha sonra liyofilize edilerek glutenin elde edildi. Gliadini ayırmak amacıyla CM Sephadex C-50 ile asetik asit içinde çözüldürülen çözelti karıştırıldı. + 4°C de 12 saat tutuldu. Filtre edilerek CM Sephadex C-50 ayrıldı.



Şekil 3 : Gliadin Elde Edilme Yöntemi.

Çözelti liyofilize edilerek saf glutenin elde edildi.

Gliadin Hazırlama

Gluten hazırlamada elde edilen sıvı kısım gliadin hazırlamada kullanılacağı gibi Şekil 3'de belirtilen yöntemde uygulanabilir (NIELSEN ve Ark., 1962). Araştırmada bu yöntem uygulanmıştır.

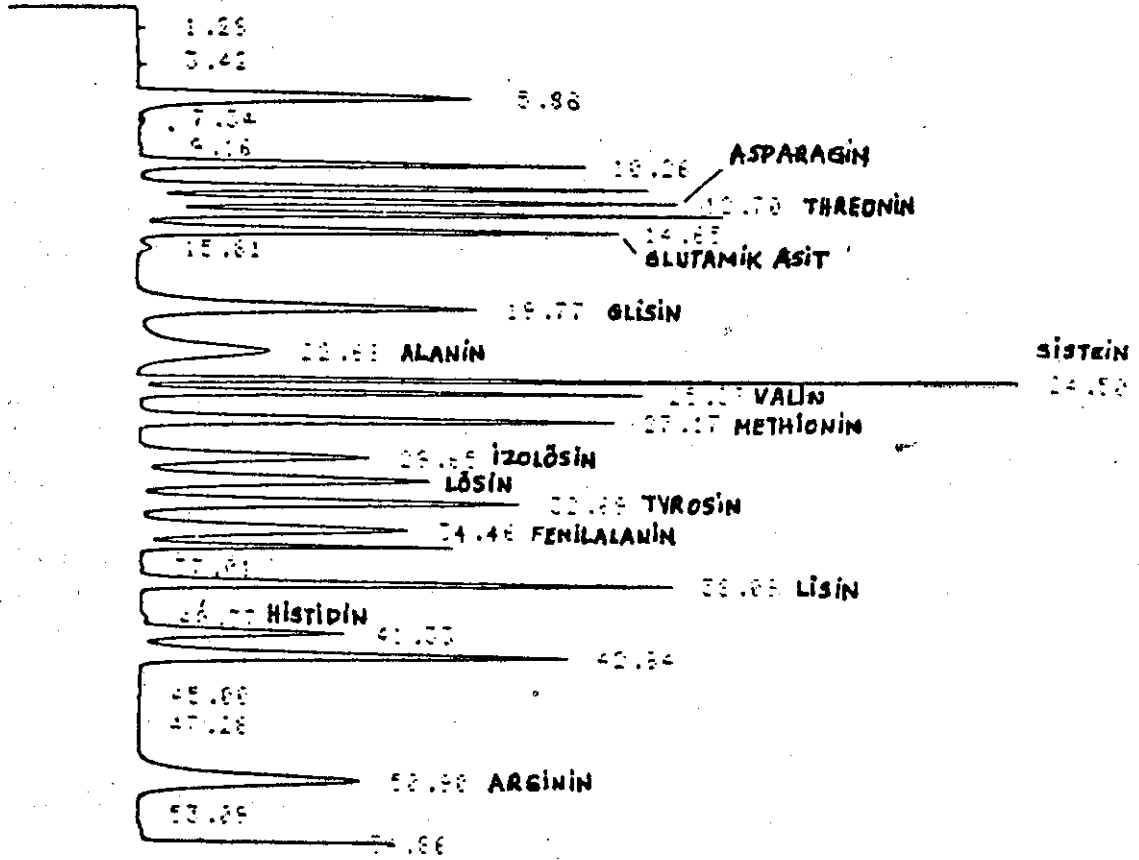
Elde edilen sıvı kısım liyofilize edilerek gliadin elde edildi. Ancak elde edilen gliadin safsızlık unsurları içermektedir. Saflaştırma amacıyla 0.01 M asetik asit içinde çözüldürüldü. Albuminin ayrılması için çözeltiye tuz eklendi. Daha sonra 0.01 M asetik asite karşı dializ yapıldı. Dializ + 4°C de 8/32 lik selüloz tüplerde yapıldı. Elde edilen çözelti liyofilize edilerek saf gliadin elde edildi.

Scanning Elektron Mikroskopi (SEM)

Gluten, gliadin ve glutenin MORI ve Ark., (1987)'de belirtilen yöntemle elektron mikroskopta incelendi. Dondurularak kurutulan örnekler binokülerde bıçak izi bırakmadan ufak parçalara ayrılıp, kalay kaplı platin üzerine yerleştirildi. İyon kaplayıcı da altın kaplanarak HITACHI marka SEM'de (Scanning electron microscop) incelendi ve resimleri çekildi.

Gluten, Gliadin ve Glutenin Amino Asit Bileşimlerinin Belirlenmesi

Yağı alınan buğday unu (60 R) ve liyofilize edilmiş haldeki gluten, glutenin ve gliadin örneklerinde amino asit analizi uygulandı. Bu amaçla MATSUMURA, (1985) de tanımlanan yöntem uygulandı. Amino asit tayini HITACHI marka aygıtta yürütüldü. Sonuçlar standart amino asit ile elde edilen kromatogramına göre değerlendirildi (Şekil 4).



Şekil 4 : Amino Asit Tayninde Belirlenen Standart Amino Asit Kromatogramı.

SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez) Analizi

SDS-PAGE analizi için liyofilize edilen gluten, glutenin ve gliadin örneklerinden 10 miligram tartılarak 2 ml SDS-PAGE örnek çözeltisi içinde çözüldü. Örnek çözeltisi hazırlamak için 1.514 gram Tris ve 20 ml gliserin karıştırıldı ve pH derecesi yoğun HCL ile 6.8'e ayarlandı. Üzerine 4 gram SDS eklendi ve iyice çözüldü. Hazırlanan çözeltiler (2 ml SDS çözeltisi içinde 10 mg protein) iki kısma ayrıldı. Bir kısmı 8/32 lik selüloz dializ tüpüne kondu. Diğer kısmına polipeptid bağları parçalamak amacıyla 10 mikrolitre 2-merkaptetanol eklendi (2-ME = HSCH₂CH₂OH = 78.13). Her iki kısımda dializ edildi. Dializ 20°C de SDS-PAGE örnek çözeltisine karşı yapıldı. Süre sonunda protein çözeltileri ağız kapaklı plastik tüplere kondu. Bantların ayrılmasını belirginleştirmek amacıyla 7 µl bromfenol mavisi eklendi.

Jel, 1x160x120 mm ölçülerinde ve % 10 luk olarak hazırlandı. Elektroforez 20 mA (110 V), 20°C de 4-5 saat yapıldı (LAEMMLI, 1970). Süre sonunda jel üzerindeki bantların sabitleşip belirlenmesi amacıyla metil alkol-su asetik asit (5+4+1) içinde çözüldürülmüş Coomassie Blue R-250 kullanıldı. Daha sonra jel üzerindeki fazla boya metil alkol-su-asetik asit (10+83+7) ile uzaklaştırıldı. Çözelti 4-5 defa değiştirilerek jelin beyazlaşması sağlandı. Bu işlem sırasında jel sürekli olarak çalkalandı. Standart protein çözeltisi olarak bovin serum albümin (BSA) kullanıldı. Elde edilen standart protein bantları molekül ağırlık tespitinde kullanıldı. Elektroforez işlemi ATTO SJ-1060-SD marka elektroforez aygıtı kullanıldı. Elde edilen jel vakuum altında +40°C de kurutularak resimleri çekildi (MATSUMURA, 1985).

ANALİZ SONUÇLARI**Amino Asit Bileşim Unsurları**

Gluten, glutenin ve gliadinin amino asit

bileşimleri belirlenip sonuçlar Tablo 3 de gösterilmiştir. Ayrıca T. durum buğday ununun amino asit bileşimi de aynı tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3: T. Durum Buğday Unu, Gluten, Glutenin ve Gliadinin Amino Asit Bileşim Unsurları (g AA/100 g)

Amino Asit	Triticum Durum Unu	Triticum durum		
		GLUTEN	GLUTENİN	GLİADİN
Aspartik Asit	2.964	2.944	3.144	2.756
Threonin	3.070	2.822	3.252	2.491
Serin	5.728	5.704	6.141	5.608
Glutamik Asit	31.74	33.057	31.409	31.244
Prolin	13.23	14.314	12.668	16.969
Glisin	5.648	5.918	8.466	3.468
Alanin	3.779	3.727	4.046	3.703
Sistein	1.124	1.321	1.015	1.446
Valin	5.115	4.668	4.479	5.124
Methionin	1.494	1.428	1.409	1.394
İzolösin	4.126	3.957	3.469	4.818
Lösin	7.642	7.243	6.848	8.207
Tyrosin	2.646	2.691	3.101	2.348
Fenilalanin	4.343	4.350	3.806	5.098
Lisin	2.089	1.368	1.897	0.825
Histidin	1.956	1.795	1.770	1.951
Arginin	3.310	2.686	3.072	2.539
TOPLAM	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabloda izleneceği gibi protein fraksiyonlarının amino asitleri içinde ilk sırayı glutamik asit almaktadır. Glutamik asiti, prolin, glisin ve lösin izlemektedir. Lisin ise düşük düzeydedir. Lisin eksikliği buğday ununda önemli bir eksiklik olarak dikkat çekmektedir.

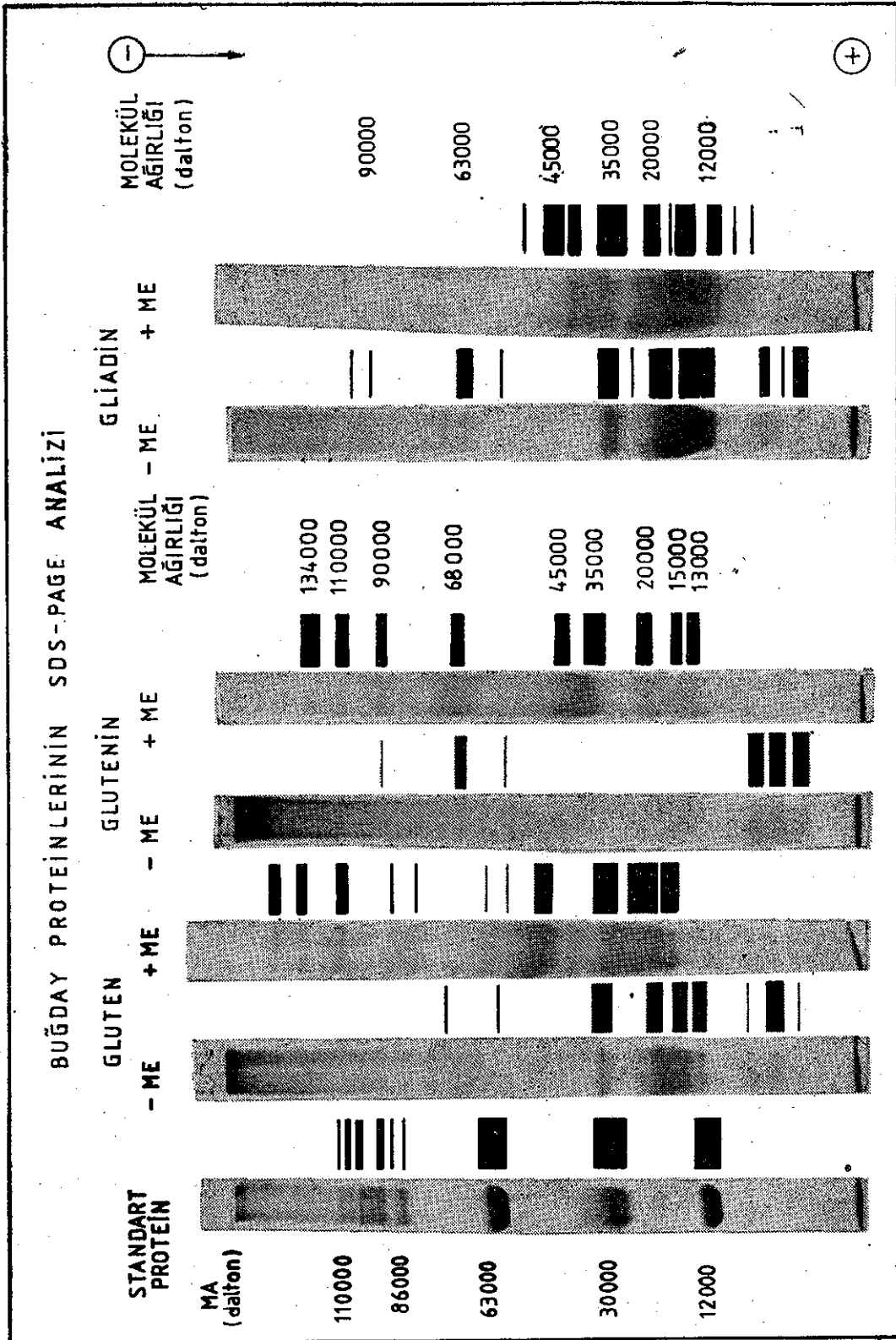
SDS-PAGE Analiz Sonuçları

SDS-PAGE analizinde jel elektroforez merkaptetanolsuz (—ME) ve merkaptetanollu (+ME) olarak uygulandı. Elde edilen protein bantları ve molekül ağırlıkları Şekil 5 de gösterilmiştir.

Şekil 5'de görüleceği gibi gluten (—ME) durumunda jel elektroforez uygulandığında daha az bant göstermekte ve bantlar içiçe girmektedir. Oysa (+ME) koşulunda 15000 - 141000 dalton molekül ağırlığı gösteren bantlara ayrılmaktadır. Bunun nedeni 2 - merkaptetanolün polipeptid bağlarını parçalamasıdır.

Glutenin (—ME) durumunda daha az bant göstermekte, (+ME) durumunda ise molekül ağırlıkları 13000 - 134000 dalton arasında değişen bantlara ayrılmaktadır.

Gliadin, gluten ve glutenin oranla düşük moleküllü polipeptidleri içermektedir. Belirlenen bantların molekül ağırlıkları 12000 - 90000 dalton arasındadır.

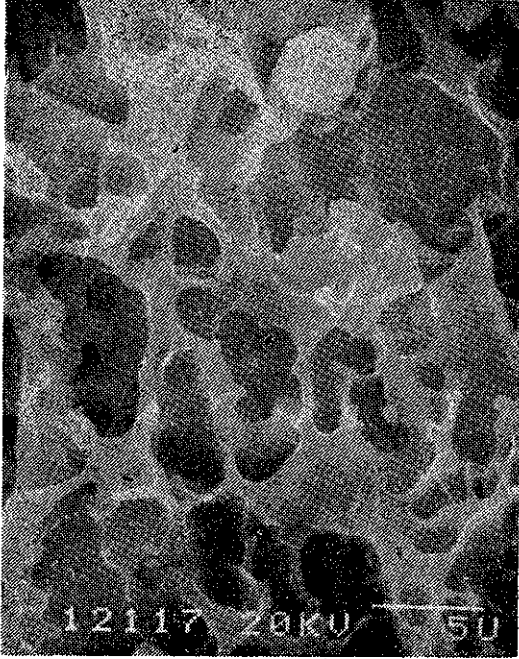
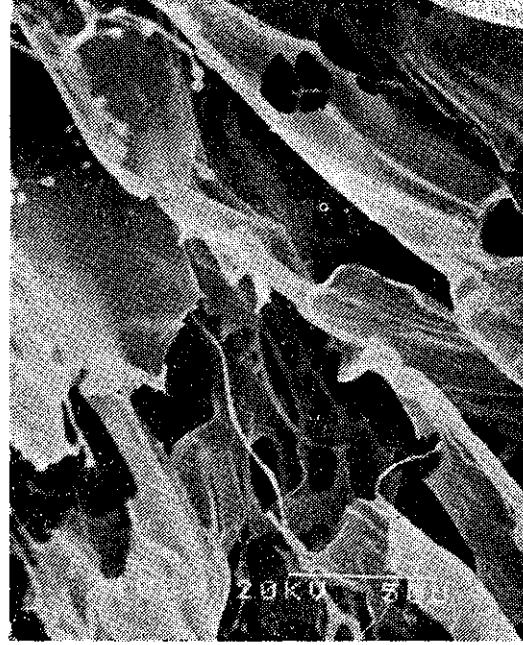


Şekil 5. Buğday proteinlerinin SDS-PAGE Analizi

Scanning Elektron Mikroskopi

Gluten, glutenin ve gliadinin elektron mikroskopik analizi sonunda elde edilen elektron mikrogramlar şekil 6'da gösterilmiştir. Her üç

mikrogramda görülen beyaz noktalar nişasta diğer kısımlar ise proteindir. Gluten, gözenek; glutenin ve gliadin ise yaprakçık görünüşündedir (Şekil 6).

**GLUTEN (X 1000)****GLUTENIN (X 1000)****GLIADIN (X 2000)**

Şekil 6. Buğday Proteinlerinin Elektron Mikroskopik Görünüşleri.

ÖZET

Bu araştırmada *Triticum durum* buğday ununun protein fraksiyonları ayrılarak amino asit ve elektron mikroskopik görünüşleri belirlendi. Ayrıca ayrılan fraksiyonların jel elektroforez (SDS - PAGE) ile protein bantları ayrılarak molekül ağırlıkları saptandı. Buğday ununun gluten, glutenin ve gliadin kısımlarında amino asitlerden glutamik asit ilk sırayı almaktadır. Gliadin, lizin açısından fakir, fakat prolin açısından zengindir. Molekül ağırlıkları gluten, glutenin ve gliadinde sırasıyla 15000 - 141000; 13000 - 134000 ve 12000 - 90000 dalton dur. Her üç proteinin elektron mikroskopik görünüşleri birbirinden farklıdır.

SUMMARY

GEL ELECTROPHORES (SDS - PAGE) ANALYSIS, DETERMINATION OF AMINO ACID COMPOSITION and ELECTRON MICROSCOPIC APPEARANCE OF WHEAT PROTEIN FRACTIONS

In this research, *T. durum* wheat flour protein fractions were separated, amino acid composition and electron microscobic appearances were determined. On the other hand protein bands were separated and molecular weights were determined by gel electrophores. Glutamic acid was the main amino acid of gluten, glutenin and gliadin fractions. Gliadin is poor in lysine whereas rich in prolin. Molecular weights of gluten, glutenin and gliadin were 15000 - 141000; 13000 - 134000 and 12000 - 90000 dalton respectively. Electron microscobic appearances were different for three fractions.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın yürütülmesinde her türlü yardımı esirgemeyen Kyoto Üniversitesi «The Research Institute For Food Science» elemanlarından Dr. YASUKI MATSUMURA'ya en içten teşekkür borç biliniz.

KAYNAKLAR

- 1 — BLOKSMA, A.H., 1978. In «Wheat Chemistry and Technology» ed. by Y. POMERANZ. American Association of Cereal Chemists St. Paul. M. Itn., S 523.
- 2 — BIEITZ, J.A. ve WALL, J.S., 1972. Wheat Gluten Subunits: Molecular Weights Determined by Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis. Ame. Asso. of Cereal Chemists S: 416 - 430.
- 3 — ELTON, G.A.H. ve EWART, J.A.D. 1962. Starch gel electrophoresis of Cereal Proteins J. Sci. Food Agric. 13: 62 - 72.
- 4 — EWART, J.A.D. 1973. Sodium Dodecyl Sulfate Electrophoresis of Wheat Gliadins. J. Sci. Food. Agric. 24: 685 - 689.
- 5 — HAMAUZU, Z., ARAKAWA, T., ve YONEZAWA, D. 1972. Molecular Weights of Glutenin and Gliadin Polypeptides Estimated by SDS - Polyacrylamide Gel Electrophoresis. Agr. Biol. Chem. 36: 1829-1830.
- 6 — HAMAUZU, Z., TOYAMATSU, T., ve YONEZAWA, D. 1974. Molecular Weight Determination of Gliadin Fractions In Gel Filtration by SDS - Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Sedimentation Equilibrium. Agr. Biol. Chem. 38: 2445 - 2450.
- 7 — HUEBNER, F.R. ve WALL, J.S. 1974. Wheat Glutenin Subunits. I. Preparative Separation by Gel-Filtration and Ion Exchange Chromatography Cereal Chem. 51: 228.
- 8 — HUEBNER, F.R., DONALDSON, G.L., ve WALL, J.S. 1974. Wheat Glutenin Subunits. II. Compositional Differences Cereal Chem. 51: 240 - 249.
- 9 — JONES, R.W., TAYLOR, N.W., ve SENTI, F.R., 1959. Electrophoresis and Fractionation of Wheat Gluten. Arch. Biochem. Biophys. 84: 363 - 376.
- 10 — LAEMMLI, U.K., 1970. Nature, 227, 680.
- 11 — LUSENA, C.V., 1950. Preparation of Dried Native Wheat Gluten. Cereal Chem. 27: 167 - 178.
- 12 — MATSUMURA, Y., 1985. Studies On Structure of Wheat Glutenin. Doktora Tezi. 82 S. Kyoto (Japonya).
- 13 — MECHAM, D.K., COLE, E.W. ve NG.H. 1972. Solubility Effect of Mercuric Chloride On The «Gel» Protein of Wheat Flour. Cereal Chem. 49: 62 - 67.

- 14 — MORI, T., N. ARTIK, Y. MATSUMURA ve M. MOHRI, 1987. Gel Formation of Green Pea and Broad Bean Extracts 7. World Congress of Food Science and Technology. 28 Sept - 2 Oct. 1987. Singapore.
- 15 — NIELSEN, H.C., BABCOCK, G.E., ve SENTI, F.R., 1962. Molecular Weight Studies on Glutenin Before and After Disulfidebond Splitting. Arch. Biochem. Biophys. 96: 252 - 258.
- 16 — ORTH, R.A., ve BUSHUK, W., 1973. Studies of Glutenin. III. Identification of Subunits Coded by the D-genome and Their Relation to Breadmaking Quality. Cereal Chem. 50: 680 - 687.
- 17 — WOYCHIK, J.H., BOUNDY, J.A. ve DIMLER, R.J., 1961. Starch Gel Electrophoresis of Wheat Gluten Proteins With Concentrated Urea. Arch. Biochem. Biophys. 94. 477 - 482.
- 18 — WRIGLEY, C.H.W. ve SHEPHERD, K.W., 1973. Electrofocusing of Ground Proteins From Wheat Genotypes. Ann. N.Y. Acad. Sci: 209: 154 - 162.

Türkiye 6. Gıda Kongresi

Ekim 1988 - Ankara