

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 53 (1962)

**Heft:** 4

**Artikel:** Beiträge zu der Papierelektrophorese des Getreide-Eiweisses. Teil I

**Autor:** Padmoyo, M. / Högl, O.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982567>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 19.01.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

- McBain J. W.*, J. Am. Chem. Soc. **57**, 699 (1935).
- 6 *Mossel D. A. A.*, Foods Res. **20**, 415 (1955).
- 7 *Legault R. R.* et al., Anal. Chem. **20**, 428 (1948).  
*Goerling P.*, Diss. TH München, VDI-Forschungsheft 458 (1956).
- 8 *German F. E. E.* et al., Ind. Eng. Chem. **15**, 285 (1943).
- 9 *Schierbaum F.*, Deutsche Lebensm. Rdsch. 173 (1957).  
*Schierbaum F.* et al., Stärke **9**, 48 (1957).  
*Schierbaum F.*, private Mitteilung; *Schierbaum F.* et al., Stärke **9**, 50 (1957).  
*Ulmann M.*, Stärke **9**, 4 (1957).  
*Ulmann M.* et al., Analyt. Chem. **162**, 337 (Juli 1958), Stärke **9**, 23 (1957), Ernährungsforschung **3**, 65 (1958).
- 10 *Brunauer S.* et al., J. Am. Chem. Soc. **60**, 309 (1938).  
J. Am. Chem. Soc. **62**, 1723 (1940).
- 11 *Bushuk W.* et al., Cereal Chem. **34**, 73 (1957).  
*Downes J. G.* et al., J. Polymer Sci. **28**, 45 (1958).  
*Hübschen L.*, Z. Unters. Lebensm. **111**, 403 (1960).  
*Newns A. C.*, Trans Farad. Soc. **52**, 1533 (1956).  
J. Polymer Sci. **41**, 425 (1959).
- 12 *Hofer A. A.* et *Mohler H.*, Helv. Chim. Acta **45**, 1415 (1962).

## Beiträge zu der Papierelektrophorese des Getreide-Eiweißes

### I. Teil

Von *M. Padmoyo* und *O. Högl*

(Institut für Lebensmittelchemie der Universität Bern, Eidg. Gesundheitsamt)

### 1. Einleitung

In den letzten zwanzig Jahren wurde die von *Tiselius* (1937) entwickelte Methode der klassischen Elektrophorese von vielen Forschern für die Untersuchung des Getreideeiweißes angewandt. Untersucht wurden vor allem das Gersteneiweiß (*Quensel*, 1942), das Weizeneiweiß (*Schwert*, *Putnam* und *Briggs*, 1944; *Mills*, 1954; *Lontie*, *Crevecœur* und *Dulcino*, 1954; *Jones*, *Taylor* und *Senti*, 1959) und das Maiseiweiß (*Foster*, *Yang* und *Yui*, 1950; *Mertz* und *Bresani*, 1958). Die Resultate zeigten, daß die auf Grund der Löslichkeit getrennten Fraktionen des Getreideeiweißes hinsichtlich der elektrischen Ladung nicht immer einheitlich sind; elektrophoretisch können sie aus mehreren Komponenten bestehen.

Im Vergleich zu der klassischen ist die Papierelektrophorese ein elegantes, handliches, schnell durchführbares, billiges, für Routineuntersuchungen geeignetes Verfahren. Dank den zahlreichen praktischen Vorteilen fand das 1939 entwickelte Verfahren der Papierelektrophorese seit 1950 eine überraschend breite Anwendung in analytischen Laboratorien, vor allem für die Untersuchung von Blutserum- und Milcheiweiß. Eine Untersuchung von Getreideeiweiß mit Hilfe

der Papierelektrophorese ist uns in der Literatur bis jetzt noch nicht bekannt.

Es wurde in dieser vorliegenden Arbeit versucht, einen papierelektrophoretischen Vergleich zwischen Weizen-, Reis und Hafereiweiß durchzuführen. Der Grund, warum gerade diese drei Getreidearten als Untersuchungsobjekte gewählt wurden, liegt nicht nur in ihrer Wichtigkeit für unsere Ernährung, sondern auch darin, daß bei diesen drei Getreidearten die vier Eiweißfraktionen (das Albumin, das Globulin, das Prolamin und das Glutelin) in ganz verschiedenen Mengenverhältnissen vorliegen. Während Weizen vor allem Prolamin und Glutelin enthält, überwiegt das Globulin bei Hafer und bildet das Glutelin die wesentliche Eiweißfraktion bei Reis (*Brohult* und *Sandegren*, 1954).

Die Albumine unterscheiden sich von den anderen Eiweißkörpern durch ihre Löslichkeit in neutralem, salzfreiem Wasser. Für das Löslichkeitsverhalten der Globuline ist ihre Löslichkeit in Neutralsalzlösungen kennzeichnend. Die Prolamine sind durch ihre Löslichkeit in hochprozentigem, nicht aber in absolutem Alkohol gekennzeichnet. Die Gluteline sind nun weder in neutralem Wasser noch in Neutralsalzlösungen oder in Alkohol löslich und können nur als Salze, vor allem als Alkalisalze, in Lösung gebracht werden.

Untersucht wurden: Polierter Reis  
Rohreis  
Weizen (Vollkorn) und  
Hafer (Vollkorn, ohne Spelzen).

Die Getreidekörner wurden zunächst fein gemahlen, um eine leichte und weitgehende Extraktion erreichen zu können.

Bei der fraktionierten Extraktion des Getreideeiweißes werden meistens die folgenden Extraktionsmittel benützt: Destilliertes Wasser für die Albumine, Aethanol für die Prolamine, Natriumchloridlösung für die Globuline und Natronlauge für die Gluteline. Ueber die Konzentration der einzelnen Extraktionsmittel sind in der Literatur keine übereinstimmenden Angaben gefunden worden. Die verschiedenen Forscher verwendeten bei der Isolierung des Getreideeiweißes Extraktionsmittel nicht gleicher Konzentration. Zum Beispiel extrahierten *Lüers* und *Siegert* (1924) das Haferglobulin mit einer 10<sup>0</sup>/oigen, *Jones* und *Gersdorff* (1924) das Weizenglobulin mit 4<sup>0</sup>/oiger und *Quensel* (1942) das Gerstenglobulin mit einer 1-molaren (= etwa 5,8<sup>0</sup>/oigen) Natriumchloridlösung. *Suzuki* und Mitarbeiter (1909) extrahierten das Reisprolamin mit 60<sup>0</sup>/oigem Aethanol, während *Osborne* und Mitarbeiter (1915) dies mit 80<sup>0</sup>/oigem taten.

So stellte sich die Frage, ob die Höhe der Konzentration des Extraktionsmittels nicht einen gewissen Einfluß auf die Löslichkeit und sogar auf die Art des zu isolierenden Eiweißes haben könnte. Zur Beantwortung dieser Frage wurden in der vorliegenden Arbeit das Reis-, Hafer- und Weizeneiweiß mit Aethanol, Natriumchloridlösung und Natronlauge verschiedener Konzentrationen behandelt, wobei die Löslichkeit und die Art der extrahierten Eiweißkörper

verfolgt und studiert wurden. Aus den erhaltenen Löslichkeitskurven (Löslichkeit des Getreideeiweißes in Abhängigkeit von der Konzentration des Lösungsmittels) sowie aus dem Bild der Elektropherogramme konnte die geeignete Konzentration der einzelnen Lösungsmittel zur Extraktion des Getreideeiweißes festgestellt werden.

Die Papierelektrophorese erwies sich in unsern Untersuchungen als ein sehr elegantes Verfahren, um die Art der bei den Extraktionsversuchen in Lösung gegangenen Eiweißkörper zu studieren. Sie ist ein empfindliches und zuverlässiges Verfahren, vorausgesetzt natürlich, daß bei der Arbeit die günstigen Versuchsbedingungen gewählt werden. Eine erste Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, diese günstigen Bedingungen für die Papierelektrophorese von Getreideeiweiß zu finden und sie für die Untersuchung von Reis-, Hafer- und Weizeneiweiß auszuwerten.

Damit das extrahierte Eiweiß für die papierelektrophoretische Untersuchung noch gut brauchbar war, durfte es nicht oder nur möglichst wenig denaturiert werden. Die Gefahr einer Denaturierung des Eiweißes konnte durch Anwendung milder Arbeitsbedingungen beim Feinmahlen der Getreidekörner und bei der Extraktion des Getreidemehles weitgehend vermieden werden.

Nachdem die geeignete Konzentration der einzelnen Lösungsmittel zur Extraktion des Getreideeiweißes ermittelt worden war, wurde das Getreidemehl einer fraktionierten Extraktion mit destilliertem Wasser, Aethanol, Natriumchloridlösung und Natronlauge geeigneter Konzentration unterworfen. Der Prozentgehalt des Getreideeiweißes an Albumin, Prolamin, Globulin und Glutelin wurde durch Eiweißbestimmungen mit der *Kjeldahl*methode ermittelt.

Die durch fraktionierte Extraktion des Getreideeiweißes erhaltenen Albumine, Prolamine, Globuline und Gluteline wurden papierelektrophoretisch in ihre Komponenten zerlegt und die einzelnen Eiweißkomponenten durch deren elektrophoretische Beweglichkeit charakterisiert. Aus den Extinktionsdiagrammen sowie aus der Zahl der Komponenten und deren elektrophoretischen Beweglichkeiten wurde versucht, die Aehnlichkeiten sowie die Unterschiede zwischen den Eiweißfraktionen der drei Getreidearten zu zeigen.

## 2. Untersuchungsmaterial und Arbeitsmethoden

### a) *Art und Vorbereitung des Untersuchungsmaterials*

Das Untersuchungsmaterial setzte sich aus den folgenden Sorten von Getreide zusammen: drei polierte Reissorten, namentlich

- «Camolino», eine italienische Reissorte,
- «Silva Carolina», eine siamesische Reissorte,
- «Zenith 2», eine amerikanische Reissorte;
- eine Rohreissorte «Originario»
- eine Weizensorte «Manitoba» (Vollkorn)
- eine Hafersorte «Minor» (Vollkorn, ohne Spelzen).

Bei dem Minor-Hafer handelte es sich um Saathafer, der vorher nicht wie Hafer für die menschliche Ernährung und Futterhafer gedarrt wurde. Das Darren ist eine Hitzebehandlung der Haferkörner bei 90 bis 100° C während 2 bis 5 Stunden, wobei eine weitgehende Enzymaktivierung stattfindet und damit das Bitterwerden vermieden und ein nußähnlicher Geschmack erreicht wird. Gedarrter Hafer ist natürlich nicht geeignet für die papierelektrophoretischen Versuche.

Alle vier Reissorten wurden von der Firma Hans Giger & Co., Lebensmittelimport in Bern, der Manitoba-Weizen von der Eidg. Getreideverwaltung in Bern und der Minor-Hafer vom Verband landwirtschaftlicher Genossenschaften in Bern bezogen\*.

Zur Extraktion wurden die Getreidekörner zunächst in einer kleinen Laboratoriumsschlagmühle und anschließend in einem Porzellanmörser zerkleinert. Vorsichtshalber wurde während des Mahlens dafür gesorgt, daß die Tempera-

*Tabelle 1*  
*Siebanalyse der untersuchten Getreidemehle*

Sieb Nummer *	Zahl der Maschen auf 1 cm *	Korngröße in mm **	Gewichtsanteil in %		
			Camolino pol. Reis	Silva Carolina polierter Reis	Zenith 2 pol. Reis
V—VI	27 — 40	0,20 — 0,15	55	52	52
VI—VII	40 — 50	0,15 — 0,12	23	25	24
VII	> 50	< 0,12	22	23	24

Sieb Nummer *	Zahl der Maschen auf 1 cm *	Korngröße in mm **	Gewichtsanteil in %		
			Originario Rohreis	Manitoba Weizen Vollkorn	Minor Hafer Vollkorn
IVa—V	20 — 27	0,30 — 0,20	45	45	46
V—VI	27 — 40	0,20 — 0,15	30	31	40
VI—VII	40 — 50	0,15 — 0,12	17	14	10
VII	> 50	< 0,12	8	10	4

\* Normen nach Pharmacopoea Helvetica, 5. Aufl., 5 (1933).

\*\* Normen nach «Report of Committee on Standards», Hodgman Handbook of Chemistry & Physics, 34. Aufl., 2865 (1952).

\*Der Firma Hans Giger & Co., der Eidg. Getreideverwaltung und dem Verband landwirtschaftlicher Genossenschaften in Bern sei hiermit für die freundliche Zustellung des Untersuchungsmaterials der beste Dank ausgesprochen.

tur des Getreidemehles nicht über 35° C stieg, denn eine höhere Temperatur hätte eine Denaturierung des Getreideeiweißes hervorrufen können.

Um die Feinheit der untersuchten Getreidemehle messen zu können, wurde eine Siebanalyse durchgeführt. Die Resultate der Siebanalyse sind in Tabelle 1 zusammengestellt worden.

Das Weizen- und Hafervollkornmehl konnten nicht so fein wie der polierte Reis gemahlen werden. Der Rohreis könnte noch feiner gemacht werden. Damit aber vergleichbare Resultate zwischen Rohreis, Weizen (Vollkorn) und Hafer (Vollkorn) erreicht werden konnten, wurde der Rohreis annähernd gleich fein wie das Weizen- und Hafervollkornmehl gemahlen.

Um den Wassergehalt der lufttrockenen Getreidemehle zu bestimmen, wurden Feuchtigkeitsbestimmungen mit einer Probemenge von etwa 1 g Mehl, in einem Wägegöläschen von etwa 25 ml, bei einer Temperatur von 105° C, innerhalb 15 Stunden (über Nacht im Trockenschrank stehen lassen) durchgeführt. Die Resultate waren folgende:

*Tabelle 2*  
*Wassergehalt der untersuchten Getreidemehle*

Art des Getreidemehles	Wassergehalt in ‰
«Camolino», polierter Reis	11,8
«Silva Carolina», polierter Reis	10,6
«Zenith 2», polierter Reis	10,8
«Originario», Rohreis	11,1
«Manitoba»-Weizen, Vollkornmehl	12,6
«Minor»-Hafer, Vollkornmehl	8,7

*b) Extraktionsmittel und Extraktionsbedingungen*

Zur Extraktion des Getreideeiweißes wurden die folgenden Lösungsmittel verwendet:

Aethanol verschiedener Konzentrationen: 0, 10, . . . , 90 Vol.‰

NaCl-Lösung verschiedener Konzentrationen: 0, 1, 2, . . . , 10 ‰

Natronlauge verschiedener Konzentrationen: 0, 0,1, . . . , 0,5 ‰.

Für die Herstellung der Extraktionsmittel benützten wir absolutes Aethanol, NaCl pro Analyse und NaOH pro Analyse, die mit destilliertem Wasser zur gewünschten Konzentration verdünnt oder in Lösung gebracht wurden.

Bei der Extraktion wurden die folgenden Versuchsbedingungen gewählt:

a) 40 ml Extraktionsmittel pro 10 g lufttrockenes Getreidemehl,

- b) eine Temperatur von 5° C. Diese tiefe Temperatur wurde gewählt, um eine Komplikation wegen eines eventuellen mikrobiologischen Abbaus oder einer Wirkung der Samenfermente auf das Getreideeiweiß während der Extraktion zu vermeiden;
- c) eine Extraktionsdauer von 15 Stunden.

Nach Beendigung der Extraktion erfolgte die Trennung des Extraktes vom Rückstand durch Zentrifugieren bei Raumtemperatur, bei 3000 U/m innerhalb 10 Minuten. Das Zentrifugat wurde durch ein Faltenfilter filtriert, um noch vorhandene Stärkekörnchen oder andere unlösliche Bestandteile zu entfernen. Die erhaltene Extraktmenge betrug jeweils etwa 30 ml. Das extrahierte Getreideeiweiß wurde direkt im Extrakt, ohne vorherige Isolierung, möglichst schnell nach der Extraktion, papierelektrophoretisch untersucht.

Die Extraktion des Getreidemehles wurde in Zentrifugengläsern von etwa 65 ml durchgeführt. Dieses Verfahren war sehr praktisch und hatte den Vorteil, daß wir nach Ablauf der Extraktion anschließend abzentrifugieren konnten, ohne Verluste an Substanz zu erleiden. Für die papierelektrophoretischen Untersuchungen brauchten wir nicht viel Substanz. Mit der geringen Extraktmenge, die wir bei der Extraktion in einem Zentrifugenglas erhielten, konnten wir nicht nur eine qualitative Charakterisierung des extrahierten Getreideeiweißes, sondern auch eine quantitative Auswertung der Elektropherogramme erreichen.

### c) *Papierelektrophorese des Getreideeiweißes*

Für die papierelektrophoretischen Untersuchungen wurde die Elphor-H-Elektrophoresekammer nach *Graßmann* und *Hannig* und das Elphorstreifenpapier Nr. 2043 b.Gl. vom Format 3,9 x 31,5 cm der Firma Schleicher & Schüll verwendet. Die günstigsten Versuchsbedingungen wurden durch Variieren und Ausprobieren verschiedener Faktoren, wie des pH-Wertes und der Ionenstärke des verwendeten Puffers, der Klemmspannung, der Menge des aufgetragenen Extraktes, und der Versuchsdauer ermittelt. Auf Details treten wir nicht weiter ein. Für die Papierelektrophorese von Getreideeiweiß erwiesen sich die folgenden Versuchsbedingungen als geeignet: a) eine Natriumkarbonat-Bikarbonatpufferlösung von pH = 10 und Ionenstärke  $\mu = 0,15$  folgender Zusammensetzung: 750 ml einer 0,1-molaren Natriumkarbonatlösung, 750 ml einer 0,1-molaren Natriumbikarbonatlösung und 500 ml destilliertes Wasser, b) eine Klemmspannung von 220 Volt, c) eine aufgetragene Extraktmenge von 0,1 bis 0,4 ml, je nach Getreideart und Art des Extraktes. Der Eiweißgehalt der Extrakte betrug 0,1 bis 0,3 %, und die auf den Papierstreifen aufgetragene Extraktmenge enthielt 0,2 bis 0,5 mg Eiweiß, d) eine anodische Wanderung des Eiweißes, e) eine Versuchsdauer von 16 Stunden (mit Ausnahme der Versuche mit Reis- und Haferprolamin, bei denen die Laufzeit 5 Stunden betrug), f) Raumtemperatur von 20° C.

Die Anfärbung der Pherogramme wurde mit Amidoschwarz 10B und die Auswertung der gefärbten Pherogramme mittels Transparenzphotometrie durchgeführt (*Hellhammer und Högl, 1958*).

Für die Berechnung der elektrophoretischen Beweglichkeit wurde die folgende, für Papierelektrophorese korrigierte Formel angewandt:

$$u = \frac{d' \cdot l'}{t \cdot V} = \frac{d \cdot l}{t \cdot V} \cdot \left(\frac{l'}{l}\right)^2 \text{ cm}^2 \cdot \text{Volt}^{-1} \cdot \text{Sek.}^{-1}$$

wo  $u$  die Beweglichkeit des Eiweißes,  $d$  die meßbare, in  $t$  Sekunden von der Eiweißkomponente (scheinbar) zurückgelegte Strecke in cm,  $t$  die Versuchsdauer in Sekunden,  $d'$  der unsichtbare wirklich zurückgelegte Weg,  $l$  der meßbare scheinbare Elektrodenabstand,  $l'$  der effektive Elektrodenabstand,  $V$  die angelegte Potentialdifferenz (*Padmoyo und Högl, 1961*).

#### *d) Stickstoffbestimmung*

Die Eiweißbestimmung wurde nicht direkt im Extrakt, sondern im Ausgangsmehl und in den verschiedenen Rückständen durchgeführt, weil bei den Extraktionsversuchen nur kleine Mengen Eiweißextrakt anfielen. Zur Bestimmung des Stickstoffes wurde die Halbmikro-Kjeldahlmethode mit dem Destillationsapparat nach *Parnas und Wagner* angewandt. Beim Kjeldahlaufschluß wurde eine Katalysatormischung von Kaliumsulfat, Quecksilberoxyd und Selenpulver im Verhältnis  $\text{K}_2\text{SO}_4 : \text{HgO} : \text{Se} = 100 : 3 : 0,3$  verwendet. Die Arbeitsvorschrift für die Stickstoffbestimmung stützte sich auf die von *Hadorn, Jungkunz und Biefer* (1953) empfohlene, für Lebensmittel allgemein anwendbare Halbmikro-Kjeldahlmethode. Die Berechnung des Eiweißgehaltes wurde durch Multiplizieren des ermittelten Stickstoffgehaltes mit einem von *Jones* (*Sahyun, 1948*) empfohlenen Umrechnungsfaktor von 5,95 für Reiseiweiß und von 5,83 für Hafer- und Weizeneiweiß durchgeführt.

#### *e) Messung der SEK-Werte der Auszüge*

In unsern Versuchen haben wir den Begriff des «SEK-Wertes» (= spezifischer Elektropherogramm-Kurvenflächenwert), d.h. den Kurvenflächenwert von 0,01 ml Eiweißextrakt, eingeführt. Zur Ermittlung der SEK eines Auszugs wurde das Eiweißextrakt in steigenden Mengen (0,001; 0,005; 0,010, 0,015 und 0,020 ml) auf den Papierstreifen gebracht, nicht im elektrischen Feld behandelt, sondern direkt mit Amidoschwarz 10B angefärbt und die Extinktion im Photometer ausgemessen. Die Kurvenflächen wurden planimetriert und aus den erhaltenen Flächenwerten die SEK abgeleitet. Der SEK-Wert in jedem Auszug wurde als Maß für die Menge des im Extrakt in Lösung gegangenen Eiweißes verwendet. Obwohl die SEK-Werte der Auszüge nur relative Werte für die Eiweißgehalte darstellen, haben sie sich in unserer Arbeit als eine gute Ergänzung zu den Eiweißbestimmungen nach der Kjeldahlmethode erwiesen. Die Löslichkeitskurven (Löslichkeit des Getreideeiweißes in Abhängigkeit von der



Konzentration des Extraktionsmittels) ließen sich gut mit den gemessenen SEK-Werten der Auszüge konstruieren. Die Eiweißbestimmungen mit der Kjeldahlmethode haben wir, außer im Ausgangsmehl, nur bei jenen Extraktionen durchgeführt, bei denen das Lösungsmittel zur Extraktion des Getreideeiweißes die günstigste Konzentration besaß. Es hätte uns viel mehr Zeit und Arbeit gekostet, wenn wir bei jeder Extraktion eine Kjeldahlbestimmung durchgeführt hätten, denn verglichen mit den SEK-Messungen sind die Kjeldahlbestimmungen zu umständlich und zeitraubend.

#### f) Eiweißberechnungen auf Grund gemessener SEK-Werte

Neben den Eiweißbestimmungen mit Hilfe der Kjeldahlmethode wurden auch Eiweißberechnungen auf Grund von gemessenen SEK-Werten der Auszüge durchgeführt. Bei diesen Berechnungen wurde die unterschiedliche Anfärbbarkeit der verschiedenen Eiweißfraktionen durch Benützung entsprechender Korrekturfaktoren ausgeglichen. Aus der Kombination zwischen den durch Kjeldahlbestimmungen ermittelten Eiweißgehalten und den SEK-Werten der Auszüge konnte eine Größe für die Anfärbbarkeit der Eiweißfraktionen, ausgedrückt in  $\text{mm}^2/\text{mg}$  (Kurvenflächenwert pro mg Eiweiß) abgeleitet werden. Der Korrekturfaktor für die einzelnen Eiweißfraktionen wurde aus dem reziproken Wert des Verhältnisses der Anfärbbarkeit der betreffenden Eiweißfraktion zu derjenigen des Albumins, die als Bezugsfaktor verwendet und gleich 1 gesetzt wurde, abgeleitet. Die Eiweißberechnungen auf Grund von SEK-Messungen waren schnell durchführbar und nicht so mühsam und zeitraubend wie die Eiweißbestimmungen nach der Kjeldahlmethode. Sie ergaben aber nur Näherungswerte. Wir benützen sie, um die Ergebnisse der Kjeldahlbestimmungen zu kontrollieren.

### 3. Resultate

#### a) Geeignetste Konzentration einzelner Extraktionsmittel

Bei der Extraktion des Getreideeiweißes mit Aethanol verschiedener Konzentrationen zeigen die Löslichkeitskurven bei allen drei Getreidearten zwei Teile, denjenigen des wasserlöslichen Albumins und denjenigen des alkohollöslichen Prolamins. Der Tiefpunkt zwischen den beiden Teilen liegt bei einer Alkoholkonzentration von 40 Vol.%. Die Löslichkeit des alkohollöslichen Prolamins zeigt ein Maximum bei 70 Vol.% Aethanol bei Reis und Hafer, und zwischen 60 und 70 Vol.% Aethanol bei Weizen (vgl. *Padmoyo* und *Högl*, 1961).

Abbildung 1 zeigt uns den Verlauf der durch das Variieren der Alkoholkonzentration des Extraktionsmittels hervorgerufenen Änderungen der Elektropherogramme. Bei den gezeigten Elektropherogrammen betrug die Versuchsdauer bei Originario-Reis 5 Stunden und bei Minor-Hafer und Manitoba-Weizen 16 Stunden. Mit der Zunahme der Alkoholkonzentration von 0 bis 40 % wurden die Eiweißbanden der wasserlöslichen Albumine bei allen drei

Getreidearten schwächer. Bei weiterer Zunahme des Alkoholgehalts des Extraktionsmittels sind andere Eiweißbanden zum Vorschein gekommen. Diese Eiweißbanden der alkohollöslichen Prolamine sehen bei einer Alkoholkonzentration von 70 Vol.‰ am deutlichsten aus. Merkwürdigerweise gab das Haferprolamin keine scharf abgegrenzten Eiweißbanden auf dem Elektropherogramm. Durch Verkürzen der Versuchsdauer auf 5 Stunden konnte eine Verbesserung erreicht werden (Abb. 10).

Bei der Extraktion des Getreideeiweißes mit NaCl-Lösungen verschiedener Konzentrationen zeigen die Löslichkeitskurven eine Zunahme der Löslichkeit des Eiweißes zwischen Salzkonzentrationen von 0 und 4 bis 6 ‰ NaCl. Das Weizeneiweiß erreicht einen Sättigungswert seiner Löslichkeit bei einer NaCl-Konzentration von 4 ‰, das Reiseiweiß bei 5 ‰ NaCl und das Hafereiweiß bei 6 ‰ NaCl. Bei Weizen ist zwischen Salzkonzentrationen von 4 bis 10 ‰ NaCl eine ganz schwache Abnahme der Löslichkeit des Eiweißes festzustellen (Abbildung 2).

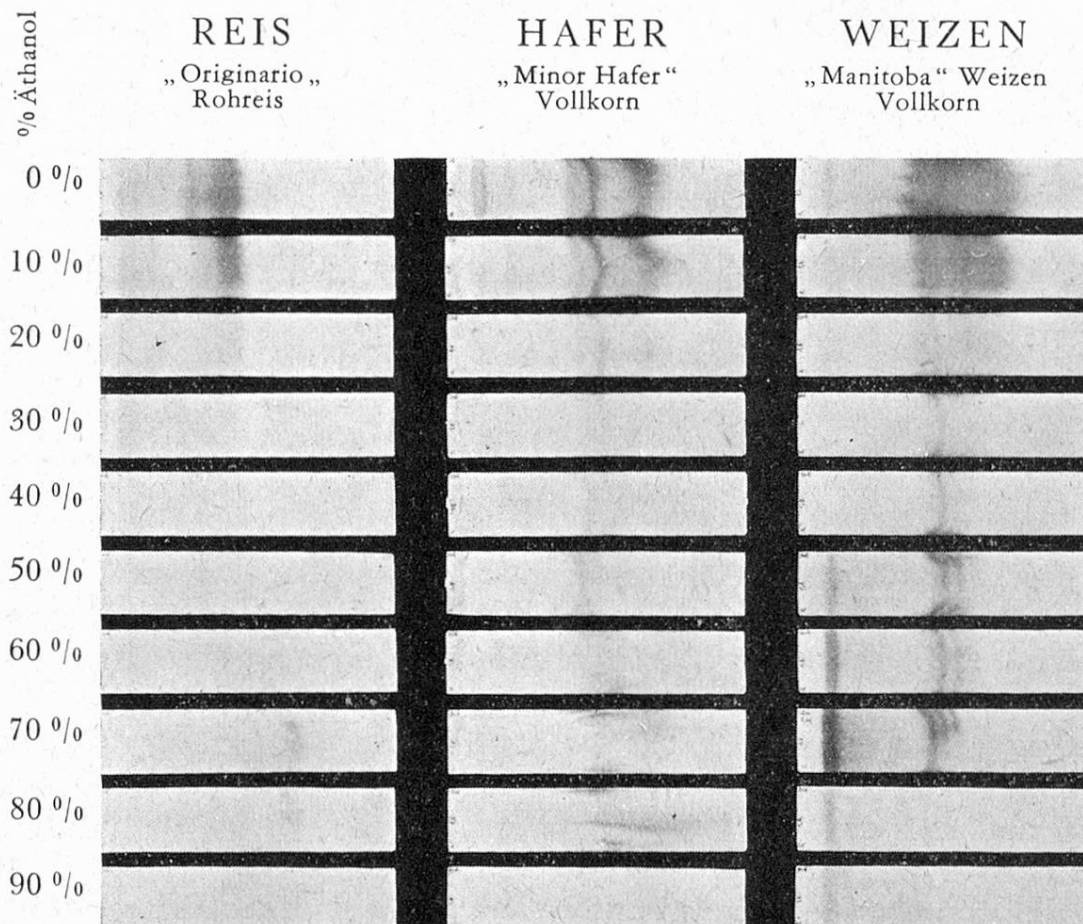


Abbildung 1  
Elektropherogramme des mit Aethanol verschiedener Konzentrationen extrahierten Getreide-Eiweißes

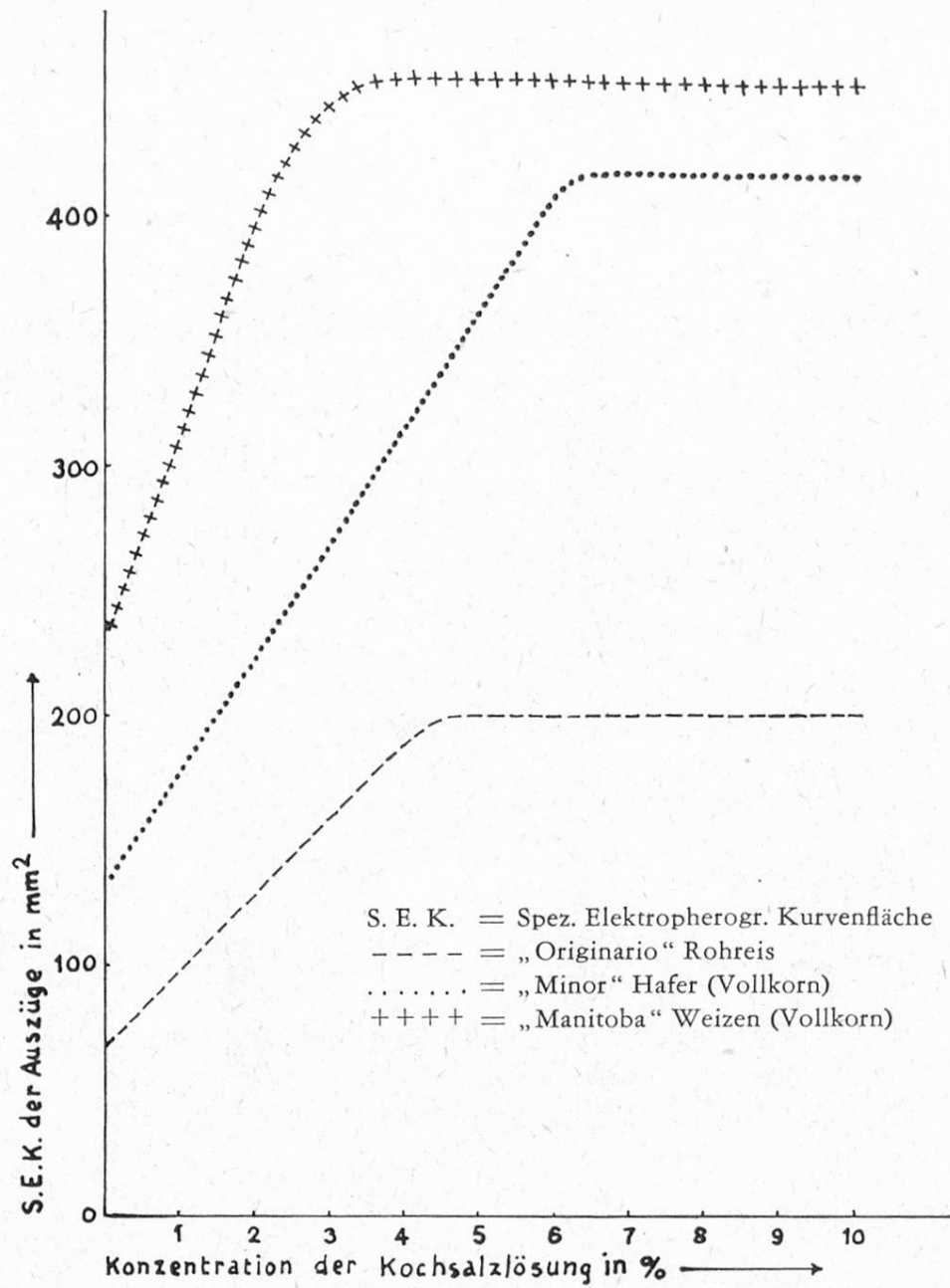


Abbildung 2

Löslichkeit des Getreide-Eiweißes in NaCl-Lösung verschiedener Konzentrationen

## Salzlösliches Eiweiß einiger Getreidearten

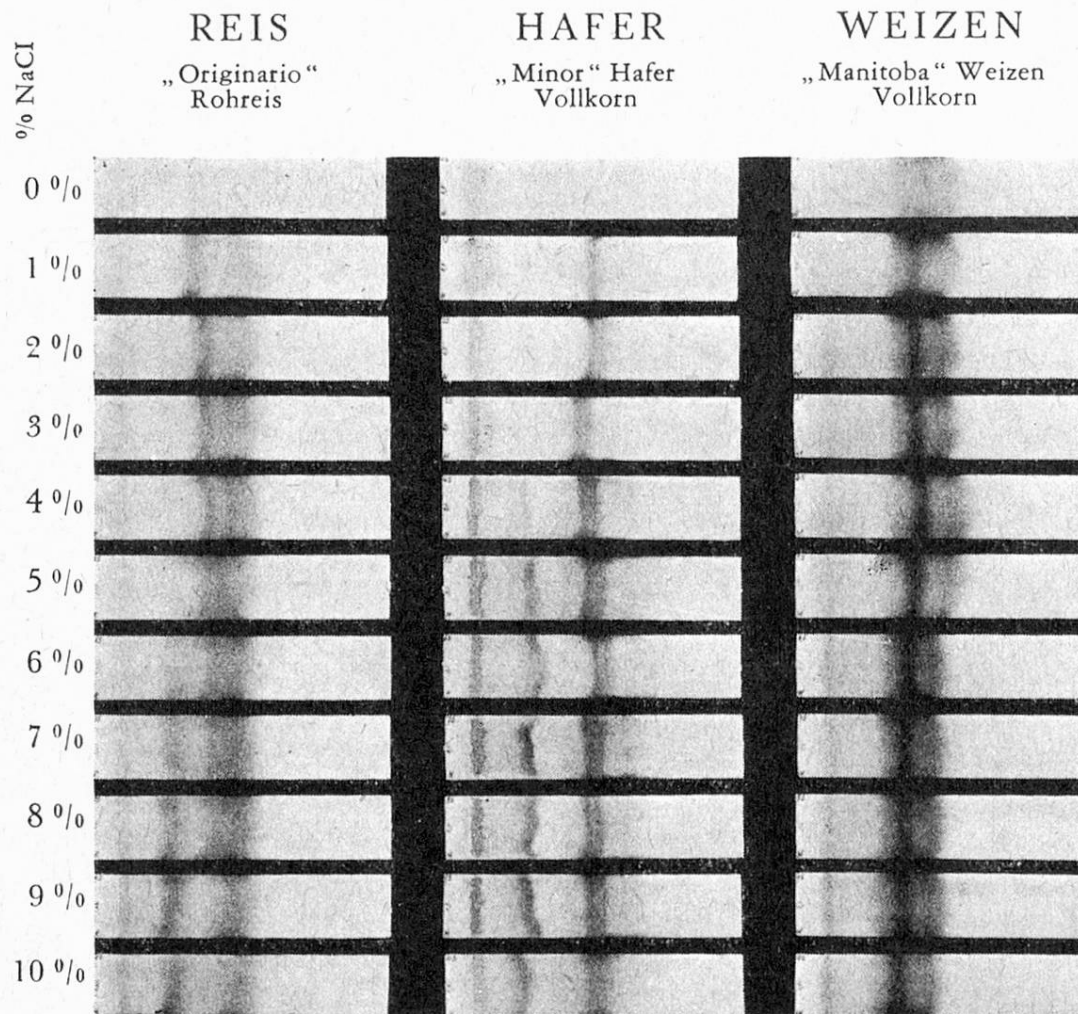


Abbildung 3

Elektropherogramme des mit NaCl-Lösung verschiedener Konzentrationen extrahierten Getreide-Eiweißes

Abbildung 3 zeigt uns die Elektropherogramme des Eiweißes, das aus dem Getreidemehl, ohne Vorextraktion mit destilliertem Wasser, direkt mit NaCl-Lösungen verschiedener Konzentrationen extrahiert wurde. Beim Weizeneiweiß sind mit der Zunahme der Salzkonzentration des Extraktionsmittels keine ausgesprochene Veränderungen im Bild der Elektropherogramme festzustellen. Beim Hafer- und Reiseiweiß hingegen gibt es deutlich eine Eiweißkomponente, die sich nicht mit Salzkonzentrationen von weniger als 4 % NaCl extrahieren ließ, sondern erst bei Extraktion mit Salzlösungen höher als 5 % NaCl deutlich zum Vorschein kam. Diese Eiweißkomponente erreichte ihr Löslichkeitsoptimum bei einer NaCl-Konzentration von 8 %.

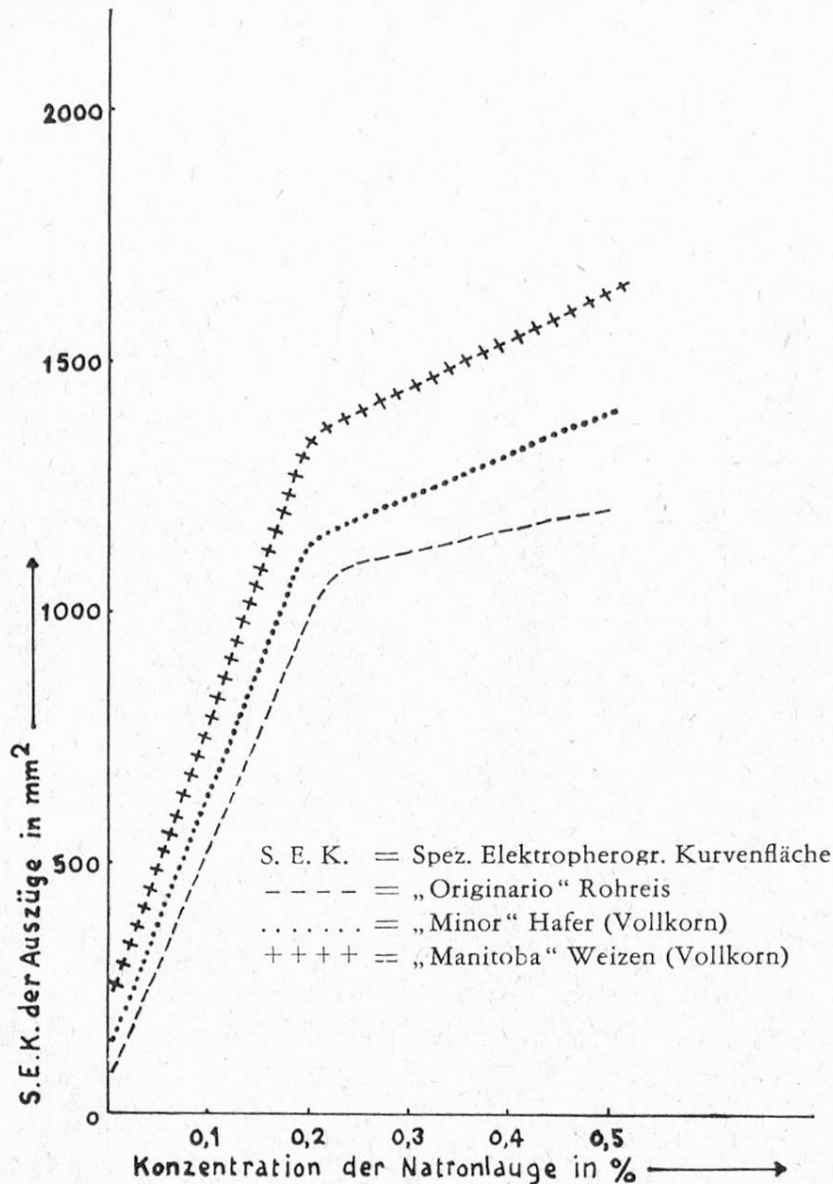


Abbildung 4

Löslichkeit des Getreide-Eiweißes in Natronlauge verschiedener Konzentrationen

Bei der Extraktion des Getreideeiweißes mit Natronlauge verschiedener Konzentrationen ist zwischen Konzentrationen von 0 und 0,2 % NaOH im Extraktionsmittel eine sehr starke Zunahme der Löslichkeit des Getreideeiweißes festzustellen. Bei weiterer Zunahme der NaOH-Konzentration nimmt die Löslichkeit des Getreideeiweißes viel weniger stark zu (Abb. 4). Auf den Elektropherogrammen bei 0 % NaOH (= dest. Wasser) (Abb. 5) sind kaum Eiweißbanden festzustellen, weil die aufgetragene Extraktmenge (0,1 ml) nicht genügte, um das wasserlösliche Eiweiß sichtbar zu machen. Auf den Elektropherogrammen bei 0,1 und 0,2 % NaOH sind die Eiweißbanden noch deutlich voneinander abgetrennt, aber bei NaOH-Konzentrationen größer als 0,2 % ist die Trennung nicht mehr genügend. Offenbar war der pH-Wert des Extrak-

## Alkalilösliches Eiweiß einiger Getreidearten

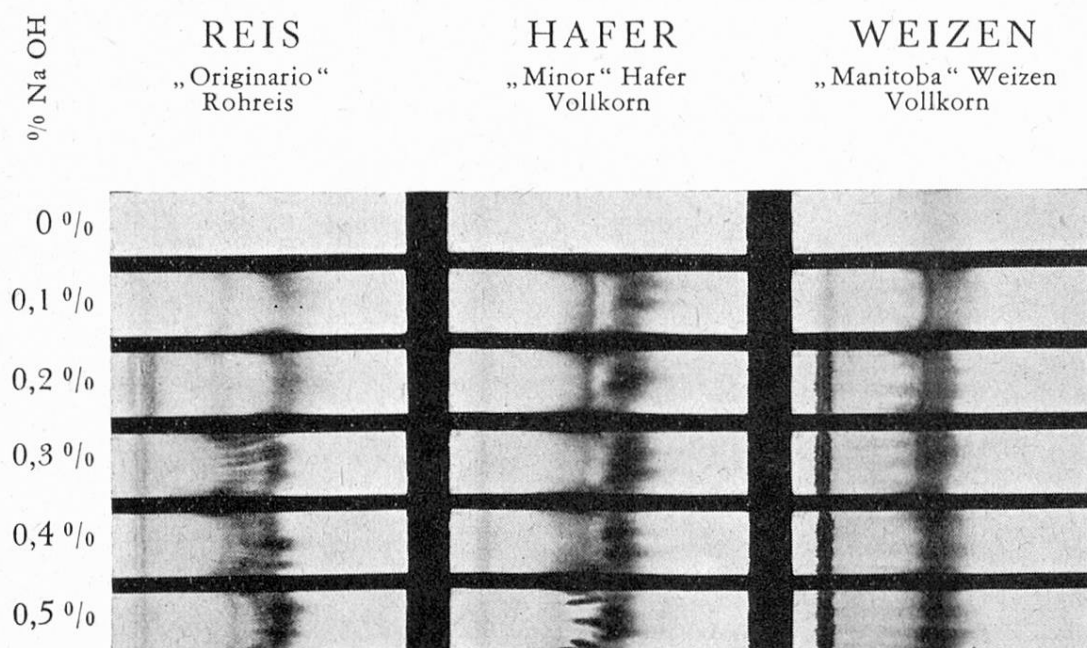


Abbildung 5

Elektropherogramme des mit Natronlauge verschiedener Konzentrationen extrahierten Getreide-Eiweißes

tionsmittels bereits zu hoch, und es ist dadurch eine Zerstörung des extrahierten Getreideeiweißes eingetreten.

Aus den erhaltenen Löslichkeitskurven sowie aus dem Bild der Elektropherogramme hat sich gezeigt, daß für unsere papierelektrophoretischen Versuche die einzelnen Eiweißkörper am besten mit den folgenden Lösungsmitteln extrahiert werden sollen: die Albumine mit destilliertem Wasser, die Prolamine mit Aethanol von 70 Vol.%, die Globuline mit 8%iger NaCl-Lösung und die Gluteline mit 0,2%iger Natronlauge.

### b) Extinktionsdiagramme der extrahierten Eiweißkörper

Die Extinktionsdiagramme wurden aus den Meßergebnissen bei der Auswertung der Elektropherogramme mittels der Transparenzphotometrie erhalten.

Bei dem Extraktionsversuch mit Aethanol verschiedener Konzentrationen wurden bei der Herstellung der Extinktionsdiagramme nicht alle auf Abbildung 1 gegebenen Elektropherogramme ausgewertet, sondern nur diejenigen gewählt, bei denen die Extraktion des Eiweißes bei der günstigsten Alkoholkonzentration erfolgte, d.h. 0 % Aethanol (= dest. Wasser) bei den wasserlöslichen Albuminen und 70 Vol. % Aethanol bei den alkohollöslichen Prolaminen. Wie aus den Extinktionsdiagrammen hervorgeht, besteht das Albumin, abgesehen von einer an der Auftragsstelle liegen gebliebenen Komponente, aus drei Komponenten bei dem Originario-Rohreis (Abb. 6), aus drei Komponenten

bei dem Minor-Hafer (Abb. 7) und aus vier Komponenten bei dem Manitoba-Weizen (Abb. 8).

Das Prolamin besteht, abgesehen von einer an der Auftragsstelle liegen gebliebenen Komponente, aus einer Komponente bei dem Originario-Rohreis (Abb. 9), aus zwei nicht ganz sauber getrennten Komponenten bei dem Minor-Hafer (Abb. 10) und aus drei ganz scharf getrennten Komponenten bei dem Manitoba-Weizen (Abb. 11). Ueber die an der Auftragsstelle liegen gebliebene Komponente kommen wir bei der Diskussion wieder zurück.

Von den Elektropherogrammen bei dem Extraktionsversuch mit NaCl-Lösungen verschiedener Konzentrationen sind auf den Abbildungen 12, 13 und 14 Extinktionsdiagramme des aus dem Getreidemehl mit 4, 6, 8 und 10%iger NaCl-Lösung extrahierten Eiweißes gegeben.

Bei Originario-Rohreis und Minor-Hafer besteht das in Salzlösungen lösliche Eiweiß aus vier Komponenten. In Salzlösungen mit einer NaCl-Konzentration geringer als 4% lösen sich nur drei Eiweißkomponenten. Wir bezeichnen sie als Komponente 2, 3 und 4. Komponente 1 kommt erst in einer Salzlösung von 4% NaCl zum Vorschein. Bei weiterer Zunahme der NaCl-Konzentration nimmt die Löslichkeit dieser Komponente zu. Durch fraktionierte Extraktion des Reis- und Hafermehles, zunächst mit destilliertem Wasser und anschließend mit 8%iger NaCl-Lösung, lassen sich die Eiweißkomponenten 2, 3 und 4 mit reinem, salzfreiem Wasser extrahieren (Abb. 15 und 16). Sie sind folglich nichts anderes als die Albuminkomponenten, die wir bereits auf den Abbildungen 6 und 7 gesehen haben. Das Reis- und Haferglobulin besteht vor allem aus der Komponente 1, d.h. derjenigen Eiweißkomponente, die sich nicht in Salzlösungen von weniger als 4% NaCl extrahieren ließ, sondern erst bei Extraktion mit Salzlösungen von mehr als 5% NaCl deutlich zum Vorschein kam.

Beim Manitoba-Weizen besteht das in Salzlösung lösliche Eiweiß aus drei Komponenten (Abb. 14). Die Komponenten 1 und 3 ließen sich in reinem, salzfreiem Wasser extrahieren (Abb. 17) und sind also Albuminkomponenten. Das Weizenglobulin ist demnach die Komponente 2.

Von den Elektropherogrammen bei dem Extraktionsversuch mit Natronlauge verschiedener Konzentrationen wurden bei der Herstellung der Extinktionsdiagramme nur diejenigen ausgewertet, bei denen die Extraktion des Getreideeiweißes mit 0,2%iger Natronlauge erfolgte (Abb. 18, 19 und 20). Beim Reis und Weizen ist ein ziemlich großer Teil des Eiweißes an der Auftragsstelle liegen geblieben. Abgesehen von dieser Komponente besteht das alkalilösliche Eiweiß beim Reis aus drei, beim Hafer und Weizen aus zwei Komponenten. Bei der direkten Extraktion des Getreidemehles mit verdünnter Natronlauge erhalten wir, wegen des Ampholytcharakters aller Eiweißkörper, ein Gemisch von Albumin, Globulin, Prolamin und Glutelin, also das Gesamteiweiß des Samens im Extrakt. Zur Untersuchung der Gluteline wurde das Getreidemehl zunächst mit destilliertem Wasser, dann mit 70%igem Aethanol und nachher mit 8%iger NaCl-Lösung bei 5°C erschöpfend extrahiert. Abbildungen 21, 22

*Tabelle 3*  
*Elektrophoretische Beweglichkeit untersuchter Eiweißkörper*  
 (in  $\text{cm}^2 \cdot \text{Volt}^{-1} \text{Sek.}^{-1}$ , bei  $\text{pH} = 10$ ;  $\mu = 0,15$ ;  $T = 20^\circ \text{C}$ )

Getreideart	Albumine	Globuline	Prolamine	Gluteline
Originario, Rohreis	3 Komp.: — $3,4 \cdot 10^{-5}$ — $4,6 \cdot 10^{-5}$ — $5,1 \cdot 10^{-5}$	2 Komp.: — $1,5 \cdot 10^{-5}$ — $2,9 \cdot 10^{-5}$	1 Komp.: — $16,3 \cdot 10^{-5}$	3 Komp.: — $2,7 \cdot 10^{-5}$ — $3,1 \cdot 10^{-5}$ — $4,4 \cdot 10^{-5}$
Camolino, polierter Reis	2 Komp.: — $3,3 \cdot 10^{-5}$ — $4,5 \cdot 10^{-5}$	2 Komp.: — $1,5 \cdot 10^{-5}$ — $3,0 \cdot 10^{-5}$	1 Komp.: — $16,0 \cdot 10^{-5}$	3 Komp.: — $2,6 \cdot 10^{-5}$ — $3,1 \cdot 10^{-5}$ — $4,4 \cdot 10^{-5}$
Minor-Hafer, Vollkorn	3 Komp.: — $3,0 \cdot 10^{-5}$ — $3,7 \cdot 10^{-5}$ — $5,3 \cdot 10^{-5}$	2 Komp.: — $1,7 \cdot 10^{-5}$ — $3,6 \cdot 10^{-5}$	2 Komp.: — $14,5 \cdot 10^{-5}$ — $16,0 \cdot 10^{-5}$	1 Komp.: — $3,1 \cdot 10^{-5}$
Manitoba-Weizen, Vollkorn	4 Komp.: — $2,5 \cdot 10^{-5}$ — $3,1 \cdot 10^{-5}$ — $3,5 \cdot 10^{-5}$ — $3,9 \cdot 10^{-5}$	1 Komp.: — $2,9 \cdot 10^{-5}$	3 Komp.: — $3,4 \cdot 10^{-5}$ — $3,7 \cdot 10^{-5}$ — $4,2 \cdot 10^{-5}$	2 Komp.: — $2,9 \cdot 10^{-5}$ — $3,5 \cdot 10^{-5}$

Das Minuszeichen vor den Zahlenwerten bezieht sich auf die negative Ladung der Eiweißteilchen. Bei dem verwendeten pH-Wert des Puffers ( $\text{pH} = 10$ ) wanderten die Eiweißteilchen während der Papierelektrophorese als Eiweiß-Anionen in der Richtung auf die Anode.

Bei der in der Tabelle erwähnten Zahl der Komponenten einzelner Eiweißfraktionen wurde die an der Auftragsstelle liegen bleibende Komponente, die eine elektrophoretische Beweglichkeit von  $u = 0$  besitzt, nicht mitgerechnet. Sie kommt vor allem beim Weizenprolamin und beim Glutelin des polierten Reises vor und ist offenbar ein denaturierter Teil des extrahierten Eiweißes.

und 23 zeigen uns Extinktionsdiagramme des aus dem Getreidemehl nach Entfernung des Albumins, Globulins und Prolamins mit 0,2%iger Natronlauge extrahierten Glutelins.

### *c) Elektrophoretische Beweglichkeit der Eiweißkomponenten*

Die Berechnungen der elektrophoretischen Beweglichkeit der Albumin-, Globulin-, Prolamin- und Glutelinkomponenten der untersuchten Getreidearten ergaben die folgenden Resultate:



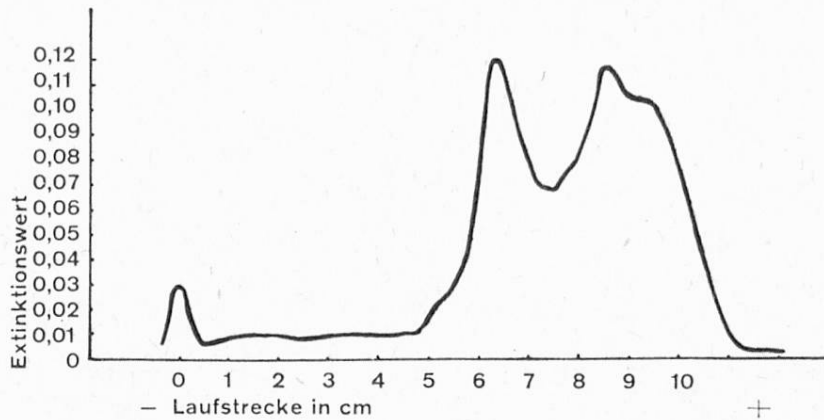


Abbildung 6

Extinktionsdiagramm des wasserlöslichen Albumins in Rohreis

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml dest. Wasser, 10 g lufttr. Reismehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden.

*Papierelektrophorese:* Aufgetr. Extrakt 0,4 ml, Bikarbonat-Karbonat-Puffer, pH = 10;  $\mu = 0,15$ , Klemmspannung 220 Volt, Raumtemperatur 20° C, S & S Papier 2043 b. Gl. (Format 3,9 x 31,5 cm), Versuchsdauer 16 Stunden. Wanderung anodisch. Anfärbung Amidoschwarz 10 B. Transparenzphotometrie.

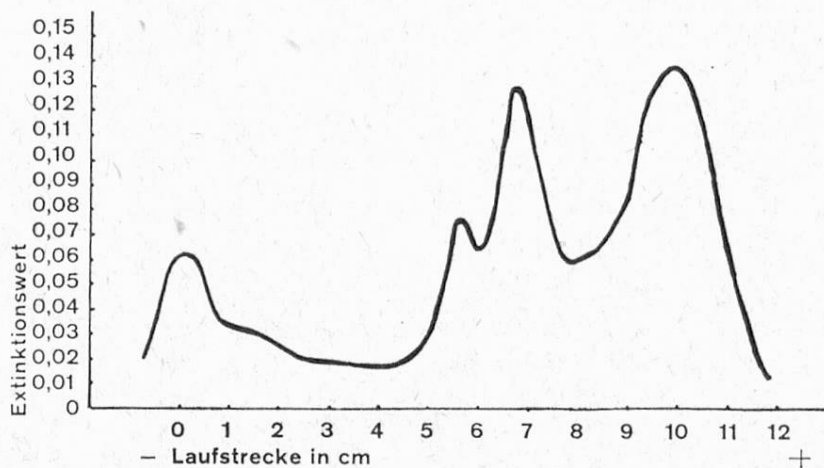


Abbildung 7

Extinktionsdiagramm des wasserlöslichen Albumins in Hafer (Vollkorn)

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml dest. Wasser, 10 g lufttr. Hafermehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papierelektrophorese:* wie bei Abbildung 6

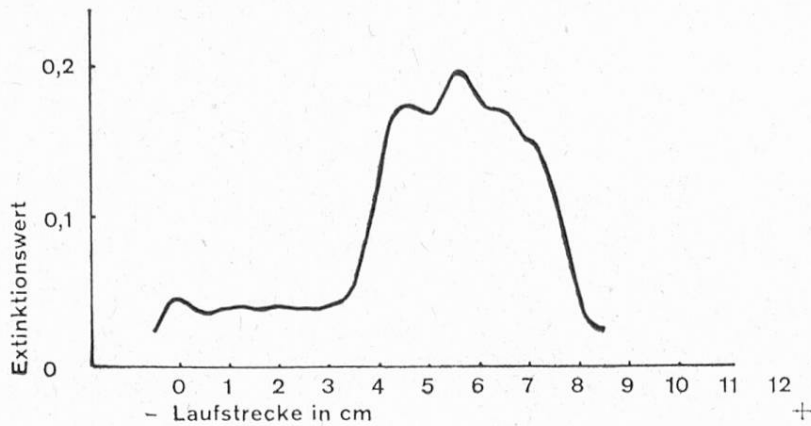


Abbildung 8  
Extinktionsdiagramm des wasserlöslichen Albumins in Weizen (Vollkorn)

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml dest. Wasser, 10 g lufttr. Weizenmehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papierelektrophorese:* Aufgetr. Extrakt 0,2 ml. Uebrige Versuchsbedingungen wie bei Abbildung 6.

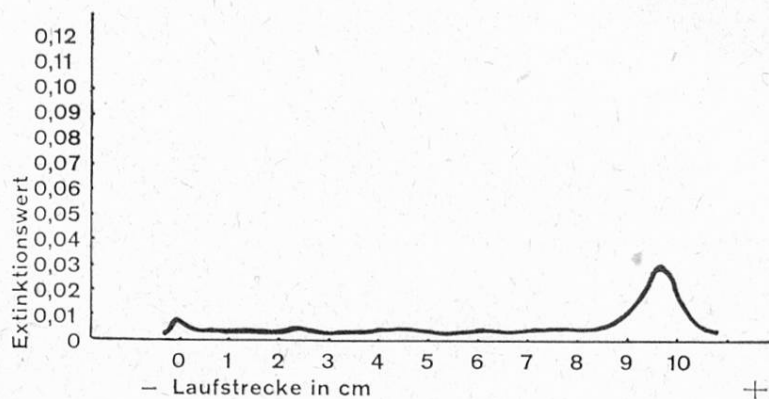


Abbildung 9  
Extinktionsdiagramm des alkohollöslichen Prolamins in Rohreis

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml 70 Vol. % Aethanol, 10 g lufttr. Reismehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papierelektrophorese:* Aufgetr. Extrakt 0,4 ml, Bikarbonat-Karbonat Puffer, pH = 10;  $\mu = 0,15$ , Klemmspannung 220 Volt, Raumtemperatur 20° C, S & S Papier 2043 b. Gl. (Format 3,9 x 31,5 cm). Versuchsdauer 5 Stunden. Wanderung anodisch. Anfärbung Amidoschwarz 10 B. Transparenzphotometrie.

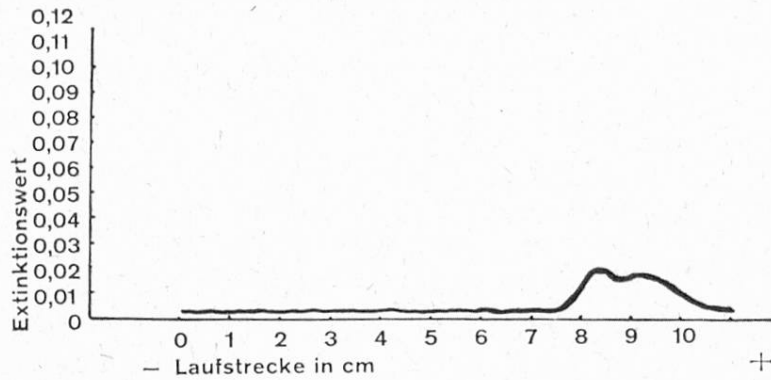


Abbildung 10  
Extinktionsdiagramm des alkohollöslichen Prolamins in Hafer (Vollkorn)

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml 70 Vol. % Aethanol, 10 g lufttr. Hafermehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papierelektrophorese:* wie bei Abbildung 9

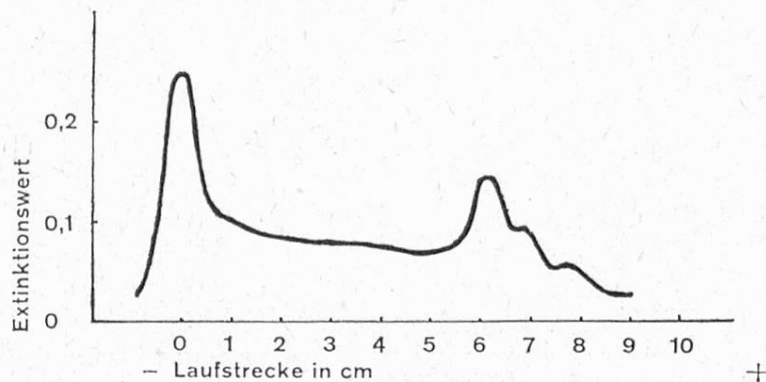


Abbildung 11  
Extinktionsdiagramm des alkohollöslichen Prolamins in Weizen (Vollkorn)

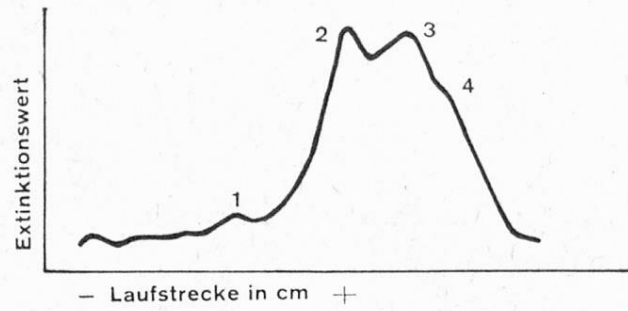
*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml 70 Vol. % Aethanol, 10 g lufttr. Weizenmehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

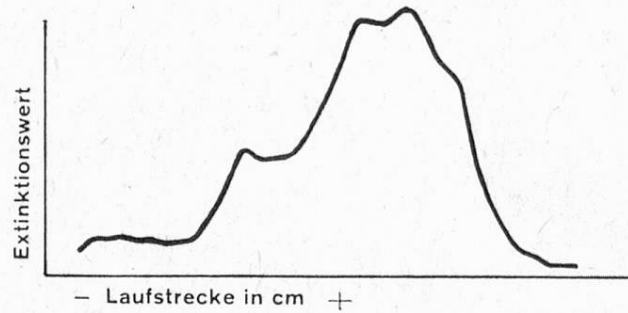
*Papierelektrophorese:* Aufgetr. Extrakt 0,2 ml, Versuchsdauer 16 Stunden. Uebrige Versuchsbedingungen wie bei Abbildung 9.

# « ORIGINARIO » ROHREIS

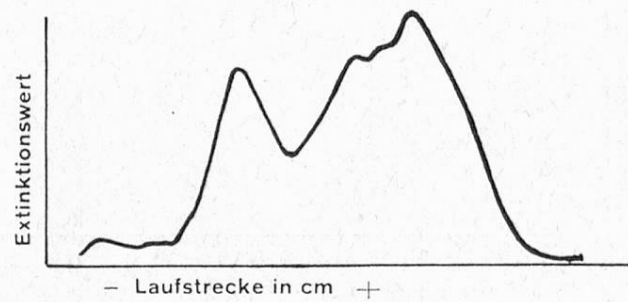
extrahiert mit Kochsalzlösung verschiedener Konzentration



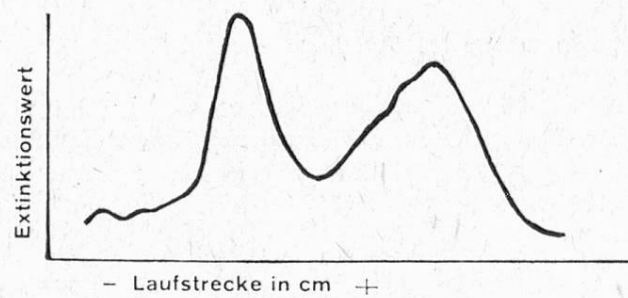
extrahiert mit  
4%iger Kochsalzlösung



extrahiert mit  
6%iger Kochsalzlösung



extrahiert mit  
8%iger Kochsalzlösung

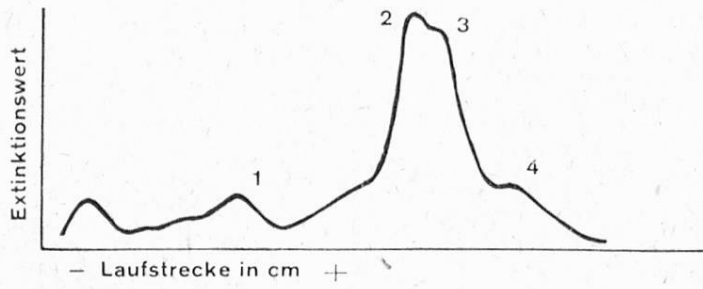


extrahiert mit  
10%iger Kochsalzlösung

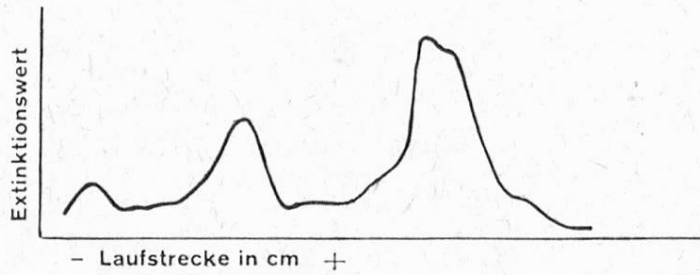
Abbildung 12

Extinktionsdiagramme des aus Rohreismehl mit 4-, 6-, 8- und 10prozentiger NaCl-Lösung extrahierten Eiweißes

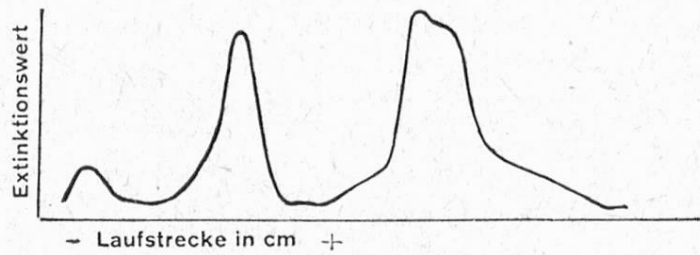
« MINOR » HAFER<sup>®</sup> (Vollkorn)  
extrahiert mit Kochsalzlösung verschiedener Konzentration



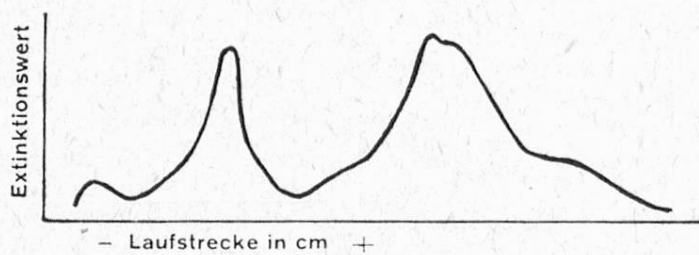
extrahiert mit  
4%iger Kochsalzlösung



extrahiert mit  
6%iger Kochsalzlösung



extrahiert mit  
8%iger Kochsalzlösung



extrahiert mit  
10%iger Kochsalzlösung

Abbildung 13

Extinktionsdiagramme des aus Hafer-Vollkornmehl mit 4-, 6-, 8- und 10prozentiger NaCl-Lösung extrahierten Eiweißes

« MANITOBA » WEIZEN (Vollkorn)  
extrahiert mit Kochsalzlösung verschiedener Konzentration

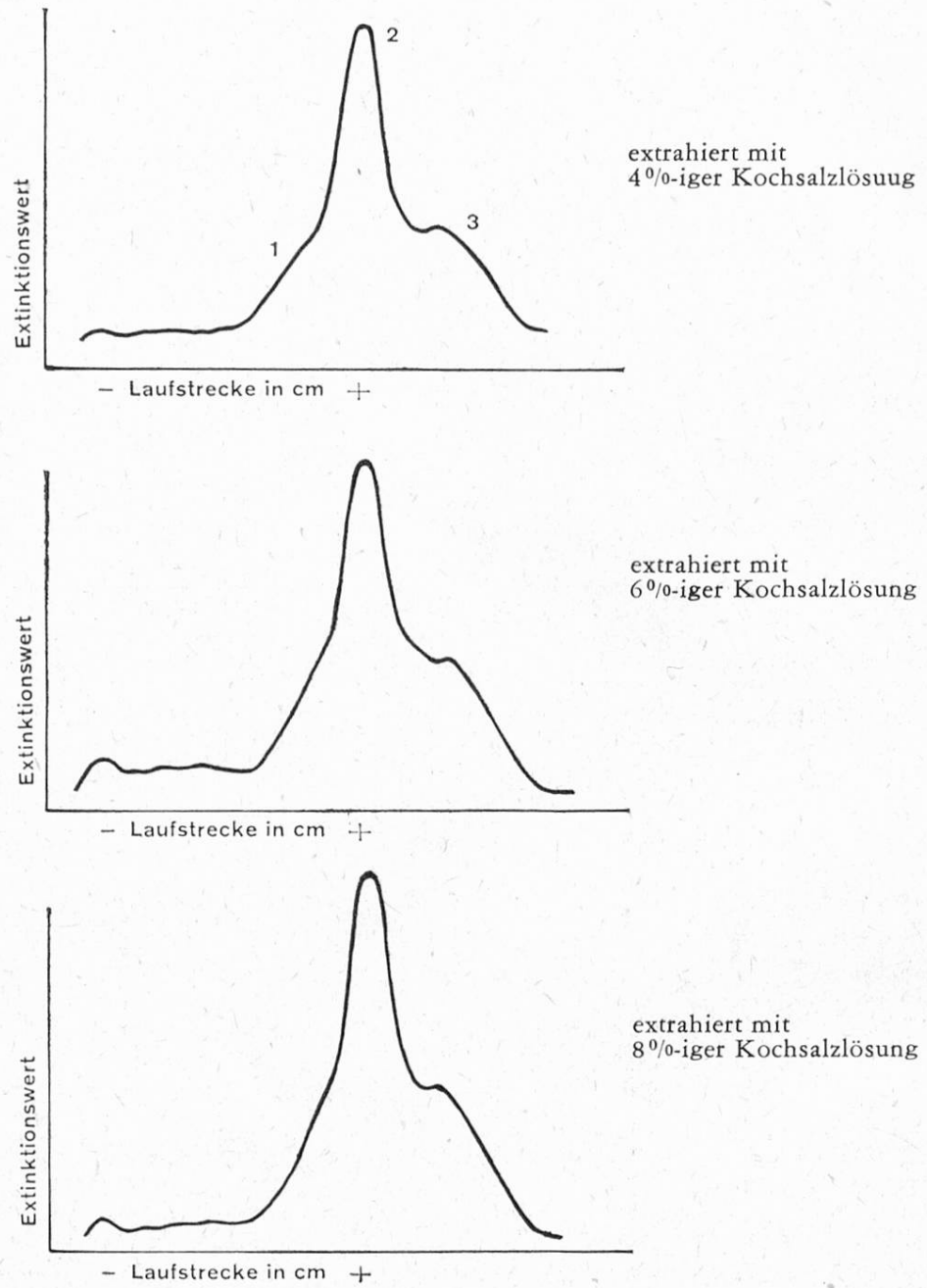
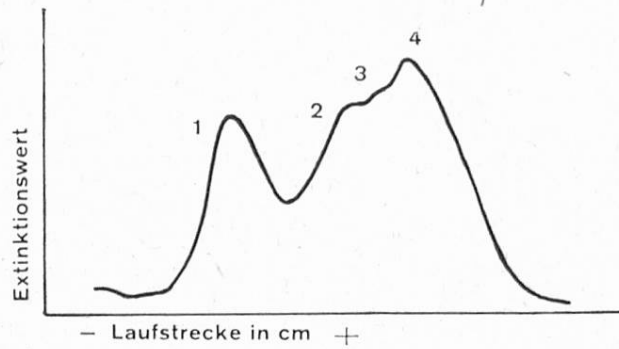
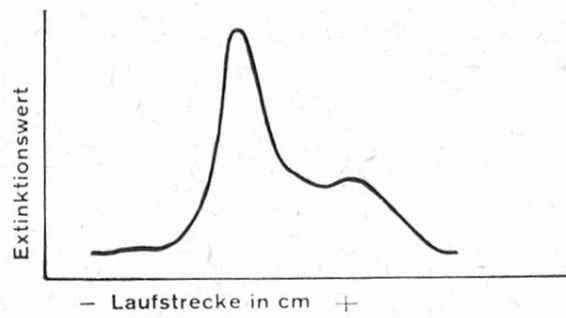


Abbildung 14  
Extinktionsdiagramme des aus Weizen-Vollkornmehl mit 4-, 6- und 8prozentiger NaCl-Lösung extrahierten Eiweißes

« ORIGINARIO » ROHREIS



Albumin + Globulin  
extrahiert mit  
8%iger Kochsalzlösung

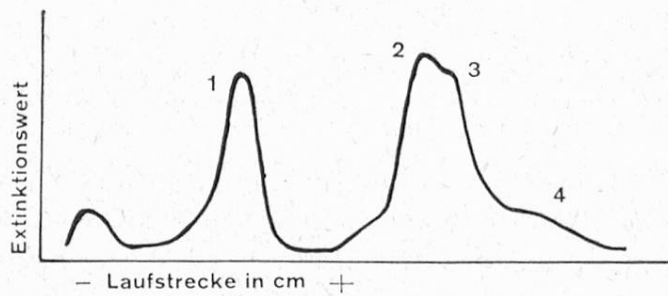


Globulin  
extrahiert mit 8%iger  
Kochsalzlösung nach  
Entfernung des wasser-  
löslichen Albumins

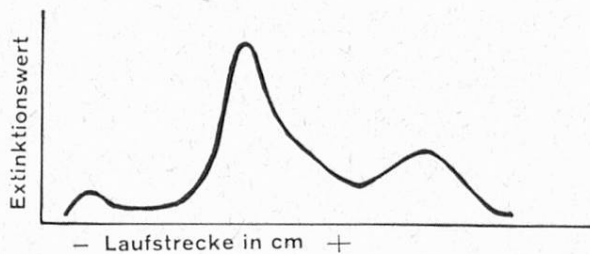
Abbildung 15

Extinktionsdiagramme der aus Rohreismehl mit 8prozentiger NaCl-Lösung  
extrahierten Eiweißkörper

« MINOR » HAFER (Vollkorn)



Albumin + Globulin  
extrahiert mit  
8%iger Kochsalzlösung

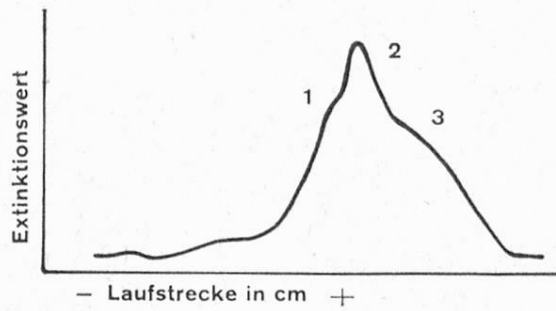


Globulin  
extrahiert mit 8%iger  
Kochsalzlösung nach  
Entfernung des wasser-  
löslichen Albumins

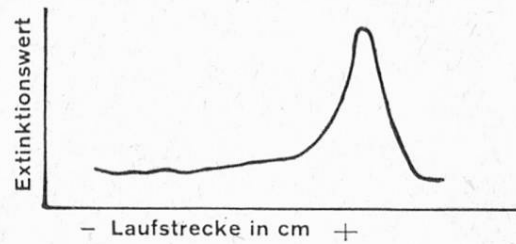
Abbildung 16

Extinktionsdiagramme der aus Hafer-Vollkornmehl mit 8prozentiger NaCl-Lösung  
extrahierten Eiweißkörper

« MANITOBA » WEIZEN (Vollkorn)



Albumin + Globulin  
extrahiert mit  
1 0/0-iger Kochsalzlösung



Globulin  
extrahiert mit 1 0/0-iger  
Kochsalzlösung nach  
Entfernung des wasser-  
löslichen Albumins

Abbildung 17

Extinktionsdiagramme der aus Weizen-Vollkornmehl mit 1prozentiger NaCl-Lösung extrahierten Eiweißkörper

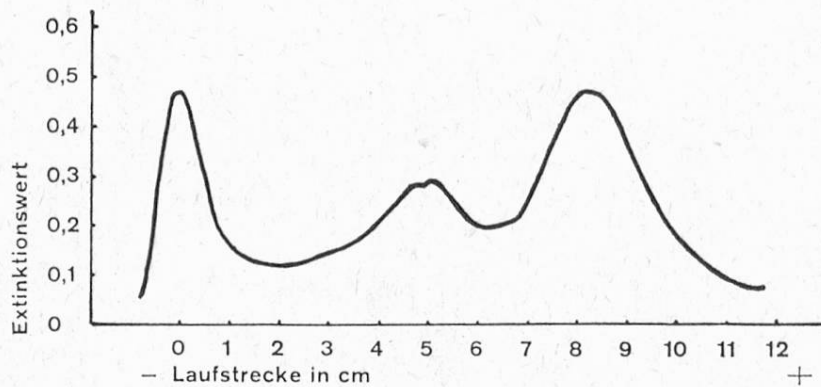


Abbildung 18

Extinktionsdiagramm des aus Rohreismehl direkt mit 0,2prozentiger Natronlauge extrahierten Eiweißes

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml 0,2prozentige NaOH, 10 g lufttr. Reismehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papierelektrophorese:* Aufgetr. Extrakt 0,1 ml, Bikarbonat-Karbonat Puffer, pH = 10;  $\mu = 0,15$ , Klemmspannung 220 Volt, Raumtemperatur 20° C, S & S Papier 2043 b. Gl. (Format 3,9 x 31,5 cm). Versuchsdauer 16 Stunden. Wanderung anodisch. Anfärbung Amidoschwarz 10 B. Transparenzphotometrie.



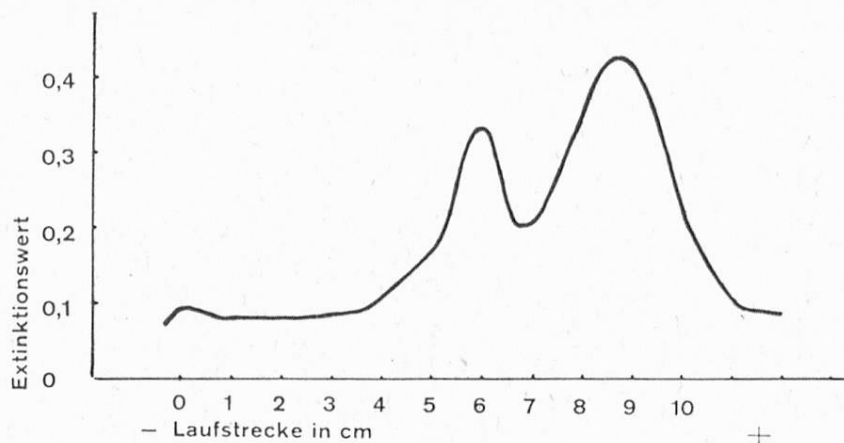


Abbildung 19

Extinktionsdiagramm des aus Hafer-Vollkornmehl direkt mit 0,2prozentiger Natronlauge extrahierten Eiweißes

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml 0,2prozentige NaOH, 10 g lufttr. Hafermehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papiererelektrophorese:* wie bei Abbildung 18

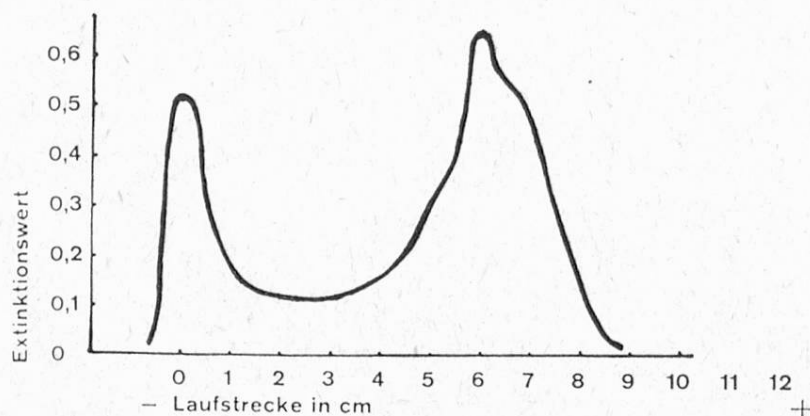


Abbildung 20

Extinktionsdiagramm des aus Weizen-Vollkornmehl direkt mit 0,2prozentiger Natronlauge extrahierten Eiweißes

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 40 ml 0,2prozentige NaOH, 10 g lufttr. Weizenmehl, Temperatur 5° C, 15 Stunden

*Papiererelektrophorese:* wie bei Abbildung 18

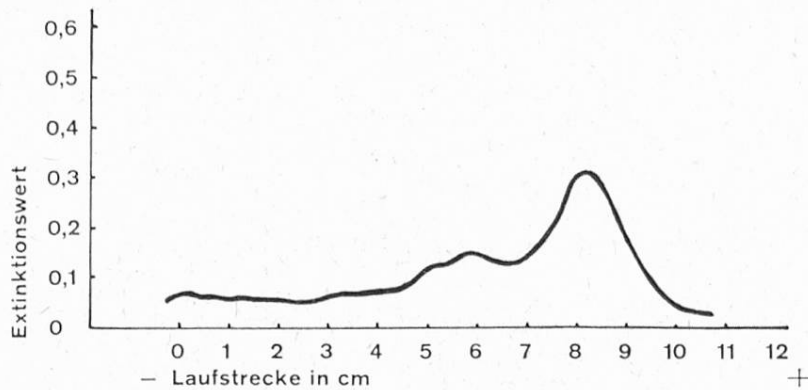


Abbildung 21

Extinktionsdiagramm des aus Rohreismehl nach Entfernung der in Wasser, in Alkohol und in Salzlösung löslichen Eiweiße mit 0,2prozentiger Natronlauge extrahierten Glutelins

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 10 g lufttr. Reismehl mit dest. Wasser, dann mit 70 Vol.-prozentigem Aethanol, mit 8prozentiger NaCl-Lösung bei 5° C gründlich extrahiert, mit Wasser ausgewaschen, im Vakuum getrocknet, pulverisiert, und anschließend mit 40 ml 0,2prozentiger NaOH bei 5° C während 15 Stunden extrahiert.

*Papierelktrophorese:* wie bei Abbildung 18

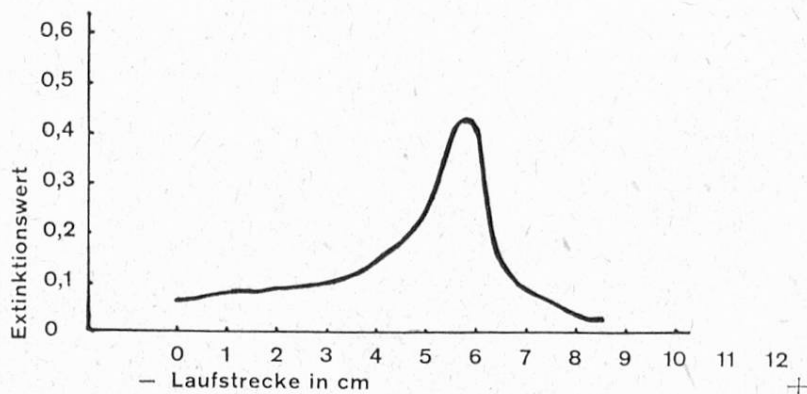


Abbildung 22

Extinktionsdiagramm des aus Hafer-Vollkornmehl nach Entfernung der in Wasser, in Alkohol und in Salzlösung löslichen Eiweiße mit 0,2prozentiger Natronlauge extrahierten Glutelins

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 10 g lufttr. Hafermehl mit dest. Wasser, dann mit 70 Vol.-prozentigem Aethanol, mit 8prozentiger NaCl-Lösung bei 5° C gründlich extrahiert, mit Wasser ausgewaschen, im Vakuum getrocknet, pulverisiert, und anschließend mit 40 ml 0,2prozentiger NaOH bei 5° C während 15 Stunden extrahiert.

*Papierelktrophorese:* Aufgetr. Extrakt 0,2 ml. Uebrige Versuchsbedingungen wie bei Abbildung 18

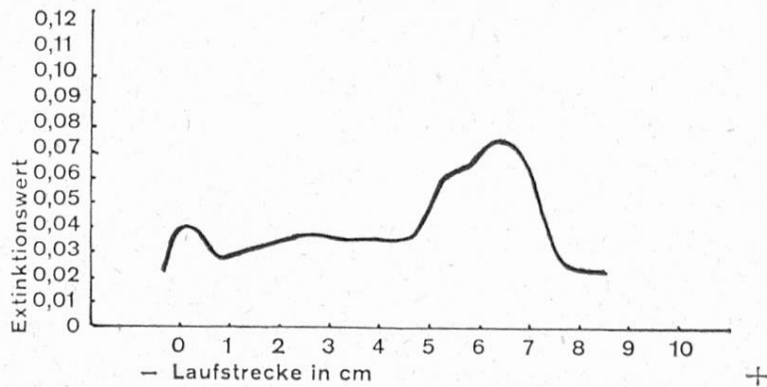


Abbildung 23

Extinktionsdiagramm des aus Weizen-Vollkornmehl nach Entfernung der in Wasser, in Alkohol und in Salzlösung löslichen Eiweiße mit 0,2prozentiger Natronlauge extrahierten Glutelins

*Versuchsbedingungen*

*Extraktion:* 10 g lufttr. Weizenmehl, mit dest. Wasser, dann mit 70 Vol.-prozentigem Aethanol, mit 8prozentiger NaCl-Lösung bei 5° C gründlich extrahiert, mit Wasser ausgewaschen, im Vakuum getrocknet, pulverisiert, und anschließend mit 40 ml 0,2prozentiger NaOH bei 5° C während 15 Stunden extrahiert.  
*Papierelektrophorese:* wie bei Abbildung 18

*d) Resultate der Eiweißbestimmungen*

Der Prozentgehalt des Getreideeiweißes an einzelnen Fraktionen wurde durch Eiweißbestimmungen mit der Kjeldahlmethode ermittelt. Die Resultate sind folgende:

*Tabelle 4*  
*Eiweißbestimmungen bei den untersuchten Getreidearten*

Getreideart	Gesamt-Eiweiß % i. Tr.	Eiweißfraktionen in % des Gesamteiweißes			
		Albumin	Globulin	Prolamin	Glutelin
Camolino, polierter Reis	7,2	0,9	5,5	1,9	91,7
Zenith 2, polierter Reis	8,3	0,9	5,8	2,8	90,5
Silva Carolina, polierter Reis	6,9	1,0	8,4	1,4	89,2
Originario, Rohreis	8,5	1,9	11,2	1,6	85,3
Minor-Hafer, Vollkorn	11,6	5,4	66,6	13,5	14,5
Manitoba-Weizen, Vollkorn	14,5	9,5	10,1	36	44,4

Diese Ergebnisse der Kjeldahlbestimmungen werden wir später durch Eiweißberechnungen auf Grund gemessener SEK-Werte der Auszüge kontrollieren und mit Angaben aus der Literatur vergleichen.

#### 4. Diskussion der Ergebnisse

Bei unsern Extraktionsversuchen erwies sich die Papierelektrophorese als ein sehr elegantes Verfahren, um die Art der in einem Extrakt in Lösung gegangenen Eiweißkörper zu studieren. Auf diese Weise konnte eindeutig festgestellt werden, daß die Konzentration des Lösungsmittels nicht nur einen Einfluß auf die Löslichkeit, sondern auch auf die Art des extrahierten Getreideeiweißes hatte. Bei der Extraktion des Getreidemehles mit Aethanol verschiedener Konzentrationen zeigte es sich, daß bei Alkoholkonzentrationen höher als 50 Vol.-% die Prolamine, hingegen bei Alkoholkonzentrationen niedriger als 50 Vol.-% die Albumine in Lösung gingen. Bei der direkten Extraktion des Reis- oder Hafermehles mit Salzlösungen verschiedener Konzentrationen gingen bei Salzkonzentrationen von weniger als 5 % NaCl keine Globuline, sondern Albumine in Lösung. Das Reis- und Haferglobulin ließen sich erst mit Salzlösungen einer Konzentration größer als 5 % NaCl extrahieren. Beim Weizen hingegen war das Globulin bereits in Salzlösungen von 1 % NaCl löslich. Bei der Extraktion des Getreideeiweißes mit Natronlauge verschiedener Konzentrationen ging bei NaOH-Konzentrationen größer als 0,2 % zwar keine andere Eiweißart in Lösung, aber eine Zerstörung des extrahierten Getreideeiweißes war papierelektrophoretisch feststellbar.

Aus dem Bild der Extinktionsdiagramme sowie aus den Resultaten in Tabelle 3 sind die folgenden Schlüsse zu ziehen:

1. Die Ergebnisse unserer papierelektrophoretischen Untersuchungen bestätigen die von verschiedenen Forschern festgestellte Erscheinung, daß die auf Grund der Löslichkeit getrennten Fraktionen des Getreideeiweißes in der Regel elektrophoretisch aus mehreren Komponenten bestehen.

2. Ueber die Anwesenheit von Prolamin in Reiseiweiß sind die verschiedenen Autoren nicht einig, weswegen *Brohult* und *Sandegren* (1954) in ihrer Uebersichtstabelle beim Reisprolamin die Bemerkung «unsicher» angebracht haben. Dank der großen Empfindlichkeit der Papierelektrophorese ist es uns gelungen, die Anwesenheit des Prolamins sowohl in Rohreis wie auch in poliertem Reis eindeutig festzustellen (*Padmoyo* und *Högl*, 1961). Aus diesem Grunde sind wir der Auffassung, daß die von *Brohult* und *Sandegren* beim Reisprolamin angebrachte Bemerkung überholt ist.

3. Beim Weizenprolamin, auch Gliadin genannt, ist ein ziemlich großer Teil des extrahierten Eiweißes an der Auftragsstelle liegen geblieben. Diese an der Auftragsstelle liegen bleibende Komponente ist offenbar ein denaturierter Teil des extrahierten Weizeneiweißes. Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Eiweiße durch Einwirkung organischer Lösungsmittel, wie Alkohol oder Aceton, eine Denaturierung erleiden. *Knapp* (1943) stellte bei seinen Untersuchungen über die Proteine des Weizenklebers mit Hilfe der Strömungsdoppelbrechung fest, daß das mit 70%igem Alkohol aus dem Weizenkleber extrahierte Gliadin nicht ein homogenes Protein ist. Neben einer beständigen ist auch eine

labile Komponente anzutreffen. Der labile Anteil im Gliadin wird durch wässrigen Alkohol irreversibel denaturiert. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die bei unserer Papierelektrophorese an der Auftragsstelle liegen bleibende Eiweißkomponente mit dem von *Knapp* bezeichneten labilen Anteil des Gliadins identisch ist, während die aus drei Komponenten bestehende, bei der Papierelektrophorese wandernde Eiweißfraktion mit dem beständigen Teil des Gliadins übereinstimmt.

Ein wesentlicher Teil des mit verdünnter Natronlauge extrahierten Gesamteiweißes blieb auch bei der Papierelektrophorese an der Auftragsstelle liegen (Abb. 5). Es handelte sich hier offenbar um einen durch die Natronlauge denaturierten Teil der Nicht-Glutelin-Eiweiße, denn außer dem polierten Reis war er bei den Glutelinen nicht vorhanden (Abb. 21, 22 und 23). Die Anwesenheit dieses an der Auftragsstelle liegen bleibenden Teiles des Eiweißes bei dem Glutelin des polierten Reises (Abbildung nicht gegeben) ist sehr wahrscheinlich als eine Folge der technischen Verarbeitung der Reiskörner zu betrachten.

4. Zwischen den verschiedenen Fraktionen des Reis-, Hafer- und Weizen-eiweißes sind sowohl Ähnlichkeiten als auch Unterschiede festzustellen:

Die Eiweißfraktionen des Rohreis- und Hafereiweißes zeigen mit Ausnahme der Gluteline große Ähnlichkeiten. Die Albumine sowie die Globuline dieser zwei Getreidearten enthalten die gleiche Zahl Komponenten, deren elektrophoretische Beweglichkeiten ungefähr von der gleichen Größenordnung sind. Auch die elektrophoretischen Beweglichkeiten der Komponenten des Reis- und Haferprolamins sind ungefähr gleich groß. Das Weizenalbumin enthält mehr Komponenten als das Reis- und Haferalbumin. Es fehlt dem Weizenalbumin aber die schnelle, im Reis- und Haferalbumin vorhandene Komponente mit  $u = \pm 5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{Volt}^{-1} \cdot \text{Sek.}^{-1}$ . Die elektrophoretische Beweglichkeit der anderen Komponenten ist ungefähr von der gleichen Größenordnung. Das Weizenglobulin besteht aus einer Komponente, während das Hafer- und Reisglobulin je zwei Komponenten enthalten. Wohl bestehen das Hafer- und Reisglobulin je aus zwei Komponenten, aber die zweite, deren elektrophoretische Beweglichkeit  $— 3,6 \cdot 10^{-5}$  beim Haferglobulin und  $— 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{Volt}^{-1} \cdot \text{Sek.}^{-1}$  beim Reisglobulin beträgt, könnte ein Rest von Albuminen sein.

Das Reialbumin besteht aus drei Komponenten bei dem Rohreis und aus zwei bei dem polierten Reis. Von den drei Komponenten fehlt dem polierten Reis diejenige, die am schnellsten wandert. Diese schnelle Komponente befindet sich sehr wahrscheinlich in der Aleuronschicht des Reiskornes. Das Reisprolamin besteht sowohl bei dem Rohreis als auch bei dem polierten Reis papierelektrophoretisch nur aus einer Komponente (*Padmoyo* und *Högl*, 1961).

Papierelektrophoretisch gibt es einen deutlichen Unterschied zwischen dem Reis- und Haferprolamin einerseits und dem Weizenprolamin (= Weizengliadin) andererseits. Der Unterschied besteht erstens darin, daß das Weizengliadin aus einer größeren Zahl Komponenten (4) besteht als das Reis- (nur 1) und Haferprolamin (2), und zweitens darin, daß die Wanderungsgeschwindigkeit

des Reis- und Haferprolamins viel größer ist (etwa das Vierfache) als diejenige der Komponenten des Weizengliadins. Diese Unterschiede in physikalischen Eigenschaften zwischen dem Reis- und Haferprolamin einerseits und dem Weizengliadin andererseits könnten, außer den ungünstigen Mengenverhältnissen zwischen Prolamin und Glutelin im Reis- und Hafereiweiß, wichtige Ursachen sein für die Unfähigkeit des Reis- und Hafermehles, das Klebereiweiß zu bilden. Diesem Klebereiweiß hat das Weizenmehl seine Backfähigkeit zu verdanken. Papierelektrophoretisch haben wir gefunden, daß das Weizengliadin aus vier und das Weizenglutelin aus zwei Komponenten besteht. Das Klebereiweiß, das als ein Adsorptionskomplex zwischen dem Gliadin und dem Glutelin zu betrachten ist, stellt also ein hochdissoziabiles System dar, das papierelektrophoretisch aus sechs Komponenten bestehen kann.

Bei der Extraktion des Getreidemehles mit verdünnter Natronlauge erhalten wir im Extrakt das Gesamteiweiß des Samens. Die Eiweißkörper liegen im Alkaliextrakt als Natriumsalze vor. Sie sind, physikalisch betrachtet, in einem anderen Ladungszustand, als wenn sie mit neutralen Lösungsmitteln extrahiert worden sind. Infolgedessen werden sie sich bei der Papierelektrophorese nicht gleich verhalten. Folglich dürfen wir die gefundenen Eiweißbanden des Gesamteiweißes im Alkaliextrakt und diejenigen der Eiweißkörper im Wasser-, Natriumchloridlösung- oder Alkoholextrakt nicht ohne weiteres auf Grund ihrer elektrophoretischen Beweglichkeiten miteinander identifizieren. Diese Tatsache macht es uns schwierig, dem Bild der Extinktionsdiagramme der alkalilöslichen Eiweißkörper die richtige Interpretation zu geben.

Vergleichen wir die Extinktionsdiagramme der Gluteline mit denjenigen der in 0,2%iger Natronlauge löslichen Gesamteiweiße, so stellen wir das Folgende fest: Von den zwei Komponenten des alkalilöslichen Gesamteiweißes des Hafers ist nur eine im Haferglutelin vorhanden. Wir müssen also annehmen, daß das Haferalbumin, -globulin und -prolamin miteinander assoziieren und zusammen sich in der anderen Komponente befinden. Viel schwieriger ist die Interpretation bei Reis und Weizen, bei denen das Glutelin, abgesehen von der an der Auftragsstelle liegenden bleibenden Komponente, aus genau den gleichen Komponenten, nur in geringeren Mengen, wie das in 0,2%iger Natronlauge lösliche Gesamteiweiß besteht. Daraus müssen wir schließen, daß Reis- und Weizenglutelin sich als Eiweißanionen, trotz ihrer chemischen Individualität, elektrophoretisch ähnlich wie die anderen Eiweißfraktionen des Reis- oder Weizen-eiweißes verhalten. Um hier eine genauere Erklärung geben zu können, bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

Die Diskussion über die Ergebnisse der Kjeldahlbestimmungen wird später bei der Behandlung der von uns angewandten SEK-Methode folgen.

### *Zusammenfassung*

In der vorliegenden Arbeit wurde ein papierelektrophoretischer Vergleich zwischen dem Reis-, Hafer- und Weizen-eiweiß durchgeführt. Das Getreideeiweiß wurde in die

Albumine, Prolamine, Globuline und Gluteline aufgetrennt. Der Prozentgehalt des Getreideeiweißes an diesen Eiweißfraktionen wurde durch Eiweißbestimmungen mit der Kjeldahlmethode ermittelt. Die papierelektrophoretisch aufgetrennten Komponenten der Eiweißfraktionen wurden durch die elektrophoretischen Beweglichkeiten charakterisiert. Auf Grund der Extinktionsdiagramme sowie der elektrophoretischen Beweglichkeiten der Eiweißkomponenten wurde versucht, die Ähnlichkeiten sowie die Unterschiede zwischen den Eiweißfraktionen der drei untersuchten Getreidearten zu zeigen.

### Résumé

Dans ce travail on a comparé entre elles les protéines du riz, de l'avoine et du blé par électrophorèse sur papier. Les protéines des céréales ont été séparées en albumines, prolamines, globulines et glutélines. Le pourcentage de ces diverses fractions a été déterminé par le dosage de l'azote selon Kjeldahl. Les composants des fractions des protéines ont été caractérisés par leur mobilité électrophorétique. Par la forme des diagrammes d'extinction et par les mobilités électrophorétiques des composants des protéines on a essayé de se rendre compte des similitudes et des différences entre les fractions des protéines dans les trois sortes de céréales examinées.

### Summary

In this present work a comparison has been made between the proteins in rice, oats and wheat by means of paper electrophoresis. The cereal proteins were separated into albumines, prolamines, globulines and glutelins. The percentage of these protein fractions has been determined by the Kjeldahl analysis. The components of the protein fractions were characterised by their electrophoretic mobilities. Based on the form of the extinction diagrams and on the electrophoretic mobilities of the protein components, it has been attempted to show the similarities and the differences between the proteins in the three examined kinds of cereals.

### Literatur

- Brohult S. und Sandegren E., *The Proteins* (H. Neurath und K. Bailey), Vol. 2, Part. A, 493 (1954).  
Foster J. F., Yang J. T., Yui N. H., *Cereal Chem.*, **27**, 477 (1950).  
Hadorn H., Jungkunz R. und Bießer K. W., *diese Mitt.* **44**, 14 (1953).  
Hellhammer D. und Högl O., *diese Mitt.* **49**, 79 (1958).  
Jones D. B. und Gersdorff C. E. F., *J. Biol. Chem.* **58**, 117 (1924).  
Jones R. W., Taylor N. W. und Senti F. R., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **84**, 363 (1959).  
Knapp F., *Inaugural-Dissertation*, Universität Bern (1943).  
Lontie R., Crevecœur A. und Dulcino J., *Mededel. Vlaam. Chem. Ver.*, **16**, 53 (1954).  
Lüers H. und Siegert M., *Biochem. Z.*, **144**, 467 (1924).  
Mertz E. T. und Bressani R., *Cereal Chem.*, **35**, 227 (1958).  
Mills G. L., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 274 (1954).  
Osborne T. B., van Slyke D. D., Leavenworth C. S. und Vinograd M., *J. Biol. Chem.*, **22**, 274 (1915).  
Padmoyo M. und Högl O., *diese Mitt.*, **52**, 29 (1961).  
Quensel O., *Inaugural-Dissertation*, Uppsala Universität (1942).  
Sahyun M., *Proteins and Amino Acids in Nutrition* (1948).  
Schwert G. W., Putnam F. W., Briggs D. R., *Arch. Biochem.*, **4**, 371 (1944).  
Suzuki U., Yoshimura K., Fuji S., *J. Coll. Agr. Tokyo*, Vol. I, 77 (1909).  
Wunderly Ch., *Die Papierelektrophorese*, 2. Aufl. (1959).