

Fyzikálnochemická charakteristika bielkovín bôbu *Vicia faba**

HORST SCHMANDKE

Súhrn. V príspevku sa autor zameriava na modifikáciu gélových vlastností proteínu bôbu *Vicia faba* spôsobených acetyláciou.

Pri stanovovaní podmienok optimálnej tvorby gélu autor zistil, že zatiaľ čo maximálny modul pružnosti v šmyku sa pri neacetylovanom proteíne dosiahol pri 100 °C za asi 60 min, rovnaký efekt pri acetylovanom proteíne pri 100 °C sa dosiahol už za 40 min. Ukázalo sa, že podmienky tepelnej denaturácie pri tvorbe gélu nezávisia od koncentrácie proteínu. Potvrdili to aj výsledky skúmania štruktúry týchto proteínových gélov elektrónovým mikroskopom.

Autor skúmal i zmenu podielu plastickej zložky a modulu pružnosti neacetylovaného a acetylovaného proteínu v dôsledku zmeny pH, prídavku NaCl, CaCl₂, AlCl₃, prídavku škrobu, glukózy, sacharózy, ako aj slnečnicového oleja.

Výsledky gélovej elektroforézy a stanovenie sedimentačných koeficientov potvrdili, že tvorba proteínových gélov denaturáciou je založená na agregácii súvisiacej s tvorbou disulfidových polymérov, pričom je ich tvorba v acetylovanom proteíne oproti neacetylovanému veľmi výrazná.

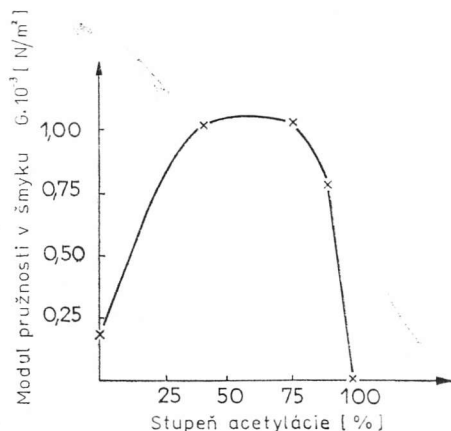
Acetyláciou proteínov vznikajú modifikované proteíny s funkčnými vlastnosťami charakteristicky zmenenými oproti pôvodným proteínom [1, 2]. Táto práca sa venuje modifikácii gélových vlastností proteínu *Vicia faba* acetyláciou [3—7].

Obrázok 1 znázorňuje vzrast modulu pružnosti v šmyku príslušných gélov so vzrastajúcim stupňom acetylácie počnúc neacetylovaným proteínom: po dosiahnutí maximálnej hodnoty modul pružnosti v šmyku začína klesať. Pri maximálnom stupni acetylácie (97 %) sa gél netvorí. Treba poznamenať, že pre stupeň acetylácie 0, 42, 78 a 92 % je plastická zložka 6, 6, 30 a 15 %.

*Autor predniesol príspevok na slávnostnom seminári, ktorý sa konal 12. júla 1985 v Biotechnologickom centre pre potravinársky priemysel v Mcdre, pri príležitosti šesťdesiatych narodenín riaditeľa Výskumného ústavu potravinárskeho v Bratislave, s. Ing. Alexandra Szokolaya, DrSc.

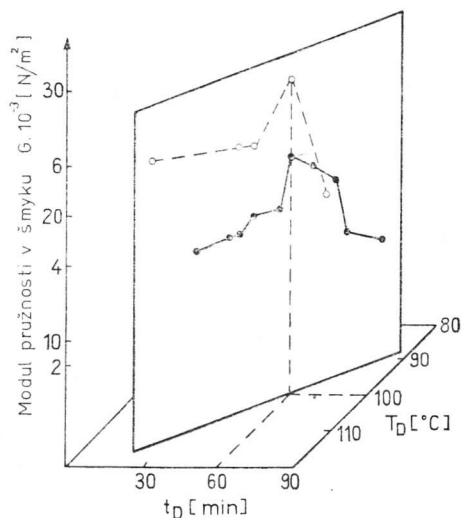
Prof. dr. Horst Schmandke, riaditeľ Ústredného ústavu výživy Akadémie vied NDR, Potsdam-Rehrbrücke, NDR.

Výsledky stanovenia optimálnych podmienok priebehu tvorby gélu sú na obrázkoch 2 a 3. Optimálna tvorba gélu, t. j. maximálny modul pružnosti v šmyku sa dosiahol pre neacetylovaný proteín *Vicia faba* pri $T_D \approx 100^\circ\text{C}$ a $t_D \approx 60$ min, a pre acetylovaný proteín *Vicia faba* (stupeň acetylácie 78 %) pri $T_D \approx 100^\circ\text{C}$ a $t_D \approx 40$ min. Ako vidieť z príkladu neacetylovaného proteínu, podmienky tepelnej denaturácie pri tvorbe gélu nezávisia od koncentrácie proteínu.



Obr. 1. Modul pružnosti v šmyku proteínových gélov (kone. 15 %, pH 7) vzniknutých tepelnou denaturáciou v závislosti od stupňa acetylácie proteínu *Vicia faba*.

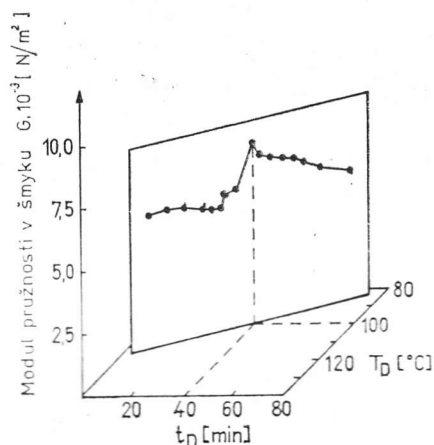
Fig. 1. Shear modulus of protein gels (conc. 15 %, pH 7), formed by thermal denaturation in dependence on the degree of acetylation of *Vicia faba* protein.



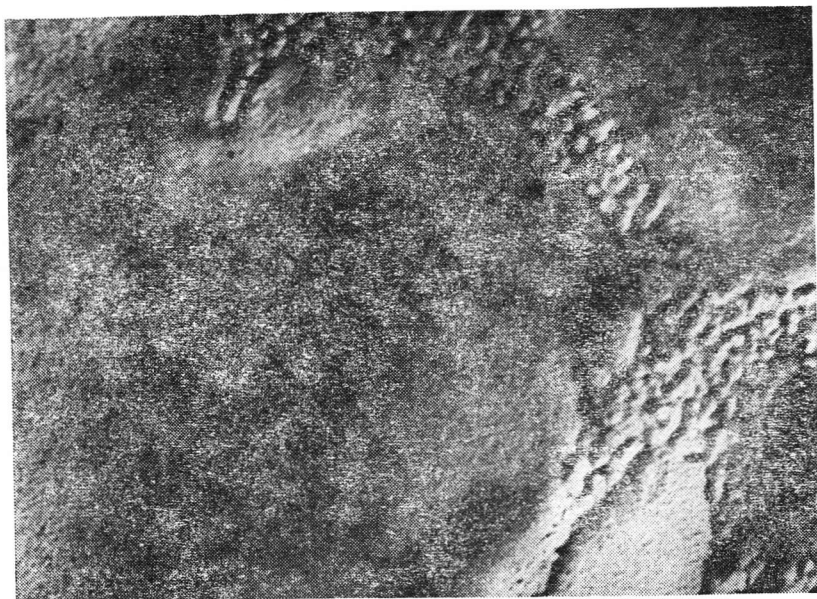
Obr. 2. Modul pružnosti v šmyku gélov proteínu *Vicia faba* (stupeň acetylácie 0 %, konc. 0—0, 17,6 %, —. 24,9 %, pH 7) v závislosti od času (t_D) a teploty (T_D) tepelného spracovania.

Fig. 2. Shear modulus of *Vicia faba* protein gels (degree of acetylation 0 %, conc. 0—0, 17.6 %, —. 24.9 %, pH 7) dependent on time (t_D) and temperature (T_D) of thermal treatment.

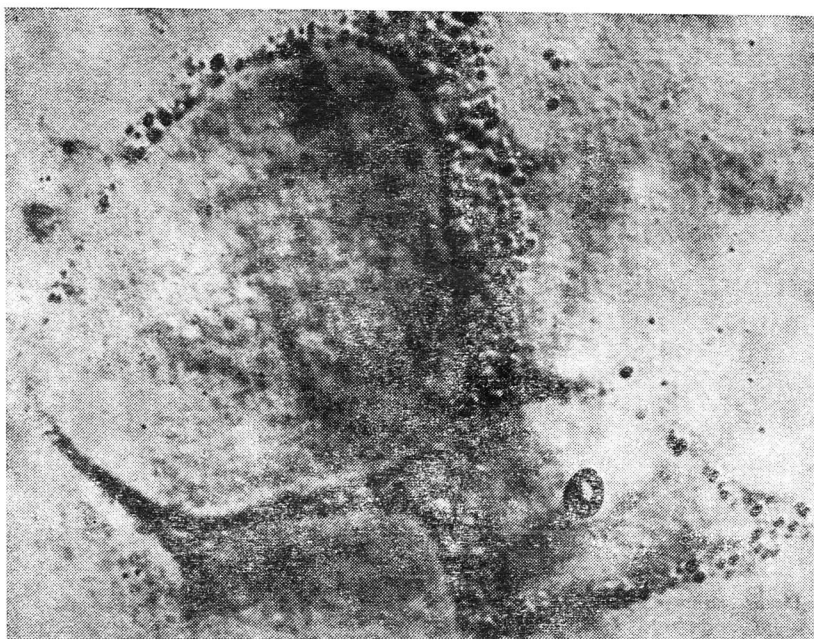
Výsledky skúmania elektrónovým mikroskopom sú tiež v súlade s opísanými skutočnosťami. Zhotovili sa mikrofotografie 15 % proteínových gélov (stupeň acetylácie 0, 16 a 78 %). Obrázok 4 znázorňuje štruktúru gélu neacetylovaného proteínu.



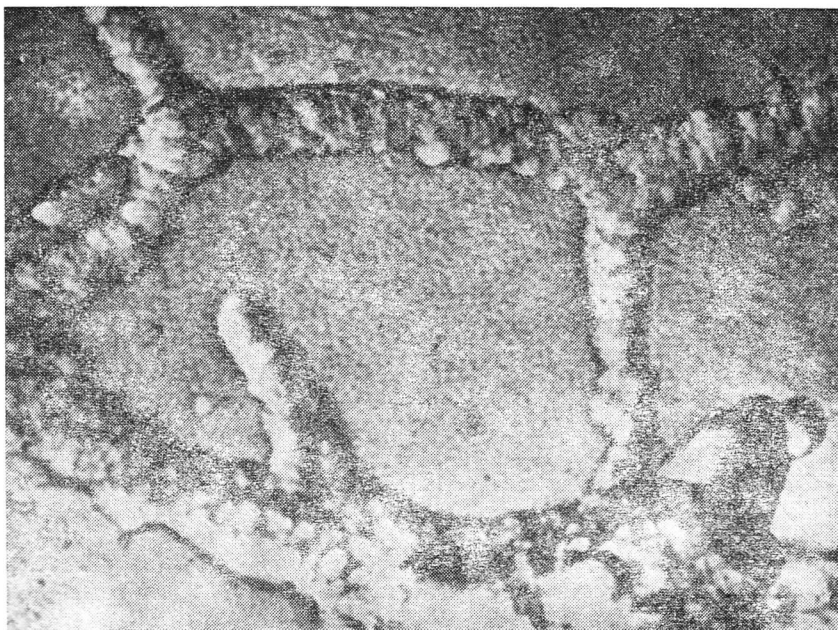
Obr. 3. Modul pružnosti v šmyku gélov proteínu *Vicia faba* (stupeň acetylácie 78 %, konc. 17,6 %, pH 7) v závislosti od času (t_D) a teploty (T_D) tepelného spracovania.
Fig. 3. Shear modulus of *Vicia faba* protein gels (degree of acetylation 78%, conc. 17.6%, pH 7) dependent on time (t_D) and temperature (T_D) of thermal treatment.



Obr. 4. Elektrónová mikrofotografia 15 % gélu proteínu *Vicia faba*; stupeň acetylácie 0 %; 1 : 20 000. Fig. 4. Electron microphotograph of 15% *Vicia faba* protein gel, acetylation degree 0%, 1 : 20 000.



Obr. 5. Elektrónová mikrofotografia 15 % gélu proteínu *Vicia faba*, stupeň acetylácie 16 %, 1 : 20 000. Fig. 5. Electron microphotograph of 15 % *Vicia faba* protein gel, acetylation degree 16%, 1 : 20 000.



Obr. 6. Elektrónová mikrofotografia 15 % gélu proteínu *Vicia faba*, stupeň acetylácie 78 %, 1 : 20 000. Fig. 6. Electron microphotograph of 15% *Vicia faba* protein gel, acetylation degree 78%, 1 : 20 000.

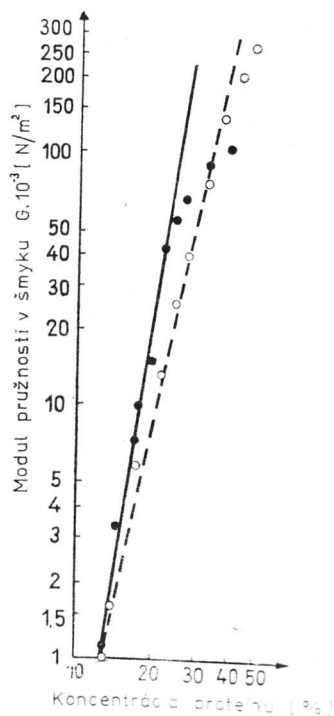
Supramolekulová štruktúra neacetylovaného proteínu predstavuje priestorovú sieť vytváranú reťazcami, ktoré pozostávajú z guľovitých čiastočiek priemeru približne 50 nm. Veľkosť buniek ani hrúbka reťazca v sieti nie sú rovnaké. Sú prítomné jednoduché a viacnásobné reťazce. Bunky sú väčšinou veľké (5–10 μm), mnohé sú nedokončené. Uzličky siete sú pomerne veľké (okolo 1 μm) a pozostávajú z veľkého počtu guľovitých čiastočiek.

Sieť gélu z acetylovaného proteínu so stupňom acetylácie 16 % má už vyššiu hustotu, hoci je tiež zložená z viacnásobných a jednoduchých reťazcov. Veľkosť bunky je 1 až 3 μm (obr. 5). Štruktúra gélu acetylovaného proteínu so stupňom acetylácie 78 % je podstatne odlišná v porovnaní s gélom neacetylovaného proteínu (obr. 6).

Pri zvýšení tvorby viacnásobných reťazcov sa zvýši aj hrúbka reťazcov. Okrem toho je väčšina buniek úplne vytvorená, a preto sa zvyšuje i hustota siete; veľkosť buniek sa dá porovnať s gélom proteínu so 16 % stupňom acetylácie.

Tieto výsledky štúdia zmien gélovej štruktúry proteínu *Vicia faba* acetyláciou sú v súlade so zvyšovaním modulu pružnosti v šmyku gélov pri zvyšovaní stupňa acetylácie do 78 %.

Obrázok 7 znázorňuje závislosť modulu pružnosti v šmyku gélov od koncentrácie proteínu (C).



Obr. 7. Závislosť modulu pružnosti v šmyku gélov proteínu *Vicia faba*, získaných za optimálnych podmienok, od koncentrácie proteínu. Stupeň acetylácie: o 0 %, . 78 %, pH 7.

Fig. 7. Concentration dependence of the shear modulus of *Vicia faba* protein gels obtained in optimum conditions. Acetylation degree: o 0%, . 78%, pH 7.)

Tento vzťah vyjadrujú v dobrom priblížení exponenciálne funkcie [8] v tomto tvare:

— gél proteínu *Vicia faba* (stupeň acetylácie 0 %)

$$G = \alpha C^{4,3},$$

— gél proteínu *Vicia faba* (stupeň acetylácie 78 %)

$$G = \alpha C^{5,0}.$$

Dá sa predpokladať, že zvyšovanie modulu pružnosti v šmyku gélov so vzrastajúcou koncentráciou proteínu závisí od zvýšenia hrúbky reťazca alebo od zvýšenia hustoty siete gélov [9, 10]. Túto interpretáciu podporuje aj vyššie maskovanie disulfidových skupín v géloch pri zvyšujúcej sa koncentrácii proteínu (tab. 1).

Z tabuľky 2 vidieť, že modul pružnosti v šmyku gélov proteínu *Vicia faba* so vzrastajúcim pH klesá. Tieto zmeny pH vedú k posunu percentuálneho zastúpenia plastickej zložky iba pri pH 8, a to z hodnoty približne 20 % na 5 %. Rovnaký výsledok sme získali pre modul pružnosti v šmyku gélov zodpovedajúcich acetylovanému proteínu *Vicia faba*, avšak nie pre zastúpenie plastickej zložky, ktoré sa nezmenilo [4].

Ak uvažujeme absolútne množstvá pridaných solí, dajú sa tieto výsledky porovnať s výsledkami gélov zodpovedajúcich acetylovanému proteínu *Vicia faba* [4]. V prípade skúmaných gélov neacetylovaného proteínu *Vicia faba* vyšší prídavok solí, ako uvádza tabuľka 3, spôsobuje deštrukciu gélovej matrice a gél sa netvorí.

Pokiaľ ide o zmenu podielu plastickej zložky, NaCl a CaCl₂ sa správajú rovnako. Pri zvyšovaní obsahu soli v géli proteínu *Vicia faba* podiel ich plastickej zložky prechádza minimom a po dosiahnutí maxima znova klesá. Naproti tomu sa vplyvom NaCl alebo CaCl₂ na gély acetylovaného proteínu *Vicia faba* nemení pomer plastickej a elastickej zložky gélu [4].

Po pridaní AlCl₃ sa modul pružnosti v šmyku zvýši a podiel plastickej zložky gélu sa zníži. To platí aj pre gély acetylovaného proteínu *Vicia faba* [4]. Vyššia elasticita gélov sa dá vysvetliť vyšším stupňom zosieťovania v dôsledku tvorby koordinačného komplexu trojmocného hliníka [11].

Vplyv prídavku NaCl na vlastnosti gélu objasňuje tabuľka 4.

Na príklade acetylovaného proteínu *Vicia faba* vidieť, že pri konštantnom obsahu celkového disulfidu sa pomer medzi reaktívnymi a maskovanými disulfidovými skupinami posúva v prospech maskovanej formy.

V protiklade k zvyšovaniu obsahu glukózy a sacharózy v géloch acetylovaného proteínu *Vicia faba*, ktoré spôsobuje mierne zníženie modulu pružnosti

šmyku gélov so
ky reťazca alebo
dporuje aj vyššie
koncentrácií pro-
teínu *Vicia faba*
percentuálneho za-
tine 20 % na 5 %.
gélom zodpoveda-
túpenie plastickej
teínu *Vicia faba*
sa tieto výsledky
u proteínu *Vicia*
teínu *Vicia faba*
in gélovej matrice
sa správajú rovna-
diel ich plastickej
esá. Naproti tomu
teínu *Vicia faba*
plastickej zložky
Vicia faba [4]. Vyššia
v dôsledku tvorby
a 4.
pri konštantnom
maskovanými disul-
gélom acetylova-
modulu pružnosti

Tabuľka 1. Vplyv stupňa acetylácie (% blokovaného lyzínu) a koncentrácie na obsah reaktívnych a maskovaných sulfhydrylových a disulfidových skupín ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ proteínu) a na modul pružnosti v šmyku G ($\text{N} \cdot \text{m}^{-2}$) gélov proteínu *Vicia faba*, vytvorených tepelnou denaturáciou
Table 1. Influence of acetylation (% blocked lysine) and concentration degrees on the content of reactive and masked sulfhydryl and disulfide groups ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ protein) and on the shear modulus G ($\text{N} \cdot \text{m}^{-2}$) of *Vicia faba* protein gels formed by thermal denaturation

Vzorka ¹	Sulfhydrylové skupiny ²			Disulfidové skupiny ³			Modul pružnosti ⁷ v šmyku $G \cdot 10^{-3}$
	reaktívne ⁴	maskované ⁵	celkom ⁶	reaktívne ⁴	maskované ⁵	celkom ⁶	
stupeň acetylácie proteínu <i>Vicia faba</i> ⁸ (0 %, $t = 100^\circ\text{C}$, $T = 60$ min, pH 7)	1,1	0,4	1,5	3,5	21,4	24,9	13,3 134,7 200,8 255,9
koncentrácia proteínu 21,4	0,3	0,4	0,7	5,9	16,1	22,0	
v géloch ⁹ (%) 37,7	0,0	0,4	0,4	1,3	20,3	21,6	
44,4	0,0	0,4	0,4	1,1	18,8	19,9	
51,1	0,0	0,0	0,0	2,0	17,8	19,8	
stupeň acetylácie proteínu <i>Vicia faba</i> ⁸ (77,7 %, $t = 100^\circ\text{C}$, $T = 40$ min, pH 7)	0,9	0,2	1,1	7,4	15,6	23,0	3,3
koncentrácia proteínu 14,5	0,3	0,2	0,5	8,1	13,3	21,4	

Tabuľka 2. Modul pružnosti v šmyku G a podiel príslušnej plastickej zložky proteínových gélov ($c = 13\%$), vytvorených tepelnou denaturáciou v závislosti od pH
 Table 2. Shear modulus G and the corresponding plastic component of protein gels ($c = 13\%$) formed by thermal denaturation in dependence on pH

pH	$G \cdot 10^{-3}$ [N.m ⁻²]	Plastická zložka ¹ [%]
6,0	2,3	17
6,5	2,0	18
7,0	1,7	22
7,5	1,1	22
8,0	1,0	5

¹Plastic component.

Tabuľka 3. Účinok prídavku chloridu sodného, chloridu vápenatého alebo chloridu hlinitého na modul pružnosti v šmyku G a podiel príslušnej plastickej zložky proteínových gélov ($c = 13\%$, pH 7), vytvorených tepelnou denaturáciou
 Table 3. Effect of added sodium chloride, calcium chloride or aluminium chloride on the shear modulus G and the corresponding plastic component of protein gels ($c = 13\%$, pH 7 formed by thermal denaturation

Prídavok ¹ mM. 10^{-2} g gélu	$G \cdot 10^{-3}$ [N.m ⁻²]	Plastická zložka ² [%]
NaCl		
0	1,7	22
40	3,1	9
60	3,1	22
100	3,1	28
200	3,2	8
300	3,3	4
400	3,8	3
CaCl ₂		
40	2,5	2
60	2,5	10
100	2,1	32
AlCl ₃		
60	2,0	6
100	2,3	4

¹Additive; ²Plastic component.

v šmyku [4], skúmané gély neacetylovaného proteínu *Vicia faba* vykazujú podľa tabuľky 5 zvýšenie modulu pružnosti v šmyku a zníženie podielu plastickej zložky gélu. Tento účinok sa dá vysvetliť aj zosieťovaním, v tomto prípade vznikajú však reakciou voľných aminoskupín proteínu s karbonylovými skupinami cukru Maillardove produkty.

Účinok zemiakového škrobu a slnečnicového oleja na gély proteínu *Vicia faba* sa dá porovnať s účinkom na acetylované deriváty [4]; zemiakový škrob vedie

ky proteinových gélů
s od pH
protein gels ($c = 13\%$)

maské zložka ¹ [%]
17
18
22
22
5

chloridu hlinitého
ých gélů ($c = 13\%$,
chloride on the shear
= 13%, pH 7 formed

maské zložka ¹ [%]
22
9
22
28
9
4
3
2
10
32
6
4

ka *faba* vykazují
je podielu plastic-
v tomto prípade
nylovými skupi-
proteinu *Vicia faba*
kový škrob vedie

Tabuľka 4. Vplyv chloridu sodného na obsah reaktívnych a maskovaných sulfhydrylových a disulfidových skupín ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ proteínu) a na modul pružnosti v šmyku G (N.m^{-2}) gélov acetylovaného proteínu *Vicia faba* (stupeň acetylácie 78 %, $c = 14\%$, pH 7), vytvorených tepelnou denaturáciou

Table 4. Effect of sodium chloride on the content of reactive and masked sulfhydryl and disulfide groups ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ protein) and on the shear modulus G (N.m^2) of acetylated *Vicia faba* protein gels (degree of acetylation 78%, $c = 14\%$, pH 7) formed by thermal denaturation

Vzorka ¹	Sulfhydrylové skupiny ²			Disulfidové skupiny ³			Modul pružnosti v šmyku ⁷ $G \cdot 10^{-3}$
	reaktívne ⁴	maskované ⁵	celkom ⁶	reaktívne ⁴	maskované ⁵	celkom ⁶	
gél acetylovaného proteínu <i>Vicia faba</i> ⁸	0,5	0,2	0,7	4,6	16,7	21,3	—
gél bez NaCl ⁹	0,5	0	0,5	7,0	13,9	20,9	0,99
gél + 20 mM NaCl/100 g	0	0,7	0,7	7,7	14,5	22,2	0,93
gél bez NaCl ⁹	0	0,4	0,4	8,1	11,1	19,5	0,94
gél + 270 mM NaCl/100 g	0	0,4	0,4	3,5	16,4	19,9	1,71

Tabuľka 5. Modul pružnosti v šmyku a podiel príslušnej plastickej zložky proteínových gélov (pH 7), vytvorených tepelnou denaturáciou v závislosti od koncentrácie glukózy, sacharózy, škrobu (konec. proteínu 10 %) a slnečnicového oleja (konec. proteínu 13 %)

Table 5. Shear modulus G and the corresponding plastic component of protein gels (pH 7) formed by thermal denaturation in dependence on the concentration of glucose, sucrose, starch (protein conc. 10%) and sunflower oil (protein conc. 13%)

Prídavok ¹ [%]	$G \cdot 10^{-3}$ [N.m ⁻²]	Plastická zložka ² [%]
glukóza ³		
0	0,5	23
8	0,3	48
12	0,7	24
16	0,9	36
sacharóza ⁴		
8	0,2	63
12	0,5	27
16	0,8	22
škrob ⁵		
1	0,7	16
3	0,8	39
4	0,9	41
6	1,0	43
slnečnicový olej ⁶		
0	1,7	22
4	1,2	28
10	0,8	50

¹Additive; ²Plastic component; ³Glucose; ⁴Sucrose; ⁵Starch; ⁶Sunflower oil.

Tabuľka 6. Sedimentačné koeficienty proteínového izolátu *Vicia faba* (ultracentrifúga UCF 3170/b, MLR) v závislosti od stupňa acetylácie stanovené vo fosfátovom tlmivom roztoku (pH 7,6, 0,4 M NaCl, 0,01 M merkaptóetanol, $\mu = 0,5$)

Table 6. Sedimentation coefficients (UCF 3170/b ultracentrifuge made in Hungary) of *Vicia faba* protein isolate dependent on the acetylation degree, determined in phosphate buffer (pH 7.6, 0.4 M NaCl, 0.01 M mercaptoethanol, $\mu = 0.5$)

Stupeň acetylácie ¹ [%]	Tepelné spracovanie ² [°C, min]	1,0 % tlmivý roztok S ³
0	bez ⁴	14,9 S + 10,3 S + 6,1 S
0	65, 30	15,2 S + 10,4 S + 6,3 S
0	85, 20	18,7 S
16	bez ⁴	13,8 S + 9,6 S + 6,2 S
16	85, 20	37,0 S
78	bez ⁴	10,8 S + 6,6 S
78	85, 20	23,0 S + 2,0 S

¹Acetylation degree; ²Thermal treatment; ³S buffer; ⁴Without.

k zvýšeniu a slnečnicový olej k zníženiu modulu pružnosti v šmyku. Tento účinok vždy spreďádza zvýšenie podielu plastickej zložky gélov.

Acetyláciou sa blokuje najmä ϵ -aminoskupina proteínu. Tým sa znižuje potenciálny kladný náboj, čo má za dôsledok zvýšenie celkového záporného

náboja proteínu. To vedie k rozloženiu štruktúry proteínu a k následným disociačným procesom [12—17]. Takýto účinok acetylácie by určite spôsobil pokles množstva a veľkosti agregátov.

Ďalej možno očakávať, že so vzrastajúcim stupňom acetylácie bude vzrastať aj hydrofóbnosť a obsah reaktívnych sulfhydrylových a disulfidových skupín v proteíne. V dôsledku hydrofóbnosti a interakcií medzi sulfhydrylovými a disulfidovými skupinami možno potom počítať aj so zvýšením množstva agregáčnych produktov a prípadne aj ich veľkosti.

Hoci v boritanovom tlmivom roztoku (pH 8,4) je v porovnaní so štandardným proteínom odlišný frikčný pomer disociovaných acetylderivátov, pre lepšie zhodnotenie situácie vidieť na obrázku 8a aj molekulové hmotnosti acetylovaných proteínových derivátov.

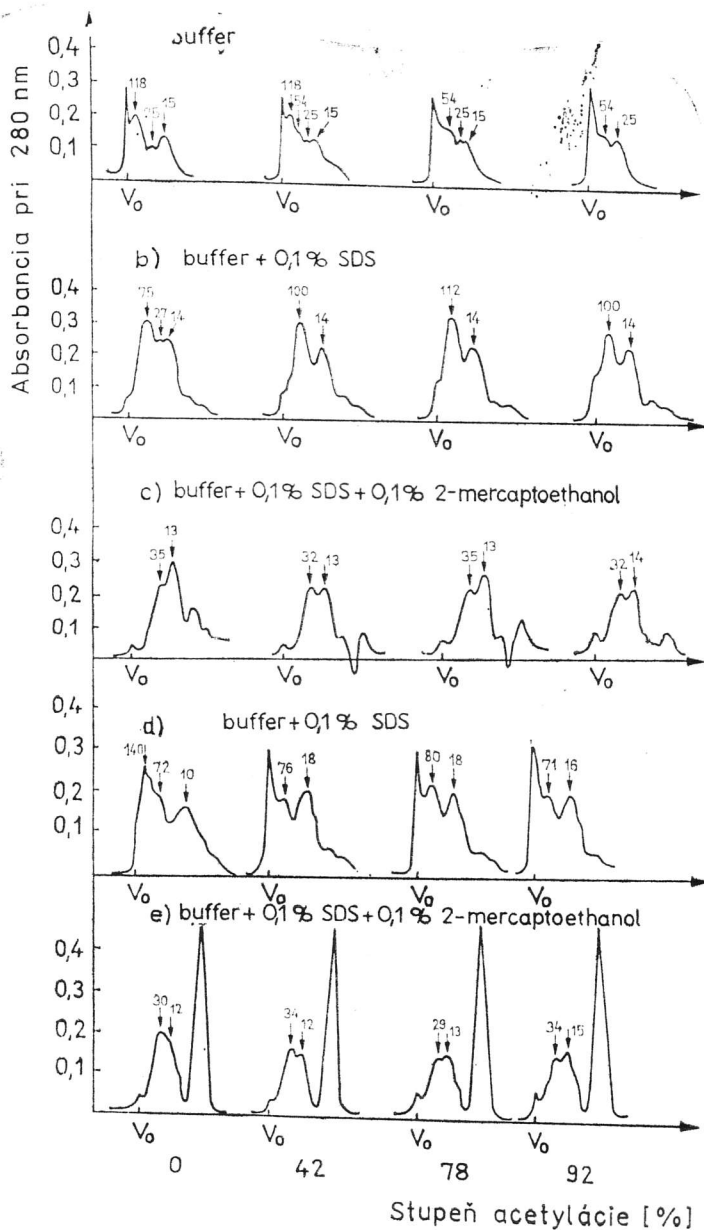
Pretože vyššie molekulové hmotnosti môžu byť simulované vyšším stupňom acetylácie, nedajú sa za týchto podmienok zistiť disociačné procesy, ktoré by podľa očakávania mali v proteínoch nastať. To môže byť aj príčinou toho, že v boritanovom tlmivom roztoku (pH 8,4) záporný náboj siete, vzrastajúci s rastúcim stupňom acetylácie a nedetegovateľný gélovou elektroforézou v dôsledku zvýšenej migrácie frakcií, môže byť kompenzovaný vzrastom Stokesovho polomeru so zvýšením stupňa acetylácie.

Z obrázku 8b je zrejmé, že nastávajú agregáčne procesy. To sa však dá zistiť iba pre zmenu neacetylovaného proteínu na acetylované proteíny ako celok; nie je tu závislosť od stupňa acetylácie. Na obrázku 8c vidieť vzťah medzi tvorbou detegovaných agregáčnych produktov a interakciami sulfhydrylových a disulfidových skupín. Rovnaké výsledky poskytlo aj skúmanie gélovou elektroforézou. Ako vidieť z tabuľky 1, zvýšenie reaktívnych disulfidových skupín v proteíne pri vyšších stupňoch acetylácie poukazuje na už dokázané rozloženie štruktúry proteínu. Pravda, tento proces by mal byť sprevádzaný zvýšenou pohotovosťou k interakciám sulfhydryl—disulfid, ale vzhľadom na pokles elektrostatických interakcií a možné stericke zábrany by táto mala od určitého stupňa acetylácie znova klesať.

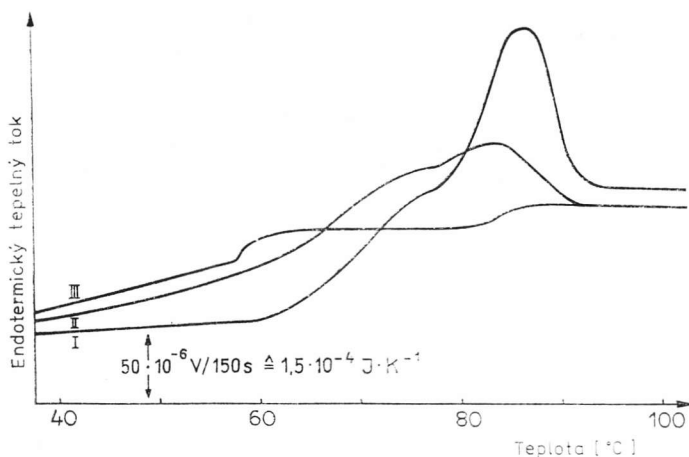
Doterajšie výsledky potvrdzujú aj sedimentačné koeficienty uvedené v tabuľke 6 a DSC termogram na obrázku 9.

Stanovenie sedimentačných koeficientov (tab. 6), výsledky gélovej chromatografie (obr. 8b, d), ako aj gélovej elektroforézy potvrdili, že tvorba proteínových gélov tepelnou denaturáciou sa zakladá na agregácii, ktorá súvisí s tvorbou disulfidových polymérov so všetkými následnými procesmi, kde tvorba disulfidových väzieb je v acetylovanom proteíne oproti neacetylovanému proteínu veľmi výrazná [19, 20].

Posun endoteriem na DSC termograme (obr. 9) k nižším teplotám pri vyšších stupňoch acetylácie proteínu *Vicia faba* je v súlade aj s opísanou termolabilitou acetylovaných a neacetylovaných proteínov (obr. 2 a 3).



Obr. 8. Diagramy gélovej chromatografie proteínov *Vicia faba* s rozličným stupňom acetylácie a tepelná denaturácia zodpovedajúcich gélov (a, b, c — proteíny *Vicia faba*, d, e — gél proteínu *Vicia faba*). V_0 — neretardovaná frakcia, ktorá sa vynára v prázdnom objeme kolóny. Čísla na rozličných píkoch sú približné hodnoty odhadovaných hmotností ($M \cdot 10^{-3}$) frakcií. 1 — teplota ($^{\circ}\text{C}$), 2 — endotermický tepelný tok, I — bez acetylácie, II — acetylačný stupeň 16 %, III — acetylačný stupeň 78 %.



Obr. 9. Vplyv stupňa acetylácie na tepelnú denaturáciu (mikrokalořimeter DACM-1 M, ZSSR, rýchlosť ohřievania $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) izolátu proteínu *Vicia faba* ($c = 0,5\%$) vo fosfátovom tlmivom roztoku ($\mu = 0,1$, pH 7,6).

Fig. 9. Effect of the acetylation degree on thermal denaturation (DACM-1 M microcalorimeter, made in USSR, heating rate $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) of the *Vicia faba* protein isolate ($c = 0.5\%$) in phosphate buffer ($\mu = 0.1$, pH 7.6).

Literatúra

1. HIRS, C. H. W. — TINNASHOF, S. N.: In: Methods in Enzymology, 25B. New York—London, Academic Press 1972.
2. KINSELLA, J. E.: Crit. Rev. Food Sci., 7, 1976, s. 219.
3. SCHMANDKE, H. — MAUNE, R. — SCHMIDT, G. — SCHULTZ, M. — PROLL, J.: Nahrung, 21, 1977, s. 901.
4. SCHMANDKE, H. — MAUNE, R. — SCHUMANN, S. — SCHULTZ, M.: Nahrung, 25, 1981, s. 99.
5. SCHMANDKE, H. — BIKBOV, T. M. — BELAVTSEVA, E. M. — RADSCHENKO, L. G. — MAUNE, R. — SCHULTZ, M. — GRINBERG, V. Ja. — TOLSTOGUZOV, V. B.: Nahrung, 25, 1981, s. 283.
6. SCHMANDKE, H. — DANILENKO, A. N. — BIKBOV, T. M. — MAUNE, R. — GRINBERG, V. Ja. — TOLSTOGUZOV, V. B.: Nahrung, 25, 1981, s. K27.
7. SCHMANDKE, H. — MAUNE, R.: Nahrung, 26, 1982, s. 421.

Fig. 8. Gelchromatography patterns of *Vicia faba* protein of different acetylation degrees and of the corresponding gels formed by thermal denaturation (a, b, c — *Vicia faba* protein, d, e — gel of *Vicia faba* protein). V_0 — the unretarded fraction which emerged at empty column content. Numbers at different peaks denote the approximate values of estimated masses ($M \cdot 10^{-3}$) of fractions. 1 — temperature ($^{\circ}\text{C}$), 2 — endothermic heat flow, I — without acetylation, II — acetylation degree 16%, III — acetylation degree 78%.

8. HIRAI, N.: Bull. Inst. chem. Res., Kyoto Univ., 33, 1955, s. 21.
9. BEZRUKOV, M. G. — BELIKOV, V. M. — BELAVTSEVA, E. M. — TITOVA, E. F.: Colloid Polymer Sci., 256, 1978, s. 1191.
10. SCHWENKE, K. D. — PRAHL, L. — TITOVA, E. F. — BELAVTSEVA, E. M.: Nahrung, 23, 1979, s. 749.
11. HARIAN, J. W. — FEAIRHELLER, S. H.: In: Friedman, F.: Protein Crosslinking. Advances in Experimental Medicine and Biology, 86A. New York, Plenum Press 1977, s. 425.
12. HABEEB, A. F. — CASSIDY, M. G. — SINGER, H.: Biochim. biophys. Acta (Amsterdam), 29, 1958, s. 587.
13. HABEEB, A. F.: Arch. Biochem. Biophys., 121, 1967, s. 652.
14. KLOTZ, J. H. — DARNALL, D. W. — LANGERMANN, N. R.: In: Neurath, H. — Hill, R. L.: The Proteins. Vol. 1. 3rd edition. New York, Academic Press 1975, s. 302.
15. SCHWENKE, K. D. — PRAHL, L. — RAUSCHAL, E.: Mitteilungsblatt chem. Ges. DDR, 24, 1977, s. 33.
16. SCHWENKE, K. D.: Nahrung, 22, 1978, s. 101.
17. FREIMUTH, U. — TEBLING, F. — BÖHME, F. — LUDWIG, E.: Nahrung, 23, 1979, s. 215.
18. EVANS, M. T. A. — IRONS, L. — PETTY, J. H. P.: Biochim. biophys. Acta (Amsterdam), 273, 1971, s. 259.
19. BARMAN, B. G. — HANSEN, J. R. — MOSSEY, A. R.: J. agric. Food Chem., 25, 1977, s. 638.
20. WOLF, W. J. — TAMURA, T.: Cereal Chem., 46, 1969, s. 331.

Физико-химическая характеристика белков конского боба *Vicia faba*

Резюме

В докладе автор ориентируется на модификацию гелеобразных свойств белка конского боба *Vicia faba*, вызванных ацелированием.

При определении условий оптимального образования геля автор установил, что максимальный модуль поперечной упругости у неацелированного белка при температуре 100 °C был достигнут прибл. за 60 мин, тот же эффект у ацелированного белка при температуре 100 °C был получен уже за 40 мин. Оказалось, что условия тепловой денатурации при образовании геля не зависят от концентрации протеина. Подтвердили это и результаты исследования структуры протеиновых гелей при помощи электронного микроскопа.

Автор изучал так же изменение доли пластичной составляющей и модуля упругости неацелированного и ацелированного протеина вследствие изменения pH, добавки NaCl, CaCl₂, AlCl₃, добавки крахмала, глюкозы и сахарозы, а также подсолнечного масла.

Результаты электрофореза на геле и определение седиментационных коэффициентов подтвердили, что образование протеиновых гелей с помощью тепловой денатурации основано на агрегации, связанной с образованием дисульфидных полимеров, причем их образование в ацелированном протеине по отношению к неацелированному весьма отчетливо.

On physico-chemical characteristics of *Vicia faba* bean proteins

Summary

In his contribution the author concentrates on the modification of gel properties of bean *Vicia faba* proteins caused by acetylation.

In determining the conditions of optimum gel production the author noticed that non-acetylated protein amounted the maximum modulus of shear elasticity at 100 °C in approx. 60 min, the same effect was gained by the acetylated protein at 100 °C already in 40 min. It was found that the thermal denaturations of gel production were independent of the protein concentration. This fact was also confirmed by the result of investigating the microscopic structure of these protein gels.

The author investigated also the change in the elastic portion as well as in the shear modulus of acetylated and non-acetylated proteins, caused by the change in pH, by the addition of NaCl, CaCl₂, AlCl₃, starch, glucose and sucrose, and by the addition of sunflower oil.

The results of gel electrophoresis and the determination of sedimentation coefficients confirmed that the protein gel production by the thermal denaturation is based on the aggregation of disulphidic polymers; at the same time, the production in acetylated protein is very marked in comparison with the production in non-acetylated protein.