Характеристика пептидного состава и токсиколого-гигиенических свойств клатратов β-циклодекстрина с продуктами ферментативного гидролиза белков коровьего молока

Цыганков В.Г., Курченко В.П., Головач Т.Н., Бондарук А.М., Чудновская Е.В., Капустин М.А.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Министерства здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск Белорусский государственный университет, Министерства образования Республики Беларусь, г. Минск.

Объект исследований: клатраты β-циклодекстрина с продуктами ферментативного гидролиза белков коровьего молока.

Проведено сравнительное исследование пептидного состава гидролизатов молочной сыворотки на основании содержания общего белка в соответствующих ультрафильтратах и данных хромато-масс-спектрометрии. Установлено, что степень протеолиза в образцах гидролизатов молочной сыворотки достигает 37,2 % при содержании пептидной фракции (mr≤5 кДа) 39,0 %. Полученные данные указывают на увеличение доли расщепленного белкового компонента в образце гидролизата сывороточных белков в 1,6 раза в расчете на степень протеолиза / содержание пептидной фракции соответственно.

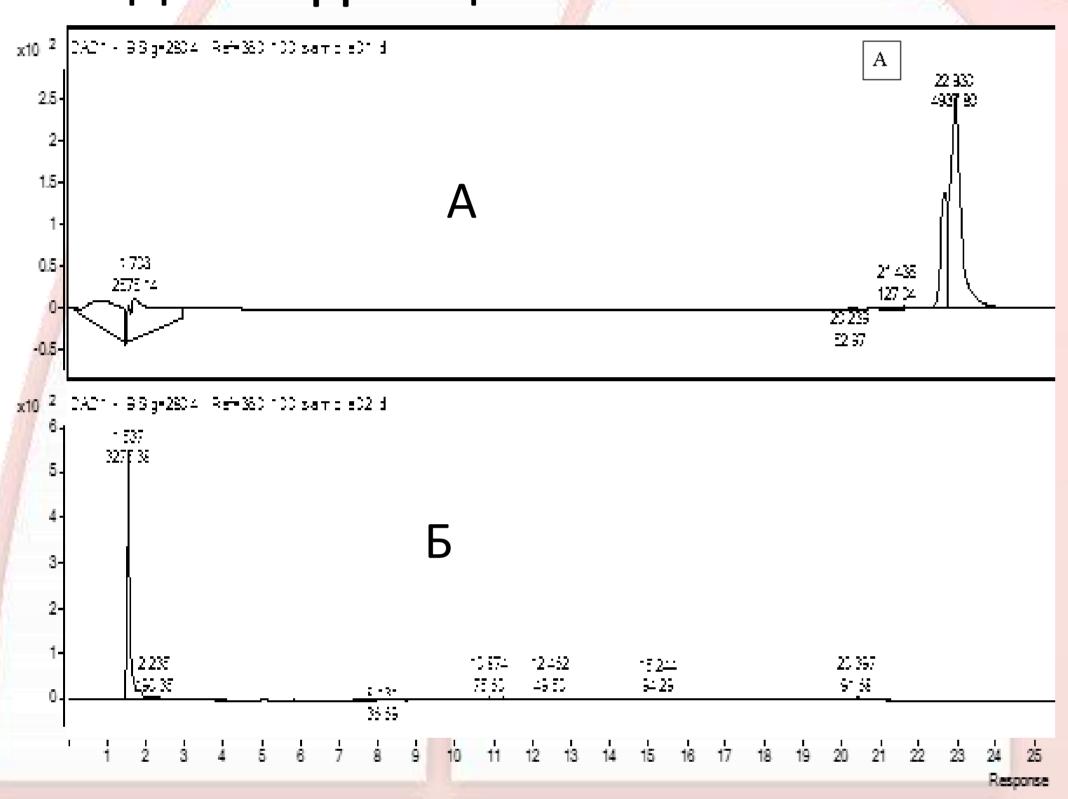


Рисунок 1 – ВЭЖХ профиль белков молочной сыворотки (A) и ультрафильтрата гидролизованной молочной сыворотки (Б)

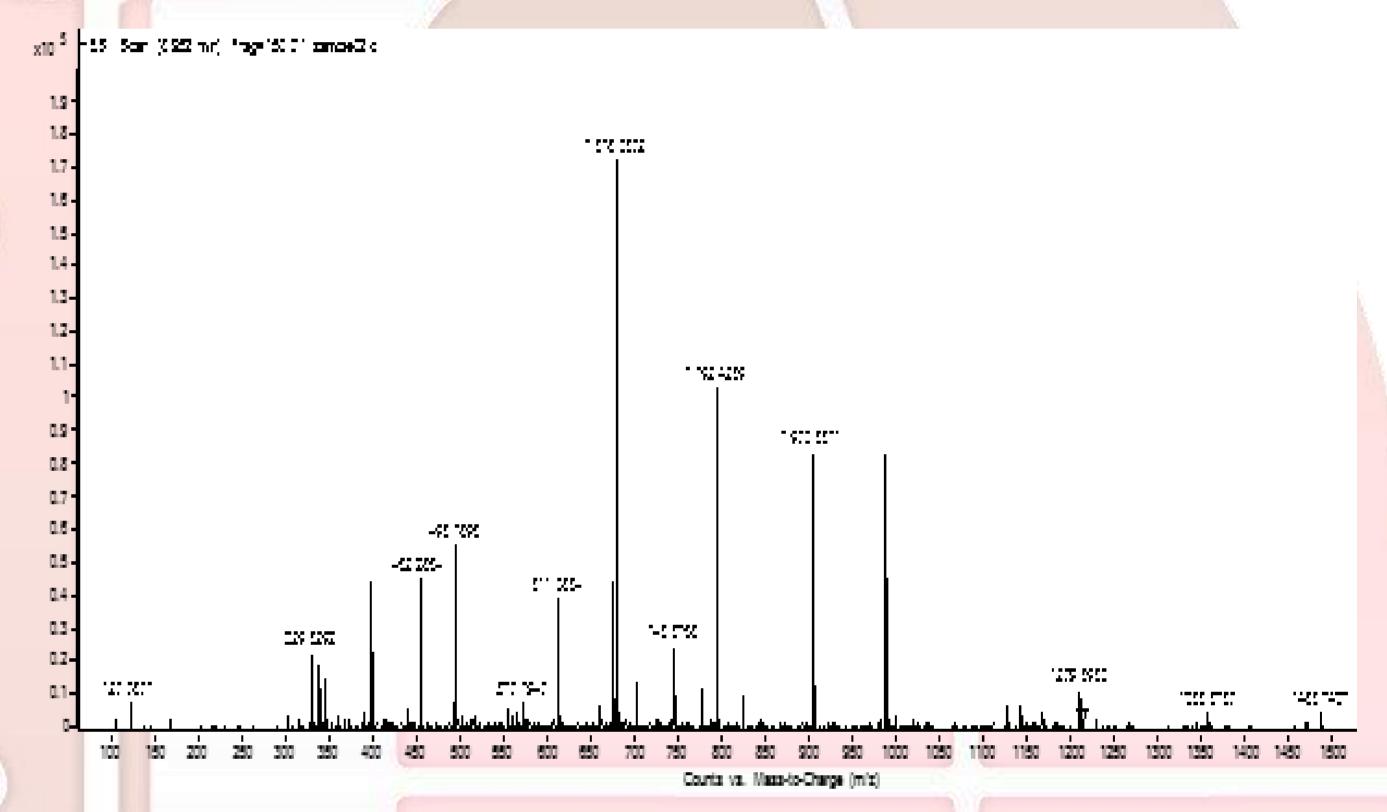


Рисунок 2 – Масс-спектр гидролизата белков молочной сыворотки (Б)

В сравнении с составом белков сыворотки молока по данным хромато-массспектрометрии обнаружены отличия в составе пептидной фракции гидролизата в диапазоне 100—1500 Да, как видно из рисунка 1Б. В гидролизованной молочной сыворотке выявлены пептиды с молекулярной массой до 1500 Да. Полученные результаты свидетельствует о максимальной длине пептидов в составе 13—14 аминокислотных остатков. Поданным масс-спектрометрии выявлено практически полный гидролиз белков молока до набора характерных пептидов, о чем свидетельствует высокий уровень сигнала установленный для однозарядных ионов со значениями m/z, составляющими ≈680, что соответствует пептидам длиной 6 аминокислотных остатков (Рис. 2)

Была также проведена токсиколого-гигиеническая оценка гидролизата сывороточных белков и их клатратов с β-циклодекстрином на Т. pyriformis.Время экспозиции при определении острой токсичности составляло 2-3 часа. Доза гидролизата сывороточных белков 25 мг/мл не оказала видимого влияния на состояние организмов. В концентрациях 50 и 100 мг/мл наблюдалось незначительное снижение численности популяции по сравнению с контролем, летальность составила 1 и 3 % соответственно. В концентрациях 25, 50 и 100 мг/мл видимых изменений не наблюдалось, инфузории не отличались от «контрольных». В концентрациях 200 и 250 мг/мл отмечалось замедленное движение. В пробах, содержащих 200 мг/мл препарата, летальность простейших составила 22 %. В концентрации 250 мг/мл летальность инфузорий составила 31 %. При исследовании подострой токсичности (время экспозиции 24 ч) гидролизата сывороточных белков наблюдалось следующее: в концентрации 100 мг/мл численность инфузорий превышала контрольный уровень на 33%. В концентрации 200 мг/мл наблюдалась летальность инфузорий на уровне 6 %, в концентрации 250 мг/мл — 32 %.