

УДК 577.112.083/122.2

Володимир Юкало д.б.н., проф., Людмила Сторож, Ярослава Джур, Олександра Шпилик

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

ВИДІЛЕННЯ ПРИРОДНИХ МІНЕРАЛЗВ'ЯЗУЮЧИХ ПЕПТИДІВ

Volodymyr Yukalo, Dr., Prof., Lyudmyla Storozh, Yaroslava Dzhur, Oleksandra Shpylyk

OBTAINING OF NATURAL MINERAL-BINDING PEPTIDES

До найбільш важливих мінералзв'язуючих пептидів відносяться фосфопептиди казеїнового походження. Природні казофосфопептиди утворюються в процесі нормального травлення в шлунково-кишковому тракті переважно за дії протеолітичних ензимів підшлункового соку. Основною функцією казеїнових фосфопептидів є участь у процесах транспортування і засвоєння іонів двохвалентних металів, зокрема, кальцію, цинку і феруму. Тому в даний час казеїнові фосфопептиди викликають значний інтерес як перспективні інгредієнти функціональних харчових продуктів. Аналіз первинної структури казеїнових фосфопротеїнів (α_{S1} -CN, α_{S2} -CN, β -CN, κ -CN) – попередників біологічно активних пептидів показує можливість утворення великої різноманітності фосфопептидів в залежності від специфічності протеолітичних ензимів і умов проведення протеолізу. В нашій лабораторії раніше було проведено протеоліз різних казеїнових субстратів (загальний казеїн, α_S -казеїн, β -казеїн, κ -казеїн) ензимними препаратами тваринного, рослинного і мікробіологічного походження. Було встановлено, що виділені в результаті протеолізу фосфопептиди відрізняються за своїм молекулярно-масовим розподілом. У зв'язку з цим для отримання природних фосфопептидів доцільно використовувати умови, наближені до реальних умов протеолізу протеїнів казеїнового комплексу у шлунково-кишковому тракті. При цьому необхідно враховувати, що на ступінь протеолізу і величину фосфопептидів може впливати температура, рН середовища, концентрація субстрату і ензим-субстратне співвідношення.

Метою нашої роботи було підбір протеолітичного препарату, встановлення оптимальних значень концентрації субстрату, температури, рН і тривалості протеолізу.

Як субстрати використовували загальний казеїн, який виділяли із знежиреного молока переосадженням в ізоелектричній точці, а також α_S - і β -казеїни, виділені диференційним осадженням у присутності сечовини. κ -Казеїн виділяли гелі-фільтрацією на декстранових гелях (G-150, Швеція). Фракційний склад казеїнових субстратів досліджували електрофорезом у вертикальних пластинках поліакриламідного гелю. Електрофореграми фіксували і проявляли загальноприйнятими методами. Електрофоретичні буфери і гелі готували, використовуючи реактиви фірми «Reanal» (Угорщина). Результати електрофорезу представляли у вигляді денситограм, які отримували при використанні програми зчитування графічних зображень, розробленої у системі Matlab. Протеоліз казеїнових субстратів проводили різними ензимними препаратами тваринного, рослинного і мікробіологічного походження. Концентрацію фосфопептидів визначали спектрофотометрично. Молекулярно-масовий розподіл отриманих в результаті протеолізу фосфопептидів здійснювали з допомогою хроматографічної системи фірми «Reanal» (Угорщина) на декстрановому гелі G-25 (fine) фірми «Pharmacia» (Швеція). В результаті проведених досліджень було встановлено оптимальні значення температури, рН середовища, концентрації субстратів та ензимного препарату, які забезпечують високий вихід казеїнових фосфопептидів, котрі за своїм молекулярно-масовим розподілом близькі до відомих біологічно активних фосфопептидів.