

УДК 637.127.576.1

В. Юкало, Л. Сторож, К. Дацишин

(Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя)

ІОНООБМІННА ХРОМАТОГРАФІЯ ЗАГАЛЬНОГО КАЗЕЇНУ НА ДЕАЕ-СЕФАДЕКСІ А-50

Питання ідентифікації та виділення фракцій білків казеїнового комплексу молока є актуальним у зв'язку з:

- 1) використанням казеїну в різних харчових продуктах;
- 2) одержанням нових даних, щодо класифікації казеїнів;
- 3) виділенням біологічно активних пептидів з окремих фракцій казеїну.

Одним з ефективних методів ідентифікації та виділення казеїнів є іонообмінна хроматографія. В ряді наукових праць описано використання іонообмінної хроматографії на ДЕАЕ-целюлозі. При цьому показана можливість отримання всіх головних фракцій казеїну, а також деяких мінорних казеїнів у присутності карбаміду. Нами використовувались наближені до нативних умови, що дозволило зберегти структуру казеїнів у процесі хроматографії на ДЕАЕ-целюлозі. За рядом показників перспективним може бути використання для іонообмінної хроматографії загального казеїну іонообмінників на основі сефадексу. Такий іонообмінник ДЕАЕ-сефадекс володіє в 2-3 рази вищою ємністю по відношенню до білків.

Метою даної роботи є фракціонування казеїнів на аніонообміннику ДЕАЕ-сефадексі А-50.

Для фракціонування використовували свіжовиділений кислотний загальний казеїн після інактивації протеїназ і ліофілізації. Наважку казеїну розчиняли у хроматографічному буфері (0,01 М тріс НСІ, 4,5 М сечовина, рН 7,5) і центрифугували на центрифугі Т-24 при 15000 г протягом 20 хвилин для відділення нерозчинних частинок. Для хроматографії використовували мікрокристалічну ДЕАЕ-целюлозу (ДЕ-52) фірми «Serva» (Німеччина) і ДЕАЕ-сефадекс А-50 фірми «Pharmacia» (Швеція). ДЕАЕ-целюлозу спочатку обробляли 0,5 Н NaOH, потім НСІ і суспендували декілька годин у хроматографічному буфері. Після цього іонообмінник вносили в хроматографічну колонку з набору для рідинної хроматографії фірми «Reanal» (Угорщина). ДЕАЕ-сефадекс А-50 готували відповідно до рекомендацій фірми «Pharmacia». Лінійний градієнт концентрацій NaCl формували у змішувачі 500/500 мл фірми «Reanal» (Угорщина). Відбирали по 10 мл елюату і визначали оптичну густину при 280 нм на спектрофотометрі СФ-46. Для визначення концентрації білків використовували встановлені раніше коефіцієнти поглинання казеїнів. Білковий склад хроматографічних фракцій аналізували за допомогою електрофорезу на пластинках поліакриламідного гелю в лужній системі буферу.

Отримані результати свідчать про високу ефективність розділення білків казеїнового комплексу і можливість застосування іонообмінної хроматографії на ДЕАЕ-сефадексі А-50 для отримання очищених фракцій. Недоліком використання даного іонообмінника є суттєве зменшення його об'єму в процесі хроматографії, що призводить до зниження швидкості елювання, впливає на остаточний результат хроматографічного розділення, ускладнює умови подальшого регенерування іонообмінника. Разом з тим, на відміну від ДЕАЕ-целюлози при застосуванні іонообмінного сефадексу А-50 вдалося відділити мінорні фракції казеїну.