

Способ получения лактоферрина из молочного сырья с использованием аффинной хроматографии

Петряева М.А., магистрант, Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург.

Гарипова М.И., д.б.н., профессор, Башкирский государственный университет, г. Уфа

Забодалова Л.А., д.т.н, профессор, Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург

При производстве сыра и творога образуются большие объемы побочного продукта - молочной сыворотки. Основными компонентами молочной сыворотки являются лактоза, сывороточные белки, фосфолипиды, минеральные вещества и витамины. Среди белков молочной сыворотки ценными свойствами обладает лактоферрин. Основные его биологические функции: связывание и транспорт ионов железа, иммуностимулирующее, противоопухолевое, антибактериальное, противовирусное действие, каталитические активности.

Цель проведенных исследований – разработка технологии выделения лактоферрина (ЛФ) из молочного сырья аффинной хроматографией. Для ее выполнения был осуществлен выбор молочного сырья в качестве источника ЛФ и определены оптимальные технологические параметры получения ЛФ из этого молочного сырья.

Одним из фундаментальных свойств лактоферрина является его способность связывать полианионы, если закрепить данный лиганд (гепарин) на матрице и пропустить через колонку молочную сыворотку, то произойдет биоспецифическое взаимодействие между лактоферрином и комплементарным ему лигандом. На первом этапе исследования проведена иммобилизация гепарина по методу, разработанному Гариповой М.И. Для выделения лактоферрина молочную сыворотку пропускали через колонку с иммобилизованным гепарином при скорости 2 мл в минуту. Связанный лактоферрин элюировали 0,1 М уксусной кислотой, рН которой составляет 2,8. Концентрирование лактоферрина проводили с помощью системы вакуумного концентратора CentriVar. На колонке объемом 20 мл максимально (из 1200 мл сыворотки) было извлечено 10 мг лактоферрина. РНКазную активность определяли как разницу количества РНК в пробе до и после воздействия фермента методом В.И. Билай. После осаждения и измерения оптической плотности при 260 нм определяли количество расщепленной лактоферрином РНК.

В ходе проведенных исследований установлено, что на колонке объемом 20 мл можно выделить 10 мг лактоферрина, что соответствует полному извлечению лактоферрина из 1200 мл молочной сыворотки. Колонка используется многократно (до 200 циклов использования). Для промышленного использования, целесообразно синтезировать 2 литра сорбента и полностью извлекать лактоферрин из 120 литров молочной сыворотки. Этот объем примерно соответствует количеству молочной сыворотки, образующемуся в цехе по переработке молока в сыр в сутки. Таким образом, ежедневно на предприятии со средними объемами производства сыра в сутки можно выделять 1000 мг лактоферрина.