

Баранов С.А., Шевляков В.В.

Метод получения белково-антигенного комплекса из пыли сухого казеина коровьего молока

РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск, Республика Беларусь

Актуальность. При обосновании гигиенического норматива содержания в воздухе рабочей зоны аэрозолей сухих продуктов переработки коровьего молока, в частности пыли сухого казеина технического и пищевого, казеината натрия и казицита, сухих смесей на их основе, для экспериментального моделирования воздействия на организм и выявления их биологического действия, прежде всего аллергического и иммунотоксического, невозможно использование их нативных образцов, поскольку казеин водонерастворим, а казеинаты растворимы, но содержат сывороточные белки молока и лактозу. К тому же, рас-

творы казеинатов имеют насыщенный белый цвет, что не позволяет определять в них точное содержание белка методом Лоури, использовать их в диагностических иммунологических методах, основанных на фотоколориметрических и спектрометрических измерениях.

Поэтому для выполнения экспериментальных исследований необходимо получить из пыли казеиновых белков молока матрицу, отвечающую требованиям содержать в достаточно высокой концентрации водорастворимые белковые субстанции, быть бесцветной и прозрачной.

Целью настоящей работы являлась разработка метода получения из пыли казеина технического экстракта – бесцветного раствора с высокой концентрацией казеиновых белков.

Материалы и методы. Типичные образцы пыли сухого казеина технического (далее – СКТ), отобранные на производстве из фильтров и накопителей вытяжной механической вентиляции на этапах сушки и фасовки СКТ, предварительно подвергали измельчению и пастеризации.

В основе разрабатываемого метода заложена известная технология получения растворимых казеинатов и казецитов, базирующая на способности молекулы казеина замещать кислотную группу ($-\text{COOH}$) щелочными или щелочноземельными металлами с образованием водорастворимых солей.

Результаты исследования. При разработке метода эмпирически подбирали оптимальные соотношения реагентов, условия и технологию проведения. Щелочной гидролиз пыли СКТ осуществляли следующим образом: на водяной бане с автоматической терморегуляцией нагревают до $60-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ смесь 1Н раствора гидроксида натрия и стерильного физиологического раствора в соотношении 2:3 (соответственно по 12 и 8 см^3 на 1 г пыли СКТ), вносят мелкими дозами навеску пыли СКТ при постоянном перемешивании, затем доводят температуру смеси до $70-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выдерживают при этой температуре в течение 25-30 мин при постоянном и интенсивном перемешивании.

Преципитация и растворение казеинового белка (раствор казеината натрия): после охлаждения доводят рН смеси до 7,2-7,4 ед. концентрированной соляной кислотой, добавляя ее по каплям при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Смесь переливают в полимерные флаконы (в пропорциональном количестве) и отделяют остатки казеина центрифугированием при 8000 об./мин в течение 10 мин.

В полученном супернатанте – экстракте определяют содержание белка методом Лоури в модификации Шактерле-Поллак. Для построения

Республиканская конференция с международным участием, посвященная 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ, Минск, 29 мая 2020 г.

градуировки используют бычий сывороточный альбумин на физиологическом растворе. Предварительно полученный экстракт разводят в 1000 и 500 раз. Экстракты сохраняют при 18-22 °С без добавления консервантов.

Полученные данным методом экстракты-растворы содержат достаточно высокое содержание растворимого казеинового белка (в среднем 41,8 мг/см³ белка), прозрачны.

Заключение. Разработан метод, позволивший получить из пыли сухого казеина технического экстракты с высоким содержанием растворимого казеинового белка, что позволяет использовать их для экспериментального моделирования и токсикологических исследований, в качестве тест-аллергена в аллергодиагностике.