

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ МОЛОКА И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

¹Загоруля И.П., ¹Высокогорский В.Е., ¹Лазарева О.Н., ²Мкртчян О.З.

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»,
Омск, e-mail: dionizag@mail.ru;

²ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», Омск

В исследовании выявлены определённые закономерности распределения уровня окислительной модификации белков молока, кефира, ряженки и варенца. Между показателями содержания альдегиднитрофенилгидразонов нейтрального характера и кетондинитрофенилгидразонов нейтрального характера выявлена значимая прямая корреляция показателей всех четырёх продуктов. Среди показателей молока и кефира установлена обратная корреляция между альдегиднитрофенилгидразами нейтрального характера и кетондинитрофенилгидразами основного характера, а между показателями варенца и ряженки – среди альдегиднитрофенилгидразонов нейтрального характера и альдегиднитрофенилгидразами основного характера. Между другими показателями спонтанной окислительной деструкции белков и всеми показателями индуцированной модификации корреляционных связей не установлено. Полученные результаты исследования окислительной модификации белков молока и кисломолочных продуктов свидетельствуют о наличии зависимости сильной силы между показателями альдегиднитрофенилгидразонов нейтрального характера и кетондинитрофенилгидразонов нейтрального характера, как молока так и кисломолочных продуктов.

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление, окислительная модификация белков, молоко, кефир, ряженка, варенец

CORRELATION ANALYSIS OF INDICATORS OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN MILK AND DAIRY PRODUCTS

¹Zagorulya I.P., ¹Vysokogorskiy V.E., ¹Lazareva O.N., ²Mkrтчян O.Z.

¹Omsk State Agrarian University n.a. P.A. Stolypin, Omsk, e-mail: dionizag@mail.ru;

²Omsk State Pedagogical University, Omsk

The study revealed certain regularities of distribution of the level of oxidative modification of proteins of milk, yogurt, dairy products and make. Between the content of aldegiddinitrofenilgidrazon neutrality and neutrality ketondinitrofenilgidrazon revealed significant direct correlation metrics of all four products. Among the indicators of milk and kefir installed reverse correlation between neutrality and aldegiddinitrofenilgidrazon ketondinitrofenilgidrazon of the main character, and between make and dairy products among the aldegiddinitrofenilgidrazon neutral nature and aldegiddinitrofenilgidrazon of the main character. Among other spontaneous oxidizing destruction of proteins and all indicators induced modification of correlations is not installed. The results of the study of oxidative modification of proteins of milk and dairy products indicate whether the strong forces between the aldegiddinitrofenilgidrazon neutrality and the ketondinitrofenilgidrazon neutrality, as milk and dairy products.

Keywords: free-radical oxidation, oxidative modification of proteins, milk, yogurt, dairy products, make

В настоящее время общепризнано, что свободные радикалы участвуют в самых разнообразных биологических процессах, молекулярно-клеточных взаимодействиях, в различных адаптивных реакциях организма к воздействиям факторов внешней и внутренней среды. Одним из важных факторов адаптивных механизмов организма к новым условиям окружающей среды является баланс прооксидантов и антиоксидантов [7]. В качестве маркера нарушений этого баланса, развития окислительного стресса ранее использовались показатели пероксидации липидов, однако в последнее время больше внимания привлекают продукты окислительной модификации белков, так как карбонильные производные белков более стабильны и циркулируют в крови

более длительный период, чем продукты пероксидации липидов. Модифицированные белки сохраняются несколько часов и даже дней, а продукты пероксидации липидов разрушаются в течение минут [4, 5]. Кроме того, некоторые авторы считают, что именно белки мембран в первую очередь подвергаются окислительной деструкции, а модифицированные белки выступают в качестве стимуляторов пероксидации липидов [4]. В связи с этим определение продуктов окислительной модификации белков становится предпочтительней для характеристики развития окислительного стресса или патологического процесса.

Однако, несмотря на многочисленные сведения о нарушениях окислительной модификации белков (ОМБ) при воздействии

различных факторов и патологических состояниях [2, 7], существует много вопросов по механизму окислительного повреждения белков, патогенетической роли окислительной модификации белков [9].

Регистрация 2,4-динитрофенилгидразонов по методу, описанному Е.Е. Дубининой и соавт. [6], при нескольких длинах волн позволяет определять разные карбонильные производные – альдегиддинитрофенилгидразоны и кетондинитрофенилгидразоны как нейтрального, так и основного характера. Считается, что на ранних стадиях окислительного стресса преобладают альдегиддинитрофенилгидразоны, а на поздних – кетондинитрофенилгидразоны [8]. В результате воздействия свободнорадикальных процессов вначале происходит фрагментация белков, сопровождающаяся образованием альдегиддинитрофенилгидразонов, а затем развивается агрегация белков с образованием кетондинитрофенилгидразонов. Однако недостаточно экспериментальных и клинических подтверждений данного положения, отсутствует однозначное мнение о патогенетической значимости динитрофенилгидразонов основного и нейтрального характера.

Цель данного исследования – выявление взаимосвязи различных карбонильных производных белков молока и кисломолочных продуктов.

Материалы и методы исследований

Для оценки окислительной модификации белков использовали метод A.Z. Reznick & L. Parker в модификации Е.Е. Дубининой [6]. Метод определения продуктов карбонильных производных белков основан на том, что конечные продукты свободнорадикального окисления белков могут количественно реагировать с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов.

Для полной характеристики степени воздействия свободнорадикального окисления содержание карбонильных производных определяли при соответствующи-

х длинах волн: альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера при 356 нм, кетон-динитрофенилгидразонов нейтрального характера – 370 нм, альдегид-динитрофенилгидразонов основного характера – 430 нм, кетон-динитрофенилгидразонов основного характера – 530 нм. В работе определяли продукты спонтанной окислительной деструкции белков.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Statistica 6. Коэффициент корреляции определяли по ранговому методу Пирсона. Критический уровень значимости при проверке нулевых гипотез был принят на уровне $p = 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты корреляционного анализа показателей спонтанной окислительной модификации белков молока свидетельствуют о наличии сильной связи между показателями содержания альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера и кетондинитрофенилгидразонов нейтрального характера. Значение коэффициента корреляции равно 0,723 при $p = 0,022$. (табл. 1). Аналогичная зависимость, но менее выраженная, средней силы, между альдегид-динитрофенилгидразонами и кетон-динитрофенилгидразонами нейтрального характера наблюдалась также при исследовании спонтанной окислительной модификации белков кефира, ряженки и варенца.

Совершенно другая картина наблюдалась при анализе связей альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера с другими карбонильными продуктами. Между уровнем альдегиддинитрофенилгидразонов нейтрального характера белков молока, так же как и кефира, выявляется обратная зависимость средней силы с кетондинитрофенилгидразонами основного характера, в этом случае коэффициенты корреляции составляют для молока – 0,609 ($p = 0,031$), а для кефира – $\rho = -0,510$ ($p = 0,044$) Среди данных карбонильных производных белков ряженки и варенца

Таблица 1

Коэффициенты корреляции (ρ) содержания продуктов спонтанной окислительной модификации белков молока и кисломолочных продуктов

Показатели \ Продукт	Молоко	Кефир	Ряженка	Варенец
АДНФГ нейтр./КДНФГ нейтр.	0,723	0,513	0,581	0,608
АДНФГ нейтр./АДНФГ осн.	0,323	0,312	-0,540	-0,508
АДНФГ нейтр./КДНФГ осн.	-0,609	-0,510	0,155	-0,120
КДНФГ нейтр./АДНФГ осн.	0,358	0,162	0,122	0,162
КДНФГ нейтр./КДНФГ осн.	0,411	0,318	0,311	-0,215
КДНФГ осн./АДНФГ осн.	0,212	0,314	0,355	0,221

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения коэффициентов корреляции при значениях $P < 0,05$.

значимой связи не обнаружено. В то же время установлена значимая обратная корреляция средней силы между уровнем альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального и основного характера – коэффициенты корреляции ряженки составляют $-0,540$ ($p = 0,040$), варенца – $\rho = -0,508$ ($p = 0,042$).

При анализе коэффициентов корреляции содержания продуктов металл-катализируемой окислительной модификации белков молока, кефира, ряженки и варенца не установлено значимых корреляционных связей между всеми исследуемыми карбонильными производными белков, несмотря на значительное повышение значений карбонильных групп при добавлении индуктора окислительной модификации белков.

модификации белков ряженки и варенца по сравнению с молоком и кефиром значительно выше. Значительную деградацию белков варенца и ряженки подтверждают и результаты корреляционного анализа, демонстрирующего появление иных связей, отличающихся от корреляций молока и кефира.

Различие в показателях окислительной модификации белков варенца и ряженки обусловлено, вероятно, особенностями технологии приготовления кисломолочных продуктов, так, при производстве варенца и кефира температура пастеризации несколько выше и продолжительнее, чем при производстве пастеризованного молока или кефира.

Потеря корреляционных связей показателей индуцированной железом окислительной модификации белков варенца и ряженки

Таблица 2

Коэффициенты корреляции (ρ) содержания продуктов металл-катализируемой окислительной модификации белков молока и кисломолочных продуктов

Показатели \ Продукт	Молоко	Кефир	Ряженка	Варенец
АДНФГ нейт./КДНФГ нейт.	0,143	0,210	0,108	0,229
АДНФГ нейт./АДНФГ осн.	0,135	0,386	-0,416	-0,320
АДНФГ нейт./КДНФГ осн.	0,205	0,311	-0,125	0,164
КДНФГ нейт./АДНФГ осн.	0,216	0,321	-0,111	-0,122
КДНФГ нейт./КДНФГ осн.	0,128	0,195	0,449	-0,356
КДНФГ осн./АДНФГ осн.	0,119	0,395	0,450	0,191

При исследовании окислительной модификации белков ранее нами установлено [3], что уровень альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера, кетон-динитрофенилгидразонов нейтрального характера, альдегиддинитрофенилгидразонов основного характера как продуктов спонтанной окислительной деструкции белков кефира ниже в сравнении с показателями пастеризованного молока, при этом значимых различий в содержании динитрофенилгидразонов основного характера не выявлено. Снижение содержания продуктов окислительной деструкции белков может быть связано с особенностями кефирной закваски, обогащающей продукт антиоксидантами. Так как корреляционные связи кефира существенно не отличаются от данных молока, то можно предположить, что технологические особенности изготовления кефира не вызывают существенной деструкции белков кефира.

В противоположность этому содержание продуктов спонтанной окислительной

позволяет предположить исчерпание защитных резервов, так как при стимуляции наблюдается максимальная окисляемость белков.

Пищевая ценность молока включает всю полноту полезных его качеств, в том числе проявление антиоксидантных свойств [1, 10]. Молоко – продукт обладающий антиоксидантной активностью, антиоксидантная система молока и молочных продуктов представлена ферментными (каталаза, пероксидаза, пероксиддисмутаза и др.) и неферментными компонентами: витамины А, Е, С, SH-соединения, ионы металлов [10]. Кроме того, в молоке присутствуют синергисты – вещества, которые восстанавливают антиоксиданты, такие как лимонная, винная, молочная кислоты. Однако количество антиоксидантов подвержено большим колебаниям и их активность в процессе технологической переработки молока снижается [1]. В связи с выявлением сильных корреляционных связей между показателями окислительной модификации белков возникает вопрос о биологических

основах этих взаимодействий, свидетельствует ли нарушение этих связей о глубокой окислительной деструкции белков. Вполне вероятно, что аналогичные нарушения корреляционных связей карбонильных производных белков молока возникают не только под воздействием технологических процессов и при патологических состояниях животных.

Заключение

В ходе исследования показателей спонтанной окислительной модификации белков молока и кисломолочных продуктов установлены значимые корреляции между альдегидами и кетонами динитрофенилгидразона нейтрального характера всех исследуемых образцов молочных продуктов. Однако если между карбонильными производными нейтрального характера выявлена прямая зависимость, то между показателями карбонильных производных нейтрального и основного характера обнаружена обратная зависимость. Причём среди показателей молока и кефира обратная корреляция установлена между альдегиддинитрофенилгидразонами нейтрального характера и кетондинитрофенилгидразонами основного характера, а между показателями варенца и ряженки среди альдегиддинитрофенилгидразонов нейтрального характера и альдегиддинитрофенилгидразонов основного характера. Между другими показателями спонтанной окислительной деструкции белков и всеми показателями индуцированной модификации корреляционных связей не установлено. Различия в показателях корреляции исследуемых молочных продуктов могут быть обусловлены степенью температурного воздействия, так как при производстве варенца и ряженки молоко пастеризуют дольше и температура пастеризации несколько выше, чем при производстве пастеризованного молока или кефира. Установленные корреляционные

связи должны учитываться при разработке способов оценки биологической ценности молочных продуктов.

Список литературы

1. Высокогорский В.Е. Хемилюминесцентный анализ пастеризованного молока / В.Е. Высокогорский, Г.В. Игнатова // Пищевая промышленность. – 2012. – № 10. – С. 34–35.
2. Высокогорский В. Е. Интенсивность липопероксидации и окислительной модификации белков козьего и коровьего молока / В.Е. Высокогорский, Н.Б. Гаврилова, Ю.А. Архипенко // Вопр. питания. – 2014. – № 4. – С. 82–85.
3. Высокогорский В.Е. Сравнительная характеристика показателей карбонильных производных белков в кисломолочных продуктах / В.Е. Высокогорский, И.П. Загорюла // Инновационные подходы и технологии для повышения эффективности производств в условиях глобальной конкуренции. Международная научно-практ. конференция, посвящ. памяти член-корр. КазАСХН, д.т.н., профессора Е.Т. Тулеуова 1 марта 2016 г. – Семей: Государственный университет имени Шакарима, 2016. – Т. I. – С. 642–644.
4. Губский Ю.И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, Е.Л. Левицкий и др. // Совр. проблемы токсикологии. – 2005. – Т. 8, № 3. – С. 20–26.
5. Дубинина Е.Е. Свободнорадикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Биомед. химия. – 2007. – Т. 53, № 4. – С. 351–372.
6. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов // Вопросы мед. химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26.
7. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: МАИК, 2001. – 343 с.
8. Иванов В.В. Влияние аллоксана на систему глутатиона и окислительную модификацию белков в адипоцитах при экспериментальном диабете / В.В. Иванов, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, В.В. Новицкий // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 3. – С. 44–47.
9. Кулмагамбетов И.Р. Состояние окислительного метаболизма и кристаллообразующие свойства крови экспериментальных животных при интоксикации несимметричным диметилгидразином / И.Р. Кулмагамбетов, Л.Е. Муравлева, В.В. Койков и др. // Биомед. химия. – 2007. – Т. 53, Вып. 3. – С. 276–284.
10. Шидловская В.П. Антиоксиданты молока и их роль в оценке его качества / В.П. Шидловская, Е.А. Юрова // Молочная промышленность. – 2010. – № 2. – С. 24–27.