

Einfluss der Hochdruckbehandlung auf chemische Veränderungen von Peptiden in Lebensmitteln

Influence of high pressure processing on chemical changes of peptides in food

P. BUTZ

Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Standort Karlsruhe,
Institut für Chemie und Biologie

Schlüsselwörter Hochdruckbehandlung – chemische Veränderungen – Peptide

Key Words high pressure processing – chemical changes – peptides

Hoher Druck ist als ein der Temperatur ähnlicher thermodynamischer Faktor bekannt, der Gleichgewichte und Reaktionsraten von mit Reduktion des Volumens verbundenen chemischen/biochemischen Prozessen beeinflussen kann. Dies ist der Fall bei der Bildung eines Diketopiperazins nach Hydrolyse der C-terminalen Esterbindung von Aspartam [1] und der Entstehung hormonähnlicher Substanzen durch Zyklisierung anderer Peptid-Methylester [2, 3]. Weitere druckinduzierte Zyklisierungen schließen Glutamin-Seitenketten am N-Terminus ein, wobei Pyroglutamat-Peptide (pGlu-Peptide) entstehen, die oft biologische Aktivität aufweisen (siehe Abb. 1). Einige dieser druckinduzierten Reaktionsprodukte treten schon nach kurzer Behandlungszeit auf und können bei der kommerziellen Druckbehandlung relevant sein, insbesondere wenn biologische Aktivität entsteht. Ebenfalls von Interesse sind Amidgruppen in Peptiden, wo C-terminale Amidgruppen hydrolysiert werden können und nicht endständige Seitengruppen von Asparagin und Glutamin deamidiert werden können. Die C-terminale Amidierung wird in der Natur verwendet, um Peptide vor Abbau durch Peptidasen zu schützen und ihre biologische Rolle als Botenstoff oder Hormon zu garantieren. Andererseits führt in Peptidketten und Eiweißen die Deamidierung von Asparaginresten zur Bildung isomerer Asparaginsäure in einer typischen post-translationalen Reaktion. Solche Veränderungen sind mit der Alterung von Proteinen verbunden und werden auch im Zusammenhang mit der Alzheimer Krankheit diskutiert [4]. Die Veränderungen in Peptidamiden sind relativ gut verstanden in Abhängigkeit von der Temperatur und dem pH-Wert, es gibt jedoch nur wenig Untersuchungen unter Druckeinfluss [5]. In letzterer Arbeit wurde die Druckabhängigkeit der Hydrolyse C-terminaler Peptidbausteine und die Deamidierungsreaktion in einem synthetischen Peptid, das in der Kette Asparagin in Nachbarschaft zu Glycin enthielt, untersucht.

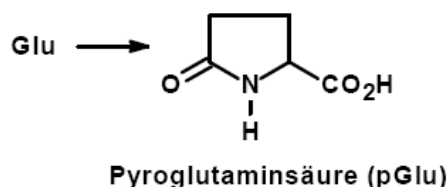


Abb. 1: Druckinduzierte Zyklisierung von Glutamin (Glu) zu Pyroglutaminsäure (pGlu)

Die Dipeptide H-Leu-Gly-NH₂ und H-Leu-Gly-OH wurden von Bachem bezogen (Weil am Rhein), das Oligopeptid H-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Asn-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-OH und sein deamidiertes Produkt H-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Asp-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-OH wurden von

der ECM Microcollections GmbH (Tübingen) synthetisiert. Die Peptide wurden in 50 mM TRIS-Puffer mit pH 7 gelöst und behandelt. Die Analyse erfolgte mittels Reverse-Phase-HPLC sowie LC-MS mit Elektrospray Ionisierung. Die Druckexperimente wurden in einer U101 Apparatur von UNIPRESS (Warschau) durchgeführt, die Drücke bis 1100 MPa zulässt. Probenbehälter waren Polyäthylenampullen mit 250 µL Volumen.

Das Dipeptid H-Leu-Gly-NH₂ war bei den Druckbehandlungen bis zu 600 MPa und 60 °C auch bei längeren Behandlungszeiten (bis zu 120 min) relativ stabil. Bei 80 °C und 800 MPa Druck wurde es jedoch schnell abgebaut, während die Wärmebehandlung bei 80 °C allein keinen merklichen Umsatz bewirkte. Parallel zum Abbau von H-Leu-Gly-NH₂ wurden drei neue Verbindungen nach LC-MS Analyse detektiert und identifiziert. Durch Hydrolyse am C-Terminus entstanden das erwartete Diketopiperazin cyclo-Leu-Gly neben geringen Mengen der Aminosäure H-Leu-OH und dem linearen Dipeptid H-Leu-Gly-OH. Das zyklische Dipeptid hat eine zum gut bekannten bioaktiven Peptid cLG homologe Struktur und könnte physiologische Relevanz haben. Als Ausgangsmaterial für die druckinduzierte Deamidierung wurde das Oligopeptid H-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Asn-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-OH ausgewählt, dessen an Elastin angelehnte Struktur die gute Löslichkeit gewährleistet und das in der Mitte der Kette ein Asparagin enthält mit Glycin als Nachbarn. Das bei 600 MPa und 60 °C deamidierte Peptid H-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Asp-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-OH konnte über die Retentionszeit, Co-Chromatographie und LC-MS identifiziert werden. Allerdings verlief die Reaktion sehr langsam. Alleiniges Erhitzen bewirkte keinen messbaren Umsatz unter diesen Bedingungen.

Typische Druckbedingungen, die notwendig sind, um Pasteurisation von Lebensmitteln zu erreichen, liegen im Bereich von 400-700 MPa bei Temperaturen nicht höher als 40-50 °C und Behandlungsdauern von wenigen Minuten. Die hier geschilderten Veränderungen von Peptiden sind dort nicht in größerem Umfang zu erwarten und sollten daher keine größere Relevanz in der Lebensmittelverarbeitung mit Hochdruckanwendung haben. Jedoch sollte bedacht werden, dass biologisch aktive Peptide auch in Spuren Mengen wirksam sein können. Zur Hochdruck-Sterilisierung von Nahrungsmitteln oder Pharmaka sind Druckzyklen bis 1000-1200 MPa bei Temperaturen bis etwa 115 °C notwendig. Hier gibt es noch keine Kenntnisse über Veränderungen von Peptiden, es besteht in dieser Hinsicht Forschungsbedarf. Weiterhin ist ungeklärt, ob die druckbedingt entstehenden Peptid-Derivate auch ernährungsphysiologisch von Bedeutung sind.

Literatur

1. BUTZ, P., FERNÁNDEZ GARCÍA, A., FISTER, H., TAUSCHER, B. (1997): Influence of high hydrostatic pressure on aspartame: Instability at neutral pH. *J. Agric. Food Chem.* 45 (2), 302-303.
2. SCHNEIDER, T., BUTZ, P., LUDWIG, H., TAUSCHER, B. (2003): Pressure induced formation of pyroglutamic acid from glutamine in neutral and alkaline solutions. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 36 (3), 365-367.
3. FERNÁNDEZ GARCÍA, A., ZÖLLER, H., BUTZ, P., TAUSCHER, B. (2006): High pressure induced hydrolysis at C-terminus of peptide derivatives yielding bioactive peptides. *Food Chemistry* 95 (2), 301-306.
4. SCHILLING, S., LAUBER, T., SCHAUPP, M., MANHART, S., SCHEEL, E., BÖHM, G., DEMUTH, H. U. (2006): On the Seeding and Oligomerization of pGlu-Amyloid Peptides (in vitro). *Biochemistry* 45(41), 12393-12399.
5. CORRALES, M., FERNÁNDEZ GARCÍA, A., BUTZ, P., STÄRKE, J., PFAFF, E., WIESMÜLLER K. H., TAUSCHER, B. (2007): Stability of peptide amides under high pressure. *High Pressure Research* 27 (1), 17-22.