

RAPPORT

Eiwit- en aminozuursamenstelling van 2 voedingssupplementen

Datum: 31 Oktober 2014

Inleiding

Dit rapport bevat de procedure en de resultaten van 2 bepalingen:

- 1) eiwitsamenstelling van 2 voedingssupplementen
- 2) aminozuursamenstelling van 2 voedingssupplementen

Geanalyseerde voedingssupplementen:

- Whey Delicious, Vanilla
leverancier: XXL Nutrition, Helmond, NL
is verder aangeduid als: monster 1

- Whey Perfection, Vanilla milkshake
leverancier: Body & Fit Nutrition, Heerenveen, NL
is verder aangeduid als: monster 2

Procedures

Eiwitsamenstelling

Van ieder monster is 1 milligram opgelost in 50 mM ammonium bicarbonaat (ABC). Vervolgens is van ieder monster 25 µg genomen. Dit is gedigesteerd met trypsine. Tryptische digesten zijn vervolgens gerund op een LC-MS/MS systeem (Q-Exactive, Thermo Scientific) om de eiwitsamenstelling te bepalen.

Aminozuursamenstelling

Van ieder monster is 2 milligram genomen. Dit is opgelost in 2 milliliter 6 Molair zoutzuur. De oplossingen zijn verwarmd op 110°C, gedurende 16 uur. Vervolgens zijn de oplossingen droog gedampt met behulp van stikstofgas gedurende 18 uur bij 40°C.

Droog gedampte monsters zijn vervolgens opgelost in 5 ml 0,5 mM tridecafluoroheptanoic acid en de aminozuursamenstelling is in duplo bepaald met een Quattro Premier instrument (Waters).

Resultaten

Eiwitsamenstelling monster 1

Accession nr. Uniprot db	Description of the protein	Score	Sequence Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs
P12763	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Bos taurus GN=AHSG PE=1 SV=2 - [FETUA_BOVIN]	15.34	20.61%	2	4	4	6
Q9TSR4	Alpha-lactalbumin OS=Bos mutus grunniens GN=LALBA PE=2 SV=1 - [LALBA_BOSMU]	571.71	80.99%	2	1	10	228
P00711	Alpha-lactalbumin OS=Bos taurus GN=LALBA PE=1 SV=2 - [LALBA_BOVIN]	641.12	80.99%	3	2	11	257
P09462	Alpha-lactalbumin OS=Ovis aries GN=LALBA PE=1 SV=2 - [LALBA_SHEEP]	488.43	37.32%	3	1	8	208
P02662	Alpha-S1-casein OS=Bos taurus GN=CSN1S1 PE=1 SV=2 - [CASA1_BOVIN]	73.36	48.13%	4	11	11	23
P02663	Alpha-S2-casein OS=Bos taurus GN=CSN1S2 PE=1 SV=2 - [CASA2_BOVIN]	38.37	30.63%	1	6	7	15
P02666	Beta-casein OS=Bos taurus GN=CSN2 PE=1 SV=2 - [CASB_BOVIN]	13.99	15.18%	4	3	3	6
P02754	Beta-lactoglobulin OS=Bos taurus GN=LGB PE=1 SV=3 - [LACB_BOVIN]	2217.51	83.71%	2	8	20	636
P67975	Beta-lactoglobulin OS=Ovis orientalis musimon GN=LGB PE=1 SV=1 - [LACB_OVIMU]	416.9	80.86%	2	6	18	195
P18892	Butyrophilin subfamily 1 member A1 OS=Bos taurus GN=BTN1A1 PE=1 SV=2 -	100.69	40.30%	2	18	18	31
P62894	Cytochrome c OS=Bos taurus GN=CYCS PE=1 SV=2 - [CYC_BOVIN]	26.05	49.52%	34	6	6	12
P79345	Epididymal secretory protein E1 OS=Bos taurus GN=NPC2 PE=1 SV=1 - [NPC2_BOVIN]	21.78	31.54%	1	3	3	6
Q4TZH2	Fatty acid-binding protein, heart OS=Bos mutus grunniens GN=FABP3 PE=3 SV=3 -	23.12	52.63%	7	5	5	9
P80195	Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 OS=Bos taurus GN=GLYCAM1 PE=1	71.2	43.79%	4	8	8	23
P02668	Kappa-casein OS=Bos taurus GN=CSN3 PE=1 SV=1 - [CASK_BOVIN]	22.7	20.53%	15	3	3	7
Q95114	Lactadherin OS=Bos taurus GN=MFG8 PE=1 SV=2 - [MFGM_BOVIN]	76.95	43.09%	4	15	15	24
P80025	Lactoperoxidase OS=Bos taurus GN=LPO PE=1 SV=1 - [PERL_BOVIN]	39.96	21.35%	2	11	11	13
P24627	Lactotransferrin OS=Bos taurus GN=LTF PE=1 SV=2 - [TRFL_BOVIN]	141.68	56.21%	9	32	35	53
Q0P569	Nucleobindin-1 OS=Bos taurus GN=NUCB1 PE=2 SV=1 - [NUCB1_BOVIN]	43.66	36.08%	3	5	14	17
Q02818	Nucleobindin-1 OS=Homo sapiens GN=NUCB1 PE=1 SV=4 - [NUCB1_HUMAN]	32.48	29.72%	2	1	10	12
P31096	Osteopontin OS=Bos taurus GN=SPP1 PE=1 SV=2 - [OSTP_BOVIN]	22.68	24.82%	4	8	8	10
Q9TUM6	Perilipin-2 OS=Bos taurus GN=PLIN2 PE=2 SV=1 - [PLIN2_BOVIN]	46.96	43.33%	4	14	14	17
P26201	Platelet glycoprotein 4 OS=Bos taurus GN=CD36 PE=1 SV=5 - [CD36_BOVIN]	28.69	17.16%	3	6	6	10
P81265	Polymeric immunoglobulin receptor OS=Bos taurus GN=PIGR PE=2 SV=1 -	73.68	26.42%	2	16	16	25
O02853	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Bos taurus GN=PTGDS PE=1 SV=1 - [PTGDS_BOVIN]	11.62	7.33%	2	1	1	3
Q29443	Serotransferrin OS=Bos taurus GN=TF PE=2 SV=1 - [TRFE_BOVIN]	31.62	30.26%	6	14	15	16
P02769	Serum albumin OS=Bos taurus GN=ALB PE=1 SV=4 - [ALBU_BOVIN]	358.76	71.83%	22	44	44	117
P00761	Trypsin OS=Sus scrofa PE=1 SV=1 - [TRYP_PIG]	108.03	25.11%	3	5	5	24
Q3MHN5	Vitamin D-binding protein OS=Bos taurus GN=GC PE=2 SV=1 - [VTDB_BOVIN]	15.98	17.30%	1	6	6	6
P80457	Xanthine dehydrogenase/oxidase OS=Bos taurus GN=XDH PE=1 SV=4 - [XDH_BOVIN]	132.6	31.31%	7	33	33	44

Eiwitsamenstelling monster 2

Accession nr. Uniprot db	Description of the protein	Score	Sequence Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs
P12763	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Bos taurus GN=AHSG PE=1 SV=2 - [FETUA_BOVIN]	16.03	16.71%	2	4	4	4
Q9TSR4	Alpha-lactalbumin OS=Bos mutus grunniens GN=LALBA PE=2 SV=1 - [LALBA_BOSMU]	289.68	51.41%	2	1	8	121
P00711	Alpha-lactalbumin OS=Bos taurus GN=LALBA PE=1 SV=2 - [LALBA_BOVIN]	392.59	51.41%	3	3	10	145
P09462	Alpha-lactalbumin OS=Ovis aries GN=LALBA PE=1 SV=2 - [LALBA_SHEEP]	298.94	37.32%	3	2	8	123
P02662	Alpha-S1-casein OS=Bos taurus GN=CSN1S1 PE=1 SV=2 - [CASA1_BOVIN]	88.24	48.13%	4	11	11	25
P02663	Alpha-S2-casein OS=Bos taurus GN=CSN1S2 PE=1 SV=2 - [CASA2_BOVIN]	56.38	40.99%	3	8	8	16
P02754	Beta-lactoglobulin OS=Bos taurus GN=LGB PE=1 SV=3 - [LACB_BOVIN]	1700.87	86.52%	5	7	18	510
P67975	Beta-lactoglobulin OS=Ovis orientalis musimon GN=LGB PE=1 SV=1 - [LACB_OVIMU]	316.43	62.96%	4	3	14	158
P18892	Butyrophilin subfamily 1 member A1 OS=Bos taurus GN=BTN1A1 PE=1 SV=2 -	99.21	31.75%	3	15	15	27
P17697	Clusterin OS=Bos taurus GN=CLU PE=1 SV=1 - [CLUS_BOVIN]	14.49	15.03%	3	4	4	4
P00007	Cytochrome c OS=Hippopotamus amphibius GN=CYCS PE=1 SV=2 - [CYC_HIPAM]	13.4	27.62%	26	3	3	4
Q16T79	Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP1 homolog OS=Aedes aegypti	11.88	14.15%	1	1	1	3
P79345	Epididymal secretory protein E1 OS=Bos taurus GN=NPC2 PE=1 SV=1 - [NPC2_BOVIN]	12.46	33.56%	1	3	3	3
Q4TZH2	Fatty acid-binding protein, heart OS=Bos mutus grunniens GN=FABP3 PE=3 SV=3 -	29	67.67%	7	8	8	9
P80195	Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 OS=Bos taurus GN=GLYCAM1 PE=1	69.92	45.10%	4	9	9	21
P02668	Kappa-casein OS=Bos taurus GN=CSN3 PE=1 SV=1 - [CASK_BOVIN]	22.08	24.74%	15	4	4	7
Q95114	Lactadherin OS=Bos taurus GN=MFG8 PE=1 SV=2 - [MFGM_BOVIN]	77.58	44.50%	5	17	17	25
P80025	Lactoperoxidase OS=Bos taurus GN=LPO PE=1 SV=1 - [PERL_BOVIN]	24.56	18.12%	2	10	10	10
P24627	Lactotransferrin OS=Bos taurus GN=LTF PE=1 SV=2 - [TRFL_BOVIN]	188.77	48.87%	6	32	32	52
Q0P569	Nucleobindin-1 OS=Bos taurus GN=NUCB1 PE=2 SV=1 - [NUCB1_BOVIN]	37.75	34.81%	5	12	12	12
P31098	Osteopontin-K OS=Bos taurus PE=2 SV=1 - [OSTK_BOVIN]	13.23	11.91%	3	2	2	3
Q9TUM6	Perilipin-2 OS=Bos taurus GN=PLIN2 PE=2 SV=1 - [PLIN2_BOVIN]	34.31	34.00%	3	10	10	11
P26201	Platelet glycoprotein 4 OS=Bos taurus GN=CD36 PE=1 SV=5 - [CD36_BOVIN]	32.02	18.22%	5	7	7	10
P81265	Polymeric immunoglobulin receptor OS=Bos taurus GN=PIGR PE=2 SV=1 -	93.28	30.65%	2	16	16	25
O02853	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Bos taurus GN=PTGDS PE=1 SV=1 - [PTGDS_BOVIN]	10.25	7.33%	2	1	1	3
Q29443	Serotransferrin OS=Bos taurus GN=TF PE=2 SV=1 - [TRFE_BOVIN]	24.26	16.90%	1	10	10	10
P02769	Serum albumin OS=Bos taurus GN=ALB PE=1 SV=4 - [ALBU_BOVIN]	369.26	71.83%	23	45	45	106
P00761	Trypsin OS=Sus scrofa PE=1 SV=1 - [TRYP_PIG]	63.6	25.11%	3	4	4	14
Q3MHNS	Vitamin D-binding protein OS=Bos taurus GN=GC PE=2 SV=1 - [VTDB_BOVIN]	14.62	18.78%	2	6	6	6
P80457	Xanthine dehydrogenase/oxidase OS=Bos taurus GN=XDH PE=1 SV=4 - [XDH_BOVIN]	82.32	21.47%	14	22	22	27

Legenda resultaten

Eiwitsamenstelling

Accession nummer Uniprot db

Gedetecteerde eiwitten zijn vermeld in de Uniprot database (www.uniprot.org).
Via het accession nummer is meer informatie te verkrijgen omtrent het desbetreffende eiwit.

Score

Eiwit identificatie score

Sequence coverage

Geeft aan welk percentage van de aminozuursequentie van het eiwit gedetecteerd is.

proteins

Geeft aan hoeveel verschillende isovormen van het eiwit bekend zijn.

unique peptides

Geeft aantal gevonden unieke peptides per eiwit aan.

#peptides en #PSM

Technische variabelen van het instrument en de meting

Aminozuursamenstelling

#1

monster 1

#2

monster 2

gem. duplo nr. 1

gemiddelde waarde van de duplo metingen van monster 1

gem. duplo nr. 2

gemiddelde waarde van de duplo metingen van monster 2

Conc μM

Concentratie van het aminozuur in micromolair

$\mu\text{g AZ}/2 \text{ mg monster}$

Aantal microgram van het aminozuur per 2 milligram monster

$\text{mg AZ}/100 \text{ g monster}$

Aantal milligram van het aminozuur per 100 gram monster

Interpretatie resultaten

Eiwitsamenstelling

Eiwitsamenstelling van monster 1 en monster 2 zijn vrijwel gelijk. Enige verschil is beta casein (P02666) in monster 1 en clusterin (P17697) in monster 2. Op basis van de informatie vanuit de Uniprot database is het grootste deel van de geïdentificeerde eiwitten bekend als melkeiwit, danwel gesecreteerd eiwit. Beide type eiwitten zijn te verwachten in preparaten waarvan wei een belangrijk ingrediënt is, zoals bij monster 1 en 2. Twee eiwitten, beide aanwezig in zowel monster 1 als in monster 2, zijn opmerkelijk: Cytochrome C (P62894) en Fatty acid binding protein (Q4TZH2). Deze twee eiwitten staan niet bekend als gesecreteerde eiwitten maar als intracellulaire eiwitten.

Opmerking: trypsin (P00761) in beide monsters is afkomstig van het enzym porcine trypsine welke gebruikt wordt voor de digestie van eiwitten. Aangezien trypsine zelf ook een eiwit is, wordt dit ook (deels) in peptiden geknipt waardoor trypsin als eiwitidentificatie in de resultaten naar voren komt.

Aminozuursamenstelling

De aminozuursamenstelling van monster 1 zoals geïdentificeerd komt overeen met de aminozuren aangegeven op het etiket van de verpakking. Bij monster 2 is geen melding gemaakt van de aminozuursamenstelling, echter op basis van de meting kan geconcludeerd worden dat de aminozuren zoals aangegeven op het etiket van de verpakking van monster 1 ook aanwezig zijn in monster 2. Waarbij aangegeven dat de gevonden aminozuurconcentraties in monster 2 lager liggen dan bij monster 1.

Naast de aangegeven aminozuren van monster 1 zijn in dit monster ook taurine, asparagine, sacrosine, beta-alanine en ethanolamine gevonden. Bij monster 2 zijn dit: taurine, beta-alanine, ethanolamine, delta-aminolevulinezuur en hydroxylysine.

Taurine, asparagine, sacrosine, beta-alanine zijn natuurlijk voorkomende aminozuren. Hydroxylysine wordt gevormd door hydroxylatie van natuurlijk voorkomend lysine. Delta-aminolevulinezuur is een product van natuurlijk voorkomend glycine en succinyl-CoA. Ethanolamine is de kopgroep van natuurlijk voorkomende fosfolipiden.

Opmerking: De aangegeven hoeveelheden milligrammen aminozuren per 100 gram monster liggen bij monster 1 ongeveer 20% lager dan op het etiket vermeld is. Dit is te verklaren door de uitgevoerde procedure waarbij een verlies van ongeveer 15-20% te verwachten is.