

Электрофоретические методы изучения белковых систем

Канд. техн. наук **А.Г. КРУЧИНИН**
ВНИИ молочной промышленности
А.В. БИГАЕВА, Е.Г. ЛАЗАРЕВА
ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова
Д-р биол. наук **Р.Р. ВАФИН,**
И.Ю. МИХАЙЛОВА, И.И. АГЕЙКИНА
ВНИИ пивоваренной, безалкогольной
и винодельческой промышленности –
филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова»

Под качеством пищевой продукции следует понимать совокупность ее характеристик, соответствующих заявленным требованиям и включающих безопасность, потребительские свойства, энергетическую и пищевую ценность, аутентичность, способность удовлетворять потребности человека в пище при обычных условиях использования в целях обеспечения сохранения здоровья [1].

Сегодня проблема обеспечения людей пищевыми продуктами принимает принципиально новые форматы в связи с прогнозируемым увеличением численности населения планеты и, как следствие, ростом потребления продуктов питания. Одновременно с этим существенно видоизменяются классические принципы переработки сельскохозяйственного сырья и производства пищевых продуктов, в том числе логистика хранения товаров, прямо или опосредовано влияющие на увеличение сроков годности изначально скоропортящейся продукции. Актуализируется комплекс задач, связанных с идентификацией продуктов, унификацией оценочных критериев с объективными принципами расширения области их применения, модификацией традиционных технологий, потенциал которых не предполагает бесконечного тиражирования, разработкой функциональных продуктов питания с перспективой перехода на персонализированные рационы [2–4].

Расширение области оценочных критериев предполагает разработку и внедрение новых экспериментальных методов анализа показателей качества, безопасности и идентификационных признаков сырья и готовой продукции, а также совершенствование отработанных клас-

сических методик. Причем для осуществления достоверного анализа сложные многокомпонентные пищевые системы необходимо разделять на составляющие, нивелируя влияние отдельных компонентов друг на друга [5].

Цель работы – анализ применения электрофоретических методов в изучении белковых систем как наиболее информативных мишеней идентификационных признаков сырья и продуктов его переработки, нередко предопределяющих их качество и безопасность.

К широко изученным и применяемым в пищевой промышленности относятся разновидности электрофоретических методов анализа, основанных на простом разделении в постоянном электрическом поле молекул разного заряда и размеров. Они чаще используются при изучении белковых смесей и нуклеиновых кислот, так как достаточно просты в исполнении и не требуют больших экономических затрат на переоборудование лаборатории [6].

Существуют разные классификации электрофоретических методов (см. рисунок) [6]. На электрофоретическую подвижность заряженных молекул белка влияют такие факторы, как суммарный заряд, размер и форма. На величину заряда влияет соотношение кислотных и основных ионных групп в молекулах, что, в свою очередь, определяется ионной силой среды и pH, аминокислотным составом протеина [6, 7].

Важным этапом развития электрофоретических методов стала разработка носителей жидкой фазы – полимеров, которые послужили каркасом для буфера и стали решением проблемы конвекции разделяемых зон. Наибольшее распространение среди них получил химически инертный и прочный полиакриламидный гель (ПААГ). Данный полимер позволяет получать более полное и четкое разделение анализируемых веществ при изменении концентрации геля и состава буферных растворов благодаря варьированию габаритов пор и градиента pH. Для получения более точного результата используют вспомогательные анионные детер-

генты, например додецилсульфат натрия (SDS). Комплекс данного детергента с белком имеет одинаковый заряд, благодаря чему разделение молекул происходит только по их размеру [6, 7].

Применение гель-электрофореза дает точные результаты в идентификации белковых компонентов в животноводческой продукции. Данный метод анализа позволяет выявлять фальсификацию пищевых продуктов (включенные белозаменяющих ингредиентов) и определять видовую принадлежность сырья животного и растительного происхождения в многокомпонентной продукции [7].

В последние годы в силу недобросовестной конкуренции производителей потребитель все чаще сталкивается с фальсификацией молока и молочных продуктов и сопутствующей этому проблемой недостоверной маркировки готовой продукции. В лаборатории НОЦ «КТИПП» проведены исследования, подтверждающие способность денатурирующего электрофореза в ПААГ качественно выявлять следы восстановленного молока в цельном. Метод обладает простой пробоподготовкой и не требует дорогостоящего оборудования в отличие от эксклюзивной жидкостной хроматографии [8].

В этой же лаборатории апробирован метод свободного электрофореза для выявления фальсификации сухих концентратов молочных белков более дешевыми белками молочной сыворотки. Эксперимент выполнен на камере для вертикального электрофореза «MINI-PROTEAN». В исследованных образцах определены абсолютные значения фракций сывороточных белков и казеина, на основании которых рассчитано их процентное содержание [9].

В ЯГИКСПП разработан ГОСТ Р 53761–2009 «Молоко. Идентификация белкового состава электрофоретическим методом в полиакриламидном геле», утвержденный Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии от 1 января 2011 г. Документ распространяется на сырое молоко и позволяет идентифицировать в его соста-

Классификация электрофоретических методов



и белки молочного и немолочного происхождения. Также в институте разработан ГОСТ 33528–2015 «Молоко и молочные продукты. Идентификация белкового состава электрофоретическим методом в полиакриламидном геле», утвержденный Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации от 1 июля 2016 г. Стандарт распространяется как на сырое коровье молоко, так и молочные продукты, изготавливаемые из коровьего молока, такие как молоко питьевое пастеризованное, творог (за исключением сычужного), включая сметану. Метод позволяет по результату обнаружения белков немолочного происхождения в молоке и молочных продуктах делать вывод об их фальсификации.

Глобальной проблемой современности являются аллергические реакции на различные компоненты пищевых систем, среди которых лидирующие позиции занимают белковые фракции молока. В борьбе с проявлениями аллергии наиболее действенным является исключение аллергена из рациона питания и его замена достойными аналогами. К примеру, в случае высокоаллергенного коровьего молока заменой может служить гипоаллергенное козье молоко, которое сегодня часто фальсифицируется. Не стоит забывать о возможном нанесении ущерба здоровью человека при отсутствии досто-

верной информации относительно свойств и происхождения гипоаллергенных продуктов [1, 8].

Для идентификации видовой принадлежности молока применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), методы иммунохимии, молекулярно-генетический анализ, а также различные виды электрофореза [5, 6, 10].

Нативный электрофорез сывороточных белков позволяет эффективно определять подлинность козьего молока. При этом важным этапом получения достоверного результата является удаление казеина из исследуемых образцов молока с помощью кислотного осаждения. Таким образом неосажденными остаются только сывороточные белки, электрофоретическая подвижность которых у коровьего и козьего молока заметно отличается. Однако данный анализ уступает по скорости и точности оценки методу ВЭЖХ [10].

К современным электрофоретическим методам анализа относятся диск-электрофорез в полиакриламидном геле и капиллярный электрофорез. На основе метода капиллярного электрофореза во ВНИМИ разработан и утвержден ГОСТ 33500–2015 «Молоко и молочные продукты. Определение содержания фосфатов». Данный метод позволяет выявлять фосфаты, внесенные в молоко с целью его стабилизации [5].

В пищевой промышленности используются капиллярные электромиграционные методы, в том числе гибридные, такие как мицеллярная электрокинетическая капиллярная хроматография (Micellar Electrokinetic Chromatography, МЕКС) [11]. Согласно научным данным, капиллярный электрофорез в разном исполнении успешно апробирован [12]:

- для выявления аллергенов в детском питании методом капиллярного электрофореза с лазерно-индуцированной флуоресценцией (CE-LIF) с применением дериватизации (обработки анализируемого образца специфическими химическими реагентами);
- анализа образцов красного вина и фруктовой патоки на предмет образования биогенных аминов методом электрокинетической капиллярной хроматографии с лазерно-индуцированной флуоресценцией (МЕКС-LIF);
- анализа содержания гистамина, 2-фенилэтиламина и тирамина в образцах красного вина автоматизированным сочетанием методов капиллярного изотахофореза с капиллярным зональным электрофорезом (ITP-CZE-UV).

Применение электрофоретических методов широко распространено в ДНК-аутификации, позволяющей опосредованно определять видовую принадлежность сырьевых ингредиентов, а в некоторых случаях в рамках единых систем мониторинга – их географическое место происхождения. Высокая разрешающая способность электрофоретических методов, интегрированных в молекулярный анализ протеин-кодирующих генов, позволяет получить информацию о транскрибируемых белковых системах [13].

Во ВНИМИ инициированы исследования по разработке молекулярно-генетических и биоинформационных систем оценки технологических свойств молока, а также идентификации видовой принадлежности молока и сырьевого состава молочной продукции.

Таким образом, систематизация научно-методических подходов к изучению белковых систем и ассоциированных с ними протеин-кодирующих генов указывает на актуальность данного направления и перспективность его интеграции в методологии рутинных анализов. Исследования по совершенствованию молекулярно-генетических и биоинформационных систем оценки технологических свойств молока, идентификации видовой принадлежности молока и

сырьевого состава молочной продукции, в том числе с применением электрофоретических методов, имеют важное научно-практическое значение с перспективой внедрения разработок в систему менеджмента качества и надзора за оборотом фальсификата.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Хуршудян, С.А.** Качество пищевых продуктов. Термины, определения и противоречия/ С.А.Хуршудян, А.Г.Галстян// Контроль качества продукции. 2018. № 1. С. 48–49.
- Oganesyants, L.A.** Base matrices – invariant digital identifiers of food products/ L.A.Oganesyants [et al.]/ *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Series of Geology and Technical Sciences*. 2018. № 6. P. 6–15. DOI: 10.32014/2018.2518-170X.30.
- Зобкова, З.С.** Кисломолочные продукты как составляющая функционального питания/ З.С.Зобкова [и др.]/ Молочная промышленность. 2019. № 2. С. 44.
- Торкова, А.А.** Рациональный дизайн ферментных композиций для получения функциональных гидролизатов сывороточных белков коровьего молока/ А.А.Торкова [и др.]/ *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017. Т. 53. № 6. С. 580–591.
- Юрова, Е.А.** Разработка методик измерений на основе высокоэффективных методов анализа/ Е.А.Юрова, Т.В.Кобзева, О.С.Полякова// *Переработка молока*. 2016. № 5 (199). С. 6–9.
- Стручкова, И.В.** Теоретические и практические основы электрофореза белков в полиакриламидном геле: электронное учебно-методическое пособие/ И.В.Стручкова, Е.А.Кальясова. – Нижний Новгород: Нижегородский государственный университет, 2012. – 60 с.
- Бабак, А.А.** Использование вертикального гель-электрофореза для идентификации белковых компонентов в мясомолочной продукции/ А.А.Бабак, З.Е.Егорова// *Научные стремления*. 2016. № 20. С. 168–172.
- Просеков, А.Ю.** Использование денатурирующего электрофореза для определения качества питьевого молока/ А.Ю.Просеков, О.О.Бабич, О.В.Мудрикова// *Достижения науки и техники АПК*. 2010. № 2. С. 70–72.
- Смирнова, И.А.** Изучение фракционного состава молочно-белковых концентратов с целью их применения в производстве молочных продуктов/ И.А.Смирнова, Н.Ю.Гутов, А.В.Юрташкина// *Техника и технология пищевых производств*. 2017. Т. 45. № 2. С. 69–74.
- Симоненко, С.В.** Методы идентификации женского, козьего и коровьего молока/ С.В.Симоненко [и др.]/ *Труды Белорусского государственного университета. Серия Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем*. 2009. Т. 4. № 2. С. 256–260.
- Комарова, Н.В.** Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ»/ Н.В.Комарова, Я.С.Каменцев. – СПб.: ООО «Веда», 2006. – 212 с.
- García-Sañas, V.** Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics/ V.García-Sañas [et al.]/ *Electrophoresis*. 2014. V. 35(1). P. 147–169. DOI: 10.1002/elps.201300315.
- Oganesyants, L.** Prospects for DNA authentication in wine production monitoring/ L.Oganesyants [et al.]/ *Foods and Raw Materials*. 2018. V. 6. № 2. P. 438–448. DOI: 10.21603/2308-4057-2018-2-438-448.

реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама ***

ПЛУНЖЕРНЫЕ ГОМОГЕНИЗАТОРЫ, ДИСПЕРГАТОРЫ И КОЛЛОИДНЫЕ МЕЛЬНИЦЫ ДЛЯ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ



ООО «ТЕХНОЛОГИЯ»
109382, Москва,
Егорьевский проезд, д. 3А, стр. 1
Телефоны: 8 (800) 600-47-69,
8 (963) 786-42-29.
E-mail: aleks-podrezov@yandex.ru
www.newhomogenizer.ru

Гарантийный срок
на оборудование 24 месяца

НАШЕ ОБОРУДОВАНИЕ СОЗДАЕТ ЛУЧШИЕ ПРОДУКТЫ