

ГЛИКОМАКРОПЕПТИДЫ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ФАЛЬСИФИКАЦИИ СУХОГО ОБЕЗЖИРЕННОГО МОЛОКА

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Елена Ивановна Мельникова^{1,2}, д-р техн. наук., профессор кафедры технологии продуктов животного происхождения, начальник отдела технологического контроля и развития

Екатерина Борисовна Станиславская¹, д-р техн. наук., профессор кафедры технологии продуктов животного происхождения
E-mail: tereshkova-katia@yandex.ru

Светлана Александровна Кузнецова², аспирант кафедры технологии продуктов животного происхождения

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж

²Молочный комбинат «Воронежский», г. Воронеж

Широко распространенным ингредиентом для различных отраслей пищевой промышленности является сухое молоко. Серьезную проблему при использовании сухого молока, прежде всего обезжиренного (СОМ), представляет его фальсификация молочной сывороткой. Одним из перспективных способов обнаружения примесей сыворотки в сухом молоке является определение наличия в его составе гликомакропептидов. Уникальными характеристиками гликомакропептидов являются присутствие гликозилированных гетерогенных углеводных цепей, во многом определяющих их биологические и функциональные свойства. Колориметрический и флуориметрический методы обнаружения гликомакропептидов основаны на присутствии в их структуре остатков сиаловой кислоты. В статье проанализированы различные методы определения гликомакропептидов: метод электрофореза в полиакриламидном геле и капиллярный электрофорез, иммунологические, биосенсорные и хроматографические методы. Отмечены их преимущества и недостатки, в том числе – при определении присутствия гликомакропептидов в сухом обезжиренном молоке. Разработка универсального метода идентификации гликомакропептидов в качестве показателя, подтверждающего фальсификацию сухого молока, является актуальной задачей, требующей дальнейших исследований и практической реализации.

Ключевые слова: сухое обезжиренное молоко, гликомакропептиды, фальсификация, сыворотка, методы исследований

Для цитирования: Мельникова, Е. И. Гликомакропептиды как показатель фальсификации сухого обезжиренного молока / Е. И. Мельникова, Е. Б. Станиславская, С. А. Кузнецова // Молочная промышленность. 2024. № 5. С 38–41. <https://www.doi.org/10.21603/1019-8946-2024-5-11>

ВВЕДЕНИЕ

Широко распространенным ингредиентом для различных отраслей пищевой промышленности является сухое обезжиренное молоко. Оно характеризуется высокой хранимоспособностью и позволяет осуществлять выпуск социально значимой продукции в независимости от регионального расположения и времени года. В последнее время в России наблюдается существенный рост производства и применения сухого обезжиренного молока. Так, в 2022 г. объемы выпуска его составили более 100 тыс. т, что на 16 % превысило соответствующие показатели 2021 г.¹

Серьезную проблему при использовании сухого молока, прежде всего обезжиренного (СОМ), представляет его фальсификация. Экономически выгодным, и в то же время сложно идентифицируемым, является присутствие подсырной сыворотки в СОМ. На сегодняшний день нормативное законодательство РФ не предусматривает решение данной проблемы. Исследование массовой доли белка в СОМ по ГОСТ 25179-2014 не учитывает фракционный состав молока. Определение соотношения казеин/сывороточ-

ные белки также не позволяет с точностью установить факт фальсификации, поскольку не является постоянным в молоке и зависит от целого ряда факторов.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКОМАКРОПЕПТИДОВ

Одним из перспективных способов обнаружения примесей сыворотки в сухом молоке является определение наличия в его составе гликомакропептидов. Казеино-макропептид или гликомакропептид представляет собой С-концевой остаток κ -казеина, который высвобождается химозином в процессе сычужного свертывания при производстве сыра (рис. 1)².

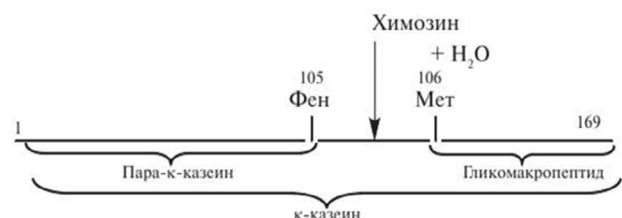


Рисунок 1. Образование гликомакропептида в процессе сычужной коагуляции

¹О ситуации на российском рынке сухого молока в 2023 году [Электронный ресурс].

URL: <https://ab-centre.ru/news/o-situacii-na-rossijskom-rynke-suhogo-moloka-v-2023-godu>



Источник изображения: freerik.com

из таких методов основан на реакции сиаловой кислоты с тиабарбитуровой [4]. Сущность другого – кислая реакция с нингидрином с последующим спектрофотометрическим определением сиаловой кислоты. Флуориметрический метод включает периодатное окисление сиаловой кислоты до формальдегида с последующей оценкой по реакции Ганча, в которой образуется флуоресцентное соединение [5]. Представленные методы неспецифичны, и на их результат существенное влияние могут оказывать примеси [6, 7].

Электрофорез в полиакриламидном геле. С применением данного метода удастся обнаружить тример 20,8 кДа в образцах с предположительным присутствием гликомакропептидов. Авторы методики [10] утверждают, что она является чувствительной при обнаружении фальсификации молока путем добавления сыворотки на уровне более 1 %. Однако она требует длительной пробоподготовки, а также характеризуется низкой специфичностью, так как гликомакропептиды детектируются в виде тримера, который не отделим от κ -казеина.

Капиллярный электрофорез. Описано обнаружение пика гликомакропептидов с применением данного метода [9]. Однако широкого распространения он не получил, ввиду затрудненной интерпретации результатов, а также технической сложности самого метода.

Хроматографические методы. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с использованием различных детекторов является наиболее перспективным методом разделения и количественной оценки белков молока, поскольку сочетает в себе универсальность и короткое время анализа. Работа в этом направлении была инициирована Van Nooydonk и Olijeman [10], которые описали гельпроницающую ВЭЖХ как быстрый и чувствительный метод мониторинга действия химозина в молоке. Другие исследователи использовали этот метод уже для обнаружения и оценки присутствия сухих веществ подсырной сыворотки в сухом обезжиренном молоке. Позже Kawasaki и др. [11] описали метод определения гликозилированных и негликозилированных гликомакропептидов с помощью эксклюзионной хроматографии. Преимущество описанного метода заключалось в том, что он позволяет идентифицировать гликомакропептиды по углеводной составляющей без предварительной обработки образцов молока трихлоруксусной кислотой.

Иммунологические методы. Основаны на выработке антител к гликомакропептидам, которые затем используются в визуализации реакции антиген-ан-

титело. Хотя иммунологическим методам приписывают высокую специфичность, они дают ложноположительные результаты, если в образце присутствует даже следовое количество *κ*-казеина [12, 13].

Биосенсоры. Haasnoot и др. [14] для обнаружения присутствия сыворотки в сухом молоке разработали биосенсор на основе поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Авторы использовали биосенсоры Biacore (Biacore AB, Упсала, Швеция), показавшие себя как надежные аналитические инструменты для автоматизированного иммунохимического определения присутствия сыворотки в молоке. Однако значительная стоимость биосенсоров препятствует их широкому применению в лабораториях по контролю пищевых продуктов.

Выводы

Разработанные к настоящему времени методы обнаружения примесей подсырной сыворотки в сухом молоке с использованием гликомакропептидов в качестве маркера не нашли широкого применения в рутинной практике. Некоторые из них характеризуются сложностями в пробоподготовке и реализации, другие сопровождаются дорогостоящим приборным оформлением. Кроме того, применение высокочувствительных методов часто приводит к получению ложноположительных результатов, ввиду присутствия нативных гликомакропептидов в молоке. Разработка универсального метода идентификации гликомакропептидов в качестве показателя, подтверждающего фальсификацию сухого молока, является актуальной задачей, требующей дальнейших исследований и развития. ■

GLYCOMACROPEPTIDES AS INDICATOR OF FAKE SKIM MILK POWDER

Elena I. Melnikova^{1,2}, Ekaterina B. Stanislavskaya¹, Svetlana A. Kuznetsova²

¹Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh

²Voronezh Dairy Plant, Voronezh

REVIEW ARTICLE

Milk powder is a popular ingredient in various branches of the food industry. However, skim milk powder is often made of whey, which classifies as food fraud. Glycomacropeptide analysis can detect whey in milk powder. The biological and functional properties of glycomacropeptides depend on glycosylated heterogeneous carbohydrate chains. The colorimetric and fluorimetric method of detecting glycomacropeptide analysis relies on detecting sialic acid. The article describes the advantages and disadvantages of such methods of glycomacropeptide tests as polyacrylamide gel or capillary electrophoresis, as well as immunological, biosensor, and chromatographic methods. A universal glycomacropeptide test that could detect whey in milk powder remains an urgent task that requires further research and practical implementation.

Keywords: skim milk powder, glycomacropeptides, adulteration, whey, research methods

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Ельчанинов, В. В.** Номенклатура и свойства белков молока коровы (*Bos taurus*): монография / В. В. Ельчанинов. – Барнаул: Изд-во Алт. гос. ун-та, 2022. – 300 с.
2. **Sharma, N.** Chemical and functional properties of glycomacropeptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review / N. Sharma [et al.] // *Dairy Science and Technology*. 2013. № 93(1). P. 21–43. <https://doi.org/10.1007%2Fs13594-012-0095-0>
3. **Eigel, W.** Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision / W. Eigel [et al.] // *Journal of Dairy Science* 1984. Vol. 67. Iss. 8. P. 1599–1631. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81485-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81485-X)
4. **Koning, P.** A method for the detection of small percentages of whey powder in milk powder / P. Koning, J. Elisses, H. De Vries // *Netherlands milk and dairy journal*. 1966. № 20(3). P. 203–212.
5. **Neelima.** Direct estimation of sialic acid in milk and milk products by fluorimetry and its application in detection of sweet whey adulteration in milk / Neelima [et al.] // *Journal of Dairy Research*. 2012. № 79(4). P. 495–501. <https://doi.org/10.1017/s0022029912000441>
6. **Fukuda, S.** Aplicação do método da ninidrina ácida como teste de "screening" de plataforma para a detecção da adição de soro ao leite / S. Fukuda, S. Roig, L. F. Prata // *Ciênc Tecnol Aliment*. 1996. № 16. P. 52–56.
7. **Nakano, T.** Determination of sialic acid by the thiobarbituric acid reaction in sweet whey and its fractions / T. Nakano, L. Ozimek // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999. № 47. P. 2613–2616. <https://doi.org/10.1021/jf981077y>
8. **Galindo-Amaya, L. L.** Standardization of glycomacropeptide detection with SDS–PAGE as a milk adulteration index / L. L. Galindo-Amaya, E. Valbuena-Colmenares, E. Rojas-Villarreal // *Rev Cient. (Maracaibo)*. 2006. Vol. 16, № 3. P. 308–314.
9. **Recio, I.** Detection of rennet whey solids in UHT milk by capillary electrophoresis / I. Recio [et al.] // *International Dairy Journal*. 2000. Vol. 10. Iss. 5–6 P. 333–338. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00076-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00076-5)
10. **Van Hooydonk, A.** A rapid and sensitive high-performance liquid chromatography method of following the action of chymosin in milk / A. Van Hooydonk, C. Olieman // *Netherlands milk and dairy journal*. 1982. Vol. 36. P. 152–158.
11. **Kawasaki, Y.** pH-dependent molecular-weight changes of kappa-casein glycomacropeptide and its preparation by ultrafiltration / Y. Kawasaki [et al.] // *Milchwissenschaft*. 1993. № 48. P. 191–196.
12. **Chávez, N. A.** Detection of bovine milk adulterated with cheese whey by western blot immunoassay / N. A. Chávez [et al.] // *Food and Agricultural Immunology*. 2008. № 19. P. 265–272. <https://doi.org/10.1080/09540100802381042>
13. **Martín-Hernández, C.** Immunochromatographic lateral-flow test strip for the rapid detection of added bovine rennet whey in milk and milk powder / C. Martín-Hernández [et al.] // *International Dairy Journal*. 2009. Vol. 19. P. 205–208. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.016>
14. **Haasnoot, W.** Spreeta-based biosensor immunoassays to detect fraudulent adulteration in milk and milk powder / W. Haasnoot, G. R. Marchesini, K. Koopal // *Journal of AOAC International*. 2006. № 89. P. 849–855.