

УДК 543.066

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ БЕЛКОВ МОЛОКА КАК БИОМАРКЕРОВ ПРИ КОНТРОЛЕ СОСТАВА МОЛОЧНЫХ И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ**Е.А. Зверева, Н.И. Смирнова, О.Д. Гендриксон, А.В. Жердев, Б.Б. Дзантиев***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия*

Достоверная информация о составе продуктов питания является важным компонентом обеспечения пищевой безопасности. Многоступенчатость технологических процессов производства и мультикомпонентный состав конечных продуктов создают возможности для фальсификаций, которые могут быть связаны, например, с заменой основного сырья белок-содержащими добавками (соя, коллаген, белки молока и др.) или введением компонентов, не предусмотренных технологией. Для контроля состава на всех стадиях производства необходимы эффективные методы анализа, позволяющие идентифицировать отдельные ингредиенты. Решить эту задачу позволяет микропланшетный иммуноферментный анализ (ИФА), который обеспечен серийно производимым недорогим оборудованием и предоставляет количественные данные о содержании биомаркеров.

Разработаны тест-системы для детекции ряда основных белков молока: бета-лактоглобулина, альфа-лактальбумина, бычьего сывороточного альбумина. Интактные молочные белки и их гидролизаты широко используются в пищевой промышленности. Применение молочного сырья в качестве наполнителя при производстве мясной продукции (вареных колбас, сосисок, сарделек и др.) позволяет снизить себестоимость и улучшить органолептические свойства готового продукта. Поскольку молочные белки могут быть причиной сильных аллергических реакций, необходимость достоверной информации об их наличии в готовом мясном продукте не вызывает сомнения.

Для проведения анализа был реализован конкурентный ИФА, позволяющий детектировать белковые антигены, которые подверглись денатурации или частичной фрагментации в ходе технологической обработки. Анализ основан на конкурентном взаимодействии специфических антител с антигеном, потенциально содержащемся в тестируемой пробе, и антигеном, иммобилизованным в лунках микропланшета. Для достижения максимальной чувствительности анализа были оптимизированы концентрации антигенных белков при иммобилизации, концентрации специфических поликлональных антител, продолжительности стадий анализа. Пределы обнаружения бета-лактоглобулина, альфа-лактальбумина и бычьего сывороточного альбумина в оптимизированных условиях ИФА составила 6,8, 34 и 44 нг/мл, соответственно, а диапазоны определяемых концентраций – 23–1520, 80–2570 и 110–1670 нг/мл, соответственно. Показана возможность уменьшения времени проведения анализа со 150 до 90 мин посредством сокращения продолжительности конкурентной стадии и стадии взаимодействия с антивидовыми антителами, мечеными пероксидазой. Потерь в чувствительности и амплитуде сигнала при этом не наблюдалось.

Разработанные тест-системы были апробированы для определения целевых маркеров в молочных и мясных продуктах. Так, например, ИФА бета-лактоглобулина использовали для характеристики остаточной антигенности молока и молочных продуктов. Молочные образцы перед тестированием подкисляли 2 М HCl, инкубировали при комнатной температуре и центрифугировали при 13000 г. Относительная погрешность анализа составила 2,2 %. Пробоподготовка мясных продуктов включала измельчение, экстракцию 50 мМ К-фосфатным буфером, рН 7,4, содержащем 0,1 М NaCl, 0,05 % Тритон X-100, и центрифугирование при 7200 г. Показано, что разработанные методики позволяют выявлять бета-лактоглобулин, альфа-лактальбумин и бычий сывороточный альбумин в молочных и мясных продуктах, прошедших все стадии технологических обработок.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ИФА молочных продуктов) и Российского научного фонда, грант № 19–16–00108 (ИФА мясных продуктов).