

ОЦЕНКА ПОДЛИННОСТИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПЦР

О.Ю. Фоменко

ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», Москва, Россия

Фальсификация молока и молочных продуктов в результате замены или пропуска одного или нескольких ценных ингредиентов в процессе производства приводит к выпуску некачественного товара, потере идентичности продукта и недобросовестной конкуренции со стороны производителей, извлекающих экономическую выгоду из мошеннической маркировки состава пищевых продуктов [1]. В случае необходимости анализа пищевого сырья, в том числе – прошедшего термическую обработку, методы на основе ПЦР-технологий являются весьма привлекательными, благодаря своей высокой чувствительности и специфичности, возможности мультиплексирования, высокой скорости проведения анализа и его относительно низкой стоимости [2].

Использование прямой ПЦР позволяет исключить из анализа трудоёмкий и продолжительный процесс выделения ДНК, что приводит к дополнительному значительному сокращению времени и себестоимости проводимого анализа. Определение пригодности применения метода прямой ПЦР для оценки подлинности козьего молока были проведено с использованием модельных смесей козьего и коровьего молока, приобретённых на местном продовольственном рынке. Объёмная доля примеси коровьего молока в козьем составляла от 0 до 100 %. Для амплификации короткого диспергированного повтора (SINE), содержащегося в промоторном регионе гена α -лактоальбумина жвачных, была использована пара праймеров 5' – СACTGATCTTAAAGCTCAGGTT-3' (прямой) и 5' – TCAGA GTAGGCCACAGAAG-3' (обратный) [3]. Для проведения ПЦР был использован набор реагентов «2,5X Mas HFBL MIX-3510» (ПКЗАО «Диалат Лтд», Россия). В качестве матрицы использовалось 2 мкл смеси молока двух видов животных в конечном объёме реакционной смеси, равном 50 мкл. Программа амплификации состояла из начальной денатурации при 98 °С в течение 5 мин, 45 циклов вида 98 °С – 10 сек, 67,5 °С – 45 сек, 72 °С – 45 сек, и финальной элонгации при 72 °С в течение 10 минут.

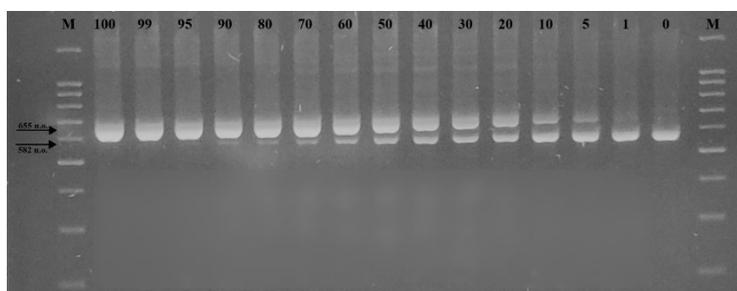


Рис. 1. Результаты прямой ПЦР для определения подлинности сырого козьего молока (100 – 0 – объёмная доля козьего молока в смеси, %; М – маркер блин ДНК «100+ bp DNA Ladder»).

составил 5 % (рис. 1).

Таким образом, метод прямой ПЦР позволяет производить быстрый и достоверный анализ возможной фальсификации козьего молока за счёт амплификации короткого диспергированного повтора промоторного участка гена α -лактоальбумина.

Литература

1. Azad T., Ahmed S. Common milk adulteration and their detection techniques // Food Contamination. – 2016. – Vol. 3. – article number 22. DOI: 10.1186/s40550-016-0045-3.
2. Böhme K., Calo-Mata P., Barros-Velazquez J., Ignacio Ortea I. Review of Recent DNA-Based Methods for Main Food Authentication Topics // J. Agric. Food Chem. – 2019. – Vol. 67 (14). – pp. 3854–3864. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b07016.
3. Cosenza G., Iannaccone M., Gallo D., Pauciullo A. A fast and reliable polymerase chain reaction method based on short interspersed nuclear elements detection for the discrimination of buffalo, cattle, goat, and sheep species in dairy products // Asian-Australas J Anim Sci. – Vol. 32, No. 6. – pp. 891–895. DOI: 10.5713/ajas.18.0459.