



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **124235** (13) **U**
(51) МПК

G01N 1/28 (2006.01)

G01N 1/30 (2006.01)

G01N 27/26 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2017 11104</p> <p>(22) Дата подання заявки: 13.11.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.03.2018</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.03.2018, Бюл.№ 6</p>	<p>(72) Винахідник(и): Юкало Володимир Глібович (UA), Крупа Ольга Миколаївна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ, вул. Руська, 56, м. Тернопіль, 46001 (UA)</p>
---	--

(54) СПОСІБ ЕКСПРЕС-ІДЕНТИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У МОЛОЧНИХ ПРОДУКТАХ

(57) Реферат:

Спосіб експрес-ідентифікації білків у молочних продуктах включає проведення анодного електрофорезу білкового комплексу на пластинах поліакриламідного гелю у присутності сечовини. Величину рН поліакриламідного гелю встановлюють на рівні 8,3, а його концентрацію - 3,3 %.

UA 124235 U

Корисна модель належить до молочної промисловості і може бути використана для визначення натуральності білкових молочних продуктів за складом протеїнового комплексу, а також ймовірної фальсифікації продукту білками не молочного походження.

5 Найбільш близьким технічним рішенням до запропонованого є спосіб анодного електрофорезу білкового комплексу на пластинах поліакриламідного гелю (ПААГ) у присутності сечовини [Dairy Chemistry and Biochemistry /P.F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P.L.H. McSweeney, J.A. O'Mahony. - Springer; 2nd ed., 2015. - 584 p.] (додається).

10 Недоліком даного способу є те, що ефективно виділення та ідентифікація білків характерне лише для казеїнового комплексу молока, а у випадку наявності білків не молочного походження (наприклад білків сої, бобових культур та ін.) даний спосіб втрачає свою ефективність у результаті недостатньої дезагрегуючої здатності використовуваних компонентів. Окрім того спосіб є досить довготривалим, проведення його становить до 7...9 год.

15 В основу корисної моделі поставлена задача розроблення способу швидкої ідентифікації складових білкового комплексу молочних продуктів, які можуть містити не характерні білкові компоненти.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб експрес-ідентифікації білків у молочних продуктах включає проведення анодного електрофорезу білкового комплексу на пластинах поліакриламідного гелю у присутності сечовини при величині рН поліакриламідного гелю на рівні 8,3 та його концентрації - 3,3 %.

20 Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю запропонованих ознак та очікуваним технічним результатом полягає у наступному.

Використання анодної системи електрофорезу в однорідному ПААГ дає можливість розділити всі фракції казеїнового комплексу молока за їх зарядами у відповідності із сучасною класифікацією, при цьому електрофорез проводять в апараті типу Страдієра на вертикальних пластинках ПААГ із концентрацією гелю 3,7...4,5 % та величиною рН - 7,9. Тривалість процесу при таких параметрах електрофорезу становить 7...9 год. Зазначені умови є ефективними для розділення білкових фракцій казеїнового комплексу молока, проте у випадку наявності сироваткових білків або ж білкових речовин не молочного походження у дослідних зразках може відбуватися погіршення якості та точності отриманих результатів електрофорезу. Причиною цього може бути здатність білкових речовин (сої, бобових, сироватки молока та ін.) утворювати аерогати з іншими складовими компонентами дослідних зразків.

35 З метою можливості використання анодної системи електрофорезу в однорідному ПААГ для молочних продуктів, які містять білки різного походження та скорочення часу проведення досліджень рекомендовано підвищити рН гелю до 8,3 та знизити концентрацію гелю до 3,3 %.

40 Підвищення рівня рН сприятиме посиленню дезагрегуючих властивостей системи та перешкоджанню утворення імовірних комплексів між білковими речовинами у дослідних зразках в процесі проведення електрофорезу. Встановлення величини рН для буфера ПААГ на рівні 8,3 забезпечують за рахунок лужного компонента буферної системи, що гарантує надійне розділення фракції білків різних видів та отримання достовірних результатів дослідження протеїнового комплексу молочних білкових продуктів із виявленням можливих фальсифікацій.

45 Вилучення зі складу буферу для гелю і зразків β -меркаптоетанолу не впливає на якість розділення, оскільки мінорні фракції, які містять залишки цистеїну (κ - і α_{S2} -казеїни), рухаються однією смугою. Скороченню тривалості електрофорезу також сприяє зменшення концентрації ПААГ до 3,3 % і неповне завершення процесу відносно лідерного барвника. Забарвлення при інтенсивному струшуванні достатньо проводити протягом 1,5 хв. При звичайному відмиванні гелю вже через 10-15 хв. можна ідентифікувати основні фракції казеїну. Якісні електрофоретичні грами для кількісного аналізу можна отримати через 90 хв. При необхідності можна використати електрофоретичне знебарвлення, що суттєво скоротить тривалість аналізу.

50 Застосування усіх цих змін дозволяє вже за 45 хв. ідентифікувати основні фракції білків у молочних продуктах.

Спосіб експрес-ідентифікації білків у молочних продуктах здійснюють таким чином. Молочні продукти (молоко питне, кисломолочні напої, сир сичужний та кисломолочний, сухі та згущені молочні консерви), які піддають аналізу, необхідно знежирити шляхом центрифугування (частота обертів 5000 об/хв) із попереднім розчиненням у буферній системі для зразків, що містить 6,6 М сечовини, 3,3 % ПААГ та 0,03 М трис-НСІ та забезпечує величину рН на рівні 8,3. Жирову фазу, яка виділилась у процесі центрифугування відокремлюють, а отриманим знежиреним розчином наповнюють електрофоретичні комірки ПААГ. Для створення різниці потенціалів до системи подають напругу 100...150В, при силі струму 35...50 мА, що забезпечує збереження структури білкових фракцій й унеможливує перегрівання гелю та руйнування чітких границь між фракціями. Тривалість електрофорезу становить близько 30 хв.

Короткочасне забарвлення до 1,5 хв. забезпечують амідочорним 10 Б або кумасі голубим. Відмивання незв'язаного барвника та отримання характерних електрофореграм для ідентифікації білків у зразку може бути проведене через 10...15 хв. У випадку необхідності проведення кількісного аналізу якісні електрофореграм и отримують через 90 хв.

5 Отримані електрофореграми досліджуваних молочних продуктів порівнюють із стандартними електрофореграмами для казеїну, сироваткових білків молока, білків сої та інших бобових культур, роблячи висновок про наявність тих чи інших видів білків у продукті.

Приклади здійснення способу експрес-ідентифікації білків у молочних продуктах наведено у таблиці.

10

Таблиця

№	Параметри електрофорезу			Якість отриманих електрофореграм
	pH гелю	Концентрація ПААГ, %	Тривалість процесу, хв	
1	7,9	4,5	70	Висока якість отриманих електрофореграм для ідентифікації білкових фракцій та проведення кількісного аналізу.
2	8,1	3,7	50	Задовільна якість отриманих електрофореграм для ідентифікації білкових фракцій.
3	8,3	3,3	30	Хороша якість отриманих електрофореграм для ідентифікації білкових фракцій у молочних продуктах.
4	7,9	3,3	40	Задовільна якість отриманих електрофореграм для ідентифікації білкових фракцій, деякі із меж між фракціями є не чіткими
5	8,7	3,3	30	Низька якість електрофореграм для ідентифікації білкових фракцій, відбувається змішування фракцій.

Технічний результат полягає у розробленні способу експрес-ідентифікації білків у молочних продуктах, який надає можливість за короткий проміжок часу встановити склад протеїнового комплексу та натуральність молока і білкових молочних продуктів (сирів сичужних і кисломолочних, кисломолочних напоїв, сухих та згущених молочних консервів).

15

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб експрес-ідентифікації білків у молочних продуктах, що включає проведення анодного електрофорезу білкового комплексу на пластинах поліакриламідного гелю у присутності сечовини, який **відрізняється** тим, що величину рН поліакриламідного гелю встановлюють на рівні 8,3, а його концентрацію - 3,3 %.

20

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601