

УДК [519.233.5:546.262.5]:637.14

DOI: 10.31040/2222-8349-2026-0-1-80-87

**КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЯ КАРБОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  
БЕЛКОВ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**

© Ю.А. Подольникова, В.Е. Высокогорский, Ю.Г. Розенфельд, О.Н. Титтель, Н.В. Стрельчик

Общими маркерами окисления белков как в тканях и клетках, так и в продуктах питания признаны карбонильные производные, определяемые методами с использованием динитрофенилгидразина (ДНФГ) R.L. Levine с соавт. Для выявления ранних и поздних маркеров окислительных модификаций белков проводится регистрация оптической плотности при различных длинах волн, однако отсутствует четкая градация длин волн, характерных для альдегидных производных (АДНФГ) и кетонов (КДНФГ). Для установления возможности повышения информационной значимости показателей спектрофотометрии определены корреляционные взаимоотношения между отдельными показателями карбонильных производных белков адаптированных молочных смесей.

Материалами исследования служили образцы адаптированных детских молочных смесей: «NAN EXPERT pro» (Нестле Дойчланд АГ), «Малютка» (АО «ДП «Истра-Нутриция»), «Nutrilon 2 Premium» (Nutricia), «Bellakt 0-12» (Волковыское, ОАО «Беллакт»), а также для сравнения – образцы ультрапастеризованного коровьего молока («Тёма», ОАО «Юнимилк», РФ). Уровень карбонильных соединений определяли по спектрам поглощения динитрофенилгидразонов, которые регистрировали на спектрофотометре UNICO 2800. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием корреляционно-регрессионного анализа.

Проведенный корреляционный анализ подтвердил значимость определения альдегид-динитрофенилгидразонов при длине волны 356 нм, а кетон-динитрофенилгидразонов – при 370 нм ультрафиолетовой части спектра. При этих длинах выявлена сильная статистически значимая прямая корреляционная связь между АДНФГ и КДНФГ в ультрапастеризованном молоке и всех исследуемых смесях. Кроме того, сильные прямые корреляции между АДНФГ и КДНФГ при спонтанном окислении установлены на длинах волн видимого спектра 428/434 и 430/434 нм.

Наличие аналогичных корреляционных связей адаптированных молочных смесей и ультрапастеризованного молока свидетельствует об отсутствии значительного воздействия дополнительных технологических факторов на процессы образования карбонильных соединений при спонтанном окислении. Однако в отличие от спонтанного окисления при металл-катализируемом окислении на длинах волн 356/370 нм сильная значимая корреляция установлена только по показателям ультрапастеризованного молока и смеси «NAN EXPERT pro», среди показателей других смесей корреляция статистически незначительна, что требует дальнейшего уточнения.

Привлекают внимание и результаты появления при металл-катализируемом окислении в белках всех молочных смесей, за исключением смеси «Малютка» и молока «Тёма», сильных значимых корреляций на длинах волн видимого спектра 428/535 нм (vs) и 430/535 нм (vs). Выяснение причин таких существенных различий в показателях корреляции отдельных смесей при различных длинах волн требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: карбонильные производные, окислительная модификация белков, альдегид-динитрофенилгидразоны, кетон-динитрофенилгидразоны, корреляция, металл-катализируемое окисление.

ПОДОЛЬНИКОВА Юлия Александровна – к.б.н., Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, e-mail: yua.podolnikova@omgau.org

ВЫСОКОГОРСКИЙ Валерий Евгеньевич – д.мед.н., Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, e-mail: ve.vysokogorskiy@omgau.org

РОЗЕНФЕЛЬД Юлия Геннадьевна, Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, e-mail: yug.rozenfeld06.06.01@omgau.org

ТИТТЕЛЬ Оксана Николаевна – к.б.н., Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, e-mail: on.lazareva@omgau.org

СТРЕЛЬЧИК Наталья Валерьевна – к.вет.н., Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, e-mail: nv.strelchik@omgau.org

**Введение.** Окислительный стресс вызывает значительные посттрансляционные модификации белков, проявляющиеся в разнообразных изменениях боковой цепи, а также в агрегации белковых структур или их фрагментации за счет расщепления пептидов [1, 2]. В пищевых системах эти химические изменения приводят к нарушению аминокислотного состава, функции и усвояемости белка и, соответственно, потере биологической и пищевой ценности продукта [3, 4].

Детальное исследование окислительной модификации белков позволило уточнить механизм реакций карбонилирования, которые протекают по различным направлениям. Принято считать, что образование карбонильных производных представляет свободнорадикальный процесс, но в настоящее время выделяют альтернативные пути карбонилирования. Если карбонильные производные образуются в результате окислительного повреждения непосредственно структуры белка, то их считают «первичными карбонилами», а если в результате активации окисления липидов – «вторичными карбонилами» белков [4, 5].

Среди различных вариантов первичного карбонилирования наиболее изучен путь, протекающий с участием свободных радикалов, которые могут образоваться в продуктах питания в результате фотоокисления, облучения, реакций с участием ионов металлов с переменной валентностью [6]. Активными источниками гидроксильных радикалов и других активных форм кислорода (АФК) являются реакции окисления, активируемые металлами (МКО) и известные как «путь Штатмана». Присутствующие в пище редокс-активные молекулы, такие как фенольные соединения и тиолы, способствуют образованию промежуточных радикалов и обеспечивают одноэлектронное восстановление ионов переходных металлов, впоследствии могут быть повторно окислены молекулярным кислородом. Другой вариант первичного образования карбонильных производных – это участие редуцирующих углеводов, которые вступают в реакцию с  $\epsilon$ -аминогруппами в белках, вызывая окислительное дезаминирование основных аминокислот и образование карбонильных производных белков. Оба пути окислительного повреждения белков приводят к образованию одинаковых продуктов их окисления. Если раньше при исследовании пищевых систем большинство авторов указывали на роль АФК в образовании карбонильных производных [7], то в последнее вре-

мя появились сообщения о преобладающей роли гликоокислации белков при наличии в продукте редуцирующих углеводов [5, 9]. Определенную роль в образовании вторичных карбонильных производных играет предшествующая активация свободно-радикального окисления липидов, продукты которого малоновый диальдегид (МДА), 4-гидрокси-2-ноненаль и другие. МДА имеет в своей структуре две альдегидные группы, что обуславливает его взаимодействие с аминокгруппами белков [4].

В понимании механизмов и альтернативных путей образования карбонильных производных в биологических образцах значительную роль играют хроматографические, спектроскопические и масс-спектрометрические методы, но для массовых индикаций интенсификации окислительных модификаций белков широко используется метод определения динитрофенилгидразонов (ДНФГ) R.L. Levine с соавт. [10]. Широкое распространение карбонильных производных в модифицированных белках и возможность их количественного определения стандартным методом с использованием динитрофенилгидразина позволяют считать карбонилы общими маркерами окисления белков как в тканях и клетках, так и в продуктах питания [7].

Авторы распространенного метода определения карбонилов рекомендуют измерять оптическую плотность при  $\lambda=370$  нм [10]. Однако динитрофенилгидразоны регистрируются в широком диапазоне волн как ультрафиолетового, так и видимого спектра от 230 до 535 нм. На различных длинах волн преобладает регистрация или альдегидных производных, или кетонов. Причем альдегид-динитрофенилгидразоны (АДНФГ) относят к ранним маркерам окислительной модификации, фрагментации белков, а кетон-динитрофенилгидразоны (КДНФГ) – к поздним маркерам агрегации белков [11]. Изменение соотношения альдегидных производных и кетонов наблюдается при различных патологических состояниях и стрессовых ситуациях. Для оценки их уровня в плазме крови и других биологических жидкостях предлагается измерять максимальную оптическую плотность на отдельных длинах волн [12]. Такой подход не позволяет количественно оценить уровень альдегидных производных и кетонов, так как на одних и тех же длинах волн определяются различные гидразоны. Для повышения возможности количественной оценки уровня различных

гидразонов предложен «Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях» с подсчетом площадей под кривой спектров поглощения от 230 до 535 нм [11]. Однако для широких скрининговых исследований необходимо уменьшение цифрового материала при сохранении достаточной информативной ценности. В то же время недостаточно данных о значении отдельных показателей спектрофотометрии и их взаимной корреляции для полной характеристики их информационной ценности.

Цель исследования – выявить значимые корреляции между отдельными показателями уровня карбонильных производных белков адаптированных молочных смесей.

**Материал и методы.** Исследованию подвергались смеси молочные сухие адаптированные: «NAN EXPERT pro» (Нестле Дойчланд АГ), «Малютка» (АО «ДП «Истра-Нутриция»), Nutrilon 2 Premium (Nutricia), «Bellakt 0-12» (Волковысское, ОАО «Беллакт»), а также образцы ультрапастеризованного коровьего молока («Тёма», ОАО «Юнимилк», РФ). Сухие порошки детских смесей растворяли в кипяченой питьевой воде согласно инструкции. Проанализировано по 6 образцов каждой смеси и ультрапастеризованного молока.

Содержание карбонильных производных белков оценивали по методу A.Z. Reznick, L. Parker в модификации Е.Е. Дубининой и соавт. [12], основанному на реакции взаимодействия карбонильных производных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием производных 2,4-динитрофенилгидразона. Спектры поглощения АДНФГ и КДНФГ регистрировали на спектрофотометре UNICO 2800 (United Products & Instruments, США). Интенсивность металл-катализированного окисления белков определяли после инкубации 0.2 мл исследуемого материала с 0.01 мл 10 мМ раствора FeSO<sub>4</sub> и 0.5 мл 0.3 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в течение 15 мин при 37 °С. Содержание АДНФГ определяли по оптической плотности в ультрафиолетовой части спектра на длинах волн 230, 254, 270, 280, 356 нм, а уровень КДНФГ – при 363 и 370 нм; в области видимого спектра АДНФГ – 428 и 430 нм, а КДНФГ – 434, 524, 530, 535 нм.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием корреляционно-регрессионного анализа.

После определения нормальности распределения сопоставляемых показателей проведен подсчет коэффициента корреляции Пирсона (r), определен критический уровень значимости (p).

**Результаты и их обсуждение.** При определении оптической плотности динитрофенилгидразонов (ДНФГ) в широком спектре ультрафиолетового и видимого света (от 230 до 535 нм) установлено, что показатели кетон-динитрофенилгидразонов на длинах близлежащих волн 363 и 370 нм практически одинаковы, как и на длинах 530 и 535 нм. Поэтому в таблицах представлены данные взаимосвязи только на длинах волн 370 нм ультрафиолетовой и 535 нм видимой части спектра. Для выявления информационной значимости показателей уровня карбонильных соединений проведено сравнение альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ) при 230, 254, 270, 280, 356 нм и одного маркера кетон-динитрофенилгидразонов (КДНФГ) на волне 370 нм ультрафиолетовой части спектра.

Значения коэффициентов корреляции маркеров карбонильных производных свидетельствуют об отсутствии значимых связей между показателями альдегидных производных аминокислот и кетонами при спонтанном окислении на всех исследуемых длинах волн, за исключением пары 356 и 370 нм. При этих длинах волн установлена сильная статистически значимая прямая корреляционная связь показателей карбонильных соединений белков ультрапастеризованного молока «Тёма» и всех адаптированных молочных смесей (табл. 1). Кроме того, при спонтанном окислении выявлена в молочной смеси «Малютка» сильная обратная связь при длинах волн 230 нм и 370 нм.

Аналогично показателям ультрафиолетового спектра в видимой части спектра установлена статистически значимая прямая связь высокой тесноты маркеров АДНФГ на длинах волн 428 и соседней 430 нм с данными КДНФГ на длине волны 434 нм. Эта корреляция наблюдалась в белках всех адаптированных смесей, за исключением молочной смеси «Bellakt 0-12», когда связь не является статистически значимой.

Существенно иная картина наблюдается при индукции окислительных процессов добавлением ионов железа и пероксида водорода по реакции Фентона. В результате отмечаются значимые отличия в разных смесях.

## Коэффициенты корреляции показателей карбонильных соединений адаптированных молочных смесей при спонтанном окислении

Длины волн \ Продукт	«Тёма»	«NAN EXPERT pro»	«Малютка»	«Nutrilon 2 Premium»	«Bellakt 0-12»
АДНФГ <sub>uv</sub> и КДНФГ <sub>uv</sub> *					
230/370	0.300 p=0.574	0.357 p=0.500	-0.877 p=0.035	0.052 p=0.924	-0.579 p=0.250
254/370	-0.468 p=0.367	-0.432 p=0.409	0.095 p=0.861	0.803 p=0.074	-0.166 p=0.758
270/370	-0.735 p=0.119	0.263 p=0.624	-0.787 p=0.084	0.479 p=0.355	-0.511 p=0.320
280/370	-0.160 p=0.767	-0.510 p=0.320	-0.143 p=0.791	0.714 p=0.134	-0.539 p=0.291
356/370	0.856 p=0.045	0.963 p=0.005	0.963 p=0.005	0.983 p=0.002	0.943 p=0.011
АДНФГ <sub>vs</sub> и КДНФГ <sub>vs</sub> *					
428/434	0.926 p=0.010	0.991 p=0.001	0.970 p=0.004	0.978 p=0.002	0.602 p=0.229
428/524	-0.160 p=0.767	0.617 p=0.215	0.541 p=0.288	0.669 p=0.170	0.353 p=0.505
428/535	0.028 p=0.959	0.424 p=0.418	0.492 p=0.340	0.481 p=0.353	0.263 p=0.624
430/434	0.975 p=0.002	0.992 p=0.001	0.985 p=0.001	0.995 p=0.0002	0.935 p=0.013
430/524	0.242 p=0.652	0.616 p=0.215	0.552 p=0.278	0.729 p=0.123	0.192 p=0.721
430/535	0.079 p=0.885	0.431 p=0.410	0.518 p=0.313	0.573 p=0.256	0.119 p=0.826

\* *Примечание:* АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; КДНФГ – кетон-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра.

Существенно больше выявлено значимых и сильных связей при металл-катализируемом окислении в видимой части спектра (табл. 2). Как и при спонтанном окислении, под действием активных форм кислорода в видимой части спектра установлена тесная значимая связь между данными при длинах волн 428, 430 нм маркеров АДНФГ и маркерами КДНФГ на соседней длине волны 434 нм. Обращает внимание факт, что такая сильная корреляционная связь наблюдается как среди показателей карбонильных соединений ультрапастеризованного молока, так и среди белков всех адаптированных смесей. Однако особый интерес представляют существенные различия показателей корреляции адаптированных смесей на других длинах волн. Так, в молочных смесях «Nutrilon 2 Premium» и «Bellakt 0-12» на одной и той же

длине волны (428 нм) – маркере АДНФГ, установлена сильная значимая прямая связь с маркерами КДНФГ, уровень которых регистрировали на значительно отстоящих друг от друга волнах (524 и 535 нм). В этих же двух смесях подтверждена сильная прямая значимая корреляция на длине волны 430 и 524 нм, в одном случае, и между 430 и 535 нм, в другом случае. Если в большинстве случаев выявлены прямые зависимости между показателями уровня карбонильных соединений, то в молочной смеси «NAN EXPERT pro» установлена обратная значимая сильная корреляция показателей АДНФГ на длинах волн 428 и 430 нм с данными КДНФГ (535 нм) (табл. 2).

Полученные данные подтверждают данные о наличии корреляционных связей между показателями альдегид-динитрофенилгидразонов и

кетон-динитрофенилгидразонов белков пастеризованного молока [13], молока-сырья и стерилизованного молока [14]. Аналогичные результаты получены и при корреляционном анализе показателей окислительной модификации белков кисломолочных продуктов [15]. Однако если значимая прямая корреляция показателей производных альдегидов и кетонов выявлена во всех четырех продуктах [15], то между альдегидами производных нейтрального и кетонами основного характера обнаружена обратная зависимость в сыром молоке, пастеризованном молоке и кефире, а в стерилизованном молоке, варенце и ряженке этой зависимости не обнаружено. Авторы объясняют эти различия корреляции чувствительностью показателей к температурным воздействиям и другими факторами технологического процесса.

Таким образом, подтверждено наличие взаимосвязи между отдельными показателями карбонильных производных белков молочных продуктов. Корреляционный анализ показателей окислительной модификации белков молока и кисломолочных продуктов во всех этих исследованиях проводился на общепринятых длинах волн альдегид-динитрофенилгидразонов 356 нм (uv) и 430 нм (vs), кетон-динитрофенилгидразонов – 370 нм (uv) и 530 нм (vs). Применение для корреляционного анализа широкого спектра длин волн позволило не только подтвердить сильную прямую корреляционную связь между показателями АДНФГ(356 нм) и КДНФГ(370 нм) ультрафиолетового спектра, но и выявить сильную прямую корреляцию между производными альдегидов (428 и 430 нм vs) и кетонов (434 нм vs) видимого спектра.

Т а б л и ц а 2

*Коэффициенты корреляции показателей карбонильных соединений адаптированных молочных смесей при металл-катализируемом окислении*

Продукт Длины волн	«Тёма»	«NAN EXPERT pro»	«Малютка»	«Nutrilon 2 Premium»	«Bellakt 0-12»
АДНФГ <sub>uv</sub> и КДНФГ <sub>uv</sub>					
230/370	0.207 p=0.700	-0.530 p=0.300	-0.523 p=0.307	-0.485 p=0.348	-0.078 p=0.885
254/370	0.028 p=0.959	0.728 p=0.124	-0.281 p=0.600	-0.142 p=0.793	0.908 p=0.022
270/370	0.376 p=0.477	0.677 p=0.163	0.556 p=0.273	-0.187 p=0.729	0.771 p=0.094
280/370	0.057 p=0.916	0.734 p=0.119	0.571 p=0.258	0.181 p=0.738	0.809 p=0.070
356/370	0.928 p=0.015	0.928 p=0.016	0.802 p=0.075	0.593 p=0.237	0.684 p=0.157
АДНФГ <sub>vs</sub> и КДНФГ <sub>vs</sub> *					
428/434	0.883 p=0.033	0.999 p=0.00001	0.998 p=0.00006	0.996 p=0.0002	0.999 p=0.00004
428/524	-0.092 p=0.865	-0.089 p=0.869	0.580 p=0.249	0.905 p=0.023	0.953 p=0.008
428/535	-0.294 p=0.582	-0.907 p=0.023	0.441 p=0.398	0.894 p=0.028	0.954 p=0.008
430/434	0.962 p=0.006	1.000 p=0.00001	0.998 p=0.0001	0.998 p=0.00007	0.999 p=0.00004
430/524	-0.198 p=0.713	-0.088 p=0.871	0.580 p=0.249	0.912 p=0.021	0.951 p=0.009
430/535	-0.351 p=0.508	-0.923 p=0.017	0.440 p=0.399	0.901 p=0.025	0.952 p=0.008

\* П р и м е ч а н и е: АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны; КДНФГ – кетон-динитрофенилгидразоны; uv – ультрафиолетовая область спектра; vs – видимая область спектра.

При сравнении результатов корреляционного анализа карбонильных соединений адаптированных смесей с литературными данными, следует отметить, что в предыдущих исследованиях установлено отсутствие корреляций при воздействии высоких температур белков стерилизованного молока, варенца и ряженки [13, 14, 15]. В отличие от этих данных, в адаптированных смесях при спонтанном окислении сохранены все корреляционные связи, аналогично пастеризованному молоку.

**Заключение.** Проведенный корреляционный анализ подтвердил значимость определения альдегид-динитрофенилгидразонов при длине волны 356 нм, а кетон-динитрофенилгидразонов при 370 нм ультрафиолетовой части спектра, рекомендуемых R.L. Levine с соавт. [10] и Е.Е. Дубининой [12]. Только при этих длинах выявлена сильная статистически значимая прямая корреляционная связь между АДНФГ и КДНФГ в ультрапастеризованном молоке и всех исследуемых смесях.

Наличие аналогичных корреляционных связей адаптированных молочных смесей и ультрапастеризованного молока свидетельствует об отсутствии значительного воздействия дополнительных технологических факторов на процессы образования карбонильных соединений при спонтанном окислении. Однако в отличие от спонтанного окисления при металл-катализируемом окислении на длинах волн 356/370 нм сильная значимая корреляция установлена только по показателям ультрапастеризованного молока и смеси «NAN EXPERT pro», среди показателей других смесей корреляция статистически незначительна, что требует дальнейшего уточнения.

Привлекают внимание и результаты появления при металл-катализируемом окислении в белках всех молочных смесей, за исключением смеси «Малютка» и молока «Тёма» сильных значимых корреляций на длинах волн видимого спектра 428/535 нм (vs) и 430/535 нм (vs). Выяснение причин таких существенных различий в показателях корреляции отдельных смесей при различных длинах волн требует дальнейшего изучения.

Полученные результаты могут служить основанием для разработки дополнительных биохимических критериев оценки интенсивности окислительной деструкции белков.

## Литература

1. Davies M.J. Protein oxidation and peroxidation // *Biochemical journal*. 2016. V. 473. № 7. P. 805–825. <https://doi.org/10.1042/BJ20151227>
2. Kehm R., Baldensperger T., Raupbach J., Höhn A. Protein oxidation-Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases // *Redox Biology*. 2021. V. 42. P. 101901. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101901>
3. Soladoye O.P., Juárez M.L., Aalhus J.L. Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2015. V. 14. № 2. P. 106–122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>
4. Estévez M., Díaz-Velasco S., Martínez R. Protein carbonylation in food and nutrition: a concise update // *Amino acids*. 2022. V. 54. № 4. P. 559–573. <https://doi.org/10.1007/s00726-021-03085-6>
5. Akagawa M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches // *Free Radical Research*. 2021. V. 55. № 4. P. 307–320. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>
6. Hellwig M. Analysis of protein oxidation in food and feed products // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020. V. 68. № 46. P. 12870–12885.
7. Estévez M. Protein carbonyls in meat systems: A review // *Meat science*. 2011. V. 89. № 3. P. 259–279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>
8. Luna C., Estévez M. Formation of allysine in  $\beta$ -lactoglobulin and myofibrillar proteins by glyoxal and methylglyoxal: Impact on water-holding capacity and in vitro digestibility // *Food chemistry*. 2019. V. 271. P. 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.167>
9. Luna C., Arjona A., Dueñas C., Estevez M. Allysine and  $\alpha$ -amino adipic acid as markers of the glyco-oxidative damage to human serum albumin under pathological glucose concentrations // *Antioxidants*. 2021. V. 10. № 1. P. 14. <https://doi.org/10.3390/antiox10030474>
10. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // *Methods in enzymology*. Academic Press. 1990. V. 186. P. 464–478.
11. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. Окислительная модификация белков тканей при изменении синтеза оксида азота. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 192 с.
12. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопросы медицинской химии*. 1995. Т. 41. № 1. С. 24–26.
13. Высокогорский В.Е., Загоруля И.П., Стрельчик Н.В. Взаимосвязь содержания различных продуктов окислительной деструкции белков молока // *Вестник Омского государственного аграрного университета*. 2016. № 2 (22). С. 208–212.

14. Высокогорский В.Е., Загоруля И.П. Зависимость уровня карбонильных производных белков молочных продуктов // Агротехнологии XXI века. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова. 2016. С. 17–20.

15. Загоруля И.П., Высокогорский В.Е., Лазарева О.Н., Мкртчян О.З. Корреляционный анализ показателей окислительной модификации белков молока и кисломолочных продуктов // Успехи современного естествознания. 2016. № 9. С. 20–23.

### References

1. Davies M.J. Protein oxidation and peroxidation // *Biochemical journal*, 2016, vol. 473, no. 7, pp. 805–825. <https://doi.org/10.1042/BJ20151227>

2. Kehm R., Baldensperger T., Raupbach J., Höhn A. Protein oxidation-Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases // *Redox Biology*, 2021, vol. 42, p. 101901. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101901>

3. Soladoye O.P., Juárez M.L., Aalhus J.L. Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015, vol. 14, no. 2, pp. 106–122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>

4. Estévez M., Díaz-Velasco S., Martínez R. Protein carbonylation in food and nutrition: a concise update // *Amino acids*, 2022, vol. 54, no. 4, pp. 559–573. <https://doi.org/10.1007/s00726-021-03085-6>

5. Akagawa M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches // *Free Radical Research*, 2021, vol. 55, no. 4, pp. 307–320. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>

6. Hellwig M. Analysis of protein oxidation in food and feed products // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, vol. 68, no. 46, pp. 12870–12885.

7. Estévez M. Protein carbonyls in meat systems: A review // *Meat science*, 2011, vol. 89, no. 3, pp. 259–279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>

8. Luna C., Estévez M. Formation of allysine in  $\beta$ -lactoglobulin and myofibrillar proteins by glyoxal and methylglyoxal: Impact on water-holding capacity and in vitro digestibility // *Food chemistry*, 2019, vol. 271, pp. 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.167>

9. Luna C., Arjona A., Dueñas C., Estevez M. Allysine and  $\alpha$ -amino adipic acid as markers of the glyco-oxidative damage to human serum albumin under pathological glucose concentrations // *Antioxidants*, 2021, V/10:1, p. 14. <https://doi.org/10.3390/antiox10030474>

10. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // *Methods in enzymology*. Academic Press, 1990, vol. 186, pp. 464–478.

11. Fomina M.A., Abalenikhina YU.V. Okislitel'naya modifikaciya belkov tkanej pri izmenenii sinteza oksida azota. Moscow: GEHOTAR-Media, 2018, 192 p.

12. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porotov G.E. Okislitel'naya modifikaciya belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredeleniya // *Voprosy medicinskoj khimii*, 1995, vol. 41, no. 1, pp. 24–26.

13. Vysokogorskiy V.E., Zagorulya I.P., Strel'chik N.V. Vzaimosvyaz' sodержaniya razlichnykh produktov okislitel'noj destrukcii belkov moloka // *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2016, no. 2 (22), pp. 208–212.

14. Vysokogorskiy V.E., Zagorulya I.P. Zavisimost' urovnya karbonil'nykh proizvodnykh belkov molochnykh produktov // *Agrotekhnologii XXI veka. Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii. Permskaya gosudarstvennaya sel'skokhozyajstvennaya akademiya imeni akademika D.N. Pryanishnikova*, 2016, pp. 17–20.

15. Zagorulya I.P., Vysokogorskiy V.E., Lazareva O.N., Mkrтчян O.Z. Korrelyacionnyj analiz pokazatelej okislitel'noj modifikacii belkov moloka i kislomolochnykh produktov // *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 2016, no. 9, pp. 20–23.

## CORRELATION ANALYSIS OF THE LEVEL OF CARBONYL DERIVATIVES OF DAIRY PROTEINS

© Yu.A. Podolnikova, V.E. Vysokogorskiy, Yu.G. Rosenfeld, O.N. Tittel, N.V. Strelchik

Omsk State Agrarian University Named After P.A. Stolypin,  
1, Institutskaya ploshchad', 644008, Omsk, Russian Federation

Carbonyl derivatives, determined by methods using dinitrophenylhydrazine (DNPH) R.L. Levine et al., are recognized as common markers of protein oxidation both in tissues and cells, and in food. To identify early and late markers of oxidative modifications of proteins, optical density is recorded at various wavelengths, but there is no clear gradation of wavelengths characteristic of aldehyde derivatives (ADNPH) and ketones (CDNPH).

To establish the possibility of increasing the informational significance of spectrophotometry indicators, the correlation relationships between individual indicators of carbonyl derivatives of proteins of adapted milk mixtures were determined.

The research materials were samples of adapted infant formulas: NAN EXPERT pro (Nestle Deutschland AG), Malyutka (JSC DP Istra-Nutricia), Nutrilon 2 Premium (Nutricia), Bellakt 0-12 (Volkovysk, JSC Bellakt), as well as for comparison -samples of ultra-pasteurized cow's milk (Tema, JSC Unimilk, Russian Federation). The level of carbonyl compounds was determined by the absorption spectra of dinitrophenylhydrazones, which were recorded on a UNICO 2800 spectrophotometer. Statistical processing of the obtained results was carried out using correlation and regression analysis.

The correlation analysis confirmed the importance of determining aldehyde-dinitrophenylhydrazones at a wavelength of 356 nm, and ketone-dinitrophenylhydrazones at 370 nm in the ultraviolet part of the spectrum. At these lengths, a strong statistically significant direct correlation was found between ADNPH and CDNPH in ultrapasteurized milk and all the studied mixtures. In addition, strong direct correlations between ADNPH and CDNPH during spontaneous oxidation have been established at the wavelengths of the visible spectrum of 428/434 nm and 430/434 nm.

The presence of similar correlations between adapted milk mixtures and pasteurized milk indicates that there is no significant effect of additional technological factors on the formation of carbonyl compounds during spontaneous oxidation. However, unlike spontaneous oxidation during metal-catalyzed oxidation at 356/370 nm wavelengths, a strong significant correlation was found only in terms of ultrapasteurized milk and NAN EXPERT pro mixtures, the correlation is statistically insignificant among the indicators of other mixtures, which requires further clarification.

The results of the appearance of strong significant correlations at the wavelengths of the visible spectrum of 428/535 nm(vs) and 430/535 nm(vs) during metal-catalyzed oxidation in the proteins of all milk mixtures, with the exception of Malyutka and Tema milk, also attract attention. Finding out the reasons for such significant differences in the correlation indices of individual mixtures at different wavelengths requires further study.

Keywords: carbonyl derivatives, oxidative modification of proteins, aldehyde-dinitrophenylhydrazones, ketone-dinitrophenylhydrazones, correlation, metal-catalyzed oxidation.