

Молекулярные методы аутентификации молочного сырья в сыре: обзор

Алексей Владимирович Хан, инженер

Email: a_khan@vnimi.org

Екатерина Германовна Лазарева, младший научный сотрудник

Олег Юрьевич Фоменко, канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, г. Москва

На современном этапе развития молочной промышленности обеспечение подлинности молочного сырья при производстве сыров имеет ключевое значение для контроля качества продукции и защиты права потребителей. В контексте видовой фальсификации молока-сырья при производстве сыров в последнее время наблюдается тенденция замены козьего или овечьего молока коровьим. Данный процесс связан с такими факторами как сезонность и высокая себестоимость молока от мелкого рогатого скота. В статье представлен детальный обзор молекулярно-генетических методов, используемых для выявления случаев фальсификации молочного сырья, с акцентом на их применении в сыроделии. Особое внимание уделяется проблемам и перспективам применения молекулярно-генетических методов анализа, особенно при работе с комплексными пищевыми матрицами, такими как сыр. В обзоре рассматривается разработка эффективных ПЦР-методов для идентификации видоспецифичных последовательностей, с использованием митохондриальной ДНК (мтДНК) в качестве маркеров. Также обсуждаются преимущества и ограничения применения различных типов ПЦР, включая мультиплексную ПЦР, количественную ПЦР (qPCR) и цифровую капельную ПЦР (ddPCR). Особое внимание уделяется преимуществам мультиплексной ПЦР, позволяющей одновременно амплифицировать несколько ДНК-мишеней в одной пробирке, и qPCR, предоставляющей количественные характеристики продукции. Интеграция подобных методов в арсенал аналитических методик повышает эффективность усилий по поддержанию промышленных стандартов и обеспечению подлинности сыров и сырных продуктов. Данное исследование подчеркивает востребованность внедрения молекулярных методов для обеспечения стабильности системы поставок, повышения доверия потребителей и развития технологий молочной промышленности.

Ключевые слова: видовая идентификация, фальсификация, молоко, сыр, полимеразная цепная реакция, ДНК, безопасность

Для цитирования: Молекулярные методы аутентификации молочного сырья в сыре: обзор / А. В. Хан, Е. Г. Лазарева, О. Ю. Фоменко // Сыроделие и маслоделие. 2024. № 2. С. 40–47. <https://www.doi.org/10.21603/2073-4018-2024-2-6>

Введение

Фальсификация пищевых продуктов является глобальной проблемой, затрагивающей множество стран, включая Российскую Федерацию [1]. Сложные экономические условия, активное развитие технологий фальсификации, отсутствие четких идентификационных характеристик и общепринятой классификации фальсифицированных продуктов усложняют процесс идентификации пищевого сырья [2, 3]. Несмотря на то, что зафиксированные случаи выявления фальсификации продукции характерны для большинства отраслей пищевой индустрии, молоко и молочные продукты, согласно данным Россельхознадзора, стабильно лидируют. Одним из эффективных инструментов обеспечения контроля соответствия рассматриваемой группы продуктов декларируемым параметрам стала система прослеживаемости «Меркурий», внедрение которой позволило уменьшить процент несоответствующей заявленным критериям молочной продукции с 18,5 % в 2019 году до 14,7 % в 2022 году. Несмотря на данный факт, проблема фальсификации по-прежнему остается актуальной [3].



Источник изображения: relets.com

В контексте видовой фальсификации довольно часто встречаются случаи подмены дорогостоящего молока менее ценным. Примером такой практики является внесение коровьего молока в состав буйволиного, овечьего или козьего [4, 5]. К факторам, способствующим преднамеренному включению коровьего молока в процессе изготовления сыров на основе козьего и овечьего, относятся экономическая выгода, связанная с более высокой стоимостью, и сезонные колебания объема получения молока-сырья мелкого рогатого скота [5]. Кроме того, выпуск продукции ненадлежащего качества возможен в результате случайной контаминации на этапе переработки. Также практикуется указание заведомо ложной информации о составе продукта при его маркировке [6].

Среди многообразия аналитических стратегий, применяемых для определения видовой принадлежности молока и получаемых из него продуктов, методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), выделяются как наиболее надежные и чувствительные. В рамках данного обзора проведен сравнительный анализ молекулярно-генетических методов видовой идентификации молочного сырья, используемого при производстве сыра.

Основные молекулярные методы анализа

Современные подходы ПЦР для видовой идентификации молока включают в себя разработку специфических праймеров для амплификации консервативных областей ядерной или митохондриальной ДНК в ходе ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) или секвенированием. Альтернативным вариантом может выступать использование специфических праймеров для прямого обнаружения целевых видов в форматах однократной или многократной ПЦР [7].

В проводимых исследованиях в качестве маркеров часто используют митохондриальную ДНК. В недавней работе Guo с коллегами представили разработанную ими полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ) тест-систему для детекции овечьей и козьей ДНК на основе амплификации высококонсервативных участков митохондриальной 12S-рибосомной ДНК [8]. В другой работе для видоспецифичной детекции методом ПЦР-РВ мишенями служили митохондриальные гены цитохрома b

и 16S-рибосомальной ДНК в комбинации с ядерными генами миостатина и 18S-рибосомальной ДНК [5]. В исследовании Feligini анализ сырных матриц проводился с использованием праймеров, комплементарных фрагменту митохондриального гена *COI* [9]. Предложенная Agrimonti в 2015 году ПЦР-методика для определения происхождения сыров – как изготовленных в лабораторных условиях из опытных смесей молока, так и промышленного производства – основана на применении интеркалирующего красителя SYBR Green и праймеров, отжигающихся на специфических участках генов 12S рРНК и цитохрома b [10]. В работе Tsirigoti и др. для анализа происхождения греческих сыров и йогуртов использовали амплификацию D-петли митохондриальной ДНК на основе мультиплексной ПЦР [11].

Мультиплексная ПЦР считается более эффективным методом по сравнению с традиционными ПЦР-анализами, требующим меньше времени для проведения исследования за счет амплификации в одной пробирке сразу нескольких мишеней. Для одновременного обнаружения различных целевых молекул ДНК при проведении высокопроизводительной оценки подлинности молока, сыра и других молочных, а также мясных продуктов питания животного происхождения, разрабатывают комплексные системы видоспецифичных праймеров и зондов, нацеленных на консервативные нуклеотидные последовательности разных видов продуктивных животных. Для исключения возникновения ложноотрицательных результатов анализа в создаваемый олигонуклеотидный «коктейль» часто включают праймеры для амплификации эндогенного контроля [8]. В своих работах Mafra и др., а также Golinelli и др. проводили дуплексные ПЦР-анализы, основанные на одновременной амплификации генов 12S рРНК *B. taurus* и *C. hircus* в исследуемых пробах с последующей гель-электрофорезной детекцией и интерпретацией данных [12, 13]. Rentsch с соавторами используя мультиплексную систему ПЦР-РВ смогли количественно определить содержание ДНК коров, коз, овец и водяных буйволов в швейцарских сырах [14]. Guo и др. в 2019 году предложили триплексную ПЦР-РВ на основе технологии TaqMan, направленную на амплификацию видоспецифичных участков гена 12S рибосомальной РНК для детектирования целевой ДНК в молоке и сырах [15]. Данный подход показал себя специфичным, чрезвычайно чувствительным и эффективным средством для аутентификации молочных продуктов.

На практике в пищевой промышленности при проведении аутентификации продукции часто используют комбинацию различных аналитических методов для получения более точных результатов испытаний. Например, в работе Di Domenico и соавторов использовалось 2 метода: изоэлектрическое фокусирование и ПЦР-РВ на основе амплификации последовательностей генов 12S рРНК и *cytb* для определения видовой принадлежности молока и полученных из него сыров к четырем видам жвачных (*Bos taurus*, *Bubalus bubalis*, *Ovis aries* и *Capra hircus*) [16]. В своей статье Ganopoulos с соавторами предложили применять протокол количественной дуплексной ПЦР последующим с HRM-анализом для выяснения генетической принадлежности сырья, использованного для производства греческого сыра «Фета» [17]. В работе Di Pinto с соавторами методами обычной ПЦР и ПЦР-РВ представлены результаты тестирования коммерческих образцов сыров, йогуртов и других молочных продуктов из козьего молока, при этом было установлено, что более 80 % продукции содержит ингредиенты несоответствующие задекларированным [18].

Сравнение методов и их ограничений

В процессе производства сыра исходное сырье проходит через множественные этапы термической, ферментативной, химической и механической обработки, оказывающие отрицательный эффект на выход и качество ДНК, а также на ее пригодность для последующей амплификации [5]. До настоящего времени все еще существует потребность в разработке эффективных протоколов выделения ДНК из пищевых продуктов с минимальным остаточным содержанием ингибиторов, что является чрезвычайно важным для последующей процедуры ПЦР, направленной на увеличение количества целевых ДНК-последовательностей. На сегодняшний день описано множество молекулярно-генетических методов, применяемых для видовой идентификации (см. табл.) [19].

При работе со сложными пищевыми матрицами, в частности – сыром и другими молочными продуктами, использование стандартных ПЦР-анализов характеризуется возникновением таких проблем, как ограниченная чувствительность, отсутствие возможности проведе-

Таблица

Молекулярно-генетические методы анализа видовой принадлежности молока

Название метода	Сущность метода	Преимущества	Недостатки
ПЦР (полимеразная цепная реакция)	Анализ за счет амплификации фрагментов ДНК с помощью термоциклирования, создающей миллионы копий последовательности-мишени.	– Быстрая и эффективная амплификация ДНК. – Универсальность и широкое применение. – Возможность амплификации представляющих интерес специфических областей.	– Восприимчивость к загрязнению. – Ограниченные возможности количественного определения без дополнительных шагов.
Мультиплексная ПЦР	Амплификация нескольких фрагментов ДНК в одной реакции.	– Одновременная амплификация нескольких мишеней. – Экономия времени и ресурсов.	– Повышенная сложность дизайна праймеров. – Потенциальное взаимодействие праймеров
Количественная ПЦР (qPCR)	Измерение количества ДНК во время амплификации в режиме реального времени.	– Позволяет получить количественные данные. – Высокая чувствительность и специфичность.	– Влияние ингибиторов в сложных образцах. – Требуется стандартная кривая для абсолютного количественного определения.
Капельная цифровая ПЦР (ddPCR)	Разделение ПЦР-реакции на тысячи капель позволяет проводить абсолютное количественное определение.	– Точное и абсолютное количественное определение. – Улучшенная чувствительность и воспроизводимость.	– Стоимость выше, чем у традиционных методов ПЦР. – Ограниченные возможности мультиплексирования.
ПЦР-ПДРФ	Проведение ПЦР для амплификации необходимых фрагментов ДНК с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов для определения вариаций в сайтах рестрикции.	– Сочетает в себе специфичность ПЦР и ПДРФ-анализа. – Позволяет проводить целенаправленный анализ определенных локусов.	– Ограничено наличием подходящих сайтов рестрикции. – Требуется нескольких этапов в рабочем процессе.



Источник изображения: pexels.com

ния количественного анализа и зависимость от низкопроизводительных методов предварительной пробоподготовки образцов продуктов питания. Необходимость снятия данных ограничений содействовала разработке более эффективных ПЦР-методов, включая применяемые для идентификации видоспецифичных последовательностей [6].

Широкое распространение для решения задач видовой идентификации получили методы, базирующиеся на использовании митохондриальной ДНК (мтДНК), поскольку мтДНК обладает высоким уровнем генетической изменчивости и присутствует в большом числе копий в соматических клетках животных. Однако использование митохондриальных маркеров для количественного определения видоспецифичной ДНК потенциально может быть ограничено в связи с разницей в числе копий на клетку между различными тканями, индивидуальными особенностями организма, а также существующими межвидовыми различиями. Несмотря на ряд недостатков, данные маркеры успешно зарекомендовали себя для видоспецифичного анализа продуктов питания [5].

В работе Cutarelli и др. при определении коровьей ДНК в сыре «Буффало» из буйволиного молока тремя различными методами ПЦР (ПЦР, ddPCR и кПЦР) ddPCR-протокол показал большую чувствительность по сравнению с обычной ПЦР [20]. Однако данное преимущество может приводить к определенным затруднениям с корректной интерпретацией данных в случаях обнаружения присутствия ДНК незаявленных видов животных, возникшего в следствие случайной контаминации продукции биологическим материалом других таксономических единиц, произошедшей в процессе обработки сырья, а не в результате преднамеренной фальсификации. Di Febo и др. использовали несколько методов, таких как ПЦР-РВ, ИФА, ИЭФ и LFA (анализ латерального потока), для тестирования сыров, творога и молока, и дали сравнительную характеристику преимуществ и недостатков вышеперечисленных методик. В данном исследовании метод ПЦР-РВ демонстрировал высокую эффективность, сопоставимую с другими методами [21].

Многочисленные работы показывают существование высокого уровня фальсификации молочной продукции и предоставления потребителям недо-

стоверной информации о составе предлагаемых товаров. Становится очевидным высокий потенциал внедрения в практику методов на основе ДНК-мишеней, поскольку данные молекулярные методы применимы для идентификации и дифференциации филогенетически близких видов жвачных животных. Допустимыми сложностями проведения количественной ПЦР являются индивидуальные колебания количество соматических клеток в молоке и технологические параметры производства, оказывающие влияние на концентрацию ДНК в готовых сырах. Для обеспечения эффективности функционирования системы контроля безопасности и подлинности пищевых продуктов целесообразно внедрение непрерывного мониторинга продукции в сочетании с усовершенствованными методологиями обнаружения фальсификации и нарушений правил маркировки товаров. Данная стратегия может существенно снизить вероятность возникновения проблем с аутентификацией продукции в будущем. В связи с этим государственные органы, ответственные за безопасность пищевых продуктов, должны быть заинтересованы в оптимизации систем, используемых для идентификации источников происхождения пищевых продуктов и контроля их качества [18].

Тенденции и перспективы

С увеличением спроса со стороны потребителей на молочные продукты в целом, а в особенности на сыры, критически важно становится защитить покупателя путем реализации эффективных мер и методов контроля пищевых продуктов с применением адекватных средств выявления фальсификации молока-сырья [22]. Идентификация видовой принадлежности молока представляет собой существенный этап в технологической цепи изготовления сыров, особенно обладающих статусом защищенного географического названия и изготавливаемых на основе только молока одного конкретного вида животных [12]. В связи с вышеописанными проблемами, все большее внимание уделяется разработке надежных методов определения подлинности молока, а ПЦР стала одним из основных инструментов в этой работе. Данный молекулярно-генетический метод анализа получил широкое распространение благодаря своей высокой специфичности и чувствительности при выявлении последовательностей ДНК [23]. Для отрасли сыроделия, где молоко служит основным сырьем, использование ПЦР представляет собой надежное решение для оценки видовой принадлежности молока.

Источник изображения: rezeb.com





Одна из заметных тенденций – использование мультиплексной ПЦР, позволяющей одновременно амплифицировать несколько ДНК-мишеней в одной пробирке. Такое усовершенствование повышает эффективность идентификации видов за счет одновременного выявления различных генетических маркеров, обеспечивая комплексный анализ состава молока в сыре. Кроме того, qPCR добавляет количественные характеристики продукции, позволяя точно измерить количество ДНК каждого вида животных [24]. Такие данные важны для оценки степени фальсификации молока, и позволяют осуществлять контроль качества при производстве сыра.

Появление цифровой капельной ПЦР (ddPCR) представляет собой многообещающую перспективу в этой области. Цифровая капельная ПЦР обеспечивает абсолютное количественное определение путем проведения ПЦР-реакции в тысячах отдельных капель с беспрецедентным уровнем точности обнаружения и количественного определения содержания специфической ДНК. Данная технология обладает потенциалом, особенно в тех случаях, когда использование традиционных методов может оказаться недостаточным для выявления минимального уровня фальсификации.

Таким образом, к преимуществам методов, основанных на ПЦР, относятся их быстрота и скорость выполнения процедуры, а также применимость для анализа различных молочных продуктов, включая сыр [25]. Кроме того, их высокая специфичность обеспечивает достоверность результатов даже в присутствии незначительных количеств фальсификатов. Тем не менее, ряд проблем, связанных использованием молекулярных методов, все еще требует решения (например, необходимость тщательной стандартизации и валидации протоколов для обеспечения точности и воспроизводимости результатов ПЦР).

В заключение следует отметить, что тенденции и перспективы применения ПЦР для видовой идентификации молока в сыре подчеркивают непрерывное развитие молекулярно-генетических методов, используемых для решения проблем молочной промышленности. По мере развития технологий, включающих мультиплексную ПЦР, qPCR и ddPCR, быстрая, точная и эффективная видовая идентификация молока становится все более достижимой.



Источник изображения: rezeb.com

Выводы

В динамично развивающейся области обеспечения безопасности и качества пищевых продуктов современные молекулярные методы, основанные на анализе ДНК, становятся эффективными и востребованными инструментами анализа, которые могут быть применены для выявления случаев фальсификации молочной продукции. Их органичное включение в широкий спектр аналитических методов, используемых для идентификации видов животных, имеет стратегическое значение для поддержания высоких отраслевых стандартов и обеспечения подлинности молочных продуктов. Благодаря высокой чувствительности и надежности данные методы становятся неотъемлемой частью цепочки поставок молочной продукции, способствуя укреплению доверия со стороны потребителей и совершенствованию отраслевой практики. ■

Molecular Methods for Authentication of Dairy Raw Materials in Cheese: Review

Alexei V. Khan, Ekaterina G. Lazareva, Oleg Yu. Fomenko

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow

The modern dairy industry needs authentic raw milk in cheese production to provide high-quality product control and consumer protection. Unfortunately, unreliable cheese producers sometimes replace goat's or sheep's milk with cow's milk. This process is associated with seasonality and the high cost of milk from small ruminants. The article reviews the methods molecular genetics used to detect milk adulteration in cheese making. It highlights the problems and prospects of applying molecular genetics to complex food matrices, such as cheese. Modern PCR methods prove quite efficient in identifying species-specific sequences by using mitochondrial DNA (mtDNA) as markers. Multiplex PCR, quantitative PCR (qPCR), and digital droplet PCR (ddPCR) have their advantages and shortcomings. The multiplex PCR method presupposes a simultaneous amplification of multiple DNA targets in a single tube while the qPCR method provides a quantitative profile. These methods make it possible to maintain high industry standards by ensuring the authenticity of cheeses and cheese products. In addition, molecular methods provide supply chain stability, increase consumer confidence, and advance dairy technology.

Key words: species identification, milk adulteration, milk, cheese, polymerase chain reaction, DNA, safety

Список литературы

1. Хуршудян, С. А. Качество пищевых продуктов. Термины, определения и противоречия / С. А. Хуршудян, А. Г. Галстян // Контроль качества продукции. 2018. № 1. С. 48–49.
2. Макеева, И. А. Вопросы стандартизации и идентификации национальных молочных продуктов / И. А. Макеева, Н. В. Стратонова, Н. С. Пряничникова, З. Ю. Белякова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2021. № 4 (382). С. 10–13. <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2021.4.2>; <https://elibrary.ru/pttgd>
3. Хуршудян, С. А. Фальсификация пищевых продуктов: классификация и проблемы / С. А. Хуршудян, А. Е. Рябова // Контроль качества продукции. 2021. № 8. С. 48–50.
4. Cosenza, G. 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 / G. Cosenza, M. Iannaccone, D. Gallo, A. A. Pauciullo // Asian-Australasian Journal of Animal Science. 2019. Vol. 2. № 6. P. 891–895. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0459>
5. Mininni, A. N. Evaluation of real-time PCR assays for detection and quantification of fraudulent addition of bovine milk to caprine and ovine milk for cheese manufacture / A. N. Mininni [et al.] // International dairy journal. 2009. Vol. 19. № 10. P. 617–623. <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.04.003>
6. Klančnik, A. Robust PCR-based method for quantification of bovine milk in cheeses made from caprine and ovine milk / A. Klančnik [et al.] // International Journal of Dairy Technology. 2016. Vol. 69. № 4. P. 540–549. <http://doi.org/10.1111/1471-0307.12287>
7. Zarei, M. Fraud identification of undeclared milk species in composition of sheep yogurt and cheese using multiplex PCR assay / M. Zarei [et al.] // Journal of food quality and hazards control. 2016. Vol. 3. № 1. P. 15–19.
8. Guo, L. Simultaneous detection of ovine and caprine DNA in meat and dairy products using triplex TaqMan real-time PCR / L. Guo [et al.] // Food Science & Nutrition. 2020. Vol. 8. № 12. P. 6467–6476. <https://doi.org/10.1002%2Ffsn3.1936>
9. Feligini, M. Detection of adulteration in Italian mozzarella cheese using mitochondrial DNA templates as biomarkers / M. Feligini [et al.] // Food Technology and Biotechnology. 2005. Vol. 43. № 1. P. 91–95.
10. Agrimonti, C. A quadruplex PCR (qPCR) assay for adulteration in dairy products / C. Agrimonti [et al.] // Food Chemistry. 2015. Vol. 187. P. 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.017>
11. Tsigoti, E. Application of triplex-PCR with an innovative combination of 3 pairs of primers for the detection of milk's animal origin in cheese and yoghurt / E. Tsigoti [et al.] // Journal of Dairy

- Research. 2020. Vol. 87. №. 2. P. 239–242. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000242>
12. **Mafra, I.** A duplex polymerase chain reaction for the quantitative detection of cows' milk in goats' milk cheese / I. Mafra [et al.] // International Dairy Journal. 2007. Vol. 17. №. 9. P. 1132–1138. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.009>
13. **Golinelli, L. P.** Sensory analysis and species-specific PCR detect bovine milk adulteration of frescal (fresh) goat cheese / L. P. Golinelli [et al.] // Journal of Dairy Science. 2014. Vol. 97. №. 11. P. 6693–6699. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7990>
14. **Rentsch, J.** Interlaboratory validation of two multiplex quantitative real-time PCR methods to determine species DNA of cow, sheep and goat as a measure of milk proportions in cheese / J. Rentsch [et al.] // European Food Research and Technology. 2013. Vol. 236. №. 1. P. 217–227. <http://doi.org/10.1007/s00217-012-1880-y>
15. **Guo, L.** A simultaneous triplex TaqMan real-time PCR approach for authentication of caprine and bovine meat, milk and cheese / L. Guo [et al.] // International Dairy Journal. 2019. Vol. 95. P. 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.03.004>
16. **Di Domenico, M.** Validation of a fast real-time PCR method to detect fraud and mislabeling in milk and dairy products / M. Di Domenico [et al.] // Journal of dairy science. 2017. Vol. 100. №. 1. P. 106–112. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11695>
17. **Ganopoulos, I.** A novel closed-tube method based on high resolution melting (HRM) analysis for authenticity testing and quantitative detection in Greek PDO Feta cheese / I. Ganopoulos [et al.] // Food chemistry. 2013. Vol. 141. №. 2. P. 835–840. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.130>
18. **Di Pinto, A.** DNA-based approach for species identification of goat-milk products / A. Di Pinto [et al.] // Food chemistry. 2017. Vol. 229. P. 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.067>
19. **Li, B.** Comparison of PCR Techniques in Adulteration Identification of Dairy Products / B. Li [et al.] // Agriculture. 2023. Vol. 13. №. 7. P. 1450. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071450>
20. **Cutarelli, A.** Droplet Digital PCR (ddPCR) Analysis for the Detection and Quantification of Cow DNA in Buffalo Mozzarella Cheese / A. Cutarelli [et al.] // Animals. 2021. Vol. 11. №. 5. P. 1270. <https://doi.org/10.3390/ani11051270>
21. **Di Febo, T.** Detection of undeclared bovine milk in different food matrices by a multi-technique approach / T. Di Febo [et al.] // International Dairy Journal. 2020. Vol. 111. P. 104845. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104845>
22. **Khaznadi, S.** PCR-based detection of cow and goat milk in sheep milk and dairy products marketed in Mashhad city of Iran / S. Khaznadi [et al.] // Iranian Journal of Veterinary Medicine/ 2014. Vol. 7, Iss. 4. P. 257–262. <https://doi.org/10.22059/ijvm.2013.36285>
23. **Vafin, R. R.** Species identification of ruminant milk by genotyping of the *k*-casein gene / R. R. Vafin [et al.] // Journal of Dairy Science. 2022. Vol. 105. №. 2. P. 1004–1013. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19931>
24. **Giglioti, R.** Detection and quantification of adulteration in milk and dairy products: A novel and sensitive qPCR-based method / R. Giglioti [et al.] // Food Chemistry: Molecular Sciences. 2022. Vol. 4. P. 100074. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100074>
25. **Abedini, A.** Assessment of cheese frauds, and relevant detection methods: A systematic review / A. Abedini [et al.] // Food Chemistry: X. 2023. Vol. 19. P. 100825. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100825>