

SEARCH FOR THE DETECTION MARKERS OF DRINKING MILK FALSIFIERS USING COMBINED ANALYTICAL AND CHEMOMETRIC METHODS

N. Sukhodolsha, V. Ischenko, O. Kochubei-Lytvynenko

National University of Food Technologies

Key words:

Milk
Ultrasonic analysis
Principal component analysis
Validation
Detection markers

Article history:

Received 14.09.2017
Received in revised form 03.10.2017
Accepted 30.10.2017

Corresponding author:

N. Sukhodolsha
E-mail:
suxodolska@ukr.net

ABSTRACT

The possibility of sharing the ultrasonic and chemometric methods for milk analysis followed by their subsequent use for the classification of dairy products was considered. The use of the main components method for processing the array of obtained data allowed carrying out a partial clustering of milk samples. The methodology for determining milk quality using an ultrasonic milk analyzer 'Ecomilk-Bond' was validated. The necessity for determining the markers for milk powder has been substantiated, since the other types of milk can be falsified by it. The concentration of calcium ions and the ratio of tryptophan concentrations as well as the products of Maillard reaction in milk samples after different modes of heat treatment can be considered the markers for milk powder.

DOI: 10.24263/2225-2924-2017-23-5-2-15

ПОШУКИ МАРКЕРІВ ДЕТЕКТУВАННЯ ФАЛЬСИФІКАТІВ ПИТНИХ ВИДІВ МОЛОКА ПОЄДНАННЯМ АНАЛІТИЧНИХ І ХЕМОМЕТРИЧНИХ МЕТОДІВ

Н.П. Суходольська, В.М. Іщенко, О.В. Кочубей-Литвиненко

Національний університет харчових технологій

У статті проаналізовано оцінку можливості поєднання ультразвукового методу аналізу молока з хемометричними методами з подальшим їх застосуванням для класифікації молочних продуктів. Застосування методу головних компонент для обробки масиву одержаних даних дало змогу провести часткову кластеризацію зразків молока. Проведено валідацію методики визначення показників якості молока з використанням ультразвукового аналізатора молока «Екомілк-Бонд». З'ясовано, що необхідні пошуки маркерів на сухе молоко, тому що існує можливість фальсифікації ним інших видів молока. Висунуто припущення, що цими маркерами можуть бути концентрація іонів Ca^{2+} в молоці різної термічної обробки та співвідношення концентрації триптофану до концентрації продуктів реакції Майяра.

Ключові слова: молоко, ультразвуковий аналіз, метод головних компонент, валідація, маркери детектування.

Постановка проблеми. Доброякісне молоко повинно бути без сторонніх запахів і присмаків, білого кольору, з жовтуватим відтінком, приємного солодкуватого смаку. Український молочний ринок представляє широкий асортимент продукції, що не завжди відповідає високій якості і безпечності. Останнім часом на ринку молока почастишали випадки виявлення неякісного фальсифікованого молока, що негативно відбивається на здоров'ї населення. Прогірклий, кислуватий, мильний та інші присмаки й сторонні запахи молока зумовлені змінами у вмісті і стані складових частин продукту.

Серед різних способів фальсифікації молока наразі стає особливо поширеним його підміна відновленим аналогом, тобто молочним напоєм. Виробники в один голос заявляють, що сухе або приготоване з нього відновлене молоко за своїми якостями нічим не відрізняється від звичайного. Але при термічній обробці молоко не тільки міняє смакові властивості — в ньому руйнуються вітаміни, ензими, знищується корисна мікрофлора.

Відомо, що при пастеризації молока денатурований β -лактоглобулін разом із $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ випадає в осад у складі молочного каменю й утворює комплекси з κ -казеїном казеїнових міцел (осаджуючись разом з ними при коагуляції казеїну), тому концентрація йонів Ca^{2+} в термічно обробленому молоці значно менша.

Переробка молока та молочних продуктів має прямий вплив на поживну цінність молока, особливо на вміст триптофану, що легко руйнується окисненням, реакцією Майяра або залізом [1; 2].

Наразі сучасними методами аналізу молочних продуктів стали кріоскопічний, хроматографічні та різні спектральні методи. Більш повну оцінку якісного і кількісного складу молока проводять за допомогою додаткових досліджень з використанням флуоресценції, ELISA (імуноферментного аналізу), одно- та двовимірного поліакриламідного електрофорезу, капілярного електрофорезу [3] тощо.

Переважає більшість цих методів передбачає використання сучасного аналітичного обладнання, підготовлених спеціалістів і є досить дорогими. Особливість цих методів полягає в тому, що досить часто доводиться мати справу з обробкою масиву великої кількості даних, одержаних у результаті аналізу. При обробці таких даних неминучим стає застосування саме хемометричних методів. Хемометричні методи у поєднанні з фізико-хімічними методами аналізу знайшли застосування для виявлення підрбок харчової продукції і, зокрема, молочної [4].

Метою дослідження є оцінка можливості поєднання фізико-хімічних методів аналізу молока з хемометричними методами для подальшої ідентифікації різних зразків молока, зокрема виявлення молочного продукту, виготовленого із сухих сумішей.

Матеріали і методи. Досліджувався масив більше 30 зразків питних видів молока, а саме: перша група зразків — натуральне незбиране (НН) молоко (цільне молоко з незміненою жирністю); друга група зразків — натуральне

молоко, розбавлене водою 5, 10, 15 і 20% мас. води (НН + Вод); третя група — питні види пастеризованого молока (П) 2,5 і 2,6% жирності вітчизняного виробництва відомих торгових марок та придбані в супермаркетах м. Києва; четверта група зразків — це відновлений молочний напій жирністю 2,6%, що піддавали гомогенізації на диспергаторі BANDELIN SONOPULS HD2070 ($N = 30$ —40%, $t = 30$ с), після чого пастеризували за температури (88 ± 2) °С без витримки і охолоджували до (6 ± 2) °С (В + П); п'ята група зразків — відновлене молоко, виготовлене за наведеною вище методикою, яке не піддавали пастеризації (В).

Такі показники якісного складу молока, як вміст жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку (далі — СЗМЗ), лактози, густини, температури замерзання і води визначали на ультразвуковому аналізаторі молока «Екомілк-Бонд» (Болгарія), який широко використовується на молокозаводах України та в пунктах прийому молока.

Було визначено окисно-відновний потенціал за допомогою комірки з платинового електрода та хлор-срібного електрода порівняння, з'єднаних сольовим містком.

Валідацію методики визначення показників якості молока із використанням ультразвукового аналізатора молока «Екомілк-Бонд» здійснювали згідно з рекомендаціями [5]. Перевіряли такі робочі характеристики, як прецизійність в умовах збіжності та внутрішньо лабораторної відтворюваності. Протокол валідації включав проведення повторних вимірювань (умови збіжності) у три непослідовні дні (умови внутрішньо лабораторної відтворюваності) на шести зразках молока.

Протокол валідації методики визначення окисно-відновного потенціалу молока включав проведення паралельних вимірювань потенціалу на шести зразках молока також у три різні дні.

Вміст йонів Ca^{2+} вимірювали за допомогою йонселективного електрода та електрода порівняння на йонометрі універсальному И-160 М.

Співвідношення концентрації триптофану і концентрації продуктів реакції Майяра досліджували на флуорометрі Perkin Elmer LS55.

Результати і обговорення. Обробку результатів валідації здійснювали згідно з рекомендаціями, наведеними у [6] методом дисперсійного аналізу. Очевидно, що прецизійність визначення показників якості молока із застосуванням аналізатора «Екомілк-Бонд», виражена як відповідне стандартне відхилення, є достатньою для вирішення поставлених завдань.

У той же час прецизійність визначення окисно-відновного потенціалу є недостатньою. Розкид значень між пробами є того ж порядку, що і при паралельних вимірюваннях, що обмежує практичну цінність виміряних значень окисно-відновного потенціалу.

Для інтерпретації одержаного масиву даних нами було використано метод головних компонент (МГК). Метод головних компонент — один із способів зменшити розмірність даних, втративши найменшу кількість інформації. Математично даний метод перетворює початкові змінні в меншу кількість нових, які є лінійною комбінацією початкових змінних. Нові змінні називають головними компонентами. Графічне представлення зразків у координатах

головних компонент може бути використано для визначення кластерів і груп серед зразків.

Встановлено, що перші три головні компоненти описують 93,7% відмінностей між зразками. На рис. 1а наведено графік рахунків (координат зразків у просторі головних компонент) для першої та другої, а на рис. 1б — для другої та третьої головних компонент, де видно, що зразки утворюють окремі групи. На рис. 1а чітко виділяється група, що включає натуральне незбиране молоко без додавання та з додаванням води, а також група, куди потрапили зразки молока, що пройшли термообробку (П, ВП). На рис. 1б наведено графік рахунків першої та третьої головних компонент, на якому також прослідковується декілька груп — група зразків натурального незбираного молока (НН, НН + В), група зразків відновленого (В, В + П) та група зразків пастеризованого молока (П). На жаль, досягнути повної кластеризації між зразками відновленого молока (В), відновленого молока з термообробкою (В + П) та пастеризованого молока (П) не вдалось, оскільки деякі зразки потрапляють в інші групи. Ймовірною причиною цього є вибірка зразків, отриманих із сировини іншої пори року.

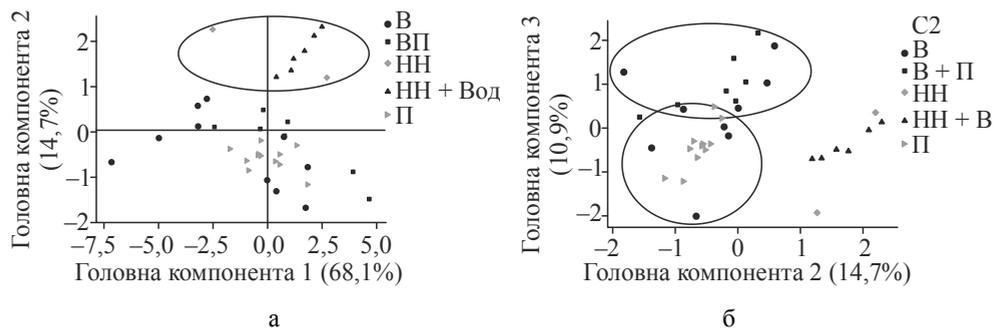


Рис. 1. Графіки рахунків першої та другої (а) і другої та третьої (б) головних компонент

Вміст іонів Ca^{2+} між термічно обробленим і натуральним молоком відрізняється майже на порядок порівняно з сухим. Результати представлено в табл. 1.

Таблиця 1. Концентрація іонів Ca^{2+} різних видів питного та сухого молока

Молоко різної термічної обробки	Середня концентрація Ca^{2+} , моль/л
Натуральне незбиране молоко	0,0022
Пастеризоване молоко	0,0023
Відновлене молоко	0,0009

Отже, вміст іонів Ca^{2+} може бути маркером на сухе молоко.

За допомогою флуоресцентної спектроскопії було виявлено також зменшення концентрації триптофану та збільшення продуктів реакції Майяра відповідно до посилення термообробки молока.

Висновки

Отже, у результаті проведеного дослідження оцінено можливості поєднання ультразвукового методу аналізу молока з хемометричними методами з

подальшим їх застосуванням для класифікації молочних продуктів. Застосування методу головних компонент дало змогу провести кластеризацію зразків молока, проте вона виявилась неповною. Проведено валідацію методик визначення фізико-хімічних показників молока. Встановлено, що не всі методики можуть використовуватись для поставлених цілей. Знайдено можливі маркери на виявлення відновленого молока в пастеризованому. Для доведення даного припущення буде проведено дослідження з використанням інших аналітичних методів.

Література

1. *Leclere J., Birlouez-Aragyn I., and Meli M.* Fortification of milk with iron-ascorbate promotes lysine glycation and tryptophan oxidation. *Food Chem.* 76: 491—499, 2002.
2. *Puscasu C. and Birlouez-Aragon I.* Intermediary and/or advanced Maillard products exhibit prooxidant activity on Trp: In vitro study on alpha-lactalbumin. *Food Chem.* 78: 399—406, 2010.
3. *Garcia-Canas V. and Cifuentes A.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis, *Electrophoresis*, 29, 294, 2008.
4. *Kamal M., Karoui R.* Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review // *Trends in Food Science & Technology*. — 2015. — Vol. 46. — P. 27—48.
5. *B. Magnusson and U. Örnemark (eds.)* Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods — A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from [[http:// www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)].
6. ДСТУ ГОСТ ИСО 5725-3:2005 Точність (правильність і прецизійність) методів та результатів вимірювання. Частина 3. Проміжні показники прецизійності стандартного методу вимірювання. — Київ : Держспоживстандарт, 2005.