

УДК: 547.874.14:637.12.074:543.422.3-74
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.219

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГРАДУИРОВОЧНОЙ ЗАВИСИМОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАМИНА В МОЛОКЕ С ПОМОЩЬЮ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРА

Калужная Т.В. * – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8682-1840).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*tomagfk087@mail.ru

Ключевые слова: градуировочная зависимость, инфракрасная спектрометрия, ИК-Фурье спектрометр, спектрометрия в средней инфракрасной области, ИК – спектр, меламина.

Keywords: calibration dependence, infrared spectrometry, IR-Fourier spectrometer, mid-infrared spectrometry, IR spectrum, melamine.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в рамках государственного задания за счет средств федерального бюджета (соглашение №082-03-2024-253 от 26.01.2024).

Поступила: 25.10.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

К перспективным методам лабораторного анализа, в том числе по определению содержания различных веществ в пищевых продуктах, можно отнести инфракрасную спектрометрию в ближней и средней области, позволяющую проводить идентификацию химических соединений. Наибольший интерес с научной и практической точки представляет метод ИК - спектрометрии в средней области, а именно применение его в качестве экспресс анализа для количественного определения содержания химических веществ. В научной литературе представлено мало работ по построению градуировочных характеристик для ИК-Фурье спектрометров с целью оценки параметров безопасности молока, в том числе по содержанию меламина. Цель работы заключалась в построении градуировочной зависимости для оценки содержания меламина в молоке с помощью ИК-Фурье спектрометров. Исследования проводили поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». В качестве материалов для исследований использовали стандартный образец меламина, пробы сырого молока без меламина и с меламинами в различных концентрациях, установленных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. На основании полученных результатов была построена модель градуировочной зависимости, позволяющая определить количественное содержание меламина в молоке при его добавлении с целью фальсификации белка. Применение таких моделей позволит проводить не только идентификацию химических веществ, но и определять их количество, что является перспективным направлением в разработке новых методик физико-химического анализа пищевых продуктов и сырья.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время для определения содержания меламина в молоке и молочных продуктах в практике лабораторного контроля широко применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Однако воспроизведение данного метода связано с использованием дорогостоящего оборудования, такого как хроматограф жидкостный, детектор спектрофотометрический, колонки с сорбентами, а также сложной пробоподготовкой, включающей внесение химических реактивов и прочее [1; 2].

К более перспективным методам лабораторного анализа, в том числе по определению содержания различных веществ в пищевых продуктах можно отнести инфракрасную спектрометрию (ИК) в ближней и средней области, позволяющую проводить идентификацию химических соединений.

Применение метода ИК - спектрометрии для лабораторного анализа молока и молочных продуктов регламентируется ГОСТ 32255-2013 «Молоко и молочная продукция. Инструментальный экспресс-метод определения физико-химических показателей идентификации с применением инфракрасного анализатора (с Изменениями N 1, 2)», в котором описаны основные принципы и порядок работ по исследованию молока и молочных продуктов с помощью ИК - спектрометрии в ближней области. Однако использование инфракрасных анализаторов предусматривает построение, а также регулярную поверку и корректировку обязательных градуировочных моделей необходимых для точности полученных результатов исследований [3].

Наибольший интерес с научной и практической точки представляет метод ИК - спектрометрии в средней области, а именно применение его в качестве экспресс анализа для количественного определения содержания химических веществ [4; 5; 6; 7]. В научной литературе представлено мало работ по построению градуировочных характеристик для ИК-Фурье спектрометров с целью оценки

параметров качества и безопасности молока и молочных продуктов, в том числе по содержанию меламина.

Цель работы заключалась в построении градуировочной зависимости для оценки содержания меламина в молоке с помощью ИК-Фурье спектрометров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполняли поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» в 2024 году.

Материалами для исследований служили пробы сырого молока, пробы сырого молока с меламином в различных концентрациях и стандартный образец меламина (таблица 1).

На первом этапе осуществляли регистрацию ИК – спектров фона рабочей среды, молока сырого и стандартного образца 2,4,6-триамино-1,3,5-триазина (меламина) (ГК «ЛЮМЭКС», массовая доля основного вещества, не менее 99%).

На втором этапе в пробы молока добавляли меламина в разных количествах и устанавливали его концентрацию по методике М 04-54-2008 «Методика измерений массовой доли меламина в пробах пищевых продуктах и сырья для их производства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием с использованием жидкостного хроматографа «Люмахром» (ГК «ЛЮМЭКС»).

На следующем этапе проводили регистрацию ИК – спектров проб молока с меламином, концентрацию которого установили на предыдущем этапе исследований и рассчитывали градуировочную зависимость на основании анализа полученных ИК-спектров.

Для регистрации ИК – спектров использовали приставку нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с кристаллом $ZnSe$ и Фурье-спектрометр инфракрасный «ИнфраЛюм ФТ-08», а для обработки полученных ИК – спектров и

построения градуировочных зависимостей - программу «СпектралЮМ» (ГК «ЛЮМЭКС»).

При расчете градуировочной зависимости использовали высоту или площадь пика идентификационной полосы поглощения, а аппроксимацию проводили с помощью линейного уравнения через 0, вычисляя коэффициент b по следующей формуле:

$$y=b \times x,$$

где y - содержание компонента, а x – значение высоты или площади пика на спектре.

Для расчета выражений применяли метод наименьших квадратов. Точность полученной градуировочной зависимости определяли по коэффициенту детерминации (R^2) значение которого должно быть близко к 1.

Коэффициент детерминации вычисляется по формуле:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2};$$

где $\hat{y}$ - предсказанное по градуировочной зависимости значение определяемого компонента для i -го образца градуировочного набора;

y_i - референтное значение определяемого компонента для i -го образца градуировочного набора;

$\bar{y}$ - среднее значение определяемого компонента по всем образцам градуировочного набора;

n – количество образцов градуировочного набора.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате определения меламина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в пробах молока после его добавления установили, что его концентрация составляла от 0,109 до 25,033 мг/кг (таблица 1). Для дальнейших исследований использовали эти же пробы молока с меламином.

Таблица 1 – Концентрация меламина в пробах молока

№ пробы	Концентрация меламина, мг/кг	№ пробы	Концентрация меламина, мг/кг
1	0,109	6	2,523
2	0,511	7	3,093
3	1,081	8	5,041
4	1,502	9	10,091
5	2,043	10	25,033

В результате изучения ИК – спектров стандартного образца меламина, молока без меламина и молока с добавленным в него меламином в различных концентрациях установили, что для построения градуировочной зависимости можно использовать полосу поглощения в среднем инфракрасном диапазоне 810 см^{-1} . На выбор этой полосы в качестве идентификационной повлиял ряд выявленных в результате анализа спектральных характеристик меламина, молока без меламина и молока с различными концентрациями меламина, факторов: во-первых, она присутствует во всех ИК - спектрах молока с концентраци-

ей меламина от 1,0 до 25 мг/кг, во-вторых эта полоса отсутствует в спектре молока без меламина (рисунок 1). Отдельно следует отметить что эта полоса поглощения не визуализируется в ИК- спектрах молока с меламином при его концентрации меньше 1,0 мг/кг, но в рамках лабораторного анализа молока на содержание данного вещества эта величина соответствует установленному предельно-допустимому значению, указанному в Техническом регламенте Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции».

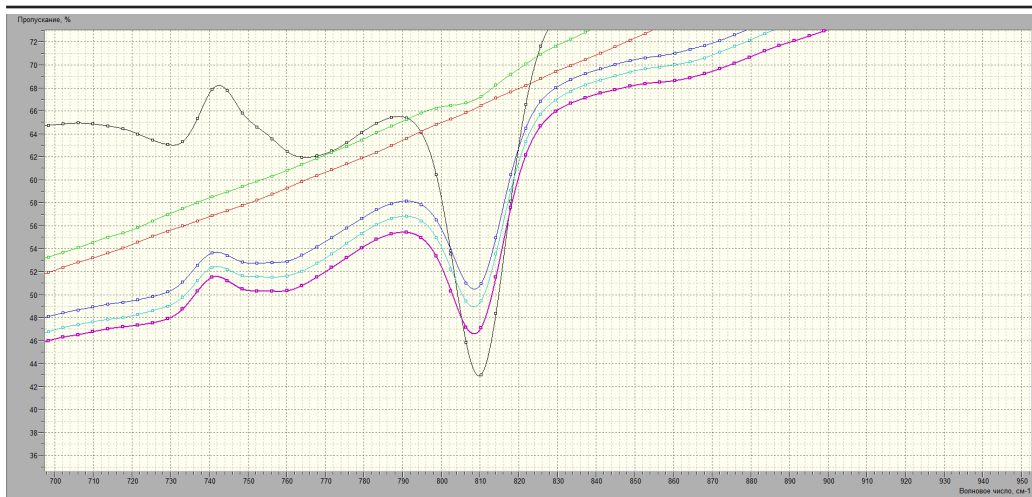


Рисунок 1 – Идентификационная полоса поглощения 810 см^{-1} в исследуемых ИК – спектрах. А – стандартный образец меламина; В – молоко с концентрацией меламина $1,0\text{ мг/кг}$; С – молоко сырое без меламина; D – молоко с концентрацией меламина $5,0\text{ мг/кг}$; E – молоко с концентрацией меламина $10,0\text{ мг/кг}$; F – молоко с концентрацией меламина 25 мг/кг

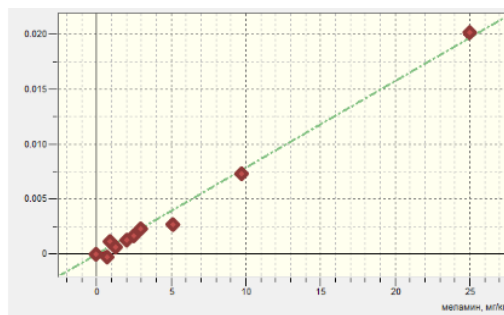


Рисунок 2 – Модель градуировочной зависимости по высоте пика.

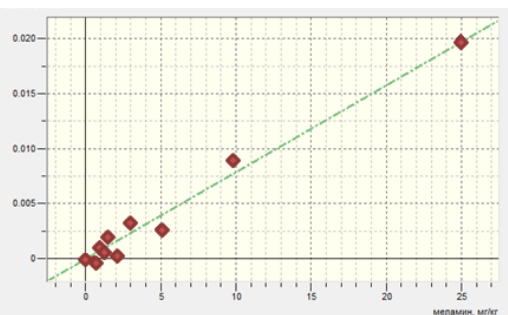


Рисунок 3 – Модель градуировочной зависимости по площади пика.

При расчете градуировочной зависимости по высоте пика идентификационной полосы поглощения значение коэффициента b составляло $0,000789$, а коэффициента детерминации $0,994292$ (рисунок 2). Аналогичные показатели при моделировании градуировочной зависимости по площади идентификационного пика составляли $0,078581$ и $0,896784$ соответственно (рисунок 3).

Анализируя полученные градуировочные зависимости по площади и высоте идентификационного пика, установили, что для количественного определения

содержания меламина больше подходит модель, построенная по высоте пика, потому что именно при ее расчете коэффициент детерминации близок к 1. Это характеризует чувствительность данной градуировочной модели к интенсивности поглощения полосы 810 см^{-1} , характеризующей валентные связи C – N группы в ИК – спектрах молока с различным содержанием меламина.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании полученных результатов была построена модель градуировочной зависимости, позволяющая опреде-

лить количественной содержание меламина в молоке при его добавлении в него с целью фальсификации белка.

Применение градуировочных моделей для ИК-Фурье-спектрометров, проводящих анализ в среднем инфракрасном диапазоне, позволит проводить не только идентификацию химических веществ, но и их количественное определение, что в свою очередь способствует упрощению лабораторных методов исследований и является перспективным направлением в разработке новых методик физико-химического анализа пищевых продуктов и сырья.

MODELING OF THE CALIBRATION DEPENDENCE FOR ESTIMATING THE MELAMINE CONTENT IN MILK USING AN IR FOURIER SPECTROMETER

Kalyuzhnaya T.V.* - Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-8682-1840).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*tomagafk087@mail.ru

Financing: *The work was carried out with the support of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation within the framework of the state task at the expense of the federal budget (Agreement No. 082-03-2024-253 dated 01/26/2024)*

ABSTRACT

Promising methods of laboratory analysis, including the determination of the content of various substances in food products, include near- and medium-range infrared spectrometry, which allows the identification of chemical compounds. The method of IR spectrometry in the medium range is of the greatest scientific and practical interest, namely its application as an express analysis for the quantitative determination of the content of chemicals. There are few works in the scientific literature on the construction of calibration characteristics for IR-Fourier

spectrometers in order to assess the safety parameters of milk, including melamine content. The aim of the work was to construct a calibration dependence for estimating the melamine content in milk using IR-Fourier spectrometers. The research was carried out in stages on the basis of the educational and research Center for the examination of Food and Animal Feed of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. A standard sample of melamine, samples of raw milk without melamine and with melamine in various concentrations determined by high-performance liquid chromatography were used as materials for research. Based on the results obtained, a model of calibration dependence was built, which makes it possible to determine the quantitative content of melamine in milk at its pressure in order to falsify protein. The use of such models will allow not only the identification of chemicals, but also to determine their quantity, which is a promising direction in the development of new methods of physico-chemical analysis of food products and raw materials.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Определение меламина методом спектроскопии диффузного отражения по его влиянию на формирование нанокompозита золота и пенополиуретана / А. И. Исаченко, А. О. Мелехин, В. В. Апяри [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2021. – Т. 76, № 3. – С. 227-233. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44652099>
2. Дрозд, А. В. К вопросу о методах идентификации меламина в молоке и продуктах его переработке / А. В. Дрозд, П. С. Жмуркина // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 180-189. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597290>
3. Чигасов, А. И. Изучение измерения М.Д. меламина методом ИК-спектроскопии в молоке и молочных продуктах / А. И. Чигасов // Международная научно-практическая конференция молодых учёных и специалистов отделений сельскохозяйственных наук Российской академии наук. – 2016. – № 1. – С. 409-

413. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=28417910>

4. Kalyuzhnaya T. V. A. V. Drozd Identification of melamine in milk using mid-infrared spectrometry // BIO Web Conf. № 126. 2024. P 01022. Режим доступа: https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/abs/2024/45/bioconf_aeea2024_01022/bioconf_aeea2024_01022.html

5. Калюжная, Т. В. Изучение спектральных характеристик меламина для оценки безопасности молока и продуктов его переработки при лабораторном контроле / Т. В. Калюжная, А. В. Дрозд // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 166-171. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597287>

6. Калюжная, Т. В. Применение метода инфракрасной спектроскопии в среднем диапазоне для определения меламина в молоке / Т. В. Калюжная // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 188-193.

Режим доступа: <https://spbguv.ru/wp-content/uploads/2024/10/%D0%9C%D0%92%D0%92-3-2024>

7. Коршунова, Н. А. Применение спектроскопии для оценки качества виноградных вин / Н. А. Коршунова, В. А. Романов, В. В. Евелева // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. – 2019. – № 3. – С. 42-51. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41041195>.

REFERENCES

1. Isachenko, A. I. et al. Determination of melamine by diffuse reflection spectroscopy by its effect on the formation of gold and polyurethane foam nanocomposite / A. I. Isachenko et al. // Journal of Analytical Chemistry. 2021:76:3:227-233. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44652099> (In Russ.)

2. Drozd, A.V. On the issue of methods for the identification of melamine in milk and its

processed products / A.V. Drozd, P. S. Zhmurkina // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:2:180-189. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597290> (In Russ.)

3. Chigasov, A. I. Studying the measurement of M.D. melamine by IR spectroscopy in milk and dairy products / A. I. Chigasov // International scientific and practical conference of young scientists and specialists of the Department of Agricultural Sciences of the Russian Academy of Sciences. 2016:1:409-413. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=28417910> (In Russ.)

4. Kalyuzhnaya T. V. A. V. Drozd Identification of melamine in milk using mid-infrared spectrometry // BIO Web Conf. № 126. 2024. P 01022. URL: https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/abs/2024/45/bioconf_aeea2024_01022/bioconf_aeea2024_01022.html

5. Kalyuzhnaya, T. V. The study of the spectral characteristics of melamine for assessing the safety of milk and its processed products during laboratory control / T. V. Kalyuzhnaya, A.V. Drozd // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:2:166-171. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597287> (In Russ.)

6. Kalyuzhnaya, T. V. Application of the method of infrared spectrometry in the middle range for the determination of melamine in milk / T. V. Kalyuzhnaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:3:188-193. URL: <https://spbguv.ru/wp-content/uploads/2024/10/%D0%9C%D0%92%D0%92-3-2024> (In Russ.)

7. Korshunova N. A. et al. The use of spectroscopy to assess the quality of grape wines / N. A. Korshunova, V. A. Romanov, V. V. Eveleva // Scientific journal NRU ITMO Series «Processes and Food Production Equipment» 2019:3:42-51. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41041195> (In Russ.)