

УДК 543.068.8:543.422:543.426:543.062:677.016.41

АНАЛИЗ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ МОЛОЧНОГО ЖИРА И ВЫЯВЛЕНИЕ ФАЛЬСИФИКАЦИИ СМАРТФОНОМ С ПРИЛОЖЕНИЕМ PhotoMetrix PRO®

© 2024 г. В. Г. Амелин^{а,*}, З. А. Ч. Шаока^а, А. В. Третьяков^а

^а Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов

Звенигородское шоссе, 5, Москва, 123022 Россия

* e-mail: amelinvg@mail.ru

Поступила в редакцию 29.03.2023 г.

После доработки 20.04.2023 г.

Принята к публикации 21.04.2023 г.

Предложено УФ-устройство, напечатанное на 3D принтере, для анализа молочной продукции (молоко питьевое, творог, кефир, сметана, сливочное масло) с использованием смартфона и программного обеспечения PhotoMetrix PRO®. Рассмотрено применение одномерного и многомерного анализа, метода главных компонент для идентификации, аутентификации и установления фальсификации молочных продуктов.

Ключевые слова: молочные продукты, идентификация, аутентификация, фальсификация, смартфон, PhotoMetrix PRO®.

DOI: 10.31857/S0044450224020081, **EDN:** vxzwwg

Молоко является продуктом физиологической секреции молочных желез сельскохозяйственных животных (коров, овец, коз, буйволиц, верблюдиц, кобыл), полученным при их доении. Из цельного молока производят молочные продукты: молоко питьевое, сметану, творог, сливочное масло, кефир, йогурт и др. [1–6].

Все молочные продукты содержат в своем составе питательные и биологически активные вещества (белки, жиры, углеводы, минеральные компоненты, витамины), необходимые человеку, в оптимально сбалансированном соотношении. Возрастающее значение молочных продуктов в рационе питания приводит к увеличению спроса на него и, как следствие, дефициту, что зачастую приводит к его фальсификации. Фальсификацию молочных продуктов осуществляют путем частичной замены молочного жира на более дешевые безмолочные продукты (растительное масло, соевые белки, крахмал, мочевины, меламина, поверхностно-активные вещества, воду и т.п.) [7].

Факты фальсификации молочной продукции обычно выявляют методами ближней инфракрасной, флуоресцентной спектроскопии, по соотношению стабильных изотопов легких элементов (H, C, N, S), методом ядерного

магнитного резонанса и хроматографическими методами с обработкой массива данных хемометрическими алгоритмами [8–12]. Для обнаружения замены молочного жира растительными и животными в твороге, сметане и сливочном масле используют в основном методы газовой хроматографии (ГХ) [13–15].

Методом ГХ определяют содержание жирных кислот (в виде метиловых эфиров), по соотношению и концентрации которых устанавливают факты фальсификации жирами немолочного происхождения [1, 13, 14]. Для обнаружения растительных жиров в жировой фазе продукта применяют газожидкостную хроматографию стеринов [15]. Наличие фитостеринов свидетельствует о присутствии жиров растительного происхождения в исследуемом образце.

Сложность при аутентификации сливочного масла заключается в необходимости выявления животных жиров немолочного происхождения, которые не могут быть идентифицированы посредством анализа жирнокислотного или стеринового состава жировой фазы. Для этих целей предложено сочетание методов протонного магнитного резонанса и высокоэффективной

жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием [16].

Продемонстрирована возможность идентификации триацилглицеридного профиля как маркера присутствия свиного жира в составе натурального продукта. По результатам исследования установлено, что химический сдвиг в районе сигналов 2.60–2.84 м.д. в спектрах протонного магнитного резонанса характерен исключительно для свиного жира (сала).

Предложены и упрощенные способы выявления фактов фальсификации молочной продукции. Так, для установления фальсификации молока в работе [17] определяли массовую долю жира и белка по рассеянию света с длиной волны 465, 526 и 630 нм. Цифровые изображения светорассеяния получали с помощью цифрового фотоаппарата. Содержание жира и белка и соответственно фальсификацию молока определяли по значениям цветовых каналов RGB.

Предложено [18] микрофлюидное устройство на основе целлюлозной бумаги для установления фальсификации буйволиного молока по результатам определения в нем додецилсульфата натрия, мочевины, карбонатов и гидрокарбонатов. Устройство напечатано на 3D принтере с ограничением трех индикаторных зон парафином. Каждая из зон целлюлозной бумаги пропитана розоловой кислотой (аурином), бромкрезоловым пурпурным и диметиламинобензальдегидом соответственно. Наличие фальсифицирующих ингредиентов определяли визуально по изменению окраски индикаторных зон.

Наличие крахмала в фальсифицированном молоке устанавливали по появлению синей окраски индикаторной бумаги, содержащей KI [19]. Интенсивность окраски бумаги определяли цветометрическим методом с использованием смартфона. Установлена прямолинейная зависимость параметров RGB от концентрации крахмала в диапазоне 0–100 г/л.

Экспрессным и представляющим большой практический интерес является подход, описанный в работе [20]. Для идентификации сливочного масла и выявления его фальсификатов предложен простой метод с использованием нейронных сетей, обученных акустическим частотным характеристикам различных масел. Алгоритм распознавания данных искусственным интеллектом встроен в мобильное приложение. Потребители могут проверить органический

статус продукта, используя звуковые вибрации через динамик своего смартфона.

Предложен простой способ установления фальсификации козьего молока путем разбавления его более дешевым коровьим [21]. Дифференциация основана на наличии каротиноидов в коровьем молоке, имеющем желтоватый оттенок, в то время как в козьем молоке β -каротин превращен в ретинол. Цвет молока определяли сканированием его в полистирольном планшете. Полученные значения RGB обрабатывали хемометрическими алгоритмами.

Получившие наибольшее распространение приемы оценки подлинности молочной продукции нуждаются в должном аппаратном оформлении, наличии квалифицированного персонала, приобретении расходных и комплектующих материалов.

В данной работе нами продемонстрирована возможность использования метода цифровой цветометрии [22, 23] для идентификации и аутентификации молочных продуктов простым и доступным способом с применением смартфона и бесплатного приложения PhotoMetrix PRO®.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Устройства для анализа. Использовали устройства-боксы (9×12×9, 4×12×9 см), напечатанные на 3D-принтере, с установленной УФ-светодиодной матрицей SHL0020UV (390 нм) и блоком питания на 4.5 В (три элемента питания AA). Пробы размещали в стрипованных планшетах для иммуноферментного анализа с отламывающимися лунками из полистирола (SPL, Корея). Интенсивность флуоресценции регистрировали смартфоном Samsung SM-A715F с установленным приложением PhotoMetrix PRO® (рис. 1).

Пробоподготовка. Пробы для анализа приобретали в супермаркетах г. Владимира, Республике Ирак, а также использовали пробы, поступившие в рамках мониторинга во Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»). Лунки планшета при анализе молока, кефира, сметаны заполняли с помощью медицинского шприца без иглы (емк. 2 мл) или с помощью медицинского шпателя при анализе творога и сливочного масла с выравниванием их поверхности (рис. 2).

Анализ. Подготовленные лунки с пробой устанавливали в ячейки планшета с координатами D×5, 6...9, поочередно вводили на



Рис. 1. Устройства для цветометрического анализа.



Рис. 2. Заполнение лунок планшета пробами.

середину смотрового окна, прикладывали камеру смартфона к окну с захватом середины лунки в области (ROI) 32×32 , 64×64 или 96×96 пикселей и фотографировали с переменным фокусированием (infinity), автоматическим балансом белого (white balance auto, при использовании белого планшета) и разрешением камеры (resolution) 640×480 (рис. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что молочный жир флуоресцирует при облучении УФ-светом (390 нм) розовым цветом. Наоборот, растительные и животные жиры флуоресцируют в основном синим, голубым или фиолетовым цветами (рис. 4). Данный эффект положен нами в основу определения массовой доли молочного жира цветометрическим методом в молочной продукции и установления фактов фальсификации путем замены молочного жира растительными или животными жирами.

Следует отметить, что при малой концентрации молочного жира в молочных продуктах (менее 30%) визуальное наблюдение цвета осуществить невозможно (молоко, сметана, творог, кефир). В этом случае помогает цветометрический анализ с использованием смартфона.

Для идентификации сливочного масла (61.5–99% молочного жира) визуальное наблюдение возможно – удалось проследить зависимость интенсивности розового свечения от концентрации молочного жира. В случае маргарина или фальсифицированного растительными жирами сливочного масла наблюдали синее (оттенки синего) свечение.

PhotoMetrix PRO®. Приложение для смартфонов PhotoMetrix PRO® на платформе Android предназначено для одномерного (зависимость аналитического сигнала от одного параметра) и многомерного (зависимость аналитического сигнала от многих параметров – цветовых каналов) цветометрического анализа различных объектов [24–27]. В данной работе рассматривали применение PhotoMetrix PRO® для анализа молочных продуктов.

Многомерный анализ (multivariate analysis). Многомерный анализ с использованием цветометрических каналов R, G, B, H, S, V, L и I позволяет использовать алгоритмы методов главных компонент (PCA), иерархического кластерного анализа (HCA) и частичной регрессии метода наименьших квадратов (PLS). Используя данные алгоритмы, можно идентифицировать объекты анализа, установить факт фальсификации и определить концентрацию по градуировочной зависимости, рассчитанной методом PLS.

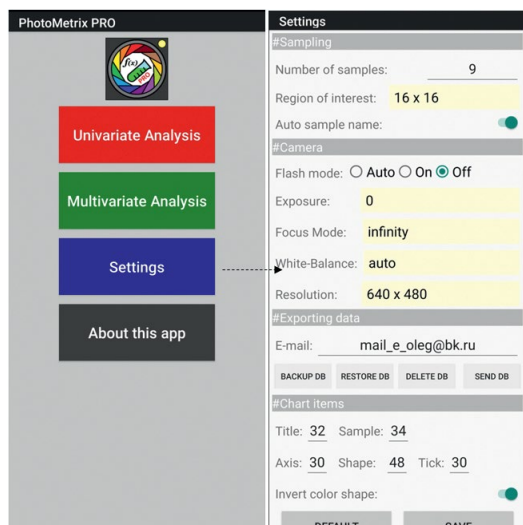


Рис. 3. Установка параметров анализа в PhotoMetrix PRO.



Рис. 4. Цвет флуоресценции жира свиного (1), маргарина (2), масла сливочного (3), жира бараньего (4), жира говяжьего (5), масла пальмового (6).

Рассмотрим применение многомерного анализа на примере анализа масла сливочного. В качестве стандартов использовали сладко-сливочное несоленое масло молочного завода “Суздальский” с массовой долей молочного жира 61.5% (бутербродное, ГОСТ Р 52253-2004), 72.5, 82.5% (“Крестьянское”, ГОСТ 32261-2013), масло топленое “Молградь” 99% (ГОСТ 32262-2013). Соответствие содержанию массовой доли жира определяли по стандартной методике [28].

Визуальное наблюдение и использование метода главных компонент (алгоритм PCA) для идентификации сливочного масла. При визуальном наблюдении оценивали окраску и ее интенсивность (розовое свечение – натуральный молочный продукт). При использовании алгоритмов PCA анализируемые продукты помещали в лунки планшета и проводили фотографирование в разделе Sampling. Графический результат можно посмотреть в разделе Re-Processing (рис. 5а). Используя иерархический кластерный анализ (алгоритм HCA), можно посмотреть полученную дендрограмму (устанавливается автоматически после использования алгоритма PCA) (рис. 5б).

На рис. 6 показаны полученные графики PCA и HCA для исследованного сливочного масла и маргарина. Как видно, сливочное масло с различной массовой долей жира (пробы 1–4) располагается в отдельных кластерах (квадранты 2 и 4), маргарина (пробы 5, 6), напротив, располагаются в квадрантах 1 и 3.

Используя данное приложение, очень легко провести аутентификацию (видовая принадлежность) молока (алгоритмы PCA и HCA). На рис. 7 представлены результаты определения вида молока по графикам PCA и HCA. Как видно, каждый вид молока располагается в отдельных квадрантах и кластерах.

Использование частичной регрессии метода наименьших квадратов (алгоритм PLS) для определения массовой доли жира. В этом случае для анализа использовали градуировочные зависимости концентраций стандартных образцов от предсказанных (рассчитанных методом PLS). На рис. 8 показана последовательность операций при работе с данным алгоритмом в PhotoMetrix PRO. Алгоритм PLS удобно использовать при определении концентрации молочного жира в пробах: задается концентрация, указанная на упаковке, в ответ выдается концентрация, рассчитанная в ходе анализа (OUTPUT SAMP, рис. 8б). С использованием исследуемых проб сливочного масла построены градуировочные зависимости с применением алгоритма PLS (число параллельных определений равно трем). Получена градуировочная зависимость ($y = 0.995x + 0.401$) с коэффициентом детерминации 0.995.

Одномерный анализ (univariate analysis). Одномерный анализ позволяет определить концентрацию по градуировочной зависимости, рассчитанной методом наименьших квадратов по отдельным выбранным цветометрическим каналам R, G, B, H, S, V, L и I (рис. 9). В табл. 1 приведены результаты определения массовой доли жира в молочной продукции с применением многомерного (сливочное масло) и одномерного (кефир, молоко, творог, сметана; по цветовому каналу B анализа. Как видно, относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.16.

* * *

Продемонстрировано применение УФ-устройств, напечатанных на 3D-принтере, и приложения PhotoMetrix Pro для смартфонов в анализе молочных продуктов (молока питьевого, сметаны, кефира, творога и сливочного масла). Использованы алгоритмы

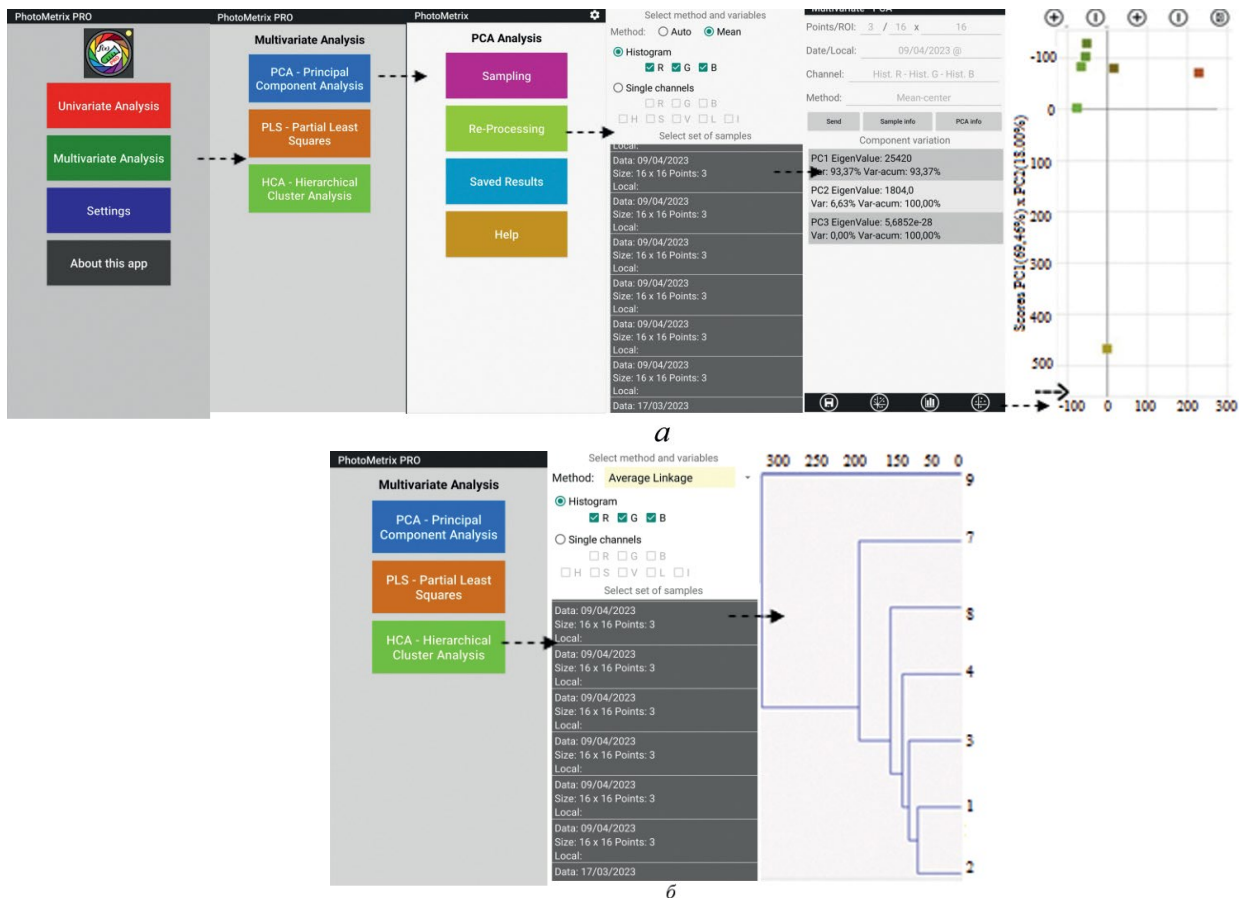


Рис. 5. Использование алгоритмов PCA (а) и HCA (б) в PhotoMetrix PRO при анализе молочных продуктов.

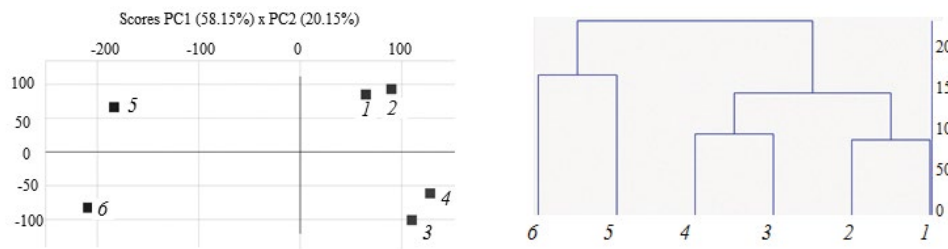


Рис. 6. График PCA и дендрограмма HCA. Масло сливочное: молочный завод “Суздальский” – 61.5% (1), 72.5% (2), 82.5 % (3); молочный завод “Судогодский” – 72.5% (4), маргарин “Хозяюшка” – 60% (5), растительно-сливочный продукт “Буренкин луг” – 72.5% (6).

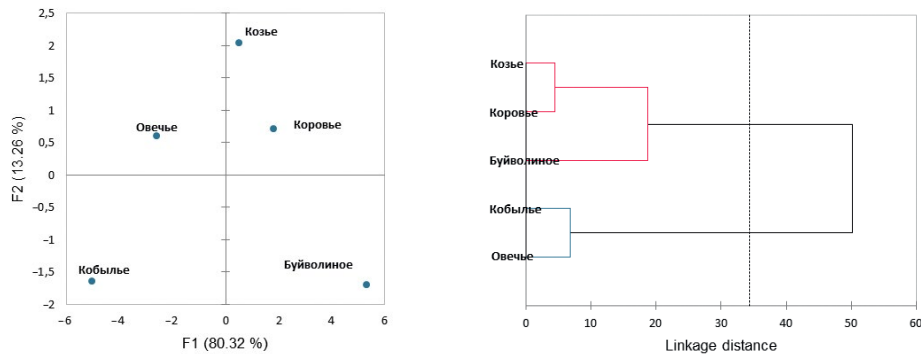
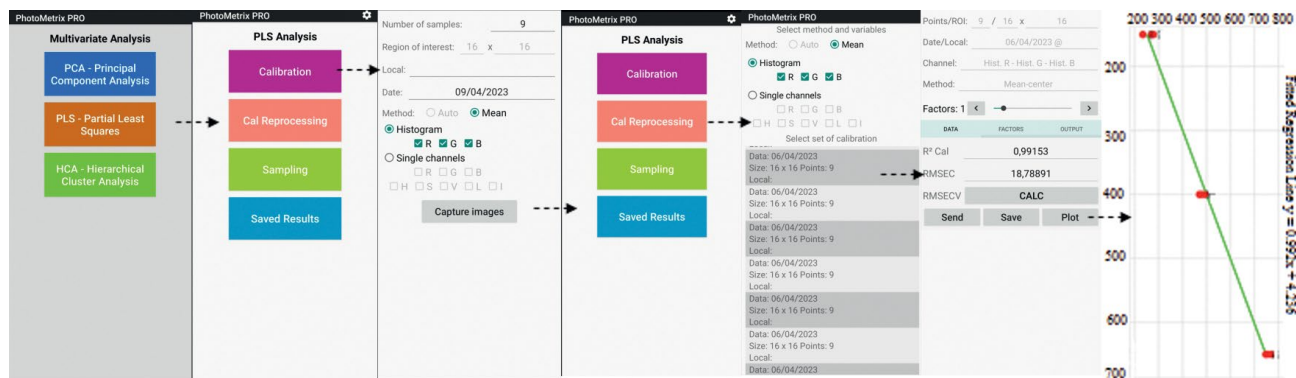
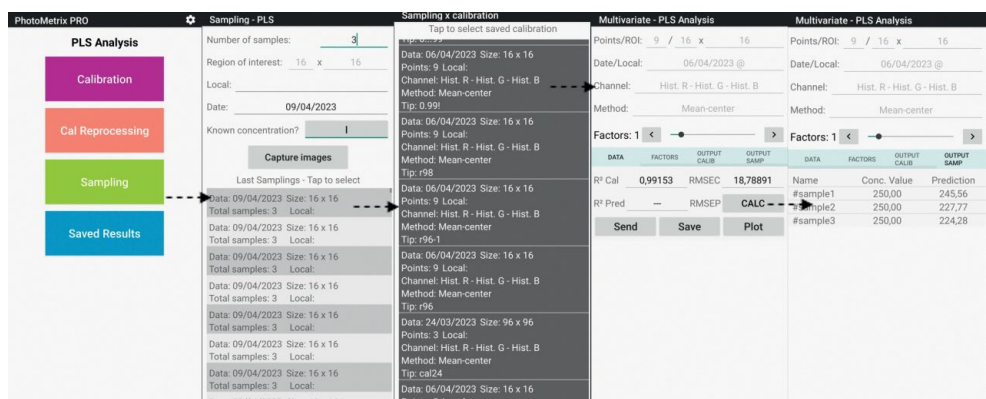


Рис. 7. График PCA для аутентификации молока (а) и дендрограмма HCA (б).

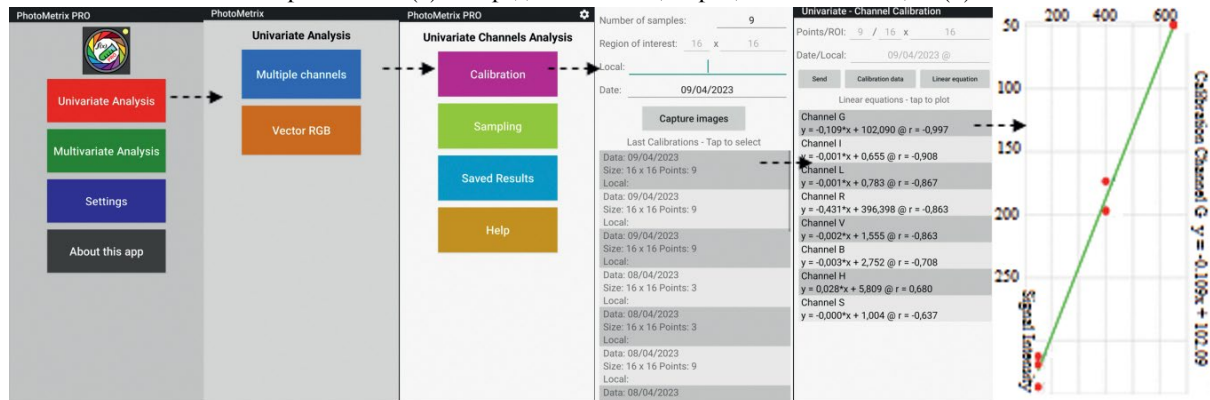


а

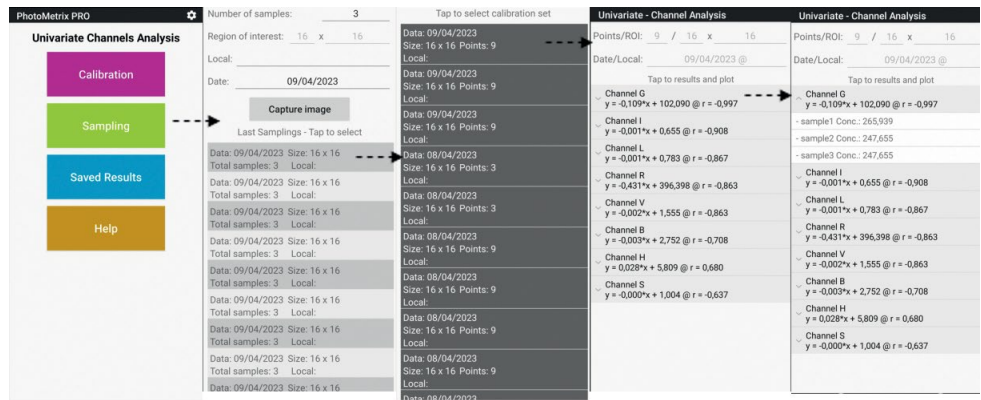


б

Рис. 8. Использование алгоритма PLS (а) и определение концентрации с его помощью (б) в PhotoMetrix PRO.



а



б

Рис. 9. Одномерный анализ в PhotoMetrix PRO. Получение градуировочной зависимости (а) и определение концентрации (б).

Таблица 1. Результаты анализа молочной продукции ($n = 3$, $P = 0.95$)

Продукт	Массовая доля жира, %	Уравнение градуировочной зависимости	R^2	Найдено, %	s_r
Молоко “Суздальское”	1.5	$y = 13.30x + 144.7$	0.994	1.4±0.4	0.07
	2.5			2.6±0.3	0.05
	3.2			3.2±0.3	0.04
	3.7			4.3±0.9	0.12
Кефир “Искренне Ваш”	1	$y = 8.047x + 163.6$	0.994	0.9±0.2	0.14
	2.5			2.2±0.5	0.09
	3.2			3.6±0.8	0.09
Творог “Простоквашино”	2	$y = 5.716x + 148.5$	1.00	2.3±0.5	0.16
	5			4.9±0.6	0.05
	9			9±1	0.05
Сметана “Простоквашино”	10	$y = 3.32x + 120.9$	0.997	11±2	0.09
	15			15±1	0.03
	20			20±1	0.03
	25			26±3	0.05
Сливочное масло, молочные заводы “Суздальский”, “Молградь”	61.5	$y = 0.995x + 0.401$	0.995	60±2	0.02
	72.5			74±4	0.04
	82.5			81±5	0.04
	99.0			99±3	0.03

хеометрики — методы главных компонент, наименьших квадратов, частичной регрессии и иерархический кластерный анализ для определения концентрации молочного жира и установления фактов фальсификации молочных продуктов.

Проводили идентификацию сливочного масла и оценивали видовую принадлежность молока визуально, методами главных компонент и иерархического кластерного анализа. Концентрацию молочного жира в молочных продуктах определяли методами одномерного и многомерного анализа. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышало 0.16.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ 32261-2013. Межгосударственный стандарт. Масло сливочное. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2019. 19 с.
- ГОСТ 31452-2012. Межгосударственный стандарт. Сметана. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 8 с.
- ГОСТ Р 52096-2003. Государственный стандарт Российской Федерации. Творог. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2008. 6 с.
- ГОСТ Р 52253-2004. Национальный стандарт Российской Федерации. Масло и паста масляная из коровьего молока. Общие технические условия. М.: Стандартинформ, 2004. 9 с.

5. ГОСТ 31450-2013. Межгосударственный стандарт. Молоко питьевое. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 7 с.
6. ГОСТ 31454-2012. Межгосударственный стандарт. Кефир. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 8 с.
7. *Mohanty T.J., Sahoo J.P., Samal K.C.* Common milk adulteration in India and rapid detection techniques // *Food Sci. Reports.* 2020. V. 1. № 10. P. 59. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.13140/RG.2.2.30007.44963](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30007.44963)
8. *Zachar P., Soltes M., Kasarda R., Novotny J., Novikmecova M., Marcincakova D.* Analytical methods for the species identification of milk and milk products // *Mljekarstvo.* 2011. V. 3. № 63. P. 199.
9. *Musa M. A., Yang S.* Detection and quantification of cow milk adulteration using portable near-infrared spectroscopy combined with chemometrics // *African J. Agric. Res.* 2020. V. 112. № 2. P. 198. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.5897/ajar2020.15321](https://doi.org/10.5897/ajar2020.15321)
10. *Ullah R., Khan S., Ali H., Bilal M.* Potentiality of using front face fluorescence spectroscopy for quantitative analysis of cow milk adulteration in buffalo milk // *Spectrochim. Acta A.* 2020. V. 225. Article 117518. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.saa.2019.117518](https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117518)
11. *Karoui R., Baerdemaeker J.D.* A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products // *Food Chem.* 2007. V. 102. P. 621. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.foodchem.2006.05.042](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.042)
12. *Hosseini E., Ghasemi J.B., Daraei B., Asadi G., Adib N.* Near-Infrared spectroscopy and machine learning-based classification and calibration methods in detection and measurement of anionic surfactant in milk // *J. Food Compos. Anal.* 2021. V. 104. Article 104170. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.jfca.2021.104170](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104170)
13. *Naktiyok J., Dogan T.H.* A research on the detection of fake butter by traditional and modern methods // *J. Eng. Sci. Design.* 2021. V. 9. № 2. P. 453. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.21923/jesd.790310](https://doi.org/10.21923/jesd.790310)
14. ГОСТ 31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. М.: Стандартинформ, 2019. 12 с.
15. ГОСТ 31979-2012. Молоко и молочные продукты. Метод обнаружения растительных жиров в жировой фазе газожидкостной хроматографией стерильных. М.: Стандартинформ, 2014. 13 с.
16. *Nurrulhidayah F.A., Rohman A., Salleh R.A., Amin I., Shuhaimi M., Farahwahida M.Y., Rashidi O., Aizat J.M., Khatib A.* Authentication of butter from lard adulteration using high-resolution of nuclear magnetic resonance spectroscopy and high-performance liquid chromatography // *Int. J. Food Properties.* 2017. V. 20. Article 1233428. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1080/10942912.2016.1233428](https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1233428)
17. *Kucheryavskiy S., Melenteva A., Bogomolov A.* Determination of fat and total protein content in milk using conventional digital imaging // *Talanta.* 2014. V. 121. P. 144. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.talanta.2013.12.055](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.12.055)
18. *Younas M., Maryam A., Khan M., Nawaz A.A., Jaffery S.H.I., Anwar M.N., Ali L.* Parametric analysis of wax printing technique for fabricating microfluidic paper-based analytic devices (μ PAD) for milk adulteration analysis // *Microfluid. Nanofluidics.* 2019. V. 23. Article 38. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1007/s10404-019-2208-z](https://doi.org/10.1007/s10404-019-2208-z)
19. *Govindarajalu A.K., Ponnuchamy M., Sivasamy B., Prabhu M.V., Kapoor A.A.* Cellulosic paper-based sensor for detection of starch contamination in milk // *Bull. Mater. Sci.* 2019. V. 42. Article 255. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1007/s12034-019-1958-2](https://doi.org/10.1007/s12034-019-1958-2)
20. *Iymen G., Tanriver G., Hayirlioglu Y.Z., Ergen O.* Artificial intelligence-based identification of butter variations as a model study for detecting food adulteration // *J. Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 2020. V. 66. Article 102527. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.ifset.2020.102527](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102527)
21. *Pereira E.V.S., Fernandes D.D.S., Almeida L.F., Maciel M.S., Dias Diniz P.H.P.* Goat milk authentication by one-class classification of digital image-based fingerprint signatures: Detection of adulteration with cow milk // *Microchem. J.* 2022. V. 180. Article 107640. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.microc.2022.107640](https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107640)
22. *Моногарова О.В., Осколок К.В., Аняри В.В.* Цветометрия в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 11. С. 857. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1134/S0044450218110063](https://doi.org/10.1134/S0044450218110063)
23. *Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Амелин В.Г.* Использование смартфона в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 4. С. 317. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.31857/S0044450223030131](https://doi.org/10.31857/S0044450223030131)
24. *Böck F. C., Helfer G. A., da Costa A. B., Dessuy M. B., Ferrao M. F.* PhotoMetrix and colorimetric image analysis using smartphones // *J. Chemometrics.* 2020. V. 34. Article 12. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1002/cem.3251](https://doi.org/10.1002/cem.3251)
25. *Helfer G. A., Magnus V. S., Böck F. C., Teichmann A., Ferrao M. F., da Costa A. B.* PhotoMetrix: An application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices // *J. Braz. Chem. Soc.* 2017. V. 28. № 2. P. 328. DOI: 10.5935/0103-5053.20160182
26. *Rateni G., Dario P., Cavallo F.* Smartphone-based food diagnostic technologies: A review // *Sensors.* 2017. V. 17. P. 1453. DOI: 10.3390/s17061453
27. *Rezazadeh M., Seidi S., Lid M., Pedersen-Bjergaard S., Yamini Y.* The modern role of smartphones in analytical chemistry // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 118. P. 548. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1016/j.trac.2019.06.019](https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.019)
28. ГОСТ 5867-90. Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Методы определения жира. М.: Стандартинформ, 1991. 10 с.