

УДК 637.07

Е.В. Топникова, Ю.В. Никитина, Е.Г. Овчинникова, Т.Э. Муничева
ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Углич

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОБОСНОВАНИЮ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА НЕКОТОРЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Приведены результаты исследований по применению капиллярного электрофореза для оценки содержания лактозы в сливках в сравнении с расчетным методом. Обоснованы методы контроля массовой доли лактозы и продуктов ее гидролиза в молочных продуктах с редуцированным содержанием лактозы. Методы применимы для молока разной жирности, сливок, пахты и молочной плазмы, выделенной из сливочного масла.

Ключевые слова: сливки, молоко, массовая доля, лактоза, глюкоза, галактоза, капиллярный электрофорез

Знание о содержании углеводов в молоке и молочных продуктах важно как с точки зрения вынесения этой информации на упаковку в составе его пищевой ценности, так и для оценки динамики изменений этого компонента в процессе изготовления или хранения. Особенно важен данный показатель, когда имеется необходимость подтвердить статус безлактозных или низколактозных продуктов. Технология получения последних предусматривает расчет и внесение требуемого количества фермента в зависимости от исходной массовой доли лактозы в ферментируемом сырье. Этот показатель среди прочих (масса исходного сырья, требуемая степень гидролиза, заданная температура и продолжительность процесса) закладывают в так называемый «калькулятор», предлагаемый отдельными производителями ферментов. В его основу заложена расчетная формула, объединяющая все параметры ферментирования, что упрощает работу технологов. При этом, как правило, для внутрипроизводственного контроля массовую долю лактозы в перерабатываемом молоке определяют ускоренным методом, используя приборы, измерение в которых основано на ультразвуковых или инфракрасных методах (Лактан, Лактоскан, Инфомилк, ЭкспертПрофи, Bruker, Foss, и др.). Это обусловлено тем, что такие методы, как: поляриметрический, Бертрана, феррицианидный и йодометрический длительны, а метод высокоэффективной жидкостной хроматографии вовсе не применим на производстве [1].

Необходимо отметить, что далеко не все производители ферментов предлагают «калькулятор» для расчета количества вносимого фермента, ограничиваясь рекомендациями по его использованию в широких диапазонах с учетом того, что изготовители молочной продукции работают с разными объектами ферментирования (молоко и сливки разной жирности, сыворотка и пр.) и применяют разные температурно-временные параметры процесса гидролиза.

Если речь идет об определении лактозы в сливках, то производители идут по пути того, что в формулу для гидролиза молока подставляют значение массовой доли лактозы в сливках, определенное также ускоренным методом. При этом следует отметить, что только отдельные приборы для экспресс-анализа имеют калибровку по сливкам массовой долей жира до 20 %. Погрешность измерения по лактозе при этом составляет 0,2 %. Использование таких приборов для оценки сливок большей жирности требует дополнительной калибровки, в противном случае погрешность измерения будет увеличиваться.

В процессе ферментативного гидролиза лактозы изменяется углеводный состав продукта. Это приводит к тому, что заложенные в экспресс-анализаторы расчетные формулы перестают работать не только на таком объекте, как сливки, но и на нормализованном молоке, пахте и молочной плазме, выделенной из масла. Поэтому встает вопрос, какие методы можно дополнительно применить при оценке массовой доли лактозы и продуктов ее гидролиза при производстве целого ряда молочных продуктов.

Существует метод определения массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза для продуктов детского питания по ГОСТ 33527-2015 [2]. В настоящей работе была поставлена задача по оценке его применимости для определения лактозы в сливках, плазме сливочного масла, ферментированной пахте.

В работе использовали прибор «Капель-105М» с диапазоном измерений углеводов от 0,50 % до 10,00 %. Наименьший видимый на электрофореграмме предел обнаружения, установленный по стандарту лактозы – 0,30 %, при отсутствии пика лактозы фиксировалось ее нулевое содержание.

Прямое применение данного метода показало, что указанная в нем пробоподготовка не дает возможности получить углеводосодержащий фильтрат высокой очистки, вследствие чего засоряется капилляр и искажается результат измерения. В связи с этим были проведены исследования по усовершенствованию пробоподготовки сливок (молока, пахты и молочной плазмы), обеспечивающей получение прозрачного фильтрата, содержащего только молекулярный раствор углеводов за счет удаления из раствора продукта жира и белков. Согласно пробоподготовке, приведенной в ГОСТ Р 54667-2011 [3], для обеспечения полноты выделения углеводов в раствор пробы добавляли уксуснокислый цинк и железистосинеродистый калий и проводили фильтрацию через бумажный фильтр, а для полного разделения лактозы, глюкозы и галактозы применяли фоновый электролит, рекомендуемый методикой определения массовой доли сахаров в напитках, плодоовощной продукции, БАД, меде по [4]. Данный метод пробоподготовки и измерения также может быть применен для оценки углеводного состава сыров.

Электрофореграмма, подтверждающая правильность выбранного подхода к разделению моно- и дисахаридов, которые могут присутствовать в молоке и сливках в процессе их ферментативного гидролиза, приведена на рис. 1 на примере разделения раствора химически чистых веществ сахаров (глюкозы, галактозы и лактозы) в концентрациях 2,5 г/дм³.

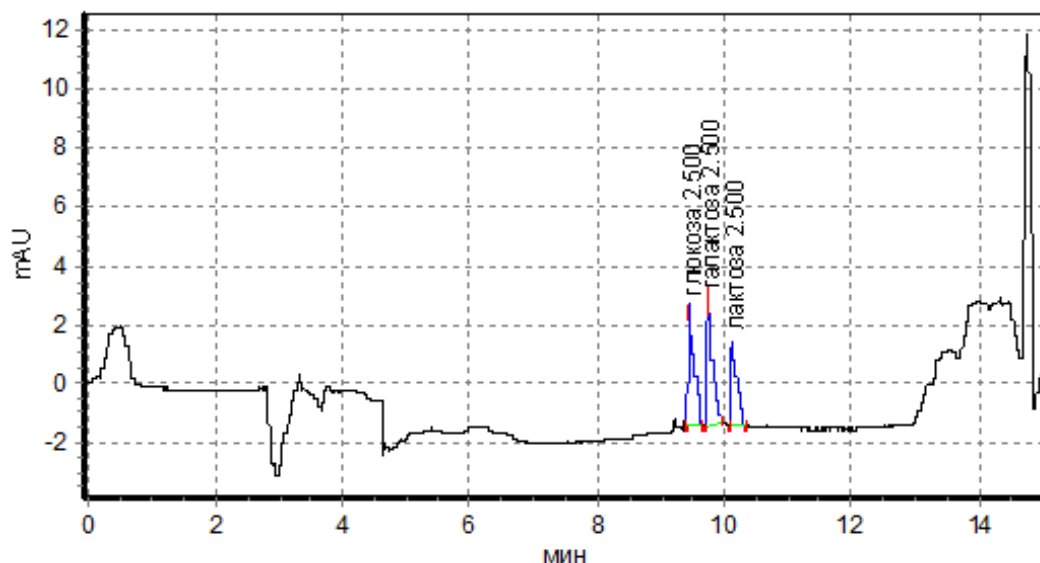


Рисунок 1. Электрофореграмма стандартного раствора сахаров (2,5 г/дм³ глюкозы, 2,5 г/дм³ галактозы, 2,5 г/дм³ лактозы)

Результаты неоднократной проверки работы прибора по способности к разделению указанных выше сахаров в растворах концентрацией 2,5 г/дм³ и 1,0 г/дм³, приведенные в табл. 1, показали следующее: отклонение измеряемых величин не превышает допустимой по ГОСТ 33527-2015 относительной погрешности метода ($\pm 18\%$). Это позволяет применять данный метод как для оценки содержания лактозы в исходном сырье, так и при последующем изучении динамики ее изменения.

Таблица 1

Результаты определения сахаров методом капиллярного электрофореза в стандартных растворах разной концентрации

№ образца	Массовая доля сахаров, г/дм ³					
	внесено			измерено		
	глюкозы	галактозы	лактозы	глюкозы	галактозы	лактозы
1	2,5	2,5	2,5	2,500	2,500	2,500
2	2,5	2,5	2,5	2,597	2,562	2,603
3	2,5	2,5	2,5	2,505	2,455	2,474
4	2,5	2,5	2,5	2,531	2,644	2,573
5	1,0	1,0	1,0	1,000	1,000	1,000
6	1,0	1,0	1,0	0,986	0,983	1,017
7	1,0	1,0	1,0	0,991	0,979	1,003
8	1,0	1,0	1,0	1,068	1,049	1,081

Примечание: в экспериментах использовали как свежеприготовленные растворы, так и растворы сахаров в пределах допустимого срока хранения в условиях холодильника. Погрешность взвешивания химически чистых веществ (глюкозы, галактозы и лактозы) при проведении исследований составляла $\pm 0,0002$ г.

С использованием данного метода определены показатели массовой доли лактозы в сливках стандартного состава разной жирности, приведенные в табл. 2.

Таблица 2

**Физико-химические показатели сливок-сырья
для производства продуктов маслоделия**

№ образца сливок	Массовая доля, %					Кислотность	
	жир	влага	СОМО	белок	лактоза	титруемая, °Т	активная, ед. рН
1	33,0	61,4	5,3	1,9	3,2	14,0	6,62
2	33,0	61,1	5,9	2,0	3,4	15,0	6,68
3	35,0	59,4	5,6	1,8	3,3	16,0	6,78
4	35,0	59,2	5,8	2,0	3,3	14,0	6,64
5	37,0	57,3	5,7	1,9	3,2	14,0	6,70
6	39,0	55,9	5,1	1,6	3,0	15,0	6,82
7	40,0	55,0	5,0	1,7	2,9	13,0	6,72
8	40,0	54,6	5,3	1,8	3,1	14,0	6,68
9	40,0	54,5	5,5	1,7	3,2	13,0	6,78
10	42,0	53,2	5,0	1,6	2,7	14,0	6,68
11	43,0	52,3	4,7	1,6	2,8	13,0	6,72
12	45,0	50,1	4,6	1,6	3,0	12,0	6,82
13	45,0	49,5	5,5	1,9	3,1	13,0	6,68
14	47,0	48,6	4,4	1,5	2,5	12,0	6,72
15	47,0	48,1	4,9	1,7	2,7	14,0	6,78

Примечание: Измерение лактозы проведено с точностью до второго знака с округлением до первого десятичного знака.

Как видно из представленных данных, массовая доля лактозы в сливках составляет:

- при массовой доле жира (35±2) % – в среднем (3,3±0,1) %;
- при массовой доле жира (40±2) % – (3,0±0,2) %;
- при массовой доле жира (45±2) % – (2,8 ±0,2) %.

Различия между средними значениями показателей лактозы не превышают 0,2 %, что укладывается в границы относительной погрешности измерения (±18 % от измеренной величины, равной 0,2–0,6 % лактозы в абсолютном выражении).

Проверка адекватности полученных с помощью данного метода измеренных значений проведена в сравнении с данными расчетного метода определения лактозы в сливках. При расчетах принимали во внимание, что:

- массовая доля СОМО в натуральных сливках исследуемой жирности составляет от 8,33 %¹⁵ до 10,00 %¹⁶ от массовой доли их молочной плазмы (среднее значение 9,165 %),

¹⁵ По ГОСТ 33628-2015 «Сливки сырье. Методы определения фальсификации» [5].

- массовая доля белка составляет не менее 34 % от массовой доли СОМО [6];
- массовая доля минеральных компонентов в сливках в среднем составляет 0,5–0,6 % [7].

При этом последовательность расчета содержит ряд вычислений, произведенных с помощью электронных таблиц программы Excel, включающих:

- определение расчетным методом массовой доли молочной плазмы в сливках (100 % минус массовая доля жира);
- определение массовой доли СОМО в молочной плазме сливок;
- определение массовой доли белка в молочной плазме сливок (34 % от массовой доли СОМО);
- установление массовой доли лактозы по разности массовых долей: СОМО минус белок минус минеральные вещества (0,5¹⁷).

Результаты расчетных значений показателей состава сливок исследованной жирности, в т.ч. лактозы, приведены в табл. 3.

Таблица 3

Расчетные значения содержания лактозы в сливках разной жирности

Массовая доля, %					
жира	молочной плазмы	влаги	СОМО	белка	лактозы
33	60,8	67	6,2	2,1	3,6
34	59,9	66	6,1	2,1	3,5
35	59,0	65	6,0	2,0	3,4
36	58,1	64	5,9	2,0	3,4
37	57,2	63	5,8	2,0	3,3
38	56,3	62	5,7	1,9	3,3
39	55,4	61	5,6	1,9	3,2
40	54,5	60	5,5	1,9	3,1
41	53,6	59	5,4	1,8	3,1
42	52,7	58	5,3	1,8	3,0
43	51,8	57	5,2	1,8	3,0
44	50,8	56	5,2	1,8	2,9
45	49,9	55	5,1	1,7	2,8
46	49,0	54	5,0	1,7	2,8
47	48,1	53	4,9	1,7	2,7

Примечание: Данные приведены при среднем значении массовой доли СОМО в молочной плазме сливок – 9,165 %.

¹⁶ Максимально возможные фактические значения, получаемые при сепарировании молока с повышенным содержанием СОМО.

¹⁷ Принятый при расчетах показатель массовой доли минеральных веществ в сливках, %.

Как видно из представленных данных расчетная массовая доля лактозы в сливках составляет:

- при массовой доле жира (35 ± 2) % – в среднем ($3,4 \pm 0,1$) %;
- при массовой доле жира (40 ± 2) % – ($3,1 \pm 0,1$) %;
- при массовой доле жира (45 ± 2) % – ($2,8 \pm 0,1$) %.

Сравнение результатов определения массовой доли лактозы расчетным методом (табл. 3) и с помощью капиллярного электрофореза (табл. 2) показало, что они близки между собой. Поэтому при отсутствии соответствующего приборного обеспечения на производстве для обоснования показателя массовой доли лактозы в сливках, указываемого в маркировке, а также определения дозы внесения фермента может применяться расчетное значение массовой доли лактозы в сливках.

Для оценки динамики изменения лактозы и продуктов ее гидролиза расчетный метод становится не пригодным в связи с нарушением соотношений между исходными компонентами. Поэтому в данном случае капиллярный электрофорез остается единственным возможным методом контроля, доступным для использования в производственных условиях с наименьшим пределом измерения лактозы и продуктов ее ферментативного гидролиза 0,3–0,5 %. Но процедура описания пробоподготовки и методики измерения углеводного состава в исследованных объектах требует стандартизации.

Следует отметить, что в настоящее время более точным методом определения углеводного состава молочных продуктов остается высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием по ГОСТ Р 54760-2011 [8] с наименьшим пределом обнаружения моно- и дисахаридов 50 мг/дм^3 (0,005 %). Этот метод может использоваться для подтверждения соответствия остаточного количества лактозы требованиям «безлактозности» и «низколактозности» согласно ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции». Однако и он требует уточнений и расширения области применения, поскольку в настоящее время она ограничена молочными составными продуктами и продуктами детского питания на молочной основе. Метод капиллярного электрофореза может в этом случае использоваться только для предварительной оценки углеводного состава получаемого продукта.

Список использованной литературы:

1. **Никитина, Ю.В.** Технологические и методические аспекты производства низко- и безлактозных молочных продуктов / Ю.В. Никитина, Е.В. Топникова, О.В. Лепилкина, О.Г. Кашникова // Пищевые системы. 2021. 4(2). 144–153. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-2-144-153>
2. ГОСТ 33527-2015 Молочные и молочные составные продукты для детского питания. Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза. М.: Стандартинформ, 2016. 8 с.
3. ГОСТ Р 54667-2011 Молоко и продукты переработки молока. Определение массовой доли сахаров. М.: Стандартинформ, 2012. 24 с.
4. МИ 04-69-2011. Напитки, плодоовощная продукция, БАД, мед. Определение фруктозы, глюкозы и сахарозы методом капиллярного электрофореза. ООО «Люмекс». 36 с.
5. ГОСТ 33628-2015 Сливки сырые. Методы определения фальсификации. М.: Стандартинформ, 2019. 12 с.
6. ГОСТ 33629-2015 Молоко сухое. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2017. 9 с.

7. **Грищенко, А.Д.** Сливочное масло / А.Д. Грищенко. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 296 с.

8. ГОСТ Р 54760-2011 Молочные и молочные составные продукты для детского питания. Определение массовой доли моно- и дисахаридов Определение массовой концентрации моно- и дисахаридов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. М.: Стандартинформ, 2016. 18 с.