

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.068.8:543.426:543.062:577.182.99

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АУТЕНТИФИКАЦИЯ СУХОГО
КОРОВЬЕГО МОЛОКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СМАРТФОНА
И ХЕМОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

**Василий Григорьевич Амелин¹, Зин Алабдин Чалави Шаока², Дмитрий
Сергеевич Большаков³**

¹ Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича
и Николая Григорьевича Столетовых (ВлГУ)

² Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарствен-
ных средств для животных и кормов (ВГНКИ)

³ Центр гигиены и эпидемиологии в Владимирской области

Автор, ответственный за переписку: Василий Григорьевич Амелин, amelinvg@
mail.ru

Аннотация. Показана возможность идентификации и аутентификации сухого коровьего молока методом цветометрии собственной флуоресценции образцов с использованием смартфона и хемометрического анализа. Предложено принципиальное тест-устройство для непосредственного (прямого) цветометрического анализа сухого молока, исключающее стадию пробоподготовки. Возбуждение флуоресценции осуществляли портативным источником монохроматического УФ-излучения ($\lambda = 365$ нм). Цветометрические параметры флуоресценции сухого молока в пространстве RGB регистрировали с помощью камеры смартфона. Использовали хемометрическую обработку рассчитанного аналитического сигнала, позволяющую сократить время анализа и визуализировать данные исследования. Оценку массива данных цветометрических параметров флуоресценции (RGB) осуществляли методами главных компонент (principal component analysis, PCA) и иерархического кластерного анализа (hierarchical clustering analysis, HCA) с использованием программного обеспечения «XLSTAT».

Ключевые слова: идентификация и аутентификация сухого коровьего молока, цифровая цветометрия, RGB, смартфон, хемометрический анализ

Финансирование. Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» (ВлГУ).

Для цитирования: Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С. Идентификация и аутентификация сухого коровьего молока с использованием смартфона и хемометрического анализа // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. Т. 64. № 1. С. 49–59.

ORIGINAL ARTICLE

**IDENTIFICATION AND AUTHENTICATION OF COW'S MILK POWDER
USING A SMARTPHONE AND CHEMOMETRIC ANALYSIS**

Vasily G. Amelin^{1,2}, Zen Alabden Chalawi Shogah¹, Dmitry S. Bolshakov³

¹ Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs

² The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality

³ Center for Hygiene and Epidemiology in the Vladimir Region

Corresponding author: Vasily G. Amelin, amelinvg@mail.ru

Annotation. The possibility of identification and authentication of cow's milk powder by the method of chemical colorimetry of the samples' own fluorescence using a smartphone camera and chemometric analysis is shown. A fundamental test device for direct colorimetric analysis of powdered milk is proposed, excluding the stage of sample preparation. Fluorescence excitation was carried out with a portable source of monochromatic UV radiation ($\lambda = 365$ nm). Colorimetric parameters of powdered milk fluorescence in RGB space were recorded using a smartphone camera. We used chemometric processing of the calculated analytical signal, which made it possible to reduce the analysis time and visualize the study data. The evaluation of the data array of fluorescence colorimetric parameters (RGB) was carried out by principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering analysis (HCA) using the XLSTAT software.

Keywords: identification and authentication of cow's milk powder, digital colorimetry, RGB, smartphone, chemometric analysis

Financial Support. The study was carried out within the framework of budget financing of the Vladimir State University named after Alexander Grigoryevich and Nikolai Grigoryevich Stoletov (VISU).

For citation: Amelin V.G., Shogah Z.A.Ch., Bolshakov D.S. // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. T. 64. N 1. P. 49–59.

Задача выявления фальсификации пищевой продукции затруднительна вследствие многокомпонентности состава, особенностей климатических и геологических условий региона происхождения, характера антропогенного воздействия. Разработанные подходы для проведения идентификации и аутентификации пищевых продуктов весьма сложны и разнообразны [1–7]. К основным инструментам следует отнести методы химического фингерпринтинга (техника «отпечатков пальцев») [1], масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой [2–4], масс-спектрометрии изотопных отношений [4, 5], газовой хроматографии – масс-спектрометрии изотопных отношений [6] и ИК-Фурье-спектроскопии [7]. Представленные научные разработки трудозатратны, дорогостоящи, требуют формирования библиотеки оригинальных образцов заранее установленно-го происхождения.

Сухое коровье молоко является экономически важным продуктом, поскольку широко применяется в пищевой промышленности для изготовления значительного ассортимента молочной продукции, в том числе детского питания. Его популярность обусловлена низкой стоимостью транспортировки и возможностью длительного хранения при комнатной температуре. Однако и сухое молоко становится объектом фальсификации путем добавления сухой

сырówki, а также муки, мела, крахмала, извести, гипса [8].

Для установления подлинности сухого цельного и обезжиренного молока рассмотрены возможности методов сканирующей электронной микроскопии и термического анализа (комбинации дифференциально-термического анализа и термогравиметрии) [8]. В результате проведенных исследований установлено, что наличие в образцах частиц вытянутой формы размером от 100 до 400 мкм коррелирует с содержанием крахмала. При использовании метода дифференциального термического анализа идентификационным признаком сухого молока является эндоэффект в области 200 °С, связанный с термораспадом лактозы. Сопоставляя величины эндоэффекта термораспада обезвоженных амилозы и амилопектина для опытных образцов и крахмала, можно определить массовую долю крахмала в исследуемом объекте.

В работе [9] показан потенциал метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой и лазерной абляции, а также нейтронно-активационного анализа для идентификации географического происхождения образцов сухого молока. В качестве стандартного образца использовали сертифицированный референтный материал IAEA-153. В общей сложности было проанализировано 68 аутентичных образцов сухого молока, выработанных в нескольких лока-

лизованных областях пяти различных стран (Аргентина, Россия, Сингапур, Словения и США). Представленная выборка не учитывала возможную изменчивость элементного состава объектов внутри страны. Среди общего профиля элементов были выбраны Na, Mg, Ca, Rb и Sr для подлежащей дифференциации образцов. Поскольку в работе не рассматривали разброс концентрации элементов внутри отдельных стран, это вызвало определенные трудности в должной идентификации. Например, ограниченное меню элементов не позволило отличить российские образцы молока от образцов из Аргентины, США и Словении. Однако несколько образцов из Сингапура сильно отличались от образцов из сушильных установок в США и Словении, а также от образцов из России. Данные лабораторий-участников показывают, что создание базы данных является жизнеспособным вариантом, а добавление подлинных образцов из заинтересованных стран и географических регионов может способствовать развитию такого подхода для обнаружения коммерческой продукции с мошеннической маркировкой.

Представлены варианты применения методов спектроскопии в ближней инфракрасной области и рамановской спектроскопии (спектроскопии комбинационного рассеяния, КР) для аутентификации и обнаружения фальсификации сухого молока от крупного рогатого скота [10–13]. В исследовании [12] изучен потенциал химической визуализации на основе данных метода спектроскопии КР для одновременного обнаружения нескольких примесей в сухом молоке. Потенциальные химические примеси, включая сульфат аммония, дициандиамид, меламин и мочевины, смешивали с обезжиренным сухим молоком в диапазоне концентраций от 0,1 до 5,0% каждого компонента. Для получения гиперспектральных изображений в диапазоне волновых чисел $102\text{--}2538\text{ см}^{-1}$ была собрана настольная система рамановской визуализации с точечным сканированием при использовании лазера с длиной волны 785 нм. Каждая смесь визуализировалась на площади $25\times 25\text{ мм}^2$ с пространственным разрешением 0,25 мм. Для извлечения спектров чистых компонентов применяли само моделирующий анализ, с помощью которого идентифицированы четыре типа примесей на всех уровнях концентрации на основе значений расхождения их спектральных данных относительно эталонных спектров. Химические изображения КР были созданы с помощью изображений по результатам само моделирующего

анализа. Продемонстрировано их использование для эффективной визуализации, идентификации и пространственного распределения множества частиц примесей в сухом молоке.

В рамках совершенствования методологии экспресс-анализа альтернативой описанным выше подходам для идентификации сухого молока является метод цифровой цветометрии. Цветометрические методы анализа набирают в последние годы все большую популярность, которая объясняется низкой себестоимостью единичного анализа, высокой мобильностью применяемого оборудования, возможностью обработки большого массива данных за счет привлечения доступных программных продуктов.

Цель данной работы состояла в разработке простого и доступного способа идентификации и аутентификации сухого коровьего молока с использованием метода цифровой цветометрии (посредством создания тест-устройства на основе смартфона) и хемометрического анализа.

Экспериментальная часть

Аппаратура и материалы. Для изучения оптических и цветометрических характеристик в качестве цветорегистрирующего устройства использовали смартфоны «iPhone X» и «iPhone XII» («Apple», США), оснащенные специализированным программным обеспечением «RGBer». Возбуждение флуоресценции проводили посредством источника монохроматического излучения с длиной волны 365 нм, в качестве которого использовали осветитель люминесцентный диагностический «Лампа Вуда ОЛДД-01» (Россия). В работе применяли микропробирки типа «Эппендорф» емкостью 0,5 мл («GenFollower Biotech Co.», Китай).

Проведение анализа. Используемые в работе образцы сухого молока приобретали в торговой сети г. Владимир (табл. 1). Для цветометрического исследования крышки микропробирок типа «Эппендорф» наполняли анализируемыми образцами, микропробирки устанавливали на штатив и фотографировали камерой смартфона при воздействии излучения УФ-диапазона в темноте (темном помещении), при контролируемом и воспроизводимом положении камеры смартфона и источника монохроматического излучения (рис. 1). Для создания фальсифицированных смесей взвешивали 0,2; 0,4; 0,6 и 0,8 г сухого цельного молока и соответственно 0,8; 0,6; 0,4 и 0,2 г пшеничной муки, кукурузного, картофельного крахмала или молочной сыворотки и

Исследуемые образцы

№	Наименование	Производитель	Состав, %		
			жиры	углеводы	белки
1	Сухое цельное молоко (СЦМ) «Печём дома»	АО «Русский Продукт»	26,0	38,7	23,8
2	СЦМ «Preston»	ООО «АроМиксПак», Московская обл., р.п. Софрино	26,0	38,0	24,0
3	СЦМ	ООО «Си-Продукт», г. Санкт-Петербург	26,0	40,0	26,0
4	СЦМ «Галерея вкусов»	ЗАО «Бриджтаун Фудс», г. Владимир	26,0	38,0	24,0
5	Крахмал картофельный «Арикон Profi»	ООО ПК «Арикон-Про», Московская обл., р.п. Софрино	–*	79,0	–
6	Крахмал кукурузный	ООО «Гарнец», г. Владимир	0,5	85,0	0,1
7	Заменитель сухих сливок «Мг. Сливкин» (растительные жиры)	ПАО «Русский Продукт»	30,0	62,0	3,0
8	Мука пшеничная «Макфа»	ОАО «МАКФА»	1,1	70,6	12,0
9	Мука рисовая цельнозерновая	ООО «Гарнец», г. Владимир	0,5	78,0	7,0
10	Сыворотка молочная сухая «Evolution Food»	ООО «Компаньон Сити», г. Санкт-Петербург, г. Красное Село	1,5	70,0	11,0
11	Сыворотка молочная сухая	ООО «Миксэм», г. Тверь	–	–	–

*Данные не представлены на упаковке.

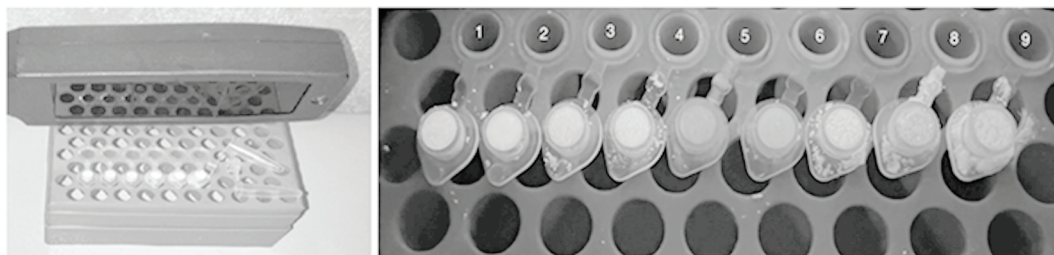


Рис. 1. Тест-устройство (а) и фото флуоресцирующих образцов животного и растительного происхождения (б): сухое молоко (1–4), картофельный и кукурузный крахмал (5, 6), заменитель сухих сливок (7), пшеничная и рисовая мука (8, 9)

тщательно перемешивали. Цветометрические характеристики образцов оценивали с использованием программного продукта «RGBer», установленного на смартфоне.

Хемометрический анализ. Для идентификации и аутентификации сухого молока применяли метод главных компонент (principal component analysis, PCA) и иерархический кластерный анализ (hierarchical clustering analysis, HCA)

с использованием программного обеспечения «XLSTAT» (v. 2021.3.1). При обработке массива данных в качестве переменных использовали численные значения каналов R, G и B.

Результаты и их обсуждение

Регистрацию и анализ цветометрических параметров собственной флуоресценции заявленных в работе образцов (сухого цельного молока,

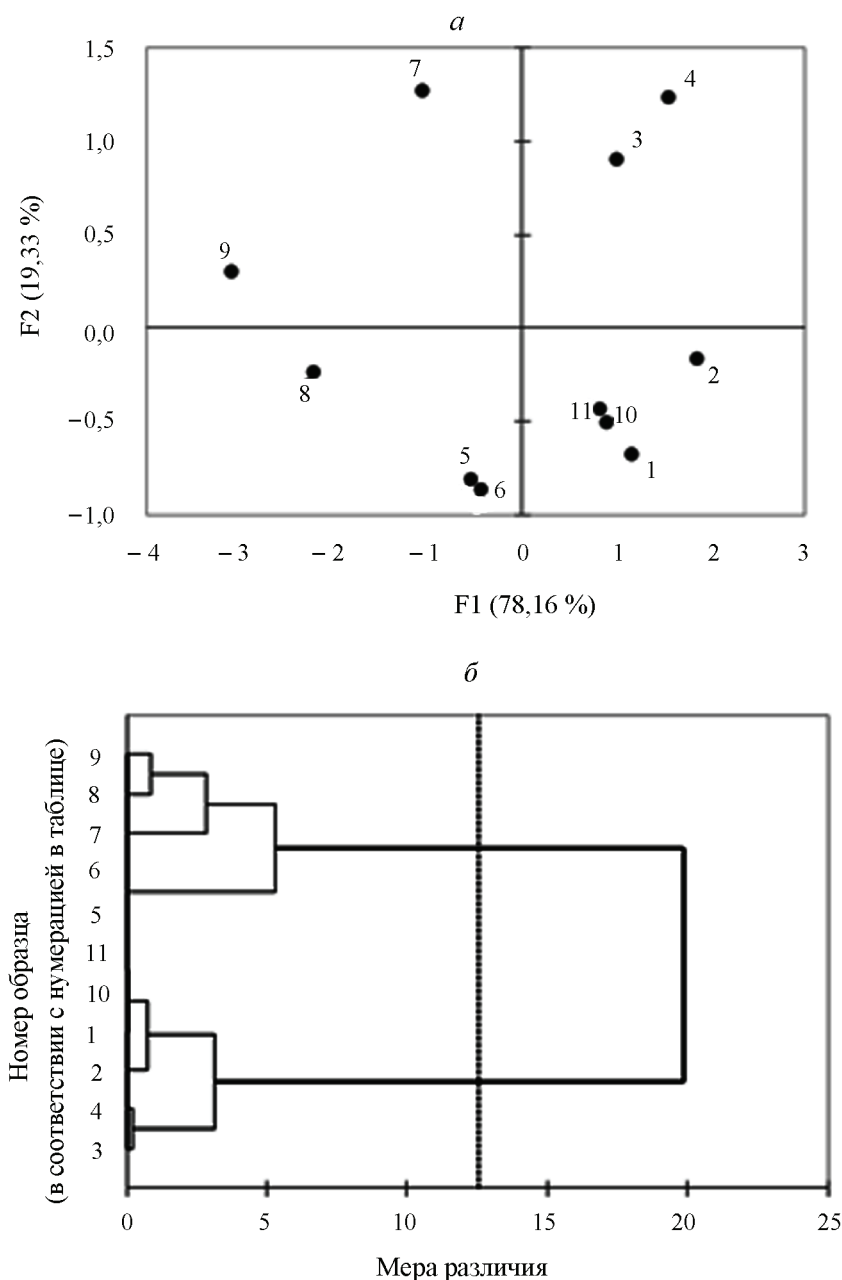


Рис. 2. График PCA для идентификации сухого молока (1–4), картофельного и кукурузного крахмала (5, 6), заменителя сухих сливок (7), пшеничной и рисовой муки (8, 9), молочной сыворотки (10, 11) цветометрическим методом (а) и соответствующая дендрограмма (б)

сыворотки молочной, крахмала картофельного и кукурузного, растительного заменителя сухих сливок, муки пшеничной и рисовой) проводили с использованием цветовой модели RGB. Выбор системы кодирования цвета обусловлен доступностью различных программ и приложений для мобильных устройств (в данном случае для смартфона) на ее основе, простотой представления данных, возможностью регистрации

цветометрических компонент как окраски анализируемых образцов или растворов, так и их флуоресценции, а также многовариантностью формирования аналитического сигнала.

Установлено, что обработка аналитического сигнала (значение переменных R, G и B) собственной флуоресценции образцов животного и растительного происхождения методами главных компонент и иерархического кластерного

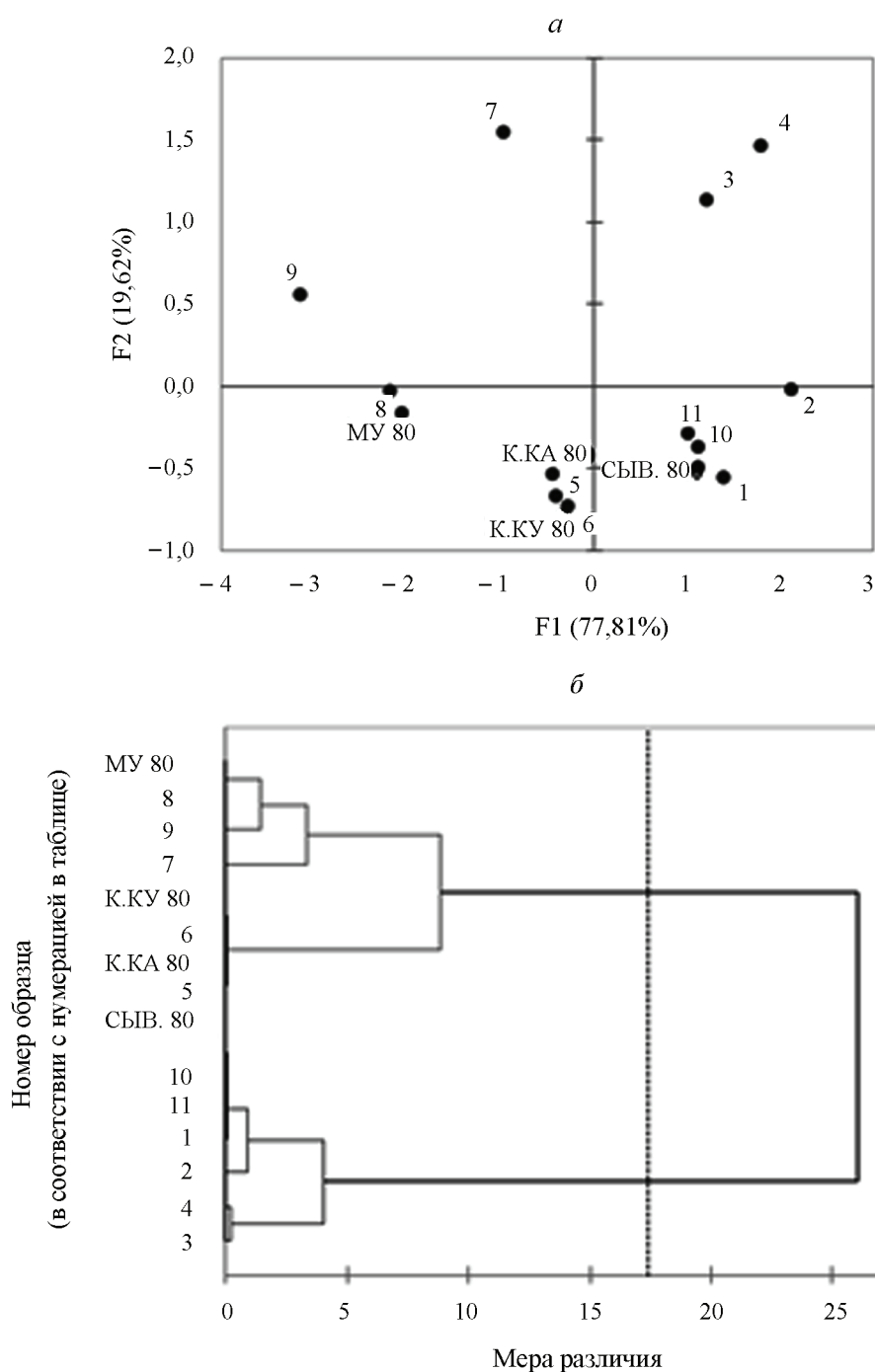


Рис. 3. График PCA для идентификации сухого молока, фальсифицированного 80%-й пшеничной мукой (МУ80), кукурузным крахмалом (К.КУ80), картофельным крахмалом (К.КА80), молочной сывороткой (СЫВ80) (*a*); соответствующая дендрограмма (*б*)

анализа способствует их эффективной дифференциации (рис. 2). На графике PCA (рис. 2, *a*) отчетливо выделяются группы образцов животного (квадранты II и IV) и растительного (квадранты I и III) происхождения. Подобное ранжирование согласуется с данными на дендрограмме (рис. 2, *б*). На дендрограмме различаются отдельные ветви (верхняя и нижняя),

в которых сосредоточены образцы разного состава (верхняя ветвь – продукция растительного, нижняя ветвь – животного происхождения). На графике PCA и дендрограмме дифференциация образцов четкая и однозначная: отсутствуют переплетения в ветвях дерева, перекрывающиеся области и сомнительные образцы на графике.

Изучено влияние преднамеренной фальсификации сухого цельного молока продукцией растительного (мука пшеничная, крахмал кукурузный и картофельный) и животного (сыворожка молочная) происхождения на результаты хеометрического анализа (положение фальсифицированных образцов относительно нефальсифицированной и фальсифицирующей продукции) и процесс кластеризации (рис. 3). Установлено, что фальсифицированный продукт (МУ80, К.КУ80, К.КА80, СЫВ80) смещается незначительно (в рамках области построения графика)

относительно фальсифицирующей продукции (в данном случае касательно образцов 8, 5, 6 и 10). При этом объекты, содержащие растительные компоненты остаются в квадрантах I и III, животная продукция – в квадрантах II и IV (рис. 3, а). Если говорить о смещении относительного положения нефальсифицированного сухого цельного молока (исходного продукта), то в случае добавления растительных компонентов оно будет значительным (изменяется кластер и квадрант). Однако для всех образцов сохраняется общая тенденция кластеризации

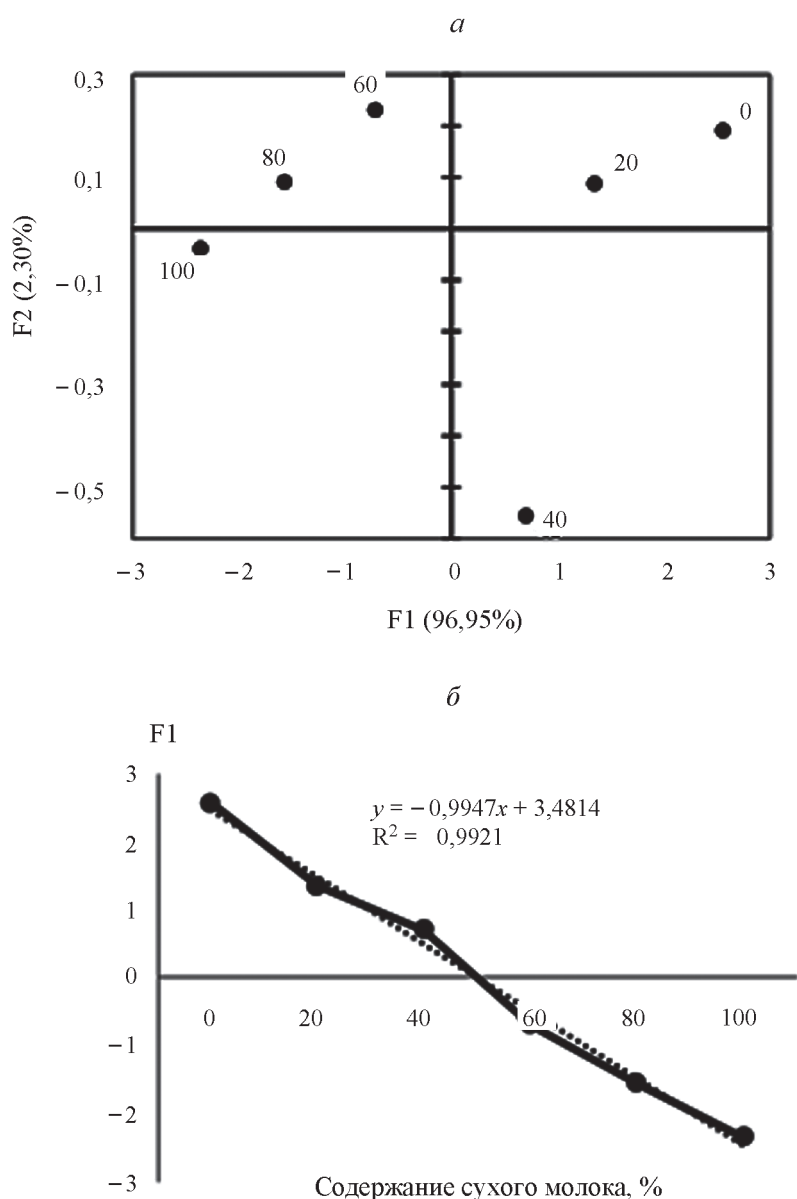


Рис. 4. График для выявления фальсификации сухого молока картофельным крахмалом (а) и зависимость компоненты F1 от содержания сухого молока (б)

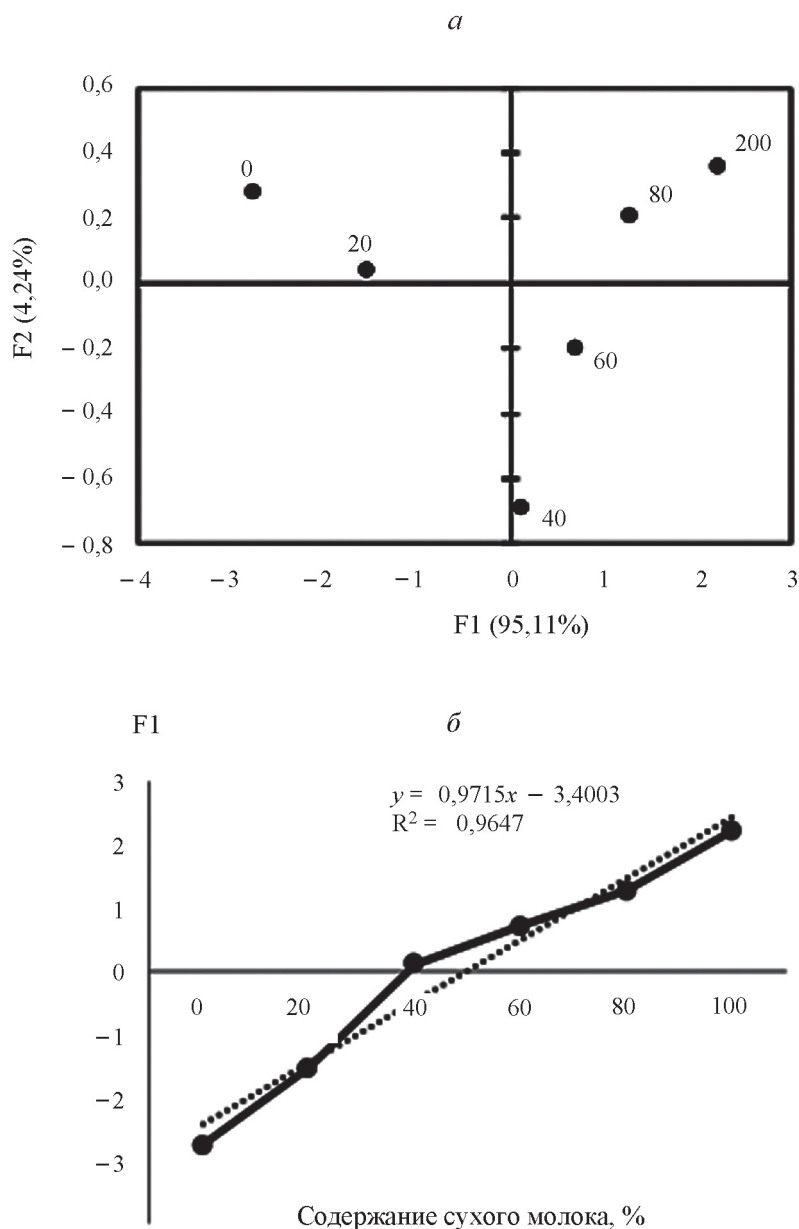


Рис. 5. График для выявления фальсификации сухого молока кукурузным крахмалом (*a*) и зависимость компоненты F1 от содержания сухого молока (*b*)

по происхождению, которую удастся проследить и на дендрограмме (рис. 3, *b*). Смещение при фальсификации всегда имеет место, поскольку изменятся химический состав основного продукта, но результаты цветиметрического анализа флуоресценции позволяют однозначно выявить образцы, содержащие растительные ингредиенты.

Выявленный факт смещения положения оригинального образца сухого цельного молока при внесении посторонних компонентов отно-

сительного своего первоначального положения на графике PCA послужил основой для количественной оценки содержания растительной и животной продукции в фальсифицированном образце (рис. 4–7).

Используя образцы сухого цельного молока, картофельного (рис. 4) и кукурузного крахмала (рис. 5), пшеничной муки (рис. 6) и молочной сыворотки (рис. 7) в качестве референтных материалов построены соответствующие графики PCA и графики зависимости главной

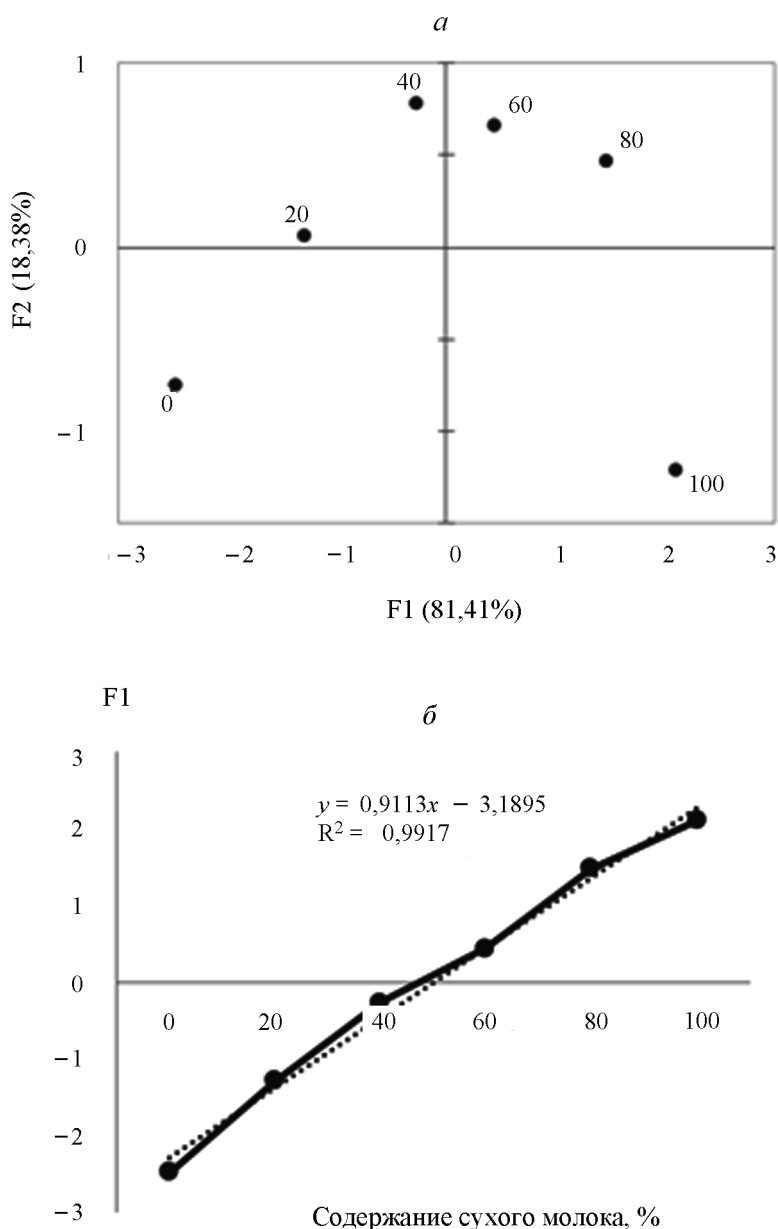


Рис. 6. График для выявления фальсификации сухого молока пшеничной мукой (а) и зависимость компоненты F1 от содержания сухого молока (б)

компоненты F1 от содержания сухого цельного молока.

Установлено, что градуировочные характеристики имеют линейной вид с коэффициентом корреляции $\geq 0,96$. Их использование при наличии должных образцов сравнения позволяет провести определение содержания добавок различной природы в сухом цельном молоке.

Несмотря на полученные экспериментальные данные и построенные зависимости компоненты F1 от содержания сухого цельного молока,

идентификация конкретного растительного компонента, используемого для фальсификации натурального продукта, затруднена в силу специфики применяемого подхода. Это ограничение можно устранить в процессе накопления базы оригинальных образцов для сравнения и унификации предложенного подхода (четкая регламентация условий цветометрирования для пользователей, консолидация полученных результатов, более глубокая хемометрическая обработка данных).

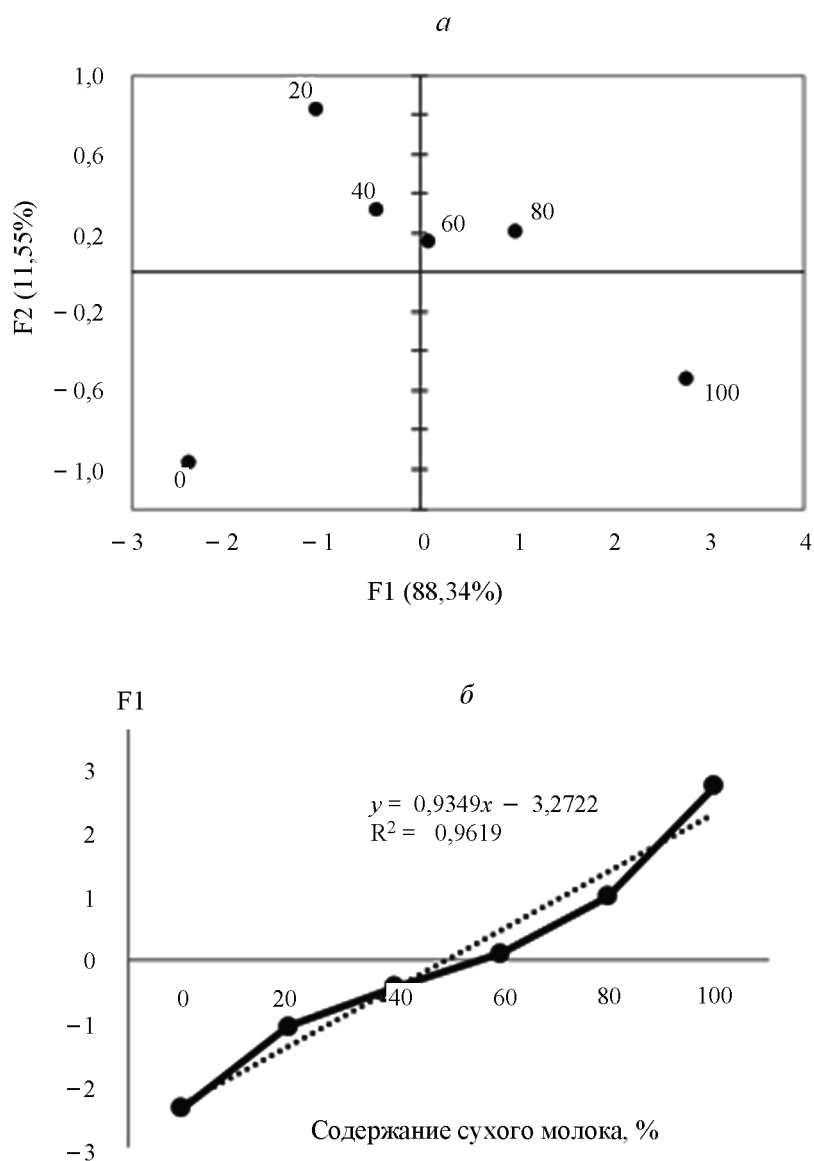


Рис. 7. График для выявления фальсификации сухого молока молочной сывороткой (*a*) и зависимость компоненты F1 от содержания сухого молока (*б*)

Таким образом, предложен способ идентификации (в том числе оценки содержания растительных ингредиентов) и аутентификации сухого коровьего молока методами цветометрии и хемометрического анализа после обработки ана-

литического сигнала флуоресценции исследуемых образцов. Разработано простое и доступное тест-устройство для регистрации цветометрических параметров флуоресценции анализируемой продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Третьяков А.В., Абраменкова О.И., Подколзин И.В., Соловьев А.И. // Ветеринария сегодня. 2012. № 2. С. 39–42.
2. Амелин В.Г., Подколзин И.В., Третьяков А.В. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2012. Т. 55. Вып. 7. С. 16–21.
3. Третьяков А.В., Амелин В.Г., Подколзин И.В., Абраменкова О.И., Соловьев А.И. // Изв. Саратовского университета. Сер. Химия, биология, экология. 2012. Т. 12. Вып. 3. С. 50–55.
4. Соловьев А.И., Подколзин И.В., Амелин В.Г., Никешина Т.Б. // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. 2015. Т. 13. С. 215–234.
5. Подколзин И.В., Соловьев А.И. // Ветеринария сегодня. 2016. № 2 (17). С. 46–51.

6. Соловьев А.И., Подколзин И.В. // Ветеринария сегодня. 2017. № 2 (21). С. 6–9.
7. Метленкин Д.А., Платов Ю.Т., Платова Р.А., Рубцов А.Е., Михайлова А.М. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2021. № 5–6 (383–384). С. 92–97.
8. Буданина Л.Н., Верещагин А.Л., Бычин Н.В. // Техника и технология пищевых производств. 2017. Т. 44. № 1. С. 93–99.
9. Hoffman T., Jaćimović R., Bay L.J., Griboff J., Jagodic M., Monferrán M., Ogrinc N., Podkolzin I., Wunderlin D., Almirall J. // Talanta. 2018. Vol. 186. P. 670–677.
10. Botros L.L., Jablonski J., Chang C., Bergana M.M., Wehling P., Harnly J.M., Downey G., Harrington P., Potts A.R., Moore J.C. // J. Agric. Food Chem. 2013. Vol. 61. P. 9810–9818.
11. Harnly J.M., Harrington P., Botros L.L., Jablonski J., Chang C., Bergana M.M., Wehling P., Gerard Downey G., Potts A.R., Moore J.C. // J. Agric. Food Chem. 2014. Vol. 62. P. 8060–8067.
12. Qin J., Chao K., Kim M.S. // Proc. of SPIE. 2012. Vol. 8369. N 918584.
13. Qin J., Chao K., Kim M.S. // Proc. of SPIE. 2013. Vol. 8721. N 872102.

Информация об авторах

Амелин Василий Григорьевич – профессор кафедры химии Института биологии и экологии ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» (ВлГУ), гл. науч. сотр. отделения фармакологических лекарственных средств, безопасности пищевой продукции и кормов ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), докт. хим. наук, профессор, amelinvg@mail.ru;

Шаока Зин Алабдин Чалави – аспирант кафедры химии Института биологии и экологии ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» (ВлГУ), zeanalaabideen4@gmail.com;

Большаков Дмитрий Сергеевич – химик-эксперт медицинской организации лаборатории санитарно-гигиенических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Владимирской области», канд. хим. наук, bolshakovina@mail.ru.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 16.06.2022;
одобрена после рецензирования 12.09.2022;
принята к публикации 14.09.2022