

К ВОПРОСУ О МОДЕЛИРОВАНИИ КАЛИБРОВОЧНЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ МЕЛАМИНА В МОЛОКЕ ДЛЯ ИНФРАКРАСНОГО АНАЛИЗАТОРА

Тамара Васильевна Калюжная¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

¹канд.ветеринар.наук, доц., доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, tomagafk087@mail.ru, orcid.org/ 0000-0002-8682-1840

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты моделирования калибровочной зависимости содержания меламина в молоке от его концентрации в нем. В настоящее время лабораторный анализ молока для определения его физико-химических показателей с помощью инфракрасной спектроскопии регламентируется действующими нормативными документами, не предусматривающими определение меламина с помощью БИК-анализаторов, что затрудняет их применение на всех стадиях переработки молока для определения данного химического соединения, добавляемого с целью его фальсификации по белку.

Цель исследования заключалась в разработке калибровочных зависимостей для выявления меламина в молочной матрице методом ближней инфракрасной спектроскопии.

Исследования проводили поэтапно в учебно-исследовательском центре экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» в 2024 году.

В качестве материалов исследования использовали стандартный образец меламина, молоко без меламина.

На первом этапе в пробы молока добавляли меламина в разных количествах и устанавливали его концентрацию методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, а на следующем этапе регистрировали ИК-спектры этих же проб молока, используя инфракрасный анализатор. На третьем этапе проводили статистический анализ зарегистрированных ИК-спектров и строили калибровочную модель меламина в молоке, используя метод Регрессии частично наименьших квадратов.

В результате проведенных исследований была построена калибровочная модель зависимости количественного содержания меламина от его концентрации в молоке. Кроме того, анализируя рассчитанные критерии для построенной калибровочной зависимости установили, что она позволяет достоверно определять концентрацию меламина в молоке.

Ключевые слова: меламина, молоко, фальсификация, градуировочные зависимости, калибровочная модель, БИК-анализатор, инфракрасная спектроскопия.

Для цитирования: Калюжная Т.В. К вопросу о моделировании калибровочных зависимостей меламина в молоке для инфракрасного анализатора // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. 2025. №1. С. 102-106. <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2025.1.102>

ON THE ISSUE OF MODELING THE CALIBRATION DEPENDENCES OF MELAMINE IN MILK FOR AN INFRARED ANALYZER

Tamara V. Kalyuzhnaya¹

¹St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

¹Candidate of Veterinary Sciences, Docent, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise, tomagafk087@mail.ru, orcid.org/ 0000-0002-8682-1840

ABSTRACT

The article presents the results of modeling the calibration dependence of the melamine content in milk on its concentration in it. Currently, laboratory analysis of milk to determine its physico-chemical parameters using infrared spectrometry is regulated by current regulatory documents that do not provide for the determination of melamine using BIC analyzers, which makes it difficult for them to be used at all stages of milk processing to determine this chemical compound added for the purpose of protein adulteration.

The aim of the study was to develop calibration dependencies for the detection of melamine in the milk matrix by near-infrared spectrometry.

The research was conducted in stages at the Educational and Research Center for Food and Animal Feed Expertise of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine in 2024.

A standard melamine sample, milk without melamine, was used as the study materials.

At the first stage, melamine was added to milk samples in different amounts and its concentration was determined by high-performance liquid chromatography, and at the next stage, the IR spectra of the same milk samples were recorded using an infrared analyzer. At the third stage, a statistical analysis of the recorded IR spectra was performed and a calibration model of melamine in milk was constructed using the partial least squares regression method.

As a result of the conducted research, a calibration model of the dependence of the quantitative content of melamine on its concentration in milk was constructed. In addition, analyzing the calculated criteria for the constructed calibration relationship, we found that it allows us to reliably determine the concentration of melamine in milk.

Key words: melamine, milk, falsification, graduation dependencies, calibration model, BIC analyzer

er, infrared spectrometry.

For citation: Kalyuzhnaya T.V. On the issue of modeling calibration dependencies of melamine in milk for an infrared analyzer // Legal regulation in veterinary medicine. 2025;1: 102-106. (in Russ.) <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2025.1.102>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время определение физико-химических параметров молока методом инфракрасной спектроскопии осуществляется согласно ГОСТ 32255-2013 «Молоко и молочная продукция. Экспресс-метод инструментального контроля физико-химических показателей идентификации с использованием ИК-анализаторов (с Изменениями № 1, 2)». Однако данный стандарт не включает процедуру выявления меламина при помощи БИК-анализаторов, что ограничивает их применение для мониторинга этого вещества на этапах переработки молока. Меламин нередко используется для фальсификации белкового состава продукции, что усиливает актуальность проблемы [1; 4; 7].

Кроме того, в документе отсутствуют указания по подготовке проб сырого молока для анализа меламина, а также перечень требуемых реактивов и материалов, что затрудняет получение достоверных результатов. Важным этапом работы с БИК-анализаторами является предварительная градуировка оборудования по целевым параметрам. Принцип ближней ИК-спектроскопии основан на фиксации спектральных данных с последующей обработкой через математические алгоритмы и специализированное ПО [5; 6; 8].

Отечественные исследования, включая работы А.И. Чигасова, демонстрируют успешное применение БИК-спектроскопии для анализа жира, белка, лактозы и сухих веществ в сухом молоке [9; 10], однако разработка калибровочных моделей для меламина остается малоизученной. Зарубежные авторы подтверждают потенциал ИК-спектроскопии для детекции меламина, предлагая различные математические подходы к калибровке оборудования [2,3].

Таким образом, создание надежных градуировочных моделей для количественного определения меламина в молоке с использованием БИК-анализаторов представляет значительный научно-практический интерес.

Целью исследования являлась разработка калибровочных зависимостей для выявления меламина в молочной матрице методом ближней инфракрасной спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа была выполнена в 2024 году на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». В исследовании применяли стандартизированный образец меламина (2,4,6-триамино-1,3,5-триазин) производства группы компаний «ЛЮМЭКС» (чистота основного вещества ≥99%) и натуральное молоко, не содержащее меламина.

Работа выполнялась в три последовательных этапа. На первом этапе в образцы молока вводили различные дозы меламина, после чего его

концентрацию определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием спектрофотометрического детектора на хроматографе «Люмахром» в соответствии с методикой М 04-54-2008. Обработку хроматографических данных выполняли в программе «МультиХром» версии 3.4 (разработка ООО «АМПИРСЕНД»).

На втором этапе проводили спектральный анализ проб молока с добавлением меламина (концентрации установлены ранее методом ВЭЖХ) на ИК-анализаторе «ИнфраЛЮМ ФТ-12» с жидкой кюветой (толщина слоя 18 мм). Каждый образец анализировали дважды в ближней инфракрасной области (8000–14000 см⁻¹) при разрешении 10 см⁻¹. Управление прибором и обработка данных осуществлялись ПО «СпектралЮМ/Про 4.01.463».

Третий этап предполагал статистическую обработку ИК-спектров и создание калибровочной модели методом PLS-регрессии (Partial Least Squares) в программе «ПАРСЕЛ» (ООО «ЛММ»). Для оценки точности модели рассчитывали:

1. Стандартную ошибку калибровки (SEC) по формуле 1:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{d}} \quad (1),$$

где y_i - значение определяемого показателя для i -го калибровочного образца, рассчитанное по созданной калибровочной модели; $\hat{y}$ - референтное значение для i -го калибровочного образца; d – число степеней свободы в калибровочной модели.

Показатель d рассчитывали по следующей формуле 2:

$$d = n - k \quad (2),$$

где n - число спектров калибровочного набора образцов, k - число главных компонент.

2. Коэффициент детерминации для оценки предсказательной способности модели по формуле 3:

$$R^{2sec} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2 / (n - k - 1)}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 / (n - 1)} \quad (3),$$

где $\bar{y}$ - среднее значение референтных данных для всех спектров калибровочного набора.

3. Критерий кросс-валидации (SECV) по формуле 4 и значение коэффициента многомерной регрессии для него по формуле 5:

$$SECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{cvi} - y_i)^2}{n}} \quad (4),$$

где y_{cvi} - значение определяемого показателя для i -го калибровочного образца, рассчитанное по созданной калибровочной модели без данного образца; y_i - референтное значение для i -го калибровочного образца; n – число спектров калиб-

Таблица 1. Результаты определения концентрации меламина в пробах молока
Table 1. Results of determination of melamine concentration in milk samples

№ пробы	Компонент	Концентрация меламина, мг/кг	№ пробы	Компонент	Концентрация меламина, мг/кг
1	Молоко + меламин	0,104	11	Молоко + меламин	1,109
2		0,213	12		1,207
3		0,311	13		1,326
4		0,397	14		1,399
5		0,508	15		1,541
6		0,598	16		1,661
7		0,721	17		1,735
8		0,805	18		1,806
9		0,905	19		1,912
10		1,125	20		2,067

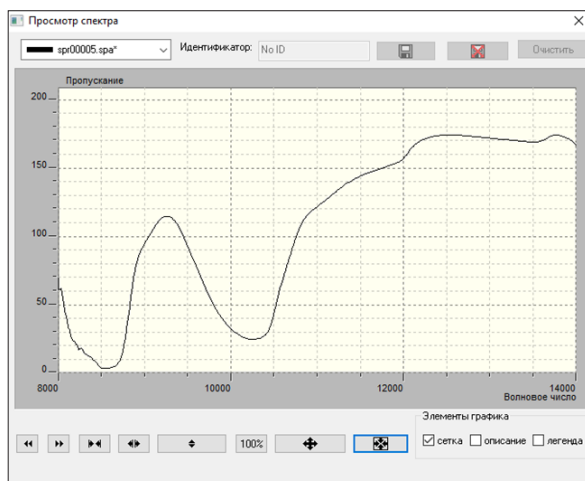


Рисунок 1. Пример ИК – спектра молока с добавленным в него меламином

Figure 1. Example of IR spectrum of milk with added melamine

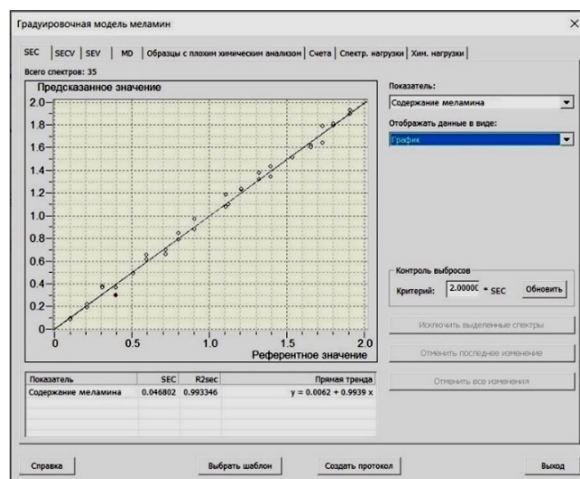


Рисунок 2. Калибровочная модель меламина в молоке для БИК-анализатора при расчете SEC
Figure 2. Calibration model of melamine in milk for NIR analyzer when calculating SEC

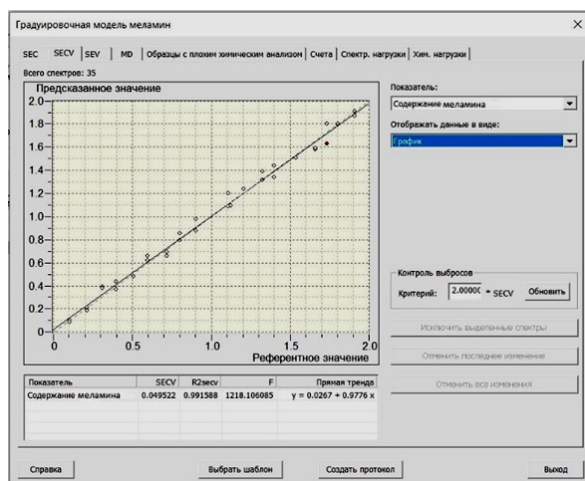


Рисунок 3. Калибровочная модель меламина в молоке для БИК-анализатора при расчете SECv

Figure 3. Calibration model of melamine in milk for NIR analyzer when calculating SECv

ровочного набора образцов.

$$R^{2secv} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - y_{cv})^2 / (n - k - 1)}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 / (n - 1)} \quad (5),$$

где $\bar{y}$ - среднее значение референтных данных для всех спектров калибровочного набора,
k - число главных компонент.

4. F-критерий для проверки адекватности модели по следующей формуле 6:

$$F = \frac{R^{2secv}(n - k - 1)}{(1 - R^{2secv})k} \quad (6),$$

Чем больше значение F, тем более корректно построена калибровочная модель.

Чем ближе R^{2sec} и R^{2secv} к 1, а SECv к SEC, тем выше точность и стабильность модели. Результаты визуализировали в виде трендовых линий, отражающих зависимость прогнозируемых значений от референтных данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате определения концентраций меламина в молоке после его добавления установили, что его количество в приготовленных пробах не превышало 2,067 мг/кг (табл. 1). Приготовленные пробы, после определения концентраций меламина использовали в дальнейших исследованиях.

Кроме того, проводя изучение ИК - спектров молока с меламином в различных концентрациях в ближнем спектральном диапазоне установили, что полученные спектры были четкие и имели полосы поглощения, которые визуализировались на всей области спектра. Интенсивные полосы поглощения в этих спектрах визуализируются в области 8500, 9250 10250 см⁻¹ (рис. 1).

При расчете калибровочной модели меламина

в молоке для БИК-анализатора установили, что значение показателя SEC составляло 0,046802, а – 0,993346, при этом уравнение прямой тренда имело следующий вид: $y=0,0062+0,993x$ (рис. 2).

При расчёте стандартного отклонения кросс-валидации установили, что значение критерия SECV составляло 0,049522, а 0,991588. Кроме того, значение критерия F составило 1218.106085, при этом уравнение прямой тренда имело следующий вид: $y=0,0267+0,9776x$ (рис. 3).

Полученные результаты расчёта свидетельствуют о том, что данные построенной калибровочной модели согласуются с данными по содержанию меламина в молоке, установленные с помощью метода ВЭЖХ. Кроме того, сравнивая значения критериев SEC и SECV можно сделать вывод о том, что они практически одинаковы и, следовательно, полученная калибровочная модель является устойчивой.

Проводя анализ рассчитанных значений коэффициента многомерной регрессии для каждого показателя и установили, что их значение было близко к 1, что свидетельствует о хорошей предсказательной способности построенной калибровочной модели.

Анализируя полученное значение критерия F,

установили, что данная калибровочная модель построена корректно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках выполненных научных изысканий разработана калибровочная модель, устанавливающая корреляцию между уровнем меламина и его концентрацией в молоке. Проведенная оценка расчетных параметров калибровочной кривой свидетельствует о том, что данная модель обеспечивает статистически значимое и точное определение целевого показателя.

Результаты исследований предлагается использовать для актуализации действующего стандарта ГОСТ 32255-2013 (с изменениями №1, 2) «Молоко и молочная продукция. Инструментальный экспресс-метод контроля физико-химических параметров идентификации с использованием ИК-анализаторов». Внедрение этих разработок в практику лабораторного контроля позволит усовершенствовать систему мониторинга безопасности молочного сырья и готовой продукции на всех этапах производственного цикла, что соответствует стратегическим задачам обеспечения продовольственной безопасности.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kalyuzhnaya T. V. A. V. Drozd Identification of melamine in milk using mid-infrared spectrometry // BIO Web Conf. № 126. 2024. P 01022.
2. Tong Wu, Hui Chen, Zan Lin, Chao Tan Identification and Quantitation of Melamine in Milk by Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. Journal of Spectroscopy, vol. 2016. doi.org/10.1155/2016/6184987
3. X. Fu et al. Detection of melamine in milk powders based on NIR hyperspectral imaging and spectral similarity analyses / Journal of Food Engineering 124 (2014) 97–104.
4. Калюжная, Т. В. Влияние меламина и мочевины на показатели качества молока / Т. В. Калюжная, А. В. Дрозд, П. С. Жмуркина, Д.С. Алмакаева // Международный вестник ветеринарии. 2024. № 4. С. 205-210
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.
6. Калюжная, Т. В. Моделирование градуировочной зависимости для оценки содержания меламина в молоке с помощью ИК - Фурье-спектрометра / Т. В. Калюжная // Международный вестник ветеринарии. 2024. № 4. С. 219-224
7. 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
8. Куликов, Н. В. К вопросу о проблеме фальсификации на рынке молока и молочных продуктов и методах ее идентификации / Н. В. Куликов, Ю. Ю. Забалуева // Товароведение, технология и экспертиза: инновационные решения и перспективы развития : Материалы III национальной научно-практической конференции, Москва, 02 июня 2022 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2022. С. 178-185.
9. 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 отделения сельскохозяйственных наук Российской академии наук. 2016. № 1. С. 409-413.
10. Чигасов, А. И. Особенности применения метода ик-спектроскопии для измерения микрокомпонентов, содержащихся в фальсифицированном молоке / А. И. Чигасов // Пищевые системы: теория, методология, практика : сборник научных трудов XI Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов отделения сельскохозяйственных наук Российской академии наук, Москва, 01 ноября 2017 года. – Москва: ВНИИХИ - филиал "Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова" РАН, 2017. С. 362.

REFERENCES

1. Kalyuzhnaya T. V. A. V. Drozd Identification of melamine in milk using mid-infrared spectrometry. BIO Web Conf. 2024;126: 01022.
2. Tong Wu, Hui Chen, Zan Lin, Chao Tan. Identification and Quantitation of Melamine in Milk by Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. Journal of Spectroscopy, vol. 2016. doi.org/10.1155/2016/6184987
3. X. Fu et al. Detection of melamine in milk powders based on NIR hyperspectral imaging and spectral similarity analyses / Journal of Food Engineering. 2014;124: 97–104.

4. Kalyuzhnaya T.V., Drozd A.V., Zhmurkina P.S., Almakaeva D.S. The influence of melamine and urea on milk quality indicators. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2024; 4: 205-210
5. Kalyuzhnaya T.V., Drozd A.V. Study of the spectral characteristics of melamine for assessing the safety of milk and its processed products during laboratory control. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2024; 2: 166-171.
6. Kalyuzhnaya T.V. Modeling of the calibration dependence for estimating the melamine content in milk using an IR Fourier spectrometer. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2024;4: 219-224
7. Kalyuzhnaya T. V. Application of the method of infrared spectrometry in the medium range for the determination of melamine in milk. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2024;3: 188-193
8. Kulikov N.V., Zabalueva Y.Y. On the issue of the problem of falsification in the market of milk and dairy products and methods of its identification. *Commodity science, technology and expertise: innovative solutions and development prospects : Proceedings of the III National Scientific and Practical Conference, Moscow, June 02, 2022. Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin". 2022. pp. 178-185.*
9. Chigasov A. I. Study of the measurement of M.D. melamine by IR spectroscopy in milk and dairy products. *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.
10. Chigasov A.I. Features of the application of the IR spectroscopy method for measuring microcomponents contained in adulterated milk. *Food systems: theory, methodology, practice : proceedings of the XI International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and specialists of the Department of Agricultural Sciences of the Russian Academy of Sciences, Moscow, November 01, 2017 of the year. Moscow: VNIHI, a branch of the V.M. Gorbatoev Federal Scientific Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences*. 2017. p. 362.

Поступила в редакцию / Received: 17.02.2025

Поступила после рецензирования / Revised: 17.03.2025

Принята к публикации / Accepted: 31.03.2025

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятиях при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургского университета ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com**