

# ТЕХНОЛОГИЯ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

УДК 637.068:539.183.2

Поступила в редакцию 2 марта 2020 года

<https://doi.org/10.47612/2220-8755-2019-14-68-76>

*А.В. Мелещенко, к.э.н., доцент, Т.В. Сенченко, Т.М. Смоляк,  
Т.А. Савельева, к.в.н., доцент, М.В. Коркина  
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ В МОЛОКЕ, ВОДЕ И КОРМАХ С ЦЕЛЬЮ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

*A. Meliashchenia, T. Senchenko, T. Smaliak, T. Savelieva, M. Korkina  
Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus*

### THE STUDY OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF STABLE ISOTOPES IN MILK, WATER AND FEEDS AIMED AT THE IDENTIFICATION OF THE ORIGIN OF DAIRY PRODUCTS

*e-mail: aleksmel@tut.by, pil-2020@yandex.ru, pil-2020@yandex.ru,  
t.savelyeva@tut.by, pil-2020@yandex.ru*

*Проведены исследования образцов молока, воды, кормов для сельскохозяйственных животных по определению соотношения стабильных изотопов лёгких элементов углерода  $\delta^{13}\text{C}$ , кислорода  $\delta^{18}\text{O}$ , азота  $\delta^{15}\text{N}$ , отобранных в разных географических и климатических зонах Республики Беларусь. Установлено, что изотопный состав молока изменяется в различных регионах в зависимости от рациона кормления животных и сезона.*

*Samples of milk, water, and feed for farm animals were studied to determine the ratio of stable isotopes of the light elements carbon  $\delta^{13}\text{C}$ , oxygen  $\delta^{18}\text{O}$ , nitrogen  $\delta^{15}\text{N}$ . Samples were selected in different geographical and climatic zones of the Republic of Belarus. It was found that the isotopic composition of milk varies in different regions depending on the diet of animals and the season.*

**Ключевые слова:** молоко коровье сырое; изотопный состав; идентификация; оценка изотопного соотношения.

**Keywords:** cow raw milk; isotopic composition; identification; isotopic ratio estimation.

**Введение.** В последние годы большое внимание уделяется вопросам идентификации пищевых продуктов. Идентификация представляет собой установление соответствия пищевых продуктов (в том числе и молока) их заявленному наименованию (вид, класс, категория, сорт, географическое происхождение) путем исследования тождественности показателей аутентичным образцам с применением аналитических и органолептических методов. Целью идентификации является выявление и подтверждение подлинности продукта, а также соответствия требованиям нормативной и технической документации [1, 7, 8].

За рубежом, для выявления происхождения продукции по регионам и фальсификатов пищевых продуктов, применяют методы анализа стабильных изотопов легких элементов водорода ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ), углерода ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), кислорода ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ), азота ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) и серы ( $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ) [7]. Этот метод эффективен как для определения географического источника сырья, так и для выяснения его происхождения (натуральное или полученное в результате химического, биотехнологического или биохимического синтеза) [1, 4-6]. По результатам исследований образцов молока, воды и кормов для сельскохозяйственных животных на содержание  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  и  $\delta^{18}\text{O}$

можно охарактеризовать различные регионы по соотношению стабильных изотопов [1, 5, 7, 8].

Особенности распределения стабильных изотопов легких элементов в различных биологических и абиотических системах связаны с процессами фракционирования, т.е. с изменением соотношения изотопов в ходе многих биологических и геохимических процессов [7]. Соотношение стабильных изотопов в молоке определяется питанием, составом изотопов воды, а также условиями окружающей среды (температура, влажность, стресс). Зная распределение изотопов в источниках питания (пище, воде), можно предсказать состав изотопов в молоке [8]. Эта характеристика важна для предотвращения мошенничества в торговле, а также используется для установления происхождения молочной продукции [1, 7, 8].

В Республике Беларусь для выявления происхождения и фальсификации пищевой продукции и сырья используют в основном методы хроматографии или классической органической хромато-масс-спектрометрии. Однако они обладают существенным недостатком. Принцип идентификации этих методов основан на определении наличия или отсутствия в анализируемых образцах характерных компонентов-маркеров. Но многие маркеры легко доступны, их можно добавить в фальсифицируемый продукт или искусственно удалить из него. Кроме того, сырьевые источники компонентов в фальсификате могут отличаться от основного продукта, что проблематично определить с помощью хроматографических методов.

Таким образом, исследование образцов молока, воды, корма по определению соотношения стабильных изотопов лёгких элементов углерода, кислорода, азота, отобранных в разных географических и климатических зонах Республики Беларусь, является актуальной задачей для идентификации происхождения молочных продуктов.

**Целью настоящих исследований** является исследование количественного определения стабильных изотопов в молоке, воде и кормах, что позволит определять географическое происхождения молока.

**Объекты исследований.** Образцы сырого коровьего молока, воды и кормов для сельскохозяйственных животных, отобранные в 2017–2018 гг. в весенне-летний и осенне-зимний периоды на территориях молочно-товарных ферм молокоперерабатывающих предприятий Минской, Витебской, Брестской, Гомельской, Гродненской и Могилёвской областей, а также изотопы лёгких элементов углерода  $\delta^{13}\text{C}$ , кислорода  $\delta^{18}\text{O}$ , азота  $\delta^{15}\text{N}$ .

**Материалы и методы исследований.** Исследования выполнены в рамках международного сотрудничества с Государственным научно-исследовательским институтом «Центр физических наук и технологий» (Литва) и договором с БРФФИ № Б17ЛИТГ-007 от 22.05.2017 г.

Отбор проб молока осуществляли в соответствии с ГОСТ 26809.1, СТБ ISO 707, воды – в соответствии с МУК РБ №11-10-1-2001, кормов – в соответствии с ГОСТ 13496.0.

Количественное определение стабильных изотопов основано на наличии изотопного эффекта – неидентичности свойств изотопов данного элемента, обусловленной различием масс изотопных атомов. Наиболее часто анализ изотопного состава проводят с помощью масс-спектрометра – прибора для разделения ионизирующих частиц вещества (молекул, атомов) по их массам, основанного на воздействии магнитных и электрических полей на пучки ионов, летящих в вакууме. В результате получают масс-спектр, который представляет собой зависимость величины ионного тока от массы частицы [1].

Соотношение изотопов кислорода в испытуемых образцах определяли с помощью системы Gas Bench II, подключенной к масс-спектрометру изотопного соотношения Thermo Delta V Advantage. Определение соотношений изотопов

углерода и азота проводили с использованием элементарного анализатора Thermo Flash EA 1112, подключенного к масс-спектрометру изотопного соотношения Thermo Delta V Advantage через программное обеспечение ConFlo III.



Рисунок 1 – Элементный анализатор ThermoFlash1112, подключенный к масс-спектрометру изотопного соотношения ThermoDelta V Advantage (Государственный научно-исследовательский институт «Центр физических наук и технологий» (Литва)  
Источник данных: собственная разработка.



Рисунок 2 – Масс-спектрометр ThermoDeltaV Advantage (Государственный научно-исследовательский институт «Центр физических наук и технологий» (Литва)  
Источник данных: собственная разработка.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В настоящее время в Республике Беларусь существует пять сельскохозяйственных зон [9]. На севере (*северная зона*), где климат более холодный и влажный, сложилась зона льноводства и молочно-мясного скотоводства в сочетании со свиноводством. Она включает Витебскую область, северную часть Гродненской, Минской и Могилёвской областей.

На западе (*западная зона*) республики, где более тёплый и мягкий климат и плодородные почвы, формируется зона молочно-мясного скотоводства, в меньшей мере свиноводства и выращивания сахарной свеклы. Она занимает запад Гродненской и юго-запад Минской области, северную и западную часть Брестской области.

На юго-востоке (*юго-восточная зона*) Беларуси развивается зона молочно-мясного скотоводства, свиноводства и картофелеводства. Это восточная часть Минской, южная часть Могилёвской и северо-восточная часть Гомельской области.

На юге Беларуси, на Полесье (*южная зона*), где много лугов, пастбищ, осушенных торфяников, складывается зона специализации мясо-молочного животноводства в сочетании с выращиванием картофеля, сахарной свеклы, овощей. В загрязнённых радионуклидами районах животноводство переформируется на мясное направление, земледелие – на производство малотрудоёмкой продукции с использованием её на семенные и технические цели.

*Пригородная зона* сосредоточена вокруг крупных городов, где преобладает молочное животноводство, свиноводство, промышленное птицеводство (производство яиц и мяса), овощеводство (открытого и защищенного грунта), садоводство (в основном ягоды), выращивание раннего картофеля.

В связи с этим, для достижения поставленной цели, установлена необходимость проведения исследования проб молока-сырья, воды и кормов, отобранных в весенне-летний и осенне-зимний периоды в различных сырьевых зонах.

С целью идентификации происхождения молочных продуктов, в Государственный научно-исследовательский институт «Центр физических наук и технологий» (Литва) были переданы пробы образцов молока сырого, воды и кормов для сельскохозяйственных животных, отобранные в течение 2017–2018 гг.

На первых этапах были разработаны модельные системы пробоподготовки для различных видов пищевого сырья и кормов, обеспечивающие превращение пробы в подходящую для последующего анализа форму, а также избавления её от мешающих анализу компонентов. Правильная пробоподготовка позволяет расширить исследуемый диапазон значений, улучшить воспроизводимость и точность результатов испытаний [6].

С целью предотвращения возможного изотопного фракционирования образцы непосредственно после отбора замораживали и до проведения изотопного анализа хранили при температуре минус  $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Транспортирование проб осуществляли в специальных контейнерах, которые обеспечивают поддержание температуры от  $2^\circ\text{C}$  до  $5^\circ\text{C}$ .

Все образцы исследовали согласно разработанной нами методологии.

Таблица 1 – Результаты исследований соотношений стабильных изотопов углерода, азота и кислорода в молоке, воде, кормах для сельскохозяйственных животных

Сырьевая зона, период отбора	Соотношение стабильных изотопов, ‰		
	Молоко сырое	Вода	Корм для сельскохозяйственных животных
1	2	3	4
Соотношение стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ , ‰ (средние значения)			
<b>Минская область:</b>			
Весна 2017 г.	-21,6	-	-22,3
Лето 2017 г.	-26,8	-	-27,7
Зима 2018 г.	-19,3	-	-20,8
<b>Гомельская область:</b>			
Весна 2017 г.	-21,4	-	-27,3
Зима 2018 г.	-25,6	-	-28,7
<b>Витебская область:</b>			
Зима 2018г	-27,3	-	-28,2
<b>Могилёвская область:</b>			
Лето 2017 г.	-35,5	-	-35,8
Зима 2018 г.	-30,3	-	-29,4
<b>Гродненская область:</b>			
Весна 2017 г.	-22,3	-	-25,7
Лето 2017 г.	-20,6	-	-23,3
Зима 2018 г.	-16,9	-	-18,0
Соотношение стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ , ‰ (средние значения)			
<b>Брестская область:</b>			
Весна 2017 г	-20,7	-	-21,3
Осень 2017 г.	-21,3	-	-23,2
Зима 2018г	-23,9	-	-25,3
Соотношение стабильных изотопов $\delta^{18}\text{O}$ , ‰ (средние значения)			
<b>Минская область:</b>			
Весна 2017 г.	-6,3	-8,3	-
Лето 2017 г.	-7,3	-8,6	-
Зима 2018 г.	-7,8	-7,8	-
<b>Гомельская область:</b>			
Весна 2017 г.	-5,2	-8,9	-
Зима 2018 г.	-7,5	-9,2	-
<b>Витебская область:</b>			
Зима 2018 г.	-5,2	-7,0	-
<b>Могилёвская область:</b>			
Лето 2017 г.	-7,3	-9,7	-
Зима 2018 г.	-8,6	-9,4	-
Соотношение стабильных изотопов $\delta^{18}\text{O}$ , ‰ (средние значения)			
<b>Гродненская область:</b>			
Весна 2017 г.	-5,7	-7,3	-
Лето 2017 г.	-5,2	-7,2	-
Зима 2018 г.	-7,3	-8,0	-
<b>Брестская область:</b>			
Весна 2017 г.	-5,1	-8,4	-
Осень 2017 г.	-5,4	-8,8	-
Зима 2018 г.	-8,4	-9,7	-

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Соотношение стабильных изотопов $\delta^{15}\text{N}$ , ‰ (средние значения)			
<b>Минская область:</b>			
Весна 2017 г.	5,8	-	6,0
Лето 2017 г.	5,3	-	5,8
Зима 2018 г.	3,7	-	4,2
<b>Гомельская область:</b>			
Весна 2017 г.	5,5	-	6,2
Зима 2018 г.	4,6	-	5,9
<b>Витебская область:</b>			
Зима 2018 г.	5,0	-	6,2
<b>Могилёвская область:</b>			
Лето 2017 г.	5,2	-	6,4
Зима 2018 г.	4,8	-	5,2
<b>Гродненская область:</b>			
Весна 2017 г.	4,7	-	5,6
Лето 2017 г.	4,5	-	5,5
Зима 2018 г.	3,9	-	4,7
<b>Брестская область:</b>			
Весна 2017 г.	6,2	-	7,0
Осень 2017 г.	5,9	-	6,5
Зима 2018 г.	5,7	-	6,0

Источник данных: собственная разработка.

По результатам исследований (таблица 1) соотношения стабильных изотопов углерода в образцах молока варьировали от -35,5 до -16,9‰. Наиболее низкие значения  $\delta^{13}\text{C}$  были получены в образцах молока из Могилёвской области (-35,3‰), тогда как наиболее высокие значения  $\delta^{13}\text{C}$  были, в основном, у образцов молока из Брестской области (от -23,9 до -20,7‰). Образцы молока из Гродно, отобранные за зимний период, имели наиболее высокое значение  $\delta^{13}\text{C}$  (-16,9‰).

Соотношение изотопов кислорода в молоке отражает потребление воды и пищи, а также процесс дыхания. По содержанию  $\delta^{18}\text{O}$  в воде можно судить о географическом положении (высоте и удалённости от океана). Соотношение изотопов кислорода в растениях зависит от интенсивности транспирации и относительной влажности, приводящей к обогащению растения кислородом. Относительно небольшие изменения количества  $\delta^{18}\text{O}$  в воде и молоке может указывать на то, что животные потребляли воду, которая была почти постоянной по содержанию  $\delta^{18}\text{O}$  в течение и летнего и зимнего периодов.

По результатам испытаний молоко из Могилёвской области было более обогащено  $\delta^{18}\text{O}$  по сравнению с молоком из других регионов (содержание  $\delta^{18}\text{O}$  было наиболее низким и составляло от -8,6 до -7,3‰). Причиной тому может быть активное поедание свежей травы. Поскольку соотношение изотопов углерода в молоке из этого региона указывает на потребление свежей травы, это объяснение является достоверным.

Соотношения изотопов кислорода в образцах питьевой воды варьировали от -9,7 до -7,0‰. Между тем значения  $\delta^{18}\text{O}$  в молоке варьировали от -8,6 до -5,1‰. Наиболее высокие значения  $\delta^{18}\text{O}$  были отмечены в образцах из Могилевской области.

Таким образом, по результатам исследований соотношения изотопов кислорода в питьевой воде варьировали от -10,5 ‰ до -9,2‰ со средним значением  $-9,8 \pm 0,6\%$  (рисунок 3). Значения  $\delta^{18}\text{O}$  в молоке составляли от -8,7‰ до -3,9‰. Наиболее положительные значения  $\delta^{18}\text{O}$  были отмечены у образцов молока из Могилевской области.

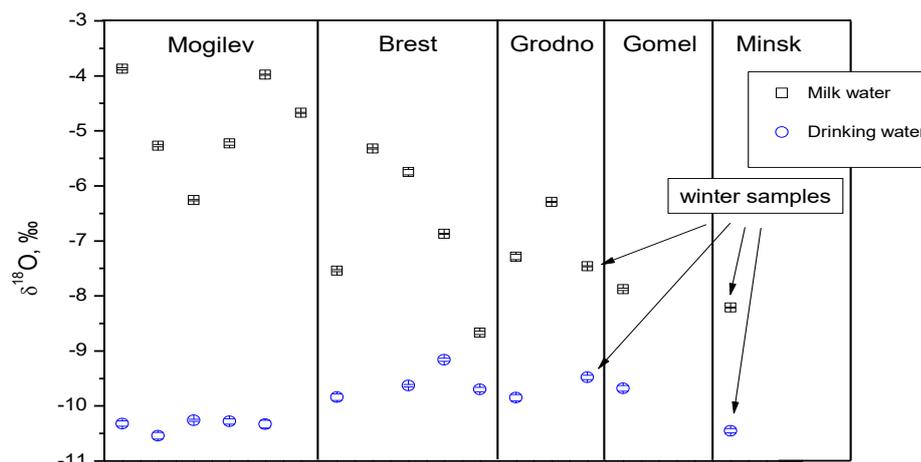


Рисунок 3 – Значения  $\delta^{18}\text{O}$  в воде и молоке из разных регионов Беларуси, отобранных за летний период (те, что указаны стрелками - за зимний период).

Источник данных: собственная разработка.

Содержание изотопов азота ( $\delta^{15}\text{N}$ ) в исследуемых образцах молока варьировало от +3,7 до +6,2‰. Распределение стабильных изотопов азота в молоке было равномерным по всем исследуемым географическим регионам (рисунок 4).

Соотношения стабильных изотопов углерода в образцах молока варьировали от -30,2‰ до -20,0‰ (рисунок 4). Наиболее отрицательные значения  $\delta^{13}\text{C}$  были получены для образцов молока из Могилевской области, тогда как наиболее положительные значения  $\delta^{13}\text{C}$  были у образцов молока из Брестской области, собранных летом. Установлено, что содержание  $\delta^{13}\text{C}$  в образцах молока, отобранных в летний и зимний периоды в одном и том же географическом регионе, различается.

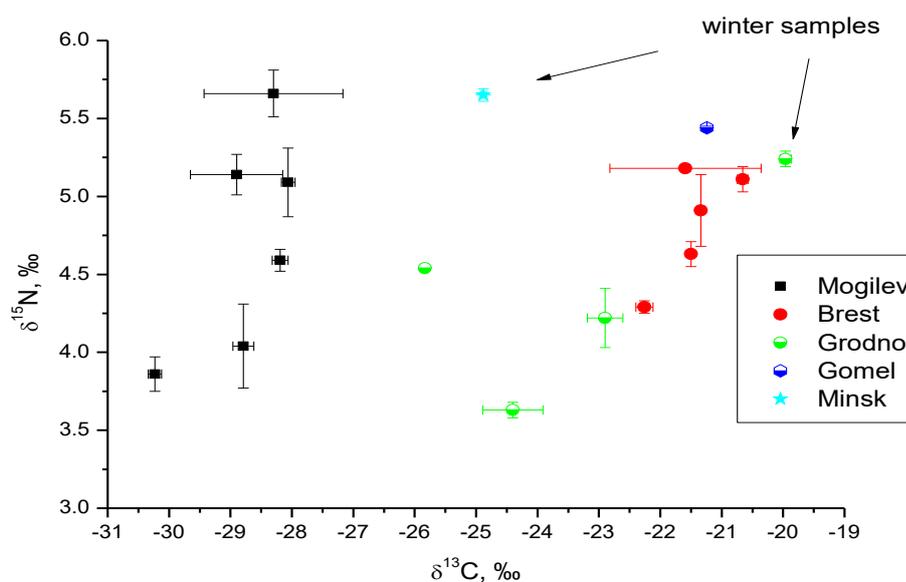


Рисунок 4 – Значения  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  в образцах молока, отобранных за летний период (те, что указаны стрелками - за зимний период) из разных регионов Беларуси

Источник данных: собственная разработка.

Как видно из таблицы 1, при исследовании кормов методом изотопной масс-спектрометрии, выявлены наиболее отрицательные значения  $\delta^{13}\text{C}$  в кормах, отобранных на территории Могилевской области (-35,5‰). Исходя из этого, можно предположить, что в рационе коров из этого региона было минимальное содержание С4-растений (кукурузы).

Наиболее высокие значения содержания  $\delta^{13}\text{C}$  в кормах из Гродненской области (от -25,7 до -18,0‰) указывают на то, что эти корма содержат наибольшее количество С4-растений по сравнению с кормами из других регионов Беларуси. Таким образом, различия содержания  $\delta^{13}\text{C}$  в образцах кормов, отобранных в летний и зимний периоды из различных областей Беларуси, указывают на изменения соотношения изотопов в кормах по сезонам.

**Заключение.** Основным фактором, который влияет на соотношение изотопов углерода в молоке, является рацион животного. Следует отметить, что перевод сельскохозяйственных животных с рациона, состоящего из С3-растений, на питание С4-растениями способствовало увеличению содержания  $\delta^{13}\text{C}$  в молоке. Увеличение количества потребляемых С4-растений на каждые 10% приводит к повышению  $\delta^{13}\text{C}$  примерно на 1‰. Содержание  $\delta^{13}\text{C}$  в образцах молока, отобранных в летний и зимний периоды в одном и том же географическом регионе, также различалось. Это может быть связано с изменением рациона (большее разнообразие кормов в летний период по сравнению со стойловым содержанием в зимний период).

Стабильные изотопы азота в образцах молока варьировали от 3,6 до 6,2‰. Распределение стабильных изотопов азота в молоке было равномерным по всем исследуемым географическим регионам.

Обогащение молока  $\delta^{18}\text{O}$  связано с высоким потреблением животными свежей травы. На это указывают и результаты исследований по соотношению изотопов углерода. Наибольшие различия между соотношениями изотопов кислорода в питьевой воде и молоке наблюдалось в Могилевской области.

Таким образом, в результате исследований установлено, что соотношение стабильных изотопов в коровьем молоке определяется питанием, составом воды, а также условиями окружающей среды. Зная распределение изотопов в источниках питания (корм, вода), можно предсказать состав изотопов в молоке.

Полученные данные будут использованы для создания базы данных подлинных образцов, которая в последующем может быть внедрена в глобальную систему отслеживания пищевых продуктов (Food Traceability System).

Особое значение проведенные исследования имеют для идентификации продуктов и определения их географического происхождения.

### Список использованных источников

- |  |  |
|--|--|
| <p>1. Зякун, А.М. Теоретические основы изотопной масс-спектрометрии в биологии: учебное пособие / А.М. Зякун. – Пушино: Фото-век, 2010. – 224 с.</p> <p>2. Молоко и молочная продукция. Правила приёмки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молкосодержащие продукты: ГОСТ 26809.1-2014 – Введ. 01.09.2016.</p> <p>3. Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб: СТБ ISO 707-2013 – Введ.</p> | <p>1. Zjakun, A.M. Teoreticheskie osnovy izotopnoj mass-spektrometrii v biologii [Theoretical bases of isotopic mass spectrometry in biology] : uchebnoe posobie / A.M. Zjakun. – Pushhino: Foto-vek, 2010. – 224 s.</p> <p>2. Moloko i molochnaja produkcija. Pravila prijomki, metody otbora i podgotovka prob k analizu. Chast' 1. Moloko, molochnye, molochnye sostavnye i molokosoderzhashhie produkty [Milk and dairy products. Acceptance rules, sampling methods and preparation for analysis. Part 1. Milk, dairy, milk composites and milk-containing products] : GOST 26809.1-2014 – Vved. 01.09.2016.</p> <p>3. Moloko i molochnye produkty. Rukovodstvo po otboru prob [Milk and dairy products. Sampling</p> |
|--|--|

01.03.2014.

4. Подколзин, И.В. Оценка возможностей масс-спектрометрии изотопных отношений при установлении географического происхождения цельного молока / И.В. Подколзин, А.И. Соловьев // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 2. 46-51 с.

5. Талибова, А. Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии // Аналитика. – 2011. – № 1.

6. Талибова, А. Исследование стабильных изотопов для оценки качества и безопасности пищевых продуктов / Колеснов А. // Пищевая промышленность. – 2012. – №9.

7. Guillou C., Reniero F. Isotope methods for the control of food products and beverages // New approaches for stable isotope ratio measurements. Proceedings of an Advisory Group meeting held in Vienna, 20–23 September 1999. – P. 39–53.

8. Kelly S., Heaton K., Hoogewerff J. Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis // Trends Food Sci. Tech. – 2005. – Vol. 16, № 12. – P. 555-567.

9. Сельское хозяйство Республики Беларусь: стат. сборник. – Минск: Национальный статистический комитет Республике Беларусь, 2014. – С. 55–90.

Manual] : STB ISO 707-2013 – Vved. 01.03.2014.

4. Podkolzin, I.V. Ocenka vozmozhnostej mass-spektrometrii izotopnyh otnoshenij pri ustanovlenii geograficheskogo proishozhdenija cel'nogo moloka [Evaluation of the potential of isotopic mass spectrometry in determining the geographical origin of whole milk] / I.V. Podkolzin, A.I. Solov'ev // Veterinarija segodnja. – 2016. – № 2. 46 51 s.

5. Talibova, A. Ocenka kachestva i bezopasnosti pishhevoj produkcii metodom izotopnoj mass-spektrometrii [Evaluation of food quality and safety by isotopic mass spectrometry] // Analitika. – 2011. – № 1.

6. Talibova, A. Issledovanie stabil'nyh izotopov dlja ocenki kachestva i bezopasnosti pishhevyyh produktov [Stable isotope study to assess food quality and safety] / Kolesnov A. // Pishhevaja promyshlennost'. – 2012. – №9.

9. Sel'skoe hozjajstvo Respubliki Belarus': stat. sbornik [Agriculture of the Republic of Belarus: stat. collection] . – Minsk: Nacional'nyj statisticheskij komitet Respublike Belarus', 2014. – S. 55–90.