



UDC 637.1:544.77

INNOVATIVE APPROACHES TO THE DETERMINATION OF FRUCTOSE IN DAIRY PRODUCTS WITH COMBINED CARBOHYDRATES

Irina O. Romanchuk¹, Tetyana V. Rudakova^{1*}, Antonina V. Minorova¹, Liudmyla O. Moiseeva¹,
Nataliia L. Krushelnyska¹, Sergiy A. Narizhnyy², Vadym Yu. Bilyi², Viktor Ya. Voroshchuk³.

¹Institute of Food Resources, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, 4a, E. Sverstiuka str., Kyiv, 02002, Ukraine

²Bila Tserkva National Agrarian University, 8/1, Soborna sq., Bila Tserkva, 09117, Ukraine

³Ternopil Ivan Pul'uj National Technical University, 56, Ruska str., Ternopil, 46001, Ukraine.

Received 7 July 2021; accepted 16 May 2022, Available online 25 July 2022

Abstract

Determination of carbohydrate content in food products, in particular dairy products, necessary for various applications, including quality control. Existing techniques and methods for determining carbohydrates are usually difficult to perform, or require consumables to analyze, or long in their implementation, and so on. Currently, the content of fructose in dairy products with a combined carbohydrate composition, including for baby food is determined by chromatographic method, which is long in its performance. The aim was to apply innovative approaches to the determination of fructose in dairy products with a combined carbohydrate composition, including for baby food using the resorcinol method. The founded that according to the absorption spectra of the filtrate reaction products obtained by various methods of sample preparation, the maximum absorption in the visible region of the spectrum is $\lambda_{\max} = 415\text{--}420$ nm. It was found that the value of the mass fraction of fructose in the filtrates obtained by precipitation of the product solutions for the polarimetric method with the destruction of lactose, correlate with each other, namely, the value of the absolute error of the compared results is 0.02 and 0.03 %, and the relative error is 0.6–0.73 %. The method of fructose extraction in dairy products with combined carbohydrate composition, including for baby food, is substantiated, fructose content is determined by resorcinol method, accuracy of method and reliability of results in filtrates obtained by product precipitation by solutions for lactose degradation polarimetric method are proved.

Keywords: dairy products; quality control; carbohydrate composition; fructose content; sample preparation of the product; resorcinol method; method accuracy; reliability of results.

ІННОВАЦІЙНІ ПІДХОДИ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ ФРУКТОЗИ В МОЛОЧНИХ ПРОДУКТАХ З КОМБІНОВАНИМ ВУГЛЕВОДНИМ СКЛАДОМ

Ірина О. Романчук¹, Тетяна В. Рудакова¹, Антоніна В. Мінорова¹, Людмила О. Моїсеєва¹,
Наталія Л. Крушельницька¹, Сергій А. Наріжний², Вадим Ю. Білий², Віктор Я. Ворощук³

¹Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України, вул. Є. Сверстюка, 4 а, Київ, 02002, Україна,

²Білоцерківський національний аграрний університет, пл. Соборна, 8/1, Біла Церква, Київська обл., 09117, Україна,

³Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, вул. Руська 56, м. Тернопіль, 46001, Україна.

Анотація

Мета. Застосування інноваційних підходів щодо визначення фруктози із використанням резорцинового методу для контролювання якості у молочних продуктах з комбінованим вуглеводним складом. Методи. Визначення вмісту фруктози проводили резорциновим методом з використанням фільтратів, отриманих за різних способів осадження продукту: сульфосаліциловою кислотою; трихлороцтовою кислотою; розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози. Результати експериментальних даних обробляли методами математичної статистики. Результати. Встановлено, що за спектрами поглинання продуктів реакції фільтратів, отриманих різними способами пробопідготовки, у видимій області спектра максимум поглинання складає $\lambda_{\max} = 415\text{--}420$ нм. Виявлено, що значення масової частки фруктози у фільтратах, отриманих осадженням продукту розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози, корелюють між собою, а саме, значення абсолютної похибки порівнюваних результатів становить 0.02 і 0.03 %, а відносної похибки – в межах 0.6–0.73 %.

Ключові слова: молочні продукти, контролювання якості, вуглеводний склад, вміст фруктози, пробопідготовка продукту, резорциновий метод, точність методу, достовірність результатів.

*Corresponding author: e-mail address: Rudakovavas@gmail.com

© 2022 Oles Honchar Dnipro National University;

doi: 10.15421/jchemtech.v30i2.236760

Вступ

Продукти дитячого харчування, що виробляються харчовою промисловістю, досить різноманітні. На ринку дитячого харчування вони позиціонуються залежно від виду сировини, методів технологічної обробки, способів консервування, призначення. Асортимент продуктів дитячого харчування, призначених для прикорму до основного раціону харчування дітей віком до трьох років, представлений молоком і молочними продуктами, плодовими, ягідними, овочевими, овочево-фруктовими соками, м'ясними, м'ясо-овочевими пюре, сумішами овочів, м'яса тощо. На жаль, у сегменті продуктів дитячого харчування превалює продукція іноземних компаній. Серед головних постачальників на цьому ринку можна назвати фірми Nestle, Hipp, Gerber, Heinz тощо. Однак іноземні бренди в основному займають сегмент «преміум», і тому не завжди доступні для широких верств населення з низьким і середнім достатком. Тому актуальним є створення технологій виробництва продуктів для харчування дітей з високою харчовою і біологічною цінністю, вироблених з вітчизняної сировини, доступних за ціною пропозицією, широкого асортименту.

Необхідно зауважити, що організм дитини потребує достатньої кількості цукристих речовин, які виконують важливі функції: слугують джерелом енергії для організму, покращують функціонування центральної нервової системи, підтримують постійний рівень глюкози у крові, впливають на формування смакових звичок тощо. Традиційно у продуктах для харчування дітей різного віку використовують цукрозу або цукор, але відомо, що вплив великої кількості цукрози на організм дитини не завжди позитивний. Тому доцільно цукрозу замінити іншим цукровмісним продуктом – фруктозою. Фруктоза – це натуральний плодовий цукор, на відміну від цукрози міститься в натуральному вигляді в плодах, овочах, фруктах та меді. Енергетична цінність 1 г фруктози дорівнює 3.8 ккал, вона солодша за цукор більш як у півтора рази. Фруктоза розщеплюється в організмі дитини до глюкози, але збільшення концентрації глюкози в крові відбувається дуже плавно і поступово, не викликаючи, наприклад, загострення діабету. Крім того, для засвоєння фруктози не потрібен інсулін, і тому не

створюється додаткового навантаження на підшлункову залозу. Здатність фруктози до більш швидкого, ніж глюкози, перетворення у глікоген дозволяє рекомендувати її для додавання в продукти спеціального харчування [1; 2]. Крім того, для забезпечення збалансованого харчування дитини у склад раціону повинні входити в достатній кількості білки тваринного і рослинного походження. При цьому взаємно збагачується та врівноважується співвідношення незамінних і замінних амінокислот; за певних умов замінні амінокислоти чинять дію, яка запобігає втратам незамінних амінокислот. У дітей першого року життя після уведення прикорму і поступового його розширення за рахунок круп'яних страв квота білків тваринного походження в загальному білковому забезпеченні складає 80–85 %, до трьох років життя – 75 % [3; 4]. Рисове борошно, як один із складників рецептур молочних продуктів дитячого харчування, містить складні поліцукриди – клітковину, слизові речовини, геміцелюлози, пектинові речовини, які можуть виконувати роль функціональних речовин. У той самий час рисове борошно є джерелом вітамінів і мінеральних речовин, його використання підвищує харчову цінність продуктів.

Співробітниками відділу молочних продуктів та дитячого харчування Інституту продовольчих ресурсів НААН було розроблено інноваційні технології молочних продуктів для дитячого харчування. Це кисломолочний продукт «Віталакт» [5] та паста сиркова [6], до рецептури яких додають фруктозу у кількості 3.5 %, що забезпечує необхідні смакові властивості готового продукту, та рисове борошно – 3.0–4.0 %, кількість, яка необхідна для утримання компонентів продукту у гомогенному стані та запобігання відділення вологи під час зберігання. Враховуючи, що у склад розроблених молочних продуктів для дитячого харчування входять декілька вуглеводів (лактоза, фруктоза, крохмаль тощо), постає питання визначення складових рецептури, зокрема вмісту фруктози.

Харчові продукти – складні об'єкти для аналізу через багатокомпонентний та індивідуальний склад. Деякі інгредієнти взаємодіють з компонентами, які необхідно визначити, утворюючи різні малорозчинні або комплексні сполуки, тим самим перешкоджаючи виділенню та ідентифікації останніх. На сьогодні для продуктів складного сировинного складу необхідно розробляти

методи пробопідготовки, які застосовують для розділення і виділення окремих компонентів. Тому неможливе проведення кількісного визначення показників, які нормуються, без звільнення від компонентів,

що на них впливають. Аналітичне виділення речовини можливе на основі перетворення речовин або без нього, ґрунтуючись на кінетичній або термодинамічній рівновазі (рис. 1) [7].

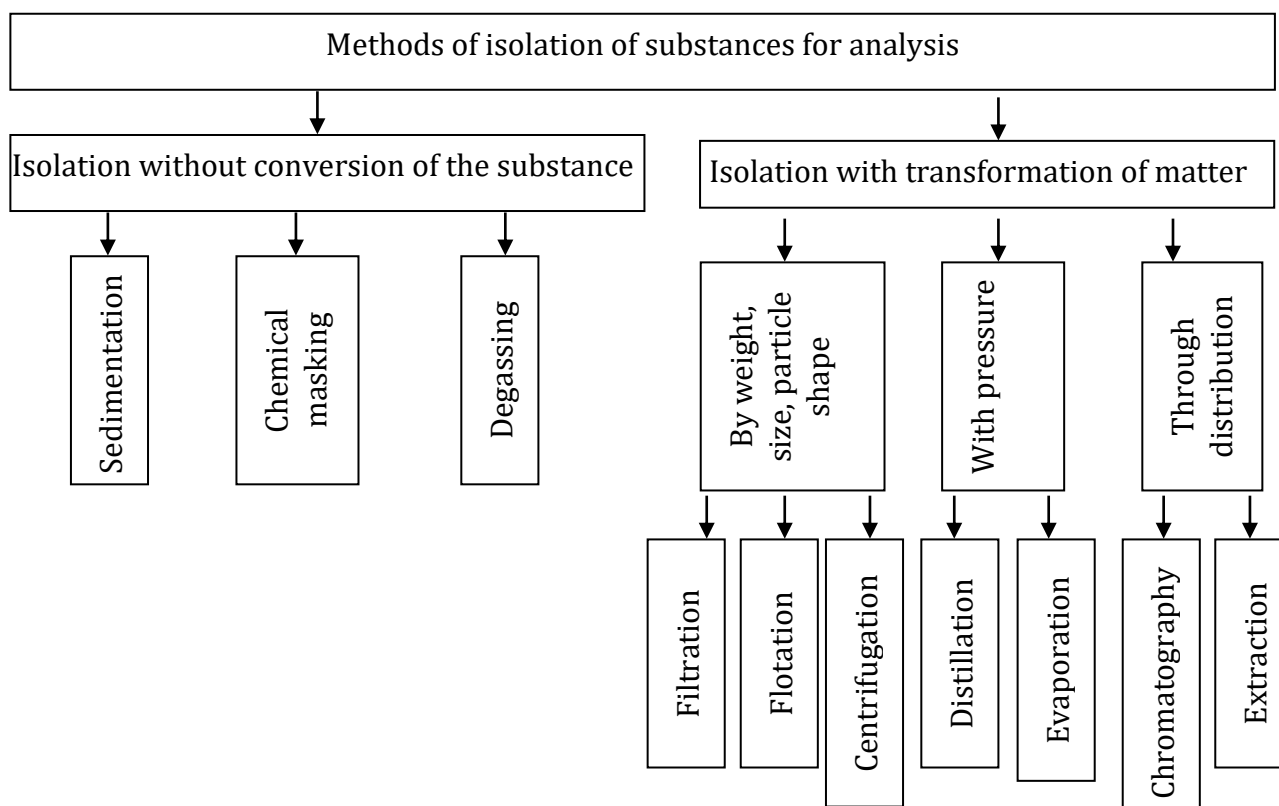


Fig. 1. Methods of sample preparation for the analysis of multicomponent dairy products
Рис. 1. Методи пробопідготовки до аналізу багатокомпонентних молочних продуктів

Необхідно зауважити, що для визначення певного показника в багатокомпонентних продуктах пробопідготовка займає багато стадій. Уведені до складу продукту інгредієнти можуть чинити маскувальну дію, яка перешкоджає сорбції, екстрагуванню, осадженню та відділенню речовин, що досліджуються [8]. Тому проведення пробопідготовки більш важливе, ніж подальше кількісне визначення показника, що досліджується. На сьогодні відсутність стандартизованих методів пробопідготовки призводить до збільшення похибки визначення показників, які нормуються, в багатокомпонентних продуктах і часто унеможливорює достовірне їх визначення.

Моноцукри (глюкоза, фруктоза) належать до найбільш поширених в природі вуглеводів, які широко використовуються як добавки під час виробництва харчових продуктів, активних компонентів препаратів для перинатального харчування та як допоміжні речовини в багатьох фармацевтичних

препаратах. Показник вмісту фруктози в продуктах дієтичного напрямку є важливою характеристикою їх профілактичних властивостей. Тому, з метою контролю якості харчових продуктів, у тому числі молочних, актуальним питанням є застосування адекватної методики визначення вмісту фруктози.

На сьогодні широке розповсюдження отримали хроматографічні методи визначення вуглеводів, оскільки дозволяють визначити в об'єктах, що досліджуються, не тільки їх кількість, але й склад. Хроматографічні методи широко застосовуються для визначення вуглеводів [9; 10]. Через те що моно- та дицукриди нелеткі і добре розчиняються у воді, в основному вуглеводи визначають методами рідинної хроматографії, зокрема, вискоефективної рідинної хроматографії [11] і тонкошарової хроматографії (напівкількісне визначення) [12].

Відоме дослідження щодо відділення

вуглеводів в молочних сумішах для немовлят у колонці ВЕН HILIC (гібрид з етиленовим містком, рідинна хроматографія з гідрофільною взаємодією) за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (UPLC) з випарним детектором розсіювання світла (ELSD) і рухомою фазою, яка містить аміни в якості модифікаторів. Умови хроматографії і параметри ELSD були оптимізовані для поділу п'яти типових вуглеводів і застосовані для аналізу чотирьох порошків молока для немовлят. Лінійні діапазони визначення вуглеводів становили 20–300 мг/л для фруктози і глюкози – 16.4 мг/л, 20–250 мг/л для цукрози і лактози – 17.3 мг/л та 20.0 мг/л, відповідно, 35–180 мг/л для фруктоолігоцукридів – 46.7 мг/л. Відносні стандартні відхилення (RSD) були в межах 3.45–4.23 %; 1.46–4.17 %; 4.14–5.60 %; 1.39–4.09 % і 2.49–3.61 % для фруктози, глюкози, цукрози, лактози і фруктолігоцукриду, відповідно, а вилучення – в межах 5.0 і 105.4 % [13].

Також був розроблений та перевірений простий і відтворюваний метод якісного та кількісного аналізу вільних моно- та дицукридів (фруктози, глюкози, галактози, цукрози, лактулози та лактози) у молочних сумішах за допомогою високоефективної рідинної хроматографії з показником заломлення (RI). Метод показав хорошу лінійність з коефіцієнтами детермінації, що перевищують 0.99. Межі виявлення (DL) у цих цукрів становили 0.17; 0.13; 0.06; 0.16; 0.05 та 0.25 мг/мл відповідно, а межі кількісного визначення (QL) – 0.27; 0.24; 0.20; 0.26; 0.22 та 0.38 мг/мл. Відносні стандартні відхилення (R.S.D.s) для повторюваності за фруктозою, цукрозою, лактулозою та лактозою становили 0.78; 0.99; 2.91 та 0.46, а RSD для відтворюваності відповідно 4.8; 6.15; 7.04 та 2.49. Вилучення всіх цукрів становило від 93 до 113 % [14].

Крім того, розроблено гравіметричний метод визначення клітковини в продуктах дитячого харчування: соках, нектарах, напоях, фруктових та овочевих пюре, соках овочевих, соках фруктових тощо [15]. Методика базується на поступовому обробленні дослідного зразка розчинами сульфатної кислоти, луку (хоча б їдкою натру або калі, але краще – відповідного гідроксиду), промиванні водою, спиртом та етеом, в результаті чого усі складні супутні речовини гідролізуються, окиснюються та розчиняються, а сира клітковина залишається

без змін та її вміст визначається гравіметричним методом.

Відомий спосіб кількісного визначення фруктози в напоях, переважно кисломолочних, що містять продукти переробки топінамбура в кількості до 50 % [16]. Сутність методу полягає в тому, що продукт дослідного зразку нейтралізують 30 %-м розчином гідроксиду натрію, додають його в розчин реагенту у співвідношенні 1 : 4 відповідно, в якості якого використовують розчин тетраборату натрію, та потенціометрично визначають активну кислотність суміші дослідного зразку та розчину реагенту. Початкову пробу дослідного зразку нейтралізують до активної кислотності 9.00–9.20 од. рН, а реагент використовують у вигляді водного розчину з початковою концентрацією 0.00125 моль/дм³. Крім того, для визначення фруктози попередньо визначають рН реагенту та рН суміші реагенту та аналізованого зразку, визначають різницю ΔpH , потім вимірюють рН суміші розчину реагенту та кисломолочної основи, а також різницю між ними $\Delta\text{pH}_\text{ф}$, після чого визначають кількість фруктози у вихідній пробі C_x , г/100 см³. При цьому $\Delta\text{pH}_\text{ф}$ для кисломолочної основи складає 0.12–0.23 од. рН, а діапазон вмісту фруктози, що визначається, 0.05–0.5 г/100 см³.

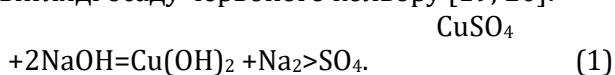
З іншого боку, у випадках, коли склад вуглеводів не має великого значення, але необхідно зафіксувати тенденції у зміні їх кількості або за іншими причинами, використовують більш прості методи їх визначення.

Наприклад, спектрофотометричні методи, які є менш витратними. Так, відома методика кількісного визначення моноцукрів методом УФ-спектроскопії, що дозволяє диференційно визначати вміст гексоз та кетоз. Для визначення гексоз в перерахунку на глюкозу використано реакцію з фенолом у присутності кислоти сульфатної концентрованої. Кетози в перерахунку на фруктозу визначали з використанням резорцину в присутності кислоти хлоридної розведеної (реакція Селіванова). Фруктоза під час нагрівання з кислотою втрачає три молекули води і перетворюється в оксиметилфурфурол, який, взаємодіючи з резорцином, утворює продукт вишнево-червоного кольору, що має у видимій області спектру максимум поглинання $\lambda_{\text{max}} = 415\text{--}420$ нм [17].

Розроблено швидкий, простий і точний метод для кількісного визначення глюкози,

фруктози, цукрози та інуліну (олігофруктози) в харчових продуктах з використанням лише стандартного лабораторного обладнання. Зразки продукту підготовлювали за допомогою окропу та піддавали гідролізу із сахаразою та фруктаназою. Вміст вуглеводів визначали з використанням ферментативного та спектрофотометричного набору для глюкози та фруктози для визначення гексокінази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та фосфоглюкози ізомерази [18].

Відомі також різноманітні методи визначення кількості моноцукрів, наприклад, метод Бертрана, який ґрунтується на здатності редукувальних цукрів, що мають вільну карбонільну групу, взаємодіяти з реактивом Фелінга і відновлювати купрум (II) оксид до купрум (I) оксиду, який випадає у вигляді осаду червоного кольору [19; 20]:



Перебіг реакції відбувається кількісно. Цукроза та інші олігоцукри, в яких зв'язані обидві карбонільні групи (цукроза) чи одна (мальтоза), потребують попереднього гідролізу кислотою або ферментом.

Сутність йодометричного методу полягає у взаємодії між альдегідною групою молочного цукру і глюкозою з йодом в лужному середовищі, в якій йод є окислювачем. Атомарний кисень, який виділився окислює молочний цукор в лактобіонову кислоту, а глюкозу, що утворюється під час інверсії цукрози, в глюконову кислоту. Під час визначення цукрів беруть надлишок йоду, і за різницею між кількістю взятого йоду і йодом, який не прореагував під час титрування розчином тіосульфату натрію, знаходять вміст (лактози) молочного цукру [19; 20].

Також широко використовують в практиці визначення вуглеводів в харчових продуктах рефрактометричний та поляриметричний методи [19–21].

Отже, посилаючись на аналіз існуючих методів та способів визначення вуглеводів, зокрема фруктози, можна зазначити, що з метою контролювання якості молочних продуктів дитячого харчування із новим складом, найбільш доступний для практичного використання в наукових дослідженнях та промислових умовах, є резорциновий метод [17]. На відміну від резорцинового методу визначення фруктози, метод високоефективної рідинної хроматографії [9; 10] має переваги, а саме, надає змогу визначити з високою точністю

широкий спектр вуглеводів у багатокomпонентних молочних продуктах. Але при цьому вказана методика визначення вуглеводів складна у виконанні, потребує витратні складові для аналізу, тривала у виконанні тощо. Інші вищезначені [15; 16; 18] методики більш-менш доступні у виконанні, але мають недоліки, наприклад, складну довготривалу пробопідготовку виділення клітковини за гравіметричним методом, за потенціометричним способом не враховано багатокomпонентність продукту, а визначення фруктози у кисломолочній суміші проводять з обмеженим діапазоном значень (0.05–0.5 %).

Метою роботи було застосування інноваційних підходів щодо визначення фруктози у молочних продуктах з комбінованим вуглеводним складом, в тому числі для дитячого харчування, із використанням резорцинового методу саме на етапі пробопідготовки фільтратів дослідних зразків.

Матеріали та методи досліджень

Предметом досліджень були: молоко питне з фруктозою для харчування дітей, кисломолочний продукт «Віталакт» для харчування дітей згідно з ТУ У 10.8-00419880-116:2012, паста сиркова для харчування дітей згідно з ТУ У 10.8-00419880-112:2012 та фільтрати, отримані із застосуванням різних способів осадження та вилучення фруктози з вищезазначених продуктів.

З огляду на вищезначені методики і способи щодо визначення фруктози в молочних продуктах дитячого харчування, нами був застосований резорциновий метод [17]. Сутність його в наступному: в пробірку додавали 1 см³ підготовленої проби (фільтрату), додавали 3 см³ розчинів А і Б. Паралельно готували зразок порівняння, в якому замість 1 см³ підготовленої проби додавали 1 см³ дистильованої води, а також готували стандартний зразок розчину фруктози (0.05 г фруктози розчиняли у 100 см³ води). Пробірки з'єднували з повітряним холодильником та витримували протягом 40 хв. у водяній бані за температури 80 °С. Із закінченням нагрівання пробірки охолоджували під струменем води. 2 см³ отриманих розчинів доводили до мітки в пікнометрах ємністю 25 см³ 96 % етиловим спиртом.

Розчин А – 0.05 % розчин резорцину в 96 % етиловому спирті; *розчин Б* – в 1 дм³ хлоридної кислоти (d_{HCl} = 1.18) розчиняли 0.216 г залізоамонійних галунів (FeNH₄(SO₄)₂·12H₂O).

Отримані розчини досліджували на фотоелектрокалориметрі КФК-2МП у кюветі товщиною 10 мм в діапазоні довжини хвилі 375–535 нм.

Фільтрати готували рідинною екстракцією фруктози різними реагентами за наступними способами.

За *першим способом* у центрифужну пробірку додавали 1 см³ 10 %-го розчину сульфосаліцилової кислоти (ССК – C₇H₆O₆S) та 3 см³ продукту, центрифугували за швидкості 8 тис. об/хв, фільтрували.

За *другим* – у стакан з поділкою на 50 см³ відважували 20 г продукту та доливали до мітки 20 %-м розчином трихлороцтової кислоти (ТХК – C₂HCl₃O₂), ретельно перемішували скляною паличкою та залишали у спокої протягом 30 хв, потім вміст стакану фільтрували.

За *третьим* – фільтрат готували як для поляриметричного методу згідно з ГОСТ 30648.7-99: у стакан місткістю 100 см³ поміщували наважку 26 г продукту, додавали близько 50 см³ дистильованої води за температури (45 ± 2) °С, ретельно розтирали та кількісно переносили у мірну колбу

місткістю 200 см³, змиваючи стакан дистильованою водою декілька разів. Потім у колбу додавали по 3 см³ розчину оцтовокислого цинку (C₄H₆O₄Zn – концентрація 300 г/дм³) та гексаціаноферат калію (C₆FeK₄N₆ – концентрація 150 г/дм³). Після додавання кожного розчину вміст колби обережно перемішували, доводили до мітки дистильованою водою, ретельно перемішували, залишали у спокої та через 10 хв. фільтрували у суху колбу місткістю 250 см³. Потім проводили руйнування лактози у фільтраті: у мірну колбу місткістю 100 см³ додавали 25 см³ фільтрату, 25 см³ буферного розчину, 3 см³ розчину гідроксиду натрію з концентрацією 1.0 моль/дм³ та перемішували. Колбу з розчином підігрівали на водяній бані до температури (85 ± 2) °С. Потім швидко охолоджували до температури (20 ± 2) °С під струменем холодної води та додавали 3 см³ концентрованої оцтової кислоти (CH₃COOH). Вміст колби доводили дистильованою водою до мітки та ретельно перемішували.

Вміст фруктози X (%) розраховували за формулою (2):

$$X = \frac{D_x \cdot a \cdot V_1 \cdot 100}{D_{cm} \cdot b \cdot V_2}, \quad (2)$$

де D_x – оптична щільність продукту, що досліджується;

D_{cm} – оптична щільність стандартного розчину фруктози;

a – наважка стандартного розчину фруктози (0.05 г);

b – наважка продукту, г;

V_1 – об'єм витяжки, що приготований з наважки, см³;

V_2 – об'єм фільтрату, взятий для визначення фруктози, см³;

100 – коефіцієнт перерахунку на 100 г продукту.

Усі дослідження проводились п'ятикратно у трьох ідентичних зразках вищезазначених продуктів.

Результати експериментальних даних оброблювали за допомогою стандартних програм статистичного оброблення Microsoft Excel та Statistica (Staf Soft) пакету програм MathCAD [22; 23]. Для характеристики розсіювання результатів у вибірковій сукупності застосовували стандартне відхилення S_n , що характеризує відтворюваність результатів. Для оцінки відтворюваності і правильності результатів аналізу розраховували довірчий інтервал $\delta_{p,n}$. Відтворюваність вимірювання оцінювали у вигляді відносної похибки прямого вимірювання ξ .

Результати та їх обговорення

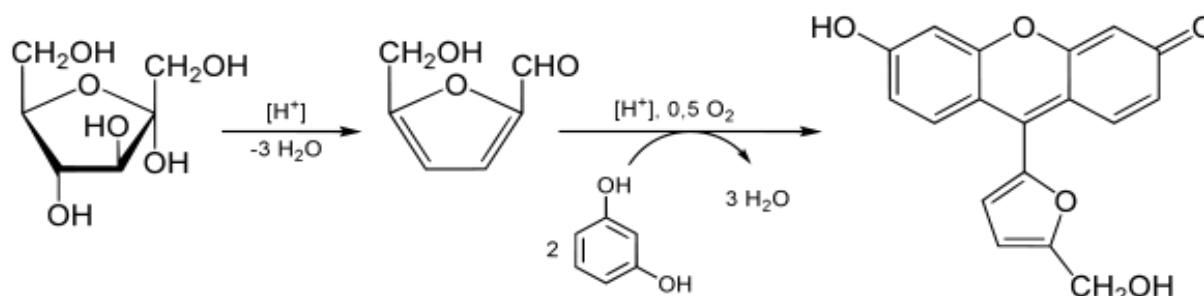
Фруктоза (арабіно-гексулоза, левульоза,

фруктовий цукор) – моноцукор, кетогексоза, в живих організмах присутній виключно D-ізомер, у вільному стані – майже у всіх солодких ягодах та плодах – в якості моноцукридної ланки входить у склад цукрози та лактулози. У водних розчинах фруктоза існує у вигляді суміші таутомерів, в якій переважає β-D-Фруктопіраноза і міститься, за температури 20 °С, близько 20 % β-D-Фруктофуранози та близько 5% α-D-Фруктофуранози [24].

За своїми хімічними властивостями фруктоза є типовою кетозою, відновлюється з утворенням суміші манніту та сорбіту, з фенілгідразином вона утворює фенілоззон, ідентичний фенілозонам глюкози і маннози. Фруктоза нестійка у лугах та кислотах і може повністю руйнуватися в умовах кислотного гідролізу поліцукридів або глікозидів, за яких звичайні альдози не

піддаються деструкції. Початковою стадією розщеплення фруктози у присутності кислот є дегідратація її фуранозної форми з утворенням 5-метилфурфура, на чому

заснована якісна реакція на фруктозу у присутності резорцину (проба Селіванова) [25–27] (схема 1).



Scheme 1. Qualitative reaction to fructose in the presence of resorcinol (Selivanov test)
Схема 1. Якісна реакція на фруктозу у присутності резорцину (проба Селіванова)

Для визначення вмісту фруктози найчастіше застосовується метод, що включає наступні етапи: попереднє підготовлення зразка продукту та гідроліз його водного вилучення, утворення аналітичного компонента (фруктози) за реакцією Селіванова (утворюються сполуки червоно-вишневого забарвлення), концентрація якого визначається спектрофотометричним способом. За даними літературних джерел ідентифікацію фруктози проводять в досить широкому діапазоні довжин хвиль – 375–535 нм [26; 27].

Для визначення вмісту фруктози у молочних продуктах з комбінованим вуглеводним складом, зокрема для дитячого харчування, нами було застосовано резорциновий метод за різних способів прободготовки продукту та одержання фільтратів осадженням: ССК, ТХК, розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози.

На рис. 2–5 представлено спектри поглинання стандартного розчину 0.05 % фруктози та продуктів, що досліджувались, за різних способів отримання фільтрату.

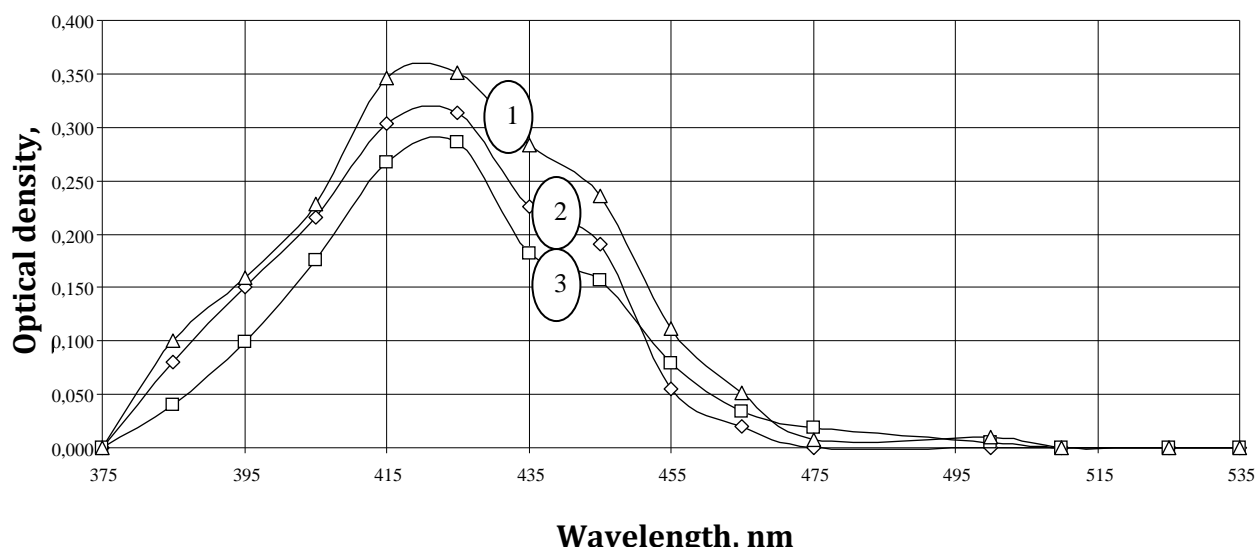


Fig. 2. Absorption spectra of standard fructose solution by different methods of obtaining filtrate using: sulfosalicylic acid (1); trichloroacetic acid (2); solutions for the polarimetric method with the destruction of lactose (3).
Рис. 2. Спектри поглинання стандартного розчину фруктози за різних способів отримання фільтрату із використанням: сульфосаліцилової кислоти (1); трихлороцтової кислоти (2); розчинів для поляриметричного методу із руйнуванням лактози (3).

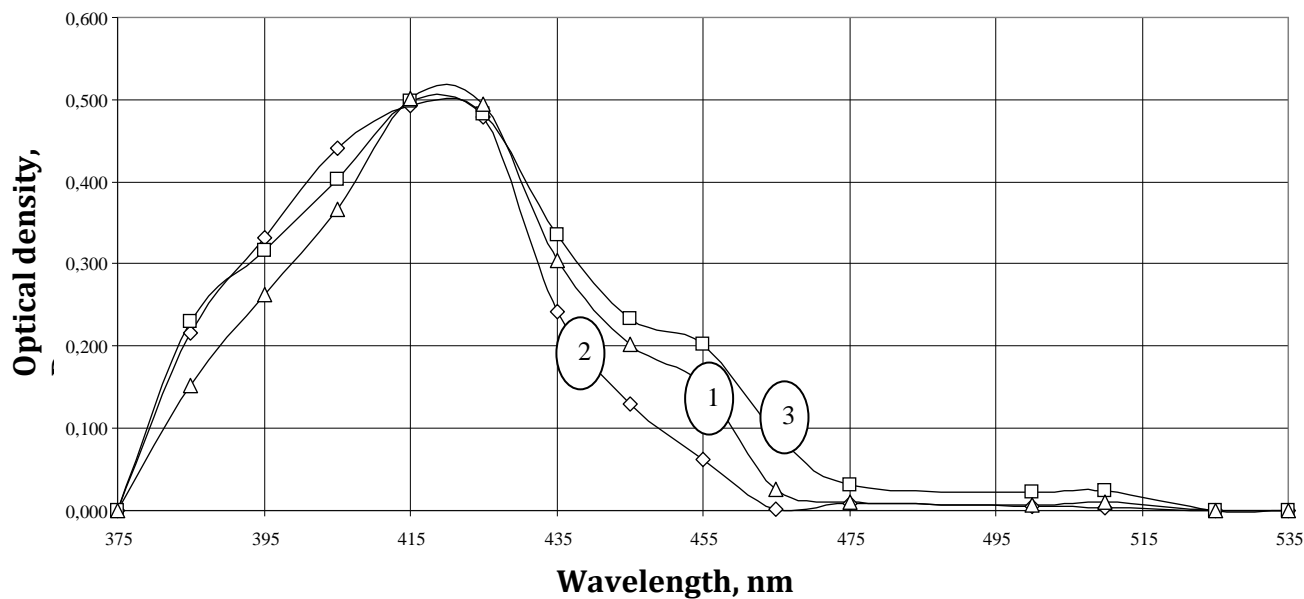


Fig. 3. Absorption spectra of the reaction products of the filtrates obtained by precipitation of the product with sulfosalicylic acid: milk with fructose (1); sour milk product "Vitalakt" (2); curd paste (3).

Рис. 3. Спектри поглинання продуктів реакції фільтратів, отриманих осадженням продукту сульфосаліциловою кислотою: молоко з фруктозою (1); кисломолочний продукт «Віталакт» (2); паста сиркова (3).

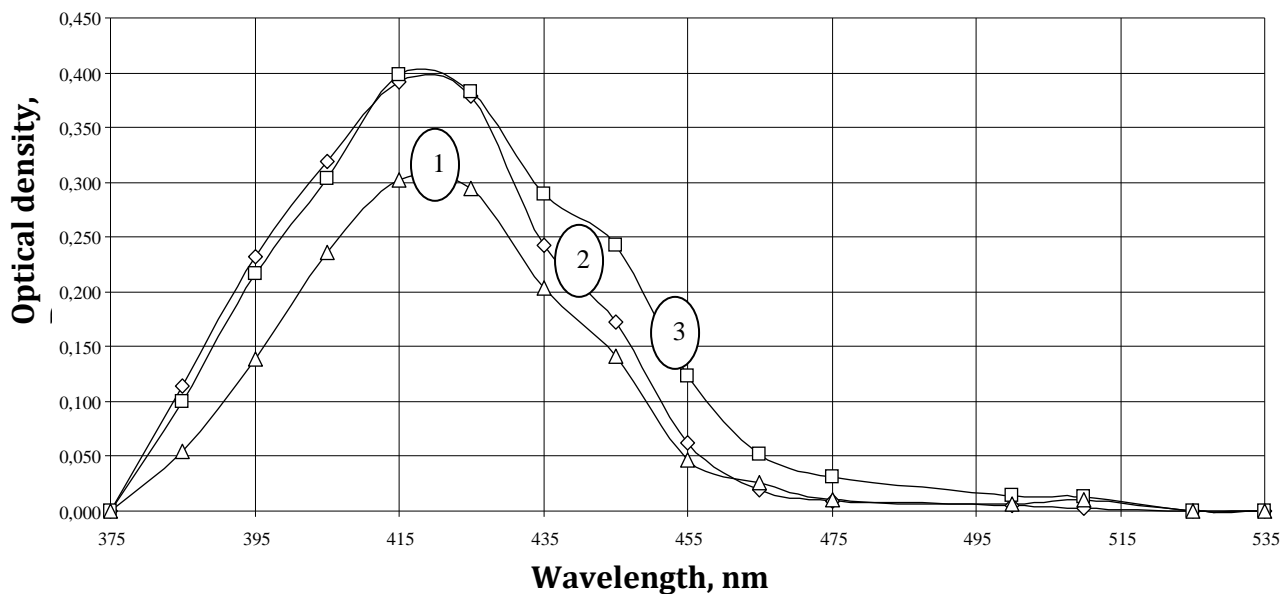


Fig. 4. The absorption spectra of the reaction products of the filtrates obtained by precipitation of the product with trichloroacetic acid: milk with fructose (1); sour milk product "Vitalakt" (2); curd paste (3).

Рис. 4. Спектри поглинання продуктів реакції фільтратів, отриманих осадженням продукту трихлороцтовою кислотою: молоко з фруктозою (1); кисломолочний продукт «Віталакт» (2); паста сиркова (3).

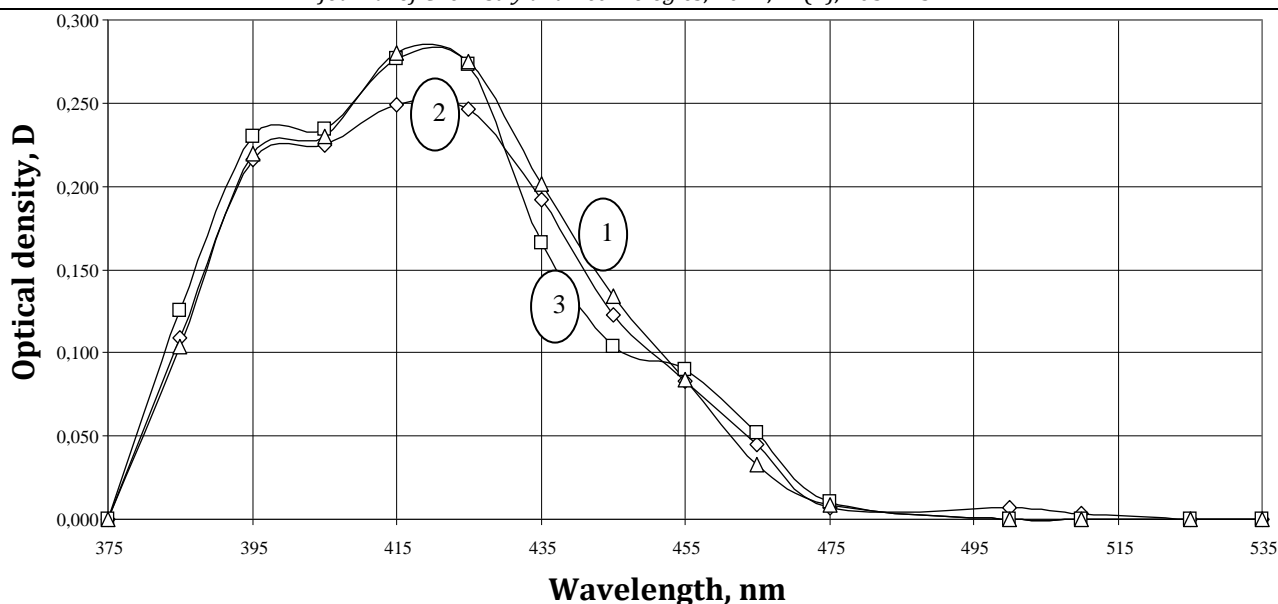


Fig. 5. The absorption spectra of the reaction products of the filtrates obtained by precipitation of the product with solutions for the polarimetric method with the destruction of lactose: milk with fructose (1); sour milk product "Vitalakt" (2); curd paste (3).

Рис. 5. Спектри поглинання продуктів реакції фільтратів, отриманих осадженням продукту розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози: молоко з фруктозою (1); кисломолочний продукт «Віталакт» (2); паста сиркова (3).

За спектрами поглинання продуктів реакції фільтратів, отриманих різними способами, видно, що у видимій області спектра максимум поглинання складає $\lambda_{\max} = 415\text{--}420$ нм (рис. 2–5). Отже, за експериментальними даними, отриманими за $\lambda_{\max} = 415$ нм, був розрахований вміст фруктози у трьох ідентичних зразках молочних продуктів для

дитячого харчування (x_1, x_2, x_3) за формулою (2) та результати зведені у табл.

З метою порівняння точності даних, отриманих резорциновим методом визначення фруктози, в дослідних зразках було визначено вміст фруктози альтернативним методом вискоєфективної рідинної хроматографії (табл.).

Table

Fructose content in dairy products for baby food by different methods of obtaining filtrate ($n = 3, P = 0.95$) and metrological characteristics

Таблиця

Вміст фруктози у молочних продуктах для дитячого харчування за різних способів одержання фільтрату ($n = 3, P = 0.95$) та метрологічні характеристики

Product name	Mass fraction of fructose, %			Metrological characteristics			
	x_1	x_2	x_3	$S_{p,n}$	$\delta_{p,n}$	$\bar{x} \pm \delta_{p,n}$	$\xi, \%$
filtrates obtained by precipitation of the product with sulfosalicylic acid							
Milk with fructose	3.61	3.58	3.55	0.0141	0.04	3.58 ± 0.04	1.26
Sour milk product "Vitalakt"	3.75	3.70	3.65	0.0236	0.07	3.70 ± 0.07	2.03
Curd paste	3.70	3.74	3.72	0.0094	0.03	3.72 ± 0.03	0.81
filtrates obtained by precipitation of the product with trichbroacetic acid							
Milk with fructose	3.81	3.88	3.80	0.0205	0.07	3.83 ± 0.07	1.71
Sour milk product "Vitalakt"	3.78	3.82	3.82	0.0120	0.04	3.81 ± 0.04	1.00
Curd paste	3.80	3.80	3.84	0.0120	0.04	3.81 ± 0.04	1.00
filtrates obtained by precipitation of the product with solutions for the polarimetric method with the destruction of lactose							
Milk with fructose	3.52	3.50	3.50	0.0067	0.02	3.51 ± 0.02	0.60
Sour milk product "Vitalakt"	3.54	3.56	3.54	0.0082	0.03	3.55 ± 0.03	0.73
Curd paste	3.58	3.60	3.58	0.0082	0.03	3.59 ± 0.03	0.72
filtrates obtained for the determination of fructose by high performance liquid chromatography							
Milk with fructose	3.50	3.50	3.50	0.0055	0.01	3.50 ± 0.01	0.50
Sour milk product "Vitalakt"	3.51	3.50	3.52	0.0062	0.02	3.51 ± 0.02	0.59
Curd paste	3.52	3.52	3.51	0.0074	0.02	3.52 ± 0.02	0.60

Одержані результати свідчать про достатню точність резорцинового методу визначення вмісту фруктози у фільтратах, отриманих осадженням продукту розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози (табл.). Виявлено, що значення масової частки фруктози в дослідних зразках корелюють між собою, при цьому значення абсолютної похибки становить 0.02 % і 0.03 %, а відносної похибки – в межах 0.6–0.73 %. Крім того, точність отриманих даних щодо визначення фруктози підтверджено методом вискоэффективної рідинної хроматографії (табл.). Тому пробопідготовку із руйнуванням лактози можна рекомендувати як адекватну для визначення вмісту фруктози резорциновим методом під час контролювання якості молочних продуктів з комбінованим вуглеводним складом.

Висновки

Опрацьовано резорциновий метод визначення фруктози в молочних продуктах з

комбінованим вуглеводним складом, зокрема для дитячого харчування, з використанням фільтратів, отриманих різними способами осадження продукту: сульфосаліциловою кислотою; трихлороцтовою кислотою; розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози. Доведено точність методу та достовірність результатів у фільтратах, отриманих осадженням продукту розчинами для поляриметричного методу із руйнуванням лактози. Обґрунтовано спосіб вилучення фруктози з наступним визначенням її вмісту резорциновим методом. Підтверджений науковими дослідженнями спосіб пробопідготовки вилучення фруктози на етапі отримання фільтратів можна рекомендувати як найбільш доступний для практичного використання під час контролювання якості молочних продуктів з комбінованим вуглеводним складом, в тому числі для харчування дітей.

References

- [1] Gray, J. (2003). *Carbohydrates: nutritional and health aspects*. ILSI Press, Europe.
- [2] Polumbryk, M. O. (2011). [*Carbohydrates in food and human health*]. Kyiv, Ukraine: Akadempriodyka (in Ukrainian).
- [3] Introduction of complementary foods when feeding children of the first year of life. <https://uda.in.ua/25-02-2016-р-публікація-тижня-введення-прикор/>
- [4] Ladodo, K. S. (2008). [*Rational nutrition of young children*]. Moscow, Russian Federation: Miklos (in Russian).
- [5] Romanchuk, I. O., Kihel, N. F., Rudakova, T. V., Danylenko, S. H., Andreus, S. M., Moiseeva, L. O. Ukraine Patent No 104976. Vitalakt sour-milk product. Kyiv, Ukraine. Institute of Food Resources (in Ukrainian).
- [6] Romanchuk, I. O., Rudakova, T. V., Andreus, S. M., Moiseeva, L. O. Ukraine Patent No 105581. Cheese paste for baby food. Kyiv, Ukraine. Institute of Food Resources (in Ukrainian).
- [7] Petrukhin, O. M. (1992). [*Analytical chemistry. Chemical methods of analysis*]. Moscow, Russian Federation: Khimiya (in Russian).
- [8] Haritonov, Ju. Ja. (2018). [*Analytical chemistry: textbook*]. Moscow, Russian Federation: GEOTAR-Media (in Russian).
- [9] Pedruzzi, I. (2007). Quantification of lactobionic acid and sorbitol from enzymatic reaction of fructose and lactose by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 1145, 1-2, 128–132.
- [10] Rudakov, O. B. (2005). [Modern liquid chromatography of carbohydrates]. *Oils and fats*. 58, 12, 13–14 (in Russian).
- [11] Slimestad, R. (2006). Thermal stability of glucose and other sugar aldehydes in normal phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 1118(2), 281–284.
- [12] Kirchner, Ju. (1981). [*Thin layer chromatography*]. Moscow, Russian Federation: Mir (in Russian).
- [13] Determination of carbohydrates in infant milk powders by ultra-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detector and BEH HILIC column. https://www.researchgate.net/publication/321210387_Determination_of_carbohydrates_in_infant_milk_powers_by_ultraperformance_liquid_chromatography_with_evaporative_light_scattering_detector_and_BEH_HILIC_column
- [14] Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. https://www.researchgate.net/publication/8382295_Analysis_of_monoand_disaccharides_in_milk-based_formulae_by_high-performance_liquid_chromatography_with_refractive_index_detection.
- [15] Bordak, L. V. (2011). [Gravimetric method for determining fiber in baby food]. *Health and environment*, 19, 396–401 (in Russian).
- [16] Volkova, O. P., Ruvinskij, O. E., Frampol'skaja, T. V. (2000). [Express method for potentiometric determination of fructose in fermented milk drinks with Jerusalem artichoke]. *Proceedings of universities, Food technology*, 5-6, 78–80. (in Russian).
- [17] Pisarev, D. I., Novikov, O. O., Bezmenova, M. D., Tomchakovskaja, E. A., Sorokopudova, V. N. (2010). [Development of a method for the quantitative determination of monosaccharides in late bird cherry fruits. Scientific statements]. *Ser. The medicine. Pharmacy*. 93(22), 114–118 [in Russian].
- [18] Steegmans, M., Ilaens, S., Hoebregs, H. (2004). Enzymatic, Spectrophotometric Determination of Glucose, Fructose, Sucrose, and Inulin/Oligofructose in Foods. *Journal of AOAC International*, 87(5), 1200–1207.

- [19] Krus', G. N., Shalygina, A. M., Volokitin, Z. V. (2002). [*Research methods of milk and dairy products*]. Moscow, Russian Federation: KolosS (in Russian).
- [20] Inihov, G. S., Brio, N. P. (1971). [*Methods for the analysis of milk and dairy products*]. Moscow, Russian Federation: Pishchevaya promyshlennost' (in Russian).
- [21] Prasad, L. Polavarapu (2002). Optical rotation: Recent advances in determining the absolute configuration. *Chirality*, 10, 768–781.
- [22] Lisicin, V. M., Antonenko, E. S., Velichko, D. I. (1984). [*Solving engineering and economic problems on a computer*]. Kiev, Ukraine: Vyshcha shkola.
- [23] Aleksandrov, Ju. I., Beljakov, V. I. (2002). [Uncertainty and uncertainty of the chemical analysis result]. *Journal of Analytical Chemistry*, 57(2), 118–129 (in Russian).
- [24] Bochkov, A. F., Afanas'ev, V. A., Zaikov, G. E. (1980). [*Carbohydrates*]. Moscow, Russian Federation: Nauka (in Russian).
- [25] Korenman, Ja. I., Mokshina, N. Ja., Bychkova, A. A. (2014). [Physicochemical determination of carbohydrates in food and beverages]. *Vestnik VSUIT*. 59(1), 146-152 (in Russian).
- [26] Shahidullah, M., Khorasani, S. S. M. A. (1972). The sensitivity and selectivity of the Seliwanoff test for fructose. *Analytica Chimica Acta*, 61, 317–319.
- [27] Roe, J. H. (1934). A colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine. *The Journal of Biological Chemistry*, 107, 15–22.