

М.Ю. Кукин, канд. техн. наук,
Н.С. Лаврентьева,

О.И. Парахина, канд. техн. наук,
Санкт-Петербургский филиал ФГАНУ
«Научно-исследовательский институт
хлебопекарной промышленности»,

М.Н. Костюченко, канд. техн. наук,
ФГАНУ «Научно-исследовательский
институт хлебопекарной
промышленности (ФГАНУ НИИХП)»,

Д.В. Косарев,
Р.Ю. Антонов,
Группа Компаний «ЭКАН»

doi: 10.32462/0235-2508-2023-32-8-32-36
УДК 543.421/.424:664.66.014

Адаптация метода инфракрасной спектроскопии (БИК) для определения массовой доли белка и влаги в хлебобулочных изделиях

Введение

Пищевые продукты должны иметь этикетку с информацией для потребителя и указанием пищевой ценности, массовой доли жиров, белков и углеводов. Применяемые в настоящее время для анализа химического состава хлебобулочных изделий методы длительны и трудоёмки. Спектроскопия в ближней инфракрасной области (БИК-метод) позволяет за 1–2 мин определить содержание белка, влаги, жира, сахара в хлебе и не требует сложной подготовки проб и высокой квалификации оператора прибора.

БИК-метод основан на регистрации спектров отражения анализируемых проб при длине волны от 750 до 2500 нм (13333 до 4000 см⁻¹) и автоматическом расчёте массовой доли определяемого компонента с помощью градуировочных моделей, разработанных на основе репрезентативной выборки изделий, в которых массовая доля этого компонента определена стандартными химическими или физико-химическими методами [2–4].

В ближней ИК-области сигналы имеют малую интенсивность (на 2–3 порядка меньше, чем у сигналов в ИК-области), а базовую линию проблематично определить из-за большого числа перекрывающихся сигналов. Несмотря на это, в пищевой промышленности БИК-анализаторы распространены шире, чем ИК-анализаторы. Это объясняется тем, что полно-

Аннотация. В статье приведены результаты исследований по разработке градуировочных моделей для совместного определения массовой доли белка и влаги в хлебобулочных изделиях с коркой методом спектроскопии в ближней инфракрасной области (БИК). Применяемые в настоящее время для анализа химического состава хлебобулочных изделий методы длительны и трудоёмки. БИК-метод позволяет быстро определить содержание белка, влаги, жира, сахара в хлебе и не требует сложной подготовки проб и высокой квалификации оператора. Проведена серия лабораторных выпечек хлеба, массовой доли белка, в котором варьировалось за счёт введения в рецептуру пшеничной клейковины и крахмала. Для снятия непрерывных спектров использовали БИК-анализаторы, работающие в диапазоне длин волн от 1400 до 2500 нм. Спектральные характеристики образцов из репрезентативной выборки сопоставлялись с результатами, полученными методом Кельдаля (белок) и методом сушки до постоянной массы (влага). Показано, что после валидации под конкретный прибор, разработанные градуировочные модели обеспечивают приемлемую точность результатов.

Ключевые слова: спектроскопия, ближняя инфракрасная область, градуировочные модели, хлебобулочные изделия, массовая доля белка и влаги.

ценные ИК-спектрометры стоят в несколько раз дороже БИК-анализаторов, а также они значительно сложнее в эксплуатации, требуют высокой квалификации оператора и дорогих расходных материалов [2, 4, 5, 6].

БИК-спектроскопия получила широкое распространение благодаря своим преимуществам перед другими аналитическими методами [2, 7, 8]:

- для подготовки проб достаточно простого измельчения образца;
- расходные материалы не требуются;
- одновременный анализ всех показателей за 1–2 мин;
- низкие требования к квалификации оператора;
- прибор имеет относительно небольшие габариты и неприхотлив в эксплуатации.

В России БИК-метод используют для анализа зерна и продуктов его переработки, молока и продуктов его переработки, масличных культур и комбикормов, но в отличие

от других стран, для анализа хлебобулочных изделий до недавнего времени он не применялся [3, 4, 6]. Причиной этого явилось отсутствие соответствующей нормативной базы и адаптированных для российских условий градуировочных моделей.

Поглощение света пищевыми продуктами даёт широкие взаимно перекрывающиеся пики в области длин волн от 700 до 2500 нм. Вблизи 1450 и 1940 нм наблюдаются обусловленные присутствием воды и крахмала резонансные пики связей O–H, а вблизи 1500–1570 нм и 2050–2070 нм наблюдаются пики характерных для белков связей N–O и N–H. Для хлебобулочных изделий наиболее информативным является диапазон длин волн от 1150 до 2500 нм [2, 5, 6].

Сложный химический состав хлеба приводит к тому, что получаемые в БИК-области спектра перекрывающиеся резонансные полосы трудно отнести к конкретным химическим веществам.

Для получения полезной информации из спектров необходимо использовать математические методы обработки данных. БИК-метод является косвенным. Градуировочная модель устанавливает взаимосвязь между спектральными данными и полученными арбитражными методами значениями массовой доли искомого вещества. Достоверность результатов БИК-анализа напрямую зависит от эталонных методов, взятых за основу при разработке градуировочной модели, и от валидации этой модели под конкретный прибор [9].

Для градуировки на каждый компонент необходимо не менее 20 максимально репрезентативных образцов, в которых охвачен весь естественный диапазон массовой доли искомого компонента в продукте. Используемые при разработке градуировки образцы и анализируемые в дальнейшем с помощью этой градуировки изделия должны быть частью единой совокупности [10].

Совершенствовать методы анализа химического состава хлебобулочных, в том числе безглютеновых изделий. Адаптировать применительно к ним экспресс-метод спектроскопии в ближней ИК-области (БИК).

Объектами исследований были выбраны готовые хлебобулочные изделия, в том числе безглютеновые на основе пшеничной, рисовой, гречневой и кукурузной муки, выпеченные в ФГАНУ НИИХП, а также изделия крупных хлебозаводов.

Массовую долю влаги определяли путём сушки образцов измельчённых изделий с коркой до постоянной массы при температуре 130°C. Для этого использовали сушильные шкафы «СЭШ-3М» и «АСЭШ 8-2», а также автоматический ИК-влагоанализатор «AND MX-50».

Для снятия непрерывных спектров использовали ИК-анализатор «ИНФРАСКАН-3150», работающий в диапазоне длин волн от 1400

до 2500 нм (от 7140 до 4000 см⁻¹). Согласно литературным данным, БИК-анализаторы калибруются на белок по результатам, полученным методом Кьеделя в качестве эталонного [11–14]. Метод Кьельдаля основан на разрушении пептидных связей в белках с последующим высвобождением молекул азота и их количественном определении титрованием. Для пересчёта азота на белок используют коэффициент К, который обычно равен 6,25, что соответствует 0,16 г азота в одном грамме белка. В разных литературных источниках значения коэффициента К могут отличаться для одного и того же наименования сырья. При обработке результатов мы приняли для пшеничной муки и хлебобулочных изделий из пшеничной муки К = 5,7; для гречки, кукурузы и сои – 6,25; для риса – 6. Для безглютеновых изделий (с учётом вида и количества сырья в рецептурах) мы использовали К от 6,1 до 6,2.

Для разработки градуировочных моделей была проведена серия лабораторных выпечек пшеничных хлебобулочных изделий

с расчётным содержанием белка от 3,5% до 20,5% (табл. 1).

Аналогичным образом было изготовлено 20 образцов безглютеновых изделий с расчётной массовой долей белка от 1,7% до 9%. Такой диапазон обеспечивался за счёт использования безглютенового сырья с различным содержанием белка (крахмал – 0,5%; рисовая мука – 7,4%; кукурузная мука – 8%; гречневая мука – 14%; соевый изолят – 83% белка).

В ООО «ЭКАН» были сняты БИК-спектры хлебобулочных изделий и сопоставлены с соответствующими результатами химических анализов. Скорость работы прибора была уменьшена в 4 раза, что позволило получить более стабильные результаты при измерении базы. Суммарный размер базы для расчётов составил приблизительно 600 замеров. Снимали непрерывные спектры, поскольку ранее на приборе, работающем при нескольких фиксированных длинах волн («ИНФРАСКАН-1050»), была получена высокая погрешность результатов анализа хлебобулочных изделий [15].

1. Расчётное и фактическое содержание белка в пшеничном хлебе, приготовленном по модельной рецептуре

РЦ №	Дозировка в пересчёте на 100 г основного сырья без воды, г		Фактическое содержание белка (метод Кьельдаля)		Расчётное содержание белка, г/100 г хлеба
	клейковина	крахмал	г/100 г	в пересчёте на СВ, %	
1	–	58,5	3,73	5,88	3,5
2	–	45,1	4,78	7,7	4,4
3	–	31,6	6	9,6	5,7
4	–	18,2	6,87	11,27	6,2
5	–	–	8,4	13,6	7,8
6	1,2	–	8,83	14,45	8
7	3,3	–	9,46	15,72	8,9
8	5,3	–	10,29	17,27	9,8
9	7,4	–	11,1	18,63	10,7
10	9,4	–	12,2	20	12,4
11	11,5	–	12,63	21,38	12,4
12	13,6	–	13,29	22,52	13,3
13	15,6	–	14,46	24,08	14,2
14	17,7	–	15,35	25,43	15,1
15	19,7	–	15,68	26,79	16
16	21,8	–	16,47	28,25	16,9
17	23,8	–	17,16	29,82	17,8
18	25,9	–	18,15	31,1	18,7
19	28	–	18,68	32,57	19,6
20	30	–	19,7	33,1	20,5

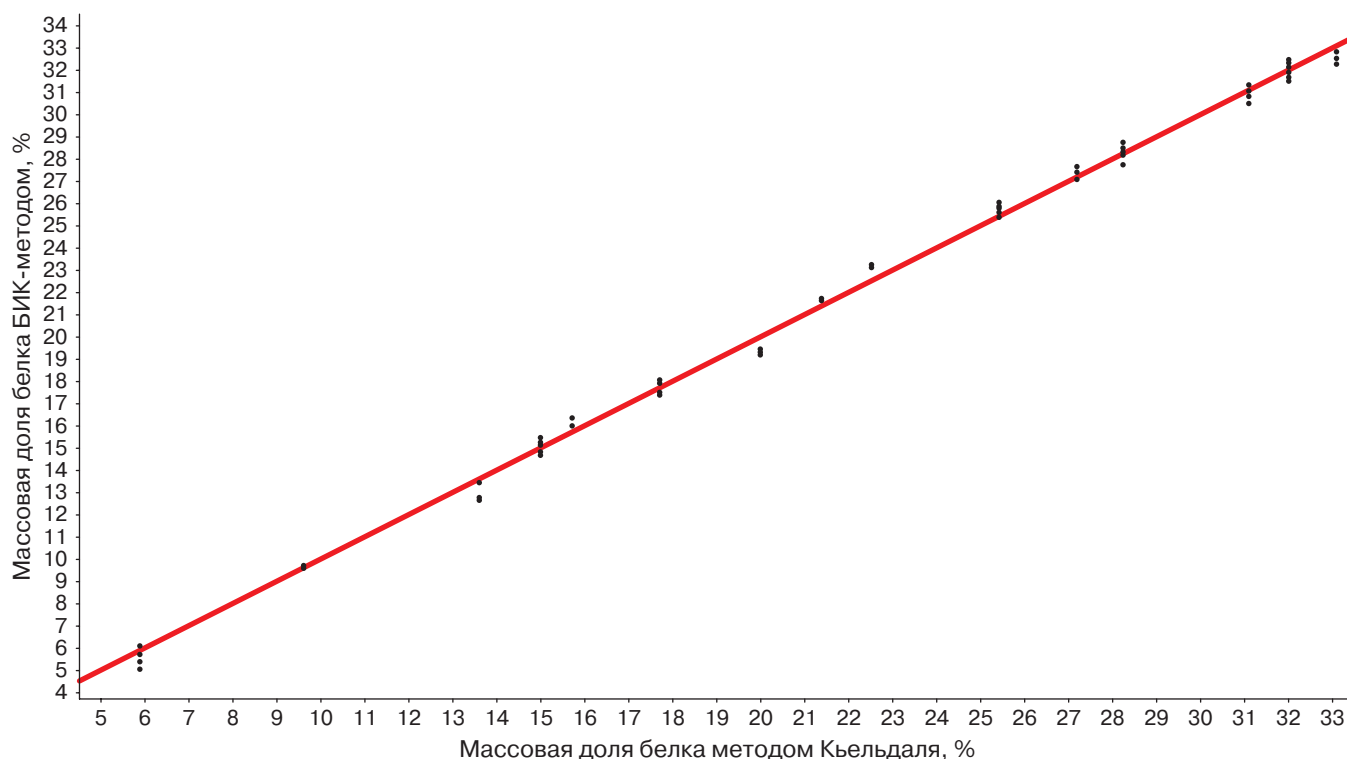


Рис. 1. Корреляция между результатами анализа массовой доли белка в пшеничном хлебе методом Кьельдаля и БИК-методом

Хлебобулочные изделия имеют относительно высокую влажность и быстро высыхают в процессе измерения (из-за нагрева прибора), поэтому при наборе базы образцы предварительно подсушивали до остаточной влажности приблизительно 10%. При разработке градуировок на влагу использовали те же образцы, что и для белка, но их подсушивали или увлажняли до желаемого значения влажности, попадающего в диапазон от 25% до 55%. Пример обработки экспериментальных данных представлен в табл. 2.

Дополнив полученные для лабораторных образцов пшеничного хлеба данные результатами БИК-анализа промышленных образцов ржаного хлеба и градуировками для ржаной муки (ООО «ЭКАН»), была разработана градуировочная модель для определения массовой доли белка в хлебобулочных изделиях из пшеничной и/или ржаной муки БИК-методом. При этом коэффициент корреляции (КК) составил 1, а среднеквадратическое отклонение (СКО) – 0,44. Также была разработана соответствующая градуировочная модель на влагу, обеспечивающая

КК = 0,97 и СКО = 0,46, что свидетельствует о высоком качестве разработанных градуировок.

На рис. 1 приведены результаты определения массовой доли белка в хлебе из пшеничной муки БИК-методом с использованием разработанной градуировочной модели (после валидации под конкретный прибор). Видно, что значения, полученные БИК-методом, почти совпадают со значениями, полученными методом Кьельдаля во всём диапазоне содержания белка в хлебе.

Безглютеновые изделия могут быть изготовлены из различного сырья. Установлено, что спектры образцов на основе кукурузной муки отличались от спектров остальных лабораторных образцов (как для белка, так и для влаги), но создание для них отдельных градуировок нецелесообразно. Для безглютеновых изделий на основе рисовой, кукурузной и гречневой муки, крахмала и соевого изолята была разработана универсальная градуировка, обеспечивающая КК = 0,99; СКО = 0,29 при определении белка и КК

2. Варианты коэффициентов и соответствующих длин волн для белка в пшеничном хлебе (метод регрессии дробных наименьших квадратов)

Длина волны	Значения коэффициентов
C0	66,661727
+C (1722,0)	267,370796
+C (1778,0)	-594,88066
+C (1850,0)	244,421576
+C (2139,0)	-1073,240188
- C*	500
+C (2190,0)	242,595256
+C (2208,0)	346,115023
+C (2310,0)	36,913519

C – фиксированный коэффициент для белка, характеризующий основные изменения оптической плотности при определённой длине волны, в зависимости от содержания анализируемого компонента.*

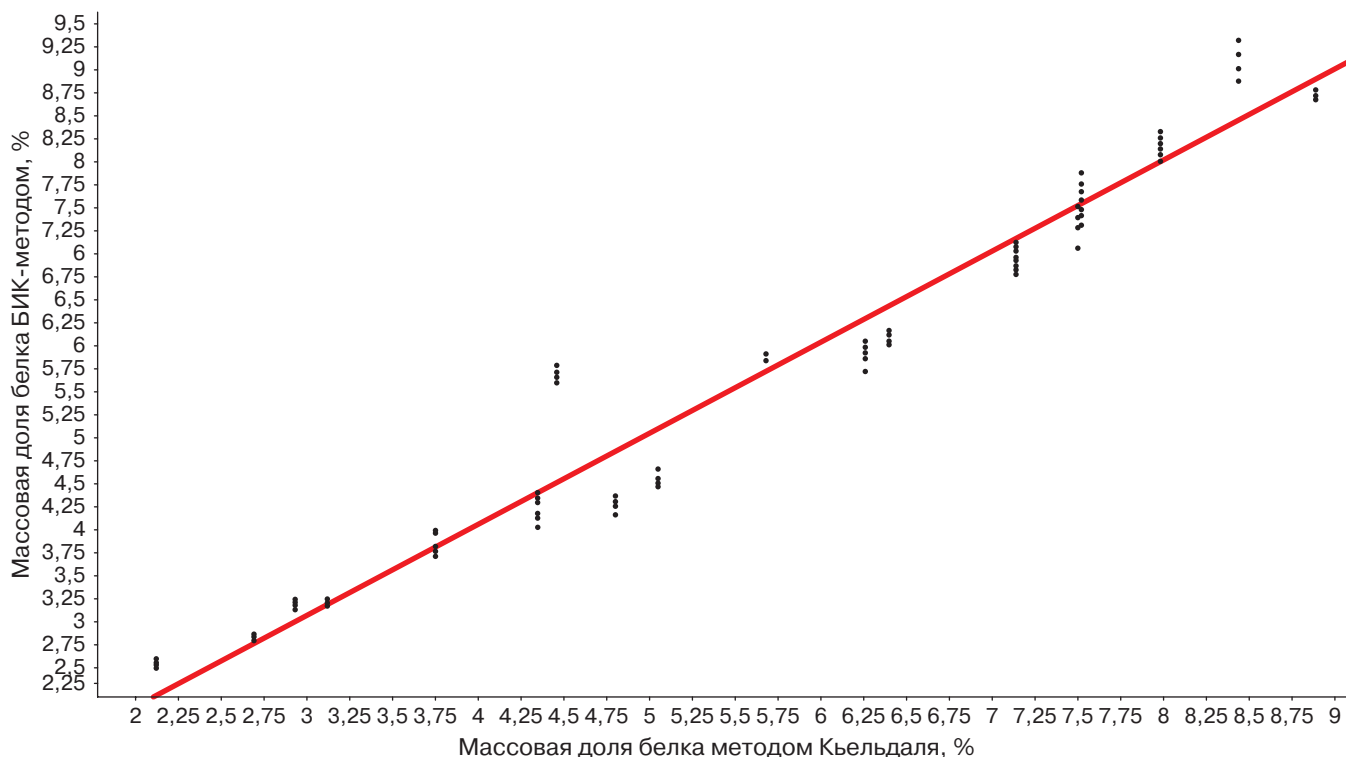


Рис. 2. Корреляция между результатами анализа массовой доли белка в безглютеновом хлебе методом Кельдаля и БИК-методом

= 0,92; СКО = 0,46 при определении массовой доли влаги. На рис. 2 приведены результаты определения содержания белка в безглютеновом хлебе БИК-методом.

Из представленного на рис. 2 следует, что разработанная для безглютенового хлеба градуировочная модель уступает градуировочной модели для хлеба из пшеничной и/или ржаной муки. Подсыхание образцов в процессе измерения (вертикальные ряды точек) проявляется сильнее, чем для пшеничного хлеба, однако, при рутинных измерениях (2 мин) подсыхание незначительно и им можно пренебречь.

Выводы.

На основе проведенных исследований разработаны градуировки для определения БИК-методом массовой доли белка и влаги в хлебобулочных, в том числе безглютеновых изделиях с коркой (диапазон длин волн от 1400 до 2500 нм). Показано, что этот метод обеспечивает приемлемую точность результатов при анализе хлеба.

Разработанные градуировки расширяют сферу применения БИК-метода, позволяют упростить и ускорить анализ химического состава хлебобулочных, в том числе безглютеновых изделий. Работа будет продолжена в направлении разработки градуировок на жир и сахар.

Литература

1. ГОСТ Р 51074–2003 «Продукты пищевые. Информация для потребителей. Общие требования».
2. ГОСТ 13496.4–2019 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Методы определения содержания азота и сырого протеина».
3. ГОСТ 10846–91 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка».
4. ГОСТ 32044.1–2012 (ISO 5983–1:2005) «Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина».
5. Беккер, Ю. Спектроскопия: пер. с нем. Л. Н. Казанцевой

под ред. А. А. Пупышева, М. В. Поляковой / М.: Техносфера, 2009. 527 с.

6. Кукин, М. Ю. Разработка градуировочных моделей в спектральном диапазоне от 1400 до 2500 нм для определения массовой доли жира, сахара и влаги в хлебобулочных изделиях БИК-методом / М. Ю. Кукин, М. Н. Костюченко, М. А. Нутчина, О. И. Парахина // Вестник Международной академии холода. – 2022. – № 4. – С. 45–51. doi: 10.17586/1606-4313-2022-21-4-45-51

7. Alander, J. T. A review of optical nondestructive visual and near-infrared methods for food quality and safety / J. T. Alander [et al.] // Hindawi Publishing Corporation. International Journal of Spectroscopy. – 2013. – Pp. 1–36. doi: 10.1155/2013/341402

8. Blanco, M. NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool / M. Blanco, I. Villarroya // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2002. – V. 21. – № 4. – Pp. 240–250.

9. Moore, J. C. Total protein methods and their potential utility to reduce the risk of food protein

adulteration / J.C. Moore [et al.] // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2010. – Т.9. – №. 4. – С. 330–357. doi: 10.1111/j. 1541–4337.2010.00114. x

10. *Pasquini, C.* Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review / C. Pasquini // *Analytica chimica acta.* – 2018. – V. 1026. – Pp. 8–36. doi: 10.1016/j. aca. 2018.04.004

11. *Pojic, M.M.* Near infrared spectroscopy – advanced analytical tool in wheat breeding, trade, and processing / M.M. Pojic, J.S. Mastilovic // *Food and*

Bioprocess Technology. – 2013. – V. 6. – № 2. – Pp. 330–352. doi: 10.1007/s11947-012-0917-3

12. *Porep, J.U.* On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production / J.U. Porep, D.R. Kammerer, R. Carle // *Trends in Food Science & Technology.* – 2015. – V. 46. – № 2. – Pp. 211–230. doi: 10.1016/j. tifs. 2015.10.002

13. *Sørensen, L.K.* Application of reflectance near infrared spectroscopy for bread analyses / L.K. Sørensen // *Food Chemistry.* – 2009. – V. 113. – № 4. – Pp. 1318–1322. doi: 10.1016/j. foodchem. 2008.08.065

14. *Szigedi, T.* Determination of protein, lipid and sugar contents of bakery products by using fourier-transform near infrared spectroscopy / T. Szigedi, M. Dernovics, M. Fodor // *Acta alimentaria.* – 2011. – V. 40. – № 1. – Pp. 222–229. doi: 10.1556/ aalim. 40.2011. suppl. 21

15. *Vigni, M.L.* Near infrared spectroscopy and multivariate analysis methods for monitoring flour performance in an industrial bread-making process / M.L. Vigni [et al.] // *Analytica chimica acta.* – 2009. – V. 642. № 1–2. – Pp. 69–76. doi: 10.1016/j. aca. 2009.01.046

Adaptation of the infrared spectroscopy method (NIR) for determining the mass fraction of protein and moisture in bakery products

M.Y. Kukin, cand. of techn. sciences, N.S. Lavrenteva, O.I. Parakhina, cand. of techn. sciences, St. Petersburg branch of the Federal State Autonomous Scientific Institution «Scientific Research Institute of the Bakery Industry», M.N. Kostyuchenko, cand. of techn. sciences, Federal State Autonomous Scientific Institution «Scientific Research Institute for the Baking Industry», D.V. Kosarev, R.Y. Antonov, EKAN group of companies

Abstract. The article presents the studies results on the development of calibration models for the joint determination of the mass fraction of protein and moisture by the near-infrared region spectroscopy in bakery products with a crust. The methods currently used for the bakery products analysis are long and laborious. The NIR method allows you to quickly determine the protein, moisture, fat, sugar content in bread and does not require complicated sample preparation and high qualification of the operator. A series of laboratory bread baking was carried out, the protein content of which varied due to the introduction of wheat gluten and starch into the recipe. Continuous spectra were recorded using NIR analyzers operating in the wavelength range from 1400 to 2500 nm. The spectral characteristics of representative samples were compared with the results obtained by the Kjeldahl (protein) and drying (moisture) methods. It is shown that after validation for a specific device, the developed calibration models allow obtaining acceptable accuracy of results.

Keywords: spectroscopy, near-infrared region, calibration models, bakery products, mass fraction of protein and moisture.

Bibliography

1. GOST R 51074–2003. Food products. Consumer information. General Requirements.

2. GOST 13496.4–2019. Fodder, mixed fodder and raw mixed fodder. Methods of nitrogen and crude protein determination.

3. GOST 10846–91. Grain and products of its processing. Method for determination of protein.

4. GOST 32044.1–2012. (ISO 5983–1:2005). Feeds, mixed feeds and raw material. Determination of mass fraction of nitrogen and calculation of mass fraction of crude protein. Part 1. Kjeldahl method

5. *Böcker, J.* Spektroskopie. Instrumentelle Analytik mit Atom- und Molekülspektrometrie. Vogel Communications Group GmbH & Co. KG, 1997, 528 p.

6. *Kukin, M. Yu., Kostyuchenko, M. N., Nutchina, M. A., Parakhina, O.I.* Development of calibration models in the spectral range from 1400 to 2500 nm to determine the mass fraction of fat, sugar and moisture in bakery products by the NIR method. *Journal of International Academy of Refrigeration.* 2022, № 4, Pp. 45–51. doi: 10.17586/1606-4313-2022-21-4-45-51

7. *Alander, J. T. [et al.]* A review of optical nondestructive visual and near-infrared methods for food quality and safety // Hindawi Publishing Corporation. *International Journal of Spectroscopy.* 2013, Pp. 1–36. doi: 10.1155/2013/341402

8. *Blanco, M., Villarroya, I.* NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool // *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 2002, V. 21, № 4, Pp. 240–250.

9. *Moore, J.C. [et al.]* Total protein methods and their potential utility to reduce the risk of food protein adulteration // *Comprehensive reviews in food science and food safety.* 2010, T. 9, №. 4, Pp. 330–357. doi: 10.1111/j. 1541–4337.2010.00114. x

10. *Pasquini, C.* Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review // *Analytica chimica acta.* 2018, V. 1026, Pp. 8–36. doi: 10.1016/j. aca. 2018.04.004

11. *Pojic, M. M., Mastilovic, J.S.* Near infrared spectroscopy – advanced analytical tool in wheat breeding, trade, and processing // *Food and Bioprocess Technology.* 2013, V. 6, № 2, Pp. 330–352. doi: 10.1007/s11947-012-0917-3

12. *Porep, J.U., Kammerer, D.R., Carle, R.* On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production // *Trends in Food Science & Technology.* 2015, V. 46, № 2, Pp. 211–230. doi: 10.1016/j. tifs. 2015.10.002

13. *Sørensen, L.K.* Application of reflectance near infrared spectroscopy for bread analyses // *Food Chemistry.* 2009, V. 113, № 4, Pp. 1318–1322. doi: 10.1016/j. foodchem. 2008.08.065

14. *Szigedi, T., Dernovics, M., Fodor, M.* Determination of protein, lipid and sugar contents of bakery products by using fourier-transform near infrared spectroscopy // *Acta alimentaria.* 2011, V. 40, № 1, Pp. 222–229. doi: 10.1556/aalim. 40.2011. suppl. 21

15. *Vigni, M.L. [et al.]* Near infrared spectroscopy and multivariate analysis methods for monitoring flour performance in an industrial bread-making process // *Analytica chimica acta.* 2009, V. 642, № 1–2, Pp. 69–76. doi: 10.1016/j. aca. 2009.01.046.