

УДК 613.287.58:543.241

I. A. МОРОЗ

Луцький національний технічний університет

ВИЗНАЧЕННЯ КАЛЬЦІЮ В МОЛОЦІ МЕТОДОМ ТИТРИМЕТРІЇ

I. MOROZ

Lutsk National Technical University

DETERMINATION OF CALCIUM IN MILK BY TITRIMETRY METHOD

doi.org/10.36910/6775-2310-5283-2023-17-5

Мета. Кількісне визначення кальцію у різних зразках молока та встановлення впливу теплової обробки на його вміст.

Методика. У роботі використано методи планування експерименту, аналізу та синтезу вихідної інформації, кислотний метод визначення жирності молока, метод комплексонометричного титрування, методи статистичної обробки експериментальних даних.

Результати. Молоко є цінним харчовим продуктом і може повністю забезпечити потребу людського організму в кальції. З метою подовження терміну зберігання та поліпшення мікробіологічної чистоти молоко найчастіше піддають тепловій обробці. Теплова обробка спричиняє суттєві зміни у фізико-хімічних властивостях молока, зокрема призводить до зниження концентрації йонів кальцію у ньому. З огляду на це, є нагальна потреба у контролі за вмістом кальцію у молоці. Кількісне визначення кальцію в молоці та молочних продуктах найчастіше здійснюють титриметричними методами, які вирізняються точністю та експресністю визначення.

У роботі наведено результати експериментальних досліджень вмісту йонів кальцію у молоці до та після теплової обробки методом комплексонометричного титрування. Проведені дослідження показали, що вміст йонів кальцію у молоці відповідає вимогам діючих стандартів України і коливається від 918,9 мг/л до 1495,5 мг/л. Встановлено, що вміст кальцію у молоці суттєво залежить від його жирності. Зі збільшенням вмісту жиру у свіжому молоці з 1,0% до 3,5% вміст кальцію зростає відповідно від 977,8 мг/л до 1495,5 мг/л. У зразках молока після теплової обробки також спостерігають збільшення вмісту кальцію з жирністю з 918,9 мг/л до 1284,8 мг/л відповідно. Теплова обробка призводить до зменшення вмісту кальцію в розчинній фазі молока на 6,4% –16,4% порівняно зі свіжим молоком. Найменше йонів кальцію вилучилось під час теплової обробки зразків молока з найнижчою жирністю.

Практична значимість. Кальцій є надзвичайно важливим макроелементом молока, який регулює цілу низку фізіологічних процесів в організмі людини; життєвонеобхідний для формування кісткової тканини та зубів, низки інших процесів. Термічне оброблення призводить до порушення сольової рівноваги між розчинною та колоїдною фазами у молоці. Розчинні форми кальцію у вигляді гідрогенортофосфатів незворотно перетворюються у колоїдний кальцій ортофосфат, що призводить до суттєвої декальцифікації молока. Тому важливо контролювати вміст кальцію, як у свіжому молоці, так і у пастеризованому. Пропонований метод визначення кальцію є швидким, дешевим, а також може бути використаний для контролю вмісту кальцію в інших молочних продуктах, а також питній воді.

Ключові слова: молоко, вміст кальцію, теплова обробка, комплексонометричне титрування, ЕДТА.

Постановка проблеми у загальному вигляді і її зв'язок з важливими науковими та практичними завданнями. Повноцінне та збалансоване харчування необхідне для забезпечення організму людини усіма необхідними біологічно-активними речовинами: вітамінами, мінеральними речовинами та мікроелементами. Надходження цих речовин в організм людини дозволить підтримувати оптимальний стан здоров'я та її активність. Людський організм самостійно не синтезує всі необхідні біологічно-активні речовини й отримує їх разом з їжею [1]. Основним джерелом природних вітамінів, мінеральних речовин та мікроелементів є молоко та молочні продукти.

Молоко є надзвичайно цінним харчовим продуктом. Цінність молока зумовлена тим, що до його складу входять усі необхідні для повноцінної життєдіяльності організму речовини: білки, жири, вуглеводи, вітаміни, мінеральні складові, зокрема фосфор, калій та кальцій [2, 3]. Молоко можна розглядати як багатокomпонентну дисперсну систему, у якій складники перебувають у різних станах: йонно-молекулярному (лактоза, більшість мінеральних солей), колоїдному (кальцій фосфат, білки) і грубодисперсному (жири). Завдяки цьому компоненти молока добре збалансовані, легко та повністю засвоюються.

Надзвичайно важливим мікроелементом для життєдіяльності людського організму є кальцій, на який припадає близько 2% маси тіла дорослої людини [4]. Кальцій необхідний людині для росту кісток і зубів, підтримки нормального серцевого ритму, перетворення фібриногену в фібрин під час згортання крові тощо. Відома важлива роль кальцію у профілактиці остеопорозу. Потреби людини у кальції різні та залежать від віку й певних фізіологічних станів. Найбільша потреба в кальції у періоди найшвидшого зростання, тобто у дитячому та підлітковому віці, а також під час лактації у жінок та у людей похилого віку. Добова потреба у кальції у підлітків становить 1300 мг та 1100 мг для дорослих. Коров'яче молоко містить у середньому 0,126 % Ca^{2+} [4]. Високий вміст кальцію в молоці обумовлює його значну біологічну цінність як природного харчового продукту, що легко може забезпечити повноцінну потребу організму людини в ньому.

Зважаючи на важливу фізіологічну роль кальцію було проведено визначення його вмісту у різних зразках молока.

Аналіз останніх досліджень, у яких започатковано вирішення проблеми. Відомо багато методів визначення Ca^{2+} у різних об'єктах. Вміст кальцію у молоці та молочних продуктах визначають за допомогою атомно-

абсорбційних спектроскопічних методів [5-7], електрохімічних методів, іон-селективних електродів [8, 9] або йонної хроматографії [10]. Відомі також рентгенівські методи визначення кальцію [11]. Широкого поширення набули методи визначення Ca^{2+} з використанням біосенсорів [12]. Дані інструментальні аналітичні методи визначення дозволяють встановити низькі концентрації йонів кальцію, але вимагають попередньої підготовки зразка, наприклад сухого озолення або збродження зразків молока. Зважаючи на високий попит хімічного аналізу продуктів харчування та агропродуктів, метод їхнього дослідження має бути швидким, простим, відносно дешевим та доволі точним. Усім цим вимогам відповідають титриметричні методи, оскільки дозволяють швидко та без втрати якості результатів визначення дослідити вміст йонів кальцію в молоці та інших продуктах харчування.

Цілі статті. Ціллю даної роботи є визначення вмісту кальцію у молоці до та після теплової обробки комплексонометричним титриметричним методом.

Об'єкт дослідження. Зразки молока, отримані від особистих та фермерських господарств.

Методи дослідження. Під час проведення досліджень було використано кислотний метод визначення жирності молока, комплексонометричний титриметричний метод визначення йонів кальцію, а також методи статистичної обробки експериментальних даних.

На рис. 1 зображено алгоритм проведення дослідження визначення кальцію в молоці. Першим етапом дослідження був теоретичний аналіз методів визначення кальцію в різних системах. На цьому етапі встановлено, що дослідження вмісту кальцію у молоці та інших харчових продуктах визначають спектроскопічними, електрохімічними, хроматографічними, титриметричними тощо.

На наступному етапі був здійснений вибір методу комплексонометричного титрування з огляду на його максимальну відповідність обраним критеріям. Зокрема, простоті у виконанні, високій точності, низькій собівартості аналізу, повній відповідності ДСТУ ISO 12081:2004 «Молоко. Визначення вмісту кальцію титриметричним методом».

На третьому етапі проведено підготовку зразків молока, визначено його жирність та здійснено комплексонометричне титрування.

На етапі математичної обробки результатів обчислено концентрацію йонів кальцію, проведено статистичну обробку результатів аналізу. Обчислено середнє значення величини, стандартне відхилення, відносне стандартне відхилення та довірчий інтервал значень відповідно до методики [17] з використанням стандартних алгоритмів програм Microsoft Excel. Дослідження

проводили з трикратною повторюваністю. Результати приймали за достовірні з ймовірністю 95%.

Заключним етапом дослідження було інтерпретація результатів у вигляді таблиць та порівняльних діаграм.



Рис. 1. Алгоритм проведення дослідження

Викладення основного матеріалу дослідження. Кальцій нерівномірно розподілений між істинною фазою молока (йони, молекули, комплекси) та колоїдною (агрегати солей ортофосфатної та цитратної кислот, казеїнати кальцію). Відповідно до праці А. Тьопеля [13], у свіжому молоці перебуває в розчиненому стані близько 33 % кальцію, 53 % фосфатів, 75 % мангану і 90 % цитратів. Зазвичай, кальцій міститься у складі гідрогенортофосфатів та дигідрогенортофосфатів. У дисперсній (колоїдній) фазі міститься близько 67 % всього кальцію і 47 % фосфатів. Йони кальцію, а також частина йонів натрію, калію, магнію у колоїдній фазі утворюють так званий колоїдний кальцій фосфатом (ККФ). ККФ завжди сполучений з казеїновими міцелами.

У праці [14] встановлено, що кількість Са, зв'язаного казеїном, еквівалентна кількості фосфатних груп, тому найімовірніший склад ККФ буде відповідати кальцій ортофосфату $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$. У казеїнових міцелах кальцій є у складі асоціатів фосфосеринових залишків казеїну (органічна форма) та колоїдний кальцій ортофосфат (неорганічна форма) [15].

Рівновага між колоїдною фазою та дисперсійним середовищем у молоці нестійка. На перерозподіл компонентів молока між колоїдною і розчинною фазою впливає чимало чинників, зокрема: концентрування, розбавлення, додавання кислот, лугів, солей, термічна обробка тощо [14].

Внаслідок теплової обробки рівновага між колоїдним кальцій фосфатом та розчинними формами кальцію зміщується у сторону нерозчинної форми кальцію:



Дрібнодисперсний кальцій ортофосфат нагромаджується на поверхні міцел казеїну, що призводить до незворотної демінералізації розчинної фази молока та нестачі розчинних форм кальцію у ньому [16]. Охолодження молока після пастеризації не відновлює первинну сольову рівновагу у ньому.

Дослідили 20 зразків молока, одержаних з особистих та фермерських господарств. Попередньо для усіх зразків молока було визначено їх жирність кислотним методом згідно з ДСТУ ISO 2446:2019 «Молоко. Визначення вмісту жиру»; ДСТУ ISO 11870:2007 «Молоко і молочні продукти. Визначення масової частки жиру. Загальні рекомендації щодо використання методів із застосуванням жиромірів»; ДСТУ ISO 488:2007 «Молоко. Визначання масової частки жиру. Жироміри Гербера». На основі отриманих результатів усі зразки молока розподілили на 3 групи з інтервалами зміни вмісту жиру від 1,0% до 1,5%, від 1,6% до 2,5% та від 2,6% до 3,5% . Відповідно у кожній з обраних груп виявилось 6, 8 та 6 зразків.

Вміст кальцію у молоці досліджували методом прямого комплексометричного титрування. Метод комплексометрії ґрунтується на утворенні стійкого внутрішнього комплексу Ca^{2+} з комплексонами, зокрема натрій етилендіамінтетраацетатом (ЕДТА). Для фіксації точки еквівалентності використали металохромний індикатор мурексид у лужному середовищі (рН = 10 – 12). Для визначення вмісту кальцію у колбу з дистильованою водою й аліквотою молока додавали кілька крупинок індикаторної суміші мурексиду та натрій хлориду. Створювали лужне середовище за допомогою внесення відповідної кількості натрій гідроксиду. Після ретельного перемішування і розчинення індикатора відтитровували пробу розчином ЕДТА до стійкої зміни забарвлення системи з рожевого на фіолетове. Стійкість зміни забарвлення під час титрування становила не менше 10 с

Вміст йонів Ca^{2+} у молоці розраховували за середнім об'ємом ЕДТА, який витратився на титрування, відповідно до формули:

$$C_{Ca^{2+}} = \frac{C_T \cdot V_T \cdot M_e \cdot 1000}{V_a},$$

де C_T – нормальна концентрація робочого розчину ЕДТА, г екв/л;

V_T – об'єм робочого розчину ЕДТА, що пішов на титрування, мл;

M_e – молярна маса еквівалента кальцію, г/моль екв;

V_a – об'єм проби молока, мл.

Результати аналізу вмісту кальцію у свіжому молоці подані у таблиці 1.

Таблиця 1. Вміст кальцію у свіжому молоці

Зразки молока	Кількість зразків	Вміст кальцію, мг/л	Стандартне відхилення, S	Відносне стандартне відхилення, S _r	Довірчий інтервал, Δx
Молоко із вмістом жиру від 1% до 1,5%	6	977,8	54,21	0,0554	1,3875
Молоко із вмістом жиру від 1,6% до 2,5%	8	1119,9	62,90	0,0562	1,3945
Молоко із вмістом жиру від 2,6% до 3,5%	6	1495,5	80,03	0,0535	2,0489

Теплову обробку досліджуваних зразків молока проводили за температури 90±2°C із витримкою 4-5 с.

Результати дослідження вміст іонів кальцію наведено у таблиці 2.

Таблиця 2. Вміст кальцію у молоці після теплової обробки

Зразки молока	Кількість зразків	Вміст кальцію, мг/л	Стандартне відхилення, S	Відносне стандартне відхилення, S _r	Довірчий інтервал, Δx
Молоко із вмістом жиру від 1% до 1,5%	6	918,9	45,95	0,0503	1,1763
Молоко із вмістом жиру від 1,6% до 2,5%	8	1002,6	70,47	0,0703	1,5624
Молоко із вмістом жиру від 2,6% до 3,5%	6	1284,8	63,15	0,0492	1,6167

Залежність вмісту йонів кальцію у молоці різної жирності до та після теплової обробки подано на рис. 2.

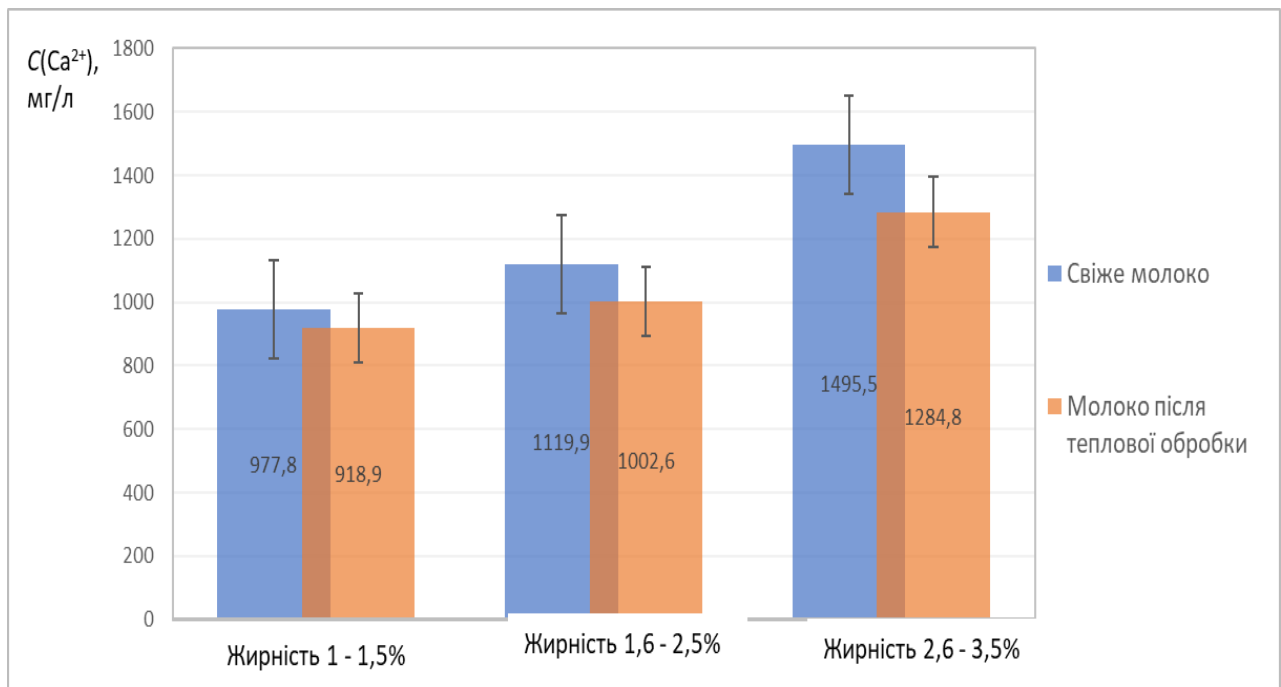


Рис. 2. Вміст Ca^{2+} у зразках молока різної жирності до та після теплової обробки

Результати аналізу засвідчили, що в усіх зразках молока вміст кальцію є в межах норми відповідно до діючих стандартів України. Встановлено, що вміст йонів кальцію у свіжому та термічно обробленому молоці суттєво залежить від його жирності, а саме із збільшенням жирності молока від 1,0 до 3,5% вміст кальцію зростає на 28% – 35%.

Теплова обробка молока призвела до переходу йонів кальцію у нерозчинну форму та їх осадження на поверхні міцел казеїну. Так, показники вмісту кальцію, порівняно із необробленим молоком, знизилися на 6,4% – 16,4%. Найбільше зниження вмісту кальцію спостерігали у зразках молока з жирністю 2,6% – 3,5%. Найменше йонів кальцію вилучилось під час теплової обробки зразків молока з найнижчою жирністю.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Аналіз проведених досліджень показав, що вміст йонів кальцію в усіх зразках молока відповідає нормі згідно з діючими стандартами України. Теплова обробка призводить до вилучення йонів кальцію з розчинної фази молока.

Метод комплексонометричного титрування дозволяє швидко та точно контролювати вміст кальцію, як у свіжому молоці, так і термічно обробленому.

Даний метод бути використаний для контролю вмісту кальцію в інших молочних продуктах, а також питній воді.

Список використаних джерел

1. Нутриціологія. Частина 1. Загальна нутриціологія: навчальний посібник / Л.Ф. Павлоцька та ін. Харків: УПА. 2012. 371 с.
2. Imran M, Khan H, Hassan SS, and Khan R. Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2008. № 9(7). p. 546 – 551.
3. Mc Carthy O.J., Singh H. Physico-chemical properties of milk. Springer, New York, NY. 2009. p. 691–758.
4. Pravina P., Didwagh S., Mokashi A. (2012). Calcium and its Role in Human Body. *Int J Res Pharm Biomed Sci*. 2012. № 4. p. 2229-3701.
5. Petrovich M.B., Filho V. R. A., Neto J. A. G. Direct determination of Calcium in milk by atomic absorption spectrometry using flow-injection analysis. *Ecl. Quím*. 2007. № 32(3). p. 25-30.
6. Vičkačkaitė V., Tautkus S., Kazlauskas R. Determination of Calcium in Mineral Waters by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Chemija*. 2007. Vol. 18, No. 4. p. 34-37.
7. Grudpan K., Jakmunee J., Vaneesorn Y., Watanesk S., Maung U. A., Sooksamiti P. Flow Injection Spectro-photometric Determination of Calcium Using Murexide as a Color Agent. *Talanta*. 1998. Vol. 46. № 6. p. 1245-1247.
8. Stefan R.I., Staden J.F.V., Aboul-Enein H.Y. Electrochemical Sensor Arrays. *Crit Rev Anal Chem*. 1999. № 29(2). p.133-153.
9. Vahl K., Kahlert H., Scholz F. Rapid Automatic Determination of Calcium and Magnesium in Aqueous Solutions by FIA Using Potentiometric Detection. *Electroanalysis*. 2010. №22. p. 2172-2178.
10. Zachariadis G., Lyratzi A., Stratis J. Ion chromatographic method for the determination of cations of group IA and IIA in water samples, pharmaceuticals and energy drinks by non-suppressed conductometric detection. *Central European Journal of Chemistry*. 2011. № 9. p. 941-947.
11. Ekinici N., Ekinici R., Polat R., Budak G. (2005). The determination of calcium concentrations in human milk with energy dispersive X-ray fluorescence. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 2005. № 91. p. 155-160.
12. Akyilmaz E., Kozgus O. Determination of calcium in milk and water samples by using catalase enzyme electrode. *Food Chemistry*. 2009. № 115. p. 347-351.
13. Töpel A. Chemie und Physik der Milch. Hamburg. Behr's Verlag. 2007. 756 p.
14. Gaucheron F. Milk Salts: Distribution and analysis. Academic Press. Oxford. UK. 2011. p. 908 – 916.
15. Holt C., Carver J.A., Ecroyd H, Thorn D.C. Caseins and the casein micelle: Their biological functions, structures, and behavior in foods. *Jornal of Dairy Science*. 2014. Vol. 96. p. 6127 – 6146.
16. De Kruif, C.G., Huppertz T., Urban V. S., Petukhov A. V. Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2012. Vol. 171-172. p. 36–52.
17. Фещур Р. В., Барвінський А. Ф., Кічор В. П. Статистика: навч. посіб. Л: Інтеллект-Захід. 2001. 273 с.

Reference

1. Nutrytsiolohiia. Chastyna 1. Zahalna nutrytsiolohiia: navchalnyi posibnyk / L.F. Pavlotska ta in. Kharkiv: UIPA. 2012. 371 p.
2. Imran M, Khan H, Hassan SS, and Khan R. Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2008. № 9(7). p. 546 – 551.
3. Mc Carthy O.J., Singh H. Physico-chemical properties of milk. Springer, New York, NY. 2009. p. 691–758.
4. Pravina P., Didwagh S., Mokashi A. (2012). Calcium and its Role in Human Body. *Int J Res Pharm Biomed Sci*. 2012. № 4. p. 2229-3701.
5. Petrovich M.B., Filho V. R. A., Neto J. A. G. Direct determination of Calcium in milk by atomic absorption spectrometry using flow-injection analysis. *Ecl. Quím*. 2007. № 32(3). p. 25-30.
6. Vičkačkaitė V., Tautkus S., Kazlauskas R. Determination of Calcium in Mineral Waters by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Chemija*. 2007. Vol. 18, No. 4. p. 34-37.
7. Grudpan K., Jakmunee J., Vaneesorn Y., Watanesk S., Maung U. A., Sooksamiti P. Flow Injection Spectro-photometric Determination of Calcium Using Murexide as a Color Agent. *Talanta*. 1998. Vol. 46. № 6. p. 1245-1247.
8. Stefan R.I., Staden J.F.V., Aboul-Enein H.Y. Electrochemical Sensor Arrays. *Crit Rev Anal Chem*. 1999. № 29(2). p.133-153.
9. Vahl K., Kahlert H., Scholz F. Rapid Automatic Determination of Calcium and Magnesium in Aqueous Solutions by FIA Using Potentiometric Detection. *Electroanalysis*. 2010. №22. p. 2172-2178.
10. Zachariadis G., Lyratzi A., Stratis J. Ion chromatographic method for the determination of cations of group IA and IIA in water samples, pharmaceuticals and energy drinks by non-suppressed conductometric detection. *Central European Journal of Chemistry*. 2011. № 9. p. 941-947.
11. Ekinici N., Ekinici R., Polat R., Budak G. (2005). The determination of calcium concentrations in human milk with energy dispersive X-ray fluorescence. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 2005. № 91. p. 155-160.
12. Akyilmaz E., Kozgus O. Determination of calcium in milk and water samples by using catalase enzyme electrode. *Food Chemistry*. 2009. № 115. p. 347-351.
13. Töpel A. Chemie und Physik der Milch. Hamburg. Behr's Verlag. 2007. 756 p.
14. Gaucheron F. Milk Salts: Distribution and analysis. Academic Press. Oxford. UK. 2011. p. 908 – 916.
15. Holt C., Carver J.A., Ecroyd H, Thorn D.C. Caseins and the casein micelle: Their biological functions, structures, and behavior in foods. *Jornal of Dairy Science*. 2014. Vol. 96. p. 6127 – 6146.
16. De Kruif, C.G., Huppertz T., Urban V. S., Petukhov A. V. Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2012. Vol. 171-172. p. 36–52.
17. Feshchur, R. V., Barvinskyi, A. F., Kichor, V. P. Statystyka [Statistics]. L.: Intelekt-Zakhid. 2001. 273 p.

Purpose. *Quantitative determination of calcium in various milk samples and the effect of heat treatment on its content.*

Methodology. *The work uses methods of experiment planning, analysis and synthesis of source information, acid method of milk fat determination, complexometric titration method, methods of statistical processing of experimental data.*

Results. *Milk is a valuable food product and can fully satisfy the human body's need for calcium, since the body does not synthesize this macroelement on its own. In view of this, there is an urgent need to control the calcium content of milk.*

The content of calcium in milk before and after heat treatment was determined by the method of complexometric titration. The conducted studies showed that the content of calcium ions in milk corresponds to the norm according to the current standards of Ukraine. The content of calcium in milk significantly depends on its fat content. As the fat content in fresh milk increases from 1,0% to 3,5%, the calcium content increases from 977,8 mg/l to 1495,5 mg/l, respectively. In milk samples after heat treatment, an increase in calcium content with fat content from 918,9 mg/l to 1284,8 mg/l, respectively, is also observed. Heat treatment leads to a decrease in calcium content in the soluble phase of milk by 6,4%-16,4% compared to fresh milk. The fewest calcium ions were extracted during heat treatment of milk samples with the lowest fat content.

Practical significance. *Calcium is an extremely important macroelement of milk, which regulates a number of physiological processes in the human body; vital for the formation of bone tissue and teeth, a number of other processes. Heat treatment leads to a violation of the salt balance between the soluble and colloidal phases in milk. Soluble forms of calcium in the form of hydrogen orthophosphates are irreversibly transformed into colloidal calcium orthophosphate, which leads to significant decalcification of milk. Therefore, it is important to control the calcium content in both fresh and pasteurized milk. The proposed method for determining calcium is fast, cheap, and can also be used to control calcium content in other dairy products, as well as drinking water.*

Key words: *milk, calcium content, heat treatment, complexometric titration, EDTA.*

*Стаття рекомендована до друку доктором технічних наук,
професором ЛНТУ Дударєвим І. М
Стаття надійшла в редакцію 17.12.2022 р.*