

## РЕФРАКТОМЕТРИЧНО УСТАНОВЯВАНЕ НАЛИЧИЕТО НА РАСТИТЕЛНИ МАЗНИНИ В БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ

Динко Х. Динков<sup>1</sup>, Тодор Т. Стоянчев<sup>2</sup>, Пламена М. Турлакова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Тракийски университет  
Стара Загора, България

<sup>2</sup> Тракийски университет  
Стара Загора, България

<sup>3</sup> Лабораторен блок по ВСЕ при  
„Биофарм инженеринг” АД  
Сливен, България

---

**РЕЗЮМЕ** — В статията се представя първо съобщение за нова методология за определяне на нерегламентирано добавени растителни мазнини при производството на Бяло саламурено сирене. Препоръчват се допълнителни проучвания и в други акредитирани лаборатории за потвърждаване на получените резултати и определяне на повторемостта и възпроизводимостта на метода.

**Ключови думи:** бяло саламурено сирене, растителни мазнини, рефракция, установяване

---

## REFRACTOMETRIC DETECTION OF VEGETABLE OILS IN WHITE BULGARIAN'S CHEESE

Dinko H. Dinkov<sup>1</sup>, Todor T. Stoyanchev<sup>2</sup>, Plamena M. Turlakova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Trakia university  
Stara Zagora, Bulgaria

<sup>2</sup> Trakia university  
Stara Zagora, Bulgaria

<sup>3</sup> Laboratory for VSE at  
„Biopharm engineering” AD  
Sliven, Bulgaria

---

**ABSTRACT**— In this study is presented first report on a new methodology which determines adulterations with plants oils in White Bulgarian's cheese. Further investigations in other certified laboratories are required to confirm results and to evaluate the repeatability and reproducibility of the method.

**Keywords:** refraction, detection, vegetable oils, White Bulgarian's cheese

---

### 1. ВЪВЕДЕНИЕ

След промените в страната ни през 1989 г. поголовието от млечни животни прогресивно намаля. Успоредно с това намаля съществено и покупателната способност на населението. С оглед предлагането на все по-евтино сирене производителите постепенно промениха стандартната технология за производство. В този в миналото изцяло произвеждан от сурово предимно краве и овче мляко продукт започнаха да се влагат редица добавки, сред които са и растителните маснини.

Поради ниската си себестойност растителните мазнини са често използвани в хранителната индустрия в целия свят. Широката им употреба може да се обясни с тяхната ниска цена. В нашата страна вносът на растителни мазнини позволи те широко да се влагат в редица хранителни продукти, включително и в тези от млечната индустрия. Често те се

добавят при производството на различни млечни продукти без това да се означава на етиката или на него се посочва само “съдържание на растителни мазнини”.

Заместителни или имитиращи продукти на оригиналните производствени рецепти за млечни продукти се създават и изпълняват от производителите с цел покриване на пазарното търсене (Fox et al., 2000). Същевременно е недопустимо да се прикрива или умишлено да се заблуждава потребителя относно състава на храните и това се контролира чрез информацията отпечатана на етикетите (Albert J., 2010). Умишленото нарушения на производствените рецепти, както и липсата на правилна, коректна или основна информация на етикета се счита за фалшификация и измама.

Понастоящем на българския и на Европейския пазар редица фирми предлагат готови продукти за директно приложение в млекопреработката под формата на готови смеси от растителни мазнини и емулгаторни соли като заместител на млечната мазнина. В нашата страна се осъществява официален контрол върху използването на растителни мазнини при производството на млечни продукти от страна на БАБХ.

Поради честите в миналото случаи на добавяне на растителни мазнини в маслото основен проблем за контролните органи е било тяхното доказване само в този млечен продукт. За целта са разработвани и успешно са прилагани различни методи като число на Kirshner, Polenski и др., чрез които се постига установяване дори на процентните количества добавени растителни мазнини към млечната мазнина при производството на масло (Frank et al., 2012).

Известно е, че млечните и растителните мазнини се различават по специфичното съотношение на наситени (SFA) и мононенаситени (MUSA) и полиненаситени (PUSA) мастни киселини, както и по мастнокиселинен профил с характерната маслена киселина (C4), стеаринова киселина (C18) и палмитинова киселина (C16), (O'Donnell-Megaro et al., 2011; Rico et al., 2014; Petit, 2015).

В литературата са описани основно газово-хроматографски методи, които се прилагат за класическо и алтернативно доказване на растителни мазнини при млечни продукти, в това число и референтния метод за количествено определяне на мастни киселини при растителни и животински мазнини, използван в момента у нас и в другите европейски страни (ISO 12966-4, 2015). Въпреки наличието на съвременни методи за газово-хроматографски методи за доказване на растителни мазнини, главно поради тяхната висока себестойност, прилагането им за учестен мониторинг на производителите от страна на органите на БАБХ към настоящия момент все още е ограничено.

Различаването на допълнително добавените растителни мазнини към млечните е занимавало учените още от 30-те години на ХХ-ти век. Рефракционните числа отдавна са утвърдени като качествен критерии, диференциращ млечните мазнини на стопански значимите животни, използвани за производство на млечни продукти (Зайковский, 1938 и 1950). Установено е, че въз основа на техните разлики може да се диференцира чистото краве масло, показващо рефракционно число под 46 и това на маслото с добавени растителни или различни от маслото други животински мазнини, показващи по-високи стойности (Емануилов и Захариев, 1968). У нас рефрактометричния метод е проучван здадълбочено по отношение на анализите не само на масло, но и на маргарин (Nikolova et al., 2010).

В настоящия момент е на лице обективната необходимост от апробиране и валидиране на бърз, предварителен и достатъчно прецизен метод за скринингово доказване на наличието на растителни мазнини, използвани като добавка при производството на един от основните млечни продукти на трапезата на българина - Бялото саламурено сирене. Въвеждането на такъв метод би улеснило не само контролните органи, но също и потребителите. То би било полезно и за самоконтрола и независимия контрол от страна на органите на БАБХ на предприятията от млечната индустрия и особено при тези от тях, които държат на имиджа си

за производство само на натурално Българско Бяло саламурено сирене, без добавени растителни мазнини.

До момента в достъпната ни литература не бяха установени данни за определяне на рефракцията на извлечени от Бяло саламурено сирене мазнини по стандартния ацидо-бутерометричен метод на Gerber (БДС 1671, 1989). Хипотезата за евентуални разлики в индексите на рефракция, респ. на рефракционните числа при мазнините на кравето сирене с растителните мазнини също ни даде основание да проучим възможността разликите в техните стойности да послужат, с оглед доказването на растителните мазнини при производството на Бяло саламурено сирене.

Цел на настоящото проучване е, да се направи първо съобщение относно прилагането в независима акредитирана лаборатория за контрол на храните на предварителен качествен метод за доказване на допълнително добавени растителни мазнини в Бяло саламурено сирене въз основа на определянето на рефракцията при мазнините, извлечени от продукта по стандартния ацидо-бутерометричен метод на Gerber (БДС 1671, 1989).

## **2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

С оглед изпълнение на поставената цел бяха взети и изследвани по 7 бр. проби краве зряло и краве твърдо неузряло сирене, произведени без добавени растителни мазнини, както и 11 бр. проби от партиди имитиращи сирене продукти, при производството на които са прибавяни растителни мазнини (табл. 1).

Пробите произхождаха от различни партии, бяха произведени от едни и същи производители на съответните продукти и бяха вземани за изследване, съгласно утвърдените в предприятията мониторингови програми за контрол на готовата продукция през различни времеви периоди на 2015 г. С оглед спазване на конфиденциалност на информацията и предварителния характер на проучванията конкретните производители, както и точните количества на влаганите растителни мазнини при производството на имитиращи сирене продукти не могат да бъдат посочени. Проучванията бяха извършени в Лабораторен блок по ВСЕ при „Биофарм инженеринг“ АД, гр. Сливен, България.

Известно е, че в 1 ml мляко се съдържат средно 2 милиарда маслени кълбца с диаметър от 0,1 до 10  $\mu\text{m}$ . Тяхната големина зависи основно от породата на животните, храната, условията на отглеждане и др. фактори (Зайковски, 1938 и 1950). За да се разрушат обвивките на маслените кълбца и отделената млечна мазнина да бъде отчетена като числена стойност в проценти отдавна в рутинната практика се използва ацидо-бутерометричния метод на Gerber за определяне на процента на мазнините в сиренето (БДС 1671, 1989).

При настоящото проучване за извличане на мазнините от пробите сирене и имитиращи сирене продукти бе използвана същата методика (БДС 1671, 1989). Накратко, чрез добавяне на сярна киселина с отн. т. 1,50-1,55, последвано от инкубация при 65°C, добавяне на 1 mL изоамилов алкохол и центрофугиране при 1000 об./мин., впоследствие по отделения в гопната мерителната скала на бутирометъра за сирене маслен слой се определя процента на мазнините в общата маса на сиренето (БДС 1671, 1989).

Новост в разработената методология представлява последващото отнемане през горния отвор на бутирометъра за сирене за рефрактометричен анализ, посредством тънка спринцовка и игла, само на повърхностния по-светъл слой на мазнините. Впоследствие от извлечената мазнина, с помощта на стъклена пръчка, се нанася тънък слой върху неподвижната призма на Abbe-refractometer AR4 with electrical LED-lighting (Krüss Optronic, Germany; www.kruess.com), след което се притиска с подвижната призма и рефрактометърът се затваря. Проверява се температурата на уреда (40°C) и в окуляра се отчита индекса на рефракция. Преизчисленията на отчетените индекси на рефракция в рефракционни числа се извършваха посредством международно утвърдена методология (АОАС INTERNATIONAL, 2005).

Получените резултати бяха сравнени вариационно статистически, посредством t-test. Бяха установени средните стойности, стандартните отклонения, минималните, максималните стойности и нивото на значимост – p.

### 3. РЕЗУЛТАТИ

Данните от статистическия анализ на получените резултати са представени на таблица 1.

**Таблица 1. Сравнения между стойностите на рефракционните числа при краве сирене и твърдо неузряло сирене без добавени растителни мазнини и имитиращи сирене продукти с добавени растителни мазнини.**

Статистически показатели	Краве бяло саламурено сирене (n = 7)	Твърдо неузряло сирене (n = 7)	Имитиращи сирене продукти (n = 11)
Средно	40.42	39.91	46.29
Станд отклонение	0.5427	0.031	3.3565
Мин.	39.97	39.87	40
Макс.	41	39.95	51
Ниво на значимост – p	0.0288		
			0.0003
			0,0004

Въпреки близките средни стойности на нивото на значимост при твърдото неузряло сирене, в сравнение с кравето Бяло саламурено сирене ( $p=0,0288$ ), не можем да приемем за високодостоверна разликата между отчетените рефракционни числа при тези две категории сирене, без добавени растителни мазнини (табл. 1). Въпреки това рефракционните числа показват чувствително по-ниски стойности от тези, установени при растителните и останалите животински мазнини (Емануилов и Захариев, 1968).

В същото време при сравнение на рефракционните числа, както при Бялото саламурено сирене, така и при твърдото неузряло сирене от краве мляко, без добавени растителни мазнини, с имитиращите сирене продукти бяха установени нива на значимост, съответно 0,0003 и 0,0004, което показва високостепенна статистически значима разлика между сравняваните стойности при тези продукти (табл. 1).

Следва да се посочи и, че отчетената средна стойност на рефракционното число при изследваните партии имитиращи сирене продукти е над 46 (46.29), Това ни дава основание да заключим, че при проведените първоначални проучвания на методологията в болшинството от случаите рефрактометричното определяне би могло да констатира добавката на растителни мазнини към сиренето. При обсъждането на получените резултати би следвало да се анализират и констатираните при отделни партии имитиращи сирене продукти по-ниски стойности на рефракционното число (табл. 1).

Данните от актуалните към момента литературни източници сочат, че индексите на рефракция при растителните масла варират от 1,445 до 1,464, респ. съответните им рефракционни числа са от 39.8 до 57. Видно е също, че всички растителните масла, без кокосовото масло, показват стойности на рефракционните си числа над 44 (табл. 2).

Според добре известни литературни източници мазнините на кравето мляко имат температура на топене от 32°C и показват средно рефракционно число от 43 (Зайковский, 1938 и 1950).

**Таблица 2. Индекси на рефракция (Technical Terms Dictionary, REFRACTIVE INDEX) и рефракционни числа при някои растителни масло за хранителни цели.**

Индекс на рефракция	Рефракционно число (преизчислено, съгласно АОАС INTERNATIONAL, 2005)	Вид растителни масла
1.445	39.8	Кокосово масло
1.455	44.5	Палмово масло
1.458	47.97	Маслиново масло (зехтин)
1.459	48	Фъстъчено масло
1.460	51	Високоолеиново слънчогледово масло
1.462	54	Рапично масло
1.463	55.5	Соево масло
1.464	57	Слънчогледово масло

Т.е. в случай, че при добавяне на повечето от растителните мазнини, характеризиращи се с високи рефракционни числа (табл. 2), към млечната суровина за производство на сирене, съдържаща млечни мазнини, би могло да се очаква завишаване на индексите на рефракция, респективно на рефракционните числа на мазнините в произведеното сирене. Според по-нови литературни източници при индекси на рефракция над 1,4555, респ. рефракционно число над 44,5 в краве мляко биха могли да се считат за показателни за прибавени растителни мазнини в млякото (Frank et al., 2012).

Получените от нас резултати при имитиращи сирене продукти с добавени растителни мазнини при първоначалните проучвания на предлаганата методология потвърждават горните твърдения за възможно използване на рефракционните числа за качествено доказване на добавени растителни мазнини към сирене. Установените по-ниски стойности на рефракционните числа при мазнините, извлечени по ацидо-бутерометричния метод от имитиращи сирене продукти с добавени растителни мазнини, би могло да бъдат обяснени с недостатъчно хомогенна смес от млечна суровина и растителна мазнина при производството на тези продукти или останали количества от млечна суровина от предходно производство на сирене без добавени растителни мазнини (табл. 1). Тези хипотези в бъдеще би следвало да се проучат чрез разширени проучвания на рефракционните числа при мазнините, извлечени от имитиращи сирене продукти, произведени в едни и същи предприятия и със същото оборудване, преди производството на които се е произвеждало Бяло саламурено сирене без добавени растителни мазнини.

Необходими са и допълнителни проучвания и, с оглед определяне на съответен индекс на рефракция (рефракционно число), при познати добавени процентни количества предварително известна растителна мазнина към мляко и млечна суровина за производство на сирене, за установяване възможността чрез предлаганата методология да се определи точното процентно количество на добавената растителни мазнини към суровината за производство на Бяло саламурено сирене. Следва да се проучи и, дали предлаганата методология би могло да намери приложение освен при кравето и при овчето Бяло саламурено сирене.

Във връзка с официалния лабораторен контрол на Бялото саламурено сирене, при което не се допуска добавяне на растителни мазнини, може да се поясни, че съмнение за тяхната добавка при производството би могло да възникне, след като се анализират резултатите за основните качествени показатели на готовия продукт - водно съдържание, сухо вещество, масленост и особено на показателя масленост в сухото вещество. Предварителна насоченост

за необходимостта от последващи лабораторни изследвания, с оглед доказване на възможно наличие на допълнително добавени растителни мазнини в сиренето би могло да се счита установяването на по-висок от допустимия, съгласно декларираните от производителя стойности, процент на мазнини в сухото вещество на продукта.

#### 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Извършени са първоначални проучвания на методология за извличане на мазнините от Бяло саламурено сирене от краве мляко и имитиращи сирене продукти, последвано от определяне на индекси на рефракция и рефракционни число, с оглед установяване на допълнително добавени при производството растителни мазнини. При сравнение на рефракционните числа на мазнини, извлечени по ацидо-бутерометричния метод от Бяло саламурено сирене, произведено без добавени растителни мазнини и на тези от имитиращи сирене продукти е установена статистически значима разлика ( $p=0,0003$  и  $p=0,0004$ ), (табл. 1). Получените предварителни резултати се предвижда да се потвърдят, както и да се определят повторемостта и възпроизводимостта на метода, съгласно изискванията на ISO 5725-2 (1994), и в други акредитирани лаборатории в рамките на Научен проект 7/2016 на Тракийски университет, Стара Загора, България.

#### 5. СЪТРУДНИЧЕСТВО

Настоящите предварителни проучвания на методологията за доказване на растителни мазнини в сирене бяха направени през 2015 г. с любезното съдействие на ръководството на Лабораторен блок – ВСЕ при акредитирана лаборатория „Биофарм инженеринг” АД, гр. Сливен, с оглед подготовката на Научен доклад за придобиване на специализация по „Ветеринарно-санитарен контрол и експертиза на хранителните продукти от животински произход” от д-р П. Турлакова, по първоначална идея на научния ръководител на специализацията доц. Д. Динков (Турлакова, 2015).

Същите позволиха и аргументирането на Научен проект 7/2016 на Тракийски университет с ръководител доц. Д. Динков на тема: *Апробиране и валидиране на метод за рефрактометрично установяване наличието на растителни мазнини като добавка в краве сирене и имитиращи продукти*. Предвижда се до приключване на проекта (м. 06.2018 г.), да се извършат допълнителни проучвания и в други независими акредитирани лаборатории за потвърждаване на получените резултати и определяне на повторемостта и възпроизводимостта на предлаганата методология по утвърдени референтни ISO методи (БДС EN ISO 17189, 2004; ISO 12966-4, 2015; ISO 6320, 2017).

#### 6. ЛИТЕРАТУРА

БДС 1671-89. (1989). Мляко и млечни продукти. Определяне на масленото съдържание. Утвърден на 29.03.1989 г. Влязъл в сила от 01.07.1989 г. Сборник български държавни стандарти, Хранителновкусова промишленост, том. 3. стр. 333 – 352.

БДС EN ISO 17189. (2004). Масло, маслени емулсии за хранителни цели и мазнини за намазване. Определяне на масленото съдържание (Референтен метод) (Сравнителен метод). Available: [http://www.bds-bg.org/bg/other/other\\_iso\\_product.php?id=32902](http://www.bds-bg.org/bg/other/other_iso_product.php?id=32902). Accessed on [2017-04-19].

Емануилов, И., Захариев Ц. (1968). Откриване на примес от други мазнини. Определяне рефракционното число на маслото, Ръководство за изследване на хранителните продукти от животински произход, IV издание, Държавно издателство „Земиздат”, стр. 154-156.

- Емануилов, Игн., Захариев, Ц. (1968). Откриване на примес от други мазнини. Определяне рефракционното число на маслото, Ръководство за изследване на хранителните продукти от животински произход, IV издание, Държавно издателство „Земиздат”, стр. 154-156.
- Зайковский, Я.С. Химия и физика молока и молочных продуктов. (1938 и 1950). Пищепромиздат, Москва. *Цитиран в:* Емануилов, Игн. (1956). Ветеринарно-санитарна експертиза на хранителните продукти от животински произход, Второ издание, ЗЕМИЗДАТ-София, стр. 322-323.
- Турлакова, П. (*Специалист по “Ветеринарно-санитарна експертиза” към Лабораторен блок – ВСЕ, ДЗЖ при акредитирана лаборатория „Биофарм инженеринг” АД, гр. Сливен*) (2015). Рефрактометрично установяване наличието на растителни мазнини като добавка в краве сирене и имитиращ продукт, Научен доклад за защита на специализация по „Ветеринарно-санитарен контрол и експертиза на хранителните продукти от животински произход”, Научен ръководител: доц. Д. Динков, ВМФ при Тракийски университет, стр. 1-33.
- Albert J. (2010). Innovation in food labeling. Book. Woodhead Publishing, ISBN 978-1-84569-759-4.
- AOAC INTERNATIONAL. (2005). AOAC Official Method 921.08. Index of Refraction of Oils and fats, 41.1.07.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., et al. (2000). Fundamentals of Cheese Science. Springer-Verlag US, ISBN 978-0-8342-1260-2, pp. 443-451.
- Frank L. H., Fisher H. J. (2012). Technology & Engineering, Modern Food Analysis, Springer Verlag New York, p.129. Available: [https://books.google.bg/books/about/Modern\\_Food\\_Analysis.html?hl=bg&id=acrsCAAQBAJ](https://books.google.bg/books/about/Modern_Food_Analysis.html?hl=bg&id=acrsCAAQBAJ). Accessed on [2017-04-19].
- [http://www.bds-bg.org/other/other\\_iso\\_product.php?keyword=fats&item\\_from=90](http://www.bds-bg.org/other/other_iso_product.php?keyword=fats&item_from=90). Accessed on [2017-04-19].
- ISO 12966-4. (2015). Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 4: Determination by capillary gas chromatography. Available: [http://www.bds-bg.org/bg/other/other\\_iso\\_product.php?id=63503](http://www.bds-bg.org/bg/other/other_iso_product.php?id=63503). Accessed on [2017-04-19].
- ISO 5725-2. (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 2: basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method, Geneva. Available: <http://www.iso.org>. Accessed on [2017-04-19].
- ISO 6320. (2017). Animal and vegetable fats and oils - Determination of refractive index. Available: Nikolova, Kr., Panchev, Iv., et al. (2010). Refractometric investigation of butter and margarine, Eur. Food Res. Technol. (2007) 225:139–143.
- O’Donnell-Megaro, Barbano, D. M., et al. (2011). Survey of the fatty acid composition of retail milk in United States including regional and seasonal variations. Journal Dairy Science., Vol.94. pp. 59-65.
- Petit, H.V. (2015). Milk production and composition, milk fatty acid profile, and blood composition of dairy cows fed different proportions of whole flaxseed in the first half of lactation. Animal Feed Science & Technology. Vol. 205, pp: 23-30.
- Rico, D. E., Marshall, E. R., et al. (2014). Within-milking variation in milk composition and fatty acid profile of Holstein dairy cows. Journal of Dairy Science. Vol. 97, Issue 7, pp: 4259-4268. Technical Terms Dictionary, REFRACTIVE INDEX. Available: <http://www.florin-ag.ch/index.php?sid=K49cencZgtq4oRIXIVgtwPaNUFePy4eDe2ehoLYr&c5p=472&c5l=en>. Accessed on [2017-04-19].

## **6. СЪКРАЩЕНИЯ**

БАБХ - Българската Агенция по Безопасност на Храните

ВСЕ – Ветеринарно-санитарна експертиза

ISO – Международна стандартизационна организация