

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Н. И. Заяц

**ОРГАНИЗАЦИЯ
И ТЕХНОЛОГИЯ ИСПЫТАНИЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

*Рекомендовано
учебно-методическим объединением высших учебных заведений
Республики Беларусь по химико-технологическому образованию
в качестве учебно-методического пособия для студентов
высших учебных заведений по специальности 1-54 01 03
«Физико-химические методы и приборы контроля
качества продукции» специализации 1-54 01 03 02
«Сертификация продовольственных товаров»*

Минск 2010

УДК 664.012.1(076.5)

ББК 34.7я73

З-40

Рецензенты:

кафедра физикохимии материалов УО «Белорусский
государственный экономический
университет» (доктор химических наук, профессор,
зав. кафедрой *Н. П. Матвейко*);

кандидат технических наук, старший научный сотрудник
ГНУ «Центральный ботанический сад»
НАН Беларуси *Е. Н. Скачков*

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или ее части не может быть осуществлено без разрешения учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет».

Заяц, Н. И.

З-40 Организация и технология испытаний. Лабораторный практикум : учеб.-метод. пособие для студентов специальности 1-54 01 03 «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции» специализации 1-54 01 03 02 «Сертификация продовольственных товаров» / Н. И. Заяц. – Минск : БГТУ, 2010. – 184 с.

ISBN 978-985-434-954-1.

В учебно-методическом пособии содержатся сведения о пищевой ценности, показателях качества пищевых продуктов и методах их контроля, рассматриваются вопросы теоретических основ методов испытаний и их аппаратурное оснащение. Практикум включает указания к выполнению лабораторных работ по определению некоторых показателей качества пищевой продукции.

Предназначено для студентов специализации 1-54 01 03 02 «Сертификация продовольственных товаров» специальности «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции».

УДК 664.012.1(076.5)

ББК 34.7я73

ISBN 978-985-434-954-1 © УО «Белорусский государственный технологический университет», 2010
© Заяц Н. И., 2010

ПРЕДИСЛОВИЕ

Испытания – экспериментальные определения количественных и (или) качественных характеристик свойств продукции. Качественные и количественные характеристики пищевой продукции определяются различными методами, среди которых наибольшее распространение получили органолептические (основанные на анализе восприятия органов чувств) и измерительные (основанные на применении технических средств). Измерительные методы – физические, физико-химические, биохимические, биологические и другие позволяют получить результат с установленной точностью.

Испытания проводятся на всех этапах жизненного цикла продукции: от разработки и постановки ее на производство до утилизации. Только на основании результатов испытаний продукции можно принять ответственное решение о постановке нового вида продукции на производство, окончании освоения производства, возможности приемки партии продукции, внесении изменений в технологический процесс и документацию, выдаче сертификата соответствия и др.

Лабораторный практикум по дисциплине «Организация и технология испытаний» предназначен для студентов специальности «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции» специализации «Сертификация пищевой продукции».

Практические лабораторные занятия являются необходимым дополнением теоретического курса, и поэтому проведение их должно способствовать усвоению курса, ознакомлению студентов с современными методами, методиками проведения испытаний и обработкой результатов.

В учебно-методическом пособии дается краткая характеристика исследуемого объекта, физических основ используемого метода, указывается аппаратное оснащение, приводится подробное описание методик выполнения испытаний.

Такой характер и порядок изложения материала помогают учащимся лучше представить значение определяемого показателя качества, расширяют технический кругозор и позво-

ляют приобрести практические навыки проведения испытаний и определения показателей качества продукции.

Практикум состоит из четырех глав. Глава 1 «Отбор и подготовка проб к анализу» содержит сведения о методах отбора и подготовки проб к анализу. В главе 2 «Пищевая ценность» приводится 14 лабораторных работ (с 1-й по 14-ю); глава 3 «Показатели безопасности» включает 5 лабораторных работ; глава 4 «Физико-химические показатели» содержит 6 лабораторных работ.

Ввиду того, что пищевая продукция имеет разнообразный ассортимент и характеризуется большим количеством показателей качества, в лабораторный практикум включены основные показатели и методики их контроля.

Глава 1. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ К АНАЛИЗУ

Продукция представляется на контроль партиями. Под *партией* понимают любое количество продукта, однородного по качеству, предназначенного для одновременной приемки, сдачи, отгрузки или одновременного хранения, например зерно, хранящееся в силосе, эшелон зерна и т. д. Однородность партии устанавливается органолептически по внешнему осмотру партии.

Контроль может быть выборочным или сплошным. Чаще всего контроль осуществляется выборочными методами и от партии, при использовании принципов обеспечения репрезентативности, отбирается выборка (проба).

Выборка – определенное количество штучной продукции; *проба* – определенное количество нештучной продукции, отобранной для анализа.

Правильное взятие проб и подготовка их к анализу являются необходимыми условиями для точной оценки качества пищевых продуктов.

В противном случае даже тщательно измеренный аналитический сигнал не даст правильной информации о содержании определяемого компонента. Погрешность при отборе пробы часто устанавливает общую точность определения компонента и делает бессмысленным использование высокоточных методов.

Поэтому правила приемки и методы отбора проб регламентируются для конкретных видов продукции соответствующими техническими нормативными правовыми актами (ТНПА). Отбор проб молока и молочных продуктов, подготовку их к анализу проводят по ГОСТ 26809–86, крупы – по ГОСТ 26312.1–84, макаронных изделий – по ГОСТ 14849–89, хлеба и хлебобулочных изделий – по ГОСТ 5667–65, сахара – по ГОСТ 12569–99, плодоовощных консервов – по ГОСТ 26313–84, растительных масел – по ГОСТ 5471–83, мяса – по ГОСТ 7269–79.

От партии для ее контроля отбирается заранее подготовленная *средняя (усредненная) проба* – небольшая часть анализируемого объекта, средний состав и свойства которой

должны быть идентичны во всех отношениях среднему составу и свойствам исследуемого объекта.

Отбор средней пробы (рис. 1) начинается с точечной пробы. *Точечная проба* – это проба, взятая единовременно из определенной части нештучной продукции (из цистерны, фляги, от монолита продукта т. п.). Количество выемок, их масса или объем, места их взятия из партии строго регламентированы и установлены в ТНПА. Приемы и техника отбора проб для составления средней пробы разных групп пищевой продукции неодинаковы и зависят от состояния продукции, ее физико-химических свойств.

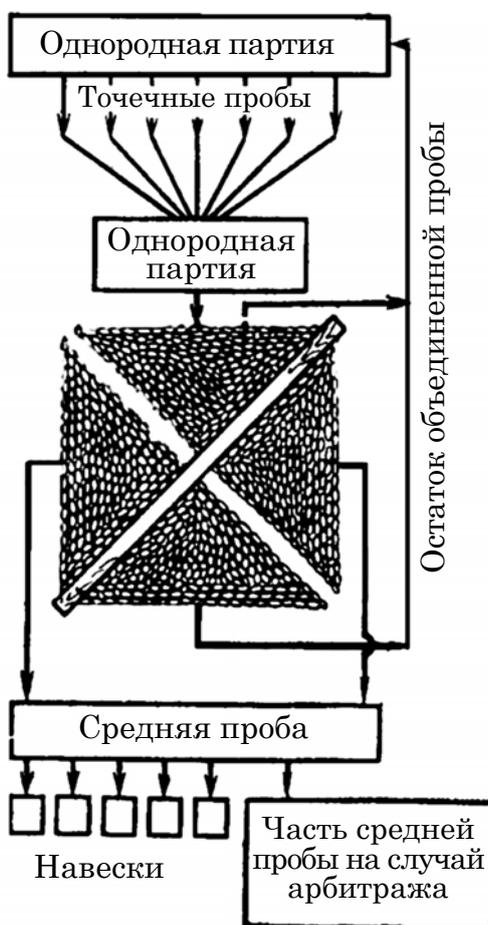


Рис. 1. Схема отбора проб

Различаются способы отбора проб гомогенных и гетерогенных жидкостей. Пробы гомогенных жидкостей имеют высокую степень однородности и хорошо перемешиваются. Про-

бы в таких случаях отбирают соответствующими пробоотборниками, пипетками, мерными емкостями. Отбор проб из общей емкости необходимо проводить после тщательного перемешивания всего объема жидкости, поскольку в поверхностном слое емкости могут протекать различные химические процессы, меняющие состав образца. Если по какой-либо причине жидкость хорошо перемешать нельзя, то отбор пробы проводят на разной глубине и в разных местах емкости с помощью специальных устройств.

Пробы гетерогенных жидкостей отбирают не только по объему, но и по массе. При этом в некоторых случаях жидкость гомогенизируют, изменяя температуру, перемешивая жидкость или подвергая ее вибрации.

Способы отбора пробы твердого продукта различны для веществ, находящихся в виде монолита или сыпучего продукта. При отборе пробы от целого твердого объекта необходимо учитывать, что он может быть неоднородным.

Отбор пробы сыпучих продуктов тем сложнее, чем неоднороднее анализируемый объект. Исследуемый сыпучий продукт необходимо перемешать и пробу отобрать в разных местах емкости и на различной глубине, используя при этом специальные щупы-пробоотборники.

Например, точечные пробы жидких, вязких и сгущенных молочных продуктов отбирают кружкой или черпаком вместимостью 0,1; 0,25; 0,5 дм³ с жесткой ручкой длиной от 50 до 100 см, металлической или пластмассовой трубкой внутренним диаметром $9 \pm 1,0$ мм по всей длине и с отверстиями по концам.

Точечные пробы полутвердых, твердых и сыпучих молочных продуктов отбирают шпателями, ножами или специальными щупами.

Точечные пробы творога, творожных изделий, домашнего сыра и сыров для плавления в транспортной таре отбирают щупом, опуская его до дна тары.

Перед отбором проб жидкие молочные продукты перемешивают от 1 мин (механизированный способ перемешивания во флягах) до 15–20 мин (в железнодорожных цистернах) или путем многократного перевертывания потребительской тары

(бутылки и пакеты). При раслаивании продукта или образовании осадка пробу могут нагревать до определенной температуры, не допуская ее разрушения. Например, при отстое жира в молоке и сливках в потребительской таре их нагревают до температуры $(32\pm 2)^\circ\text{C}$ на водяной бане температурой $38\pm 2^\circ\text{C}$.

Точечные пробы сухих продуктов в транспортной таре обычно отбирают щупом из разных мест каждой единицы транспортной тары с продукцией. От сгущенных и сухих молочных консервов в потребительской таре точечные пробы отбирают пробником, щупом или ложкой после вскрытия тары.

Точечные пробы сливочного и топленого масла, пластических сливок в транспортной таре отбирают щупом (если температура масла ниже 10°C , щуп нагревают в воде температурой $(38\pm 2)^\circ\text{C}$); в потребительской таре – ножом от каждого брикета.

Точечные пробы сыра отбирают с двух противоположных сторон каждой головки сыра, включенной в выборку, щупом, вводя его на глубину $3/4$ длины.

Точечные пробы объединяют в объединенную пробу, из которой затем выделяют среднюю пробу. Этот этап включает операции перемешивания и сокращения пробы. Перемешивание проводят механически в емкостях, перекачиванием из угла в угол на различных плоскостях, перемешиванием методом конуса и кольца. Сокращение пробы проводят методом квартования, шахматным методом и с помощью механического делителя. Данный процесс, как правило, многостадийный, включающий повторное перемешивание и деление.

Например, при выделении средней пробы крупы используют метод квартования. Объединенную пробу высыпают на стол с гладкой поверхностью, распределяют крупу в форме квадрата и три раза тщательно перемешивают при помощи двух коротких деревянных планок со скошенным ребром, захватывая его с края и сыпая в середину. Затем крупу вновь распределяют ровным слоем в виде квадрата и планкой делят по диагонали на четыре треугольника. Из двух противоположных треугольников зерно удаляют, а из оставшихся двух собирают вместе, перемешивают и вновь продолжают деление,

пока в двух треугольниках не будет требуемое для средней пробы количество зерна.

Среднюю пробу, подготовленную для анализа, помещают в чистую сухую тару (банки, бутылки и др.), которую плотно закрывают, опечатывают, снабжают этикеткой и в кратчайшие сроки доставляют в лабораторию.

Для обеспечения правильности и воспроизводимости получаемых результатов должное внимание следует уделять подбору оптимальных условий транспортировки и хранения анализируемых проб, так как при транспортировке отобранных проб анализируемого вещества к месту проведения анализа может произойти изменение его состава вследствие протекания реакций, вызванных интенсивным перемешиванием, или, например, при транспортировке пробы по трубопроводам из-за диффузии газов через стенки труб либо загрязнений другими веществами. Изменения в составе отобранных проб могут происходить и при их хранении, особенно если между отбором пробы и ее исследованием проходит значительный промежуток времени. Причинами этих изменений может быть сорбция отдельных компонентов пробы стенками емкости, в которой производится транспортировка, или наоборот, взаимная диффузия через них компонентов пробы и окружающей среды.

Для определения отдельных показателей качества из средней пробы выделяют небольшую часть, которую называют *пробой* для анализа (лабораторной пробой, навеской). Качество продукта в навеске в наибольшей степени должно соответствовать качеству продукта в средней пробе. Навеску из средней пробы выделяют при помощи специальных делителей или ручным способом.

Перед исследованием большинство продуктов требует подготовки пробы.

При подготовке образца необходимо сохранить нативные свойства продукта, не допустить потерь (например, влаги), разрушения или изменения соединений, входящих в состав продукта, а также попадания посторонних компонентов.

Подготовка пробы – важный этап проведения анализа. Она преследует несколько целей. Одна из них – перевод

пробы в физическое состояние, требуемое для проведения анализа по выбранной методике.

Можно выделить три основные стадии пробоподготовки:

- высушивание пробы;
- разложение пробы (часто с переводением ее в раствор);
- устранение влияния мешающих компонентов.

В зависимости от цели анализа, природы объекта и выбранного метода могут быть использованы различные модификации и комбинации этих стадий.

Необходимость проведения высушивания анализируемого образца в большинстве случаев связана с тем, что он может содержать переменное количество воды.

Процесс сушки зависит от состояния влаги в исследуемом материале, которая может быть свободной или связанной с материалом различными видами связей: химической, физико-химической (адсорбционной, осмотической, структурной) и механической (влаги макро- и микрокапилляров, а также влага на поверхности). Наиболее прочная химическая связь, при которой в состав вещества влага входит в строго определенных соотношениях и удалить ее можно только при разрушении продукта путем прокаливания или химического воздействия. При физико-химической связи влага поглощается белками и крахмалом не в строго определенных соотношениях; она может легко перемещаться и участвовать в химических реакциях. Удалить ее можно при высушивании, причем легче удаляется осмотическая влага, чем адсорбционная. Механическая влага, называемая свободной, содержится в капиллярах тела и на его поверхности и является самой легко удаляемой при высушивании. Для продуктов, прочно удерживающих влагу, применяют лиофильную сушку, при которой высушивание ведут в вакууме и при условии предварительного замораживания взятой для анализа пробы.

Для получения правильных и воспроизводимых результатов при установлении состава вещества анализируемый образец необходимо высушить до постоянной массы или определить содержание воды, так как результат анализа следует пересчитать на постоянную массу. Чаще всего анализируемый образец высушивают на воздухе или в сушильном шкафу при

105–120°C. В некоторых случаях пробы высушивают в эксикаторах над влагопоглощающими веществами (хлоридом кальция, фосфорным ангидридом, перхлоратом магния и др.). Длительность и температуру высушивания образца устанавливают заранее экспериментально.

Иногда полностью удалить воду из пробы или высушить ее до постоянной массы не удается. В таких случаях определяют ее содержание в образцах, отобранных для определения других компонентов, используя один из многочисленных методов определения воды. Чаще всего используют метод прямой гравиметрии или титриметрический метод.

При проведении анализа с использованием большинства методов требуется предварительное переведение определяемого компонента в раствор. Идеальный растворитель должен быстро растворять пробу в достаточно мягких условиях и не создавать помех на последующих стадиях анализа.

Один из широко используемых растворителей – вода, в которой растворяются очень многие неорганические и органические вещества. Иногда для предотвращения гидролиза и частичного осаждения некоторых катионов металлов в нее добавляют небольшое количество кислоты. При растворении органических веществ иногда воду смешивают с органическим растворителем, хорошо с ней смешивающимся (например, с низшими спиртами). При растворении органических веществ чаще всего используют органические растворители, как правило, спирты, кетоны, хлорированные углеводороды, а также диметилформамид, диметилацетамид.

Однако очень часто для растворения анализируемой пробы необходимо первоначально провести ее минерализацию – освобождение от органических соединений сухим или мокрым озолением. Выбор способа озоления зависит от ряда условий. Так, сухое озоление в отличие от мокрого не требует реактивов, позволяет использовать относительно большое количество образца (5–10 г, но не более), так как иначе наблюдаются значительные потери элементов, что важно при низком содержании определяемого элемента или низкой чувствительности метода, не требует постоянного наблюдения сотрудника. Однако возможны потери некоторых элементов,

особенно в образцах, содержащих хлориды. Мокрое озоление, как правило, дает меньше потерь элементов, но требует чистых реактивов, большего внимания оператора и ограничено массой образца от 2 до 5 г.

Выбор метода озоления зависит также от вида продукта. Например, продукты с высоким содержанием жира или сахара рекомендуется сжигать сухим методом, а продукты, содержащие хлориды, – мокрым методом.

В большинстве случаев сухое озоление пищевых продуктов проводят при температуре 450–550°C в течение 4–16 ч. При более низких температурах озоление затягивается, а в условиях повышенных температур возможно улетучивание некоторых элементов, например железа. При обычных режимах сухого озоления продуктов, содержащих заметные количества хлоридов, наблюдаются потери Fe, Sb, Pb, Al и Cu за счет образования относительно летучих хлоридов металлов. В этих случаях озоление проводят таким образом, чтобы перевести элементы в менее летучие нитраты или сульфаты. Чаще всего перед озолением к образцу добавляют нитрат магния или другие соли азотной кислоты либо смачивают образец разбавленной (1 : 1) азотной кислотой или разбавленной серной кислотой. Добавление нитратов, кроме уменьшения потерь, ускоряет озоление. В зависимости от вида элемента нитраты добавляют только перед озолением, но иногда после обугливания или после получения бурой золы. Более подробно способы сухого озоления будут указываться при рассмотрении методов определения каждого элемента.

Для проведения мокрого озоления существует около десяти вариантов, но для большинства видов элементов и продуктов, в том числе относительно богатых жирами, рекомендуется использовать смесь трех концентрированных кислот – азотной, хлорной и серной обычно в соотношении 3 : 2 : 1. Для низкожирных продуктов рекомендуется смесь азотной и хлорной кислот HClO_4 в соотношении 3 : 2. Смесь азотной и серной кислот, хотя и полно минерализует продукт, но сжигание протекает очень долго.

В этом случае нет необходимости предусматривать особые меры предосторожности, связанные с использованием хлорной

кислоты. Отдельно серную или азотную кислоту не используют из-за большой длительности минерализации. В некоторых случаях вместо хлорной кислоты применяют пероксид водорода, добавляя иногда перманганат калия.

Стадия озоления (минерализации) – основной источник как потерь контролируемых металлов, так и загрязнения ими пробы. Особенно это относится к сухому озолению в открытых кварцевых чашках, в общих лабораторных помещениях, с использованием общих вытяжных шкафов, муфельных печей и другого оборудования и приспособлений.

Существуют методы автоклавной подготовки проб, когда минерализация происходит в герметичном объеме, под давлением, иногда в среде окислителя. По времени минерализация в автоклавах обычно длится не более 1,5 ч, сведены к минимуму возможные потери из-за улетучивания части пробы и загрязнения в результате попадания металлов в пробу извне.

Минерализацию проб пищевых продуктов, в том числе и молочных, проводят в соответствии с ГОСТ 26929–88.

Глава 2. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ

Пищевая ценность – это понятие, отражающее полноту полезных качеств продукта, связанных с оценкой содержания в нем широкого перечня пищевых веществ.

Продукты не равнозначны по своей пищевой ценности. Описание пищевой ценности в целом дает наиболее полное представление о всех полезных свойствах пищевого продукта, в том числе и о его энергетической и биологической ценности.

Энергетическая ценность пищевого продукта характеризует его усвояемую энергию, т. е. ту долю суммарной энергии химических связей белков, жиров и углеводов, которая может высвободиться в процессе биологического окисления и использоваться для обеспечения физиологических функций организма. Величина этой энергии зависит главным образом от степени усвоения питательных веществ данного пищевого продукта. Степень усвоения питательных веществ из продуктов животного происхождения выше, чем из растительных продуктов.

Усвояемость пищевых продуктов определяется коэффициентом, который показывает, какая часть продукта в целом используется организмом. Она зависит от внешнего вида, вкуса и аромата продукта, консистенции, качества и количества пищевых веществ, содержащихся в нем, а также от физиологического состояния организма. Установлены расчетные энергетические коэффициенты питательных веществ: для белков и углеводов – 4 ккал/г, для жиров – 9 ккал/г.

Входящие в рацион питания продукты должны содержать в достаточном количестве вещества, необходимые для получения энергии, обмена веществ, построения тканей человеческого организма. В зависимости от характера выполняемой работы человеку в сутки необходимо 3000–4500 ккал. По теории сбалансированного питания энергетическая ценность продуктов должна соответствовать естественному обмену веществ. Необходимо равновесие между энергетическими затратами организма и энергией, поступающей в него в виде пищи.

Важный показатель пищевой ценности продукта – содержание питательных веществ и их соотношение. Оптимальное соотношение между белками, жирами и углеводами в пищевых продуктах для взрослых и детей старшего возраста 1 : 1 : 4, для детей младшего возраста 1 : 1 : 3. Однако питательность пищевых продуктов определяется не только их энергетической ценностью, но и биологической полноценностью, т. е. сбалансированным содержанием незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов, витаминов, минеральных веществ, полифенольных соединений. Процент усвоения питательных веществ некоторых пищевых продуктов приведен в табл. 1.

Из смешанной пищи белки усваиваются в среднем на 92%, жиры – на 95%, углеводы – на 98%.

Таблица 1

Процент усвоения питательных веществ

Пищевые продукты	Питательные вещества		
	белки	жиры	углеводы
Животная пища	97	95	98
Злаки и хлебные культуры	85	90	98
Сушеные овощи	78	90	97
Свежие овощи	83	90	95
Фрукты	85	90	90
Смешанная пища	92	95	98

Мерой пищевой ценности продукта служит интегральный скор, который представляет собой ряд расчетных величин, выраженных в процентах, характеризующих степень соответствия оцениваемого продукта оптимально сбалансированному суточному рациону с учетом энергосодержания и наиболее важных качественных показателей. Интегральный скор определяют обычно в расчете на такую массу продукта, которая обеспечивает 10% энергии суточного рациона (например, 300 ккал при суточном рационе в 3000 ккал). Для определения интегрального сора по соответствующим таблицам находят энергосодержание 100 г оцениваемого продукта, после чего вычисляют его массу, обеспечивающую 300 ккал энергии. Затем в найденном количестве продукта рассчитывают содержание важнейших

питательных веществ. Полученные по каждому из этих веществ величины представляют в виде процента от общего количества соответствующего вещества, содержащегося в оптимально сбалансированном суточном рационе. Интегральный скор некоторых продуктов питания приведен в табл. 2.

Таблица 2

Интегральный скор некоторых продуктов питания

Показатели химического состава и энергосодержания	Говядина I категории	Свинина жирная	Треска	Молоко коровье	Хлеб из пшеничной муки 1 сорта	Картофель	Сахар
Белки	3360	814	78146	1628	110	8,00	
Жиры	220	330	30	190	15	0,42	
Углеводы				5	15	16,0	18
Натрий	2	1	6	5	13	2,0	
Калий	14	3	36	19	5	55,0	
Кальций	2		17	70	4	4,0	
Фосфор	25	6	71	38	9	17,0	
Железо	28	5	16	1	14	21,0	2
Витамин С				9		90,0	
Витамин В ₁	6	14	21	9	12	25,0	
Витамин В ₂	11	3	28	30	5	8,0	
Энергосодержание	10	10	10	10	10	10,0	10

Определение интегрального сора пищевых продуктов существенно расширяет информацию об их химическом составе. Исследование способствует количественной оценке преимуществ или недостатков отдельных продуктов питания.

2.1. Жиры

С точки зрения органической химии жирами называют сложные эфиры глицерина и жирных кислот – глицериды, а точнее – триглицериды (триацилглицерины), т. е. соединения глицерина с тремя молекулами жирных кислот.

Собственно жиры (триглицериды), жироподобные вещества (липоиды) и ряд других веществ нежировой природы объе-

диняют под общим названием липиды. В целом под липидами понимают сложную смесь органических веществ, выделяемых из объектов растительного, животного и микробиологического происхождения. Жиры являются самыми распространенными соединениями класса липидов.

На практике для обозначения липидов часто пользуются эквивалентным термином «жиры». В большинстве случаев в быту под термином «жиры» понимают группу пищевых продуктов: растительные масла, животные топленые жиры, маргарин, кондитерские, кулинарные, хлебопекарные жиры, сливочное масло.

Натуральные жиры делятся на животные (по большей части твердые при комнатной температуре) и растительные – масла, как правило, жидкие при комнатной температуре.

Липиды (от греч. *lipos* – жир) – это группа веществ, различных по химическому составу и структуре, общими свойствами которых являются гидрофобность (нерастворимость в воде) и способность растворяться в малополярных органических растворителях.

Состав липидов исключительно сложен и зависит от источника получения, его состояния, методов выделения и многих других факторов.

В составе простых липидов отсутствует азот, фосфор и сера. К простым липидам относятся нейтральные липиды, являющиеся производными высших кислот, одно-, двух- и многоатомных спиртов (ацилглицерины, эфиры диолов, воски, алкильные липиды, плазмалогены), а также их структурные компоненты (спирты, карбоновые кислоты). В состав сложных липидов входят фосфолипиды и сфинголипиды. Их элементный состав наряду с углеродом, водородом и кислородом включает фосфор, азот и в ряде случаев серу. Триглицериды составляют основную массу липидов (в отдельных случаях до 95–98%). Наряду с триглицеридами встречаются диольные липиды, содержащие сложные, простые и алкенильные эфиры, структурным компонентом которых является не глицерин, а двухатомные спирты (диолы) различного строения.

Свойства жиров зависят в основном от строения и состава жирных кислот. Всего в жирах обнаружено свыше четырехсот

карбоновых кислот различного строения. Наиболее распространенные в жирах кислоты содержат от 12 до 18 атомов углерода. Чаще всего они и называются жирными кислотами.

В состав пищевых жиров входят жирные кислоты с четным числом атомов углерода в углеводородной цепи, от 4 до 26 (табл. 3).

Таблица 3

**Основные карбоновые кислоты,
входящие в состав природных жиров и масел**

Кислота	Формула	Условное обозначение (символ)*
Насыщенные кислоты		
Лауриновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$	C^0_{12}
Миристиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$	C^0_{14}
Пальмитиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$	C^0_{16}
Стеариновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$	C^0_{18}
Арахидиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$	C^0_{20}
Ненасыщенные кислоты		
Олеиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	$\text{C}^1_{18-9-цис}$
Эруковая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{COOH}$	$\text{C}^1_{22-13-цис}$
Линолевая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	$\text{C}^2_{18-9-цис, 12-цис}$
Линоленовая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	$\text{C}^3_{18-9-цис, 12-цис, 15-цис}$
Арахидоновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_4-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$	$\text{C}^4_{20-5-цис, 8-цис, 11-цис, 14-цис}$
Оксикислоты		
Рициноленовая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	$\text{C}^1_{18-9-цис, 12-ол}$

Примечание. В символ * входит число атомов углерода и количество двойных связей между углеродными атомами в молекуле кислоты, номер первого ненасыщенного атома углерода, конфигурация.

Жирные кислоты делятся на две большие группы: насыщенные (предельные) и ненасыщенные (непредельные), содержащие двойные связи. Из насыщенных жирных кислот наиболее часто встречаются пальмитиновая ($\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$) и стеариновая ($\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$).

Насыщенные жирные кислоты преобладают в жирах животного происхождения, ненасыщенные – в растительных жирах, при этом первые из перечисленных уступают вторым по биологической значимости. Насыщенные жирные кислоты используются организмом как энергетический материал. Их избыток приводит к нарушению обмена жиров и повышению уровня холестерина в крови. Среди насыщенных наибольшее значение имеет пальмитиновая кислота. Она является первичным продуктом, образующимся под действием синтетазы жирных кислот, и источником для биосинтеза других насыщенных и мононенасыщенных кислот.

Свойства ненасыщенных жирных кислот зависят от степени ненасыщенности, т. е. количества двойных связей в молекуле. Мононенасыщенные жирные кислоты (например, олеиновая) имеют одну двойную связь, полиненасыщенные – от двух до шести двойных связей (линолевая, линоленовая, арахидоновая и др.). Ненасыщенные жирные кислоты составляют до 80–90% жидких жиров (масел) и жиров гидробионтов (организмов, живущих в воде). Важнейшее значение для организма человека имеют такие полиненасыщенные жирные кислоты, как линолевая (2 двойные связи), линоленовая (3 двойные связи) и арахидоновая (4 двойные связи). Они входят в состав структурных элементов клеток и тканей, обеспечивают нормальный рост и обмен веществ, эластичность сосудов.

Полиненасыщенные жирные кислоты не могут синтезироваться в организме человека и поэтому являются для него незаменимыми.

В целом полиненасыщенные жирные кислоты влияют на обмен холестерина, стимулируют его окисление и выведение из организма; повышают эластичность кровеносных сосудов, активизируют ферменты желудочно-кишечного тракта, стимулируют защитные механизмы. Потребность организма в полиненасыщенных жирных кислотах составляет 16–24 г/сут, что должно обеспечивать 4–6% общей калорийности пищи. В частности, потребность организма в линолевой кислоте составляет – 10 г/сут, минимально 2–6 г/сут. В пищевых жирах полиненасыщенные жирные кислоты содержатся в следующих количествах: рыбий жир и растительные масла (до 60–

70%); свиной и птичий жиры (до 50%); бараний и говяжий жиры (не более 5–6%).

Жиры в организме человека играют важную роль:

- являются поставщиками энергии – окисление 1 г жира в организме дает 38,9 кДж (9 ккал), в то время как окисление 1 г белка или углеводов – только 17,2 кДж (4 ккал);

- выполняют структурно-пластическую функцию – входят в состав мембран и внутриклеточных образований;

- способствуют нормальному обмену веществ как носители жирорастворимых витаминов А, D, К и Е;

- выполняют защитную функцию – создают термоизоляционные и водоотталкивающие покровы в организме; находясь в соединительных тканях организма, предохраняют его от механических повреждений;

- являются смазочным материалом кожи;

- выполняют функцию регуляторов жизнедеятельности – оказывают влияние на проницаемость клеток, активность многих ферментов, участвуют в создании межклеточных контактов, мышечном сокращении и иммунохимических процессах.

Методы контроля липидов. Анализ липидов и продуктов их превращений является сложной задачей, требующей применения, наряду с классическими методами, современных физико-химических методов исследования (хроматографии, спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и т. д.).

Изучение липидов начинается с определения их количества (содержания) в пищевых продуктах. К сожалению, в отличие от белков нет простой методики определения общего жира во всех видах продуктов. Однако для отдельных групп продуктов разработаны относительно точные и простые методики анализа. Для этого используются методы определения содержания липидов непосредственно в объекте (ЯМР-, ИК-спектроскопия) и методы, основанные на извлечении липидов из пищевого продукта (свободные, связанные, прочно-связанные липиды). Свободные липиды экстрагируются из анализируемого продукта неполярными растворителями (гексаном, диэтиловым эфиром), связанные – системами растворителей, содержащими, как правило, спирт (смесь хлороформа и метанола, взятых в объемном соотношении 2 : 1).

Прочносвязанные липиды получают из обработанного щелочами и кислотами шрота, оставшегося после выделения связанных липидов. Основные требования, предъявляемые к методам выделения, – полнота выделения и сохранение нативности выделенных липидов.

Химический состав липидов, выделенных из пищевого сырья и продуктов, исследуется различными методами.

Особое место среди современных методов контроля качества жиров занимают хроматографические методы. Этими методами контролируется большая часть пищевой продукции. Одним из наиболее информативных методов идентификации жиров является хромато-масс-спектрометрия, с помощью которой можно идентифицировать строение всех жирных кислот. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, совмещенный с ядерно-магнитно-резонансной спектрометрией (ВЭЖХ ЯМР), используется в первую очередь в научных целях при изучении липидного состава нетрадиционного сырья.

В ближайшей перспективе относительно недорогим и чрезвычайно селективным методом определения жирнокислотного, углеводного и аминокислотного составов может стать новейший метод, примыкающий к хроматографическим по ряду признаков, – капиллярный электрофорез.

В практике пищевой промышленности состав и качество жиров и масел оценивают с помощью разнообразных аналитических чисел, которые характеризуют то или иное усредненное свойство жира. Под ними подразумевают расход определенных реагентов на реакцию с жиром. К ним относятся следующие числа: кислотное, омыления, эфирное, йодное, родановое, Рейхерта – Мейссля, Поленске, Генера и др. Наибольшее значение имеют числа: кислотное, омыления, йодное.

Кислотное число ($Ч_k$) – количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 грамме жира.

Число омыления ($Ч_o$) – количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для омыления триглицеридов (связанных жирных кислот) и свободных жирных кислот, входящих в состав 1 г исследуемого жира.

Эфирное число ($Ч_э$) – количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для омыления триглицеридов, содержащихся в 1 г жира.

Йодное число ($Ч_й$) показывает количество граммов йода, эквивалентное галогену, присоединившемуся по месту двойных связей к 100 г исследуемого жира, и выражается в процентах йода.

Родановое число ($Ч_р$) – количество граммов йода, выраженное в процентах йода, эквивалентное родану, присоединившемуся по месту двойных связей к 100 г исследуемого жира.

Число Рейхарта – Мейссля ($Ч_{р-м}$) показывает содержание в 5 г жира низкомолекулярных жирных кислот (масляной и капроновой), которые растворяются в воде и испаряются при нагревании.

Число Паленске ($Ч_{пол}$) характеризует наличие в 5 г жира низкомолекулярных летучих нерастворимых в воде жирных кислот (каприловой, каприновой и частично лауриновой).

Число Генера ($Ч_г$) показывает количество граммов нелетучих и нерастворимых в воде жирных кислот вместе с неомыляемыми липидами, содержащимися в 100 г жира, и выражается в процентах.

Лабораторная работа № 1 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЖИРА

Цель работы: освоить методики определения содержания жира в пищевых продуктах; определить массовую долю жира в хлебобулочных изделиях экстракционным и рефрактометрическим методом.

1. Общие сведения

Для отдельных видов продукции разработаны методики определения количества липидов, которые учитывают особенности объектов исследования: влажность, структуру, химический состав, прочность взаимодействия липидов с другими составными компонентами и др.

Они основаны на извлечении липидов из пищевого продукта или растворов различными растворителями. В качестве

растворителей для определения липидов в зерне и зернобобовой продукции используют гексан или диэтиловый эфир, в молоке, сычужных и плавленых сырах – диэтиловый и петролейный эфир, в мясе и продуктах их переработки – этанол и хлороформ. Затем растворитель удаляют и определяют содержание жира по массе высушенного остатка.

Для установления массовой доли жира в хлебобулочных, бараночных и сухарных изделиях применяются три метода:

А) экстракционный метод с предварительным гидролизом навески;

Б) рефрактометрический;

В) бутирометрический.

Экстракционный метод основан на извлечении жира из предварительно гидролизованной навески продукта растворителем и определении количества жира взвешиванием после удаления растворителя из определенного объема полученного раствора.

Бутирометрический метод основан на растворении исследуемой навески продукта в 60%-ной серной кислоте и отделении слоя жира в молочном бутирометре центрифугированием в присутствии изоамилового спирта, который образует с серной кислотой изоамилово-серный эфир, уменьшающий величину поверхностного натяжения жировых шариков и способствующий слипанию их в единый жировой слой.

При использовании рефрактометрического метода жир извлекается из навески изделия – α -бромнафталином или α -хлорнафталином. Массовую долю жира в продукте определяют по разности коэффициентов преломления растворителя и раствора жира в растворителе.

Рефрактометрический метод анализа основан на зависимости угла или показателя преломления света от состава системы, так как каждая система отличается определенной оптической плотностью. Рефрактометрия основана на измерении относительных показателей преломления веществ.

Относительным показателем преломления n называют отношение скорости света в воздухе C_B и в данной среде C_C т. е:

$$n = \frac{C_{\text{в}}}{C_{\text{с}}}.$$

При прохождении через какую-либо среду свет как электромагнитное излучение взаимодействует с молекулами и атомами веществ и изменяет свою скорость.

Показатель преломления отличается для лучей света разной длины волны; его изменения, названные дисперсией, связаны со строением, составом вещества среды. Кроме того, показатель преломления зависит от природы, плотности и концентрации веществ, типа растворителя, температуры и других факторов.

Если луч света проходит из среды I под углом α_1 (угол падения), то в более плотной среде II он будет проходить под меньшим углом β_1 (угол преломления).

Каждая «среда» имеет постоянный показатель преломления, и, следовательно, отношение «синусов углов» также является постоянной величиной.

Преломление светового луча на границе любых двух сред характеризуется равенством

$$\frac{n_1}{n_2} = \frac{\sin\beta_2}{\sin\beta_1}.$$

В рефрактометрах для измерения показателя преломления в качестве сред используют раствор вещества и стекло. Известен показатель преломления n_2 . Луч света, проходя через границу раздела раствор – стекло, преломляется. Задав угол падения луча в растворе равным 90° ($\sin\beta_1 = 1$), получим уравнение, позволяющее измерять показатель преломления раствора по значению предельного угла преломления в стекле β_2 :

$$n_1 = n_2 \cdot \sin\beta_2.$$

Показатель преломления при прочих постоянных условиях связан прямой пропорциональной зависимостью с концентрацией в растворе, и его измерение широко используется в количественном анализе.

Для определения содержания жира могут быть использованы рефрактометры различной конструкции. На рис. 2 представлен внешний вид рефрактометра ИРФ-464.

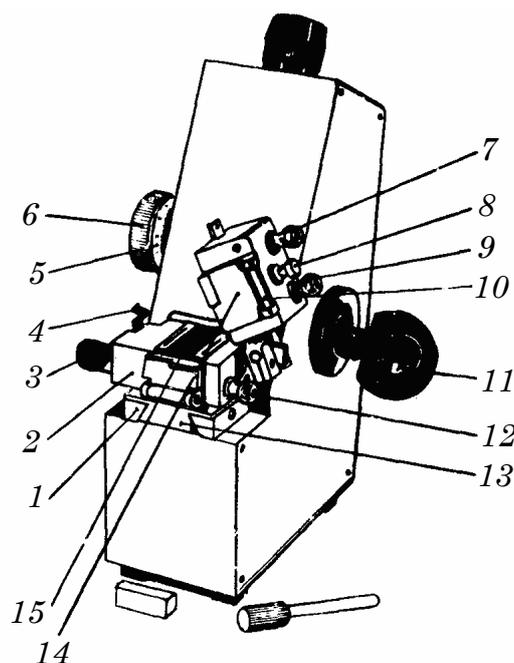


Рис. 2. Рефрактометр ИРФ 464:

- 1 – направляющая;
- 2 – блок рефрактометрический;
- 3 – штангенциркуль; 4 – крючок; 5 – шкала;
- 6 – нониус; 7 – штангенциркуль; 8 – рукоятка;
- 9 – штангенциркуль; 10 – шарнир; 11 – зеркало;
- 12 – штангенциркуль; 13 – направляющая;
- 14 – заслонка; 15 – зеркало

2. Экстракционный метод с предварительным гидролизом навески

Средства испытаний: весы лабораторные 4-го класса точности с пределом взвешивания 500 г; весы лабораторные 2-го класса точности с пределом взвешивания 200 г; хлороформ или дихлорэтан; раствор аммиака; соляная кислота, раствор с 10 и 5%-ной концентрацией; фенолфталеин; центрифуга; посуда мерная стеклянная.

Подготовка к испытанию. Из лабораторного образца, отобранного для общего анализа, выделяют для определения жира не менее 300 г продукта. Для анализа используют мякиш изделий. Если мякиш не отделяется от корки, то анализируют весь образец.

В баранках, сухарях и т. п. анализируют весь образец с коркой.

Из изделий удаляют все включения (повидло, варенье, изюм и пр.) и поверхностную отделку (обсыпку сахаром, маком и т. д.), тщательно измельчают и перемешивают.

Проведение испытания. Навеску продукта массой 10 г (при массовой доле жира в изделиях свыше 10% навеска может быть уменьшена до 5 г), взвешенную с погрешностью не более $\pm 0,05$ г, помещают в плоскодонную колбу вместимостью 300 см³, приливают 100 см³ 1,5%-ной соляной кислоты (или 10 см³ 5%-ной серной кислоты), кипятят в колбе с обратным холодильником на слабом огне 30 мин. Затем колбу охлаждают водой до комнатной температуры, приливают в колбу 50 см³ хлороформа, плотно закрывают пробкой, энергично взбалтывают в течение 15 мин, затем выливают содержимое в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 2–3 мин при 3000 об/мин.

В пробирке образуются три слоя. Пипеткой, снабженной резиновой грушей, отбирают хлороформенный раствор жира и фильтруют его в сухую колбу через небольшой ватный тампон, вложенный в узкую часть воронки.

Фильтрат 20 см³ помещают в предварительно доведенную до постоянной массы и взвешенную на аналитических весах колбу вместимостью 100 см³. Отбор и фильтрация должны производиться в течение 2 мин.

Хлороформ из колбы отгоняют на горячей водяной бане, пользуясь холодильником. Оставшийся в колбе жир сушат до постоянной массы (обычно 1–1,5 ч) при температуре 100–105°C, охлаждают в эксикаторе в течение 20 мин и взвешивают колбу на аналитических весах.

Можно применять следующий способ расслаивания. После гидролиза в охлажденную колбу добавляют 5 см³ раствора аммиака, 50 см³ хлороформа, затем содержимое колбы взбалтывают в течение 15 мин и оставляют на 1 ч для отстаивания. За это время полностью отделяется и четко виден нижний хлороформный слой.

Если расслаивания не произойдет, добавляют еще 2–3 см³ аммиака, следя за тем, чтобы реакция по фенолфталеину оставалась кислой.

После расслаивания отбор, фильтрацию, отгон хлороформного слоя и высушивание жира ведут аналогично опи-

санному выше. Отгон и фильтрацию растворителя проводят под вытяжкой.

Обработка результатов. Массовую долю жира (X), %, в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100 \cdot 50}{20 \cdot m_2} \cdot \frac{100}{100 - W},$$

где m – масса колбы с высушенным жиром, г; m_1 – масса пустой колбы, г; 50 – объем хлороформа, взятого для растворения жира, см³; m_2 – масса навески исследуемого изделия, г; 20 – объем хлороформного раствора жира, взятого для отгона, см³; W – массовая доля влаги в испытуемом изделии, %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 0,5% при проведении измерений в одной лаборатории и 1% – в разных. Вычисления проводят с точностью до 0,1%.

3. Рефрактометрический метод

Средства испытаний: рефрактометр с погрешностью определения показателя преломления $\pm 1 \cdot 10^{-4}$; весы лабораторные 4-го класса точности; весы лабораторные 2-го класса точности; посуда мерная стеклянная.

Подготовка к испытаниям. *Определение коэффициента преломления растворителей.* Определяют коэффициент преломления α -бромнафталина или α -хлорнафталина при температуре 20°C, нанося 1–2 капли этих растворителей на призму рефрактометра.

Определение плотности растворителей. Плотность растворителей (ρ , г/см³ при 20°C) определяют пикнометром (см. лабораторную работу № 20) и вычисляют по формуле

$$\rho = \frac{m}{Q},$$

где m – масса растворителя, г; Q – водное число пикнометра, г.

Взвешивание проводят с погрешностью не более $\pm 0,0002$ г. Расхождение между параллельными взвешиваниями должно быть не более $\pm 0,0005$ г.

Калибровка пипеток. Осуществляют по растворителю, отмеривая ими соответствующий объем растворителя и взвешивая его в стаканчике с погрешностью не более $\pm 0,0002$ г. Расхождение между параллельными взвешиваниями должно быть не более $\pm 0,0005$ г.

Из трех взвешиваний берут среднее арифметическое и вычисляют объем пипетки V , см^3 , по формуле

$$V = \frac{m}{\rho},$$

где m – масса растворителя, соответствующая объему взятой пипетки, г; ρ – плотность растворителя при температуре 20°C .

Проведение испытаний. При анализе хлебобулочных изделий взвешивают 2 г изделий с точностью до $\pm 0,05$ г и помещают в фарфоровую ступку. Затем калиброванной пипеткой приливают 4 см^3 растворителя. Содержимое ступки энергично растирают в течение 3 мин. Смесь переносят из ступки на маленький складчатый фильтр. Первые 2–3 капли фильтрата отбрасывают, а последующий фильтрат в количестве 2–3 капель помещают на призму рефрактометра и определяют коэффициент преломления.

Определение коэффициента преломления проводят при $20 \pm 0,2^\circ\text{C}$ или любой комнатной температуре. В последнем случае показатель преломления раствора приводят к температуре 20°C путем внесения поправки по табл. 4.

Таблица 4

Температурные поправки при определении показателей преломления раствора жира в α -бромнафталине

$T, ^\circ\text{C}$	По- правка	$T, ^\circ\text{C}$	По- правка	$T, ^\circ\text{C}$	По- правка	$T, ^\circ\text{C}$	По- правка	$T, ^\circ\text{C}$	По- правка
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Отнять от показателя преломления									
15,0	0,0022	16,0	0,0018	17,0	0,0013	18,0	0,0009	19,0	0,0004
,1	0,0022	,1	0,0017	,1	0,0013	,1	0,0008	,1	0,0004
,2	0,0021	,2	0,0017	,2	0,0012	,2	0,0008	,2	0,0004
,3	0,0021	,3	0,0016	,3	0,0012	,3	0,0007	,3	0,0003
,4	0,0020	,4	0,0016	,4	0,0011	,4	0,0007	,4	0,0003

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
,5	0,0020	,5	0,0016	,5	0,0011	,5	0,0007	,5	0,0002
,6	0,0019	,6	0,0015	,6	0,0011	,6	0,0006	,6	0,0002
,7	0,0019	,7	0,0015	,7	0,0010	,7	0,0006	,7	0,0001
,8	0,0018	,8	0,0014	,8	0,0010	,8	0,0005	,8	0,0001
,9	0,0018	,9	0,0014	,9	0,0009	,9	0,0005	,9	0,0000
Прибавить к показателю преломления									
20,0	0,0000	22,0	0,0009	24,0	0,0018	26,0	0,0026	28,0	0,0035
,1	0,0000	,1	0,0009	,1	0,0018	,1	0,0027	,1	0,0036
,2	0,0001	,2	0,0010	,2	0,0018	,2	0,0027	,2	0,0036
,3	0,0001	,3	0,0010	,3	0,0019	,3	0,0028	,3	0,0037
,4	0,0002	,4	0,0011	,4	0,0019	,4	0,0028	,4	0,0037
,5	0,0002	,5	0,0011	,5	0,0020	,5	0,0029	,5	0,0037
,6	0,0003	,6	0,0011	,6	0,0020	,6	0,0029	,6	0,0038
,7	0,0003	,7	0,0012	,7	0,0021	,7	0,0029	,7	0,0038
,8	0,0004	,8	0,0012	,8	0,0021	,8	0,0030	,8	0,0039
,9	0,0004	,9	0,0013	,9	0,0022	,9	0,0030	,9	0,0039
21,0	0,0004	23,0	0,0013	25,0	0,0022	27,0	0,0031	29,0	0,0040
,1	0,0004	,1	0,0014	,1	0,0022	,1	0,0031	,1	0,0040
,2	0,0005	,2	0,0014	,2	0,0023	,2	0,0032	,2	0,0040
,3	0,0006	,3	0,0015	,3	0,0023	,3	0,0032	,3	0,0041
,4	0,0006	,4	0,0015	,4	0,0024	,4	0,0033	,4	0,0041
,5	0,0007	,5	0,0015	,5	0,0024	,5	0,0033	,5	0,0042
,6	0,0007	,6	0,0016	,6	0,0025	,6	0,0033	,6	0,0042
,7	0,0007	,7	0,0016	,7	0,0025	,7	0,0034	,7	0,0043
,8	0,0008	,8	0,0017	,8	0,0026	,8	0,0034	,8	0,0043
,9	0,0008	,9	0,0017	,9	0,0026	,9	0,0035	,9	0,0044

Отсчет показателя преломления раствора жира можно также производить при любой комнатной температуре без учета поправки на температуру при условии одновременного определения показателя преломления растворителя при той же температуре.

Обработка результатов. Массовую долю жира X , %, в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле

$$X = \frac{V_p \cdot \sigma_{ж}}{m} \left(\frac{\Pi_p - \Pi_{рж}}{\Pi_{рж} - \Pi_{ж}} \right) \cdot 100 \frac{100}{100 - W},$$

где V_p – объем растворителя, взятого для извлечения жира, см³; $\sigma_{ж}$ – относительная плотность жира при 20°С; Π_p – коэффициент преломления растворителя; $\Pi_{рж}$ – коэффициент преломления раствора жира в растворителе; $\Pi_{ж}$ – коэффициент преломления жира; m – масса изделия, г; W – влажность изделия, %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допустимое расхождение между которыми не должно превышать $\pm 0,5\%$. Вычисления проводят с точностью до $\pm 0,1\%$.

Лабораторная работа № 2 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА** **МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Цель работы: освоить методики определения жирнокислотного состава; определить жирнокислотный состав растительного масла методом газовой хроматографии.

Средства испытаний: хроматограф газовый лабораторный с пламенно-ионизационным детектором и программированием температуры; колонка газохроматографическая из нержавеющей стали или стеклянная длиной 1,5–2 м, внутренним диаметром 2–4 мм; микрошприц МШ-10 вместимостью 10 мм³ или «Газохром 101» вместимостью 1 мм³; секундомер; весы лабораторные с наибольшим пределом взвешивания 1000 г; перегонный аппарат; наполнители для колонок: хроматом N-AW или наполнитель аналогичного качества; водород технический; газы-носители: азот газообразный, гелий сжатый, аргон газообразный; гексан для хроматографии, посуда мерная стеклянная.

1. Общие сведения

Жирнокислотный состав продукта определяется в основном методом хроматографии. Для определения жирнокислотного состава растительного масла методом газовой хроматографии действует ГОСТ 30418–96, который распространяется на растительные масла и устанавливает метод определения массовых долей жирных кислот к их общему содержанию в триглицеридах масел.

Метод основан на превращении триглицеридов жирных кислот в метиловые (этиловые) эфиры жирных кислот и газохроматографическом анализе последних. Метод применим в диапазоне массовых долей жирных кислот 0,1–100%.

Отличительной чертой *хроматографического разделения* и анализа смесей является распределение отдельных компонентов между двумя фазами – неподвижной и подвижной (элюент), протекающей через неподвижную.

Неподвижной (стационарной) фазой служит твердое вещество (сорбент), пленка жидкости, нанесенная на твердое вещество (носитель), гелеобразное вещество, вещество, способное к реакциям ионного обмена или обмена другого типа. Подвижная фаза представляет собой жидкость или газ, протекающий через неподвижную фазу.

Как правило, наиболее эффективен в хроматографии так называемый элюентный анализ. Суть его в том, что, например, через колонку, заполненную сорбентом (поглотителем), непрерывно пропускают элюент – газ или жидкость. Подвижная фаза служит в этом случае только для перемещения растворенного вещества анализируемой смеси, а разделение происходит благодаря различному сродству определяемых компонентов к неподвижной фазе. При однократном введении пробы компоненты начинают перемещаться через колонку с различными скоростями, образуя отдельные зоны сорбции. Выходная кривая (хроматограмма) будет представлять собой ряд отдельных «пиков». Количество пиков равно числу компонентов, если достигается их полное разделение, при этом время выхода отдельного компонента из колонки («время удерживания») может быть качественной характеристикой вещества, а площадь под пиком – его количественной характеристикой.

При разделении и анализе веществ наибольшее распространение получили методы газовой, жидкостной, молекулярно-ситовой, бумажной, тонкослойной и ионообменной хроматографии.

Газовая хроматография (газоадсорбционная хроматография) – это вариант хроматографии, в которой разделение производится с помощью подвижной газовой фазы, проходящей вместе с анализируемой смесью через твердый сорбент.

В качестве сорбента используют силикагели, алюмогели, молекулярные сита, пористые полимеры и другие сорбенты, а в качестве газа-носителя (элюента) – гелий, аргон или азот.

Принципиальная схема газового хроматографа представлена на рис. 3.

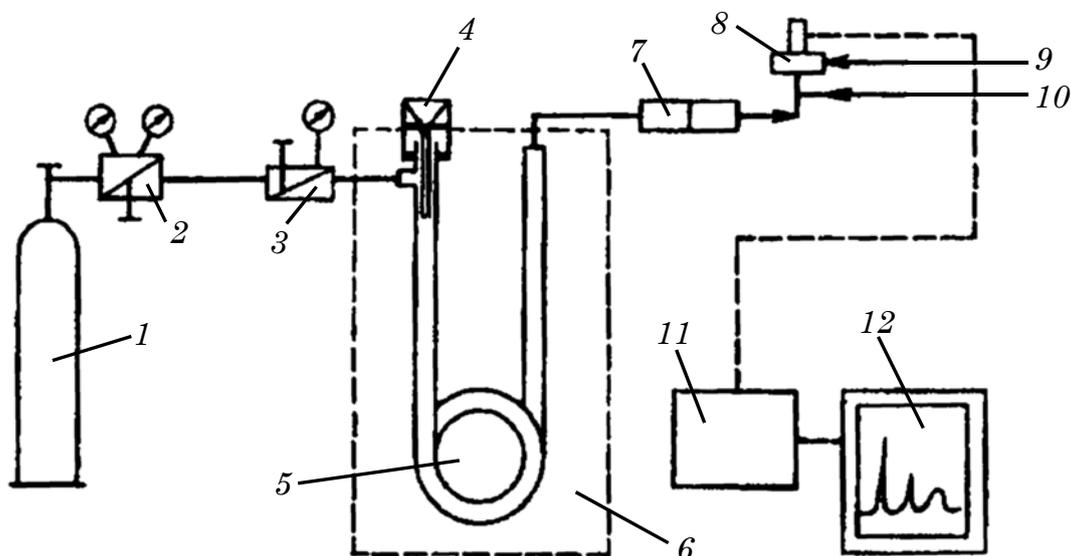


Рис. 3. Схема газового хроматографа:

- 1 – баллон с газом-носителем;
- 2 – игольчатый вентиль баллона;
- 3 – регулятор потока газа-носителя (дроссель);
- 4 – дозирующее устройство (блок ввода пробы);
- 5 – колонка; 6 – термостат; 7 – ротаметр;
- 8 – детектор (пламенно-ионизационный);
- 9, 10 – система для подачи газов в детектор;
- 11 – электронный блок обработки сигнала (интегратор);
- 12 – самописец

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. *Приготовление абсолютного метанола.* В колбу вместимостью 500 см³ взвешивают (30±1) г оксида кальция, добавляют 250 см³ метанола и кипятят с холодильником типа ХШ (обратным) в течение 6–8 ч. Затем метанол перегоняют в перегонном аппарате при температуре 64,7°С.

Приготовление абсолютного этилового спирта. В колбу вместимостью 500 см³ взвешивают (30±1) г оксида кальция, до-

бавляют 250 см³ этилового спирта и кипятят с холодильником типа XIII (обратным) в течение 6–8 ч. Затем этиловый спирт перегоняют в перегонном аппарате при температуре 78,3°С.

Приготовление раствора метилата натрия в метаноле (этилата натрия в этаноле) концентрацией 2 моль/дм³. Взвешивают 2,7 г метилата натрия (3,4 г этилата натрия) или 1,15 г металлического натрия в стаканчик для взвешивания. Результат записывают в граммах до второго десятичного знака.

В мерную колбу вместимостью 25 см³ наливают 10–12 см³ абсолютного метанола (абсолютного этанола), в него высыплют навеску метилата натрия или бросают маленькими кусочками натрий. После перемешивания (растворения) раствор охлаждают до комнатной температуры и доливают абсолютным метанолом (абсолютным этанолом) до метки. Хранят раствор в холодильнике.

Приготовление метиловых (этиловых) эфиров кислот. Пробу испытуемого масла хорошо перемешивают. В стеклянную пробирку берут пипеткой 2–3 капли масла, растворяют их в 1,9 см³ гексана. В раствор вводят 0,1 см³ раствора метилата натрия в метаноле (этилата натрия в этаноле) концентрации 2 моль/дм³. После интенсивного перемешивания в течение 2 мин реакцию смесь отстаивают 5 мин и фильтруют через бумажный фильтр. Раствор готов для анализа. Готовый раствор хранят в холодильнике не более 2 сут.

Подготовка хроматографа к измерению. Подключение хроматографа к сети, подготовку и установку колонок и вывод прибора на режим выполняют согласно инструкции по эксплуатации.

Проведение испытаний. На хроматографе устанавливают следующие условия анализа масел, не содержащих низкомолекулярных кислот (кроме масел типа кокосового):

температура термостата колонок – 180–190°С;

температура испарителя – 250°С;

температура печи детекторов – 200°С;

скорость потока газа-носителя (азот, аргон, гелий) – 30–40 см³/мин;

объем пробы – около 1 мм³ раствора метиловых (этиловых) эфиров кислот в гексане.

Время выхода метилолеата не более 15 мин.

Относительные объемы удерживания метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот ($V_{r_{отн}}$), определяющие порядок выхода их из хроматографической колонки, а также обозначения жирных кислот, входящих в состав образующихся метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот растительных масел, приведены в табл. 5.

Таблица 5

**Относительные объемы удерживания
метиловых (этиловых) эфиров**

Метиловые (этиловые) эфиры кислот	$V_{r_{отн}}$
C _{14:0} Тетрадекановая (миристиновая)	0,3
C _{15:0} Пентадекановая	0,4
C _{16:0} Гексадекановая (пальмитиновая)	0,5
C _{16:1} Гексадеценная (пальметинолеиновая)	0,6
C _{17:0} Гептадекановая (миристиновая)	0,7
C _{17:1} Тетрадекановая (маргаринная)	0,8
C _{18:0} Октадекановая (стеариновая)	1,0
C _{18:1} Тетрадекановая (миристиновая)	0,3
C _{18:2} Октадекадиеновая (линолевая)	1,3–1,4
C _{18:3} Октадекатриеновая (линоленовая)	1,7–1,8
C _{20:0} Эйкозановая (арахиновая)	1,9
C _{20:1} Эйкозеновая (гондоиновая)	2,1
C _{20:2} Эйкозациеновая	2,5–2,6
C _{22:0} Докозановая (бегеновая)	3,6
C _{22:1} Докозисивная (эруковая)	3,9
C _{22:2} Докозациеновая	4,8
C _{24:0} Тетракозановая (лигноцеринная)	7,2
C _{24:1} Тетракозеновая (нервоновая)	7,7

На хроматофафе устанавливают следующие условия анализа масел, содержащих низкомолекулярные жирные кислоты (C₆–C₁₂) типа кокосового масла:

температура термостата колонок программируется от 100 до 185°C со скоростью 6–8°C/мин, затем изотермический анализ при 185°C;

температура испарителя – 250°C;

температура печи детекторов – 200°C;

скорость потока газа-носителя (азот, аргон, гелий) – 30–50 см³/мин;

объем пробы – около 1 мм³ раствора метиловых (этиловых) эфиров кислот в гексане.

Время выхода метилолеата 20–25 мин.

Порядок выхода метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот:

C_{6:0} Гексановая (капроновая);

C_{8:0} Октановая (каприловая);

C_{10:0} Декановая (каприновая);

C_{12:0} Додекановая (лауриновая);

C_{14:0} Тетрадекановая (миристиновая);

C_{16:0} Гексадекановая (пальмитиновая);

C_{18:0} Октадекановая (стеариновая);

C_{18:1} Октадеценовая (олеиновая);

C_{18:2} Октадекадиеновая (линолевая);

C_{18:3} Октадекатриеновая (линоленовая);

C_{20:0} Эйкозановая (арахиновая);

C_{20:1} Эйкозеновая (гондоиновая);

C_{20:2} Докозановая (бегеновая).

Обработка результатов. Расчет состава метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот масла проводят методом внутренней нормализации.

Площадь пика компонента S_i , мм², вычисляют по формуле

$$S_i = h_i \cdot a_i,$$

где h_i – высота пика, мм; a_i – ширина, измеренная на половине высоты, мм.

Результат измерения высоты пика записывают в целых числах, ширину пика записывают до первого десятичного знака. Сумму площадей всех пиков на хроматограмме $\sum S_i$ принимают за 100%.

Массовую долю каждой кислоты масла X_i , %, вычисляют по формуле

$$X_i = \frac{S_i \cdot 100}{\sum S_i},$$

где S_i – площадь пика метилового (этилового) эфира, мм²; $\sum S_i$ – сумма площадей всех пиков на хроматограмме, мм².

Вычисление проводят до второго десятичного знака с последующим округлением результата до первого десятичного знака.

За окончательный результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух последовательных измерений.

Для расчета хроматограмм можно использовать интегрирующее устройство.

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности 0,95 приведены в табл.6.

Таблица 6

Метрологические характеристики

Значение измеряемой величины, %	Модуль границ относительной погрешности измерения, %	Допускаемое относительное расхождение между результатами последовательных определений, %, к среднему значению показателя
Свыше 1 до 5 включ.	11	15
Свыше 5 до 20 включ.	8	11
Свыше 20 до 70 включ.	5	7

**Лабораторная работа № 3
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОГО ЧИСЛА
РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА**

Цель работы: определить кислотное число растительных масел титрометрическим методом с визуальной и потенциометрической индикацией.

Средства испытаний: весы лабораторные 4-го класса точности с пределом взвешивания 500 г; весы лабораторные 2-го класса точности с пределом взвешивания 200 г; спиртовой раствор гидроксида калия концентрацией 0,5 моль/л; соляная кислота, раствор концентрацией 0,5 моль/л; фенолфталеин; тимолфталеин.

1. Общие сведения

Кислотное число характеризует количество свободных жирных кислот в жире. Кислотное число ($Ч_K$) определяет количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся

в 1 г жира. Кислотное число масел и жиров является одним из качественных показателей, который нормируется ТНПА. Кислотное число зависит от качества сырья, способа получения масла или жира, условий их хранения и других факторов. Значение кислотного числа характеризует товарный сорт и доброкачественность пищевых жиров. При несоблюдении условий и сроков хранения жиров кислотное число увеличивается, что связано в основном с гидролизом триглицеридов.

Для определения количественного содержания в жире свободных жирных кислот используют показатель – число нейтрализации ($Ч_n$). Число нейтрализации показывает количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для нейтрализации 1 г жирных кислот. Следовательно, число нейтрализации соответствует 100%-ному содержанию свободных жирных кислот, на основании чего можно определить их содержание:

$$X = 100 \cdot \frac{Ч_k}{Ч_n},$$

где X – содержание свободных жирных кислот в жире, %; $Ч_k$ – кислотное число масла, мг КОН/г; $Ч_n$ – число нейтрализации жирных кислот, мг КОН/г.

Число нейтрализации индивидуальных жирных кислот – величина постоянная. Для наиболее распространенных растительных масел (подсолнечное, рапсовое, соевое), числа нейтрализации смеси кислот, входящих в их состав, практически можно считать одинаковыми и близкими к числу нейтрализации олеиновой кислоты – 198,75 мг КОН/г. Поэтому содержание свободных жирных кислот в процентах (кислотность) в этих маслах в условном пересчете на олеиновую кислоту рассчитывают по формуле

$$X = 100 \cdot \frac{Ч_k}{198,75} = 0,503 \cdot Ч_k,$$

или округленно $X = 0,5 \cdot Ч_k$.

Если пересчет ведут не на олеиновую кислоту, а на какую-либо другую, характерную для данного жира, то вводят другой коэффициент. В табл. 7 представлены коэффициенты пересчета для некоторых жиров и масел.

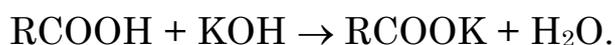
**Коэффициенты пересчета
кислотного числа Ч_k жира на процентное содержание
свободных жирных кислот (кислотность, %)**

Наименование масла	Коэффициент пересчета	Кислота, на которую производится расчет	Молекулярная масса жирной кислоты
Кокосовое, пальмо-ядровое	0,346	лауриновая	200
Пальмовое	0,456	пальмитиновая	256
Подсолнечное, оливковое, соевое, безэруковое рапсовое и др.	0,503	олеиновая	282
Касторовое	0,530	рицинолевая	298
Рапсовое, горчичное (технические сорта с эруковой кислотой)	0,602	эруковая	338

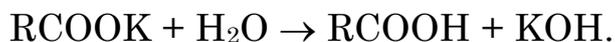
При определении кислотного числа нерафинированных масел, содержащих кроме свободных жирных кислот другие продукты кислого характера, например фосфолипиды, результат будет несколько выше, так как гидроксид калия дополнительно расходуется на взаимодействие с этими соединениями.

Методики определения кислотного числа масел и жиров стандартизированы и предусматривают использование различных методов определения в зависимости от степени очистки и цветности продуктов: индикаторный, солевой и потенциометрический.

Индикаторный метод определения кислотного числа используется для светлых масел. Метод основан на титровании пробы жира раствором гидроксида калия в присутствии индикатора фенолфталеина. В качестве растворителя для жира применяют смесь этанола с диэтиловым эфиром. Введение спирта при определении кислотного числа обусловлено необходимостью обеспечить растворимость образующихся солей высших карбоновых кислот (мыла) в реакционной среде, которые образуются по реакции



При отсутствии спирта мыло не растворяется ни в диэтиловом эфире, ни в бензоле и выпадает в осадок, что затрудняет правильное определение конца реакции; кроме этого, в более полярной спиртосодержащей среде подавляется реакция гидролиза мыла



Определение кислотного числа масел потенциометрическим методом основано на измерении при титровании свободных жирных кислот пробы масла, растворенной в нейтральной смеси растворителей, раствором гидроксида калия при эквивалентной точке в интервале рН от 11 до 13.

Потенциометрический метод основан на измерении потенциалов электродов, погруженных в исследуемый раствор. Экспериментально измеряют разность потенциалов (ЭДС).

В потенциометрии обычно применяют гальванический элемент, включающий два электрода: индикаторный (потенциал которого зависит от активности (концентрации) определенных ионов в растворе) и сравнения (потенциал которого не зависит от концентрации определяемых ионов).

Потенциометрия широко применяется для непосредственного определения активности ионов, находящихся в растворе (ионометрия), а также для индикации точки эквивалентности при титровании по изменению потенциала индикаторного электрода в ходе титрования (потенциометрическое титрование).

В потенциометрии используют два основных класса индикаторных электродов: электронно- и ионообменные (ионоселективные).

Электронно-обменные электроды, на межфазных границах которых протекают реакции с участием электронов, изготавливают из инертных металлов (платины, золота).

Ионообменные (ионоселективные) электроды, на межфазных границах которых протекают ионообменные реакции, содержат чувствительный элемент – мембрану, разделяющую внутренние раствор и электрод и одновременно служащую средством электролитического контакта с внешним (исследуемым) раствором. Мембрана обладает ионообменными

свойствами. В зависимости от типа мембраны электроды бывают стеклянные, с твердой, жидкой, пленочной и другими мембранами.

Электрод сравнения – полуэлемент, потенциал которого известен, постоянен и не зависит от состава исследуемого раствора. Наиболее распространен хлорсеребряный электрод сравнения ($\text{Ag, AgCl} | \text{KCl}$), который изготавливают путем нанесения хлорида серебра на серебряную проволоку.

Чаще всего используют хлорсеребряные электроды марок ЭВЛ-1МЗ и ЭВЛ-1М1. Кроме хлорсеребряного электрода в качестве электродов сравнения применяют каломельный и талламидный электроды.

Устройства, применяемые для измерения потенциала – потенциометры (рН-метр, иономер), состоят из двух блоков: измерительного (высокоомный преобразователь) и датчика (электродная система), и могут отличаться друг от друга конструкцией как измерительного блока, так и датчика.

Электродная система может быть выполнена конструктивно в виде двух отдельных электродов (индикаторного и электрода сравнения) или в виде комбинированного электрода, где оба электрода объединены в одном корпусе. Комбинированные электроды называют комбинированными ионоселективными датчиками (КИД).

Кислотное число определяется методом титрования. *Титрометрия* – это количественный аналитический метод, заключающийся в определении концентрации определенного вещества путем постепенного добавления к анализируемому раствору реактива известной концентрации до полного завершения реакции с определяемым веществом. Для контроля за ходом титрования и установлением конечной точки титрования можно использовать ионоселективные электроды, если последние чувствительны к определяемому иону или иону титранта (применяемого для титрования раствора реактива, вступающего в реакцию с определяемым ионом или соединением). Титрант добавляют к титруемому раствору постепенно порциями определенного объема из точно градуированной бюретки. Концентрацию определяемого вещества устанавливают по объему титранта, необходимому для завершения реакции.

В ходе потенциометрического титрования измеряют и записывают ЭДС ячейки после добавления каждой порции титранта. В начале титрант добавляют небольшими порциями, при приближении к конечной точке (резкое изменение потенциала при добавлении небольшой порции реактива) порции уменьшают. Для определения конечной точки потенциометрического титрования (точки эквивалентности) можно использовать различные способы. Наиболее простой способ – построение кривой титрования: графика зависимости потенциала электрода от объема титранта (рис. 4, а).

Другой способ состоит в расчете изменения потенциала (ΔE) на единицу изменения объема титранта, т. е. $\Delta E/\Delta V$ (рис. 4, б). Кривая титрования, построенная с использованием параметра, зависящего от объема титранта, имеет четко выраженный максимум в конечной точке.

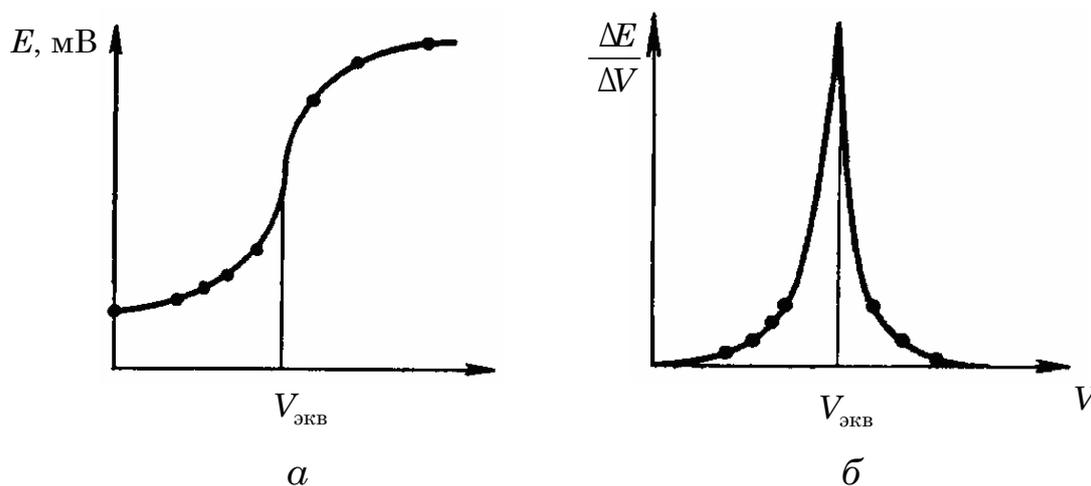


Рис. 4. Кривые потенциометрического титрования:
 а – зависимость потенциала электрода от объема титранта;
 б – дифференциальная кривая потенциометрического титрования

Ионоселективные электроды удобны для фиксирования конечной точки титрования, поскольку их показания не зависят от степени окрашенности и прозрачности раствора.

Схема установки для потенциометрического титрования приведена на рис. 5. На магнитной мешалке 1 установлена ячейка с анализируемым раствором 2. В анализируемый раствор помещены индикаторный электрод 3 и хлоридсеребряный электрод сравнения 4. Электродная система подключена к по-

тенциометру. Титрование осуществляется из бюретки 5, соединенной с блоком ручного или автоматического титрования.

К потенциометру

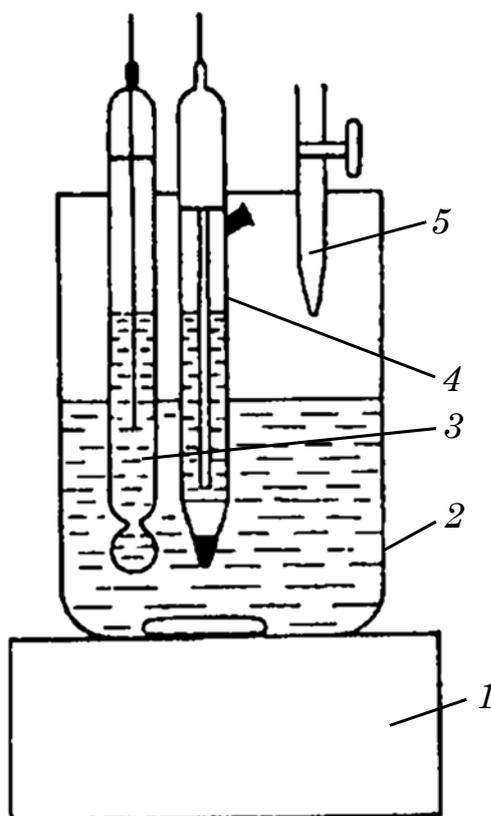


Рис. 5. Схема установки для потенциометрического титрования:

- 1 – магнитная мешалка;
- 2 – ячейка для анализируемого раствора;
- 3 – индикаторный электрод;
- 4 – насыщенный хлорсеребряный электрод сравнения; 5 – бюретка

2. Определение кислотного числа рафинированного подсолнечного масла титрометрическим методом с визуальной индикацией

Средства испытаний: Весы лабораторные 3-го класса точности; баня водяная; колбы конические; бюретки вместимостью 5, 25 и 50 см³; бумага фильтровальная; 0,1 н водный или спиртовой раствор гидроксида калия или натрия; водный или спиртовой раствор гидроксида натрия; спирт этиловый технический; эфир диэтиловый; хлороформ; фенолфталеин.

Подготовка к испытаниям. Приготовление смеси растворителей. Спирто-эфирную смесь готовят из двух частей диэтилового эфира и одной части этилового спирта с добавлением 5 капель раствора фенолфталеина на 50 мл смеси. Смесь нейтрализуют 0,1 н водным или спиртовым раствором гидроксида калия или натрия до едва заметной розовой окраски.

Спирто-хлороформную смесь готовят из равных частей хлороформа и этилового спирта с добавлением 5 капель раствора фенолфталеина на 50 мл смеси. Смесь нейтрализуют 0,1 н спиртовым раствором гидроксида калия или натрия до едва заметной розовой окраски.

Подготовка образцов. Прозрачное незастывшее растительное масло хорошо перемешивают. При наличии в жидком масле мути и осадка, а также при анализе застывших масел образец масла помещают в сушильный шкаф при температуре 50°C. Затем масло перемешивают.

Проведение испытаний. На лабораторных весах отвешивают 3–5 г жира в коническую колбу, приливают 50 мл заранее приготовленной нейтральной смеси растворителей и взбалтывают. Если при этом масло не растворяется, содержимое нагревают на водяной бане. Далее охлаждают до температуры 15–20°C и добавляют несколько капель фенолфталеина. Полученный раствор при постоянном перемешивании быстро титруют из бюретки спиртовым раствором гидроксида калия концентрацией 0,1 н до слабо розовой окраски, устойчивой в течение 30 с. Микробюретку вместимостью 5 мл используют при кислотном числе масла менее 2 мг КОН/г.

Обработка результатов. Кислотное число $Ч_{\text{к}}$, в миллиграммах КОН на 1 г, вычисляют по формуле

$$Ч_{\text{к}} = \frac{5,611 \cdot K \cdot V}{m},$$

где 5,611 – коэффициент, равный значению расчетной массы КОН в 1 мл 0,1 н раствора КОН, а при использовании NaOH этот коэффициент получают путем умножения расчетной массы NaOH в 1 мл 0,1 н раствора (равной 4,0) на 1,4 – отношение молекулярной массы КОН и NaOH; V – объем 0,1 н раствора гидроксида калия или натрия, израсходованный на титрование, мл;

K – поправка к титру 0,1 н раствора гидроокиси калия или натрия; m – масса исследуемого масла, г.

Вычисления проводят с точностью до второго знака после запятой, с последующим округлением результата до первого знака. Допускаемые расхождения между двумя параллельными определениями приведены в табл. 8.

Таблица 8

Метрологические характеристики метода

Интервалы значений кислотного числа, мг КОН/г	Предел возможных значений погрешности измерений	Допустимое расхождение между результатами двух параллельных определений
Рафинированное масло с кислотным числом: До 0,2 включ.	0,01	0,015
Свыше 0,2 до 0,4 включ.	0,04	0,05
Свыше 0,4 до 1,0 включ.	0,06	0,07
Светлые нерафинированные масла с кислотным числом, %: До 6,0 включ.	4	5
Свыше 6,0	6	7

Предельно допустимые нормы кислотного числа отдельных масел и жиров представлены в табл. 9

Таблица 9

Кислотных чисел растительных масел

Наименование масел	Кислотное число, мг КОН/г
Подсолнечное масло: рафинированное	0,4
нерафинированное	1,5
нерафинированное 1-го сорта	2,25
Соевое масло: рафинированное	0,3
гидратированное 1-го сорта	1,0
Кукурузное масло: рафинированное	0,4
нерафинированное	5,0
Топленый пищевой жир (говяжий, бараний, свиной): высшего сорта	1,2
1-го сорта	2,2

3. Определение кислотного числа растительных масел титрометрическим методом с потенциометрической индикацией

Средства испытаний: весы лабораторные 4-го класса точности с пределом взвешивания 500 г; рН-метр лабораторный; мешалка магнитная; колбы конические; бюретки вместимостью 5, 25 и 50 см³; бумага фильтровальная; 0,1 н водный или спиртовой раствор гидроксида калия или натрия; спиртоэфирная смесь; фенолфталеин.

Подготовка к испытаниям. Аналогична подготовке к испытанию титрометрическим методом с визуальной индикацией.

Проведение испытаний. В стакан отвешивают с записью результата до второго десятичного знака 2–3 г масла и приливают 40 см³ нейтрализованной смеси растворителей. Стакан устанавливают на магнитную мешалку, включают ее и затем опускают в стакан электроды рН-метра так, чтобы они были погружены на глубину не менее 3 см.

Потенциометрическое титрование раствора масла проводят в соответствии с инструкцией, приложенной к прибору, до эквивалентной точки.

Обработка результатов. Кислотное число $Ч_K$, в миллиграммах КОН на 1 г, вычисляют по формуле

$$Ч_K = \frac{5,611 \cdot K \cdot V}{m},$$

где 5,611 – коэффициент, равный значению расчетной массы КОН в 1 мл 0,1 н раствора КОН, а при использовании NaOH этот коэффициент получают путем умножения расчетной массы NaOH в 1 мл 0,1 н раствора (равной 4,0) на 1,4 – отношение молекулярной массы КОН и NaOH; V – объем 0,1 н раствора гидроксида калия или натрия, израсходованный на титрование, мл; K – поправка к титру 0,1 н раствора гидроокиси калия или натрия; m – масса исследуемого масла, г.

Вычисления проводят с точностью до второго знака после запятой, с последующим округлением результата до первого знака. Допускаемые расхождения между двумя параллельными определениями и погрешности измерений приведены в табл. 10.

Метрологические характеристики метода

Интервалы значений кислотного числа, мг КОН/г	Предел возможных значений погрешности измерений	Допустимое расхождение между результатами двух параллельных определений
Для всех видов растительных масел с кислотным числом: от 0,2 до 1,0 включ. (мг КОН/г) свыше 1,0	0,02	0,04
Для светлых	4	5
Для темных	10	15

**Лабораторная работа № 4
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛА ОМЫЛЕНИЯ
РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА**

Цель работы: определить число омыления растительных масел.

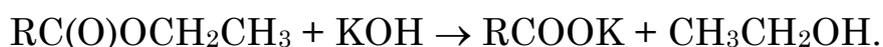
Средства испытаний: весы лабораторные 2-го класса точности с пределом взвешивания 200 г; спиртовой раствор гидроксида калия концентрацией 0,5 моль/л; соляная кислота, раствор концентрацией 0,5 моль/л; фенолфталеин или тимолфталеин.

1. Общие сведения

Число омыления ($Ч_0$) – количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для омыления триглицеридов (связанных жирных кислот) и свободных жирных кислот, входящих в состав 1 г исследуемого жира. Число омыления – достаточно стабильный показатель, который колеблется для одного и того же вида масла или жира в узких пределах. Число омыления зависит от состава масел и жиров. С увеличением молекулярной массы ацилов жирных кислот оно уменьшается. Чем больше в маслах моно- и диацилглицеридов, тем ниже этот показатель. Так, для восков $Ч_0$ значительно ниже, чем для триглицеридов.

Метод определения числа омыления основан на обработке жира установленным количеством 0,5 моль/л раствора

гидроксида калия до полного омыления триглицеридов и жирных кислот, избыток гидроксида калия титруется кислотой. Для обеспечения полноты омыления и подавления гидролиза образующихся солей (мыла) реакцию с гидроксидом калия проводят в спиртовом растворе, преимущественно в этаноле. При этом достигается полная гомогенизация реагирующих веществ. Это объясняется тем, что триглицериды при нагревании с раствором гидроксида калия в этаноле вступают с ним в реакцию алкоголиза. В результате образуются этиловые эфиры жирных кислот, которые хорошо растворяются в спирте и в дальнейшем легко и полностью омыляются гидроксидом калия по реакции:



Для полного омыления навески жира избыток гидроксида калия должен быть не менее 100%, а продолжительность омыления – не менее 1 ч.

2. Порядок проведения испытаний

Проведение испытаний. На лабораторных весах в колбе взвешивают 1,0–1,5 г исследуемого жира с точностью $\pm 0,0005$ г, приливают из бюретки 25 мл спиртового раствора гидроксида калия концентрацией 0,5 моль/л, присоединяют обратный холодильник и омыляют на водяной бане в течение 1 ч при температуре 80°C. После окончания омыления содержимое колбы должно представлять собой однородный и прозрачный раствор. Одновременно в тех же условиях в другой колбе кипятят 25 мл спиртового раствора гидроксида калия концентрацией 0,5 моль/л без навески жира (холостая проба) в течение 1 ч. Затем титруют в горячем состоянии содержимое обеих колб раствором соляной кислоты концентрацией 0,5 моль/л. При титровании исследуемой пробы нейтрализуется избыточный гидроксид калия, не использованный при реакции омыления жира.

В случае омыления светлых жиров и масел при титровании применяют в качестве индикатора фенолфталеин, при омылении темных масел – тимолфталеин.

Необходимо титровать еще не остывший мыльный раствор, так как спиртовой раствор гидроксида калия постепенно

насыщается из воздуха диоксидом углерода, образуя карбонат и бикарбонат, что вносит ошибку в определение.

Обработка результатов. Число омыления Ч_0 , в миллиграммах КОН на 1 г жира рассчитывают по формуле

$$\text{Ч}_0 = \frac{28,05K(V - V_1)}{m},$$

где 28,05 – титр 0,5 моль/л раствора соляной кислоты по гидроксиду калия, мг/мл; K – поправка к титру соляной кислоты; V – объем раствора соляной кислоты концентрацией 0,5 моль/л, израсходованный на титрование раствора гидроксида калия в холостой пробе, мл; V_1 – объем раствора соляной кислоты концентрацией 0,5 моль/л, израсходованный на титрование свободного гидроксида калия, оставшегося после омыления в исследуемой пробе, мл; m – масса исследуемого жира, г;

Вычисления проводят до первого десятичного знака и округляют до целого числа. Относительное значение допустимых расхождений между двумя параллельными определениями не должно превышать 3%.

Лабораторная работа № 5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОДНОГО ЧИСЛА РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА

Цель работы: определить йодное число растительных масел.

Средства испытаний: весы лабораторные 2-го класса точности; весы лабораторные 4-го класса точности; сушильный шкаф; бромид натрия; метанол; бром; хлороформ; йодид калия; тиосульфат натрия концентрацией 0,1 моль/л; раствор крахмала.

1. Общие сведения

Йодное число ($\text{Ч}_\text{й}$) показывает количество граммов йода, эквивалентное галогену, присоединившемуся по месту двойных связей к 100 г исследуемого жира, и выражается в процентах йода.

Йодное число жира колеблется в определенных пределах и является одним из важнейших показателей масел и жиров, который характеризует степень непредельности жира, способность его к окислению, высыханию, присоединению водорода и т. д.

При действии галогена на каждую двойную связь расходуется одна его молекула по реакции:



Сам йод присоединяется медленно, некоторое количество йода находится в равновесии даже в присутствии большого избытка двойных связей. Создав определенные условия, можно добиться количественного насыщения непредельных связей в жире или жирной кислоте. В лабораторной практике для насыщения двойных связей используют обычно бром или соединения галогенов друг с другом: хлорйод (ClI) или бромйод (BrI). Эти соединения ведут себя более активно, чем йод, и не так активны, как чистый хлор или бром. Степень присоединения галогенов к двойным связям жирных кислот зависит от положения их в углеродной цепи: чем ближе связь находится к карбоксильной группе, тем меньше степень насыщения.

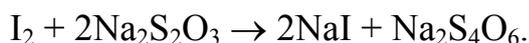
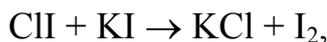
Йодное число изменяется в зависимости от длины углеродной цепи жирных кислот и, следовательно, от их молекулярной массы. С увеличением молекулярной массы йодное число уменьшается при одном и том же числе двойных связей. С увеличением количества двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах йодное число возрастает. При наличии в молекулах жирных кислот нескольких изолированных двойных связей они насыщаются галогеном последовательно, причем в первую очередь реагируют наиболее удаленные от карбоксильной группы. Продолжительность полного насыщения кислот с увеличением числа двойных связей возрастает.

Насыщение жирных кислот с сопряженными двойными связями идет не полностью, и определяемое йодное число ниже теоретического; йодные числа таких кислот определяют специальными методами, обеспечивающими присоединение галогена ко всем сопряженным связям. В основном это методы Гюбля, Гануса и Кауфмана. Для жиров, ацилы которых содержат сопряженные двойные связи, применяются методы Вобурна и Маргошеса. Стандартизированными являются методы Кауфмана, Гюбля и Висса. Эти методы основаны на использовании

одного из указанных галогенов или их соединений, обеспечивающих полное насыщение непредельных связей.

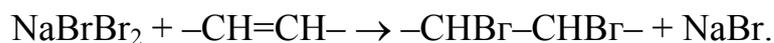
При определении йодного числа для предотвращения побочной реакции замещения водорода в метиленовых и металлических группах предусматривается точное соблюдение условий. Для количественного насыщения двойных связей необходим 100%-ный избыток галогена, строгое соблюдение времени реакции насыщения двойных связей, проведение реакции в темноте в колбах с пришлифованными пробками. Избыток галогена закладывается в зависимости от ожидаемого йодного числа, такой прием позволяет обеспечить получение сопоставимых результатов. Неприсоединившийся избыток галогена оттитровывают тиосульфатом натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Предварительно в реакционную среду вводят раствор йодида калия и воды, что приводит к выделению эквивалентного количества йода избыточным количеством галогена.

При этом протекают реакции:



Особенностью метода Кауфмана является то, что для насыщения двойных связей используется непрочное соединение, которое образуется при растворении в метаноле брома и бромида натрия (раствор Кауфмана).

В присутствии ненасыщенных жирных кислот бром из соединения $\text{NaBr} \cdot \text{Br}_2$ отщепляется и присоединяется к двойным связям жирных кислот по реакции



Растворы брома в метаноле имеют характерный резкий запах брома и свойственный ему чайный цвет. В растворах, содержащих бромид натрия, цвет изменяется от желтого до слабо-оранжевого. Запах у брома отсутствует. Время полного насыщения двойных связей масел 1–1,5 ч. Масла с большим числом кратных связей следует выдерживать до 1,5 ч.

Метод Кауфмана применяется в исследовательской работе, при идентификации жиров и контроле производственных процессов.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Приготовление раствора Кауфмана. Для приготовления раствора Кауфмана в 1 л перегнанного над оксидом кальция метанола растворяют 140 г бромида натрия, предварительно высушенного при 130°C. Раствор хорошо взбалтывают, оставляют на 24 ч, затем фильтруют через бумажный фильтр. В полученный раствор прибавляют 5,1 мл брома и перемешивают встряхиванием. Через 10–15 мин раствор готов к использованию. Раствор Кауфмана готовят в вытяжном шкафу.

Проведение испытаний. На лабораторных весах отвешивают в колбу необходимое количество исследуемого масла (табл. 11), прибавляют 10–15 мл хлороформа и осторожно взбалтывают содержимое до полного растворения. Затем прибавляют из бюретки точно 20 мл раствора Кауфмана, перемешивают, закрывают колбу притертой пробкой, смоченной йодидом калия, и оставляют для насыщения двойных связей в темном месте при температуре 20°C на 1–1,5 ч. Одновременно в аналогичных условиях ставят контрольный опыт без навески жира.

Таблица 11

**Масса навески масла
для определения йодного числа**

Ожидаемое йодное число, % йода	Масса масла, г
От 5 до 20 включительно	1,0
Свыше 20 до 50 включительно	0,6
Свыше 50 до 100 включительно	0,3
Свыше 100 до 150 включительно	0,2
Свыше 150 до 200 включительно	0,15
Свыше 200	0,10

Перед титрованием в колбы приливают по 20 мл 10%-ного раствора йодида калия и 50–60 мл дистиллированной воды, взбалтывают и выделившийся йод титруют, перемешивая, раствором тиосульфата натрия концентрацией 0,1 моль/л до получения светло-желтой окраски. Затем прибавляют 1–2 мл

раствора крахмала и продолжают титрование до полного исчезновения синего окрашивания.

Обработка результатов. Йодное число $Ч_{\text{й}}$, в граммах на 100 г жира, вычисляют по формуле

$$Ч_{\text{й}} = \frac{0,01269K(V - V_1) \cdot 100}{m},$$

где 0,01269 – титр раствора тиосульфата натрия концентрацией 0,1 моль/л по йоду, г/мл; K – поправка к титру раствора тиосульфата натрия концентрацией 0,1 моль/л; V – объем раствора тиосульфата натрия концентрацией 0,1 моль/л, израсходованный на титрование контрольного опыта, мл; V_1 – объем раствора тиосульфата натрия концентрацией 0,1 моль/л, израсходованный на титрование навески исследуемого жира, мл; 100 – коэффициент пересчета результата на 100 г жира; m – масса исследуемого образца, г.

Йодное число некоторых жиров и масел представлено в табл. 12.

Таблица 12

**Значения йодных чисел
некоторых жиров и масел**

Наименование масел и жиров	Йодное число, г/100 г жира
Масло:	
подсолнечное	125–145
соевое	120–140
горчичное	102–108
хлопковое	102–117
оливковое	75–85
кукурузное	111–133
коровье	22–40
Жир:	
говяжий	32–47
бараний	35–40

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 1% от величины йодного числа.

2.2. Белки

Среди азотистых веществ, входящих в состав пищевых продуктов, важнейшая роль принадлежит белкам.

Белки, или протеины, – высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения, молекулы которых построены из остатков аминокислот.

В природе существует примерно от 10^{10} до 10^{12} различных белков, составляющих основу $1,2 \cdot 10^6$ видов живых организмов, начиная от вирусов и заканчивая человеком. Огромное разнообразие белков обусловлено способностью 20 протеиногенных α -аминокислот взаимодействовать друг с другом с образованием полимерных молекул. Например, включение в состав белка остатков только 15 аминокислот приводит к получению приблизительно $1,3 \cdot 10^{12}$ изомеров. Поэтому нетрудно представить, какое многообразие белков со всеми особенностями структурной организации возможно в природе при условии включения в полимерную цепь около сотни и более протеиногенных аминокислот.

Аминокислоты являются полифункциональными соединениями, содержащими по меньшей мере две разные химические группировки, способные реагировать друг с другом с образованием ковалентной пептидной связи – амина ($-\text{NH}_2$) и карбоксильная ($-\text{COOH}$).

Некоторые аминокислоты не синтезируются организмом и поэтому называются незаменимыми. К ним относятся: лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, триптофан, треонин и валин.

Каждый вид живых организмов характеризуется индивидуальным набором белков, определяемым наследственной информацией, закодированной в ДНК.

Элементарный состав белка следующий: углерод – 50–55,5%; водород – 6,5–7,3 %, азот – 15–18%, кислород – 21–24%, сера – 0–2,4%.

Основное значение белков заключается в незаменимости другими компонентами пищи. Белки составляют основу процессов жизнедеятельности организма. Необходимость их постоянного обновления лежит в основе обмена веществ.

Попадая в организм, они расщепляются под действием ферментов до аминокислот, часть из которых распадается на органические кетокислоты; из них вновь синтезируются необходимые организму аминокислоты, белки и вещества белковой природы.

Белки в организме выполняют структурную (построение тканей и клеточных компонентов) и функциональную (ферменты, гормоны, дыхательные пигменты и др.) роль. Дефицит белка в пищевом рационе повышает восприимчивость организма к инфекционным заболеваниям, нарушает процессы (кроветворения, обмен липидов, витаминов и др.). У детей при белковой недостаточности замедляются рост и умственное развитие. Длительный избыток белка в питании также отрицательно сказывается на жизнедеятельности организма, вызывая перевозбудимость нервной системы, нарушение обменных процессов, перегрузку печени и почек.

В ежедневном рационе взрослого человека белки должны составлять около 14% общей калорийности и сочетаться в определенном соотношении с другими пищевыми веществами.

Известно, что растительные белки усваиваются организмом не полностью по сравнению с животными. Так, белки молока и яиц усваиваются на 96%, белки рыбы и мяса – на 95%, белки хлеба – на 85%, белки картофеля, хлеба из обойной муки, бобовых – на 70%. С учетом того, что растительные белки менее полноценны по составу незаменимых аминокислот, чем животные, потребление определенного количества животных белков совершенно необходимо. Для взрослого человека доля животных белков в среднем должна составлять около 55% общего количества белка в рационе.

Методы определения. Присутствие белков в пищевых объектах устанавливается с помощью качественных реакций, которые условно разделяют на две группы: а) цветные реакции; б) реакции осаждения.

Среди первой группы различают универсальные реакции (биуретовая на пептидные связи и нингидриновая на α -аминокислоты) и специфические, обусловленные присутствием в белках остатков определенных аминокислот.

Специфической реакцией на содержание белка является биуретовая реакция, так как ее дают полипептидные связи. Она получила свое название от производного мочевины – биурета, который образует в щелочном растворе медного купороса окрашенное комплексное соединение. Интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию пептидных связей, а следовательно, и концентрации белка в растворе.

Биуретовую реакцию дают все белки, пептоны и полипептиды, начиная с тетрапептидов. Эта реакция длительное время использовалась как качественная реакция на белок. В дальнейшем она стала применяться для количественного определения белка в различных объектах. Биуретовый метод применяют в разных модификациях, различающихся условиями экстрагирования белка, способами внесения биуретового реактива и техникой колориметрирования.

Во второй группе качественных реакций белки осаждают действием солей, органических растворителей, концентрированных кислот, щелочей, ионов тяжелых металлов и температуры. Белки в растворенном состоянии крайне неустойчивы, поэтому при добавлении органических растворителей (спирт, ацетон), концентрированных растворов нейтральных солей щелочных металлов и воздействии физических факторов (нагревание, облучение, ультразвук) гидратная оболочка разрушается и они выпадают в осадок.

Анализ индивидуальных белков осуществляется после их выделения. При этом обязательным условием является получение белков в индивидуальном и, по возможности, неденатурированном состоянии, так как белки обычно теряют природные (нативные) свойства (растворимость, гидратацию, ферментативную активность и т. д.), подвергаясь денатурации под влиянием различных факторов.

Общая схема операций по выделению белков сводится к измельчению биологического материала (гомогенизации), экстрагированию и собственно выделению, т. е. очистке и получению белка в индивидуальном состоянии.

Разрушение клеточной структуры осуществляется тщательным измельчением материала в гомогенизаторах, мельницах, попеременным замораживанием и оттаиванием, применением

ультразвуковых высокочастотных колебаний, пресс-методов с использованием высоких давлений и метода «азотной бомбы».

Экстракция белков может быть совмещена с гомогенизацией клеток и тканей либо проведена отдельно, если продукт заранее измельчен. Для определения ферментативной активности белка достаточно одноразовой экстракции, тогда как для количественного определения белковых фракций – трех- или пятикратной.

Большинство белков животных тканей хорошо растворимы в 5–10%-ных растворах солей, тогда как для перевода в раствор белков зерновых культур применяют более широкий набор растворителей: буферные системы со значениями pH от кислых до слабощелочных (фосфатные, боратные, цитратные), органические растворители.

Растворители подбираются с учетом разрыва в белках определенных типов связей. Так, уксусная кислота ослабляет ионные связи, сообщая молекулам одноименные положительные заряды, мочевины – водородные и гидрофобные, салицилат натрия – гидрофобные и ионные, а водные растворы спиртов – водородные и гидрофобные взаимодействия. Органические растворители разрывают белок-липидные связи.

При изучении физико-химических свойств белков и их превращений в пищевых системах широко используют методы фракционирования и очистки от небелковых соединений. Они основаны на различиях таких свойств белков, как размер молекул, растворимость, заряд и сродство к специфическим химическим группам.

Осаждение белков из раствора под действием солей щелочных и щелочноземельных металлов называют высаливанием. Для высаливания чаще применяется сульфат аммония, под влиянием которого белки, как правило, сохраняют растворимость и ферментативную активность. Главную роль при высаливании играет не природа солей, а валентность ионов.

В практике выделения и очистки белков используются различные типы хроматографии: адсорбционная, распределительная, ионообменная и хроматография по сродству.

Использование методов электрофоретического разделения заключается в способности молекул пептидов и аминокислот,

находясь в заряженной форме в виде катионов или анионов, передвигаться в электрическом поле с определенной скоростью.

В настоящее время распространены методы зонального электрофореза, диск-электрофореза, фронтального электрофореза.

В химии пищевого белка применяют и другие разновидности электрофоретического разделения (иммуноэлектрофорез, изотахофорез), а также метод пептидных карт и ультрацентрифугирование.

Очистка белков от низкомолекулярных соединений (солей, сахаров, аминокислот) осуществляется методами диализа, гель-фильтрации, кристаллизации, ультрафильтрации и с помощью полых волокон. При диализе используют полупроницаемые мембраны (целлофан, коллодийная пленка), через которые белки не диффундируют, а остаются внутри диализного мешочка. Более мелкие молекулы проходят через поры диализной мембраны и выходят в диализат.

Гомогенность белка определяется на последнем этапе выделения и очистки с применением по меньшей мере двух методов, оценивающих то или иное физико-химическое свойство. Наиболее достоверными являются ультрацентрифугирование в градиенте плотности, диск-электрофорез, иммунохимические методы и растворимость. Если белок при электрофорезе представлен только одной полосой и обладает при этом максимальной биологической активностью, то он считается гомогенным.

Содержание белка в пищевых объектах обычно определяют по количеству азота с использованием метода Кьельдаля. С целью упрощения и сокращения длительности анализа этот метод с момента его разработки (1983) неоднократно модифицировался с применением различных катализаторов и условий минерализации. На основе модифицированных методов созданы высокопроизводительные автоматические анализаторы типа «Кьельфос», стоимость определения содержания белка на которых и сегодня остается высокой.

Имеются и другие методы определения азота, такие как метод Дюма, нейтронно-активационный и с фенолятгипохлоритом на приборе «Техникон». Принцип метода Дюма заключается в разложении органического соединения в атмосфере оксида углерода до газообразного состояния с последующим

измерением объема азота (N_2). В нейтронно-активационном методе атомы азота образца бомбардируются нейтронами в ядерном реакторе с получением изотопа ^{13}N . Содержание белка рассчитывают по количеству гамма-лучей. Определение азота на приборе «Техникон» осуществляется колориметрическим способом, в котором измеряется интенсивность синеголубой окраски, образующейся по реакции взаимодействия сульфата аммония, выделяющегося в процессе минерализации образца, со щелочным раствором фенола и гипохлорита. Все описанные методы по точности анализа не уступают методу Кьельдаля, однако они являются достаточно дорогими.

Известны методы количественного определения белка, основанные на различной степени помутнения (нефелометрический метод), способности белков адсорбировать красители (кумасси синий, амидочерный и др.) и преломлять лучи света (по показателю преломления). Они характеризуются высокой точностью и простотой определения, хотя имеют ряд ограничений. Наиболее удобными являются методы с кумасси синим, биуретовый и Лоури. В основе биуретового метода лежит биуретовая реакция, в основе метода Лоури – восстановление фосфомолибденовой кислоты тирозином и триптофаном с одновременным протеканием биуретовой реакции. По оптической плотности с использованием калибровочных графиков находят концентрацию белка в растворе.

Для определения белка используется также метод инфракрасной спектроскопии, в основе которого лежит поглощение белками света с определенной длиной волны и измерение интенсивности его отражения в приборах-анализаторах. Приборы калибруют по образцам зерна (эталоном) с известным содержанием белка, определяемым по методу Кьельдаля.

Лабораторная работа № 6 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА** **ПО МЕТОДУ КЬЕЛЬДАЛЯ**

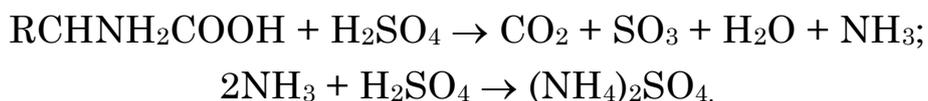
Цель работы: освоить методы определения белка; определить содержание белка в пищевых продуктах методом Кьельдаля.

Средства испытаний: аппарат для отгонки аммиака; 33%-ный раствор щелочи; гидроксид натрия концентрацией 0,1 моль/дм³;

сернокислая медь; сернокислый калий; селен; 30%-ный водный раствор перекиси водорода; 0,1 н раствор серной кислоты; 4%-ный раствор борной кислоты; метиловый красный; бромкрезоловый зеленый; этиловый спирт; аналитические весы; концентрированная серная кислота.

1. Общие сведения

Определение массовой доли белка методом Кьельдаля основано на минерализации навески продукта при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов. При этом углерод и водород органических соединений окисляются до диоксида углерода и воды; азот, освобождаемый в виде аммиака, соединяется в колбе с серной кислотой, образуя сульфат аммония. Схематично происходящие реакции могут быть представлены следующим образом:



На последующей стадии дистилляции раствор сульфата аммония обрабатывают концентрированным раствором гидроксида натрия, при этом аммиак освобождается и улавливается титрованным раствором серной кислоты. Избыток серной кислоты оттитровывают раствором гидроксида натрия.

Метод Кьельдаля применяют в нескольких модификациях, отличающихся в основном условиями минерализации. Для ускорения процесса вводят различные катализаторы: оксид меди, селен, свинец и др., повышают температуру кипения серной кислоты добавлением солей, сульфата калия или натрия, сочетают добавление катализатора и солей при сжигании навески.

Методом Кьельдаля в любой модификации определяется количество общего азота. Массовая доля белка вычисляется умножением полученной величины общего азота на переводной коэффициент 6,25, исходя из того, что в белках в среднем содержится 16% азота. Однако не весь азот пищевого продукта находится в форме белка, и, кроме того, процентное содержание азота в белках подвержено колебаниям как в сторону повышения, так и в сторону понижения от 16%. В некоторых продуктах

азотистые вещества небелкового характера достигают значительных количеств (мышечная ткань рыбы – 15%, мясо животных – 10–16% от общего количества азотистых веществ).

Следовательно, для получения более точных результатов необходимо при пересчете общего азота на белок использовать различные коэффициенты в зависимости от процентного содержания азота в белках отдельных продуктов: мясо и овощи – 6,25; пшеница, рожь, горох и др. – 5,7; гречиха, рис – 6,0; молоко – 6,37.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Подготовка проб к испытанию. Среднюю пробу пищевого продукта готовят согласно требованиям метода отбора проб.

Для пересчета содержания белка на сухое вещество (в случае необходимости установления данного показателя) определяют влажность исследуемого продукта или пищевого сырья.

Приготовление смешанных катализаторов. Катализатор 1. Смешивают 1 весовую часть сернокислой меди и 30 весовых частей сернокислого калия, тщательно растирают в ступке до получения мелкозернистого порошка.

Катализатор 2. Смешивают 10 весовых частей сернокислой меди, 100 весовых частей сернокислого калия и 2 весовые части селена. Тщательно растирают в ступке до получения мелкозернистого порошка.

При приготовлении катализаторов 1 и 2 допускается заменять сернокислый калий надсернокислым калием в том же количестве.

Катализатор 3. 30%-ный водный раствор перекиси водорода.

Приготовление 4%-ного раствора борной кислоты. 40 г борной кислоты растворяют в небольшом количестве теплой дистиллированной воды при нагревании и переносят в колбу вместимостью 1000 см³. После охлаждения доводят объем дистиллированной водой до 1000 см³.

Проведение испытаний. Приготовление минерализата. Из усредненной измельченной гомогенной пробы исследуемого пищевого продукта для анализа взвешивают на обеззоленном фильтре или в пробирке точную навеску про-

дукта с погрешностью не более 0,1%. Содержание азота в анализируемой пробе должно быть не менее 10 мг.

Минерализацию осуществляют одним из двух способов.

Способ 1. Добавляют в колбу Кьельдаля 1,5–2 г смешанного катализатора 1 или 2. После прибавления катализатора осторожно приливают 10–15 см³ концентрированной серной кислоты.

Способ 2. Добавляют в колбу Кьельдаля 7–10 см³ 30%-ной перекиси водорода в качестве окислителя. После прекращения бурной реакции приливают такое же количество концентрированной серной кислоты.

Колбу покрывают стеклянной воронкой и устанавливают на нагреватель так, чтобы ее ось была наклонена под углом 30–45° к вертикали. Вначале колбу нагревают умеренно, чтобы предотвратить бурное пенообразование.

При нагревании навеску время от времени помешивают вращательными движениями колбы. После исчезновения пены нагревание усиливают, пока жидкость не будет доведена до постоянного кипения. При этом следят за тем, чтобы на стенках колбы не оставалось черных несгоревших частиц, смывая их легким встряхиванием содержимого колбы или прибавлением небольшого количества серной кислоты.

После того как жидкость обесцветится (допускается слегка зеленоватый оттенок), нагрев продолжают еще в течение 30 мин.

После охлаждения к содержимому колбы постепенно приливают, взбалтывая, около 70 см³ дистиллированной воды, охлаждают и приступают к отгонке аммиака (рис. 6).

В бачок-парообразователь 1 через воронку 2 наливают дистиллированную воду (несколько больше половины общего объема бачка) и открывают кран 3 и зажим 4.

Нагревают воду в бачке на газовой горелке или электрической плитке. Присоединяют пустую колбу Кьельдаля 10 к каплеуловителю 7 и воронке для щелочи 5 и после того, как вода в бачке закипит, закрывают кран 3. Включают холодильник 8, подставляют под него пустую коническую колбу 9 и в течение 5–10 мин «пропаривают» прибор.

После пропаривания открывают краны 3 и 6 и закрывают зажим 4.

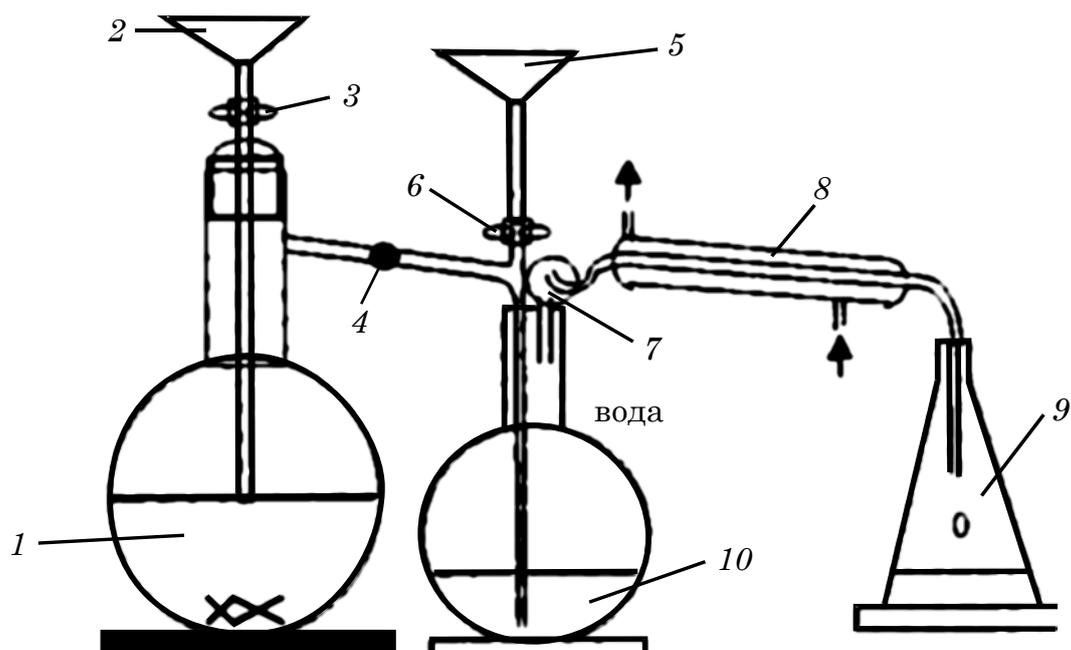


Рис. 6. Аппарат для отгонки аммиака:
 1 – бачок-парообразователь; 2 – воронка; 3 – кран;
 4 – зажим; 5 – воронка для щелочи; 6 – кран;
 7 – каплеуловитель; 8 – холодильник;
 9 – приемная колба; 10 – колба Кьельдаля

Под холодильник подставляют вместо пустой конической колбы коническую колбу с предварительно добавленными в нее 20 см^3 4%-ной борной кислоты из пипетки и 5 каплями смешанного индикатора или 25 см^3 $0,05 \text{ моль/дм}^3$ раствора серной кислоты. Колбу подставляют под холодильник так, чтобы его кончик был погружен в раствор кислоты на глубину не менее чем 1 см. Вместо пустой колбы Кьельдаля присоединяют колбу с сожженной навеской анализируемой пробы.

Закрывают кран 6, наливают в воронку 33%-ный раствор щелочи и, открывая понемногу кран 6 при осторожном покачивании колбы Кьельдаля, приливают избыток щелочи, при этом цвет раствора должен резко измениться – от прозрачного до синего или бурого. Открывают зажим 4 и закрывают краны 3 и 6, при этом пар будет проходить через жидкость в колбе Кьельдаля и увлекать аммиак. В холодильнике пар конденсируется, раствор аммиака попадает в колбу с 0,1 н раствором серной кислоты. При нормальном кипении объем раствора в приемной колбе через 20–30 мин обычно составляет $150\text{--}180 \text{ см}^3$. Конец

отгонки можно установить с помощью красной лакмусовой бумажки. Для этого приемную колбу отставляют от аппарата, предварительно обмыв конец холодильника дистиллированной водой, и подносят лакмусовую бумажку под стекающие капли дистиллята. Если лакмус не синееет, отгон аммиака закончен. Если лакмус синееет, приемную колбу снова подставляют под холодильник и продолжают отгонку. После окончания отгонки приемную колбу опускают и конец холодильника обмывают дистиллированной водой в приемную колбу. После этого открывают краны 3 и 6 и закрывают зажим 4.

Содержимое приемной колбы титруют 0,1 моль/дм³ раствором гидроксида натрия до перехода окраски в зеленую.

Необходимо параллельно с определением азота в исследуемой пробе проводить определение азота в реактивах («холостой опыт») для внесения соответствующей поправки в результат анализа. Допускается отгонка аммиака (особенно в случае применения больших колб для сжигания) без использования пара непосредственно нагревом колбы на электрическом нагревателе. Проведение отгонки аммиака и все последующие операции проводятся так же, как и с применением пара.

Обработка результатов. Массовую долю азота X , %, при проведении отгонки аммиака в борную кислоту вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \cdot K \cdot 0,0014 \cdot 100}{m},$$

где V_1 – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование испытуемого раствора, см³; V_0 – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование в контрольном опыте, см³; K – поправка к титру 0,05 моль/дм³ раствора серной кислоты, если он приготовлен не из стандарт-титра; 0,0014 – количество азота, эквивалентное 1 см³ 0,05 моль/дм³ раствора серной кислоты, г; m – масса навески, г.

Массовую долю азота X_1 , %, при отгонке аммиака в серную кислоту вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_0) \cdot K \cdot 0,0014 \cdot 100}{m},$$

где V_0 – объем 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия, израсходованный на титрование 0,05 моль/дм³ серной кислоты в контрольном опыте, см³; V_1 – объем 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия, израсходованный на титрование серной кислоты в испытуемом растворе, см³; K – поправка к титру 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия; 0,0014 – количество азота, эквивалентное 1 см³ 0,05 моль/дм³ раствора серной кислоты; m – масса навески, г.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных испытаний. Результаты вычисляют до третьего десятичного знака и округляют до второго десятичного знака.

Допустимое расхождение (r , г) между двумя параллельными определениями не должно превышать значений, вычисляемых по формуле

$$r = 0,03 + 0,02X_1,$$

где X_1 – среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, %.

Массовую долю азота в пересчете на сухое вещество продукта (X_2), в процентах, вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{X_1 \cdot 100}{100 - W},$$

где X_1 – массовая доля азота в испытуемой пробе, %; W – влажность испытуемой пробы, %.

Массовую долю белка Y , %, вычисляют по формуле

$$Y = K \cdot X_1 \text{ (или } X_2),$$

где K – коэффициент пересчета азота на белок, равный:

- для пшеницы, проса, овса и продуктов из них – 5,70;
 - для ржи, гречихи и продуктов из них – 5,60;
 - для риса и продуктов из него – 6,00;
 - для семян бобовых культур (гороха, фасоли, сои и др.), ячменя и продуктов из них – 6,25;
 - для молока и молочных продуктов – 6,38;
 - для мяса, птицы, рыбы и продуктов из них – 6,25.
- для продуктов с неизвестным коэффициентом пересчета азота на белок или при исследовании комбинированных продуктов и блюд – 6,25.

Лабораторная работа № 7 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА МЕТОДОМ ЛОУРИ

Цель работы: освоить методы определения белка; определить содержание белка в крупах методом Лоури.

Средства испытаний: весы лабораторные 2-го класса точности; коническая колба Эрленмейера; ортофосфорная кислота, раствор 85%-ной концентрации; соляная кислота плотностью 1,869 г/см³; вольфрамат натрия; молибдат натрия; сульфат лития; натрия гидроксид, раствор концентрацией 0,1 н; фенолфталеин; 2%-ный раствор соды; 0,5%-ный раствор CuSO₄ · 5H₂O; 1%-ный раствор тартрата калия; альбумин.

1. Общие сведения

Метод Лоури основан на реакции реактива Фолина с фенольными радикалами некоторых аминокислот, входящих в состав белков, в результате которой образуется соединение, придающее синюю окраску раствору белка. Интенсивность окрашивания зависит от массовой доли белка в исследуемом объекте. Метод обладает высокой чувствительностью и позволяет определять содержание белка при концентрации его в растворе от 10 до 100 мкг.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Приготовление стандартного реактива Фолина. 100 г вольфрамата натрия и 25 г молибдата натрия вносят в круглодонную колбу вместимостью 2 дм³ с пришлифованным обратным холодильником, добавляют 700 см³ дистиллированной воды, 50 см³ 85%-ного раствора ортофосфорной кислоты плотностью 1,869 г/см³ и 100 см³ концентрированной соляной кислоты; смесь кипятят на слабом огне на асбестовой сетке в течение 10 ч (можно с перерывом), охлаждают, переносят в коническую колбу Эрленмейера, стенки колбы и холодильник ополаскивают 50 см³ воды, затем туда же добавляют 150 г сульфата лития и 5 капель брома. Открытую колбу нагревают и кипятят под тягой на слабом огне 15–20 мин для удаления паров брома (раствор должен

иметь желтую окраску, если раствор зеленый, то обработку бромом повторяют). После охлаждения раствор доводят дистиллированной водой до 1 дм³ и фильтруют через трубку Аллина, заполненную стеклянной ватой. Концентрацию кислоты проверяют титрованием разбавленного в десять раз реактива Фолина 0,1 н раствором NaOH по фенолфталеину. Приготовленный раствор хранят в склянке из темного стекла. Рабочий раствор Фолина готовят разведением основного раствора дистиллированной водой в два раза.

Смешанный реактив. 2%-ный раствор Na₂CO₃ в 0,1 н растворе гидроксида натрия и 0,5%-ный раствор CuSO₄ · 5H₂O в 1%-ном растворе тартрата калия – натрия смешивают в соотношении объемов 50 : 1 в день проведения анализа (раствор годен в течение дня).

Подготовка проб. Взвешивают навеску массой 1,5–5 г (мука пшеничная – 2 г, рисовая мука – 5 г) с погрешностью ±0,01 г в зависимости от содержания водорастворимого белка и помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³, снабженную пробкой. В колбу добавляют пипеткой 100 см³ дистиллированной воды, смесь хорошо перемешивают и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 60 мин.

Затем суспензию центрифугируют в течение 7–10 мин при частоте вращения 4–5 тыс. мин⁻¹. Водный экстракт белков осторожно сливают с осадка в пробирку и используют для анализа.

Проведение испытаний. В пробирку отмеривают пипетками 0,5 см³ белковой вытяжки, содержащей 50–500 мкг белка и 2,5 см³ смешанного реактива, перемешивают и через 10 мин добавляют к ней 0,25 см³ рабочего раствора Фолина. После 30 мин выдержки, необходимой для развития окраски, раствор переливают в кювету с толщиной слоя раствора 5 мм, определяют величину оптической плотности на фотоэлектроколориметре при длине волны 580 нм и содержании белка 50–500 мкг в 1 см³ или на спектрофотометре при длине волны 750 нм и содержании белка 10–15 мкг в 1 см³.

Построение калибровочной кривой. Для построения калибровочной кривой применяют белок, близкий по своей природе к исследуемому белку, приготавливая несколько растворов с точно известной массовой долей белка. Для этого в 100 см³ дис-

тиллированной воды растворяют 100 мг взвешенного с погрешностью $\pm 0,0001$ г чистого кристаллического альбумина. В 1 см³ раствора содержится 1 мг белка. В 9 пробирок с меткой на 10 см³ отмеряют в возрастающих количествах приготовленный раствор белка: в первую – 1 см³, во вторую – 2 см³ и так далее до 9 см³.

Объем в пробирках доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Определяют оптическую плотность полученных растворов. При построении калибровочной кривой на оси абсцисс откладывают содержание белка в растворе (в миллиграммах на сантиметр кубический), на оси ординат – величину оптической плотности.

Обработка результатов. По величине оптической плотности белковой вытяжки определяют массовую долю белка с помощью калибровочной кривой. Результат выражают в процентах на сухие вещества.

2.3. Углеводы

Углеводы широко распространены в природе, они встречаются в свободной или связанной форме в любой растительной, животной или бактериальной клетке. Углеводы составляют три четверти биологического мира и примерно 60–80% калорийности пищевого рациона.

Углеводы подразделяются на три основные группы: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

Моносахариды обычно содержат от 3 до 9 атомов углерода, причем наиболее распространены пентозы и гексозы. По функциональной группе они делятся на альдозы и кетозы. Среди моносахаридов широко известны глюкоза, фруктоза, галактоза, арабиноза, ксилоза и D-рибоза.

Олигосахариды – это полисахариды первого порядка, молекулы которых содержат от 2 до 10 остатков моносахаридов, соединенных гликозидными связями. В соответствии с этим различают дисахариды, трисахариды и т. д. Среди дисахаридов наибольший интерес представляют мальтоза, сахароза и лактоза. Среди природных трисахаридов наиболее известна раффиноза (содержащая остатки фруктозы, глюкозы и галактозы). Она находится в значительных количествах в сахарной

свекле и во многих других растениях, в частности бобовых. В целом олигосахариды, присутствующие в растительных тканях, разнообразнее по своему составу, чем олигосахариды животных тканей.

Высшие полисахариды состоят из большого числа моносахаридов и их производных. Их с точки зрения общих принципов строения можно разделить на две группы: гомополисахариды, состоящие из моносахаридных единиц только одного типа, и гетерополисахариды, для которых характерно наличие двух или более типов мономерных звеньев.

С точки зрения функционального назначения полисахариды могут быть разделены на структурные и резервные. Важным структурным полисахаридом является целлюлоза, а главные резервные полисахариды – гликоген и крахмал (у животных и растений соответственно).

В настоящее время они делятся на две группы – усвояемые (крахмал, декстрины, пектиновые вещества, камеди) и неусвояемые, которые в настоящее время чаще называют «пищевыми волокнами» (целлюлоза).

Углеводы являются в основном энергетическим компонентом пищи. Они поставляют в среднем 60% калорийности рациона. Потребность в усвояемых углеводах для «среднего» человека составляет около 380 г, включая крахмал и около 50–100 г простых сахаров.

Углеводы имеют большое значение как энергетический компонент пищи, а также играют большую роль в пищевых продуктах и пищевой технологии. Углеводы, особенно крахмал и сахароза, обеспечивают основную часть калорийности рациона и вносят значительный вклад в сенсорную оценку пищевых продуктов, в текстуру продуктов, поскольку способны влиять на вязкость, кристаллизацию, гелеобразование, стабильность. Углеводы влияют на приятные ощущения во рту благодаря сладости, на цвет и аромат пищевых продуктов благодаря их способности претерпевать химические превращения с образованием окрашенных и ароматических веществ.

Методы определения. Для определения моно- и олигосахаридов используют их восстанавливающую способность. Сначала их извлекают из пищевых продуктов 80%-ным этиловым

спиртом. Спиртовые экстракты упаривают под вакуумом, разбавляют горячей водой и фильтруют. При анализе продуктов, относительно богатых белками и фенольными соединениями, фильтрат дополнительно обрабатывают нейтральным раствором ацетата свинца, избыток которого удаляют сульфатом, фосфатом или оксалатом натрия. Осадок отфильтровывают, а в фильтрате определяют восстанавливающие (редуцирующие) сахара с использованием гексацианоферрата (III) калия, фелинговой жидкости или йодометрически. Сахарозу (вместе с редуцирующими сахарами) необходимо предварительно гидролизовать для определения ее в пищевых продуктах.

Качественный и количественный анализ отдельных сахаров проводят методами газожидкостной, ионообменной или высокого разрешения жидкостной хроматографии.

Определение крахмала основано, как правило, на определении полученной при гидролизе глюкозы химическими методами или на способности полученных растворов вращать плоскость поляризации. Для определения крахмала необходимо предварительно освободиться от моно- и олигосахаридов экстракцией 80%-ным этанолом. Затем провести извлечение крахмала из продукта каким-либо способом (например, растворением сначала в холодной, потом в горячей воде), освободиться от белков путем обработки раствора фосфорно-вольфрамовой кислотой, ацетатом цинка, гексацианоферратом (III) калия или другими белковыми осадителями. Определение крахмала проводят, как правило, путем определения глюкозы после ферментативного или кислотного гидролиза. Для расчета используют соответствующие коэффициенты. Для определения крахмала применяется метод поляриметрии.

Декстрины определяют по содержанию глюкозы, используя соответствующие коэффициенты. С этой целью их извлекают теплой (40°C) водой, осаждают 96%-ным этанолом и проводят гидролиз.

Используют метод спектрофотометрии, измеряя интенсивность окраски йод-крахмального комплекса.

Общее содержание пищевых волокон (лигнина и неусваиваемых углеводов) обычно определяют гравиметрическим методом. Анализ заключается в использовании фракционирования –

сначала растворяют крахмал и белки при помощи ферментов, имитирующих расщепление их в желудочно-кишечном тракте человека (α -амилаза, пепсин, панкреатин), растворимые пищевые волокна осаждают спиртом, фильтруют, осадок взвешивают.

Определение пектина основано на извлечении пектина (растворимого пектина и протопектина) из пищевого продукта, осаждении и взвешивании. Для извлечения растворимого пектина применяют экстракцию холодной водой с последующим кипячением. Для извлечения протопектина применяют кипячение с соляной кислотой после извлечения растворимого пектина.

Гемицеллюлозы (полуклетчатка) гидролизуются труднее, чем пектин, поэтому их определяют после удаления пектинов. Определение гемицеллюлоз основано на определении восстанавливающих сахаров, полученных при кислотном или щелочном гидролизе. Для расчета используются соответствующие коэффициенты.

Метод определения клетчатки основан на проведении гидролиза легкорастворимых углеводов при соответствующих условиях и получении негидролизованного остатка, который взвешивают.

Лабораторная работа № 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРАХМАЛА ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Цель работы: определить содержание крахмала в пищевых продуктах поляриметрическим методом.

Средства испытаний: сахариметр или поляриметр; мельница лабораторная; сито № 08; секундомер; весы лабораторные 2-го класса точности; весы лабораторные; соляная кислота, раствор массовой концентрацией 11,24 г/дм³, для анализа картофеля – 3,77 г/дм³; калий железистосинеродистый, раствор массовой концентрацией 150 г/дм³; раствор сульфата цинка массовой концентрацией 150 г/дм³; раствор аммония молибдата массовой концентрацией 100 г/дм³; раствор натрия молибдата массовой концентрацией 150 г/дм³; фосфорно-вольфрамовая кислота, раствор массовой концентрацией 40 г/дм³.

1. Общие сведения

Основными видами крахмалсодержащего сырья являются картофель, зерно и продукты его переработки (крупа, мука). Содержание крахмала в картофеле составляет в среднем 17,5% (или 70–80% его сухой массы).

Крахмал на 96,1–97,7% состоит из полисахаридов, образующихся при кислотном гидролизе глюкозы. Поэтому существующие методы количественного определения крахмала основываются на использовании различных свойств глюкозы: ее редуцирующей способности, оптической активности и др.

Наиболее распространенными методами являются поляриметрические, колориметрические, гравиметрические.

В крахмало-паточной, бродильной и других отраслях пищевой промышленности получили распространение поляриметрические методы.

Крахмал для определения содержания его в растительном сырье указанными методами необходимо предварительно перевести в растворимое состояние и гидролизовать, что достигается обработкой исследуемого объекта либо соляной кислотой, или хлоридом кальция. С целью удаления сопутствующих веществ, мешающих определению (в основном белков), и для осветления полученного гидролизата раствор обрабатывают реактивом – осадителем: фосфорно-вольфрамовой, пикриновой кислотами, молибдатом аммония, реактивом Карреза (смесью растворов солей гексацианоферрата (II) калия и сульфата цинка). Затем прозрачный раствор поляриметрируют.

Поляриметрией называют метод, основанный на определении оптического вращения плоскости поляризации света раствором оптически активного вещества. Оптическому вращению подвергается поляризованный свет, отличающийся тем, что колебания световых волн в нем происходят только в одной плоскости, а в неполяризованном – во всех плоскостях. Плоскость, в которой происходят колебания волн поляризованного света, называют плоскостью поляризации. Отклонение плоскости поляризации в угловых градусах называют углом вращения плоскости поляризации. Угол вращения зависит от природы вещества, его концентрации, толщины слоя, длины волны, температуры. При измерении угла вращения одного и того же

вещества в специальных кюветах при постоянной температуре угла вращения значение зависит только от концентрации.

Способность вещества вращать плоскость поляризации характеризуют удельным вращением – вращением плоскости поляризации в правую или левую сторону, происходящим при прохождении поляризованного света через слой раствора в 1 дм, имеющего концентрацию 1 г/см³ (кг/дм³). Удельное вращение обозначают $[\alpha]_d^{20}$, буква «Д» указывает на используемую при измерениях длину волны света линии Д в спектре натриевой лампы, а индекс 20 обозначает температуру раствора, обычно равную 20°C. Правое удельное вращение обозначают знаком «+», левое – знаком «-» (табл. 13).

Таблица 13

**Значения удельного вращения $[\alpha]_d^{20}$
некоторых веществ в воде**

Вещество	$[\alpha]_d^{20}$	Вещество	$[\alpha]_d^{20}$
Глюкоза	+53,1	Молочный сахар	+53,5
Сахароза	+66,4	Миндальная кислота	+156,0
Фруктоза	-93,0	Никотин	-164,0
Аскорбиновая кислота	+23,0		

Удельное вращение определяют по формуле

– для жидкости:

$$[\alpha]_d^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot \rho},$$

– для растворов:

$$[\alpha]_d^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{C \cdot l},$$

где α – угол вращения, град; l – толщина слоя жидкости, дм; C – концентрация раствора, % ; ρ – плотность жидкости, кг/дм³.

Измерение угла вращения проводят на специальных приборах – поляриметрах. Удельное вращение является константой, используемой для идентификации веществ.

Расчет концентрации оптически активных веществ в растворе, если известно его удельное вращение, производят по формуле

$$C = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_{\text{д}}^{20} \cdot l},$$

где $[\alpha]_{\text{д}}^{20}$ – удельное вращение, град.

Поляриметрию применяют для определения концентрации оптически активных веществ, их идентификации и обнаружения фальсификации продовольственных товаров. Общий вид поляриметра кругового СМ-3 представлен на рис. 7.

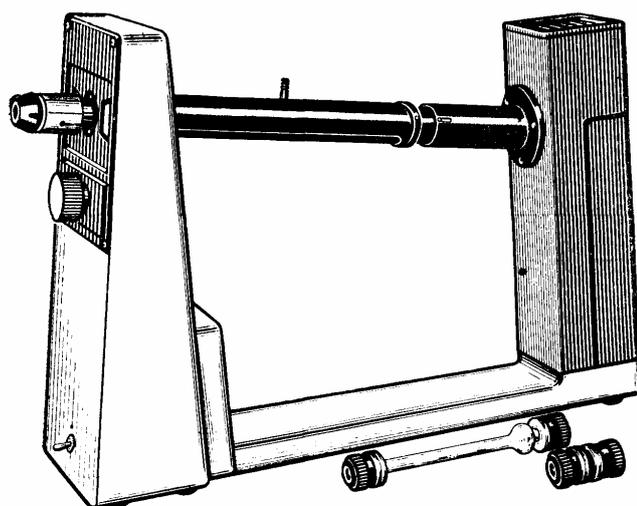


Рис. 7. Общий вид поляриметра СМ-3

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Пробы, влажность которых превышает 17%, предварительно подсушивают на воздухе или в сушильном шкафу при температуре воздуха не более 50°C. Пробу тщательно перемешивают, измельчают до такой степени, чтобы весь размолотый материал прошел при просеивании через сито из проволоочной сетки № 8.

Одновременно с взятием навесок для анализа берут навески для определения влажности по действующим для данного продукта ТНПА.

Проведение испытаний. Из аналитической пробы берут навеску массой 5 г с погрешностью не более $\pm 0,01$ г, помещают в 100 см³ центрифужный стакан, доливают 18 см³ 10%-ного раствора этанола и перемешивают стеклянной палочкой. Стеклянную палочку ополаскивают 2 см³ раствора этанола. Закрывают

центрифужный стакан резиновой пробкой и вручную сильно встряхивают в течение 2 мин.

После встряхивания стенки центрифужного стакана и резиновую пробку ополаскивают 25 см³ этанола. Затем в течение 20 мин пробу центрифугируют при 4000 об/мин, после чего прозрачный центрифугат сливают. К остатку постепенно добавляют 20 см³ соляной кислоты с концентрацией 11,24 г/дм³, перемешивают стеклянной палочкой до образования суспензии и переносят в мерную колбу на 100 см³. Прилипшие к стенкам центрифужного стакана и к стеклянной палочке остатки пробы многократно ополаскивают раствором соляной кислоты в мерную колбу; общее количество раствора соляной кислоты составляет 50 см³.

Мерную колбу при постоянном встряхивании погружают в кипящую водяную баню. По секундомеру встряхивают мерную колбу в течение 3 мин, при этом колбу из водяной бани не поднимают. После этого выдерживают колбу без встряхивания для всех крахмалосодержащих продуктов, кроме картофеля, 12 мин (при определении массовой доли крахмала в картофеле – 27 мин) по секундомеру.

По истечении в общей сложности 15 мин для всех крахмалосодержащих продуктов, кроме картофеля (для картофеля – 30 мин), колбу вынимают из бани и быстро приливают столько холодной воды, чтобы до мерной черты оставался объем не более 10–15 см³. Содержимое колбы охлаждают в проточной воде до температуры 20°C.

Белковые вещества в растворе осаждают добавлением 2 см³ раствора калия железистосинеродистого (150 г/дм³) и после перемешивания 2 см³ раствора цинка сульфата с концентрацией 150 г/дм³ (или 5 см³ раствора аммония молибдата (100 г/дм³), либо 5 см³ раствора фосфорновольфрамовой кислоты (40 г/дм³), или 3 см³ раствора натрия молибдата с концентрацией 165 г/дм³). Затем мерную колбу в течение 10–15 мин выдерживают при комнатной температуре, доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают в течение 5 мин и дают отстояться. Содержимое колбы через сухой складчатый фильтр фильтруют в сухую коническую колбу, первые несколько капель фильт-

рата отбрасывают. Прозрачным фильтром заполняют трубку поляриметра и в поляриметре измеряют оптическое вращение. Угол вращения испытуемого раствора в трубке поляриметра измеряют 5 раз.

До начала и после каждого второго измерения производят контроль установки поляриметра на нуль. Средняя величина 5 измерений используется для дальнейших вычислений массовой доли крахмала.

Обработка результатов. Массовую долю крахмала X , %, вычисляют по следующим формулам.

При использовании сахариметра с нормальной шкалой:

$$X = K \cdot a,$$

или при использовании поляриметра с круговой шкалой:

$$X = \frac{K \cdot a}{0,3468},$$

где K – переводной коэффициент, который при длине трубки 2 дм равен: для пшеницы – 1,898, кукурузы – 1,879, ржи – 1,885, ячменя – 1,912, риса – 1,866, проса – 1,818, гречихи – 1,805, картофеля – 1,855, вики, гороха, чечевицы – 1,747, овса – 1,914; a – показатель сахариметра или поляриметра в градусах шкалы (переводные коэффициенты K для длины трубки 1 дм умножают на 2).

Допустимые расхождения между результатами двух параллельных определений (r) не должны превышать значений: $r = 0,03 + 0,04X_1$, но не более 0,5% абсолютного содержания крахмала в продукте, где X_1 – среднее арифметическое двух параллельных определений.

Лабораторная работа 9 **ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ РЕДУЦИРУЮЩИХ** **ВЕЩЕСТВ, ОБЩЕГО САХАРА И САХАРОЗЫ**

Цель работы: освоить методы определения редуцирующих веществ, общего сахара и сахарозы в пищевых продуктах; определить их содержание гексацианоферратным методом.

Средства испытаний: фотоколориметр; весы лабораторные 2-го класса точности; глюкоза кристаллическая гидратная;

гексацианоферрат (III) калия; гидроксид калия или гидроксид натрия, раствор концентрацией NaOH (или KOH) 2,0 М и 1,25 М; кислота хлороводородная, раствор с концентрацией 1 М; хлорид натрия; метиленовый голубой, индикатор (1 г растворяют в 100 см³ дистиллированной воды и фильтруют); сахароза или сахар-рафинад; раствор сульфата цинка концентрацией 0,5 М.

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

1. Общие сведения

Для определения редуцирующих веществ, общего сахара и сахарозы используют фотоколориметрический метод.

Фотоколориметрический анализ отличается достаточно высокой чувствительностью (до $1 \cdot 10^{-12}$ моль/л), воспроизводимостью, избирательностью, простотой выполнения, дешевизной аппаратуры, благодаря чему получил широкое распространение.

На пути светового потока в фотоколориметрах ставятся светофильтры, которые пропускают определенную часть спектра. Светофильтры имеют узкую полосу пропускания и применяются для выделения области спектра, максимально поглощаемой веществом, благодаря чему уменьшаются ошибки и повышается избирательность определений.

Кюветы, применяемые в фотоколориметрии, готовят из кварца или специальных сортов стекла, они имеют определенную толщину, которая учитывается при расчетах.

Определение концентрации растворов на фотоколориметрах проводят обычно с помощью калибровочного графика, методами добавок, сравнения, реже другими методами.

Измерение оптической плотности растворов проводят на фотометре электрическом марки КФК-3, КФК-2МП (рис. 8).

Фотометр электрический КФК-2МП предназначен для измерения коэффициента пропускания и оптической плотности прозрачных жидкостных растворов, скорости изменения оптической плотности, концентрации вещества в растворе. Спектральный диапазон работы фотометра от 315 до 990 нм. Пределы измерения: а) коэффициент пропускания – 0,1–100%; б) оптическая плотность – 0–3.

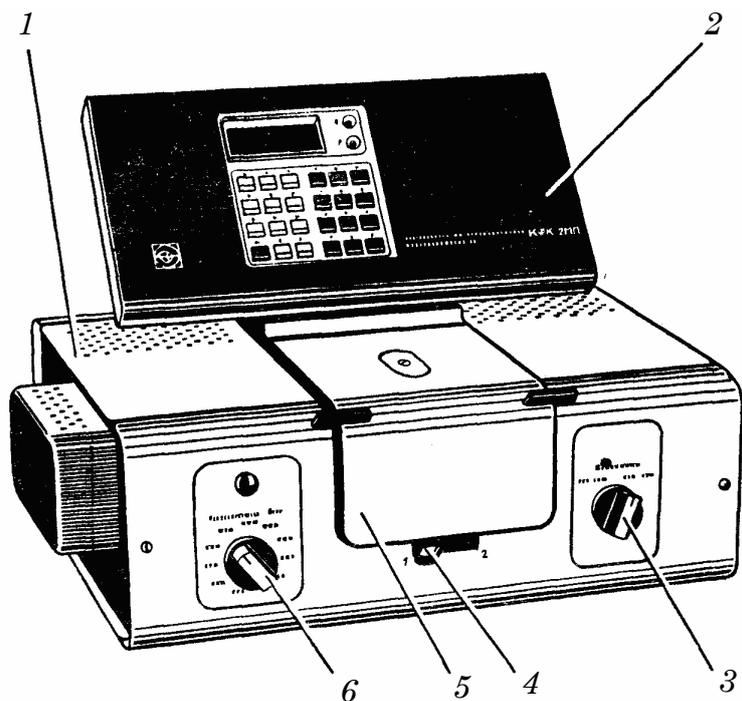


Рис. 8. Фотометр электрический марки КФК-2МП:

- 1 – колориметрический блок;
- 2 – вычислительный блок;
- 3, 4, 6 – ручки; 5 – крышка

Источник излучения – лампа галогенная. Приемник излучения – фотодиод. Рабочая длина кювет 10, 20, 30 мм, объем кювет соответственно 5, 9, 14 см³.

Принцип действия фотометра основан на сравнении светового потока Φ_0 , прошедшего через растворитель или контрольный раствор, и светового потока Φ , прошедшего через исследуемую среду.

Световые потоки Φ_0 и Φ фотоприемником преобразуются в электрические сигналы, которые обрабатываются микро-ЭВМ фотометра и представляются на цифровом табло в виде коэффициента пропускания, оптической плотности, концентрации.

Определение содержания редуцирующих веществ, общего сахара и сахарозы основано на колориметрировании избытка щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия после реакции с редуцирующими сахарами продукта. При этом гексацианоферрат (III) восстанавливается до гексацианоферрата (II), что ведет к ослаблению окраски, так как $K_3[Fe(CN)_6]$ окрашен значительно интенсивнее, чем $K_4[Fe(CN)_6]$.

Подготовка к испытаниям. Приготовление раствора гексацианоферрата (III) калия – основной реактив. Взвешивают 8 г $K_3[Fe(CN)_6]$ и 20 г NaOH (или 28 г KOH). Отдельно растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды. Затем оба раствора сливают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор готов к использованию через сутки. Раствор можно хранить в склянке из темного стекла в течение 2 мес.

Приготовление стандартного раствора глюкозы. 1,6000 г безводной глюкозы взвешивают с точностью до 0,0002 г и растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 см³. Предварительно глюкозу выдерживают в эксикаторе над свежепрокаленным хлоридом кальция в течение 3 сут. После растворения навески раствор в колбе доводят до метки. Если раствор готовят на месяц, необходимо внести в колбу 150 г хлорида натрия и хранить в холодильнике.

Построение градуированного графика. В 6 конических колб вместимостью 100 см³ вносят пипеткой по 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия и по 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5 см³ стандартного раствора глюкозы. Из бюретки соответственно приливают 9,0; 8,5; 8,0; 7,5; 7,0; 6,5 см³ дистиллированной воды, тем самым доводят объем жидкости в каждой колбе до 41 см³. Содержимое каждой колбы нагревают до кипения за 3 мин и кипятят в течение 1 мин, закрыв часовым стеклом. Затем охлаждают и измеряют оптическую плотность на ФЭК со светофильтром, имеющим $\lambda_{эф} = 440$ нм (синий светофильтр). Раствором сравнения служит дистиллированная вода. Кювету (10, 20 или 30 мм) подбирают такого размера, чтобы оптическая плотность была в пределах 0,3–0,6 оптической плотности раствора, содержащего 8,5 см³ раствора глюкозы. Оптическую плотность определяют в каждом растворе не менее 3 раз и из полученных данных берут среднее арифметическое значение. Строят график зависимости величины оптической плотности от концентрации глюкозы в растворе. Полученный график используют для определения содержания общего сахара, восстанавливающих сахаров и сахарозы.

Приготовление исследуемого раствора. Продукт тщательно измельчают в ступке. Затем готовят его водную вытяжку. Массу навески m , г, рассчитывают по формуле

$$m = \frac{C \cdot V}{P},$$

где C – оптимальная для данного метода концентрация сахаров в водной вытяжке на 100 см³ (принимают равной 0,16 г); V – вместимость колбы, см³; P – предполагаемое содержание общего сахара в объекте исследования, %.

Растворение навески и осаждение нес сахаров проводят следующим образом. Образец измельченного исследуемого изделия взвешивают с погрешностью не более 0,01 г из такого расчета, чтобы в 100 см³ полученного раствора содержалось 0,3–0,4 г редуцирующих веществ. Массу навески m , г, вычисляют по формуле

$$m = \frac{C \cdot V}{P},$$

где C – оптимальное содержание редуцирующих веществ в 100 см³ раствора навески, г; V – вместимость мерной колбы, см³; P – предполагаемая массовая доля редуцирующих веществ в исследуемом изделии, %.

Навеску растворяют в стакане в дистиллированной воде, нагретой до 60–70°C. Если продукт растворяется без остатка, то полученный в стакане раствор охлаждают и переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и хорошо перемешивают. Если продукт в своем составе имеет вещества, нерастворимые в воде (мешающие нес сахаров – белки, жиры, пектины, крахмал и т. д.), то навеску в стакане переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³, смывая нерастворимые частицы в колбу дистиллированной водой примерно до половины объема колбы. Органические кислоты, содержащиеся в навеске, нейтрализуют раствором углекислого натрия до рН 7,0, применяя для контроля универсальную индикаторную или лакмусовую бумагу. Колбу помещают в водяную баню, нагретую до 60°C, при этой температуре, временами взбалтывая, выдерживают в течение 15 мин. Охладив раствор до комнатной температуры, осаждают мешающие нес сахаров, прибавляя к раствору в колбе 10 см³ 1 М раствора сульфата цинка, если масса навески была менее 5 г, и 15 см³, если масса навески была более 5 г, и такой

объем 1 М раствора гидроксида натрия, который установлен отдельным опытом при титровании соответствующего объема раствора сульфата цинка с фенолфталеином.

Содержимое колбы взбалтывают, доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют в сухую колбу, которую предварительно ополаскивают 1–2 раза небольшой порцией фильтрата.

Допускается осаждение несахаров другими осадителями: растворами ацетата свинца и фосфата (или сульфата) натрия и растворами гексацианоферрата (II) калия и ацетата цинка. При осаждении несахаров ацетатом свинца к охлажденному до комнатной температуры раствору прибавляют мерным цилиндром 7 см³ раствора ацетата свинца, хорошо перемешивают и оставляют стоять 5 мин. Появление прозрачного слоя жидкости над осадком указывает на полноту осаждения, в противном случае вносят дополнительно по каплям раствор ацетата свинца до появления прозрачного слоя жидкости. Затем в эту же колбу для удаления избытка ацетата свинца вносят 18–20 см³ раствора фосфата (или сульфата) натрия.

Содержимое колбы взбалтывают, осадку дают отстояться. Для осаждения избытка ацетата свинца фосфатом натрия достаточно 10 мин. При мутном растворе жидкость отстаивается 24 ч. После отстаивания проверяют полноту осаждения, приливая по стенке горлышка колбы нескольких капель раствора фосфата или сульфата натрия. При помутнении жидкости прибавляют дополнительно один из указанных выше растворов (1–2 см³), затем содержимое колбы взбалтывают, дают отстояться и снова проверяют полноту осаждения. При отсутствии помутнения в месте соприкосновения жидкостей содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют в сухую колбу.

При осаждении несахаров раствором гексацианоферрата (II) калия к охлажденному до комнатной температуры раствору прибавляют пипеткой 2 см³ раствора гексацианоферрата (II) калия, взбалтывают, добавляют 2 см³ раствора ацетата цинка, снова взбалтывают и дают отстояться 5 мин. Если раствор над осадком остается мутным, добавляют большее количество указанных растворов в равных объемах. Содержимое колбы дово-

дят водой до метки, перемешивают и фильтруют в сухую колбу. Во всех случаях фильтрат должен быть прозрачным.

Проведение испытаний. *Определение восстанавливающих сахаров.* В коническую колбу вместимостью 100–150 см³ вносят 10 см³ раствора пробы, 6 см³ дистиллированной воды и затем 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата калия. Колбу нагревают до кипения за 3 мин, кипятят 1 мин, охлаждают и измеряют оптическую плотность при $\lambda = 440$ нм. Раствор сравнения – дистиллированная вода. Кювету берут размером, аналогичным взятому для построения градуировочного графика. Если оптическая плотность раствора не попадает в интервал 0,3–0,6, необходимо взять меньшую аликвоту пробы или поменять разведение, сохраняя постоянный объем жидкости в реакционной колбе, равным 41 см³. Пользуясь градуировочным графиком и ниже приведенной формулой, вычисляют результаты.

Определение общего сахара. Для определения общего сахара проводят гидролиз сахарозы. В реакционную коническую колбу вместимостью 100–150 см³ отмеривают пипеткой 10 см³ приготовленной вытяжки объекта и 4 см³ 1 М раствора хлороводородной кислоты. Колбу ставят на электроплитку, жидкость доводят до кипения и кипятят 1 мин, охлаждают до комнатной температуры. Затем в колбу вносят 2 см³ 2 М раствора гидроксида натрия (или калия) для нейтрализации кислоты и затем 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия. Содержимое колбы доводят до кипения и кипятят 1 мин. После охлаждения заполняют полученным раствором кювету и определяют оптическую плотность так же, как и при снятии градуировочного графика. Поскольку при значении оптической плотности в интервале 0,3–0,6 получают более точные результаты, то при других значениях оптической плотности анализ повторяют, соответственно изменив объем вводимой водной вытяжки объекта исследования, добавив воду так, чтобы общий объем оставался равным 10 см³.

Обработка результатов. Содержание сахара X_{pc} , %, выраженное в глюкозе, вычисляют по формуле

$$X_{pc} = \frac{m \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot m},$$

где m – количество глюкозы, найденное по градуировочному графику, мг; V – объем исследуемого раствора, приготовленного из навески, см³; V_1 – объем раствора, взятый для реакции с гексацианоферратом калия, см³; m – масса навески объекта исследования, мг.

Для определения содержания общего сахара, выраженного в сахарозе, результат, полученный по формуле, умножают на 0,95. Если калибровку проводят с использованием раствора гидролизованной сахарозы, результат сразу выражают в процентах сахарозы. Для расчета содержания сахарозы из данных анализа общего сахара, выраженного в глюкозе, вычитают результат анализа содержания восстанавливающих сахаров и разницу умножают на коэффициент 0,95.

Вычисления проводят до второго десятичного знака. За результат измерения принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений (X_1) и выражают целым числом с одним десятичным знаком.

Допустимые расхождения между результатами двух параллельных (r) определений не должны превышать $r = 0,02 + 0,03X$, но не более 0,5% абсолютного содержания сахара в продукте, где X – среднее арифметическое значение двух параллельных определений.

ТИТРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Метод основан на титровании избытка гексацианоферрата калия стандартным раствором глюкозы в присутствии метиленового голубого до полного обесцвечивания.

Подготовка к испытаниям. Подготовку к анализу проводят аналогично описанному выше.

Проведение испытаний. Определение восстанавливающих сахаров. В коническую колбу вместимостью 100–150 см³ вносят 10 см³ раствора пробы, 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата калия. Колбу нагревают до кипения за 3 мин, кипятят ровно 3 мин и вводят 2 капли метиленового голубого, дотитровывают без прекращения кипячения раствором глюкозы до исчезновения синей окраски. Содержание сахаров определяют по формуле, представленной выше.

Холостой опыт проводят в тех же условиях, отбирая вместо 10 см³ раствора пробы 10 см³ стандартного раствора глюкозы.

Количество стандартного раствора глюкозы VI, пошедшее на титрование 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия, суммируется как 10 см³ глюкозы, взятой на анализ, и объем глюкозы, который пошел на дотитрование.

Определение общего сахара. Проводят предварительный гидролиз сахарозы аналогично описанному выше. Затем вносят 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия и далее проводят кипячение и титрование, как и для определения восстанавливающих сахаров.

Обработка результатов. Содержание общего сахара X_{oc} , %, выраженное в глюкозе, вычисляют по формуле

$$X_{oc} = \frac{1,6(V_1 - V_2)V_k \cdot 100}{V_B m},$$

где 1,6 – количество глюкозы в 1 см³ раствора, мг; V_1 – количество стандартного раствора глюкозы, пошедшее на титрование 25 см³ щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия в холостом опыте, см³; V_2 – количество стандартного раствора глюкозы, пошедшее на дотитрование, см³; V_k – вместимость мерной колбы, используемой для приготовления водной вытяжки, см³; V_B – объем исследуемого раствора, взятый для анализа, см³; m – масса навески объекта исследования, мг.

Для определения содержания общего сахара, выраженного в сахарозе, результат, полученный по формуле, умножают на 0,95. Если калибровку проводят с использованием раствора гидролизованной сахарозы, результат сразу выражают в процентах сахарозы. Для расчета содержания сахарозы из данных анализа общего сахара, выраженного в глюкозе, вычитают результат анализа содержания восстанавливающих сахаров и разницу умножают на коэффициент 0,95.

Вычисления проводят до второго десятичного знака. За результат измерения принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений и выражают целым числом с одним десятичным знаком.

Допустимые расхождения между результатами двух параллельных (r) определений не должны превышать $r = 0,03 +$

+ 0,035X, но не более 0,5% абсолютного содержания сахара в продукте, где X – среднее арифметическое значение двух параллельных определений.

Лабораторная работа № 10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ДЕКСТРИНОВ

Цель работы: определить массовую долю декстринов в пищевом продукте.

Средства испытаний: весы лабораторные 2-го класса точности; мельница лабораторная; спектрофотометр или фотоэлектроколориметр; раствор йода концентрацией 0,005 н.

1. Общие сведения

Декстрины – это полисахариды разной молекулярной массы – промежуточные продукты при кислотном или ферментативном гидролизе крахмала. Они растворимы в воде, оптически активны: вращают плоскость поляризации вправо. Декстрины, получаемые на первых стадиях гидролиза крахмала, мало отличаются от него размерами молекулы и свойствами. По мере дальнейшего гидролиза молекулярная масса декстринов понижается.

В зависимости от молекулярной массы различают следующие виды декстринов:

– амилодекстрины, представляющие собой белые порошки, растворимые в 25%-ном растворе спирта, но осаждаемые 40%-ным раствором спирта. Величина удельного вращения амилодекстринов $[\alpha]_d^{20}$ колеблется от +190 до +196°; амилодекстрины образуют с раствором йода комплексные соединения фиолетово-синего цвета;

– эритродекстрины, растворимые в 55%-ном растворе этилового спирта, но осаждаемые при концентрации спирта, равной 65%. Эритродекстрины образуют с раствором йода комплексные соединения красно-бурого цвета. Величина удельного вращения эритродекстринов $[\alpha]_d^{20} = +194^\circ$;

– ахроодекстрины, растворяемые в 70%-ном растворе спирта и имеющие величину удельного вращения $[\alpha]_d^{20} = +192^\circ$, с раствором йода комплексных окрашенных соединений не образуют;

– мальтодекстрины спиртом не осаждаются, имеют величину удельного вращения $[\alpha]_d^{20}$ от +181 до +183°, с раствором йода комплексных окрашенных соединений не образуют.

Декстрины оказывают большое влияние как на технологические процессы производства пищевых продуктов, так и на их качество. Например, для повышения вязкости растворов в кондитерском производстве используют низкосахаренную карамельную патоку, содержащую до 55–60% декстринов, которые выполняют роль антикристаллизаторов сахарозы и способствуют получению карамельной массы высокого качества.

В сахарном производстве декстрины играют отрицательную роль, так как тормозят кристаллизацию сахарозы, повышают потери ее с патокой.

В хлебопекарном производстве повышенное содержание декстринов в пшеничной муке или тесте приводит к резкому снижению качества готовых изделий: хлеб получается с липким заминающимся мякишем. Содержание декстринов в крахмалсодержащих продуктах является важным показателем, характеризующим глубину повреждения нативной структуры крахмала в процессе переработки сырья: в мукомольной промышленности – степень механического повреждения крахмала в процессе размола зерна; в крупяной и комбикормовой – степень деструкции крахмала в процессе гидротермической обработки зерна; в крахмало-паточной – глубину гидролиза крахмала и т. д.

Методы определения декстринов, как правило, трудоемки и длительны. В связи с этим большой интерес представляет метод, основанный на способности декстринов давать окрашенные комплексы с йодом.

Метод используется для определения декстринов в объектах крупяной, комбикормовой, мукомольной и хлебопекарной промышленности.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. При необходимости пересчета результата на сухое вещество следует определить влажность продукта в соответствии с действующими методиками.

Проведение испытаний. 10–15 г зерна измельчают на лабораторной мельнице. Взвешивают с погрешностью до 0,01 г 2 г измельченной пробы, прошедшей через сито с размерами ячеек 1 мм. Пробу количественно переносят в стакан механической мешалки, добавляют 200 см³ дистиллированной воды и экстрагируют в течение 5 мин при интенсивном перемешивании (3000 с⁻¹). Затем смесь фильтруют. В фильтрате определяют содержание декстринов. Для этого в химический стакан вместимостью 50 см³ переносят пипеткой 5 см³ фильтрата, добавляют 5 см³ 0,005 н раствора йода и определяют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре или на фотоэлектроколориметре при длинах волн 660 нм и 530 нм.

Обработка результатов. Содержание декстринов и амилозы в растворе вычисляют по эмпирическим формулам:

$$C_A = 0,044D_{660} - 0,0123D_{530},$$

$$C_D = 2D_{660} - 47,7C_A,$$

где C_A – концентрация амилозы в растворе, мг/мл; C_D – концентрация декстринов в растворе, мг/мл; D_{660} и D_{530} – оптические плотности раствора при длине волны 660 и 530 нм.

Затем содержание декстринов и амилозы пересчитывают на сухие вещества (в процентах) по формулам:

$$A = 2 \cdot 10^6 \cdot C_A / (100 - W),$$

$$D = 2 \cdot 10^6 \cdot C_D / (100 - W),$$

где A – массовая доля амилозы в пересчете на сухие вещества, %;
 D – массовая доля декстринов в пересчете на сухие вещества, %;
 W – массовая доля влаги в продукте, %.

Лабораторная работа № 11 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КЛЕТЧАТКИ (ЦЕЛЛЮЛОЗЫ)

Цель работы: определить содержание целлюлозы в пищевых продуктах.

Средства испытаний: весы лабораторные 4-го класса точности; сушильный шкаф; азотная кислота с плотностью 1,4 г/см³; 80%-ная уксусная кислота; песчаная баня; стеклянный фильтр

№ 2; спиртовой раствор гидроксида натрия концентрацией 0,2 М; смесь спирта и эфира.

1. Общие сведения

По своему распространению в растениях клетчатка занимает первое место среди всех органических веществ. Она представляет собой высокомолекулярный полисахарид, состоящий из остатков β -*d*-глюкозы, связанной глюкозидной связью по первому и четвертому углеродным атомам. Молекулы клетчатки, имеющие нитевидный характер, соединяются в пучки, называемые мицеллами. Каждая мицелла состоит приблизительно из 60 молекул клетчатки, соединенных водородными связями, которые осуществляются как за счет водородных атомов гидроксильных групп клетчатки, так и за счет адсорбированных клетчаткой молекул воды. Клетчатка в воде не растворяется, но набухает. При кипячении с крепкой серной кислотой она полностью расщепляется на глюкозу. При более слабом гидролизе клетчатка распадается на дисахарид целлобиозу.

Клетчатка гидролизуеться до целлобиозы также ферментом целлюлазой, которая содержится в проросшем зерне, в некоторых бактериях и плесневых грибах. Активная целлюлаза содержится и в бактериях желудка жвачных животных, что создает для них возможность усваивать клетчатку.

Клетчатка (целлюлоза) является соединением весьма прочным, трудно поддающимся воздействию даже концентрированных растворов кислот и оснований. На этом свойстве и основаны все методы ее определения.

Универсальный метод определения содержания клетчатки основан на окислении, разрушении и растворении различных химических соединений, входящих в состав анализируемого продукта, смесью уксусной и азотной кислот. При этом клетчатка практически не растворяется, отфильтровывается и взвешивается.

2. Порядок проведения испытаний

Проведение испытаний. 1 г измельченного продукта, взвешенного с погрешностью до $\pm 0,0002$ г, переносят в колбу

вместимостью 120 см³, приливают 40 см³ смеси кислот (3,6 см³ азотной кислоты плотностью 1,4 и 36,4 см³ 80%-ного раствора уксусной кислоты) и, закрыв колбу обратным холодильником, нагревают на песчаной бане 1 ч. Содержимое колбы в горячем состоянии фильтруют через стеклянный фильтр № 2, предварительно высушенный до постоянной массы при 105–108°C и взвешенный.

Осадок после отсасывания экстракта промывают 1–2 раза горячим 0,2 М спиртовым раствором гидроксида натрия, затем несколько раз – небольшими порциями дистиллированной воды и затем 10 см³ смеси спирта с эфиром. Тигли с чисто-белым осадком сушат до постоянной массы при 100–105°C, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Обработка результатов. Масса высушенного осадка (m_1) равна массе клетчатки.

Массовую долю клетчатки X , %, рассчитывают по формуле

$$X = \frac{m_0}{m_1} \cdot 100,$$

где m_0 – масса осадка; m_1 – масса навески образца.

За результат принимают среднее арифметическое двух параллельных измерений.

2.4. Минеральные вещества

Многие элементы в виде минеральных солей, ионов, комплексных соединений и органических веществ входят в состав живой материи и являются незаменимыми нутриентами, которые должны ежедневно потребляться с пищей.

Роль минеральных веществ в организме человека чрезвычайно разнообразна несмотря на то, что они не являются обязательным компонентом питания. Минеральные вещества содержатся в протоплазме и биологических жидкостях, играют основную роль в обеспечении постоянства осмотического давления, что является необходимым условием для нормальной жизнедеятельности клеток и тканей. Они входят в состав сложных органических соединений (например, гемоглобина, гормонов, ферментов), являются пластическим материалом для построения

костной и зубной ткани. В виде ионов минеральные вещества участвуют в передаче нервных импульсов, обеспечивают свертывание крови и другие физиологические процессы организма.

В зависимости от количества минеральных веществ в организме человека и пищевых продуктах их подразделяют на макро- и микроэлементы. Если массовая доля элемента в организме превышает $10^{-2}\%$, то его следует считать макроэлементом. Доля микроэлементов в организме составляет 10^{-3} – $10^{-5}\%$. Если содержание элемента ниже $10^{-5}\%$, его считают ультрамикроэлементом. К макроэлементам относят калий, натрий, кальций, магний, фосфор, хлор и серу. Они содержатся в количествах, измеряемых сотнями и десятками миллиграммов на 100 г тканей или пищевого продукта. Микроэлементы входят в состав тканей организма в концентрациях, выражаемых десятими, сотыми и тысячными долями миллиграмма и являются необходимыми для его нормальной жизнедеятельности. Микроэлементы условно делят на две группы: абсолютно, или жизненно, необходимые (кобальт, железо, медь, цинк, марганец, йод, бром, фтор) и так называемые вероятно необходимые (алюминий, стронций, молибден, селен, никель, ванадий и некоторые другие). Микроэлементы называют жизненно необходимыми, если при их отсутствии или недостатке нарушается нормальная жизнедеятельность организма.

Распределение микроэлементов в организме зависит от их химических свойств и очень разнообразно. Железо, например, является составной частью гемоглобина, миоглобина и других дыхательных пигментов, т. е. веществ, участвующих в поглощении и транспорте кислорода во все ткани организма; атомы меди входят в активный центр ряда ферментов и т. д.

Действие микроэлементов может быть и опосредованным – через влияние на интенсивность или характер обмена веществ. Так, некоторые микроэлементы (например, марганец, цинк, йод) влияют на рост, и их недостаточное поступление в организм с пищей тормозит нормальное физическое развитие ребенка. Другие микроэлементы (например, молибден, медь, марганец) принимают участие в репродуктивной функции, и их недостаток в организме отрицательно влияет на эту сторону жизнедеятельности человека.

К наиболее дефицитным минеральным веществам в питании современного человека относятся кальций и железо, к избыточным – натрий и фосфор.

Недостаток или избыток в питании каких-либо минеральных веществ вызывает нарушение обмена белков, жиров, углеводов, витаминов, что приводит к развитию ряда заболеваний.

Методы определения. Для анализа минеральных веществ в основном используются физико-химические методы – оптические и электрохимические.

Практически все эти методы требуют особой подготовки проб для анализа, которая заключается в предварительной минерализации объекта исследования. Минерализацию можно проводить двумя способами: «сухим» и «мокрым». «Сухая» минерализация предполагает проведение при определенных условиях обугливания, сжигания и прокаливания исследуемого образца. «Мокрая» минерализация предусматривает обработку объекта исследования концентрированными кислотами (чаще всего HNO_3 и H_2SO_4).

Для анализа минеральных веществ широко используются спектральные методы. Фотометрический, фотоэлектроколориметрический и спектрофотометрический методы применяются для определения меди, железа, хрома, марганца, никеля и других элементов. Методом эмиссионного спектрального анализа определяется свыше сорока элементов (щелочные и щелочно-земельные, Cu^{2+} Mn^{2+} и др.).

Метод молекулярной абсорбционной спектроскопии применяется для определения меди, железа, хрома, марганца, никеля и других элементов.

Метод эмиссионного спектрального анализа, основанный на измерении длины волны, интенсивности и других характеристик света, излучаемого атомами и ионами вещества в газообразном состоянии, позволяет определить элементарный состав неорганических и органических веществ.

Методы атомно-абсорбционного спектрального анализа находят широкое применение для анализа практически любого технического или природного объекта, особенно в тех случаях, когда необходимо определить небольшие количества элементов. Методики атомно-абсорбционного определения разработаны более чем для 70 элементов.

Ионометрия служит для определения ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , F^{-1} , I^{-1} , Cl^{-1} и т. д. Метод основан на использовании ионоселективных электродов, мембрана которых проницаема для определенного типа ионов. Количественное содержание определяемого иона проводится либо с помощью градуировочного графика, который строится в координатах E_pC , либо методом добавок.

Метод переменного-токовой полярографии используют для определения следующих элементов: ртуть, кадмий, свинец, медь, железо. Он основан на изучении вольтамперных кривых, полученных при электролизе электроокисляющегося или электровосстанавливающегося вещества.

Лабораторная работа № 12 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НАТРИЯ, КАЛИЯ, КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ, ЖЕЛЕЗА, МАРГАНЦА, МЕДИ, ЦИНКА, СВИНЦА, КАДМИЯ, КОБАЛЬТА, НИКЕЛЯ, ХРОМА АТОМНО-АБСОРБЦИОННЫМ МЕТОДОМ

Цель работы: освоить методики определения микроэлементов; определить содержание микроэлементов в пищевых продуктах.

Средства испытаний: атомно-абсорбционный спектрометр; весы лабораторные 2-го класса точности; электроплитка; электропечь; этиловый спирт; раствор серной кислоты 20%-ный; раствор азотной кислоты (1 : 1); азотная кислота 1%-ная; соляная кислота (1 : 1); азотная кислота (1 : 2); перекись водорода; посуда мерная.

1. Общие сведения

Сущность атомно-абсорбционной спектроскопии заключается в поглощении резонансного излучения (т. е. излучения, соответствующего переходу атома из основного состояния на первый возбужденный электронный уровень) свободными атомами определяемого элемента, находящимися в газовой фазе, и определении функциональной зависимости величины поглощения от концентрации определяемого элемента в анализируемой пробе.

Для получения свободных атомов, т. е. для атомизации анализируемой пробы, чаще всего раствор анализируемого вещества подают в виде мелкодисперсного аэрозоля в ламинарное пламя, образующееся при сгорании горючего газа

(пропана, ацетилен, водорода), предварительно смешанного с окислителем – воздухом, кислородом, закисью азота.

Кроме пламени, для атомизации веществ в атомно-абсорбционном анализе используют специальные печи-кюветы, изготовленные, как правило, из графита, в которые вводят небольшое количество пробы (чаще всего в виде капли раствора).

В настоящее время в качестве источников излучения для атомно-абсорбционного анализа наиболее часто используют различные газоразрядные источники, в частности безэлектродные газоразрядные лампы и лампы с полым катодом, в спектре испускания которых содержатся линии определяемого элемента.

Величина поглощения определяется как разность двух измерений интенсивности выбранной спектральной линии: первого – при прохождении излучения через среду, не содержащую определяемых элементов, второго – через среду, содержащую определяемые элементы.

Мерой поглощения служат обычно показания прибора, прокалиброванного в единицах оптической плотности или пропускания, при условии, что первое измерение соответствует 100% пропускания. Оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации поглощающих атомов, поэтому калибровочный график строят обычно в координатах «оптическая плотность – концентрация определяемого элемента».

Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра приведена на рис. 9.

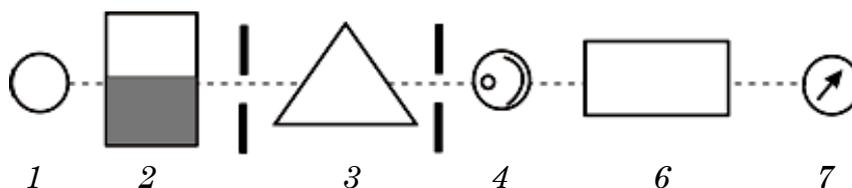


Рис. 9. Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра
1 – источник света; 2 – атомизатор;
3 – монохроматор; 4 – детектор;
5 – усилитель; 6 – отсчетное устройство

Определение элементов атомно-абсорбционным методом основано на распылении раствора минерализата испытуемой пробы в воздушно-ацетиленовом пламени. Металлы, находя-

щиеся в растворе минерализата, попадая в пламя, переходят в атомное состояние. Величина адсорбции света с длиной волны, соответствующей резонансной линии, пропорциональна значению концентрации металла в испытуемой пробе.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Подготовка проб. Пробоподготовка осуществляется методами сухой, мокрой минерализации или кислотной экстракции по ГОСТ 26929–94.

Метод сухой минерализации используется для всех видов сырья и продуктов, кроме продуктов с содержанием жира 60% и более.

Метод мокрой минерализации используется для всех видов сырья и продуктов, кроме сливочного масла и животных жиров.

Способ кислотной экстракции (неполной минерализации) предназначен для растительного и сливочного масел, маргарина, пищевых жиров и сыров. Способ сухой минерализации основан на полном разложении органических веществ путем сжигания пробы сырья или продукта в электропечи при контролируемом температурном режиме.

В фарфоровые чашки или тигли, предварительно промытые азотной кислотой и дистиллированной водой, взвешивают навеску из подготовленной пробы с погрешностью 0,01 г при массе навески до 10 г и с погрешностью 0,1 г при массе навески 10 г и более. Масса навески пробы, необходимая для проведения испытания, указана в табл. 14.

Таблица 14

Масса навески пробы

Наименование сырья и продукции	Масса навески, г (или объем, см ³)	
	для макро- элементов	для микро- элементов
1. Фрукты, овощи, продукты их переработки	5–10	20–30
2. Мясо, мясо птицы, яйцо, меланж, яичный порошок, консервы мясные и мясорастительные, рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные, водоросли и продукты их переработки	3–5	15–20

Наименование сырья и продукции	Масса навески, г (или объем, см ³)	
	для макро- элементов	для микро- элементов
3. Печень, почки и другие внутренние органы	3	10
4. Растительные масла и продукты их переработки, животные жиры, сливочное масло	20	20
5. Зерно и продукты его переработки	5–10	15
6. Хлебобулочные и кондитерские изделия	3	15
7. Молоко и молочные продукты:		
жидкие	3–5	50–100
сухие	1	5–10
творог, сыры	1	5–20
8. Вино, коньяк, пиво	10–20	20–50

Навеску продукта замачивают в 96%-ном этиловом спирте из расчета 5 см³ спирта на 1 г сухого вещества. Чашки (тигли) с навеской покрывают часовыми стеклами или чашками Петри, выдерживают при комнатной температуре в течение 12–48 ч.

Чашки переносят на электроплитку, осторожно высушивают и, постепенно увеличивая нагрев, выдерживают на плитке до начала обугливания.

Продукты с высоким содержанием сахаров перед обугливанием обрабатывают 20%-ным раствором серной кислоты из расчета 5 см³ кислоты на 1 г сухого вещества.

Чашки с высушенными пробами помещают в холодную электропечь. Минерализацию проб проводят постепенно, повышая температуру электропечи на 50°С через каждые 30 мин, и, доведя ее до 450°С, продолжают минерализацию при этих условиях до получения серой золы.

Чашу с золой вынимают из электропечи, охлаждают до комнатной температуры и серую золу смачивают водой и 0,5–1 см³ раствора азотной кислоты (1 : 1). Затем кислоту досуха выпаривают на электроплитке со слабым нагревом и снова помещают чашу с пробой в электропечь, постепенно доводя температуру до 300°С, выдерживают 0,5 ч. Минерализацию считают законченной, когда зола станет белого или слегка

окрашенного цвета, без обугленных частиц. При наличии обугленных частиц повторяют обработку золы раствором азотной кислоты или водой, снова доозоляют.

Полученную золу растворяют при нагревании в азотной кислоте (1 : 1) из расчета 1–5 см³ кислоты на навеску в зависимости от зольности продукта. Раствор выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 1%-ной азотной или соляной кислоте до объема 15–20 см³.

При неполном растворении золы полученный азотнокислый раствор с осадком упаривают досуха и перерастворяют в минимальном объеме (5–10 см³) соляной кислоты (1 : 1), снова упаривают до влажных солей. Полученные соли растворяют в 1%-ной соляной кислоте до объема 15–20 см³.

Если растворы золы содержат нерастворимый осадок, объемом растворителя можно довести до 25–30 см³, пробу подогреть до растворения. Если и в этом случае полного растворения не наблюдается, раствор отфильтровывают через промытый растворителем фильтр и осадок отбрасывают.

Способ мокрой минерализации. Способ основан на полном разрушении органических веществ пробы продукта при нагревании с серной или азотной концентрированными кислотами с добавлением перекиси водорода.

Кислотная минерализация проб сырья и продуктов, кроме растительного масла, маргарина, пищевых жиров. В колбу с пробой продукта, подготовленной к минерализации, вносят азотную кислоту из расчета 10 см³ на каждые 5 г продукта и выдерживают не менее 15 мин. Затем в колбу вносят 2–3 стеклянных шарика для равномерности кипения, закрывают грушевидной пробкой и начинают нагревать на электроплитке слабо, затем сильнее, упаривая содержимое колбы до объема 3–5 см³.

Колбу охлаждают, вносят 10 см³ азотной кислоты, содержимое упаривают до объема 5 см³, после чего охлаждают. Эту процедуру повторяют 2–4 раза.

В колбу вносят 10 см³ азотной кислоты, 2 см³ серной кислоты, 2 см³ перекиси водорода из расчета на каждые 5 г продукта. Минерализацию молочных продуктов проводят без добавления серной кислоты. Содержимое колбы упаривают до

объема 5 см³, не допуская образования коричневой окраски жидкости. При появлении коричневой окраски нагревание прекращают.

Колбу охлаждают до комнатной температуры, добавляют 5 см³ азотной кислоты и 2 см³ перекиси водорода и снова нагревают до появления белых паров серного ангидрида. Если при этом раствор не обесцветился, эту процедуру повторяют. Минерализацию считают законченной, если раствор после охлаждения остается бесцветным.

Для удаления остатков кислот в охлажденную колбу добавляют 10 см³ воды и кипятят 10 мин с момента выделения белых паров, затем охлаждают. Добавление воды и нагревание повторяют еще 2 раза.

Если при этом образуется осадок, в колбу вносят 20 см³ дистиллированной воды, 2 см³ серной кислоты, 5 см³ соляной кислоты и кипятят до растворения осадка, постоянно дополняя испаряющуюся воду. Полученный минерализат после охлаждения используют для анализа полностью или количественно переносят водой в мерную колбу вместимостью 50 см³, доводят до метки водой и перемешивают.

Кислотная минерализация проб растительных масел, маргарина, пищевых жиров. Пробу продукта в колбе Кьельдаля, подготовленную к минерализации, нагревают на электроплитке 7–8 ч до образования вязкой массы, охлаждают, добавляют 25 см³ азотной кислоты и вновь осторожно нагревают, избегая бурного вспенивания. После прекращения вспенивания колбу с содержимым охлаждают, добавляют еще 25 см³ азотной кислоты и 12 см³ хлорной кислоты и нагревают до получения бесцветной жидкости. Если во время сжигания жидкость темнеет, то к ней добавляют периодически по 5 см³ азотной кислоты и продолжают нагревание до завершения минерализации. Минерализацию считают законченной, если раствор после охлаждения остается бесцветным. Затем продолжают процедуру как описано в разделе минерализации проб сырья и продуктов.

Способ кислотной экстракции (неполной минерализации). Способ основан на экстракции элементов из пробы продукта кипячением с разбавленной соляной или азотной ки-

слотой и предназначен для растительного и сливочного масел, маргарина, пищевых жиров и сыров.

В термостойкую колбу с навеской продукта вносят цилиндром 40 см³ раствора соляной кислоты (1 : 1) и такой же объем раствора азотной кислоты (1 : 2).

В колбу добавляют несколько стеклянных шариков, вставляют в нее холодильник, помещают на электроплитку, покрытую асбестом, и кипятят в течение 1,5 ч с момента закипания. Затем содержимое колбы медленно охлаждают до комнатной температуры, не вынимая холодильника.

Колбу с экстракционной смесью сливочного масла, жиров или маргарина и кислотой помещают в холодную водяную баню для затвердевания жира. Затвердевший жир прокалывают стеклянной палочкой, фильтруют через фильтр, смоченный кислотой, затем промывают фильтр 5–7 см³ дистиллированной водой. Оставшийся в колбе жир расплавляют на водяной бане, добавляют 10 см³ раствора кислоты, встряхивают, охлаждают, после охлаждения жир прокалывают и промывную жидкость сливают в тот же сосуд через тот же фильтр, затем фильтр промывают 5–7 см³ дистиллированной воды.

Экстракционную смесь растительного масла с кислотой переносят в делительную воронку. Колбу ополаскивают 10 см³ кислоты, которую сливают в ту же воронку. После разделения слоев нижний водный слой сливают через фильтр, смоченный кислотой, в кварцевую или фарфоровую чашку, затем фильтр промывают 5–7 см³ дистиллированной воды.

Экстракционную смесь сыра с кислотой фильтруют через фильтр, смоченный кислотой в кварцевую или фарфоровую чашку. Колбу ополаскивают 10 см³ кислоты, которую фильтруют через тот же фильтр, затем фильтр промывают 5–7 см³ дистиллированной воды.

Чашу с экстракционной смесью осторожно выпаривают и обугливают на электроплитке. Затем помещают в электропечь и озоляют до исчезновения обугленных частиц.

Проведение испытаний. При деструкции проб любым способом обязательно проведение контрольного (холостого) опыта для учета уровня загрязнений, которые могут возникнуть на любой стадии подготовки проб. В каждой подготавли-

ваемой серии проб контрольный тигель (чашка, стакан и пр.) обязательно проводят через все стадии подготовки вместе с тиглями, содержащими навески продуктов, при одинаковом времени нахождения на электроплитке, в муфеле, при использовании тех же реактивов в том же количестве, той же мерной посуды и т. д. Полученный в холостом опыте раствор анализируют в той же серии измерений, что и растворы проб.

Приготовление стандартных растворов. Определение содержания элементов в испытуемых растворах проводят методом градуировочного графика, который строится по значениям сигналов абсорбции растворов сравнения.

Основные стандартные растворы готовят из чистых металлов (более 99,9%) или чистых (х. ч., ос. ч.) устойчивых соединений элементов при использовании растворителей, обеспечивающих устойчивость растворов при хранении. Концентрация металла в головном растворе должна быть равна 1 г/дм³, или 1000 мкг/см³ (табл. 15).

Таблица 15

**Рекомендуемые способы приготовления
основных стандартных растворов
с концентрацией металла 1000 мкг/см³**

Элемент	Исходный реактив, навеска, г	Схема приготовления головного стандартного раствора объемом 1000 см ³	Концентрация кислоты в конечном растворе
1	2	3	4
Натрий	NaCl, прокаленный при 500°C, 2,542 г	+ H ₂ O + HCl	0,02 н HCl
Калий	KCl, прокаленный при 500°C, 1,907 г	+ H ₂ O + HCl	0,02 н HCl
Кальций	CaCO ₃ , высушенный при 110°C, 2,497 г	+ HCl (2 н), нагрев + H ₂ O	
Магний	Металл, 1,000 г MgO, прокаленный при 500°C, 1,658 г	+ 100 см ³ разбавленной (1 : 100) HCl, осторожно, по каплям + H ₂ O + + 25 см ³ HCl(25%) + H ₂ O	
Железо	Металл, 1,000 г	+ 20 см ³ HCl (5 н) + 5 см ³ концентрированной HNO ₃ (окисление до Fe ³⁺) + H ₂ O	0,1н HCl

1	2	3	4
Цинк или Медь	Металл, 1,000г ZnO, 1,245 г Металл, 1,000 г	+ HCl(1:1) + H ₂ O + + HNO ₃ (40%) + H ₂ O + + 50 см ³ HNO ₃ (5 н), упарить досуха на во- дяной бане + 5 см ³ HCl, упарить досуха + раз- бавленную HCl + H ₂ O	1 н HCl 0,1 н HNO ₃ 0,1 н HCl
Марганец	Металл, 1,000 г	+ 10 см ³ HNO ₃ упари- вают досуха на водяной бане +5 см ³ концентри- рованной HCl, упарить досуха + несколько ка- пель концентрирован- ной HCl + H ₂ O	0,02 н HCl
Свинец	Металл, 1,000 г Pb(NO ₃) ₂ , высу- шенный при 110°C, 1,599 г	+ минимальный объем HNO ₃ (6 н) + H ₂ O + HCl + + разбавленная HNO ₃ (1 : 100)	1 н HCl 1% HNO ₃
Кадмий	Металл, 1,000 г CdO, 1,142 г	+ разбавленную HNO ₃ упарить досуха и вы- держать при 80–90°C на водяной бане, добавить 5 см ³ HCl (1 н), упарить досуха + разбавленная HCl + H ₂ O + 20 см ³ HCl (5 н) + H ₂ O + + HCl	1 н HCl 1 н HCl
Кобальт	Металл, 1,000 г	+ минимальный объем HNO ₃ , упарить досуха, растворить в разбав- ленной HCl + H ₂ O	1 н HCl
Никель	Металл, 1,000 г	+ минимальный объем HNO ₃ , упарить досуха на водяной бане + 5 см ³ HCl, упарить досуха + + H ₂ O + HCl	0,1 н HCl
Хром	Металл, 1,000 г, или K ₂ Cr ₂ O ₇ , высушен- ный при 150°C, 2,830 г	+ HCl + H ₂ O + разбав- ленная HCl + H ₂ O	1 н HCl 0,02 н HCl

Рабочие стандартные растворы (3–5) готовят путем разбавления основных стандартных растворов до концентрации, которая должна соответствовать рабочему диапазону концентраций и быть близка к концентрации элемента в анализируемом растворе.

Подготовка спектрофотометра к работе и условия измерения. Юстировку прибора проводят в соответствии с технической инструкцией. Рекомендуемые условия измерений, а также значения предела определения приведены в табл. 16.

Таблица 16

**Условия атомно-абсорбционных измерений
в воздушно-ацетиленовом пламени**

Элемент	Длина волны, нм	Щель, нм	Пламя	Высота горелки, мм	Оптимальный диапазон рабочих концентраций, мкг/см ³	Предел определения мкг/см ³
1	2	3	4	5	6	7
Натрий	330,2	3,0	Окислительное	7–8	10–100	1
	589,6	0,4	То же	7–8	2–30	0,1
	589,0	0,4	»	7–8	0,5–5	0,005
Калий	404,5	0,4	Стехиометрическое	7–8	50–1000	8
	769,9	1,5	То же	7–8	5–50	0,5
	766,5	1,5	»	7–8	0,5–10	0,005
Магний	285,2	3,0	Окислительное	10–15	0,1–10	0,001
Кальций	422,7	3,0	То же	15–20	5–30	0,01
Железо	248,3	0,2	Стехиометрическое-	7–8	1–10	0,01
Цинк	213,9	1,5	Окислительное	6–7	1–10	0,002
Медь	324,8	1,5	Стехиометрическое	7–8	0,005–5	0,003
Марганец	279,5	0,7	То же	7–8	0,1–2	0,003
Свинец	283,3	2,0	»	7–8	0,1–2	0,02
	217,0	2,0	»	7–8	0,1–2	0,01
Кадмий	228,8	1,0	Окислительное	6–7	0,02–1	0,001

1	2	3	4	5	6	7
Кобальт	240,7	0,2	Стехиометрическое	6–7	0,05–2	0,01
Никель	232,1	0,2	То же	6–7	0,1–5	0,01
Хром	357,9	1,3	Восстановительное	6–7	0,1–5	0,005
	359,4	1,3	То же	6–7	0,05–5	0,005

Три вида воздушно-ацетиленового пламени, указанные в табл. 16, устанавливают приблизительно и, как правило, визуально. Восстановительное пламя соответствует соотношению потоков воздух – ацетилен (примерно 4 : 1), при котором появляется слабое белесое свечение в нижней части факела. Окислительное пламя требует вдвое меньшего расхода ацетилена при том же воздушном потоке. Стехиометрическим пламенем считается промежуточный вариант. При определении микроэлементов, особенно кобальта, никеля и хрома условия измерения могут быть дополнительно улучшены при юстировке соотношения газов и высоты горелки до получения максимального сигнала поглощения (с учетом смещения нулевой линии).

Проведение испытаний. Измерения проводят в соответствии с технической инструкцией, прилагаемой к прибору.

Атомно-абсорбционный спектрометр прогревают и настраивают в соответствии с инструкцией по эксплуатации на резонансную линию.

Фотометрируя воду, устанавливают нуль абсорбции. Далее фотометрируют растворы сравнения, распыляя их последовательно в пламени горелки, затем – контрольные и испытуемые растворы.

Обработка результатов. Для получения результатов используют метод ограничивающих растворов или метод градуировочного графика. Градуировочный график строят в координатах – абсорбция рабочих растворов (A) с учетом результатов контрольных опытов – массовая концентрация металла (C).

Пересчет концентрации элемента в растворе C , мкг/см³, на содержание его в пищевом продукте X , мг/кг, проводят по формуле

$$X = \frac{CVK - C_k V_k}{m},$$

где C_k – уровень загрязнения в контрольном опыте, мкг/см³; K – коэффициент разбавления или концентрирования исходного раствора пробы, равный отношению объема анализируемого раствора к объему аликвоты, взятой для разбавления или концентрирования; V – объем исходного раствора пробы, см³; V_k – объем раствора в контрольном опыте, см³; m – масса навески пробы, г.

Допустимое расхождение между результатами двух параллельных определений, выполненных в одной лаборатории (r), и допустимое расхождение между результатами испытаний, выполненных в двух разных лабораториях (R), а также внутрिलाбораторное среднее квадратичное отклонение (S_r) и межлабораторное среднее квадратичное отклонение (S_R) приведены в табл. 17, где X – средний уровень концентрации элемента в продукте, мг/кг; a , b – безразмерные эмпирические коэффициенты.

Таблица 17

Метрологические характеристики

Элемент	X, мг/кг	r, мг/кг	R, мг/кг	Интерполяционные уравнения типа $S = aX + b$			
				(S_r)		(S_R)	
				a	b	a	b
1	2	3	4	5	6	7	8
Натрий	100	22	95	0,104	0,94	1,17	0,74
	1 000	191	524				
	10 000	1 658	2 848				
Калий	100	27	54	0,317	0,74	0,443	0,82
	1 000	148	361				
	10 000	809	2 386				
Кальций	100	29	55	0,267	0,79	0,223	0,97
	1 000	178	512				
	10 000	1 106	4 808				
Магний	100	26	53	0,107	0,96	0,365	0,86
	1 000	235	384				
	10 000	2 164	2 755				

Окончание табл. 17

1	2	3	4	5	6	7	8
Железо	10	3,8	15	0,362	0,57	1,47	0,57
	50	9,3	38				
	100	14	57				
	200	20	84				
Цинк	1	0,34	0,73	0,120	0,86	0,260	0,78
	10	2,4	4,3				
	50	9,6	15				
	100	17	26				
Медь	0,5	0,22	0,40	0,106	0,41	0,228	0,67
	1	0,31	0,64				
	10	0,76	3,01				
	30	1,2	6,3				
Марганец	0,1	0,056	0,12	0,081	0,62	0,296	0,84
	1	0,22	0,84				
	10	0,92	5,7				
	30	1,8	14				
Свинец	0,01	0,005	0,014	0,047	0,71	0,140	0,73
	0,1	0,025	0,073				
	0,5	0,081	0,24				
	1,0	0,13	0,39				
Кадмий	0,01	0,0034	0,011	0,032	0,72	0,094	0,69
	0,1	0,017	0,056				
	0,5	0,055	0,17				
	1,0	0,090	0,27				
Кобальт	0,02	0,027	0,053	0,032	0,31	0,121	0,47
	0,1	0,045	0,11				
	1,0	0,090	0,34				
	5,0	0,15	0,72				
Никель	0,02	0,028	0,050	0,134	0,66	0,210	0,63
	0,1	0,084	0,14				
	1	0,36	0,59				
	10	1,7	2,49				
Хром	0,01	0,011	0,018	0,070	0,63	0,243	0,77
	0,1	0,045	0,11				
	0,5	0,13	0,39				
	1,0	0,20	0,67				

Лабораторная работа № 13 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОДА В ПИЩЕВОЙ СОЛИ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

Цель работы: освоить методики определения йода; определить содержание йода в пищевой соли методом инверсионной вольтамперометрии.

Средства испытаний: анализатор вольтамперометрический АВА-1 (АВА-2, АВА-3); пипетки мерные, вместимостью 0,5 см³, 5 см³, 10 см³; микропипетки вместимостью (0,02–0,20) см³; колбы мерные; весы лабораторные 2-го класса точности с пределом взвешивания 200 г; кислота азотная, калий азотнокислый (1 моль/дм³); ртуть азотнокислая окисная; кислота аскорбиновая (порошок); калия гидроксид (2 моль/дм³); калий марганцовокислый (1 моль/дм³); калий хлористый (1 моль/дм³); калий йодистый; стандартный буферный раствор калия тетраоксалата (0,05 моль/дм³); гидроксид натрия концентрацией 1 моль/дм³; калий азотнокислый 1 моль/дм³; раствор азотной кислоты (2 : 3).

1. Общие сведения

Для измерений содержания йода используется электрохимический метод анализа – метод инверсионной вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала на твердом вращающемся электроде из углеситалла.

Вольтамперометрия – это группа методов, основанная на изучении зависимости силы тока в электролитической ячейке от величины потенциала, приложенного к погруженному в анализируемый раствор индикаторному микроэлектроду. Эти методы основаны на принципах электролиза; присутствующие в растворе определяемые вещества окисляются или восстанавливаются на индикаторном электроде. В ячейку помещают помимо индикаторного еще и электрод сравнения со значительно большей поверхностью, чтобы при прохождении тока его потенциал практически не менялся. В качестве индикаторных наиболее часто используют стационарные и вращающиеся электроды из платины и графита. Количественный и качественный составы раствора могут быть установлены из вольтамперограмм – кривых зависимости тока от приложенного к элект-

тролитической ячейке напряжения, регистрируемых специальными приборами. При этом потенциал полуволны $E_{1/2}$ является качественной характеристикой для данного вещества, а величина тока пропорциональна концентрации определяемого вещества в растворе (количественная характеристика).

Наиболее радикальным способом повышения чувствительности метода вольтамперометрии является предварительное концентрирование определяемого компонента на поверхности индикаторного электрода с последующим электрохимическим растворением концентрата и регистрацией величины тока растворения – инверсионная вольтамперометрия.

Измерения проводят на анализаторе вольтамперометрическом АВА-1. В комплект анализатора входят: рабочий электрод – углеситалловый; электрод сравнения – хлорсеребряный; вспомогательный электрод – платиновый; стаканчик из оптически прозрачного стекла.

Принципиальная схема вольтамперометрической установки изображена на рис. 10. От источника тока 1 на электрическую ячейку-электролизер 5 подается ток, напряжение которого плавно меняется с помощью потенциометра 2. Силу тока, проходящего через исследуемый раствор, измеряют гальванометром 3.

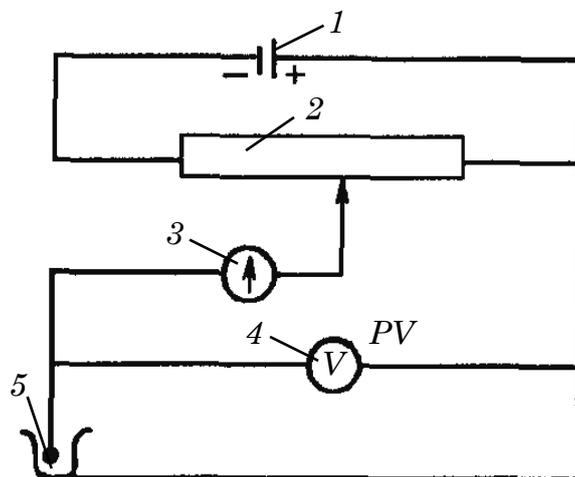


Рис. 10. Принципиальная схема вольтамперометрической установки
1 – источник постоянного тока;
2 – потенциометр; 3 – гальванометр;
4 – вольтметр; 5 – электролизер

Электролитическая ячейка (электролизер), используемая в вольтамперометрии, представляет собой сосуд вместимостью 1–50 см³ с погруженными в него рабочим электродом и электродом сравнения (рис. 11).

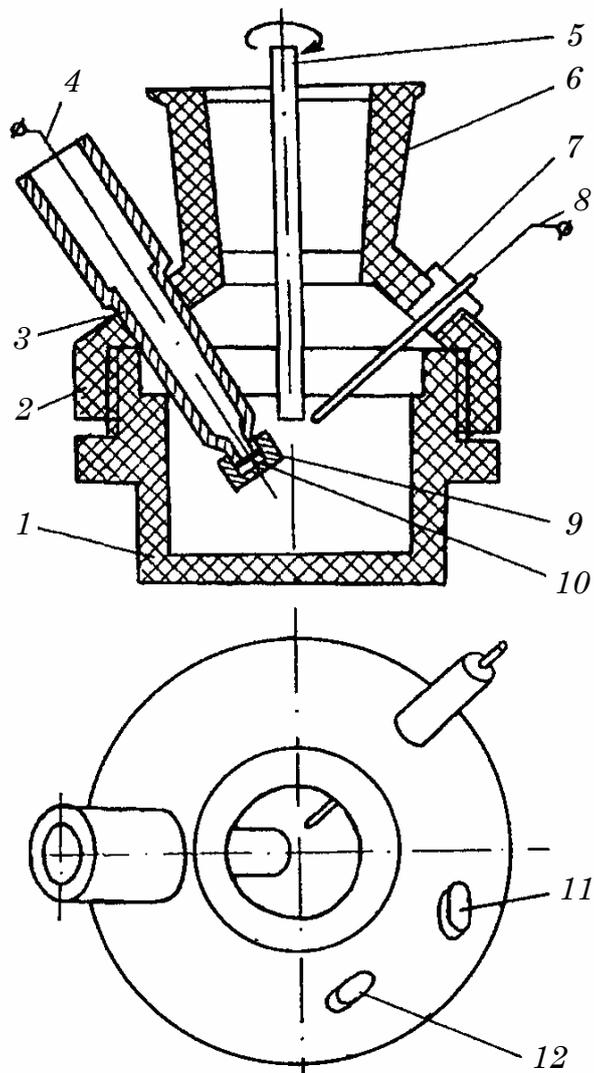


Рис. 11. Электролизер – электролитическая ячейка АЭ-4 вольтамперометрического анализатора АВА-1:

- 1 – корпус; 2 – крышка;
- 3 – втулка для электрода сравнения;
- 4 – электрод сравнения;
- 5 – вращающийся индикаторный электрод;
- 6 – штуцер; 7 – пробка; 8 – вспомогательный электрод;
- 9 – гайка; 10 – мембрана;
- 11 – отверстие для ввода добавки;
- 12 – отверстие для подачи инертного газа

В основе инверсионного вольтамперометрического определения содержания йода лежит реакция образования галогенида ртути Hg_2J_2 на торце рабочего электрода и его последующего растворения с регистрацией величины тока восстановления иона Hg^{1+} до металлической ртути.

Определение содержания йода в пищевых продуктах и продовольственном сырье проводят после минерализации пробы. Для перевода содержащегося в пищевых продуктах йода в йодид-ионы в анализируемую пробу добавляют аскорбиновую кислоту.

Измерение содержания йода в анализируемых пробах проводят с использованием метода добавок.

Методика используется для определения йода в пищевой соли, хлебобулочных изделиях, молочных продуктах.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Приготовление раствора марганцовокислого калия. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят навеску 10 г калия марганцовокислого (результат взвешивания записывают с точностью до второго десятичного знака), затем добавляют 100 см^3 раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 .

Приготовление рабочего раствора для нанесения пленки ртути. В мерную колбу вместимостью 500 см^3 вносят 100 см^3 раствора калия азотнокислого молярной концентрацией 1 моль/дм^3 и $1,7 \text{ см}^3$ раствора азотной кислоты (2 : 3). Объем раствора доводят до метки бидистиллированной водой.

Приготовление раствора ртути с массовой концентрацией ионов ртути 1 г/дм^3 ($0,005 \text{ моль/дм}^3$). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 вливают 10 см^3 раствора азотной кислоты (2 : 3) и добавляют навеску $0,84 \text{ г}$ ртути азотнокислой (результат взвешивания регистрируют до второго десятичного знака). После растворения соли ртути доводят объем раствора в колбе до метки бидистиллированной водой.

Приготовление раствора калия хлористого с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 . В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят навеску $7,45 \text{ г}$ калия хлористого (результат взвешивания регистрируют до второго десятичного знака), добавляют 100 см^3 бидистиллированной воды и перемешивают.

Приготовление фонового раствора. Фоновым раствором для определения йодид-ионов является буферный раствор тетраоксалата калия с рН 1,68, который готовят следующим образом.

В мерную колбу вместимостью 1 дм³ вносят навеску 12,70 г тетраоксалата калия $\text{KHC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (результат взвешивания регистрируют до второго десятичного знака), добавляют 1 дм³ бидистиллированной воды и перемешивают. Полученный буферный раствор имеет молярную концентрацию 0,05 моль/дм³ и рН 1,68 при 20°С.

Приготовление стандартного раствора. Готовят раствор калия йодистого с массовой концентрацией 1 г/дм³ следующим образом: 0,65 г калия йодистого (результат взвешивания регистрируют до второго десятичного знака) помещают в мерную колбу объемом 500 см³, доводят объем в колбе до метки бидистиллированной водой. Далее путем последовательного разбавления готовят градуировочные растворы меньших концентраций.

Подготовка проб соли. В две мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1,00 г соли (результат взвешивания регистрируют до второго десятичного знака), доводят объем в колбах до метки бидистиллированной водой. Добавляют по 0,8 г аскорбиновой кислоты.

Подготовка рабочего электрода из углеситалла. Перед измерениями проводят подготовку ртутно-пленочного рабочего электрода.

Поверхность рабочего электрода из углеситалла полируют пастой алмазной, затем обезжиривают спиртом этиловым, промывают бидистиллированной водой и протирают фильтровальной бумагой.

В электрохимический стаканчик вносят 10 см³ рабочего раствора, добавляют 0,3 см³ раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ и 0,1 см³ раствора калия йодистого с массовой концентрацией 10 мг/дм³.

Устанавливают следующие режимы измерений:

- регенерация +200 мВ, длительность 5 с;
- накопление –1200 мВ, длительность 120 с;
- успокоение –1200 мВ, длительность 5 с;
- количество измерительных циклов 3;
- скорость развертки 500 мВ/с.

Устанавливают стаканчик в держатель, закрепляют электроды, погружают их в раствор и проводят электрохимическое накопление ртути на торце рабочего электрода при заданных режимах.

В результате проведенных измерительных циклов формируется ртутно-пленочный электрод, который и используют для последующего анализа проб на содержание йода.

После подготовки электрода проверяют его работоспособность на контрольных растворах йода.

Подготовка прибора к работе. Анализатор подготавливают к работе в соответствии с руководством по эксплуатации.

Проверка фонового раствора и электрохимической ячейки на чистоту. Устанавливают следующие режимы измерений:

– потенциал регенерации – 600 мВ, длительность регенерации – 5 с;

– потенциал накопления – 0 мВ; длительность накопления – 30 с;

– потенциал успокоения – 0 мВ; длительность успокоения – 5 с;

– скорость развёртки потенциала – от 2 000 мВ/с до 20 000 мВ/с;

– количество циклов – 2.

Условия устанавливаются при помощи программы «Параметры эксперимента».

Проводят 2 цикла измерений и регистрируют 2 вольтамперные кривые фонового раствора.

Проведение испытаний. Для анализа содержания йода в поваренной соли выполняют измерения двух параллельных проб.

Расчет массовой концентрации йода проводят с учетом его содержания в холостой пробе.

Для измерений содержания йода на уровне (1–2) мкг/дм³ выбирают скорость развертки потенциала 20 000 мВ/с. Для измерений более высоких массовых концентраций йода используют скорость развертки потенциала 10 000 мВ/с.

В стаканчик электрохимической ячейки пипеткой вносят 9,0 см³ фонового раствора. Устанавливают стаканчик в держатель, закрепляют электроды, погружают их в раствор.

Устанавливают параметры измерений (см. «Проверка фонового раствора» на с. 109). Регистрируют усредненную вольт-амперную кривую фона.

В фоновый раствор вводят 1 см³ подготовленной к измерениям соли. Проводят анализ и регистрируют усредненную вольт-амперную кривую пробы в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

Проводят идентификацию пика йода на усредненной вольт-амперной кривой пробы с использованием программного обеспечения «АВА Win».

В раствор с пробой вводят добавку йодид-ионов из градуировочного раствора. Массовая концентрация добавки должна составлять (50–150)% от приблизительной массовой концентрации йодид-ионов в растворе пробы.

Рассчитывают объем добавки по формуле

$$V_{\text{д}} = \frac{C_{\text{яч}} \cdot V_{\text{яч}}}{C_{\text{д}}},$$

где $C_{\text{яч}}$ – предварительная массовая концентрация йодид-ионов в пробе, мкг/дм³; $V_{\text{яч}}$ – общий объем раствора в стаканчике электрохимической ячейки, см³; $C_{\text{д}}$ – массовая концентрация градуировочного раствора, используемого для добавки, мкг/дм³.

Объем добавки должен быть не более 1 см³.

Проводят анализ пробы с добавкой и регистрируют усредненную вольт-амперную кривую.

На усредненной вольт-амперной кривой пробы с добавкой проводят идентификацию пика йодид-ионов.

Используя программу «Вычисть фон», производят вычитание фона.

Аналогичным образом проводят анализ контрольной (холостой) пробы.

Обработка результатов. Расчет содержания йода в анализируемой пробе проводится программой автоматически («Результат»). При этом по запросу программы необходимо указать массу исследуемой пробы (1 г), объем аликвоты, взятой для анализа (1 см³), объем раствора в ячейке (10 см³), объем раствора, приготовленного из окисленной пробы (100 см³),

концентрацию и объем добавки. Необходимо также учесть содержание йода в контрольной пробе.

Расхождения между двумя параллельными результатами не должны превышать 10%.

2.5. Витамины

Витамины – низкомолекулярные органические соединения различной химической природы, биорегуляторы процессов, протекающих в живом организме. Это важнейший класс незаменимых пищевых веществ. Для нормальной жизнедеятельности человека витамины необходимы в небольших количествах, но так как организм не может удовлетворить свои потребности в них за счет биосинтеза (он не синтезирует витамины или синтезирует их в недостаточном количестве), они должны поступать с пищей в качестве ее обязательного компонента. Из витаминов образуются коферменты или простетические группы ферментов, некоторые из них участвуют в транспортных процессах через клеточные барьеры, в защите компонентов биологических мембран и т. д. Отсутствие или недостаток в организме витаминов вызывает болезни недостаточности: гиповитаминозы (болезни в результате длительного недостатка) и авитаминозы (болезни в результате отсутствия или резко выраженного глубокого дефицита витаминов). Недостаток одного витамина относят к моногиповитаминозам, нескольких – полигиповитаминозам. При гиповитаминозах наблюдается утомляемость, потеря аппетита, раздражительность, нестойкость к заболеваниям, кровоточивость десен. При авитаминозах проявляются болезни, вызванные значительным дефицитом витаминов (бери-бери, цинга, пеллагра и др.).

Основная причина нехватки витаминов в организме человека – недостаточное их поступление с пищей (первичные, экзогенные авитаминозы), однако в отдельных случаях наблюдаются эндогенные, или вторичные, авитаминозы, связанные с нарушением процессов усвоения витаминов в организме.

При приеме витаминов в количестве, значительно превышающем физиологические нормы, могут развиваться ги-

первитаминозы. Это особенно характерно для жирорастворимых витаминов.

В настоящее время известно свыше тринадцати соединений, относящихся к витаминам. Различают собственно витамины и витаминоподобные соединения (полная незаменимость которых не всегда доказана). К ним относятся биофлавоноиды (витамин P), пангамовая кислота (витамин B₁₅), парааминобензойная кислота (витамин H₁), оротовая кислота (витамин B₁₃), холин (витамин B₄), инозит (витамин H₃), метилметионинсульфоний (витамин U), липоевая кислота, карнитин. Витаминоподобные соединения могут быть отнесены к важным биологически активным соединениям пищи, выполняющим разнообразные функции. В отдельных продуктах содержатся провитамины – соединения, способные превращаться в организме человека в витамины, например β-каротин, превращающийся в витамин A; эргостеролы, под действием ультрафиолетовых лучей превращающиеся в витамин D.

Так как химическая природа витаминов была открыта после установления их биологической роли, их условно обозначили буквами латинского алфавита (A, B, C, D и т. д.); они сохранились и до настоящего времени.

По растворимости витамины могут быть разделены на две группы (табл. 18): водорастворимые (B₁, B₂, B₆, PP, C и др.) и жирорастворимые (A, D, E, K).

Таблица 18

**Номенклатура, классификация витаминов
и витаминоподобных соединений**

<i>I. Водорастворимые витамины</i>	
<i>Витамины, представленные преимущественно одним соединением</i>	
Рекомендуемое наименование	Старые наименования
Тиамин	Витамин B ₁ (анейрин)
Рибофлавин	Витамин B ₂ (лактофлавин)
Пантотеновая кислота	Витамин B ₃ или B ₅
Биотин	Витамин H
Аскорбиновая кислота	Витамин C

<i>I. Водорастворимые витамины</i>	
<i>Семейства витаминов</i>	
Рекомендуемое групповое название	Индивидуальные представители
Витамин В ₆ Ниацин (витамин РР) Фолацин Кобаламины (витамин В ₁₂)	Пиридоксин; пиридоксаль; пиридоксамин Никотиновая кислота; никотинамид Фолиевая кислота; тетрагидрофолиевая кислота и ее производные Цианокобаламин; оксикобаламин; метилкобаламин
<i>II. Жирорастворимые витамины</i>	
Рекомендуемое групповое название	Индивидуальные представители
Витамин А Витамин D (кальциферолы) Витамин Е Витамин К	Ретинол; ретинилацетат; ретиналь; ретиновая кислота Эргокальциферол (витамин D ₂); холекальциферол (витамин D ₃) α -, β -, γ -, σ -токоферолы; α -, β -, γ -, σ -токотриенолы 2-Метил-3-фитил-1,4-нафтохинон (филлохинон, витамин К ₁); менахиноны (витамины К ₂); 2-метил-1,4-нафтохинон (менадион, витамин К ₂)
<i>III. Витаминоподобные соединения</i>	
Технологическая функция	Наименование соединения
Незаменимые пищевые вещества с пластической функцией	Холин; инозит (миоинозит, мезоинозит)
Биологически активные вещества, синтезируемые в организме человека	Липоевая кислота; оротовая кислота; карнитин
Фармакологически активные вещества пищи	Биофлавоноиды; метилметионинсульфоний (витамин U); пангамовая кислота (витамин В ₁₅)
Факторы роста микроорганизмов	Парааминобензойная кислота

В качестве единицы измерения содержания витаминов используют миллиграмм (мг), микрограмм на 1 г продукта

(мкг/г) или миллиграмм витаминов на 100 г продукта (мг%) и микрограмм витаминов на 100 г продукта (мкг%).

Потребность человека в витаминах зависит от его возраста, состояния здоровья, условий жизни, характера деятельности, содержания в пище основных компонентов питания.

Лабораторная работа № 14 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С

Цель работы: освоить методики определения витамина С, определить его содержание в пищевых продуктах.

1. Общие сведения

Витамин С (L-аскорбиновая кислота) впервые выделен из лимона. В химическом отношении представляет собой γ -лактон 2,3-дегидро-4-гулоновой кислоты, легко переходит в окисленную форму – L-дегидроаскорбиновую кислоту.

Необходим для нормальной жизнедеятельности человека: участвует во многих видах окислительно-восстановительных процессов, положительно действует на центральную нервную систему, повышает сопротивляемость человека к экстремальным воздействиям, участвует в обеспечении нормальной проницаемости стенок капиллярных сосудов, повышает их прочность и эластичность, способствует лучшему усвоению железа, нормальному кроветворению. При нехватке витамина С наблюдается сонливость, утомляемость, снижается сопротивляемость организма человека к простудным заболеваниям, при авитаминозе развивается цинга. Важнейшая физиологическая функция витамина – способность обратно окисляться в дегидроаскорбиновую кислоту под действием аскорбатоксидазы с образованием окислительно-восстановительной системы и переносом протонов и электронов.

Все необходимое количество витамина С человек получает с пищей. Основные его источники – овощи, фрукты, ягоды: в свежем шиповнике 300–20 000 мг%, черной смородине 200–500, капусте 50–70, молодом картофеле 20–30. Витамин С крайне неустоек, легко разрушается кислородом воздуха в присутствии следов железа и меди, более устойчив в кислой среде,

чем в щелочной, мало чувствителен к свету. В силу нестойкости его содержание в овощах и плодах при их хранении быстро снижается. Исключение – свежая и квашеная капуста. При тепловой обработке пищи разрушается на 25–60%.

Для определения витамина С и аскорбиновой кислоты (АК) используются следующие методы: титрометрический, фотометрический и флуориметрический. Титрометрический метод с потенциометрическим титрованием, фотометрический и флуориметрический методы распространяются на все виды сырья и пищевых продуктов; титрометрический метод с визуальным титрованием – только на продукты, дающие неокрашенные экстракты.

Титрометрический метод основан на экстракции АК раствором кислоты (соляной, трихлоруксусной, щавелевой, метафосфорной или смесью уксусной и метафосфорной) с последующим титрованием визуальным до установления светло-розовой окраски или потенциометрически.

Фотометрический метод основан на экстрагировании аскорбиновой кислоты, восстановлении ее 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия аскорбиновой кислоты с последующей экстракцией органическим растворителем (ксилолом или бутилацетатом) избытка 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и фотометрировании этого экстракта при 490 нм.

2. Титрометрический метод

Средства испытаний: весы лабораторные общего назначения 2-го и 4-го класса точности; рН-метрмилливольтметр; мешалка магнитная; секундомер; воронки лабораторные стеклянные; колбы мерные вместимостью 50, 100 и 250 см³; микробюретка с ценой деления не более 0,01 см³; пипетки мерные стеклянные.

Подготовка к испытаниям. *Приготовление экстрагирующего раствора.* В качестве экстрагирующего раствора используют растворы кислот соляной или щавелевой с массовой долей 2%, метафосфорной с массовой долей 3% или смеси уксусной и метафосфорной кислот, которую готовят следующим образом: 15 г метафосфорной кислоты растворяют в 250 см³ воды (без нагревания во избежание гидролиза

до ортофосфорной кислоты), прибавляют 40 см³ ледяной уксусной кислоты, доводят водой объем до 500 см³, перемешивают и фильтруют в склянку с притертой пробкой. Хранят в холодильнике не более 10 дней.

Приготовление стандартных растворов аскорбиновой кислоты. Для приготовления раствора аскорбиновой кислоты с концентрацией 1,0 г/дм³ взвешивают 0,1000 г аскорбиновой кислоты (с погрешностью не более 0,0001 г), растворяют в экстрагирующем растворе в мерной колбе вместимостью 100 см³, доводят до метки тем же раствором и перемешивают.

Для приготовления раствора концентрацией 0,1 г/дм³ вносят пипеткой 10 см³ раствора аскорбиновой кислоты концентрацией 1,0 г/дм³ в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят до метки экстрагирующим раствором и перемешивают.

Растворы аскорбиновой кислоты неустойчивы, поэтому их готовят перед проведением испытания.

Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и определение его титра. 0,05 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют приблизительно в 150 см³ горячей, предварительно кипяченой в течение 30 мин или содержащей 0,02 г двууглекислого натрия воде, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до 200 см³ той же охлажденной водой, перемешивают и фильтруют в темную склянку. Раствор хранят в холодильнике не более 10 дней.

Титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия устанавливают по стандартному раствору аскорбиновой кислоты с концентрацией 0,1 г/дм³ в день проведения испытания. Для этого в две колбы вместимостью 50 или 100 см³, в которые предварительно прибавлено по 9 см³ воды, вносят пипеткой по 1 см³ раствора аскорбиновой кислоты и быстро титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до светлорозовой окраски, не исчезающей в течение 15–20 с.

Одновременно проводят контрольное испытание. Для этого в колбу вместимостью 50 или 100 см³ вносят 1 см³ экстрагирующего раствора, 9 см³ дистиллированной воды и титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

Титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в миллиграммах аскорбиновой кислоты, эквивалентного 1 см³

раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, вычисляют по формуле

$$T = \frac{m}{V_1 - V_2},$$

где m – масса аскорбиновой кислоты, содержащейся в 1 см³ стандартного раствора, мг; V_1 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование стандартного раствора аскорбиновой кислоты, см³; V_2 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см³.

Приготовление раствора ацетатного буфера с рН 4,0. Растворяют 300 г безводного уксуснокислого натрия в 700 см³ дистиллированной воды, добавляют 1000 см³ ледяной уксусной кислоты, перемешивают и с помощью рН-метра устанавливают рН 4,0, добавляя при необходимости снова кислоту.

Проведение испытаний. Экстрагирование. Для приготовления экстракта навеску пробы массой от 5 до 50 г в зависимости от предполагаемого содержания в продукте витамина взвешивают с погрешностью ±0,01 г.

Экстрагирующий агент выбирают с учетом рекомендаций, приведенных в табл. 19.

Таблица 19

Характеристика экстрагирующих агентов

Экстрагирующий агент	Денатурирует белки (ферменты)	Стабилизирует АК	Область применения
2%-ная соляная кислота	–	–	Газированные напитки, сухие смеси для напитков, компоты
3%-ная трихлоруксусная кислота	+	+	Для всех видов пищевых продуктов, кроме свежих овощей и фруктов
6%-ная метафосфорная кислота	+	+	Для всех видов продуктов
Смесь уксусной и метафосфорной кислот	+	+	То же

Навеску продукта гомогенизируют с небольшим количеством экстрагирующего раствора кислоты или смеси кислот, переносят количественно в мерную колбу или цилиндр на 100 см³ и доводят до метки, используя экстрагент. Перемешивают, выдерживают 10 мин и фильтруют.

Визуальное титрование (для неокрашенных экстрактов). В колбу вместимостью 50 или 100 см³ пипеткой вносят от 1 до 10 см³ экстракта, доводят объем экстрагентом до 10 см³ и титруют раствором 2,6-дихлорфенол-индофснолята натрия до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 15–20 с.

Одновременно проводят контрольное испытание на содержание в продукте редуцирующих примесей. Для этого в колбу помещают такой же объем экстракта, как было описано выше, прибавляют равный ему объем ацетатного буферного раствора, 36–40%-ный раствор формальдегида в объеме, равном половине объема буферного раствора, перемешивают и выдерживают в течение 10 мин, закрыв предварительно колбу пробкой, затем содержащее титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофснолята натрия до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 15–20 с.

Потенциометрическое титрование (для окрашенных экстрактов). В стакан вместимостью 50 см³ вносят пипеткой объем экстракта, содержащий около 0,1 мг АК (но не более 25 см³), прибавляют экстрагирующий раствор до объема 30 см³, погружают электроды рН-метра-милливольтметра так, чтобы при перемешивании они не касались магнитного стержня мешалки. Затем титруют потенциометрически из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофснолята натрия. Раствор 2,6-дихлорфенолиндофснолята натрия прибавляют порциями по 0,1–0,2 см³ при постоянном перемешивании. Записывают показание прибора в милливольттах, соответствующее каждому прибавленному объему раствора 2,6-дихлорфенолиндофснолята натрия. Объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофснолята натрия, соответствующий точке эквивалентности и, следовательно, израсходованный на титрование объема, устанавливают по максимальной разнице (скачку) двух соседних показаний прибора или по потенциометрической кривой зависимости величины по-

тенциала в милливольтгах от объема раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в сантиметрах кубических.

Одновременно проводят контрольное испытание на содержание в продукте редуцирующих веществ так, как указано выше. Раствор титруют потенциометрически.

За результат титрования принимают среднее арифметическое результатов двух определений. При повторном титровании в области предполагаемой точки эквивалентности раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия прибавляют по 1–2 капли.

Обработка результатов. Содержание аскорбиновой кислоты X , мг/100 г, продукта вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T \cdot V_3 \cdot 100}{V_4 \cdot m},$$

где V_1 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование экстракта пробы, см³; V_2 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см³; T – титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см³; V_3 – объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см³; V_4 – объем экстракта, используемый для титрования, см³; m – масса навески продукта, г.

Вычисления проводят до четырех значащих цифр, результат округляют до трех значащих цифр.

3. Фотометрический метод

Средства испытаний: спектрофотометр с диапазоном измерения от 200 до 1100 нм или фотоэлектроколориметр; центрифуга лабораторная; секундомер; воронки лабораторные стеклянные; колбы мерные вместимостью 50, 100 и 250 см³; микробюретка с ценой деления не более 0,01 см³; пипетки мерные стеклянные; гидрохинон; ацетон; бутилацетат.

Подготовка к испытаниям. Готовят такие же растворы, как и для титрометрического метода, со следующим дополнением.

Приготовление полунасыщенного раствора гидрохинона. Сначала готовят насыщенный раствор гидрохинона в ацетоне. Для этого 1 г гидрохинона растворяют в 10 см³ ацетона и

фильтруют. Полунасыщенный раствор гидрохинона готовят смешиванием одного объема насыщенного раствора с таким же объемом ацетона.

Органический растворитель (ксилол или бутилацетат) не должен содержать окисляющих веществ. Проверку его чистоты осуществляют следующим образом: к 1 см³ раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия сначала прибавляют раствор аскорбиновой кислоты до обесцвечивания, затем добавляют 10 см³ растворителя, взбалтывают и оставляют на 10 мин. Если органический растворитель будет окрашен, то его следует очистить перегонкой, собирая фракцию ксилола при температуре 137–141°C, бутилацетата – 126°C.

Построение градуированного графика. Для построения градуировочного графика готовят пять растворов. Для этого в центрифужные пробирки или делительные воронки вносят: в первую – 5,0 см³ экстрагирующего раствора кислот, в остальные последовательно по 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 см³ раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и добавляют экстрагирующий раствор до объема 5,0 см³. Во все пробирки или делительные воронки прибавляют по 5 см³ ацетатного буферного раствора, перемешивают и затем прибавляют по 10 см³ органического растворителя.

Пробирки или делительные воронки закрывают пробками, содержимое перемешивают в течение 10 с. Пробирки центрифугируют, а воронки оставляют в покое до разделения слоев. Органический слой переносят в кювету с расстоянием между рабочими гранями 10 мм и измеряют его оптическую плотность при длине волны 500 нм. В качестве контрольного раствора сравнения используют чистый растворитель.

По полученным данным строят график зависимости оптической плотности органического экстракта 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия от объема раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в кубических сантиметрах.

Построение градуировочного графика проводят для каждого свежеприготовленного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

Экстрагирование проводят так же, как и для титрометрического метода.

Проведение испытаний. В центрифужную пробирку или делительную воронку вносят пипеткой от 1 до 5 см³ экстракта испытуемой пробы, добавляют экстрагирующего раствора до объема 5 см³, такой же объем ацетатного буферного раствора и раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в объеме не более 2 см³. Перемешивают и прибавляют 10 см³ органического растворителя.

При получении мутного органического экстракта перед измерением оптической плотности экстракт фильтруют через фильтровальную бумагу.

Одновременно проводят контрольное испытание на содержание в продукте редуцирующих веществ. Для этого в центрифужную пробирку или делительную воронку вносят такие же объемы экстракта и ацетатного буферного раствора, как при испытании исследуемой пробы, прибавляют раствор формальдегида в объеме, равном половине объема буферного раствора, перемешивают и выдерживают в течение 10 мин. После этого прибавляют раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, снова перемешивают и прибавляют 10 см³ органического растворителя.

Пробирки или делительные воронки закрывают пробками, содержимое перемешивают в течение 10 с. Пробирки центрифугируют, а воронки оставляют в покое до разделения слоев. Органический слой переносят в кювету с расстоянием между рабочими гранями 10 мм и измеряют его оптическую плотность при длине волны 500 нм. В качестве контрольного раствора сравнения используют чистый растворитель.

Влияние растворимых в органическом растворителе красящих веществ при содержании их в продукте определяют следующим образом: в кювету с органическим экстрактом прибавляют две капли полунасыщенного раствора гидрохинона, перемешивают палочкой, выдерживают 30 с и снова измеряют оптическую плотность. Полученное значение оптической плотности вычитают из начального значения оптической плотности органического экстракта.

Обработка результатов. Массовую долю аскорбиновой кислоты X , %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V_1 - V_2 - V_3) \cdot T \cdot V_4 \cdot 100}{V_5 \cdot m},$$

где V_1 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на проведение испытания, см³; V_2 – объем избытка раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, найденный по градуировочному графику см³; V_3 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см³; T – титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия; V_4 – объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см³; V_5 – объем экстракта, используемый для испытания, см³; m – масса навески продукта, г.

Вычисления проводят до четырех значащих цифр, результат округляют до трех значащих цифр.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 3% от среднего арифметического значения.

Глава 3. ПОКАЗАТЕЛИ БЕЗОПАСНОСТИ

Пищевые продукты должны удовлетворять физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии, отвечать предъявляемым к пищевым продуктам требованиям по органолептическим и физико-химическим показателям и соответствовать установленным требованиям к допустимому содержанию химических, радиоактивных, биологически активных веществ и их соединений, микроорганизмов и других биологических организмов, представляющих опасность для здоровья нынешних и будущих поколений.

Опасность для здоровья человека представляют различные чужеродные вещества, поступающие в организм человека с пищей. Они могут оказаться в пище случайно в виде загрязнителей (загрязнителей), а иногда их вводят специально в виде пищевых добавок, когда это связано с технологической необходимостью.

Наиболее опасными с точки зрения распространенности и токсичности являются следующие чужеродные вещества:

- токсины микроорганизмов;
- токсичные элементы;
- антибактериальные вещества и гормональные препараты (антибиотики, сульфаниламиды, интрофураны, полипептидные, белковые, стероидные гормоны и др.);
- пестициды (хлор-, фосфор-, ртутьорганические, карбоновые кислоты и их производные; производные мочевины, сульфокислот, гуанидина, урацила; сера и ее препараты; синтетические пиретроиды и др.);
- нитраты, нитриты, нитрозосоединения;
- диоксины и диоксиноподобные соединения (2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксин (2,3,7,8-ТХДД), 2,3,7,8-тетрахлордибензофуран (2,3,7,8-ТХДФ) и др.);
- полициклические ароматические углеводороды;
- радионуклиды (цезий-137, стронций-90);
- пищевые добавки.

Попадая с пищей в организм человека, чужеродные вещества могут оказывать раздражающее, аллергическое, канцерогенное,

мутагенное, терагенное и другое воздействие, негативное влияние на определенные органы и системы: нервную, кровеносную, почки, печень и др.

Требования к пищевым продуктам по содержанию в них химических загрязнителей установлены в различных законодательных актах. Гигиеническими нормами СанПин 13 63 РБ регламентируется содержание в продуктах питания основных химических загрязнителей, представляющих опасность для здоровья человека.

Определение показателей безопасности пищевых продуктов, в том числе биологически активных добавок к пище, производится как по основным видам сырья, так и по допустимым уровням нормируемых контаминантов.

Гигиенические нормативы распространяются на потенциально опасные химические соединения и биологические объекты, присутствие которых в пищевых продуктах не должно превышать допустимых уровней их содержания в заданной массе (объеме) исследуемого продукта.

3.1. Токсичные элементы

Токсичные элементы (в частности, некоторые тяжелые металлы) составляют обширную и весьма опасную в токсикологическом отношении группу веществ. Обычно рассматривают 14 элементов: Hg, Pb, Cd, As, Sb, Sn, Zn, Al, Be, Fe, Cu, Ba, Cr, Tl. Не все перечисленные элементы являются ядовитыми, некоторые из них необходимы для нормальной жизнедеятельности человека и животных. Поэтому часто трудно провести четкую границу между биологически необходимыми и вредными для здоровья человека веществами.

В большинстве случаев реализация того или иного эффекта зависит от концентрации. При повышении оптимальной физиологической концентрации элемента в организме может наступить интоксикация, а дефицит многих элементов в пище и воде может привести к достаточно тяжелым и трудно распознаваемым явлениям недостаточности.

Металлы исключительно широко распространены в живой природе, и большинство из них, включая некоторые тяжелые

металлы, являются эссенциальными факторами для организма человека. Но вместе с тем в определенных концентрациях ряд из них вызывает нарушения здоровья. При этом из 12 наиболее распространенных и потенциально опасных для человека тяжелых металлов (медь, кадмий, ртуть, олово, свинец, сурьма, ванадий, хром, молибден, марганец, кобальт и никель) только 4 (кадмий, ртуть, свинец и сурьма) могут быть безоговорочно отнесены к токсичным элементам.

Ртуть представляет особую опасность из-за ее высокого токсического действия и способности кумулироваться (накапливаться) в организме. Существует два типа круговорота ртути в природе: глобальный, связанный с обменом элементарной ртути между атмосферой и мировым океаном, и локальный, обусловленный процессами метилирования неорганической ртути, поступающей преимущественно из антропогенных источников. Процесс метилирования неорганической ртути в донных отложениях водоемов является ключевым звеном движения ртути по пищевым цепям водных экосистем, что на конечном этапе приводит к ее поступлению в организм человека.

Из морепродуктов основными источниками ртутных загрязнений являются хищные рыбы, такие как тунец, в которых может накапливаться до 1,0 мг/кг ртути.

Свинец. Ионы свинца, подобно ионам ртути, при поступлении в организм взаимодействуют с сульфгидрильными группами белков, в частности ферментов, образуя устойчивые соединения и блокируя тем самым различные ферментные системы. В связи со способностью к кумуляции он накапливается в костной ткани. Источниками загрязнения пищевых продуктов свинцом являются экологически неблагоприятные водоемы, в которых хищные рыбы могут накапливать до 2 мг/кг свинца, а также моллюски и ракообразные – до 10 мг/кг. Важным источником загрязнения является припой в так называемой сварной «сборной» жестяной банке. В некачественно сваренной банке и с плохим лаковым покрытием в консервированных продуктах может накапливаться до 3 мг/кг свинца. Для растительных продуктов (зерно, овощи), выращиваемых вблизи автострад с интенсивным движением, важной причиной накопления свинца является тетраэтилсвинец, добавляемый в автомобильный бензин.

Кадмий. Ионы кадмия оказывают выраженное токсическое действие на человека, во всяком случае на порядок более сильное, чем свинец. Источником загрязнения кадмием пищевых продуктов растительного происхождения являются сточные воды ряда промышленных предприятий, некоторые виды фосфорных удобрений, а также припой, применяемый при изготовлении сборных жестяных банок, используемых при консервировании.

Олово. Главным источником контаминации пищевых продуктов оловом являются луженые консервные банки из белой жести.

Медь. Основным источником загрязнения являются изделия из меди (котлы, трубопроводы, аппаратура и др.), применяемые в пищевой промышленности.

Цинк. Основным источником загрязнения является использование оцинкованной тары для хранения жидких продуктов.

Хром. В связи с переходом некоторых пищевых производств на использование хромированной тары проблема контроля за содержанием этого токсичного элемента может стать актуальной.

Методы контроля. Для контроля содержания токсичных элементов в продуктах питания используют такие же методы, как и при определении микроэлементов. Основными являются спектральные и электрохимические методы.

Лабораторная работа № 15 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВИНЦА И КАДМИЯ** **МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ**

Цель работы: освоить методы определения токсичных элементов; определить свинец и кадмий в пищевых продуктах методом инверсионной вольтамперометрии.

Средства испытаний: анализатор вольтамперометрический марки АВА (АВА-1, АВА-2, АВА-3); пипетки мерные лабораторные стеклянные второго класса точности вместимостью 0,1; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 см³; посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности; кислота азотная плотностью 1,42 г/см³; фоновый электролит 0,1 М КNO₃ + 0,001 М HNO₃; нитрат ртути.

1. Общие сведения

Вольтамперометрия – электрохимический метод анализа, основанный на получении и расшифровке вольтамперограмм (кривых зависимостей силы тока от потенциала системы). Метод инверсионной вольтамперометрии определения содержания свинца и кадмия основан на получении вольтамперограмм после предварительного накопления анализируемого компонента на поверхности индикаторного (рабочего) электрода.

Процесс снятия вольтамперограммы состоит из четырех стадий. Первая стадия – регенерация индикаторного электрода, которая необходима для очистки поверхности электрода от примесей. Регенерация осуществляется анодным током за счет окисления примесей и осаждаемого металла на поверхности электрода.

Вторая стадия – накопление определяемого металла на рабочем электроде при катодном потенциале, при котором осуществляется осаждение металла на электроде. При накоплении металла на электроде осаждается ртуть, которая с определяемым металлом образует амальгаму, что способствует увеличению чувствительности и селективности анализа. Потенциал накопления определяется природой металла. Продолжительность осаждения металла зависит от его концентрации. Вторая стадия осуществляется при перемешивании, что достигается путем вращения рабочего электрода.

Третья стадия – успокоение раствора. Данная стадия необходима для стабилизации раствора электролита, что позволяет снять вольтамперную кривую без искажений.

Четвертая стадия – измерительная (снятие вольтамперограммы). Вольтамперную кривую снимают в потенциодинамическом режиме с определенной скоростью развертки (изменения) потенциала. Скорость развертки потенциала влияет на форму кривой и чувствительность анализа. При малой скорости может быть низкая чувствительность, а при большой возможно искажение кривой.

Каждая стадия осуществляется при конкретном значении потенциалов в определенном интервале деятельности, которые устанавливаются экспериментально и зависят от природы

анализируемого элемента, его концентрации, природы (вида) индикаторного электрода.

Все измерения проводятся в фоновом электролите, который хорошо проводит ток, но не участвует в процессе.

Внешний вид анализатора вольтамперметрического представлен на рис. 12.

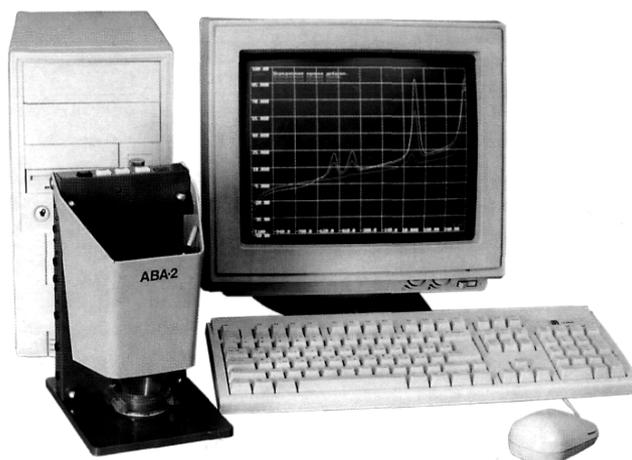


Рис. 12. Анализатор вольтамперметрический АВА-2

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Подготовка образцов. На весах взвешивают пробу продукта массой 50 г. Пробы пищевых продуктов подготавливают и минерализуют методами сухой, мокрой минерализации или кислотной экстракции по ГОСТ 26929-94. Пробоподготовка описана в лабораторной работе № 12.

Раствор азотной кислоты концентрацией 2 : 3. Азотную кислоту плотностью 1,42 г/см³ разводят бидистиллированной водой в соотношении 2 : 3.

Раствор нитрата ртути концентрацией 0,05 моль/л. В мерную колбу на 500 см³ вносят 10 см³ HNO₃ (2 : 3) и 8,35 г нитрата ртути (II). После растворения соли раствор разбавляют бидистиллятом до метки. Полученный раствор имеет концентрацию ртути, равную 10 г/л.

Раствор нитрата ртути концентрацией 1 г/л. Получают путем разбавления раствора нитрата ртути концентрацией 0,05 моль/л бидистиллятом в 10 раз.

Приготовление стандартных растворов свинца и кадмия. Готовят стандартные растворы свинца и кадмия концентрацией Pb^{2+} и Cd^{2+} 2 мг/дм³. 3,198 г высушенного при температуре 110°C нитрата свинца $Pb(NO_3)_2$ и 2,284 г CdO растворяют в небольшом количестве разбавленной HNO_3 (1 : 100), количественно переносят в колбу на 1000 см³ и доводят до метки разбавленной азотной кислотой.

Подготовка к работе стеклоуглеродного электрода. Очистку поверхности рабочего электрода проводят механически не реже одного раза в месяц. Сначала поверхность рабочего электрода обрабатывают наждачной бумагой, затем полируют алмазной пастой до зеркального блеска и протирают спиртом. После промывают дистиллированной водой 3 раза.

Проведение испытаний. Золу, полученную после минерализации, растворяют в азотной кислоте с концентрацией 2 : 3 на водяной бане. Выпаривают раствор до влажных солей, охлаждают до комнатной температуры. Небольшими порциями добавляют фоновый электролит, растворяют пробу и количественно переносят ее в мерную колбу на 100 см³.

Параллельно готовят контрольный опыт на бидистиллированной воде.

Выполнение измерений заключается в регистрации вольт-амперограмм: фонового электролита, пробы и пробы с добавкой.

Регистрация вольтамперограмм раствора фонового электролита. В электрохимическую ячейку вносят 15 мл фонового электролита и добавляют 2 капли раствора ртути.

Проводят цикл измерений (регенерация рабочего электрода, накопление, успокоение раствора, развертка) в следующих условиях:

- потенциал регенерации +350 мВ, продолжительность 20 с;
- потенциал накопления $-(1200-1300)$ мВ, продолжительность 60–80 с;
- потенциал успокоения равен потенциалу накопления, продолжительность 20 с.

Условия устанавливают при помощи программы «Параметры эксперимента эксперимента».

После проведения серии анализов или в конце работы ячейку и электроды тщательно промывают дистиллированной водой.

Регистрация вольтамперограмм пробы и пробы с добавкой. После снятия кривой фона поднимают электроды, удаляют фоновый электролит из ячейки и вносят в ячейку 15 мл анализируемого раствора, добавляют 2 капли раствора ртути, погружают электроды и проводят регистрацию вольтамперной кривой пробы в условиях, описанных выше.

Затем проводят регистрацию вольтамперной кривой пробы с добавкой в тех же условиях. Для этого вносят в ячейку пипеточным дозатором добавку рабочего раствора, выбрав концентрацию и объем добавки так, чтобы высота пика увеличилась в 1,5–3 раза.

Используя программу «Вычисть фон», производят вычитание фона.

Аналогичным образом проводят анализ контрольной пробы.

Обработка результатов. Расчет содержания Pb^{2+} и Cd^{2+} в анализируемой пробе проводится программой автоматически («Результат»). По запросу программы необходимо указать:

- объем ячейки – 15 мл;
- объем добавки – 0,2 мл;
- концентрацию Pb^{2+} и Cd^{2+} в добавке – 2000 мкг/л;
- массу навески – 50 г;
- объем раствора – 100 мл.

Полученное значение концентрации токсичных элементов сравнивают с предельно допустимыми (ПДК), приведенными в СанПин 13 63 РБ.

3.2. Нитраты, нитриты, нитрозосоединения

Нитраты (соли азотной кислоты), в частности нитраты натрия, калия, аммония и кальция, широко применяются в сельском хозяйстве в качестве высокоэффективных минеральных удобрений. Внесение нитратов в почву сопровождается их накоплением в тканях растений. Высоким содержанием нитратов (до 3000 мг/кг) отличаются шпинат, зеленые культуры (салат, укроп, ревен, петрушка, сельдерей), свекла. В других овощах, картофеле, плодах и ягодах обычно нитратов содержится значительно меньше. С учетом потерь при кулинарной обработке (термическая обработка способствует снижению со-

держания нитратов в пищевых продуктах) с пищей в сутки в среднем поступает около 100 мг нитратов.

В измельченных растительных продуктах и нестерилизованных растительных соках нитраты под воздействием соответствующей микрофлоры относительно легко восстанавливаются в нитриты – более токсичные вещества. В желудочно-кишечном тракте при участии микрофлоры они также могут восстанавливаться в нитриты.

Непосредственно сами нитраты относительно малотоксичны, но они рассматриваются как предшественники N-нитрозосоединений. При поступлении в организм в заметных количествах нитраты вызывают усиленное образование метгемоглобина.

Расчетная максимальная суточная доза нитратов в пищевом рационе (пища и вода) не должна превышать 300 мг.

Нитриты (соли азотистой кислоты), в частности нитрит натрия, широко используются в пищевой промышленности в качестве консерванта при приготовлении ветчины, колбас, мясных консервов, сыров, придавая им специфический аромат, вкус и предотвращая развитие микроорганизмов *Clostridium Botulinum*. С пищей и питьевой водой в сутки может поступать до 13 мг нитритов.

При поступлении в организм нитриты окисляются до нитратов. Как и нитраты, они способны усиливать образование метгемоглобина. Наряду с нитратами нитриты являются непосредственными предшественниками N-нитрозосоединений.

N-нитрозосоединения, в частности N-нитрозамины, легко образуются как в окружающей среде (в том числе и в пищевых продуктах), так и в организме животных и человека из соответствующих предшественников – с одной стороны, нитритов, нитратов и с другой – веществ, содержащих аминогруппы – аминов, амидов и др.

N-нитрозамины являются представителями N-нитрозосоединений, хорошо известных как токсические вещества, обладающие мутагенными, тератогенными и выраженными канцерогенными свойствами.

В пищевых продуктах N-нитрозамины могут образовываться (и их содержание затем может значительно возрасти) в процессе хранения, технологической или кулинарной обра-

ботки (жарение, копчение, консервирование мясных и рыбных продуктов и т. п.). N-нитрозамины и другие N-нитрозосоединения наиболее часто обнаруживаются практически во всех видах мясных продуктов. N-нитрозодиметиламин выявляется в рыбных, молочных и растительных продуктах. Кроме того, нитрозамины обнаруживают в питьевой воде и в некоторых напитках. По имеющимся данным, суммарная доза нитрозаминов для городского жителя может достигать 2,5 мкг в сутки.

Лабораторная работа № 16 ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТОВ ИОНОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Цель работы: освоить методики определения нитратов; определить содержание нитратов в овощах ионнометрическим методом.

Средства испытаний: иономер с погрешностью измерения не более 5 мВ (0,05 рС_{NO₃}); ионселективный нитратный электрод с нитратной функцией ЭИМ-II в диапазоне 1–4 единиц рС_{NO₃}; электрод сравнения хлорсеребряный, ЭВЛ-1М1 или ЭВЛ-1М3; весы лабораторные 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г; весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г; дозатор вместимостью 50 см³; мерная стеклянная посуда; мешалка лабораторная электромеханическая или магнитная; пластмассовая терка; алюмокалиевые квасцы; марганцевокислый калий; азотнокислый калий; серная кислота концентрированная.

1. Общие сведения

Определение нитратов и нитритов осуществляется ионнометрическим методом. Сущность метода состоит в извлечении нитратов из анализируемого материала раствором алюмокалиевых квасцов с последующим измерением их концентрации в полученной вытяжке при помощи ионселективного электрода. Для ускорения анализа вместо вытяжки может быть использован сок анализируемой продукции, разбавленный раствором алюмокалиевых квасцов. При анализе капусты для разрушения

мешающих определению нитратов примесей дополнительно проводят их окисление марганцовокислым калием.

Метод может быть использован для определения содержания нитратов в плодоовощной продукции. Метод непригоден, если содержание хлоридов в анализируемом материале более чем в 25 раз превышает содержание нитратов при их концентрации до 50 мг/кг и в 50 раз – при более высоких.

Нижний предел обнаружения нитратов – 6 мг на 1 дм³ анализируемого раствора. Предел надежного определения нитратов в анализируемой пробе – 12 мг/кг.

Метод ионометрии заключается в измерении активности различных ионов (рХ) с помощью ионоселективных электродов. Метод ионометрии относится к потенциометрическим методам, основанным на измерении потенциалов. Устройства, применяемые для измерения потенциала, – потенциометры (рН-метр, иономер) представлены на рис. 13, 14.

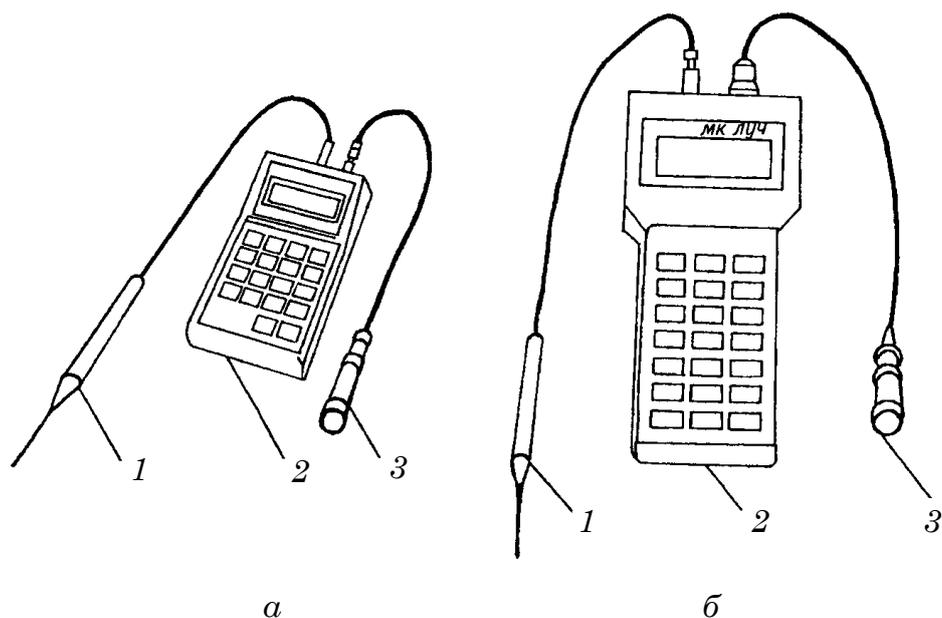


Рис. 13. рН-метры-иономеры:
а – «Экотест-120»;
б – анализатор качества сред КС МК «Луч»;
1 – датчик температуры;
2 – высокоомный преобразователь
с микропроцессорным устройством;
3 – комбинированный ионоселективный
электродатчик (КИД)

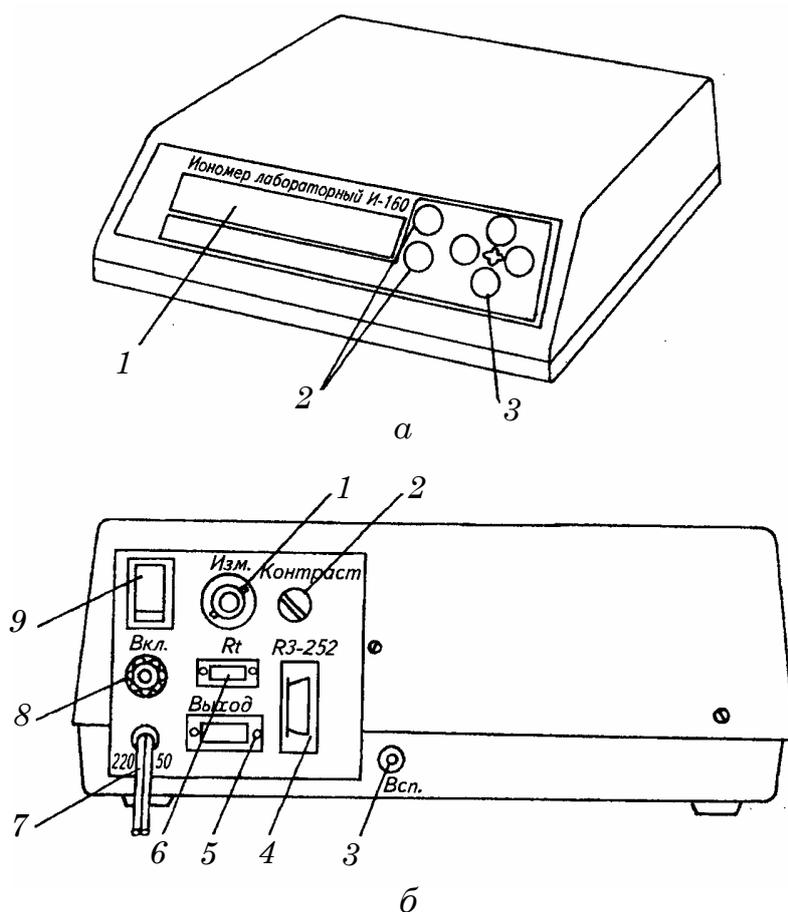


Рис. 14. Иономер лабораторный И-160:

а – внешний вид:

1 – цифровой дисплей;

2 – органы выбора режима измерения;

3 – органы управления;

б – задняя панель:

1 – разъем для подключения электрического электрода;

2 – регулятор контрастности дисплея;

3 – гнездо для подключения вспомогательного электрода;

4 – разъем для подключения персонального компьютера;

5 – разъем для подключения исполнительных устройств;

6 – разъем для подключения термокомпенсатора;

7 – шнур для подключения к сети; 8 – зажим заземления;

9 – выключатель сетевого питания

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Подготовка проб. Пробы измельчают на терке до однородной массы или отжимают сок.

Приготовление раствора алюмокалиевых квасцов с массовой долей 1% (экстрагирующий раствор): 10,0 г алюмокалиевых

квасцов взвешивают с точностью до первого десятичного знака, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки.

Приготовление экстрагирующего раствора для определения нитратов в капусте: 10 г алюмокалиевых квасцов взвешивают с точностью до первого десятичного знака, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, растворяют в дистиллированной воде. Затем 1,0 г марганцевокислого калия (точность взвешивания до второго десятичного знака) помещают в эту же колбу, куда добавляют 0,6 см³ концентрированной серной кислоты. Полученную смесь взбалтывают до растворения всех ингредиентов, раствор доводят до метки дистиллированной водой и хранят в склянке с притертой пробкой не более года.

Приготовление основного раствора азотнокислого калия концентрацией 0,1 моль/дм³ ($pC_{NO_3} = -\log C_{NO_3} = 1$): 10,11 г азотнокислого калия, высушенного при температуре 100–106°C до постоянной массы, взвешивают с точностью до третьего десятичного знака, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³, растворяют в экстрагирующем растворе и доводят объем до метки тем же раствором.

Растворы сравнения азотнокислого калия готовят из основного раствора азотнокислого калия в день проведения анализа, используя для разбавления раствор алюмокалиевых квасцов, который применяется для анализа.

Раствор сравнения концентрации $NO_3 = 0,01$ моль/дм³ ($pC_{NO_3} = 2$): основной раствор азотнокислого калия с концентрацией 0,1 моль/дм³ разбавляют в 10 раз раствором алюмокалиевых квасцов. Для этого в мерную колбу вместимостью 100 см³ отбирают пипеткой 10 см³ основного раствора с $pC_{NO_3} = 1$, доводят до метки раствором алюмокалиевых квасцов и перемешивают.

Раствор сравнения с концентрацией $NO_3 = 0,001$ моль/дм³ ($pC_{NO_3} = 3$): раствор с концентрацией 0,01 моль/дм³ разбавляют в 10 раз раствором алюмокалиевых квасцов.

Раствор сравнения с концентрацией $NO_3 = 0,0001$ моль/дм³ ($pC_{NO_3} = 4$): раствор с концентрацией 0,001 моль/дм³ разбавляют в 10 раз раствором алюмокалиевых квасцов.

Растворы сравнения используют для градуировки прибора и построения градуировочного графика. Активность иона нитрата в растворе указанных концентраций азотнокислого калия соответственно равна 2, 3, 4.

Подготовка мембранного ионселективного нитратного электрода и хлорсеребряного электрода сравнения. Мембранный ионселективный нитратный электрод и хлорсеребряный электрод сравнения готовят к работе в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к ним.

В промежутках между исследованиями мембранный ионселективный электрод погружают в раствор с $pC_{NO_3} = 4$. Если перерывы в работе составляют сутки и более, его хранят в растворе азотнокислого калия концентрацией $NO_3 = 0,001$ моль/дм³. При длительных перерывах между исследованиями (более 5 сут) электрод хранят на воздухе и перед началом работы вымачивают 1–2 ч в растворе азотнокислого калия концентрации $NO_3 = 0,1$ моль/дм³. В обоих случаях перед началом измерений электрод промывают в дистиллированной воде не менее 3 раз.

Хлорсеребряный электрод сравнения в перерывах между исследованиями погружают в стакан с дистиллированной водой.

Проведение испытаний. 10,0 г взвешенного с точностью до первого десятичного знака измельченного на терке материала помещают в стакан вместимостью 100 см³, наливают 50 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов и перемешивают с помощью мешалки в течение 3 мин.

В полученной суспензии измеряют концентрацию нитрат-иона.

Для растениеводческой продукции, кроме зеленых культур, с целью ускорения и снижения трудоемкости анализа возможно использование для анализа сока. Для получения сока пробы пропускают через электромеханическую соковыжималку. Полученный сок выжимают в одну емкость и перемешивают.

От полученного сока с помощью пипетки отбирают аликвотную часть объемом 10,0 см³, измеренным с точностью до 0,1 см³, помещают ее в стакан вместимостью 100 см³, прибавляют 50 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов, перемешивают и в полученном растворе измеряют концентрацию нитрат-ионов.

Градуировка иономера проводится в соответствии с инструкцией к прибору.

Градуировку прибора проводят по двум растворам сравнения с $pC_{NO_3} = 2$ и $pC_{NO_3} = 4$. Начинать градуировку следует с раствора с $pC_{NO_3} = 4$. В этих целях электрод ЭИМ-II и вспомогательный электрод погружают в раствор сравнения концентрацией $NO_3 = 0,0001$ моль/дм³ ($pC_{NO_3} = 4$) и, нажав клавишу «рХ», ручкой «Калибровка» устанавливают стрелку прибора на любое оцифрованное деление в центре шкалы (например, 2). Присваивают этому делению величину 4,00 pC_{NO_3} . Нажимают клавишу «t».

Затем вынимают электрода из раствора, промокают фильтровальной бумагой и погружают в раствор с $pC_{NO_3} = 2$. Нажимают клавишу «рХ».

Стрелка прибора должна отклониться вправо примерно на два больших деления. Ручками «Крутизна» и «Температура» устанавливают стрелку прибора на отметку 4, присвоив ей величину 2,00 pC_{NO_3} . Нажимают клавишу «t». Вынимают электроды из раствора, промывают их дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой.

Все операции по градуировке прибора, описанные в предыдущем абзаце, повторяют до тех пор, пока стрелка не будет точно установлена на отметках 2,00 и 4,00 на вновь присвоенной шкале прибора.

Проверку калибровки проводят, погружая электроды в раствор сравнения с $pC_{NO_3} = 3$. Стрелка прибора должна останавливаться на делении 3,00. Допустимые отклонения +0,04 pC_{NO_3} . Проверку калибровки проводят не менее 3 раз в течение рабочего дня.

Для измерения концентрации нитратов в испытуемом растворе электроды погружают в раствор и нажимают клавишу «рХ». Показания прибора считывают не ранее чем через 1 мин после прекращения дрейфа показаний прибора. Перед каждым измерением электроды ополаскивают дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой.

Полученные значения pC_{NO_3} переводят в микрограммы NO_3 на килограмм продукта.

Обработка результатов. Если при анализе использовалась навеска измельченной пробы, то массовую долю

нитратов в испытуемом материале X , мг/кг, рассчитывают по формуле

$$X = \frac{\left(V + \frac{W \cdot m}{100} \right) \cdot 10^{-pC_{\text{NO}_3}} \cdot 62 \cdot 10^3 \cdot 10^3}{1000 \cdot m},$$

где V – объем экстрагирующего раствора, см³; W – массовая доля воды в пробе, %; m – масса пробы, взятой для анализа, г; 100 – коэффициент перевода процентов в доли единиц; $10^{-pC_{\text{NO}_3}}$ – концентрация нитрата в вытяжке, моль/дм³; 62 – молярная масса нона нитрата, г; 10^3 – коэффициент перевода граммы в килограммы; 10^3 – коэффициент перевода долей единицы в миллиграммы (мг/кг); 1000 – коэффициент перевода дециметров кубических в сантиметры кубические.

Принимая $V = 50$ см³, $m = 10$ г и проводя соответствующие преобразования, получаем следующую формулу для расчета:

$$X = \left(50 + \frac{W}{10} \right) \cdot 10^{-pC_{\text{NO}_3}} \cdot 6200.$$

При разбавлении пробы результат анализа увеличивают во столько раз, во сколько была разбавлена проба.

Вычисления проводят до целых чисел (мг/кг). За окончательный результат принимают среднее арифметическое (X) результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать предела сходимости (r), рассчитанного по формуле

$$r = 13,8 + 0,08X.$$

Полученное значение концентрации нитратов сравнивают с предельно допустимыми (ПДК), приведенными в СанПин 13 63 РБ.

3.3. Ароматические углеводороды

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются одними из загрязнителей пищевых продуктов и относятся к наиболее сильным канцерогенным веществам. Основными источниками ПАУ в окружающей среде и далее в пищевых продуктах являются техногенные выбросы металлургических, кок-

сохимических и ряда других производств, тепловых и электрических станций, выхлопные газы автомобилей и ряд технологических обработок пищевых продуктов (копчение, сушка).

Канцерогенной и мутагенной активностью обладают ПАУ, содержащие от 4 до 7 ароматических колец в молекуле. Канцерогенное действие таких ПАУ, как бенз(а)пирен, дибенз(а,һ)антрацен, дибенз(а,і)пирен, проявляется на очень низких уровнях, составляющих доли миллиграмма или даже микрограмма. Умеренно активным является – бенз(һ)флуорантен, менее активными – бенз(е)пирен, бенз(а)антроцен, дибенз(а,с)антрацен, хризен и др.

Мониторинг загрязнений ПАУ включает анализ до десятка и более соединений, из которых в качестве тестового, как правило, используется без(а)пирен, присутствующий во всех загрязненных объектах окружающей среды.

Загрязнение пищевых продуктов ПАУ может происходить несколькими путями. Прежде всего – это загрязнение окружающей среды техногенными факторами. Например, рыба из экологически неблагополучных районов моря может содержать ПАУ на уровне 10 мкг/кг и более. То же наблюдается в зерне, овощах и фруктах, выращенных в районах с загрязненным воздухом, почвой или водой. Еще больший уровень загрязненности ПАУ – порядка нескольких сотен мкг/кг может быть достигнут при некоторых технологических обработках пищевых продуктов, например при горячем копчении или обжаривании на углях или дымовой сушке зерна.

Многообразие форм поступления ПАУ в пищевые продукты, их химическая стабильность в окружающей среде и высокая канцерогенная и мутагенная активность требуют контроля за их содержанием.

Углеводороды контролируются в продуктах животного происхождения (мясо и мясопродукты, яйца, животные жиры), рыбопродуктах, растительных маслах, продуктах растительного происхождения.

Методы контроля заключаются в выделении углеводородов из неомыляемой фракции липидов, получаемой при обработке образца спиртовым раствором щелочи. Затем углеводороды экстрагируются гексаном путем хроматографического

разделения экстракта. Идентификация и количественное определение углеводов осуществляется с помощью газовой хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, спектрофотометрии и спектрофлуориметрии, а также хромато-масс-спектрометрии.

Для выделения суммы углеводов используется разделение экстракта на колонке с окисью алюминия или же на колонке, состоящей из двух слоев – силикагеля и окиси алюминия. Из этой суммы углеводов с помощью тонкослойной хроматографии на силикагеле выделяют сумму насыщенных углеводов и сумму ароматических углеводов. Анализ этих соединений осуществляют методами газовой хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. При этом методом высокоэффективной жидкостной хроматографии можно определить как содержание отдельных компонентов фракции ароматических углеводов, так и ее суммарное содержание и групповой состав. Метод газовой хроматографии позволяет определить суммарное содержание насыщенных углеводов и состав этой фракции.

Другим вариантом разделения неомыляемой фракции липидов является последовательная хроматография на колонке с силикагелем и в тонком слое окиси алюминия, что позволяет выделить фракцию насыщенных углеводов и отдельно фракции моно-, би-, трициклических ароматических углеводов. Анализ этих соединений проводят методами газовой хроматографии и ультрафиолетовой (УФ) спектрофотометрии соответственно. УФ-спектрофотометрический метод дает возможность определить содержание фракций моно-, би- и трициклических ароматических углеводов в образце.

Арбитражным методом является хромато-масс-спектрометрию. Метод является сложным и малодоступным. Однако как единственный прямой метод идентификации компонентов сложных углеводородных смесей, позволяющий проводить и количественный анализ, он полезен в особо сложных нерутинных исследованиях, а также на подготовительных стадиях анализа, например при построении градуировочных графиков по нефтяным фракциям. Для анализа этим методом рекомендуется использовать фракции насыщенных углеводов и узкие фракции ароматических углеводов.

Выделение полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) осуществляют двумя способами. Первый включает переэкстракцию ПАУ из гексанового раствора неомыляемой фракции липидов комплексообразователем – диметилформамидом и хроматографическую очистку экстракта на колонке с сефадексом LH-20. Второй способ заключается в разделении неомыляемой фракции липидов на колонке с дезактивированной окисью алюминия. Анализ ПАУ проводят с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии или низкотемпературной спектрофлуориметрии.

Ввиду того, что бенз(а)пирен рассматривают в качестве индикатора загрязнения ПАУ, разработаны методики его выделения и определения. Первый способ позволяет определить бенз(а)пирен в сумме ПАУ методом низкотемпературной спектрофлуориметрии, второй предполагает его выделение из суммы ПАУ в тонком слое ацетилированной целлюлозы и определение более простым, чем низкотемпературный, методом спектрофлуориметрии при комнатной температуре.

Для анализа рыбопродуктов разработаны методики выделения отдельных групп углеводородов из липидного экстракта, а не из неомыляемой фракции липидов. Экстракция липидов осуществляется флороформом. Из липидного экстракта путем колоночной хроматографии на окиси алюминия, импрегнированной азотистокислым натрием, выделяют фракции насыщенных углеводородов, а также бициклических ароматических углеводородов. Наличие последних в образце рыбы свидетельствует о возможном нефтяном загрязнении. Анализ указанных углеводородных фракций осуществляют газовой хроматографией, при которой определяют содержание в образце отдельных компонентов фракций.

Лабораторная работа № 17 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕНЗ(А)ПИРЕНА**

Цель работы: освоить методики определения ароматических углеводородов; определить содержание бенз(а)пирена в пищевых продуктах методом спектрофлуориметрии при комнатной температуре.

Средства испытаний: флуоресцентный спектрометр со спектральным диапазоном длин волн 300–460 нм с кюветами вместимостью 0,4 см³; весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г; испаритель ротационный; баня водяная; камера хроматографическая 40×40×40 см; осветитель ультрафиолетовый; пластины стеклянные 20×20 см для тонкослойной хроматографии; колонка стеклянная хроматографическая длиной 500 мм и диаметром 20 мм с оттянутым внизу концом и резервуаром вместимостью 50–60 см³ ПЩ 14/23; линейка измерительная ценой деления 0,1 см; целлюлоза микрокристаллическая для хроматографии; силикагель для хроматографии; сефадекс.

1. Общие сведения

Определение содержания бенз(а)пирена осуществляется с использованием спектрофлуориметра, в основе работы которого положено явление люминесценции.

Люминесцентный метод исследования различных объектов основан на наблюдении их люминесценции. При люминесцентном анализе наблюдают либо собственное свечение исследуемых объектов (например, паров исследуемого газа), либо свечение специальных люминофоров, которыми обрабатывают исследуемый объект. Аппаратура, применяемая для люминесцентного анализа, содержит источник возбуждения люминесценции и регистрирующее устройство. Чаще всего возбуждают фотолюминесценцию объекта, однако в некоторых случаях наблюдают катодолюминесценцию, радиолюминесценцию и хемилюминесценцию. Фотовозбуждение обычно производится кварцевыми ртутными лампами, причем с помощью светофильтров из их спектра, как правило, вырезается ультрафиолетовая часть. Кроме ртутных ламп, в качестве источника света в люминесцентном анализе применяют ксеноновые лампы, искры в воздухе, лазеры. Регистрация люминесценции обычно осуществляется визуально или с помощью фотоэлектронных приборов, которые повышают точность метода.

По длительности люминесцентного свечения различают флуоресценцию (свечение длится после удаления источника

излучения 10^{-10} – 10^{-12} с) и фосфоресценцию (свечение продолжается от долей секунд до нескольких минут и даже часов).

При количественном и качественном химическом люминесцентном анализе регистрируется чаще всего самостоятельное свечение веществ. С помощью количественного анализа по интенсивности света люминесценции определяют концентрацию люминесцирующего вещества (при малых оптических толщинах его и концентрациях меньше 10^{-4} – 10^{-5} г/см³). Чувствительность количественного люминесцентного анализа очень велика и достигает нескольких единиц на 10^{-10} г/см³ при обнаружении ряда органических веществ. Это позволяет использовать люминесцентный анализ для контроля чистоты веществ.

Качественный химический люминесцентный анализ позволяет обнаруживать и идентифицировать некоторые вещества в смесях. В этом случае с помощью спектрофотометров изучают распределение энергии в спектре люминесценции веществ.

Некоторые нелюминесцирующие вещества обнаруживают по люминесценции продуктов их взаимодействия со специально добавляемыми веществами.

Внешний вид спектрофлуориметра СМ 2203 представлен на рис. 15.



Рис. 15. Спектрофлуориметр СМ 2203

Спектрофлуориметр СМ 2203 для ультрафиолетовой и видимой области спектра предназначен для высокочувствительного и стабильного измерения спектров возбуждения, испускания, синхронных, поляризации, температурных, квантового выхода, поглощения жидких и твердых образцов. Прибор СМ 2203 полностью управляется от компьютера.

Спектрофлуориметрический метод определения содержания бенз(а)-пирена заключается в экстракции углеводородов, в том числе и бенз(а)-пирена, гексаном из продукта, предварительно обработанного спиртовым раствором едкого калия, выделении фракции полициклических ароматических углеводородов, содержащих бенз(а)пирен, очистке полученной фракции от мешающих примесей на колонке с сефадексом и в тонком слое ацетиловой целлюлозы с последующим количественным определением выделившегося бенз(а)пирена высокоэффективной жидкостной хроматографией.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Приготовление растворителей. Все используемые органические растворители перегоняют общепринятым способом с дефлегматором.

Приготовление стандартного раствора бенз(а)пирена концентрацией 100 мкг/см³. Отвешивают (20±0,2) мг бенз(а)-пирена. Навеску количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ с бензолом, объем доводят бензолом до метки.

Приготовление рабочего раствора бенз(а)пирена концентрацией 1,0 мкг/см³. Готовят разведением стандартного раствора в 100 раз.

Приготовление ацетиловой целлюлозы. В плоскодонную колбу вместимостью 500 см³ помещают (50,0±2,0) г микрокристаллической целлюлозы, добавляют приготовленную в отдельной колбе смесь 150 см³ бензола или толуола, 70 см³ уксусного ангидрида и 0,3 см³ серной кислоты. Реакционную смесь перемешивают магнитной мешалкой в течение 6–8 ч, оставляют без перемешивания еще на 18 ч, после чего декантируют жидкую фазу, а остаток заливают 300 см³ этилового спирта, перемешивают и оставляют на 24 ч. Затем целлюлозу отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают 100 см³ этилового спирта и дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод.

Проверяют хроматографическую активность ацетиловой целлюлозы. Готовят смесь этилового спирта, ацетона и воды (60 : 25 : 15) и выливают ее в высланную полосками фильтровальной бумаги хроматографическую камеру. Высота

слоя растворителя 1,5–2 см. 1,5 г ацетилованной целлюлозы суспензируют в 7 см³ этилового спирта и выливают суспензию ровным слоем на стеклянную пластину 5×20 см, дают растворителю полностью испариться на воздухе и наносят на пластинку в точку 5 мкл раствора бенз(а)пирена массовой концентрацией 1 мкл/см³. Пластику помещают в хроматографическую камеру и оставляют в камере до тех пор, пока уровень растворителя поднимется не менее чем на 100 мм от линии старта. По окончании хроматографии пластину вынимают, высушивают на воздухе и под лампой ультрафиолетового облучателя отмечают флуоресцирующее голубым цветом пятно бенз(а)пирена. Измеряют расстояние от стартовой линии до фронта растворителя и до середины пятна бенз(а)пирена, рассчитывают значение R_f , оценивающее скорость перемещения бенз(а)пирена по пластинке, согласно формуле

$$R_f = \frac{L_{\text{БП}}}{L},$$

где $L_{\text{БП}}$ – расстояние от стартовой линии до середины пятна бенз(а)пирена, мм; L – расстояние от стартовой линии до фронта растворителя, мм.

Значение R_f бенз(а)пирена должно составлять 0,1.

Для приготовления пластинки 5 г ацетилованной целлюлозы суспензируют в 20 см³ этилового спирта и наносят равным слоем на стеклянную пластинку 20×20 см.

Проведение испытаний. Щелочной гидролиз и экстракция неомыляемой фракции липидов. 10 г измельченного продукта помещают в плоскодонную колбу вместимостью 100 см³, добавляют раствор 4 г гидроксида калия в 50 см³ 92%-ного этилового спирта.

Содержимое колбы перемешивают встряхиванием. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают при кипении реакционной массы и перемешивании на магнитной мешалке в течение 3 ч. В колбу через холодильник добавляют 100 см³ дистиллированной воды. Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры и переносят в делительную воронку вместимостью 500 см³ и экстрагируют трижды по 30 см³ гексана. Для расслоения эмульсии можно добавить в воронку

небольшое количество сульфата натрия. Объединенные гексановые экстракты промывают в делительной воронке дистиллированной водой трижды по 30 см³, переносят в плоскодонную колбу вместимостью 100 см³ через слой безводного сульфата натрия на воронке с пористым фильтром. Раствор упаривают на ротационном испарителе до объема 50 см³ при температуре водяной бани не более 60°C.

Перезэкстракция ПАУ водным диметилформамидом. Упаренный экстракт переносят в делительную воронку емкостью 500 см³ и добавляют 50 см³ смеси диметилформамида и воды, взятых в объемном соотношении 9 : 1. Содержимое воронки интенсивно встряхивают в течение 1 мин, отделяют нижний слой, а из верхнего гексанового экстрагируют ПАУ повторно, добавив в воронку новую порцию водного диметилформамида объемом 50 см³. Гексановый (верхний) слой отбрасывают, а объединенный диметилформамидный экстракт разбавляют 100 см³ воды и экстрагируют ПАУ из слоя разбавленного водой диметилформамида гексаном трижды по 50 см³. Гексановые экстракты объединяют и промывают водой (трижды по 30 см³), затем переносят в плоскодонную колбу с 10 г безводного сульфата натрия и сушат экстракт в течение 1 ч. Обезвоженный экстракт упаривают до объема 1,5–2 см³, остаток растворителя удаляют током азота или воздуха. Вещество в колбе растворяют в 0,5 см³ этилового спирта и очищают на колонке с сефадексом LH-20.

Хроматография на колонке с сефадексом LH-20. В стакан вместимостью 100 см³ отвешивают (2,5±0,2) г сефадекса, заливают 50 см³ этанола и оставляют для набухания на 3–4 ч, после чего гель переносят на стеклянную хроматографическую колонку длиной 500 мм и внутренним диаметром 10–15 мм со стеклянным пористым фильтром ПОР 160, дают растворителю стечь и переносят на колонку раствор экстракта, смывая его из колбы трижды этиловым спиртом порциями по 0,5 см³, каждый раз давая растворителю полностью впитаться в слой геля. Элюируют вещество с колонки 40 см³ этилового спирта.

Первую фракцию объемом 12 см³ этилового спирта отбрасывают, вторую фракцию объемом 25 см³ собирают, затем упаривают растворитель до объема 0,5–1 см³, остаток растворителя удаляют в потоке воздуха или азота.

Полученную фракцию, содержащую бенз(а)пирен, далее анализируют спектрофлуориметрическим методом.

При определении содержания бенз(а)пирена одновременно с пробой продукта анализируют пробу контрольного опыта, в которую добавлено 50 мкл раствора бенз(а)пирена массовой концентрацией 1 мкг/см³.

Растворяют пробу в 0,5 см³ бензола и далее подвергают фракции, содержащие бенз(а)пирен, из пробы продукта и пробы контрольного опыта дополнительной очистке в тонком слое ацетилюрованной целлюлозы.

Для этого подготовленную пластинку размером 20×20 см делят на два поля: боковое – шириной 1,5–2 см и основное, проводя по слою сорбента скальпелем или тонким шпателем разделительную полосу. Вещество сплошной полосой наносят на подготовленную пластинку, оставляя снизу и с боков пластинки поля шириной 1,5–2,0 см. Размер пятен не должен превышать 5 мм. На стартовую линию бокового поля наносят в точку 5 мкл раствора бенз(а)пирена с концентрацией 1 мкг/см³. Пластинку помещают в хроматографическую камеру под углом 70–85° и проводят элюирование в смеси этилового спирта, ацетона и воды, взятых в объемном соотношении 60 : 25 : 15. Камера должна быть предварительно насыщена парами растворителя в течение 2–3 ч. Когда фронт растворителя достигнет 2 см от верхнего края пластинки, ее вынимают, высушивают на воздухе и проявляют хроматографическую зону бенз(а)пирена в УФ-свете с длиной волны 360 нм. Сорбент из зоны бенз(а)пирена (которая ниже зоны бенз(к)флуорантена) собирают с помощью скальпеля и переносят на стеклянный фильтр, с которого вещество элюируют в несколько приемов 50 см³ бензола в колбу вместимостью 100 см³, далее растворитель упаривают до небольшого объема, остаток растворителя удаляют потоком воздуха и добавляют в колбу 1 см³ бензола.

На спектрофлуориметре при длине волны возбужденного света 386 нм в диапазоне 400–440 нм при скорости сканирования 60 нм/мин записывают спектры флуоресценции пробы продукта и пробы контрольного опыта с добавкой бенз(а)пирена.

Спектры растворов записывают в одном режиме усиления, регулируя щель и коэффициент усиления по раствору

контрольной пробы так, чтобы сигнал бенз(а)пирена при 406 нм составлял 0,4–0,6 шкалы прибора. Для каждого раствора спектр записывают дважды, добиваясь хорошей воспроизводимости. На полученных спектрах в максимуме при 406 нм измеряют в миллиметрах высоту спектральной линии бенз(а)пирена для пробы продукта и пробы контрольного опыта. Рассчитывают среднее значение высот бенз(а)пирена по данным двух спектрограмм.

Проводят два параллельных определения.

Обработка результатов. Массовую долю бенз(а)пирена X_1 , %, или X_2 , мг/кг, в продукте рассчитывают по следующим формулам:

$$X_1 = \frac{H \cdot C_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot V}{H_{\text{ст}} \cdot m \cdot 1000 \cdot 100} = \frac{C_{\text{ст}} \cdot H \cdot V}{H_{\text{ст}} \cdot m} \cdot 10^{-4},$$

$$X_2 = \frac{C_{\text{ст}} \cdot H \cdot V}{H_{\text{ст}} \cdot m},$$

где H – высота спектральной линии бенз(а)пирена в пробе, мм; $C_{\text{ст}}$ – массовая концентрация бенз(а)пирена в рабочем растворе и добавленного в пробу контрольного опыта, мкг/см³; V – объем рабочего раствора бенз(а)пирена, добавленного в пробу контрольного опыта, см³; $H_{\text{ст}}$ – высота спектральной линии бенз(а)пирена в пробе контрольного опыта, мм; m – масса навески продукта.

Результат округляют до второй значащей цифры.

Расхождения между двумя параллельными результатами не должно превышать 0,4 от среднего арифметического.

3.4. Пищевые добавки

Пищевые добавки – вещества природного или синтетического происхождения, преднамеренно добавляемые в пищевой продукт с целью достижения определенного технологического эффекта, увеличения сроков хранения, улучшения вкусовых и других органолептических свойств, совершенствования приемов технологической и кулинарной обработки пищевых продуктов.

Бурное развитие пищевой и химической отраслей промышленности предопределяет весьма широкое применение

пищевых добавок. Они выполняют разнообразные функции в пищевой технологии и продуктах питания.

Пищевые добавки вводятся с целью:

- совершенствования технологии подготовки и переработки пищевого сырья, изготовления, фасовки, транспортировки и хранения продуктов питания. Применяемые при этом добавки не должны маскировать последствий использования некачественного или испорченного сырья, или проведения технологических операций в антисанитарных условиях;

- сохранения природных качеств пищевого продукта;

- улучшения органолептических свойств пищевых продуктов и увеличения их стабильности при хранении.

Применение пищевых добавок допустимо только в том случае, если они даже при длительном потреблении в составе продукта не угрожают здоровью человека, и при условии, если поставленные технологические задачи не могут быть решены иным путем. Обычно пищевые добавки разделяют на несколько групп:

- вещества, улучшающие внешний вид пищевых продуктов (красители, стабилизаторы окраски, отбеливатели);

- вещества, регулирующие вкус продукта (ароматизаторы, вкусовые добавки, подслащивающие вещества, кислоты и регуляторы кислотности);

- вещества, регулирующие консистенцию и формирующие текстуру (загустители, гелеобразователи, стабилизаторы, эмульгаторы и др.);

- вещества, повышающие сохранность продуктов питания и увеличивающие сроки хранения (консерванты, антиоксиданты и др.).

К пищевым добавкам не относят соединения, повышающие пищевую ценность продуктов питания и причисляемые к группе биологически активных веществ, такие как витамины, микроэлементы, аминокислоты.

Существует различие между пищевыми добавками и вспомогательными материалами, употребляемыми в ходе технологического процесса. Вспомогательные материалы – любые вещества или материалы, которые, не являясь пищевыми ингредиентами, преднамеренно используются при переработке

сырья и получении продукции с целью улучшения технологии; в готовых пищевых продуктах вспомогательные материалы должны полностью отсутствовать, но могут также определяться в виде неудаляемых остатков.

Число пищевых добавок, применяемых в производстве пищевых продуктов в разных странах, достигает сегодня 500 наименований (не считая комбинированных добавок, индивидуальных душистых веществ, ароматизаторов). Для гармонизации их использования производителями Европейским советом разработана рациональная система цифровой кодификации пищевых добавок с литерой «Е». Каждой пищевой добавке присвоен цифровой трех- или четырехзначный номер (в Европе с предшествующей ему литерой Е). Они используются в сочетании с названиями функциональных классов, отражающих группировку пищевых добавок по технологическим функциям (подклассам).

Следовательно, разрешенные пищевые добавки, имеющие индекс Е и идентификационный номер, обладают определенным качеством, которое определяется совокупностью характеристик, обуславливающих технологические свойства и безопасность пищевых добавок.

Наличие пищевой добавки в продукте должно указываться на этикетке, при этом она может обозначаться как индивидуальное вещество или как представитель конкретного функционального класса (с конкретной технологической функцией) в сочетании с кодом Е. Например: бензоат натрия, или консервант Е211.

Основные группы пищевых добавок согласно системе цифровой кодификации следующие:

- Е 100-Е 182 – красители;
- Е 200 и далее – консерванты;
- Е 300 и далее – антиокислители (антиоксиданты);
- Е 400 и далее – стабилизаторы консистенции;
- Е 450 и далее, Е 1000 – эмульгаторы;
- Е 500 и далее – регуляторы кислотности, разрыхлители;
- Е 600 и далее – усилители вкуса и аромата;
- Е 700–Е 800 – запасные индексы для другой возможной информации;
- Е900 и далее – глазирующие агенты, улучшители хлеба.

Многие пищевые добавки имеют комплексные технологические функции, которые проявляются в зависимости от особенностей пищевой системы. Например, добавка Е339 (фосфаты натрия) может проявлять свойства регулятора кислотности, эмульгатора, стабилизатора, комплексообразователя и водоудерживающего агента.

Большинство пищевых добавок не имеет, как правило, пищевого значения, т. е. не является пластическим материалом для организма человека, хотя некоторые пищевые добавки являются биологически активными веществами.

Применение пищевых добавок, как всяких чужеродных (обычно несъедобных) ингредиентов пищевых продуктов, требует строгой регламентации и специального контроля. При этом учитываются ПДК (мг/кг) – предельно допустимая концентрация чужеродных веществ (в том числе добавок) в продуктах питания, ДСД (мг/кг массы тела) – допустимая суточная доза и ДСП (мг/сутки) – допустимое суточное потребление – величина, рассчитываемая как произведение ДСД на среднюю величину массы тела – 60 кг. Требования к качеству пищевых добавок и безопасности установлены в СанПин 13 10 РБ 2002.

Лабораторная работа № 18 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ СЕРНИСТОЙ КИСЛОТЫ**

Цель работы: освоить методики определения пищевых добавок; установить содержание сернистой кислоты в продуктах переработки плодов и овощей ускоренным методом.

Средства испытаний: весы лабораторные 4-го класса точности; раствор гидроксида калия или натрия концентрацией 1 н; 1%-ный раствор крахмала; серная кислота (1 : 3); раствор йода концентрацией 0,01 н; мерная посуда стеклянная.

1. Общие сведения

Сернистая кислота является консервантом, и ее содержание в пищевом продукте регламентируется.

Определение содержания сернистой кислоты осуществляют двумя стандартизованными методами: стандартным и ускоренным.

Определение массовой доли сернистой кислоты стандартным методом основано на выделении из продукта исследования диоксида серы при нагревании под действием соляной кислоты в токе диоксида углерода. Выделенный диоксид серы окисляется раствором пероксида водорода в серную кислоту, которую определяют либо весовым методом путем осаждения ее в виде бариевой соли, либо объемным – путем титрования образовавшейся серной кислоты раствором гидроксида натрия или калия.

Ускоренный метод основан на окислении сернистой кислоты йодом. При определении раствор продукта предварительно обрабатывают последовательно раствором гидроксида калия или натрия и серной кислотой для превращения связанной сернистой кислоты в свободную.

2. Порядок проведения испытаний

Проведение испытаний. В химический стакан вносят навеску измельченного исследуемого продукта массой 5 г, взвешенную с погрешностью до 0,01 г, и смывают 50 см³ дистиллированной воды в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 200–250 см³. Колбу встряхивают или перемешивают на магнитной мешалке 5 мин, приливают 25 см³ 1 н раствора гидроксида калия или натрия, вновь закрывают пробкой, взбалтывают и оставляют на 15 мин. Затем вносят 10 см³ серной кислоты (1 : 3), 1 см³ 1%-ного раствора крахмала и титруют при перемешивании 0,01 н раствором йода до появления не исчезающей в течение нескольких секунд синей окраски.

Контрольный опыт проводят в тех же условиях, но без навески.

Обработка результатов. Массовая доля общей сернистой кислоты (в пересчете на SO₂) рассчитывается по формуле

$$X = (V - V_0) \cdot 0,32 / 10m ,$$

где X – массовая доля общей сернистой кислоты в 100 г продукта, %; V – количество 0,01 н раствора йода, израсходованного на титрование исследуемого раствора, см³; V_0 – количество 0,01 н раствора йода, израсходованного в контрольном опыте, см³; 0,32 – количество SO₂, соответствующее 1 см³ 0,01 н раствора йода, мг; m – масса продукта, г.

Допускаемые расхождения между параллельными определениями не должны превышать 6% (отн.).

Полученные значения сравнивают с предельно допустимыми, приведенными в табл. 20.

Таблица 20

Предельно допустимые нормы консервантов

Вид плодово-ягодного сырья	Вид консерванта	Массовая доля консервантов, %, не более
Пюре	Сернистая кислота (в пересчете на SO ₂)	0,2
	Бензоат натрия	0,1
Джем	Сернистая кислота (в пересчете на SO ₂)	0,01
Повидло	Общая сернистая кислота (в пересчете на SO ₂)	0,01
	Бензоат натрия (в пересчете на бензойную кислоту)	0,07

Лабораторная работа № 19

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕНЗОАТА НАТРИЯ

Цель работы: освоить методики определения консервантов; определить массовую долю бензоата натрия в продуктах переработки плодов и овощей.

Средства испытаний: весы лабораторные 4-го класса точности; гидроксид натрия концентрацией 10%; гексацианоферрат калия концентрацией 15%; сульфат цинка концентрацией 30%; соляная кислота концентрацией 10%; хлороформ; спирт этиловый; фенолфталеин; гидроксид натрия или калия концентрацией 0,05 н.

1. Общие сведения

Бензоат натрия используется в пищевой промышленности в качестве консерванта.

Определение бензоата натрия основано на экстракции хлороформом бензойной кислоты из водной вытяжки после осаждения из нее белковых веществ с помощью растворов сульфата цинка и гексацианоферрата калия (II). Количество

бензойной кислоты определяют титрованием раствором гидроксида натрия или калия.

2. Порядок проведения испытаний

Проведение испытаний. Пробу (пюре продукта) в количестве 100–150 г, взвешенную с погрешностью до $\pm 0,01$ г, переносят при помощи дистиллированной воды в мерную колбу вместимостью 500 см³. Затем прибавляют 10%-ный раствор гидроксида натрия до щелочной реакции по лакмусовой бумаге, вносят 10 см³ 15%-ного раствора гексацианоферрата калия (II) и 12 см³ 30%-ного раствора сульфата цинка. После прибавления каждого из этих реактивов колбу с содержимым энергично взбалтывают. Затем содержимое в колбе доводят дистиллированной водой до метки. Перемешивают и через 5 мин фильтруют в сухую колбу. Фильтрат в количестве 100 или 200 см³ переносят количественно в делительную воронку, нейтрализуют 10%-ным раствором соляной кислоты до нейтральной реакции по лакмусовой бумаге и добавляют еще 5 см³ этой же кислоты. Жидкость экстрагируют хлороформом 4 раза с интервалом 15–20 мин. Если берут 200 см³ фильтрата, то объем хлороформа соответственно составит 70; 50; 40 и 30 см³. При меньшем количестве фильтрата объем хлороформа пропорционально уменьшают. После каждого добавления порции хлороформа раствор взбалтывают круговыми вращательными движениями. После непродолжительного отстаивания хлороформенный слой обычно легко отделяется. Сливают аккуратно, чтобы не захватить водного слоя. При соблюдении этого условия не требуется промывки хлороформенной вытяжки, в противном случае хлороформенный слой следует промывать дистиллированной водой 2 раза по 5 см³.

При удалении хлороформа в целях экономии можно 3/4 его объема отогнать на водяной бане при температуре около 65°C, а остаток (1/4 объема) в колбе перенести в выпарительную чашку, после чего колба смывается небольшим количеством хлороформа в ту же чашку и он выпаривается досуха при температуре около 40–50°C. Работают с хлороформом под тягой. Остаток бензойной кислоты в чашке растворяют в 30–50 см³ 95%-ного нейтрального по фенолфталеину спирта, при-

бавляют 1/4 часть по объему воды, 2 капли фенолфталеина и титруют 0,05 н раствором гидроксида натрия или калия. Титр гидроксида натрия или калия устанавливают по химически чистой бензойной кислоте.

Обработка результатов. Массовую долю бензоата натрия рассчитывают по формуле

$$X = aK \cdot 7,1V_1 \cdot 100 / V_2m \cdot 1000,$$

где X – массовая доля бензоата натрия в пересчете на 100 г продукта, %; a – количество 0,05 н раствора гидроксида натрия или калия, пошедшее на титрование, см³; K – коэффициент поправки для 0,05 н раствора гидроксида натрия или калия; 7,1 – количество бензоата натрия, эквивалентное 0,05 н раствора гидроксида натрия или калия, мг; V_1 – вместимость мерной колбы, в которой растворена навеска пюре, см³; V_2 – количество фильтрата, взятое для извлечения бензойной кислоты, см³; m – масса продукта, г.

Если количество бензоата натрия нужно выразить в пересчете на бензойную кислоту, то коэффициент 7,1 заменяют на коэффициент 6,1.

Глава 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Пищевая продукция наряду с показателями безопасности и пищевой ценности характеризуется рядом физико-химических показателей, многие из которых включены в качестве нормативов в ТНПА на конкретную продукцию.

К группе физико-химических показателей можно отнести ряд физических и химических показателей продукции. Физические показатели характеризуют структурно-механические, оптические, электрические и другие свойства продукта. К ним относятся такие показатели, как удельный вес, плотность, коэффициент преломления, температура плавления, температура замерзания и др.

К химическим показателям относятся – кислотное, перекисное числа, содержание нелетучих веществ, содержание влаги и сухих веществ, концентрация водородных ионов и др.

По физико-химическим показателям определяют вкусовые свойства продукта, его свежесть и доброкачественность, соблюдение условий хранения и фальсификацию продукта.

Лабораторная работа № 20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ

Цель работы: освоить методы определения плотности; определить плотность молока с помощью ареометра и плотность растительного масла пикнометрическим методом.

Средства испытаний: ареометр; посуда мерная стеклянная; цилиндр вместимостью 500 см³; пикнометры вместимостью 20 и 25 см³; весы лабораторные 4-го класса точности.

1. Общие сведения

Плотность – физическая величина, определяемая для однородного вещества его массой в единице объема, т. е. плотность является мерой количества вещества, выраженного в граммах или килограммах, в единице объема (кг/м³, г/см³). Отношение плотности двух веществ при определенных стандарт-

ных физических условиях называется относительной плотностью: для жидких и твердых веществ она обычно определяется по отношению к плотности дистиллированной воды при 4°С.

Пищевые продукты содержат много компонентов, поэтому их плотность зависит от соотношения основных веществ: жира, белка, углеводов, минеральных солей и др.

Плотность масел и жиров зависит от состава жирных кислот, входящих в молекулы триглицеридов, их молекулярной массы и степени ненасыщенности. Так, с увеличением молекулярной массы плотность насыщенных жирных кислот уменьшается. Плотность ненасыщенных жирных кислот больше плотности соответствующих им насыщенных жирных кислот.

Плотность ненасыщенных жирных кислот, имеющих одинаковое число атомов углерода в молекуле и разное число двойных связей, возрастает при увеличении числа кратных связей в ряду олеиновая, линолевая, линоленовая кислота. Кислоты с сопряженными двойными связями имеют большую плотность, чем соответствующие кислоты с изолированными двойными связями. Плотность кислот с кислородсодержащими функциональными группами выше плотности незамещенных жирных кислот. Для большинства растительных масел плотность находится в пределах 900–950 кг/м³. Исключение представляет касторовое масло, плотность которого повышена (950–974 кг/м³) из-за присутствия в его триглицеридах рицинолевой кислоты, имеющей гидроксильные группы в углеводородном радикале.

Плотность молока имеет большое значение при оценке его качества, так как характеризует соотношение всех находящихся в нем составных частей, из которых белки, углеводы и соли повышают плотность, а жир снижает ее. Плотность является одним из показателей натуральности молока. При разведении молока водой плотность его уменьшается.

В среднем плотность сборного коровьего молока при температуре 20°С равна 1,030 г/см³.

По плотности можно судить о составе молока и контролировать его натуральность. Так, если из молока удалить часть жира – легкого компонента молока, то плотность повысится. По этой же причине плотность обезжиренного молока выше плотности цельного молока. Превышение плотности сверх до-

пустимой нормами стандарта при низкой жирности говорит о фальсификации: снятии сливок или добавлении обезжиренного молока. Установлено, что каждые 10% добавленной к молоку воды снижают его плотность на 3 кг/м³.

В соответствии с требованиями ГОСТ 3625–84 плотность молока определяют с помощью ареометра и выражают в килограммах на метр кубический. Для проведения анализа обычно используют специальные ареометры – лактоденсиметры.

2. Определение плотности молока с помощью ареометра

Проведение испытаний. Пробу объемом 0,25 дм³ тщательно перемешивают и осторожно, во избежание образования пены, переливают по стенке в сухой цилиндр, держа его в слегка наклонном положении.

Цилиндр устанавливают на ровной горизонтальной поверхности и измеряют температуру пробы. Отсчет показаний температуры проводят не ранее чем через 2–4 мин после опускания термометра в пробу.

Сухой и чистый ареометр опускают медленно в исследуемую пробу, погружая его до тех пор, пока до предполагаемой отметки шкалы ареометра не останется 3–4 мм, затем оставляют его свободно плавающим. Ареометр не должен касаться стенок цилиндра. Первый отсчет показаний плотности проводят через 3 мин после установления ареометра в неподвижном состоянии.

Затем ареометр осторожно поднимают на высоту до уровня балласта в нем и снова опускают, оставляя его свободно плавающим. После установления ареометра в неподвижном состоянии проводят второй отсчет показаний плотности. При отсчете показаний плотности глаз должен находиться на уровне мениска. Отсчитывают по верхнему краю мениска.

Обработка результатов. За результат принимают среднее арифметическое двух параллельных измерений. Расхождение между повторными определениями плотности не должно превышать 0,5 кг/м³.

Ареометр градуирован при температуре 20°С, поэтому если замеры производят при температуре выше или ниже 20°С, необходимо привести величину плотности к 20°С.

3. Определение плотности растительных масел пикнометрическим методом

Проведение испытаний. Чистый и высушенный пикнометр взвешивают на лабораторных весах. Для установления истинной массы пикнометра вводят поправку. Для этого из результата взвешивания вычитают массу находящегося в пикнометре воздуха, принимая, что масса 1 мл воздуха равна 0,0013 г.

Затем пикнометр заполняют дистиллированной водой до метки. Для приведения температуры воды к постоянной (близкой к комнатной) пикнометр помещают в стакан с водой и термометром на 25–30 мин. По истечении указанного времени пикнометр вынимают из стакана, тщательно обтирают и проверяют уровень воды по метке, устанавливая его по верхнему мениску. Избыток воды удаляют полоской фильтровальной бумаги. При недостатке ее доливают до метки пипеткой.

Пикнометр с водой взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г. Выливают воду из пикнометра, промывают его смесью этанола с диэтиловым эфиром и высушивают в сушильном шкафу 25–30 мин, охлаждают в эксикаторе.

Затем медленно наполняют исследуемым маслом, не допуская образования стойких пузырьков воздуха и попадания масла на наружные стенки пикнометра. Погружают пикнометр с маслом на 25–30 мин в стакан с водой для доведения масла до постоянной температуры.

Температуру масла принимают равной температуре воды в стакане. Проверяют уровень масла в пикнометре по верхнему мениску. Избыток масла отбирают пипеткой или фильтровальной бумагой, после этого горлышко внутри вытирают фильтровальной бумагой, свернутой тонкой трубочкой, а пикнометр тщательно обтирают снаружи мягкой тканью и взвешивают.

Обработка результатов. Плотность растительного масла ρ , г/см³, вычисляют по формуле

$$\rho = \frac{m_1 - m}{(m_2 - m) \cdot V},$$

где m – масса пикнометра без воздуха, г; m_1 – масса пикнометра с маслом при температуре масла, г; m_2 – масса пикнометра с водой, при температуре воды, г; V – объем пикнометра, см³.

Вычисления проводят с точностью до четвертого знака после запятой. За результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений.

Точность определения равна $\pm 0,0002$ г/см³. Между двумя параллельными определениями допускается расхождение не более $\pm 0,0004$ г/см³.

Лабораторная работа № 21 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ ПРЕЛОМЛЕНИЯ** **РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА**

Цель работы: определить показатель преломления растительного масла.

Средства испытаний: рефрактометр типа ИРФ-454; коническая колба; стеклянная палочка.

1. Общие сведения

Показатель преломления характеризует чистоту, ненасыщенность, степень окисления жиров. Он возрастает при наличии оксигрупп, увеличении молекулярной массы и количества непредельных жирных кислот, входящих в состав жира. Изменение температуры приводит к изменению плотности вещества. С повышением температуры на 1°С плотность снижается в среднем на 0,00037. Следовательно, показатель преломления уменьшается. Для жиров показатель преломления определяют при температуре 20°С ($n^{20^\circ\text{C}}$) или путем расчета его приводят к 20°С.

В окисленном масле показатель преломления выше по сравнению с показателем преломления свежего масла в результате увеличения молекулярной массы (вследствие присоединения кислорода, оксигрупп и т. д.).

Определение осуществляют с помощью рефрактометров различных марок.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Подготовка рефрактометра к работе осуществляется в соответствии с руководством по эксплуатации.

Проведение испытаний. Пробу исследуемого растительного масла хорошо перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр. На призму рефрактометра наносят две-три капли масла и, установив температуру, по истечении 5 мин отсчитывают показатель преломления с точностью до $\pm 0,0002$.

Если показатель преломления определяется при температуре выше или ниже 20°C , то его приводят к 20°C по формуле

$$n^{20^{\circ}\text{C}} = n^t + (t - 20) \cdot 0,00035,$$

где n – показатель преломления при 20°C ; n – показатель преломления при температуре опыта; t – температура опыта; $0,00035$ – коэффициент поправки к показателю преломления при изменении температуры на 1°C .

По величине показателя преломления можно судить о природе масла, его чистоте и степени окисления (табл. 21).

Таблица 21

Показатели преломления растительных масел

Вид масла	Показатель преломления при 20°C
Подсолнечное	1,4736–1,4762
Соевое	1,4722–1,4754
Хлопковое	1,4742–1,4768
Арахисовое	1,4680–1,4720
Льняное	1,4880–1,4870
Конопляное	1,4717–1,4780

Лабораторная работа № 22 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ВЛАГИ И СУХИХ ВЕЩЕСТВ

Цель работы: освоить методики определения влаги и сухих веществ; определить содержание влаги и сухих веществ в крупах; определить содержание сухих веществ рефрактометрическим методом.

Средства испытаний: сушильный шкаф с терморегулятором; рефрактометр; весы лабораторные 4-го класса точности; лабораторная мельница; эксикатор, стеклянные или металлические бьюксы; тигельные щипцы.

1. Общие сведения

Показатель массовой доли влаги является важнейшим для оценки качества сырья, полуфабрикатов и готовых изделий. Количество влаги в продукте характеризует его энергетическую ценность, так как чем больше в нем содержится воды, тем меньше полезных сухих веществ (белка, жира, углеводов и др.) в единице массы. С содержанием воды тесно связаны стойкость продукта при хранении и его транспортабельность, а также пригодность к дальнейшей переработке, так как избыток влаги способствует протеканию ферментативных и химических реакций, активизирует деятельность микроорганизмов, в том числе таких, которые вызывают порчу продуктов, в частности плесневение. В связи с этим содержание влаги в продукте предопределяет условия и сроки его хранения.

С учетом большой важности этого показателя соответствующие ТНПА устанавливают нормы содержания влаги, а также методы ее определения, что делает обязательным определение этого показателя при контроле качества сырья и готовых продуктов.

Для определения массовой доли влаги существуют разнообразные методы, которые делятся на прямые и косвенные.

К прямым методам относится отгонка (дистилляция) воды из навески с применением высококипящих органических жидкостей (минеральное масло, ксилол и др.) с последующим определением объема перегнанной воды и химические, в основе которых лежит взаимодействие воды с каким-нибудь реагентом.

К косвенным методам относятся термогравиметрические (методы высушивания), физические (определение массовой доли сухих веществ по величине относительной плотности или рефрактометрически), а также электрические, в которых о влажности судят по электропроводности или электрической проницаемости.

Наиболее распространенным среди косвенных методов является метод определения массовой доли влаги по сухому остатку, т. е. количество влаги устанавливают по разнице в массе навески до и после высушивания. Имеется много модификаций этого метода, отличающихся друг от друга длительностью и температурой нагрева навески целого или измельченного образца, а также степенью его измельчения.

Для ускорения высушивания, а также для сушки веществ, легко разлагающихся при температуре выше 100°C, процесс ведут при пониженном давлении, что дает возможность понизить температуру. Для вязких материалов (сахарные сиропы и др.) высушивание затрудняется вследствие образования на поверхности материала твердой корочки. Для облегчения и ускорения процесса сушки в таких случаях применяют наполнители (прокаленный кварцевый песок), при смешивании с которыми вязкие продукты становятся рыхлыми.

Все применяемые варианты должны обеспечивать возможность наиболее полного обезвоживания продукта без ощутимых потерь его сухих веществ. Однако эти методы имеют недостатки, так как при их использовании в большинстве случаев определяется не истинная массовая доля влаги, а ее условная величина, зависящая от принятого метода определения.

При сушке пищевых продуктов протекают сложные процессы. Под действием теплоты удаляется влага и одновременно некоторое количество сухих веществ в результате распада органических веществ под действием высокой температуры. Наряду с этим в высушиваемом объекте могут протекать окислительные и гидролитические процессы, вследствие чего увеличивается масса образца.

Процесс сушки зависит от состояния влаги в исследуемом материале, которая может быть свободной или иметь связь с материалом различных видов: химическую, физико-химическую (адсорбционную, осмотическую, структурную) и механическую (влага макро- и микрокапилляров, а также влага на поверхности). Наиболее прочная химическая связь, при которой в состав вещества влага входит в строго

определенных соотношениях и удалить ее можно только при разрушении продукта путем прокаливания или химического воздействия. При физико-химической связи влага поглощается белками и крахмалом не в строго определенных соотношениях; она может легко перемещаться и участвовать в химических реакциях. Удалить ее можно при высушивании, причем легче удаляется осмотическая влага, чем адсорбционная. Механическая влага, называемая свободной, содержится в капиллярах тела и на его поверхности и является самой легко удаляемой при высушивании. Для продуктов, прочно удерживающих влагу, применяют лиофильную сушку, при которой высушивание ведут в вакууме и при условии предварительного замораживания взятой для анализа пробы.

Явления, протекающие в высушиваемом объекте в процессе сушки в лабораторном шкафу, делают в некоторой мере условным сам метод высушивания. Для того чтобы условность метода свести к минимуму и получить при этом сравнимые результаты, требуется строгое соблюдение одних и тех же условий режима сушки в отношении температуры, размеров сушильного шкафа, скорости движения воздуха в нем, величины навески, степени измельчения продукта, размера и формы бюксов и др.

Существует два основных метода определения массовой доли влаги путем высушивания: высушивание до постоянной массы и ускоренное высушивание. Первый метод для большинства объектов дает наиболее точные результаты, так как процесс сушки идет неограниченное время, как при ускоренном способе, а до полного удаления влаги. Однако, учитывая длительность и трудоемкость этого метода, при контроле производства, когда не требуется большой точности, но необходима экспрессность, используют целый ряд ускоренных методов, в которых удаление влаги происходит при повышенных температурах (130–160°C) на протяжении строго обусловленного времени, в течение которого удаляется основная масса влаги, так что последующее высушивание приводит лишь к незначительному изменению достигнутого значения массы.

Ускоренный метод применяется для определения массовой доли влаги в зерне, крахмале, макаронных изделиях и т. д.

Для каждого продукта в зависимости от физико-химических свойств подобраны свои температуры высушивания и длительность процесса. Чаще всего время высушивания составляет 50 мин. Ускорение сушки объекта не делает эти методы менее условными, скорее наоборот, распад веществ при высокой температуре протекает более энергично, и в этом отношении ускоренные методы сушки являются более условными. Помимо этого, применение ускоренного метода высушивания к объектам с повышенной влажностью, например к хлебу, дает явно заниженные результаты из-за недосушки продукта.

Для быстрого удаления влаги используют высушивание в инфракрасных лучах, которые воспринимаются не только поверхностью, но и проникают в продукт на глубину до 2–3 мм, обуславливая его интенсивный прогрев.

Метод определения массовой доли сухих веществ с помощью рефрактометра отличается высокой точностью и технической простотой и стандартизован при анализе патоки, меда, повидла, варенья и т. п. (ГОСТ 8756.2–82).

Для определения массовой доли сухих веществ применяют универсальные рефрактометры УРЛ первой модификации и марки РПЛ-3, имеющие шкалу содержания (массовой доли) сухих веществ по сахарозе в процентах, и прецизионный рефрактометр марки РПЛ-2, в котором показания даются в условных единицах шкалы. Кроме того, можно использовать рефрактометр УРЛ второй модификации для измерения показателя преломления в пределах значений 1,65–2,10 и рефрактометр ИРФ-22 для определения этого показателя в интервале 1,3–1,7 в проходящем свете. По найденным значениям показателя преломления по специальным таблицам определяют массовую долю сухих веществ в процентах.

При использовании рефрактометра следует иметь в виду, что с его помощью определяют не истинное, а видимое содержание сухих веществ, поэтому в зависимости от химического состава продукта вводят поправку, учитывающую отклонение

определяемой на рефрактометре величины от истинного содержания сухих веществ.

2. Определение массовой доли влаги и сухих веществ в крупах ускоренным методом высушивания

Подготовка к испытаниям. Подготовка навески для анализа. Все продукты, кроме муки, измельчают на лабораторной мельнице до прохождения через сито с размерами отверстий 0,8 мм.

Проведение испытаний. На весах взвешивают два заранее просушенных металлических бюкса с крышками и отвешивают в каждый по 5 г измельченного продукта с погрешностью не более $\pm 0,01$ г. Бюксы с открытыми крышками (крышку помещают рядом или под дно бюкса) ставят в сушильный шкаф для высушивания, нагретый до температуры 140–145°C. После открывания сушильного шкафа температура может упасть ниже 130°C.

В течение 10–15 мин ее доводят до 130°C и при этой температуре продолжают высушивать в течение 40 мин (отклонение температуры не должно превышать $\pm 2^\circ\text{C}$). Затем бюксы тигельными щипцами вынимают, закрывают крышками, охлаждают в эксикаторе в течение 20–30 мин и взвешивают.

Обработка результатов. Массовую долю влаги W , %, рассчитывают по формуле

$$W = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m},$$

где m_1 – масса бюкса с навеской до высушивания, г; m_2 – масса бюкса с навеской после высушивания, г; m – масса навески продукта, г.

За результат принимают среднее арифметическое двух параллельных измерений. Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать $\pm 0,25\%$.

3. Определение массовой доли сухих веществ в продуктах переработки плодов и овощей рефрактометрическим методом

Подготовка к испытаниям. Подготовка прибора. Перед началом работы проверяют правильность установки прибора на нуль по дистиллированной воде.

Подготовка образцов. Если исследуемый раствор представляет собой массу, включающую твердые частицы, то небольшое количество этого продукта берут в сложенный вдвое кусок марли, медленным надавливанием выжимают 2–3 капли жидкости, отбрасывают их, а следующие капли используют для анализа.

Проведения испытаний. Откидывают верхнюю часть измерительной головки, промывают спиртом или дистиллированной водой поверхность измерительной и осветительной призм, удаляя следы жидкости фильтровальной бумагой. Оплавленным концом стеклянной палочки на поверхность измерительной призмы наносят 3–4 капли жидкости и осторожно опускают верхнюю часть измерительной головки на нижнюю, наблюдая в окно головки, чтобы жидкость заполнила зазор между призмами. Глядя в окуляр зрительной трубы, устанавливают осветительное зеркало так, чтобы свет от источника через окно поступал в осветительную призму и равномерно освещал поле зрения. Вращая маховичок, добиваются появления в поле зрения границы светотени, которую подводят к центру перекрестия сетки. Резкость границы светотени и штрихов шкалы для глаза наблюдателя устанавливают вращением гайки окуляра. Если граница светотени при измерении показателя преломления окажется расплывчатой, радужной, то вращением рукоятки компенсатора добиваются четкости этой границы и записывают показание шкалы. Целые, десятые, сотые и тысячные доли отсчитывают по шкале, а десятитысячные доли оценивают на глаз.

Обработка результатов. За результат принимают среднее арифметическое трех параллельных измерений.

Исходя из этого значения, по таблицам, приведенным в руководстве по эксплуатации, определяют массовую долю сухих веществ (в пересчете на сахарозу) в растворе по показателю преломления при 20°C.

Лабораторная работа № 23 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРУЕМОЙ КИСЛОТНОСТИ**

Цель работы: освоить методы определения титруемой кислотности; определить титруемую кислотность муки.

Средства испытания: весы лабораторные 4-го класса точности; бюретка на 25 см³; раствор гидроксида натрия или калия концентрацией 0,1 н; раствор фенолфталеина 3% и 1%-ной концентрации; стеклянная мерная посуда.

1. Общие сведения

Кислотность обуславливает вкусовые свойства продукта и является показателем его свежести и доброкачественности. Различают титруемую и активную кислотность пищевого продукта.

Титруемая кислотность характеризует количество свободных органических кислот и их кислых солей, содержащихся в исследуемом продукте. Метод определения основан на нейтрализации раствором щелочи, обычно 0,1 н едкого натрия, водных вытяжек кислот и кислых солей, извлеченных из навесок исследуемого продукта.

Кислотность выражается в различных единицах измерения.

Кислотность продуктов, содержащих разные кислоты и значительное количество кислых солей, выражают в градусах.

В процентах к преобладающей кислоте выражают кислотность плодово-ягодных соков (яблочная), маринадов (уксусная), квашеных овощей (молочная).

Кислотность молочных продуктов выражают в градусах Тернера – количество миллилитров 0,1 н раствора едкой щелочи, необходимое для нейтрализации кислот, находящихся в 100 миллилитрах или 100 граммах продукта. Кислотность является основным показателем, по которому определяют свежесть молока. Кислотность свежего молока зависит от наличия в нем белков, кислых, фосфорно-кислых и лимонно-кислых солей, лимонной кислоты, углекислоты. Реализуемое молоко должно иметь кислотность не более 21°Т. При хранении кислотность возрастает вследствие образования молочной кислоты при молочно-кислом брожении. Кислотность молока может понижаться при разбавлении его водой и при некоторых заболеваниях животного.

Кислотность жиров выражают в миллиграммах едкого калия, необходимых для нейтрализации свободных жирных кислот, находящихся в 1 г исследуемого жира.

Кислотность муки, хлебобулочных и кондитерских изделий выражают в градусах кислотности. Под градусом кислотности понимают количество миллилитров гидроксида натрия или калия, необходимое для нейтрализации кислот, содержащихся в 100 г исследуемого продукта.

Кислотность муки – важный показатель качества муки, свидетельствующий о ее свежести. Она обусловлена присутствием белков, имеющих кислую реакцию, наличием свободных жирных кислот и различных соединений фосфорной кислоты. Кроме того, в муке в небольшом количестве содержатся такие органические кислоты, как яблочная, уксусная, молочная и др.

При хранении муки кислотность ее повышается, что связано в первую очередь с гидролитическими процессами, происходящими с высокомолекулярными соединениями муки. Так, содержащиеся в муке жиры расщепляются под действием фермента липазы на свободные жирные кислоты и глицерин, под действием протеолитических ферментов идет гидролиз белков с образованием аминокислот, а при распаде фосфатидов образуются кислые фосфаты. Хранение муки при повышенной температуре и влажности приводит к ускорению этих процессов из-за роста активности ферментов муки. Кроме того, неблагоприятные условия хранения активизируют жизнедеятельность бактерий, за счет чего в муке возрастает количество органических кислот.

Таким образом, мука с высокой кислотностью либо хранилась длительное время, либо хранилась в неблагоприятных условиях, или получена из зерна с пониженными хлебопекарными свойствами.

ГОСТ 27493–87 предусматривает определение титруемой кислотности по болтушке (по водно-мучной суспензии). Кроме того, существуют и другие методы определения титруемой кислотности: титрование водного экстракта из муки (вытяжки), титрование спиртового или водно-спиртового экстракта из муки. Во всех методах в качестве индикатора используется фенолфталеин. Если полученная вытяжка темно окрашена, что затрудняет фиксацию конца реакции, то применяют метод потенциометрического титрования.

При определении кислотности по болтушке оттитровывают все кислореагирующие соединения, но результаты получают несколько завышенными, так как вследствие адсорбционной способности крахмала и белка последние связывают некоторое количество гидроксида натрия. Определение кислотности по водному экстракту дает заниженные результаты, так как жирные кислоты нерастворимы в воде, остаются на фильтре и не участвуют в реакции нейтрализации.

Располагая величинами кислотности муки, определенными этими двумя способами, можно косвенно судить о доле свободных жирных кислот в общем количестве кислореагирующих соединений.

При экстрагировании муки спиртом в экстракт не переходят фосфаты, поэтому, сравнивая результаты титрования водно-мучной суспензии и спиртового экстракта, можно судить о доле кислых фосфатов.

Наиболее точные результаты о содержании кислореагирующих соединений муки дает метод титрования водно-спиртового экстракта, в котором оттитровывают как растворимые в воде, так и растворимые в спирте вещества кислой природы. Кроме того, в этом методе исключена адсорбция гидроксида натрия частицами муки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРУЕМОЙ КИСЛОТНОСТИ МУКИ ПО БОЛТУШКЕ

Проведение испытаний. Из пробы муки берут навеску массой 5 г с погрешностью не более 0,01 г, переносят ее в сухую коническую колбу вместимостью 100–150 см³ и приливают цилиндром 50 см³ дистиллированной воды. Содержимое колбы перемешивают до исчезновения комков муки и добавляют три капли 3%-ного раствора фенолфталеина. Затем болтушку титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия до появления ясного розового окрашивания, не исчезающего в течение 20–30 с.

При исчезновении розового окрашивания по истечении указанного времени прибавляют еще 3–4 капли раствора фе-

нолфталейна. Появление розового окрашивания свидетельствует об окончании титрования. В противном случае титрование продолжают.

Если исходная болтушка интенсивно окрашена, то для сравнения готовят другую болтушку из испытуемой пробы муки и при титровании постоянно сравнивают получаемый оттенок с начальным цветом болтушки.

Обработка результатов. Кислотность муки X , градусы кислотности, вычисляют по формуле

$$X = \frac{V \cdot K \cdot 100}{m \cdot 10},$$

где V – количество 0,1 н раствора гидроксида натрия, пошедшее на титрование, см³; K – поправочный коэффициент к 0,1 н раствору гидроксида натрия; 1/10 – коэффициент пересчета 0,1 н раствора гидроксида натрия на 1 н; m – масса навески муки, г.

Вычисления проводят с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать $\pm 0,2$ градуса кислотности.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРУЕМОЙ КИСЛОТНОСТИ МУКИ ПО ВОДНОЙ ВЫТЯЖКЕ

Проведение испытаний. Взвешивают с погрешностью не более 0,01 г навеску муки массой 25 г и помещают ее в коническую колбу вместимостью 500 см³, приливают мерной колбой 250 см³ дистиллированной воды, тщательно размешивают и оставляют на 2 ч для диффузии экстрактивных веществ. Затем фильтруют в сухую колбу, возвращая первые порции фильтрата на фильтр. Из полученного фильтрата отбирают пипеткой 25 см³ в коническую колбу вместимостью 100 см³, добавляют 3–4 капли 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия или калия.

Обработка результатов. Кислотность муки X , градус кислотности, вычисляют по формуле

$$X = \frac{V_1 \cdot K \cdot 100}{10 \cdot a},$$
$$a = \frac{25 \cdot m}{V},$$

где V_1 – количество 0,1 н раствора гидроксида натрия, пошедшее на титрование 25 см³ фильтрата, см³; K – поправочный коэффициент к 0,1 н раствору гидроксида натрия; 1/10 – коэффициент пересчета 0,1 н раствора гидроксида натрия на 1 н; m – масса навески муки, г; V – количество воды, взятое для экстракции, см³.

За результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, расхождения между которыми не должны превышать $\pm 0,2$ градуса кислотности.

Показатель кислотности не регламентируется соответствующими стандартами, поэтому используют ориентировочные данные. Так, показатель титруемой кислотности по болтушке не должен превышать для пшеничной муки высшего сорта 3 градусов кислотности, для муки I и II сортов – 3,5; 4,5 градусов, для ржаной сеяной муки – 4 градусов, для обдирной – 5 градусов, обойной – 5,5 градусов.

Лабораторная работа № 24 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ**

Цель работы: освоить методы определения активной кислотности; определить активную кислотность муки.

Средства испытания: весы лабораторные 4-го класса точности, рН метр.

1. Общие сведения

Активная кислотность (рН) – показатель концентрации свободных ионов водорода в растворе. Величина рН и ее изменение при хранении и переработке пищевых продуктов характеризуют их качество, так как деятельность ферментов и бактерий связана с кислотностью среды.

Определяют рН непосредственно в пищевых продуктах или в водных вытяжках, полученных из них.

Для некоторых продуктов показатель рН служит мерой их доброкачественности.

В технологии хлебопечения важную роль играют биохимические процессы, скорость которых зависит от активной или истинной кислотности (рН). Кроме того, от концентрации водородных ионов зависит изменение свойств белковых веществ – их набухание, растяжимость, эластичность и др.

Как правило, мука имеет активную кислотность 5,9–6,2. Такой узкий предел изменения рН муки связан с большой буферной способностью белковых веществ и фосфатов.

Для определения рН существуют различные методы, основанные на электрометрических и колориметрических принципах.

Из колориметрических методов удобны для пользования методы с индикаторными бумажками или набором индикаторных карандашей. Эти методы используются в тех случаях, когда погрешность определения рН допускается до $\pm(0,1-0,2)$ единиц рН и для быстрых ориентировочных определений.

Для точных измерений рН используют потенциометрические методы, основанные на измерении разницы потенциалов между двумя электродами, погруженными в исследуемый раствор. Один из электродов с постоянным и известным потенциалом является электродом сравнения для второго электрода, потенциал которого зависит от рН исследуемого раствора.

Существующие в настоящее время приборы – потенциометры, рН-метры позволяют определять рН достаточно быстро и точно.

Погрешность измерений рН на типовых лабораторных рН-метрах составляет от $\pm 0,02$ до $\pm 0,3$ единиц рН. Выпускаются рН-метры с повышенной точностью измерения ($\pm 0,005$ единиц рН), например ИПЛ-311. Современные рН-метры комплектуются дополнительно датчиком температуры, программным обеспечением и интерфейсом, позволяющим подключать его к компьютеру для периодического считывания и сохранения информации в режиме реального времени.

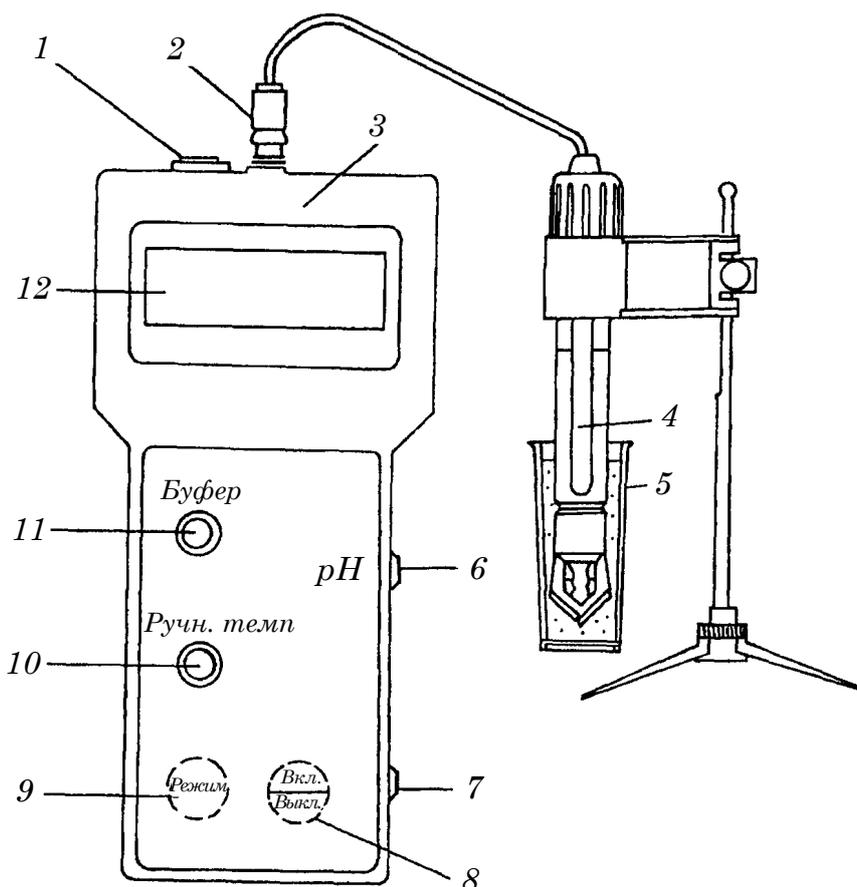


Рис. 16. рН-метр-милливольтметр рН-150 М:
 1 – разъем подключения сетевого питания;
 2 – гнездо для подключения электрической системы;
 3 – высокоомный преобразователь;
 4 – комбинированный электрод;
 5 – стакан с исследуемой пробой;
 6 – резистор для установления рН;
 7 – резистор для регулирования крутизны системы;
 8 – кнопка включения питания;
 9 – кнопка переключения режимов измерения;
 10 – резистор установки температуры раствора при ручной термокомпенсации; 11 – резистор настройки по буферному раствору; 12 – цифровой индикатор

На рис. 16 представлен рН-метр-милливольтметр рН-150 М.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Проверка и настройка рН метра. Проводится после прогрева прибора в течение 1 ч по стандартным буферным растворам, приготовленным из стан-

дарттитров. Рекомендуется применять буферные растворы с рН, близким к рН исследуемого раствора.

В стеклянный стакан вместимостью 50 см³ мл наливают около 40 мл буферного раствора температурой 20±1°С, погружают в него электроды и через 15 с снимают показания прибора. Если прибор настроен правильно, то стрелка шкалы должна показывать значение рН применяемого буферного раствора.

Получение вытяжки. Для получения вытяжки берут навеску муки массой 10 г с погрешностью не более 0,01 г, добавляют 100 см³ горячей дистиллированной воды и нагревают до кипения для инактивации ферментов. Настаивают в течение часа, перемешивают, дают отстояться и набирают надосадочную жидкость пипеткой с обрезанным и оплавленным кончиком, в который вставлен плотный тампон, для фильтрации.

Проведение испытаний. Для определения отбирают от 30 см³ фильтрата, помещают в стаканчик вместимостью 50 см³. В раствор помещают концы электродов, присоединяют прибор и отсчитывают показания по шкале рН-метра. Измерение рН повторяют 2–3 раза, каждый раз вынимая электроды из раствора и при измерении вновь погружая их в раствор.

Обработка результатов. Значение рН выражают как среднее арифметическое двух параллельных определений. Точность измерений ±0,05 единиц рН.

Лабораторная работа № 25 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ЗАМЕРЗАНИЯ

Цель работы: освоить методы определения температуры замерзания; определить температуру замерзания молока и его натуральность.

Средства испытаний: миллиосмометр-криоскоп термоэлектрический МТ-5; хлорид натрия для спектрального анализа; весы лабораторные 2-го класса точности.

1. Общие сведения

Температура замерзания определяется методами криоскопии, основанными на измерении понижения точки замер-

зания раствора анализируемого вещества по сравнению с чистым растворителем. Явление объясняется понижением давления пара раствора относительно чистого растворителя.

Измерение температуры замерзания осуществляется на криоскопических приборах различной конструкции.

Миллиосмометр-криоскоп термоэлектрический МТ-5 предназначен для работы как в качестве осмометра, так и в качестве криоскопа.

В качестве осмометра прибор предназначен для измерения осмотической концентрации биологических жидкостей и водных растворов.

В качестве криоскопа прибор используется для измерения температуры замерзания биологических жидкостей и водных растворов (молока, продуктов детского питания на молочной основе и др.).

Миллиосмометр-криоскоп термоэлектрический управляется от персональной электронной вычислительной машины (ПК) (рис. 17).

В основу работы прибора положен криоскопический метод, позволяющий измерять понижение температуры кристаллизации раствора по отношению к чистому растворителю (воде).

Криоскопический метод измерения температуры кристаллизации раствора предполагает переохлаждение раствора ниже температуры кристаллизации с целью создания в нем искусственных центров кристаллизации, приводящих («спонтанно») к мгновенному образованию большого количества кристаллов льда (твердой фазы) по всему объему раствора. Выделяющаяся при этом теплота плавления повышает температуру пробы до температуры кристаллизации и поддерживает ее постоянной при существовании жидкой и твердой фаз.

Способ измерения температуры замерзания реализуется в криоскопе следующим образом. Определенный объем измеряемого раствора (объем пробы), температура которого непрерывно измеряется температурным датчиком (ТД), переохлаждается до фиксированной температуры (температуры переохлаждения), с контролем возможного преждевременного («спонтанного») замерзания пробы.

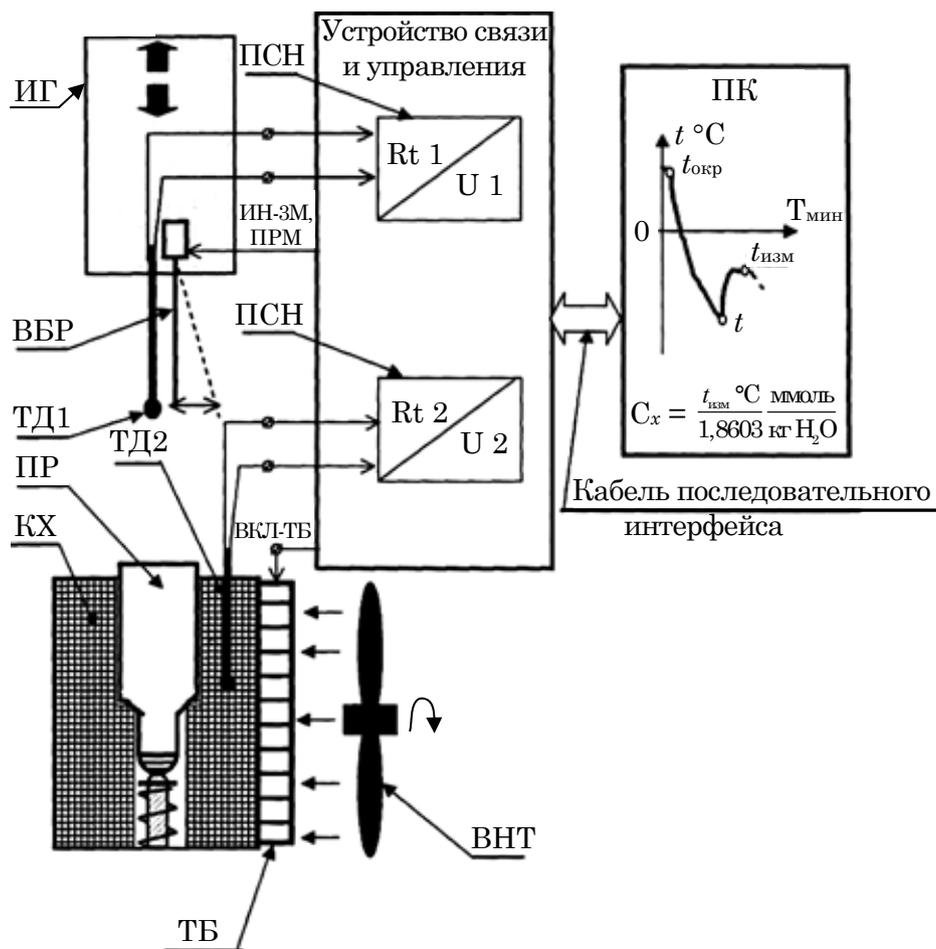


Рис. 17. Схема миллиосмометра-криоскопа термоэлектрического МТ-5:

- ПК – персональный компьютер; ИГ – измерительная головка;
 ПСН – преобразователь сопротивление-напряжение;
 ВБР – вибратор; ТД1 – термодатчик 1 (температура пробы);
 ПР – пробирка с пробой; КХ – камера холода;
 ТД2 – термодатчик 2 (температура камеры);
 ТБ – термобатарея; ВНТ – вентилятор

Интенсивным перемешиванием инициируется переход температуры пробы от температуры переохлаждения к температуре замерзания, с контролем возможного «отсутствия замерзания пробы».

Установившееся после перехода на какое-то время (до полного перехода пробы в лед) постоянное значение температуры принимают за температуру замерзания пробы.

Для получения в криоскопе выходной характеристики ТД, идентичной термометру, градуированному в градусах Цельсия

в заданном интервале температур, проводят калибровку ТД по дистиллированной воде (ноль характеристики) и по калибровочному раствору (крутизна характеристики) с известной температурой замерзания или концентрацией, пересчитанной через криоскопическую постоянную.

Область применения прибора – фундаментальные и прикладные исследования в области молекулярной биологии, биохимии, физической химии, а также в молочной промышленности и других областях науки и техники. В молочной промышленности по температуре замерзания молока можно судить о его натуральности. В среднем температура замерзания молока повышается от добавления в нее 1% воды на 0,005°C.

2. Порядок проведения испытаний

Подготовка к испытаниям. Приготовление калибровочных растворов. Калибровочные растворы готовят из хлорида натрия марки х. ч. Для приготовления калибровочных растворов хлорид натрия высушивают в муфельной печи при температуре 300°C в течение 1 ч или при температуре 130°C в течение 24 ч и охлаждают до комнатной температуры в эксикаторе. Взвешивают навеску хлорида натрия. Массу навески выбирают в соответствии с табл. 22.

Навеску растворяют в 1000 г дистиллированной воды.

Таблица 22

Масса навески хлорида натрия

Значение концентрации, ммоль/кг Н ₂ О	Температура замерзания, °С	Масса навески, г
100	– 0,1860	3,102
200	– 0,3720	6,290
	– 0,500	8,511
300	– 0,5580	9,511
400	– 0,7440	12,75
500	– 0,930	16,00
	– 1,000	17,224
750	– 1,395	24,14
1000	– 1,860	32,28
1200	– 2,232	38,77
1500	– 2,790	48,47
1800	– 3,348	58,11
2000	– 3,720	64,48

Проведение испытания. Контрольное измерение. Подготовка к измерению прибора и проведение измерений осуществляется в соответствии с руководством по эксплуатации и управляется программой ПК.

В режиме «измерение» проводят контрольное измерение температуры замерзания дистиллированной воды. В чистую и сухую пробирку наливают 200 мкл дистиллированной воды, устанавливают пробирку в отверстие камеры и проводят измерение в соответствии с руководством по эксплуатации прибора. Результат – температуру замерзания получают на экране прибора. Проводят два измерения и находят среднее арифметическое значение, расхождение между которыми не должно превышать $\pm 0,004^{\circ}\text{C}$.

Измерение пробы. Наливают в чистую и сухую пробирку 200 мкл молока и устанавливают пробирку в отверстие камеры. Проводят первое измерение и получают на экране следующие результаты: температуру замерзания, массовую долю воды.

Подготавливают ТД к следующему измерению. ТД ополаскивают дистиллированной водой, просушивают его и конец иглы полоской фильтровальной бумаги. Повторяют измерение с той же пробой еще раз и получают усредненное значение и оценку сходимости.

Калибровка прибора. Для калибровки термометра применяют растворы хлорида натрия. Термометр калибруют обычно один раз в пять-шесть месяцев для данной нулевой точки термометра. Калибровку проводят также в случае неудовлетворительных результатов контрольного измерения. Для калибровки используют несколько калибровочных растворов, значения которых находятся в той части диапазона измерений, в которой находятся значения пробы. Для работы во всем диапазоне калибровку проводят в следующих точках: 0000, 0500, 1000, 1500 и 2000 ммоль/кг H_2O .

Обработка результатов. За результат измерения принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений, расхождение между которыми не должно превышать $\pm 0,004^{\circ}\text{C}$.

Если расхождение превышает установленное значение, то измерение повторяют.

По температуре замерзания молока определяют массовую долю воды, добавленной в молоко, и делают вывод о его натуральности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / под ред. И. М. Скурихина, В. А. Тутельяна. – М.: Брандес: Медицина, 1988. – 342 с.
2. Жиры. Химический состав и экспертиза качества / О. Б. Рудаков [и др.]. – М.: ДеЛиПринт, 2005. – 312 с.
3. Пищевая химия / А. П. Нечаев [и др.]; под ред. А. П. Нечаева. – СПб.: ГИОРД, 2001. – 592 с.
4. Сарафанова, Л. А. Современные пищевые ингредиенты. Особенности применения / Л. А. Сарафанова. – СПб.: Профессия, 2009. – 208 с.
5. Вытовтов, А. А. Физико-химические свойства и методы контроля качества товаров: учеб. пособие / А. А. Вытовтов, Е. В. Грузинов, Т. В. Шленская. – СПб.: Профессия, 2009. – 176 с.
6. Лабораторный практикум по общей технологии пищевых производств / А. А. Виноградова, Г. М. [и др.]; под ред. Л. П. Ковалевской. – М.: Агропромиздат, 1991. – 335 с.
7. Методы исследования молока и молочных продуктов / под общ. ред. А. М. Шалыгиной. – М.: Колос, 2000. – 368 с.
8. Егорова, З. Е. Сертификация продовольственных товаров: учеб. пособие / З. Е. Егорова, Н. Д. Коломиец. – Минск: БГТУ, 2005. – 300 с.
9. Практикум по физико-химическим методам анализа / под ред. О. М. Петрухина. – М.: Химия, 1987. – 248 с.
10. Глоба, И. И. Хроматографические и спектральные методы анализа: учеб. пособие / И. И. Глоба, С. А. Ламоткин. – Минск: БГТУ, 2008. – 352 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
Глава 1. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ К АНАЛИЗУ	5
Глава 2. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ	14
2.1. Жиры	16
Лабораторная работа № 1. Определение массовой доли жира	22
Лабораторная работа № 2. Определение жирнокислотного состава методом газовой хроматографии	30
Лабораторная работа № 3. Определение кислотного числа растительного масла	36
Лабораторная работа № 4. Определение числа омыления растительного масла	46
Лабораторная работа № 5. Определение йодного числа растительного масла	48
2.2. Белки	53
Лабораторная работа № 6. Определение массовой доли белка по методу Кьельдаля	58
Лабораторная работа № 7. Определение массовой доли белка методом Лоури	65
2.3. Углеводы	67
Лабораторная работа № 8. Определение крахмала поляриметрическим методом	70
Лабораторная работа № 9. Определения содержания редуцирующих веществ, общего сахара и сахарозы	75
Лабораторная работа № 10. Определение массовой доли декстринов	84
Лабораторная работа № 11. Определение массовой доли клетчатки (целлюлозы)	86

2.4. Минеральные вещества	88
Лабораторная работа № 12. Определение содержания натрия, калия, кальция, магния, железа, марганца, меди, цинка, свинца, кадмия, кобальта, никеля, хрома атомно-абсорбционным методом	91
Лабораторная работа № 13. Определение йода в пищевой соли методом инверсионной вольтамперометрии	104
2.5. Витамины	111
Лабораторная работа № 14. Определение витамина С	114
Глава 3. ПОКАЗАТЕЛИ БЕЗОПАСНОСТИ	123
3.1. Токсичные элементы	124
Лабораторная работа № 15. Определение свинца и кадмия методом инверсионной вольтамперометрии	126
3.2. Нитраты, нитриты, нитрозосоединения	130
Лабораторная работа № 16. Определение нитратов ионометрическим методом	132
3.3. Ароматические углеводороды	138
Лабораторная работа № 17. Определение массовой доли бенз(а)пирена	141
3.4. Пищевые добавки	148
Лабораторная работа № 18. Определение массовой доли сернистой кислоты	151
Лабораторная работа № 19. Определение массовой доли бензоата натрия	153
Глава 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ	156
Лабораторная работа № 20. Определение плотности	156

Лабораторная работа № 21. Определение показателя преломления растительного масла	160
Лабораторная работа № 22. Определение массовой доли влаги и сухих веществ	161
Лабораторная работа № 23. Определение титруемой кислотности	167
Лабораторная работа № 24. Определение активной кислотности	172
Лабораторная работа № 25. Определение температуры замерзания	175

ЛИТЕРАТУРА	180
-------------------------	------------

Учебное издание

Заяц Наталия Ивановна

**ОРГАНИЗАЦИЯ
И ТЕХНОЛОГИЯ ИСПЫТАНИЙ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

Учебно-методическое пособие

Редактор *Р. М. Рябая*

Компьютерная верстка *О. В. Трусевич*

Подписано в печать 27.05.2010. Формат 60×84 1/16.
Печать офсетная. Гарнитура Школьная. Бумага офсетная.
Усл. печ. л. 11,0 . Уч.-изд. л. 10,0.
Тираж 200 экз. Заказ .

Отпечатано в Центре издательско-полиграфических
и информационных технологий учреждения образования
«Белорусский государственный технологический университет».
220006. Минск, Свердлова, 13а.
ЛИ № 02330/0549423 от 08.01.2009.
ЛП № 02330/0150477 от 16.01.2009.