

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна
Должность: проректор по учебной работе
Дата подписания: 30.10.2023 14:52:14
Уникальный программный ключ:
0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d089

МИНОБРАЗОВАНИЯ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Юго-Западный государственный университет»
(ЮЗГУ)

Кафедра товароведения, технологии и экспертизы товаров



СОВРЕМЕННЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА СЫРЬЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Методические указания по выполнению лабораторных работ для
студентов направления подготовки 19.04.03 «Продукты питания
животного происхождения»

Курск 2021

УДК: 664

Составитель: А.Г. Беляев

Рецензент

Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А.Г. Калужских*

Современные физико-химические методы анализа сырья и пищевых продуктов животного происхождения: методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев. Курск, 2021. 27 с.: Библиогр. : с.27

Приводится перечень лабораторных работ, цель их выполнения, материальное обеспечение, вопросы для подготовки, краткие теоретические сведения, задания, рекомендуемая литература.

Предназначены для студентов направления подготовки 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения» заочной формы обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать Формат 60x84 1/16.
Усл. печ. л. 1,56 Уч.-изд. л. 1,42 Тираж 50 экз. Заказ. Бесплатно.
Юго-Западный государственный университет.
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Общие правила работы в лаборатории	5
Техника безопасности и меры предосторожности	6
Лабораторная работа №1 Применение рефрактометрических методов для анализа пищевых продуктов. Определение массовой доли растворимых сухих веществ в сырье и пищевых продуктах.	10
Лабораторная работа №2 Определение массовой доли белков методом формольного титрования. Использование программы био спектрофотометра для исследования биологических материалов спектрофотометрическим методом.	14
Лабораторная работа №3 Определение доброкачественности и фальсификации пищевых продуктов методом люминоскопии.	21
Список рекомендуемой литературы	27

ВВЕДЕНИЕ

Методические указания к выполнению лабораторных работ предназначены для студентов направления для студентов направления подготовки 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения» с целью закрепления и углубления ими знаний, полученных на лекциях и при самостоятельном изучении учебной литературы.

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта. Перечень лабораторных работ, их объем соответствуют учебному плану и рабочей программе дисциплины. При подготовке к занятиям студенты должны изучить соответствующий теоретический материал по учебной литературе, конспекту лекций, выполнить задания для самостоятельной работы. Студенты должны ознакомиться с содержанием и порядком выполнения лабораторной работы.

Каждое занятие содержит цель его выполнения, материальное обеспечение, рекомендуемые для изучения литературные источники, вопросы для подготовки, краткие теоретические сведения, задания для выполнения. При выполнении лабораторных работ основным методом обучения является самостоятельная работа студентов с высоким уровнем индивидуализации заданий под руководством преподавателя. Результаты выполненных каждым студентом заданий обсуждаются в конце занятий. Оценка преподавателем лабораторной работы студента осуществляется комплексно: по результатам выполненного задания, устному сообщению и качеству оформления работы, что может быть учтено в рейтинговой оценке знаний студента.

Правила оформления работ

1. Отчеты по каждой теме лабораторного занятия оформляются в отдельной тетради.
2. Перед оформлением каждой работы студент должен четко написать ее название, цель выполнения, краткие ответы на вопросы для подготовки, объекты и результаты исследования. Если предусмот-

рено оформление работ в виде таблиц, то необходимо все результаты занести в таблицу в тетради. После каждого задания должно быть сделано заключение с обобщением, систематизацией или обоснованием результатов исследований.

3. Каждую выполненную работу студент защищает в течение учебного семестра.

Выполнение и успешная защита лабораторных работ являются допуском к сдаче теоретического курса на зачете.

Общие правила работы в лаборатории

1. Перед началом работы в лаборатории необходимо внимательно ознакомиться с темой работы, уяснить цель работы, составить план её выполнения и лишь после этого приступить к анализу.

2. В химической лаборатории необходимо работать в халате. Верхнюю одежду следует оставлять в гардеробе или размещать в специально предназначенных для этого шкафах в лаборатории.

3. В лаборатории запрещается громко разговаривать, принимать пищу, курить, включать и выключать рубильники и трогать приборы, не относящиеся к данной работе.

4. Рабочее место следует содержать в чистоте, не загромождая его предметами, не относящимися к данной работе. Реактивы, пролитые или рассыпанные на столе или на полу, необходимо тотчас убрать и нейтрализовать.

5. Методические пособия, рабочие тетради и лабораторные журналы, предназначенные для выполнения работы, следует оберегать от попадания на них воды, растворов кислот, щелочей и других химических реактивов. Лишние книги, журналы и тетради не должны находиться на рабочем столе.

6. Реактивы, предназначенные для общего пользования, нельзя уносить на своё рабочее место. Чтобы не спутать пипетки, служащие для взятия реактивов, и пробки от склянок, после взятия требуемого количества реактива их следует немедленно возвращать на место. Прежде чем отойти от горки с реактивами, убедитесь, что использованный реактив поставлен на своё место. Сухие реактивы берут чистым шпателем или специальной ложечкой.

7. Если реактив взят в избытке и полностью не израсходован категорически воспрещается выливать его в склянку с реактивом.
8. Реактивы, дистиллированную воду, газ и электричество следует расходовать экономно.
9. По окончании работы необходимо тщательно убрать рабочее место, выключить электронагревательные и другие электрические приборы, закрыть воду и газ, закрыть окна и форточки, выключить вытяжную вентиляцию и освещение в лаборатории.
10. Категорически запрещается проводить опыты, не относящиеся к данной работе, без ведома преподавателя.

Техника безопасности и меры предосторожности

1. При работе с химическими реактивами (особенно с растворами кислот и щелочей) необходимо соблюдать осторожность и аккуратность. Добавлять в пробирку с реакционной смесью именно те реактивы и в таких количествах, которые указаны в методических указаниях к выполнению лабораторной работы.
2. Не толпиться возле горок и поддонов с химическими реактивами, не мешать друг другу выполнять реакции и пользоваться реактивами.
3. Отработанные химические реактивы следует сливать в специальную емкость для слива реактивов, находящуюся в лаборатории. Запрещается выливать продукты реакции и сами реактивы в канализацию.
4. После использования реактивов, содержащих серебро, их следует выливать в специальную банку для серебряных остатков.
5. При разбавлении концентрированных растворов кислот (особенно серной) и щелочей следует небольшими порциями вливать реагент в воду, а не наоборот, тщательно перемешивая раствор. Во избежание попадания паров и брызг кислот и щелочей в глаза, приготовление растворов следует проводить в предохранительных очках.
6. Следует помнить, что многие химические реактивы ядовиты и могут вызвать отравление. Поэтому следует избегать попадания реактивов на открытые участки кожи и по окончании работы тщательно вымыть руки.

7. Все опыты, связанные с применением или образованием газообразных ядовитых веществ, а также паров вредных и дурнопахнущих соединений, разрешается проводить только в вытяжном шкафу (под тягой). В случае остановки работы вытяжной вентиляции опыты в вытяжных шкафах должны быть немедленно прекращены.

8. Нагревание растворов в пробирке следует проводить на водяной бане. При этом необходимо постоянно поддерживать достаточное количество воды в резервуаре бани во избежание пожаро- и взрывоопасной ситуации.

9. При нагревании растворов следует пользоваться держателями и следить за тем, чтобы отверстие пробирки не было обращено в сторону самого работающего или соседа по рабочему столу, что особенно важно соблюдать при нагревании концентрированных растворов кислот и щелочей.

10. Не следует наклоняться над сосудом, в котором происходит нагревание или кипячение жидкости, во избежание попадания брызг в лицо и глаза. При необходимости определить запах паров или выделяющегося газа не вдыхать их непосредственно из рабочего сосуда, а легким движением руки направить газы к себе и осторожно вдохнуть.

11. При отделении осадка от раствора с помощью центрифуги перед работой необходимо ознакомиться с техническим описанием и инструкцией по эксплуатации центрифуги и соблюдать следующие правила:

- снять крышку с центрифуги и поместить в пронумерованные противолежащие гнезда уравновешенные пробирки с разделяемой смесью и водой;

ВНИМАНИЕ!!! При работе на центрифуге следует использовать только специальные центрифужные (конические) пробирки

- закрыть центрифугу крышкой, установить необходимую скорость центрифугирования и включить центрифугу переключателем «Сеть»;

- после окончания центрифугирования выключить центрифугу, дождаться её полной остановки и лишь после этого открыть крышку;

ВНИМАНИЕ!!! Запрещается включать центрифугу с открытой крышкой и останавливать центрифугу рукой или каким-либо предметом

- вынуть пробирки с отделенными осадками из центрифуги.

12. Центрифуга должна быть установлена на горизонтальной плоскости, надёжно закреплена и заземлена. В случае ненормальной работы центрифуги (удары, вибрация, посторонний шум и т.д.) её необходимо остановить и сообщить преподавателю или лаборанту. Запрещается работать на неисправной центрифуге.

13. Работу с малыми количествами горючих и легковоспламеняющихся веществ (спирты, углеводороды, эфиры, кетоны и т.д.) следует проводить только вдали от огня и электронагревательных приборов (плиток, муфельей, сушильных шкафов).

14. Запрещается проводить опыты со всевозможными взрыво- и огнеопасными смесями.

15. После окончания работы следует убрать с рабочего места в специальный металлический ящик или шкаф остатки легковоспламеняющихся и горючих жидкостей.

16. В лаборатории запрещается:

- загромождать пути эвакуации (проходы, выходы), а также подступы к средствам пожаротушения и электрооборудованию;
- использовать средства пожаротушения не по назначению;
- курить, бросать в мусорные корзины спички, окурки и прочие отходы, пропитанные легковоспламеняющимися и горючими жидкостями.

17. При возникновении пожара или при загорании немедленно вызвать пожарную охрану по телефону «01», организовать встречу и приступить к тушению пожара имеющимися средствами пожаротушения.

18. При воспламенении одежды необходимо загасить огонь на горящем (не бегать!!!), набросив на него асбестовое одеяло или другие подручные средства – пальто, халат, шерстяное одеяло и др. Погасив огонь приступить к оказанию первой помощи.

III. Меры оказания первой помощи

При работе в химической лаборатории наиболее вероятными случаями являются повреждения, связанные с неосторожным обращением с химическими реактивами, огнем и электронагревательными

приборами, стеклянной посудой, авариями лабораторного оборудования (например, химические и термические ожоги, отравления, порезы стеклом).

1. При ожогах химическими веществами, особенно кислотами и щелочами, пораженный участок кожи быстро промывают большим количеством воды, а затем на обожженное место накладывают примочку:

- при ожогах кислотой из 2% раствора пищевой соды;

- при ожогах щелочами из 2% раствора уксусной кислоты.

При сильных ожогах после оказания первой помощи следует обратиться к врачу.

2. При попадании брызг или паров кислоты или щелочи в глаза их следует немедленно промыть большим количеством воды, а затем разбавленными растворами (2-3%) пищевой соды или уксусной кислоты. Все остальные мероприятия проводит только врач-офтальмолог.

3. При термических ожогах обожженное место присыпают двууглекислым натрием (пищевая сода), крахмалом или тальком, либо прикладывают примочки из 96% этилового спирта, 2% свежеприготовленного раствора пищевой соды или 2% раствора перманганата калия. Затем смазывают пораженное место мазью от ожогов. При тяжелых ожогах пострадавшего следует немедленно отправить в медпункт.

4. При отравлении парами вредных и ядовитых веществ вывести пострадавшего на чистый воздух, при необходимости сделать искусственное дыхание, дать противоядие (молоко), вызвать врача или отправить в медпункт.

5. При отравлении через пищевод дать пострадавшему большое количество 2% раствора перманганата калия, вызвать рвоту, дать противоядие (молоко), вызвать врача или отправить в медпункт.

6. При порезах рук или лица стеклом необходимо удалить из раны мелкие осколки, затем промыть рану 3% раствором перекиси водорода или 96% этиловым спиртом, и, смазав настойкой йода, при необходимости забинтовать.

Лабораторная работа №1 Применение рефрактометрических методов для анализа пищевых продуктов. Определение массовой доли растворимых сухих веществ в сырье и пищевых продуктах.

Цель работы: определить массовую долю растворимых сухих веществ в сырье и пищевых продуктах

Приборы, реактивы, оборудование.

1. Рефрактометр лабораторный ИРФ-454 Б2М;
2. Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026;
3. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-97;
4. Термометр лабораторный ТЛ-2 по ГОСТ 215-73;
5. Образцы жидкостей для определения растворимых сухих веществ (напитки, экстракты, соки, томатная паста, кетчуп);
6. Спирт этиловый по ГОСТ 18300-87;
7. Образцы растворов сахарозы.

Задание 1

Провести контроль юстировки рефрактометра (установки на нуль и правильности показаний) по дистиллированной воде при температуре окружающего воздуха.

Для этого необходимо:

- подключить блок питания к осветителю рефрактометра и включить его в сеть 220 В;
- произвести контроль температуры дистиллированной воды, используемой для юстировки и записать данные в журнал;
- отстегнуть застёжку удерживающую на рефрактометре осветительную призму и поднять её;
- визуально проверить чистоту поверхности измерительной призмы и оплавленной стеклянной, деревянной, полиэтиленовой палочкой или пипеткой осторожно, не касаясь призмы, нанести две три капли воды;
- опустить осветительную призму и прижать её застёжкой;
- измерения проводить в проходящем свете, когда он проходит через открытое окно осветительной призмы, при этом окно измерительной призмы закрыто зеркалом; для освещения можно использовать дневное освещение или осветитель работающий от блока питания (его положение нужно подрегулировать свет должен падать на входное окно осветительной призмы или на зеркало, ко-

торым направить свет во входное окно вдоль рабочей грани измерительной призмы);

- вращением окуляра произвести настройку прибора на наилучшую резкость (подбирается индивидуально в зависимости от зрения человека, производящего измерения ± 5 диоптрий);
- вращением нижнего маховика, находящегося с правой стороны корпуса подвести граничную линию светотени к центру перекрестия, видимого в окуляре прибора;
- вращением верхнего маховика устранить дисперсию света – граница светотени не должна иметь окраски;
- наблюдая в окуляр, нижним маховиком навести границу светотени точно на перекрестие;
- отсчёт показаний снимается по шкале освещенности которой осуществляется боковым зеркалом; индексом для отсчёта служит неподвижный вертикальный штрих.

Цена деления шкалы – 5 Ч 10⁻⁴. Целые, десятые, сотые и тысячные доли оценивать на глаз.

Измерения проводятся несколько раз и вычисляется среднее значение. Если среднее значение отличается от табличного (таблица 1), рефрактометр следует подюстировать, (отвинтив заглушку юстировочным ключом подвинтить головку винта, совместив значение шкалы, соответствующее требуемому показателю преломления с отсчётным индексом).

После окончания измерений отстегнуть измерительную призму и удалить остатки воды фильтровальной бумагой.

Задание 2

Измерение показателя преломления. После установки исследуемого образца на измерительной призме навести окуляр на отчетливую видимость перекрестия. Поворотом зеркала, расположенного с левой стороны корпуса, добиться наилучшей освещенности шкалы (или положением осветителя) Вращением верхнего маховика границу светотени ввести в поле зрения окуляра.

Вращать верхний маховик до исчезновения окраски граничной линии. Наблюдая в окуляр, нижним маховиком навести границу светотени точно на перекрестие и по шкале показателей преломления снять отсчёт. Индексом для отсчёта служит неподвижный вертикальный штрих призмы. Результаты измерений занести в

журнал. При проведении измерений следует помнить, что точность измерений зависит от температуры измеряемых растворов. Если юстировка прибора проводилась при температуре 20⁰С, а при измерениях была другая температура, результаты измерений следует приводить к температуре 20⁰С. Для этих целей к прибору прикладывается таблица температурных поправок к показаниям рефрактометра по шкале массовой доли сахарозы. Если исследуемый продукт разбавлен водой, то массовую долю растворимых сухих веществ в продукте следует вычислять по формуле:

$$X = a \cdot [1 + 100 \cdot m_1 / (100 - E) \cdot m_2]$$

где: а – значение массовой доли растворимых сухих веществ в продукте, %; m1 – масса добавленной воды, г; m2 – масса навески продукта, г E – массовая доля нерастворимых в воде сухих веществ в продукте, % E = 5,5% - для томатной пасты с массовой долей растворимых сухих веществ 25-30%; E = 5,0% - для сушёного винограда; E = 1,8% - для джемов и повидла; E = 0 – для тёмноокрашенных прозрачных жидких продуктов.

Обработка результатов, записи в журнале

Температура окружающего воздуха, 20⁰С;

Температура дистиллированной воды, используемой для юстировки, 20⁰С;

Показания шкалы при юстировке прибора (среднее арифметическое)

Показания шкалы при измерениях (среднее арифметическое): -по шкале коэффициентов преломления -по шкале массовой доли сухих веществ (сахарозы) %

Заключение

Показатель преломления в исследуемом продукте составляет _____

Массовая доля сухих веществ в исследуемом продукте составляет _____ процентов.

Контрольные вопросы

1. Что такое показатель преломления? Чем обусловлено изменение скорости распространения светового луча при переходе из одной среды в другую?

2. Как зависит показатель преломления вещества от температуры и давления, при которых проводятся его измерения?
3. Зависит ли показатель преломления вещества от длины волны преломляемого луча?
4. Что такое дисперсия рефракции, средняя дисперсия, относительная дисперсия?
5. Что такое мольная рефракция? Зависит ли мольная рефракция от условий измерения показателя преломления? Как можно рассчитать мольную рефракцию и для каких целей можно использовать эту характеристику?
6. В чем суть правила аддитивности мольной рефракции, для какой цели его может использовать на практике?
7. Какие лабораторные приборы наиболее часто используют для измерения *показателя* преломления вещества?
8. Какой принцип положен в основу конструкций рефрактометра Аббе и рефрактометра Пульфриха? В чем отличие рефрактометра Аббе от рефрактометра Пульфриха?
9. Какое значение показателя преломления измеряется на рефрактометре Аббе? Какой конструктивный узел этого прибора обеспечивает измерение данной характеристики?
10. Опишите устройство рефрактометрических приборов, используемых в системах управления технологическими процессами.
11. Какие рефрактометрические характеристики вещества следует использовать для его точной идентификации?
12. В каких случаях для количественного определения концентрации раствора может быть использовано экспериментально измеренное значение показателя преломления?
13. Приведите примеры практического применения рефрактометрии при контроле качества пищевой и промышленной продукции.

Лабораторная работа №2 Определение массовой доли белков методом формольного титрования. Использование программы био спектрофотометра для исследования биологических материалов спектрофотометрическим методом.

Цель работы: изучить методы исследования белка. Определение массовой доли белков методом формольного титрования.

Аппаратура, реактивы и материалы. Пипетки простые вместимостью 20 и 50 см³ и градуированные вместимостью 1 и 5 см³; стаканы химические вместимостью 150-200 см³, бюретка вместимостью 25 см³ с ценой деления 0,1 см³, снабжённая трубкой с натронной известью для защиты раствора гидроксида натрия от углекислого газа, и бюретка вместимостью 50 см³ с ценой деления 0,1 см³; резиновая груша; гидроксид натрия, ч.д.а. или х.ч. 0,1 н и 40 %-ный растворы; раствор гидроксида натрия готовят на дистиллированной воде, свободной от диоксида углерода; спирт этиловый ректифицированный или спирт синтетический; фенолфталеин (2 %-ный спиртовой раствор); формалин технический; 2,5 %-ный водный раствор сульфата кобальта ч. или ч.д.а., сульфит натрия ч.д.а. или ч.; 1 н раствор серной кислоты; вода дистиллированная, свободная от диоксида углерода.

Для определения содержания формальдегида в техническом формалине готовят раствор сульфита натрия: 126 г сульфита натрия кристаллического ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$) или 63 г безводного сульфита натрия (Na_2SO_3) растворяют в мерной колбе вместимостью 500 см³ и объём доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор сульфита натрия в количестве 50 см³ нейтрализуют 1 н. раствором серной кислоты в присутствии фенолфталеина до слабо-розовой окраски и добавляют точно 3 см³ испытуемого формалина. Образовавшийся в результате реакции гидроксид натрия титруют 1 н. раствором серной кислоты до слабо-розовой окраски.

Количество 1 н. раствора серной кислоты (в см³), израсходованной на титрование образовавшегося гидроксида натрия, показывает количество формальдегида, содержащегося в 100 см³ формалина (г/100 см³). Для определения количества белка допускается

применять формалин с содержанием формальдегида не менее 36г на 100см³. При наличии мути или осадка раствор формалина перед употреблением фильтруют.

Формалин перед употреблением нейтрализуют: к 50см³ формалина добавляют 3-4 капли 2 %-ного раствора фенолфталеина и затем по каплям приливают сначала 40 5-ный, а затем в конце 0,1 н раствор гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания.

Формалин, оставшийся на следующий день, в случае необходимости дополнительно нейтрализуют 0,1н. раствором гидроксида натрия. Нейтрализация формалина, в котором образовался осадок, производится после фильтрования.

Для приготовления эталона окраски в химический стакан вместимостью 150-200см³ отмеривают пипеткой 20мл молока и добавляют 0,5мл 2,5 %-ного раствора сульфата кобальта. Эталон пригоден для работы в течении одной смены. Для лучшего сохранения к эталону можно добавить одну каплю формалина. Во избежание отстоя сливок эталон рекомендуется перемешивать.

Таблица 3

- Определение содержания белков в молоке при титровании проб в присутствии формалина

Количество 0,1н. раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %	Количество 0,1н. раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %
2,45	2,35	3,3	3,16
2,5	2,4	3,35	3,21
2,55	2,44	3,4	3,25
2,6	2,49	3,45	3,31
2,65	2,54	3,5	3,35
2,7	2,59	3,55	3,4
2,75	2,64	3,6	3,45
2,8	2,69	3,65	3,5
2,85	2,73	3,7	3,55
2,9	2,78	3,75	3,6
2,95	2,83	3,8	3,65

3	2,88	3,85	3,69
3,05	2,93	3,9	3,74
3,1	2,98	3,95	3,79
3,15	3,03	4	3,84
3,2	3,07	4,05	3,89
3,25	3,12	4,1	3,94

Задание 1

Ход работы

В химический стакан вместимостью 150-200 см³ отмеривают с помощью пипетки 20 см³ молока и добавляют 0,25 см³ 2 %-ного раствора гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего окраски этанола. Затем в стакан вносят 4 см³ нейтрализованного 36-40 %-ного формалина, перемешивают круговыми движениями и через 1 мин вторично титруют до появления слабо-розового окрашивания.

Если испытания проводят при искусственном освещении, то для точного определения момента появления окраски используют белый экран, для чего лист чертёжной бумаги размером 40 x 40 см сгибают пополам.

Массовая доля (в %) общего количества белков в молоке равна количеству 0,1н. раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию в присутствии формалина, умноженному на 0,959. Массовую долю общего белка в молоке можно определить также по таблице.

Колориметрический метод определения белка (по Лоури)

Аппаратура, реактивы и материалы: 1) 2 %-й раствор Na₂CO₃ в 0,1н NaOH; 2) раствор 0,5 % CuSO₄ x 5H₂O в 1 %-м растворе двухзамещённого виннокислого натрия или калия; 3) опытный раствор: готовят смешивая 1-й и 2-й растворы (50 : 1 по объёму); реактив годен в течении дня; 4) реактив Фолина.

Приготовление реактива Фолина. Для стандартного раствора 100г вольфрамата натрия (Na₂WO₄ x 2H₂O) и 25г молибдата натрия Na₂MoO₄ x 2H₂O растворяют в 700см³ воды. К смеси добавляют 50см³ 85 %-го раствора фосфорной и 100см³ соляной кислот (ρ =

1,19). Затем кипятят (не слишком сильно) 10 ч с обратным холодильником в вытяжном шкафу. После этого в колбу добавляют 150г сернистого лития, 50 см^3 воды и 5 капель бромной воды. Смесь кипятят в течении 15 мин в вытяжном шкафу для удаления избытка брома, после охлаждения доводят водой до 1 дм^3 . Затем фильтруют и хранят в тёмной склянке с притёртой пробкой. Раствор должен быть ярко-жёлтого цвета. Обычно перед употреблением реактив Фолина разбавляют в 2 раза. Раствор можно хранить длительное время.

Задание 2

Ход работы

К $0,4 \text{ см}^3$ раствора белка добавляют 2 см^3 опытного раствора. Смесь перемешивают и через 10 мин приливают к ней $0,2 \text{ см}^3$ рабочего раствора Фолина. Интенсивность окраски определяют на ФЭК-56М с красным светофильтром (или на спектрофотометре при 750 нм) через 30 мин. Количество белка в растворе находят по калибровочной кривой.

Для построения калибровочной кривой 100 мг чистого белка (сывороточного γ – глобулина, кристаллического альбумина и др.) растворяют в 100 см^3 $0,1 \text{ н}$ NaOH (1 см^3 содержит 1 мг белка). В 9 мерных колб на 10 см^3 приливают раствор белка в возрастающих количествах: $0,5 \text{ см}^3$, а затем от 1 до 8 см^3 . Раствор в колбах доводят водой до метки, перемешивают и из каждой колбы берут по $0,4 \text{ см}^3$ для определения белка по указанной прописи. По полученным данным вычерчивают калибровочную кривую.

Примечание. Определение белка данным методом в растительных объектах, содержащих фенолы, приводит к завышению результатов, так как они образуют аналогичную окраску с реактивами. Перед определением белка для удаления фенольных соединений необходима обработка ацетоном, охлаждённым до -10°C .

Задание 3

Определение белка колориметрическим методом

Аппаратура, реактивы и материалы.

В стеклянную пробирку помещают пипеткой 1 см^3 раствора молока, приливают 20 см^3 раствора красителя и, закрыв пробирку

резиновой пробкой, перемешивают её содержимое, переворачивая пробирку от 2 до 10 раз.

Следует избегать встряхивания, так как при этом образуется трудноразрушимая пена.

Пробирку помещают в центрифугу и центрифугируют при частоте вращения 1000 об/мин в течении 20 мин.

Отбирают пипеткой 1см^3 надсадочной жидкости, помещают в мерную колбу вместимостью 50см^3 , доливают колбу до метки водой и содержимое перемешивают. Аналогичным способом разбавляют раствор красителя в 50 раз.

Измеряют на фотоколориметре оптическую плотность разбавленного раствора красителя по отношению к разбавленному содержимому мерной колбы.

Массовую долю белка (Б), %, вычисляют по формуле:

$B=7,78D-1,34$, где D – измеренная оптическая плотность, ед. оптической плотности;

7,78 – эмпирический коэффициент, % / ед. оптической плотности;

1,34 – эмпирический коэффициент, %.

Предел допустимой погрешности результата измерений составляет $\pm 0,1$ % массовой доли белка при доверительной вероятности 0,80 и расхождении между двумя параллельными измерениями не более 0,013 единиц оптической плотности или не более 0,1 % массовой доли белка.

За окончательный результат измерения принимают среднее арифметическое значение результатов вычислений двух параллельных наблюдений, округляя результаты до второго десятичного знака.

Исследование биологических материалов в УФ Вид спектроскопии.

Для некоторых моделей спектрофотометров существует модуль, оснащенный всеми стандартными параметрами, используемыми в биоанализах, таких как анализ и определение количества биологических молекул. Этот модуль включает в себя все необходимое дополнительное оборудование для биоанализов, таких как регулируемый держатель ячейки, программное обеспечение с заранее запрограммированными методами анализа ДНК, протеина, оптиче-

ской плотности и ферментативной кинетики. Также исследователь имеет возможность запрограммировать свои вычисления. Примеры использования спектрофотометрии для анализа биообъектов представлены на рисунке 1

Поглощаемость	Концентрация	Определение количества	Правила
<ul style="list-style-type: none"> • 260 nm • 280 nm • Чистота ДНК 	<ul style="list-style-type: none"> • Олиго нуклеоды ДНК • Рибонуклеиновая кислота • Протеин 	<ul style="list-style-type: none"> • Лоури • Брэдфорд • Бьюрет • ВСА 	<ul style="list-style-type: none"> • Warburg-Christian • Scopes • Kalb-Bernohr

Рисунок 1 Примеры использования спектрофотометрии для анализа биообъектов

Количественный анализ нуклеиновых кислот - определение концентрации ДНК или РНК в смеси или чистом препарате, производят с помощью различных методик. Реакции с участием нуклеиновых кислот часто требуют точных сведений о количестве и чистоте препарата. Для определения концентрации нуклеиновой кислоты в растворе используют спектрофотометрический метод и УФ-флюоресценцию, если нуклеиновая кислота содержит краситель.

Количественный анализ белков в ближней УФ-области электронного спектра заключается в измерении собственного поглощения. Одним из методов определения концентрации белковых веществ по их поглощению является метод Варбурга и Кристиана (Warburg-Christian), основанная на измерении оптической плотности при двух длинах волн – 280 и 260 нм.

При этом не требуется использование стандартного образца и знание значения коэффициента поглощения. Метод базируется на том, что отношение D_{280}/D_{260} для различных равно 1,75. Что дает возможность определять концентрацию белка при анализе смесей белков. Расчет проводят с использованием уравнения $C_{\text{белка (мг/мл)}} = 1,55D_{280} - 0,76D_{260}$. (4)

Таблица 1 Коэффициенты f для вычисления концентрации белка

D_{280}/D_{260}	Содержание нуклеиновой кислоты*, %	f	D_{280}/D_{260}	Содержание нуклеиновой кислоты*, %	f
1,75	0	1,118	0,86	5,2	0,671
1,60	0,30	1,078	0,84	5,6	0,650
1,50	0,56	1,047	0,82	6,1	0,628
1,40	0,87	1,011	0,80	6,6	0,605
1,30	1,26	0,969	0,78	7,1	0,581
1,25	1,49	0,946	0,76	7,8	0,555
1,20	1,75	0,921	0,74	8,5	0,528
1,15	2,05	0,893	0,72	9,3	0,500
1,10	2,40	0,863	0,70	10,3	0,470
1,05	2,80	0,831	0,68	11,4	0,438
1,00	3,3	0,794	0,66	12,8	0,404
0,96	3,7	0,763	0,64	14,5	0,368
0,92	4,3	0,728	0,62	16,6	0,330
0,90	4,6	0,710	0,60	19,2	0,289
0,88	4,9	0,691			

По данной методике можно определять белок в присутствии нуклеиновых кислот. В этом случае применяют пересчетные коэффициенты f (табл. 1). Расчет проводят по формуле $C_{\text{белка (мг/мл)}} = D_{280} \cdot f$. Коэффициенты для расчета концентрации белка (1,55 и 0,76) и значения пересчетного множителя f получены путем измерения поглощения кристаллической дрожжевой енолазы (при концентрации 1 мг/мл – $D_{260} = 0,512$, $D_{280} = 0,894$) и очищенной дрожжевой нуклеиновой кислоты (при концентрации 1 мг/мл – $D_{260} = 22,1$, $D_{280} = 10,8$).

При этом по данным табл. 1 можно рассчитать не только значение множителя f , но и определить содержание нуклеиновой кислоты в исследуемом растворе.

Контрольные вопросы

1. Исследования биологических материалов спектрофотометрическим методом.
2. Определение массовой доли белков методом формольного титрования
3. Колориметрический метод определения белка (по Лоури)
4. Определение белка колориметрическим методом

Лабораторная работа №3 Определение доброкачественности и фальсификации пищевых продуктов методом люминескопии.

Цель работы: Определить степень свежести пищевых продуктов. Определить сортовую принадлежность пищевых продуктов. Общие теоретические сведения.

Люминесцентный метод основан на наблюдении флюоресценции (свечения) интересующего объекта. Он широко применяется в сельском хозяйстве, пищевой промышленности, медицине и т.д. При измерении флюоресценции овощей, фруктов, мяса позволяет обнаружить начало гниения их на такой ранней стадии, когда оно неуловимо обычными методами. Сокращается брак консервов в результате применения люминесцентного анализа для отбора консервируемых овощей и фруктов, при установлении порчи рыбы и мяса. С помощью люминескопии устанавливается безвредность пищевых продуктов.

Различные методы и приемы анализа используются в зависимости от поставленных целей и задач исследования, способов возбуждения и регистрации люминесценции, взаимного расположения источника возбуждения и регистрирующего прибора.

Различают такие две группы люминесцентных методов:

- люминесцентные методы обнаружения
- физико-химические люминесцентные методы

Люминесцентные методы обнаружения, в основном, используются как качественные экспрессные тест-методы, т.к. они не требуют количественных измерений и связанных с ними усложнений.

К группе физико-химических методов относят методы по определению качественного и количественного состава продуктов, структуры и свойств отдельных компонентов.

Оборудование и материалы: люминоскоп ЛПК-1, лоток, нож. Сырьё: мясо свинины и говядины, мясной фарш, яйца, картофель, мука разных видов и сортов, мед, печенье, масло сливочное, маргарин. Порядок проведения работы. Устройство и принцип действия люминоскопа.

Люминоскоп «Филин» предназначен для определения качества некоторых пищевых продуктов, принадлежности мяса к определенному виду животных, его доброкачественности, проведения экспертизы масел, жиров, меда и других продуктов.

Прибор разделен на две камеры: осветительную и измерительную. Для выделения возбуждающего ультрафиолетового света между камерами установлены два фильтра из стекла марки СЗС – 21 и УФС-6, которые пропускают узкую полосу света $\lambda=360 \pm 30$ нм. Для наблюдения служит тубус с вторичным фильтром из стекла марки БС-8, который не пропускает рассеянный ультрафиолетовый свет. Принцип работы прибора основан на свойстве веществ люминесцировать под действием ультрафиолетового излучения.

В качестве источника возбуждения используется ртутно-кварцевая лампа СВД-120 А. Лампа питается от сети напряжением 220 В через балластный дроссель, который ограничивает ток лампы до нужного значения. Поджог лампы осуществляется с помощью поджигающего электрода, на который подаётся напряжение сети через ограничительное сопротивление. После небольшого прогрева возникает основной заряд в парах ртути.

Задание 1

Методика исследования пищевых продуктов.

Прибор после включения в сеть прогревается 10 мин. Испытуемый образец помещают в рабочую кювету из нелюминесцирующего материала, закрывают заслонку. Люминесценцию наблюдают через тубус на передней панели. Отличают цвет и интенсивность люминесценции. Оценку цвета производят визуально.

Исследование мяса: куски мяса 50*50*10 мм помещают в кювету. И наблюдают люминесценцию.

Исследование фарша.

Фарш располагают в кювете слоем 5 мм. Наблюдают цвет люминесценции составных частей фарша.

Задание 2

Исследование жиров и масел.

Пробы жиров и масел размерами 15*15*5 мм помещают в кювету. При исследовании кулинарных жиров и маргаринов рядом опытными пробами помещают пробу сливочного масла.

Задание 3

Исследование меда.

Мед вносят в кювету слоем толщиной 5 мм. Рядом располагают пробу натурального меда слоем той же толщины.

Задание 4

Определение свежести яиц.

Яйца исследуют со скорлупой.

Задание 5

Определение сортности муки. Муку рассыпают в кювету слоем 5 мм. Определение качества печенья.

Печенье помещают в кювету в целом виде. Определение качества картофеля. Картофель нарезают толщиной 10 мм.

Показатели люминесценции оформляют в виде таблицы.

Таблица 3

Показатели люминесценции пищевых продуктов.

№ п/п	Наименование продукта	Цвет люминесценции	
		Вид свечения продукта	Наблюдаемое свечение
1.	Свинина свежая	Розовый с коричневым оттенком	
2.	Свинина, пораженная личинками гельминтов	На фоне мяса ярко розовые точки	
3.	Говядина	Темно-красный или красновато-фиолетовый	

		с бархатистом оттенком.	
4.	Фарш мясной с присутствием сухожилий и хрящей Фарш мясной с присутствием жира	Голубой цвет Светло-желтое свечение	
5.	Картофель здоровый	Желтая флюоресценция	
6.	Пораженный фитофторой	Интенсивно-голубая окраска	
7.	Картофель подмороженный	Беловатая окраска	
8.	Картофель, пораженный кольцевой гнилью	Зеленоватая окраска	
9.	Яйцо куриное свежее с белой скорлупой - несвежее	Интенсивно красная флюоресценция Голубая флюоресценция	
10.	Несвежее с темной скорлупой	Голубовато-фиолетового тона	
11.	Мука ячменная	Матовая флюоресценция	
12.	Мука соевая	Сине-зеленая флюоресценция	
13.	Мука гороховая	Матовая флюоресценция	
14.	Мука ржаная и пшеничная с примесями зерновых оболочек и вредных примесей	Интенсивное синее свечение	
15.	Мед натуральный	Светло-желтый цвет	
16.	Мед Фальсифицированный	Беловатый или синеватый цвет	
17.	Масло сливочное коровье	коричнево	
18.	Маргарин	Голубая флюоресценция	

Задание 6 Определение химического состава, контроль качества и безвредности пищевых продуктов методом люминоскопии.
Определить степень окисленности пищевых жиров.

1 Определить остаточные количества пестицидов в растительных маслах, свежих и сухих плодах и овощах.

2. Общие теоретические сведения.

Количественный люминесцентный анализ позволяет определить концентрацию исследуемого вещества в растворе по интенсивности люминесценции. Техника количественного анализа основана на том, что при небольшом содержании флуоресцирующего вещества в растворе существует пропорциональная зависимость между яркостью свечения и концентрацией вещества в пробе. Наиболее удобно проводить сравнение по интенсивности люминесценции раствора неизвестной концентрации с эталонным раствором. По концентрации вещества в стандартных растворах рассчитывают содержание вещества в пробах. Можно пользоваться предварительно построенным графиком, но этот метод менее надежен, так как на люминесценцию влияет много факторов.

Оборудование и материалы: люминоскоп ЛПК-1, весы лабораторные, разновесы. Химическая посуда: пробирки, делительная воронка, мерные цилиндры на 10,25 мл, пробки для пробирок, стеклянные палочки, колбы с п/п на 250 мл, воронки, фильтры. Реактивы: 10% водный аммиак, 1н р-р едкого натра, 0,1 н р-р едкого натра, бензол, бутиловый спирт, вода, дистиллированная. Сырьё: растительное масло, сливочное масло, овощи или фрукты свежие, сухофрукты.

Методика проведения эксперимента. Для определения степени окисленности жиров, 3-4 см³ растительного масла, или 3-4 г сливочного масла помещают в пробирку из нефлуоресцирующего стекла, добавляют такое же количество дистиллированной воды и 3-4 капли 10 %-го водного раствора аммиака, тщательно перемешивают стеклянной палочкой, добавляют ещё двойное количество воды и раствора аммиака, переносят в делительную воронку и тщательно встряхивают 30 мин до четкого разделения водной и жировой фаз.

Люминесценцию определяют с помощью люминоскопа. В потоке УФ лучей наблюдают свечение водного слоя.

При содержании окисленных веществ более 1% происходит отчетливое голубое свечение, от 0,5 до 1% - зеленоватое свечение с

голубовато-дымчатым оттенком; если содержание окисленных веществ не превышает 0,5%, то появляется зеленая флюоресценция.

Для остаточного количества ядохимиката севина в растительном масле 100 см^3 продукта и такое же количество бутилового спирта помещают в делительную воронку, энергично встряхивают 60 сек, затем приливают 25 см^3 1н р-ра NaOH и продолжают осторожно перемешивать еще 60 сек. После расслоения жидкостей сливают нижний водно-щелочной слой и в потоке УФ лучей наблюдают люминесценцию.

Зеленовато-голубое свечение раствора свидетельствует о присутствии севина.

При анализе свежих или сушеных овощей, или плодов 100 г измельченного продукта помещают в колбу с притертой пробкой, заливают бензолом, перемешивают и оставляют на 30 мин. Затем к отфильтрованному бензольному экстракту в делительной воронке приливают $10-15 \text{ см}^3$ 0,1н водного раствора NaOH и перемешивают содержимое воронки ещё 30 сек. Наблюдают люминесценцию нижнего слоя.

Заключение: По результатам проведенных экспериментов делают заключение о сортности предложенной продукции, ее фальсификации и свежести предложенных образцов. Описание принципа действия и работы люминоскопа. Оформление таблицы по полученным данным. Заключение по результатам экспериментов.

По результатам эксперимента делают заключение о степени свежести (окисленности) жиров, наличии или отсутствии ядохимиката (севина). Описание методики эксперимента

Контрольные вопросы

- 1 Что такое люминескопия ?
2. Какие методы люминескопии применяют при анализе пищевых продуктов.
- 3 На чем основано исследование пищевых продуктов методом люминескопии.
- 4 Охарактеризовать устройство и принцип действия люминоскопа.
- 5 Как определить свежесть и сортовую принадлежность продукта.
- 6.Охарактеризовать качественное и количественное определение пищевых продуктов методом люминескопии.

7 На чем основано количественное определение степени окисленности жиров.

8. Как определить пестицид (севин) в растительных продуктах?

Рекомендуемая литература

1. Поздняковский, В. М. Гигиенические основы питания и безопасность пищевых продуктов [Текст] : учебник / В. М. Поздняковский - 4 - е изд., испр. и доп. - Новосибирск : Сибирское университетское издание, 2005. – 522 с.

2. Беляев, А. Г. Современные приборы и методы исследований в технологии продуктов питания [Текст]: учебное пособие: / А. Г. Беляев; Юго-Зап. гос. ун-т. - Курск: ЮЗГУ, 2016. - 183 с

3. Карпова, Г. В. Общие принципы функционального питания и методов исследования свойств сырья продуктов питания [Электронный ресурс] : учебное пособие : в 2-х ч. / Г. В. Карпова, М. А. Студяникова. – Оренбург : Оренбургский государственный университет, 2012. - Ч. 1. - 226 с. - Режим доступа : <http://biblioclub.ru/>

4. Карпова, Г. В. Общие принципы функционального питания и методов исследования свойств сырья продуктов питания [Электронный ресурс] : учебное пособие : в 2-х ч. / Г. В. Карпова, М. А. Студяникова. - Оренбург: Оренбургский государственный университет, 2012. - Ч. 2. - 214 с. - Режим доступа : <http://biblioclub.ru/>

5. Мельникова, Е.И. Современные методы исследования свойств сырья и продуктов животного происхождения: Лабораторный практикум [Электронный ресурс]: учебное пособие / Е.И. Мельникова, Е.С. Рудниченко, Е.В. Богданова; Министерство образования и науки РФ, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий». - Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2014. - 95 с.: - ISBN 978-5-00032-040-2 -Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>

6. Закревский, В. В. Безопасность пищевых продуктов и биологически активных добавок к пище [Текст] : практическое руководство по санитарно-эпидемиологическому надзору / В. В. Закревский. - СПб. : ГИОРД, 2004. - 280 с.