

Документ подписан простой электронной подписью  
Информация о владельце:  
ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна  
Должность: проректор по учебной работе  
Дата подписания: 03.02.2021 18:22:24  
Уникальный программный ключ:  
0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d089

## МИНОБРНАУКИ РОССИИ

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

Кафедра товароведения, технологии и экспертизы товаров

УТВЕРЖДАЮ  
Проректор по учебной работе  
О.Г. Локтионова  
«5» 02 2018 г.



СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА И  
БЕЗОПАСНОСТИ СЫРЬЯ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДО-  
БАВОК И ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ

Методические указания по выполнению лабораторных работ для  
студентов направления 19.03.03 «Продукты питания животного  
происхождения»

Курск 2018

УДК: 664

Составитель: А.Г. Беляев

Рецензент

Кандидат фармакологических наук, доцент *Л.А. Горбачева*

**Современные методы исследования качества и безопасности сырья, биологически активных добавок и готовой продукции: методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев Курск, 2018. 111 с.: Библиогр.: с.111**

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

Предназначены для студентов направления подготовки 19.03.03 «Продукты питания животного происхождения» очной формы обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать *15.02* Формат 60x84 1/16.  
Усл. печ. л. 6,45 Уч.-изд. л. 5,84 Тираж 50 экз. Заказ. *16.81* Бесплатно.  
Юго-Западный государственный университет.  
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

**МИНОБРНАУКИ РОССИИ**

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

Кафедра товароведения, технологии и экспертизы товаров

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе  
\_\_\_\_\_ О.Г. Локтионова  
« » \_\_\_\_\_ 2018 г.

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА И  
БЕЗОПАСНОСТИ СЫРЬЯ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДО-  
БАВОК И ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ**

Методические указания по выполнению лабораторных работ для  
студентов направления 19.03.03 «Продукты питания животного  
происхождения»

УДК: 664

Составитель: А.Г. Беляев

Рецензент

Кандидат фармакологических наук, доцент *Л.А. Горбачева*

**Современные методы исследования качества и безопасности сырья, биологически активных добавок и готовой продукции: методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев Курск, 2018. 111 с.: Библиогр.: с.111**

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

Предназначены для студентов направления подготовки 19.03.03 «Продукты питания животного происхождения» очной формы обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать      Формат 60x84 1/16.  
Усл. печ. л. 6,45    Уч.-изд. л. 5,84    Тираж 50 экз.    Заказ.      Бесплатно.  
Юго-Западный государственный университет.  
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
<b>7 Семестр</b>	
Лабораторная работа №1 Пробоподготовка соков, молока, для исследования микроэлементов с помощью микроволновой системы пробоподготовки, и муфельной печи. Техника безопасности при работе в химической лаборатории.	7
Лабораторная работа №2 Исследование продуктов питания с использованием УФ вид спектрометра. Определение фосфора в молоке. Спектрофотометрический метод определения содержания фосфора.	13
Лабораторная работа №3 Инфракрасная спектроскопия при исследовании продуктов животного происхождения.	16
Лабораторная работа №4 Анализ аминокислот мяса и мясопродуктов методом бумажной хроматографии	20
Лабораторная работа №5 Определение тяжелых металлов методом инверсионной вольтамперметрии. Определение витаминов методом инверсионной вольтамперметрии.	27
Лабораторная работа №6 Принципы ВЭЖХ, масспектрометрии. Использование метода для контроля качества и безопасности продуктов питания. Выполняемые гост для исследования качества и безопасности продуктов питания.	33
Лабораторная работа №7 Исследование продуктов питания с использованием сахариметра, поляриметра.	44
<b>8 Семестр</b>	
Лабораторная работа №1 Определение доброкачественности и фальсификации пищевых продуктов методом люминоскопии	54
Лабораторная работа №2 Применение рефрактометрических методов для анализа пищевых продуктов. Определение массовой доли растворимых сухих веществ в сырье и пищевых продуктах.	60
Лабораторная работа №3 ГОСТ 25011-81 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка фотометрическим методом	64
Лабораторная работа №4 Методы исследования физико-	70

химических свойств молока и молочных продуктов	
Лабораторная работа №5 Контроль качества кисломолочных продуктов.	74
Лабораторная работа №6 Изучение технологических свойств пищевых красителей	78
Лабораторная работа №7 Изучение технологических свойств эмульгаторов	89
Лабораторная работа №8 Определение массовой доли белков методом формольного титрования. Использование программы био спектрофотометра для исследования биологических материалов спектрофотометрическим методом.	106
Список рекомендуемой литературы	111

## **ВВЕДЕНИЕ**

Методические указания к выполнению лабораторных работ предназначены для студентов направления для студентов направления подготовки 19.03.03 «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 экзамене.



## 7 семестр

**Лабораторная работа №1** Пробоподготовка соков, молока, для исследования микроэлементов с помощью микроволновой системы пробоподготовки, и муфельной печи. Техника безопасности при работе в химической лаборатории

**Цель работы:** изучить технику безопасности при работе в химической лаборатории, способ пробоподготовки соков, молока, для исследования микроэлементов с помощью микроволновой системы пробоподготовки, и муфельной печи.

*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 (питьевая 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.

## **Пробоподготовка соков, молока, для исследования микроэлементов с помощью микроволновой системы пробоподготовки, и муфельной печи.**

**Задание 1** Провести высушивание проб в микроволновой системе пробоподготовки.

**Задание 2** Провести озоление проб в муфельной печи.

### **Средства измерений, лабораторное оборудование, реактивы и материалы.**

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 50 или 200 г 1-го класса точности. Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г 3-го класса точности. Пипетка по ГОСТ 29169 вместимостью 25 см. Муфельная печь, обеспечивающая температуру  $(525 \pm 25)$  °С. Микроволновая система пробоподготовки. Тигель диаметром около 80 мм с плоским дном. Эксикатор.

### **Ход работы**

Проводят два параллельных определения. Пробу исследуемого продукта объемом 25 см (или массой 25 г) упаривают досуха на Микроволновой системе пробоподготовки в предварительно взвешенной тигле. Полученный сухой остаток в чашке медленно, не допуская воспламенения или разбрызгивания пробы, нагревают на электроплитке в вытяжном шкафу до удаления основной части органических веществ. Затем чашку с содержимым помещают в муфельную печь и проводят озоление при температуре  $(525 \pm 25)$  °С до тех пор, пока не будут удалены полностью органические вещества и зола не приобретет белый цвет. При проведении озоления должен осуществляться постоянный контроль температурного режима.

Далее чашку с содержимым охлаждают в эксикаторе до температуры окружающего воздуха. Иногда имеет место неполное сгорание органических веществ. В этом случае золу смачивают водой и снова упаривают и озоляют. При необходимости эту операцию повторяют несколько раз.

**Заключение:**

По результатам экспериментов делают заключение

### Контрольные вопросы

1. Принцип работы микроволновой системы пробоподготовки и порядок высушивания проб.
2. Методика установления программы в муфельной печи, для сухого озоления проб.
3. Правила безопасной работы в лаборатории.

**Лабораторная работа №2** Исследование продуктов питания с использованием УФ вид спектрометра. Определение фосфора с соках. Спектрофотометрический метод определения содержания фосфора.

**Цель работы:** Изучить спектрофотометрический метод определения содержания (массовой концентрации и массовой доли) фосфора. Выполнить ГОСТ 31980-2012 Молоко. Спектрометрический метод определения массовой доли общего фосфора

### **Средства измерений, лабораторное оборудование, реактивы и материалы**

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 50 г, 1-го класса точности. Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г, 2-го класса точности. Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 500 г, 4-го класса точности.

Спектрофотометр с диапазоном измерения, позволяющим проводить исследования при длине волны 720 нм, с допустимой абсолютной погрешностью измерений коэффициента пропускания не более 1%; кюветы стеклянные или кварцевые рабочей длиной 10 мм. Цилиндр по ГОСТ 1770 вместимостью 100 см<sup>3</sup>.

Колбы мерные по ГОСТ 1770, исполнения 2, вместимостью 50, 100 и 1000 см<sup>3</sup>. Пипетки по ГОСТ 29227, типа 2, исполнения 1, 1-го класса точности вместимостью 1, 10 и 25 см<sup>3</sup>. Дозаторы пипеточные переменного объема дозирования 0,005-0,040 см<sup>3</sup> и 0,040-

0,200 см с относительной погрешностью дозирования  $\pm 1\%$ . Баня водяная. Аммоний молибденовокислый 4-водный (гептамолибдат аммония) по ГОСТ 3765, х.ч. Кислота соляная по ГОСТ 3118, ч.д.а., раствор молярной концентрации 2 моль/дм. Кислота серная по ГОСТ 4204, ч.д.а., раствор молярной концентрации 1 моль/дм. Кислота аскорбиновая, растворы массовой концентрации 3,53 г/дм и 10 г/дм (готовят в день использования). Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный по ГОСТ 4172, х.ч. Вода по ГОСТ Р 52501, категории 2. Допускается использование других средств измерений, реактивов и материалов, по метрологическим и техническим характеристикам не уступающих перечисленным выше.

### **Ход работы**

Концентрированные продукты разводят водой до заданного значения относительной плотности в соответствии с нормативным или техническим документом на конкретный вид продукта. Относительную плотность разбавленной пробы определяют по ГОСТ Р 51431 и найденное значение указывают в протоколе испытаний.

### **6 Подготовка к проведению испытаний**

Для приготовления растворов, используемых при проведении испытаний, применяют только воду для лабораторного анализа категории 2 по ГОСТ Р 52501.

### **Задание 1**

#### **Приготовление раствора гептамолибдата аммония**

Навеску гептамолибдата аммония массой 2 г растворяют в 60 мл воды при температуре 60 °С. Раствор охлаждают до температуры 20 °С, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до отметки. Срок годности полученного раствора 15 суток при хранении в защищенном от света месте.

#### **Приготовление основного раствора фосфора**

Навеску двузамещенного 12-водного фосфата натрия массой 11,5627 г переносят в мерную колбу вместимостью 1 л. В колбу вносят 100 мл воды, добиваются полного растворения кристаллов соли, после чего объем содержимого доводят водой до отметки. Получают основной раствор фосфора массовой концентрации 1,00 г/л. Срок годности полученного раствора 1 мес.

#### **Проведение испытаний**



### **Приготовление раствора пробы**

Проводят два параллельных определения.

Пробу объемом 25 мл (при испытаниях соков с высоким содержанием мякоти - массой 25 г) минерализуют по ГОСТ Р 51432.

Золу растворяют в 2-3 мл раствора соляной кислоты, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем содержимого колбы водой до отметки.

### **Приготовление растворов для спектрофотометрического анализа**

Для спектрофотометрического анализа готовят градуировочные растворы и растворы пробы.

При проведении испытаний настоящим методом закон Ламберта-Бера соблюдается для массовых концентраций фосфора от 0,1 до 1,5 мг/л.

Для приготовления градуировочных растворов указанного выше диапазона массовых концентраций фосфора в мерные колбы вместимостью 100 мл пипеточным дозатором вносят от 0,01 до 0,15 мл основного раствора фосфора.

Для приготовления раствора пробы в мерную колбу вместимостью 100 мл вносят аликвоту раствора минерализованной пробы. Объем аликвоты рассчитывают по разделу 8, исходя из предполагаемого содержания фосфора в молоке и диапазона массовых концентраций фосфора в градуировочных растворах.

Содержимое колб для градуировочных растворов и для растворов пробы доводят водой примерно до половины объема. В колбы последовательно вносят 20 мл раствора серной кислоты концентрации 1 моль/л, 4,0 мл раствора гептамолибдата аммония и 2,0 мл раствора аскорбиновой кислоты концентрации 3,53 г/л- при испытаниях фруктовых соков и 10 г/л- при испытаниях овощных соков, предположительно содержащих нитраты, способные влиять на ход реакции. Колбы с содержимым выдерживают на кипящей водяной бане в открытом состоянии в течение 15 мин, после чего охлаждают до комнатной температуры и объем содержимого доводят водой до отметки.

## **Задание 2**

### **Спектрофотометрический анализ**

Измеряют оптическую плотность градуировочных растворов и раствора пробы на спектрофотометре при длине волны 720 нм в кюветках рабочей длиной 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду. Оптическая плотность исследуемых растворов стабильна в течение 3 ч.

Анализ градуировочных растворов проводят непосредственно перед анализом каждой серии растворов проб.

### **Обработка и оформление результатов**

Строят градуировочный график зависимости оптической плотности от массовой концентрации фосфора в градуировочных растворах.

По градуировочному графику находят значение массовой концентрации фосфора в растворе пробы, соответствующее измеренной оптической плотности раствора пробы

### **Заключение:**

По результатам экспериментов делают заключение

### **Контрольные вопросы**

1. Приготовление раствора гептамолибдата аммония
2. Приготовление основного раствора фосфора
3. Приготовление раствора пробы
4. Приготовление растворов для спектрофотометрического анализа
5. Спектрофотометрический анализ
6. Анализ градуировочных растворов, построение градуировочного графика.

**Лабораторная работа №3** Инфракрасная спектроскопия при исследовании продуктов животного происхождения.

**Цель работы:** Ознакомиться с ИК Фурье спектрометрией принципом работы, выполняемыми ГОСТ для исследования качества и безопасности продуктов питания.

Спектры в УФ и видимой областях применяются для идентификации соединений как в чистом виде, так и в составе пищевых

продуктов. Эта методика используется для определения химической структуры соединения и его превращения, однако при более точном анализе необходимы исследования поглощения в инфракрасной области.

Инфракрасная (ИК) спектроскопия представляет собой один из новейших физических методов количественного и качественного анализа пищевых продуктов. Этот метод позволяет получить достаточно полную информацию о строении и составе органических веществ.

ИК-излучение применяется для исследования жирнокислотного состава молочных продуктов, широко используется для определения пестицидов в различных пищевых продуктах и т.д.

Инфракрасный спектр органического соединения является одним из однозначных физических свойств вещества. Для идентификации вещества необходимо знать, к какому классу органических соединений относится определяемое вещество.

Инфракрасная спектроскопия также основана на поглощении излучения. Поглощением в инфракрасной области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Инфракрасные спектры могут быть получены в различных агрегатных состояниях веществ и используются для идентификации, количественного анализа, а также для исследования строения молекул.

Измерения проводят на однолучевых и двухлучевых инфракрасных спектрофотометрах, снабженных диспергирующими системами в виде призм и диффракционных решеток. Наиболее часто используется спектральная область от 2,5 до 20 мкм (4000—500 см<sup>-1</sup>). Каждый инфракрасный спектр характеризуется серией полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом  $\nu$  или длиной волны  $\lambda$  и интенсивностью максимумов поглощения (см<sup>-1</sup>);

Волновое число  $\nu$ , измеряемое в обратных сантиметрах

$$\frac{10^4}{\lambda}$$

определяется из соотношения  $\nu = \frac{10^4}{\lambda}$ , где  $\lambda$ —длина волны в микрометрах (мкм). Обычно при записи спектра на оси абсцисс откладывается в линейной шкале значение волнового числа  $\nu$  (в см<sup>-1</sup>) на оси ординат — величина пропускания  $T$  (%). Подготовку образцов к

снятию инфракрасных спектров проводят по следующим методам.

1. Твердых вещества. а) пасты тщательно смешивают 10—20 мг твердого вещества с 1—2 каплями иммерсионной жидкости (вазелиновое масло, полифторуглеводород, гексахлорбутадиен и др.), приготовленную пасту сдавливают между двумя пластинками из NaCl (или KBr) и помещают в спектрофотометр для измерения. Во второй канал прибора помещают слой иммерсионной жидкости между пластинками NaCl (или KBr); б) диски с KBr: навеску твердого вещества (1—3 мг) тщательно смешивают в вибрмельнице или в ступке со спектроскопически чистым бромидом калия (150—200 мг) и смесь прессуют при давлении 7,5—10 т/см<sup>2</sup> в течение 2—5 мин под вакуумом 2—3 мм рт. ст.

Спектр полученного образца снимают относительно воздуха или относительно диска, приготовленного из чистого KBr, помещенного во второй канал прибора.

2. Жидкие вещества: тонкую пленку жидкости зажимают между пластинками из NaCl (или KBr) или используют кюветы с малой толщиной слоя (0,01—0,05 мм). Во второй канал прибора помещают чистую пластинку NaCl (или KBr) удвоенной толщины или соответствующие пустые кюветы.

3. Растворы: раствор исследуемого образца (жидкого или твердого) в подходящем органическом растворителе (обычно используемые концентрации приблизительно 0,5—1,5%) вводят в кювету с толщиной слоя 0,1—1 мм. Спектр раствора снимают относительно чистого растворителя.

Спектр поглощения тесно связан со строением исследуемого вещества. Применение инфракрасных спектров для исследования строения веществ основано главным образом на использовании характеристических полос поглощения (полосы, связанные с колебаниями функциональных групп или связей в молекулах). Такими характеристическими полосами поглощения обладают группы —OH, —NH<sub>2</sub>, —CO<sub>2</sub>, =C=O, —C=N и др.

Молекулу вещества можно рассматривать как систему соответствующих атомов, которые находятся в строго определенном энергетическом состоянии. Из всего спектра, попадающего на мо-

лекулу излучения, она поглощает волны той длины, которые могут изменить ее энергетическое состояние.

Энергия, полученная молекулой, может быть потрачена на изменение электронного состояния атомов (при этом спектр будет относиться к ультрафиолетовой и видимой областям) или на изменение колебательной и вращательной энергии.

Таким образом, поглощение инфракрасного излучения веществом связано с колебаниями атомов в молекулах, а значит, с изменением длин химических связей, соединяющих атомы.

Все колебания связанных атомов подразделяют на два основных типа: валентные и деформационные. При валентных колебаниях изменяются в основном длины связей, а углы между ними остаются почти неизменными. В случае деформационных колебаний, наоборот, изменяются главным образом углы между связями.

Сопоставление ИК-спектров рекомендуется начинать с анализа характеристических полос, которые обычно хорошо проявляются на спектрах и лишь при их совпадении сопоставляют низкочастотную область.

Для низкочастотного интервала  $1350\text{—}400\text{ см}^{-1}$  характерен специфический набор полос, который называют областью «отпечатков пальцев».

Полное совпадение полос поглощения в ИК-спектрах свидетельствует об идентичности вещества. Полиморфные модификации одного и того же вещества могут давать различные спектры. В этом случае для проверки идентичности сопоставляют спектры их растворов или, растворив каждое вещество в одном и том же растворителе, упаривают растворитель досуха и сравнивают спектры твердых остатков.

Инфракрасный спектр веществ в значительной степени зависит от физического состояния исследуемого образца, от концентрации соединений.

Метод ИК – спектроскопии используется для определения содержания в пищевых продуктах витаминов: А, К, К<sub>1</sub>, К<sub>2</sub>, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, С, никотиновой кислоты, токоферолов, каротина и т.д.

**Задание 1** Ознакомиться с принципом работы ИК- спектрофотометра и его использованием для анализа пищевых продуктов, найти с использованием сети интернет и перечислить ГОСТы для исследования пищевых продуктов с помощью ИК- спектрофотометра, результаты записать в тетрадь

**Задание 2** Ответить на вопросы

1. В чем заключается сущность инфракрасной спектроскопии?
2. Для чего используется ИК Фурье-спектроскопия?
3. Назовите этапы и приемы идентификации соединений с использованием ИК Фурье-спектроскопии.
4. Принцип определения структуры молекулы.
5. Назовите сущность определения чистоты вещества, количественного анализа и производственного контроля с использованием ИК Фурье-спектроскопии.
6. Назовите принципы изучения кинетики реакций с использованием ИК Фурье-спектроскопии.
7. Назовите принципы исследования молекул с использованием ИК Фурье-спектроскопии.
8. Что такое ИК спектр поглощения?
9. Перечислите возможности метода ИК – спектроскопии.
10. Охарактеризуйте основной закон светопоглощения.
11. Опишите природу ИК спектра.

**Задание 3** Определить спектры молока различной жирности, используя справочник провести интерпретацию полученных пиков

**Лабораторная работа №4** Анализ аминокислот методом бумажной хроматографии

**Цель работы.** Приобрести практический навык анализа аминокислот мяса и мясопродуктов методами бумажной хроматографии.

**Задачи.** Подготовить хроматографические камеры и пробы для хроматографирования, проявить бумагу и идентифицировать аминокислоты.

**Объекты исследования.** Мясо, мясопродукты, кровь и ее фракции.

**Материалы, реактивы и оборудование.** Раствор  $\text{HClO}_4$  молярной концентрацией 0,5 моль/дм<sup>3</sup>; раствор  $\text{KOH}$  молярной концентрацией 5 моль/дм<sup>3</sup>; раствор нингидрина в ацетоне массовой долей 0,2%; стандартные растворы аминокислот молярной концентрацией 0,025 моль/дм<sup>3</sup>; этанол (на 50 см<sup>3</sup> этанола добавляют 0,02 см<sup>3</sup> насыщенного раствора  $\text{CuSO}_4$ ); раствор изопропанола массовой долей 10%; диазореактив; хроматографические камеры; бумага; пульверизатор; ножницы; фотоэлектроколориметр или спектрофотометр, бутанолуксусная смесь.

*Бутанолуксусная смесь:* смесь нормального бутанола, уксусной кислоты и воды в соотношении 4:1:5 (верхний слой) и 8:3:1 (нижний слой) тщательно встряхивают в делительной воронке и после расслаивания используют верхний слой.

*Диазореактив:* смешивают один объем раствора сульфаниловой кислоты (к 0,9 г кислоты прибавить 9 см<sup>3</sup> концентрированной  $\text{HCl}$  и 90 см<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$ ) и пять объемов свежеприготовленного раствора  $\text{NaNO}_2$  массовой долей 5 %, объем доводят водой до 50 см<sup>3</sup>.

**Методические указания.** Метод основан на распределении соединения между двумя жидкими фазами. Хроматографическая бумага обладает свойством поглощать воду из атмосферы и задерживать ее между своими целлюлозными волокнами. Эту воду можно рассматривать как один из растворителей (как неподвижную фазу). Когда по бумаге под действием капиллярных сил движется неводный растворитель (подвижная фаза), молекулы вещества, нанесенного на бумагу, распределяются между двумя фазами в соответствии с их коэффициентом распределения. Чем выше растворимость вещества в подвижной фазе, тем дальше оно продвигается по бумаге вместе с растворителем, и наоборот. Как правило, при бумажной хроматографии неподвижная фаза является водной, а в качестве подвижной используются органические растворители. Метод хроматографического разделения на бумаге уступает колоночным методам по ряду показателей, однако имеет в ряде случаев

определенное преимущество. Определение свободных аминокислот сводится к хроматографическому анализу безбелковых фильтратов на бумаге и определению аминокислот после обработки хроматограмм нингидрином.

В присутствии нингидрина отдельные аминокислоты проявляются в виде пятен, окрашенных в голубой, фиолетовый, желтый или другой цвет (в зависимости от химической структуры аминокислоты). Идентификацию аминокислот в смеси проводят путем сопоставления распределения известных аминокислот (стандартов).

### **Подготовка проб.**

1. Раствор суммарных аминокислот получают путем предварительного гидролиза. Для этого образец измельченного мяса массой 150—250 мг (белка должно быть не менее 25—50 мг) помещают в стеклянные ампулы или термостойкие пробирки с пришлифованными пробками и добавляют 25 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты молярной концентрацией 6 моль/дм<sup>3</sup>. Затем ампулы запаивают (или плотно закрывают пробирки пробками) и выдерживают в термостате при 114—115 °С в течение суток. При этом необходимо помнить, что при кислотном гидролизе триптофан разрушается полностью, серин и треонин - на 5-10%, цистин, цистеин, метионин - частично. Перед гидролизом образцы следует пометить. Приготовленные пробы устанавливают в термостат и оставляют под наблюдение и контроль лаборанта до следующего занятия.

На втором этапе по окончании гидролиза образец фильтруют через стеклянный фильтр, испаряют избыток соляной кислоты. Для этого 5 см<sup>3</sup> гидролизата помещают в роторный испаритель и упаривают досуха при температуре 40 °С. После этого в сухой остаток приливают 1,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и снова упаривают, повторяя операцию дважды. Освобожденный от соляной кислоты остаток растворяют в 10 см<sup>3</sup> буферного раствора (рН 2,2).

При определении аминокислот в жидких материалах, например в крови убойных животных и ее фракциях, к 1-2 см<sup>3</sup> образца добавляют равный объем раствора СН<sub>3</sub>СООН молярной концентрацией 0,04 моль/дм<sup>3</sup>, нагревают на водяной бане, доводят до кипения и кипятят 2-3 мин, охлаждают и осадок белка отделяют центрифугированием. Центрифугат сливают и упаривают досуха. Су-



хой остаток растворяют в 0,1—0,2 см<sup>3</sup> смеси муравьиной, уксусной кислот и воды (7:5:13), нерастворившийся осадок отбрасывают.

2. Свободные аминокислоты извлекают из образцов раствором спирта (75-80 %), нагретого до температуры 60-70 °С на водяной бане. Полученную смесь тщательно растирают в течение 15 мин и фильтруют через вставленный в воронку складчатый фильтр в чашку для выпаривания, которую используют в качестве приемника.

**Порядок проведения анализа.** Для анализа используют хроматографическую бумагу ватман или пластины Силуфол. Вырезают полосы длиной около 50 см и шириной 18-50 см (размер бумаги определяется размером исследуемых проб и величиной хроматографической камеры). В 5-10 см от конца полоски (зависит от высоты лодочки) простым карандашом проводят стартовую линию и отмечают точки нанесения раствора в 3 см от краев хроматограммы и в 2,5 см одна от другой. Для лучшего разделения образцов с большим набором аминокислот край бумаги, на который наносят гидролизат, вырезают, как это показано на рис. 1.

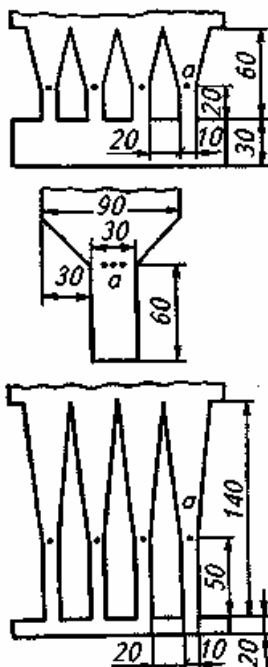


Рис. 1. Форма бумажной полосы, обеспечивающая лучшее разделение аминокислот (размеры даны в мм): а - точки нанесения образцов

Чашку с экстрактом помещают на водяную баню при температуре кипения и полностью выпаривают спирт. Полученный сухой остаток растворяют в растворе изопропанола массовой долей 10 % с таким расчетом, чтобы 1 см<sup>3</sup> раствора соответствовал 1,5—2 г ткани. Раствор наносят на хроматограмму в количестве, эквивалентном 30—50 мг ткани. На ту же хроматограмму рядом с исследуемым раствором наносят растворы известных аминокислот - «свидетелей». Стандартные растворы глутаминовой кислоты и аланина (или любых других аминокислот) наносят в отдельные точки (обычно 3-5 точек) в строго определенном количестве. По этим точкам строят стандартные калибровочные графики для количественного определения аминокислот в экстракте ткани.

Построение калибровочного графика. Для каждой аминокислоты строят свой калибровочный график. В ряд точек хроматограммы наносят стандартные растворы аминокислот в количестве 0,05; 0,1; 0,15 и 0,2 мкмоль каждой. В качестве стандартных растворов удобно пользоваться смесями аминокислот известного состава, хорошо разделяющимися в данных условиях и содержащими определенные количества аминокислот. Стандартные смеси готовят из стандартных растворов отдельных аминокислот молярной концентрацией 0,025 моль/дм<sup>3</sup>, приготовленных на растворе изопропилового спирта массовой долей 10 %, смешиванием по 1 см<sup>3</sup> (0,5 см<sup>3</sup>) раствора каждой аминокислоты. Стандартные растворы аминокислот наносят на ту же хроматограмму, что и опытные пробы. Если размеры хроматограммы не позволяют этого, полоски бумаги, используемые для хроматографии стандартных и опытных растворов, вырезают из одного и того же листа хроматографической бумаги. После проявления хроматограммы окрашенные участки обводят простым карандашом, вырезают, измельчают ножницами и помещают в пробирки. Окрашенный продукт элюируют 5 см<sup>3</sup> перегнанного метанола (предварительно к 500 см<sup>3</sup> метанола добавляют 0,2 см<sup>3</sup> насыщенного раствора нитрата меди) или 5 см<sup>3</sup> этилового спирта (в этом случае вместо нитрата меди добавляют сульфат меди). Пробы до колориметрирования необходимо периодически встряхивать и держать в темноте. Элюаты начинают колориметрировать, когда в раствор перейдет краска из наиболее ин-

тенсивно окрашенных пятен (обычно через 30—60 мин). Определение проводят на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром (500 нм) в кювете толщиной 0,5-1,0 см. Для контроля вырезают чистый участок хроматограммы на том же уровне, что и проявленные пятна, и обрабатывают его так же, как и опытные пробы.

**Калибровочный график** строят, откладывая на оси абсцисс концентрацию аминокислоты, а на оси ординат - величины оптической плотности.

Исследуемый раствор наносят микропипеткой с оттянутым в капилляр и изогнутым концом вместимостью 0,1 см<sup>3</sup>, полуавтоматической пипеткой или калиброванным капилляром. Диаметр наносимых пятен не должен превышать 0,3-0,5 см (объем каждой капли около 0,003-0,005 см<sup>3</sup>). При нанесении раствора в одну и ту же точку бумаги соответствующее место каждый раз подсушивают током теплого воздуха. Если расстояние между

точками нанесения превышает 2,5 см, раствор можно наносить в виде полосы. Для идентификации аминокислот в исследуемом гидролизате наряду с опытными пробами (или предварительно, до анализа опытных проб) на хроматограмму наносят растворы аминокислот - «свидетелей». После установления местоположения пятен отдельных аминокислот - «свидетелей» в дальнейшем последние можно наносить на хроматограмму в виде смесей. Смеси должны иметь известный состав и хорошо разделяться при данных условиях хроматографирования. Этим требованиям удовлетворяют смеси аминокислот следующего состава:

1. Цистеиновая кислота, гистидин, аспарагиновая кислота, глицин, глутаминовая кислота, аланин, триптофан, метионин, фенилаланин, лейцин.

2. Цистеиновая кислота, лизин, аргинин, серин, треонин, аланин, пролин, тирозин, валин, изолейцин. Смеси «свидетелей» помещают в крайние точки стартовой линии хроматограмм по 0,05-0,1 мкмоль каждой аминокислоты в пятно. В качестве растворителей для хроматографии аминокислот обычно используют последовательно две системы: н-бутанол - уксусная кислота - вода в соотношении 4:1:5 (верхний слой) и н-бутанол - уксусная кислота - вода в соотношении 8:3:1. Для лучшего разделения сложной смеси аминокислот,

имеющих близкие величины  $R_f$ , каждый растворитель пропускают по хроматограмме несколько раз (обычно дважды). В этом случае фронт каждого последующего растворителя должен продвигаться несколько дальше, чем предыдущего.

*Реакция Эрлиха.* Производные индола и оксииндола (триптофан, 5-окситриптофан, 5-окситриптамин, 5-оксииндолуксусная кислота) с реактивом Эрлиха дают лиловую окраску. Хроматограмму погружают в раствор, содержащий диметиламинобензальдегид массовой долей 10 % в концентрированной HCl с четырьмя объемами ацетона. Окраска появляется через 20 мин при комнатной температуре.

*Реакция Паули.* Соединения, содержащие имидазольное кольцо (гистидин, метилгистидин, гистамин, карнозин), а также тирозин дают красно-оранжевое окрашивание после обработки diazo-реактивом. Хроматограмму из пульверизатора слегка опрыскивают сначала diazo-реактивом, а затем раствором  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  массовой долей 10 %. Окраска устойчивая. Перечисленные реакции можно применять после проявления хроматограммы нингидрином. Для обнаружения материала, имеющего пептидные связи, но не дающего нингидриновую реакцию (например, циклические пептиды), применяют реакцию Райдона и Смита. С этой целью хорошо высушенную хроматограмму смачивают в смеси спирта и эфира (1 : 1). Избыток растворителя удаляют фильтровальной бумагой. Влажную хроматограмму помещают в замкнутое пространство над свежеприготовленной смесью раствора HCl массовой долей 10 % и раствором  $\text{KMnO}_4$  массовой долей 1% (в соотношении 1 : 1) на 5-15 мин. Затем хроматограмму погружают в смесь раствора  $\text{KI}$  молярной концентрацией 0,05 моль/дм<sup>3</sup> и насыщенного раствора о-толуидина (или бензидина) в уксусной кислоте массовой долей 2 % (1 : 1). На месте пептидов и белка появляются синие пятна. Через 1-3 мин хроматограмму промывают раствором  $\text{CH}_3\text{COOH}$  массовой долей 2 % и высушивают на воздухе. Окраска устойчивая. Для пептидов эта реакция более чувствительна, чем нингидриновая. Реакцию дают также пуриновые и пиримидиновые основания, нуклеозиды, нуклеотиды и др. Количественное содержание аминокислот рассчитывают по калибровочным графикам, построенным после хроматографирования стандартных растворов аминокислот, взятых в различных количествах.

Содержание аминокислот в мышцах рассчитывают в микромолях, миллиграмм-процентах на массу ткани или процентах к небелковому или общему азоту.

Полученные экспериментальные и расчетные данные оформляют в виде таблицы. Самостоятельно анализируют их и формулируют выводы по работе.

### **Контрольные вопросы:**

1. Аминокислоты: определение, функции, нингидриновая реакция.
2. На чем основан метод определения аминокислот.
3. Порядок проведения работы.
4. Коэффициент распределения.

**Лабораторная работа №5** Определение тяжелых металлов методом инверсионной вольтамперметрии. Определение витаминов методом инверсионной вольтамперметрии. Определение массовой концентрации ионов меди, свинца, кадмия и цинка в питьевой и минеральных водах

**Цель работы.** Определить массовую долю тяжёлых металлов в водопроводной и предложенных образцах минеральных вод методом инверсионной вольтамперметрии на вольтамперметрическом анализаторе. Сделать заключение о соответствии ГОСТ предложенных образцов и водопроводной воды.

### **Общие теоретические сведения.**

Вода является важнейшим компонентом в производстве пищевых продуктов. Она служит средой и активным участником биохимических, микробиологических и коллоидных процессов в технологии пищевых продуктов. На технологические цели должна использоваться вода, отвечающая требованиям стандарта на питьевую воду, а также дополнительным требованиям, учитывающим специфику конкретного производства.

По природному происхождению различают воды атмосферные (осадочные), подземные (ключевые, колодезные) и поверхностные (озерные, речные, морские). Природная вода представляет

собой сильно разбавленный раствор солей, молекулы которых диссоциированы на ионы. В зависимости от содержания солей природные воды делят на минеральные (от 0,1 до 5%), рассолы (более 5%) и пресные воды (0,05 – 1,6%).

Состав минеральных солей воды определяется составом почвы, по которой она протекает, и растворимостью содержащихся в почве солей. В пищевой промышленности на технологические цели, для питания котлов, мойки оборудования используется вода из городского водопровода или артезианских скважин. Вода, применяемая в пищевом производстве, должна обладать качествами питьевой, быть прозрачной, бесцветной, без запаха и привкуса, не содержать вредных примесей и болезнетворных микроорганизмов.

Согласно стандарту в питьевой воде допускается незначительное содержание хлоридов, сульфатов, меди, железа, марганца и т.д. Питьевую воду, отвечающую требованиям стандарта, получают путём очистки природной воды из водоёмов фильтрацией через пористые среды: песок, гравий и т. д. Перед фильтрацией воду подвергают отстаиванию в специальных отстойниках.

Современные методы очистки воды достаточно эффективны, но связаны с большими затратами и не всегда гарантируют чистоту и экологическую безопасность питьевой воды. Неуклонно возрастающее потребление воды промышленными предприятиями и антропогенное загрязнение природных водоёмов и источников промышленными стоками приводит к нарушению существующего в них экологического равновесия, что может представлять опасность для человека, т. к. в питьевой воде могут содержаться токсичные вещества, в том числе и тяжёлые металлы больше предельно допустимых концентраций.

К питьевой, а также минеральным водам предъявляются высокие требования. Следует учитывать, что качество питьевой воды, получаемой населением, зависит от многих факторов: особенностей гидрогеологических условий, качества воды водных объектов, эффективности используемых методов очистки и обеззараживания питьевой воды на водопроводах. При этом качество питьевой (водопроводной) воды может изменяться и во времени.

Патогенетическая роль водного фактора в развитии неинфекционных заболеваний обусловлена такими показателями каче-

ственного состава питьевой воды, как жёсткость, мутность, цветность, высокое содержание нитратов, хлоридов, сульфатов, различных микро- и макроэлементов, а также наличия тяжёлых металлов.

**Оборудование и материалы:** вольтамперометрический анализатор водяная баня, аппарат для встряхивания. Химическая посуда: цилиндр мерный 50, 100 см<sup>3</sup>; колбы 50, 100, 150 см<sup>3</sup>; колба с пробкой и вставленной в нее стеклянной трубкой. Сырьё: питьевая вода из разных источников, различные образцы минеральной воды. Химические реактивы: раствор хлористого калия, подкисленный соляной кислотой; раствор дитизона; раствор соляной кислоты  $5 \cdot 10^{-2}$  М; и другие реактивы для калибрования прибора в соответствии с прилагаемой к нему инструкцией.

### Ход работы.

#### Задание 1

При подготовке к проведению измерений должны быть проведены следующие работы: отбор проб питьевой и минеральной воды и приготовление анализируемого раствора пробы в соответствии с действующей НТД.

Подготовка анализируемого раствора пробы (раствор №1) питьевой и минеральной негазированной воды.

В мерную колбу ёмкостью 100 см<sup>3</sup> вносят 80 см<sup>3</sup> пробы воды и 20 см<sup>3</sup> концентрированного фонового раствора (раствор хлористого калия, подкисленного соляной кислотой).

Выполнение измерений массовой концентрации ионов кадмия, свинца, меди проводят без специальной пробоподготовки. В электрохимическую ячейку вносят 25 см<sup>3</sup> раствора №1. Выполнение измерений массовой концентрации ионов цинка проводят после предварительного удаления из раствора №1 ионов меди.

Подготовка анализируемого раствора минеральной газированной воды.

Пробы минеральной газированной воды освобождают от углекислого газа. Для этого 100-150 см<sup>3</sup> пробы воды наливают в коническую колбу емкостью 50 см<sup>3</sup>, доводят до температуры  $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$  на водяной бане, закрывают пробкой с одним отверстием,

через которое пропущена трубка для вывода газа, закрепляют в аппарате для встряхивания и встряхивают в течение 20-30 мин., затем оставляют  $80 \text{ см}^3$  и приливают  $20 \text{ см}^3$  концентрированного фонового раствора.

## **Задание 2**

Методика проведения анализа.

Метод основан на проведении инверсионного вольтамперометрического анализа двухвалентных ионов цинка, кадмия, свинца, меди по 3-х электродной схеме измерения на стеклоуглеродном рабочем электроде в предварительно подготовленных пробах.

Анализ основан на электрохимическом накоплении определяемых элементов на поверхности рабочего электрода в виде амальгамы при заданном потенциале поляризации с последующей количественной регистрацией величин их анодных токов электрорасстворения (окисления), имеющих вид пиков на вольтамперограмме. Высота (площадь) пика пропорциональна концентрации иона металла в растворе. Потенциал пика определяется природой растворяемого металла. При наличии в исследуемом растворе несколько электрохимически активных ионов с достаточно отличающимися стандартными потенциалами вольтамперограмма представляет собой совокупность разрешенных пиков (рис.1), которую можно использовать для качественного и количественного анализа.

Присутствие в анализируемой пробе ионов меди (II) даже в незначительном количестве мешает определению цинка, поскольку медь эффективно взаимодействует с цинком (уже при соотношении 1 : 0,5) на поверхности электрода, образуя набор интерметаллических соединений, для которых стандартные потенциалы оказываются значительно занижены по сравнению со случаем отсутствия ионов меди в растворе.

Поэтому перед определением ионов цинка (II) из раствора анализируемой пробы предварительно удаляют ионы меди (II) путем их сорбции на концентрирующем патроне «ДИАПАК-ИДК». Анализ проводят по методу добавки стандартного раствора. Значения потенциалов пиков окисления металлов в стандартных растворах относительно хлорсеребряного электрода сравнения в фоновом растворе (0,5 М KCl):

Cu - 0,1В,



Pb - 0,4В,  
Cd - 0,7В,  
Zn - 1,0В.

#### 4.3.1 Выполнение измерений.

При выполнении измерений должны быть выполнены следующие работы: регистрация и обработка вольтамперограммы контрольной пробы, анализируемого раствора пробы, анализируемого раствора пробы с добавкой, стандартных растворов ионов определяемых металлов в соответствии с методикой измерений

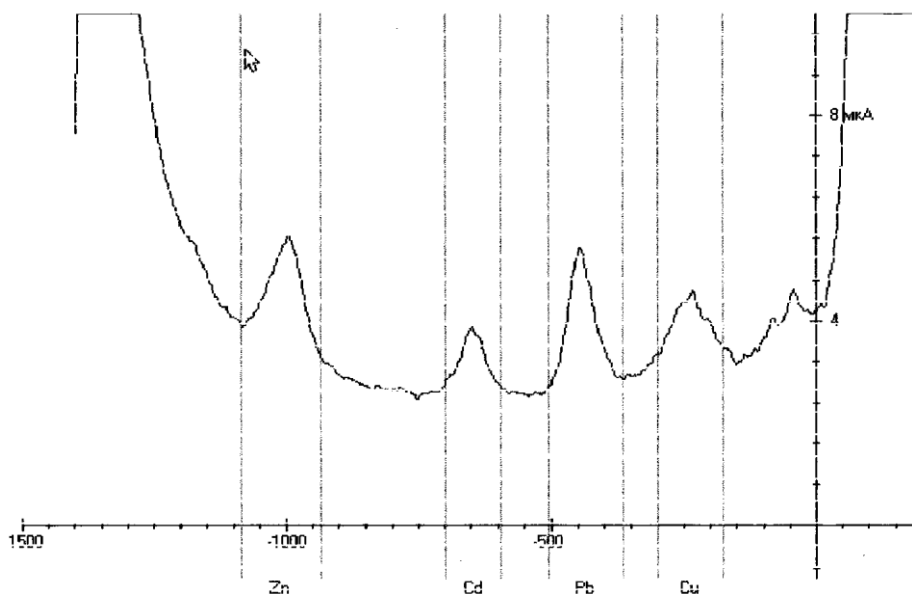


Рис. 2 Вольтамперограмма питьевой воды

### Задание 3

Обработка результатов измерений.

Концентрация ионов металла в анализируемом растворе пробы ( $C_M$ ) (раствор в электрохимической ячейке) рассчитывают по формуле:

$$C_M = (S_x - S_\phi)C_D V_D / [(S - S_x)V + S V_D] \text{ мкг/дм}^3, \quad (1),$$

где  $C_M$ - концентрация ионов металла в анализируемом растворе пробы (в электрохимической ячейке), мкг/дм<sup>3</sup>;  $S_x$ - площадь анодного пика металла в анализируемом растворе пробы;  $S_\phi$ - площадь анодного пика металла в растворе контрольной пробы;  $S$ - площадь анодного пика металла в анализируемом растворе пробы с добавкой стандартного раствора иона металла;  $V$ - объем раствора в ячейке до внесения добавки, см<sup>3</sup> ( $V = 25 \text{ см}^3$ );  $V_D$ - объем добавки

стандартного раствора металла, см<sup>3</sup>; С<sub>д</sub>- концентрация добавленного стандартного раствора металла, мкг/дм<sup>3</sup>.

Вычисление площадей пиков проводится по программному обеспечению анализатора.

Расчет массовой концентрации ионов металла в пробе воды (С) проводят по формуле:

$$C = C_M * N * n, \text{ мкг/дм}^3, \quad (2),$$

где  $N = V/V_{\text{пр}}$ ;

$C_M$ - концентрация ионов металла в анализируемом растворе пробы, рассчитанная по формуле (1), мкг/дм<sup>3</sup>;

$V_{\text{пр}}$ - объем пробы в анализируемом растворе пробы, см<sup>3</sup>;

$V$ - объем анализируемого раствора пробы, см<sup>3</sup>;

$n$ - величина предварительного разбавления пробы с большой концентрацией определяемого компонента (без предварительного разбавления  $n = 1$ )

Оформление результатов измерений.

За результат анализа  $C$  принимают среднее арифметическое результатов параллельных определений  $C_1$  и  $C_2$ .

Результаты измерений оформляют в виде таблицы:

Таблица 1

Результаты обсчета пиков полярограммы

№ пробы	Результат определения	Расхождение между параллельными определениями		Предельнодопустимые концентрации исследуемых элементов по ГОСТ
		фактическое	допустимое	

Заключение. Отчет о работе. Название работы. Записать методику подготовки анализируемого раствора. Описать принцип определения ионов металлов на рабочем электроде. Описать методику проведения анализа. Результаты анализов оформить в виде таблицы.

### Контрольные вопросы:

- 1 Виды природной воды.
- 2 Источники загрязнения питьевой воды токсичными элементами.
- 3 Требования к качеству минеральной воды.
- 4 Источники загрязнения минеральной воды токсичными элементами.
- 5 На чём основан метод определения токсичных элементов на приборе «СТА-1», принцип определения?

**Лабораторная работа №6** Принципы ВЭЖХ, масспектрометрии. Использование метода для контроля качества и безопасности продуктов питания. Выполняемые гост для исследования качества и безопасности продуктов питания.

**Цель работы:** Изучить принципы ВЭЖХ, масспектрометрии. Использование метода для контроля качества и безопасности продуктов питания. Выполняемые гост для исследования качества и безопасности продуктов питания.

### Сущность хроматографии

*Хроматография* — метод разделения, обнаружения и определения веществ, основанный на различии их поведения в системе из двух несмешивающихся фаз — подвижной и неподвижной. Хроматография в настоящее время является наиболее широко используемым методом исследования объектов окружающей среды. В том числе, хроматографические методы анализа с успехом используют и при анализе пищевых продуктов.

Напомним, что сигналы от разных веществ бывают так сходны, что не всегда их можно отличить с помощью современных приборов. Поэтому прежде чем измерять аналитический сигнал, требуется провести одну или несколько операций разделения. Существует два приема разделения смесей веществ, находящихся в одной фазе. Один из них — маскирование заключается в добавлении к системе реагентов, связывающих мешающие компоненты, другой — в превращении системы из однофазной в многофазную (обычно двухфазную). Вторая фаза может образоваться из компо-

нентов смеси (например, методы осаждения, дистилляции), а может быть привнесена в систему (например, методы экстракции и хроматографии).

Поскольку хроматографические процессы зависят от природы и концентрации веществ, хроматография является важным методом идентификации и определения веществ.

Метод хроматографии создан в 1903 г. русским ученым-ботаником М.С. Цветом. Таким способом ему удалось разделить хлорофилл на ряд составляющих окрашенных веществ. Однако бурное развитие хроматографии началось после 1941 г., когда А. Мартий и Р. Синдж для разделения веществ предложили распределение между несмешивающимися жидкостями. С тех пор создано много методов хроматографии, разработана теория процесса.

Хроматографию наиболее широко используют при разделении сложных смесей веществ (вещества растительного происхождения, лекарственные препараты, кровь, нефть и т. д.). В ряде случаев хроматография является лучшим или единственным методом анализа.

Хроматографический процесс заключается в перемещении подвижной фазы, содержащей компоненты разделяемой смеси, относительно неподвижной. *Подвижной фазой* может быть жидкость (раствор анализируемой смеси веществ) или газ (смесь газов или паров веществ), *неподвижной фазой* — твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом веществе, которое называют *носителем*. При движении подвижной фазы вдоль неподвижной компоненты смеси сорбируются на неподвижной фазе. Каждый компонент сорбируется в соответствии со сродством к материалу неподвижной фазы (вследствие адсорбции или других механизмов).

Поэтому неподвижную фазу называют также сорбентом. Захваченные сорбентом молекулы могут перейти в подвижную фазу и продвигаться вместе с ней дальше, затем снова сорбироваться. Таким образом происходит распределение молекул каждого компонента между двумя фазами. Чем сильнее сродство компонента к неподвижной фазе, тем сильнее он сорбируется и дольше задерживается на сорбенте, тем медленнее его продвижение вместе с подвижной фазой.

Поскольку компоненты смеси обладают разным сродством к сорбенту, при перемещении смеси вдоль сорбента произойдет разделение: одни компоненты задержатся в начале пути, другие продвигнутся дальше и т. д. Итак, в хроматографическом процессе сочетаются термодинамический (установление равновесия между фазами) и кинетический (движение компонентов с разной скоростью) аспекты.

По способу хроматографирования различают колоночную и плоскостную хроматографию. В колоночном варианте разделение проводят в колонке, в плоскостном варианте — на бумаге или в тонком слое сорбента. Наиболее широко распространена колоночная хроматография.

Существует несколько приемов разделения веществ на колонках. В одном из них пробу в виде раствора или газа пропускают через колонку, при этом компоненты смеси (например, А, В, С и D) распределяются вдоль сорбента, образуя зоны. Сорбент с зонами называют *внутренней хроматограммой*. Если вещества окрашены, то внутренняя хроматограмма позволяет судить о качественном составе смеси. (Первая хроматограмма, полученная Цветом при разделении хлорофилла на пигменты, являлась внутренней.)

Если компоненты смеси не окрашены, или необходимо количественно определить содержание компонента в каждой зоне, то прибегают к другим способам хроматографирования. Один из них — *фронтальная хроматография*, которая заключается в том, что сначала колонку промывают растворителем, а затем непрерывно пропускают раствор смеси веществ (например, А, В и С). На выходе из колонки собирают раствор, называемый *элюатом*. Первым выйдет наименее сорбируемый компонент, затем смесь этого компонента и вещества с несколько большей сорбируемостью и т. д.

Таким способом удастся выделить в чистом виде лишь один компонент смеси — наименее сорбируемый. Метод фронтальной хроматографии имеет ограниченное применение и используется для концентрирования примесей по числу ступенек на хроматограмме, а также для выделения только одного компонента смеси.

Другой вариант — *элюентная хроматография*. При таком способе хроматографирования в колонку вводят небольшую порцию смеси и промывают колонку растворителем, называемым

*элюентом*. По мере прохождения элюента через колонку вещества перемещаются вместе с ним с разной скоростью, зависящей от сродства к сорбенту. В результате на выходе из колонки сначала появляется наименее сорбируемое вещество, затем другие вещества в порядке возрастания сорбируемости. Фиксируя аналитический сигнал, на выходе получают элюентную хроматограмму, состоящую из ряда пиков, каждый из которых соответствует отдельным компонентам смеси.

По оси абсцисс откладывают время, а по оси ординат концентрацию веществ либо величину, связанную с ней (например, электропроводимость или оптическую плотность).

Полнота и скорость разделения веществ зависят от природы подвижной и неподвижной фаз, в частности от их агрегатного состояния. Подвижная фаза может быть газом или жидкостью, в зависимости от этого различают методы *газовой* и *жидкостной хроматографии*. Неподвижной фазой могут служить твердые вещества и жидкости, соответственно различают методы газотвердофазные и газожидкостные, а также жидкость-твердофазные и жидкость-жидкостные.

Разделение веществ протекает по разным механизмам в зависимости от природы сорбента и веществ анализируемой смеси. По механизму взаимодействия вещества и сорбента различают *сорбционные методы*, основанные на законах распределения, и *гель-фильтрационные* (проникающая хроматография), основанные на различии в размерах молекул разделяемых веществ. Наиболее многочисленная группа сорбционных методов включает: адсорбционные, распределительные, ионно-обменные и осадочные.

### **Хроматографические характеристики**

Из всех видов хроматографии наибольшее значение имеет элюентная колоночная хроматография. Рассмотрим основные характеристики метода.

*Коэффициент емкости*. Эта характеристика показывает, насколько сильно вещество А удерживается сорбентом:

$$k = \frac{n_{\text{подв}}}{n_{\text{неподв}}}$$

где  $k$  — коэффициент емкости;  $n_{\text{подв}}$  и  $n_{\text{неподв}}$  - число молей вещества А соответственно в подвижной и неподвижной фазах.

*Коэффициент распределения.* Равновесие, устанавливающееся при распределении вещества А между подвижной и неподвижной фазами, описывают коэффициентом распределения  $D$ :

$$D = \frac{C_{\text{подв}}}{C_{\text{неподв}}}$$

где  $C_{\text{неподв}}$  и  $C_{\text{подв}}$  - концентрации вещества А в неподвижной и подвижной фазах.

Для каждого вида хроматографии коэффициент распределения имеет свое название: в распределительной и ионообменной — коэффициент распределения, в адсорбционной — коэффициент адсорбции, в гель-фильтрационной - коэффициент проницаемости.

*Коэффициент разделения.* Пусть разделяются два вещества А и В, степень разделения выражается коэффициентом разделения  $\alpha$ , равным

$$\alpha = \frac{k_B}{k_A} \text{ или } \alpha = \frac{D_B}{D_A}$$

где  $k_A$  и  $k_B$  — коэффициенты емкости;  $D_A$  и  $D_B$  — коэффициенты распределения веществ А и В.

*Характеристики пиков.* Каждый пик на хроматограмме характеризуют *временем удерживания, шириной и формой*. Время удерживания  $t_R$  отсчитывают от момента ввода смеси в колонку до появления на выходе из колонки максимума пика (рис. 1). С параметром  $t_R$  связан параметр, называемый *индексом удерживания*  $R$ :

$$R = \frac{t_m}{t_R}$$

где  $t_m$  - время прохождения (мертвое время) растворителя или не удерживаемого вещества через ту же колонку. Для каждого вещества характерно свое значение  $R$ , поэтому время и индекс удерживания могут служить для идентификации веществ.

Для характеристики пика используют также параметр, называемый удерживаемым объемом  $V$ :

$$V = t_R F,$$

где  $F$  - скорость, с которой продвигается определенный объем потока.

Обычно на практике используют исправленное время удерживания  $t'_R$  и исправленный объем удерживания  $V'_R$ . Эти параметры учитывают время прохождения через колонку неударживаемого компонента, в частности растворителя:

$$t'_R = t_R - t_m, \quad V'_R = V_R - V_m.$$

Каждый пик характеризуется своей шириной  $w$ , равной основанию треугольника, образованного касательными к левой и правой ветвям пика

### Хроматографический анализ

В процессе хроматографирования происходит разделение веществ. Далее разделенные вещества можно идентифицировать и количественно

определить. При этом используют два приема: 1) собирают фракции после хроматографирования и анализируют их каким-либо методом количественного анализа; 2) вводят непрерывное автоматическое детектирование, используя подходящие детекторы для измерения аналитического сигнала от выходящих из колонки компонентов и самописцы для регистрации этого сигнала.

В результате получают хроматограмму, расшифровка которой и составляет основу хроматографического анализа. Положение пика на хроматограмме используют для целей качественного анализа, высоту или площадь пика - для целей количественного анализа.

*Качественный анализ.* Важнейшие характеристики хроматографии - время удерживания  $t_R$  и связанный с ней удерживаемый объем отражают природу веществ, их способность к сорбции на материале неподвижной фазы и, следовательно, при постоянстве условий хроматографирования являются средством идентификации ве-



ществ. Для данной колонки с определенными скоростью потока и температурой время удерживания каждого соединения постоянно.

Для идентификации вещества по хроматограмме обычно используют стандартные образцы или чистые вещества. Сравнивают время удерживания неизвестного компонента  $t_x$  с временем удерживания  $t_{СТ}$  известных веществ. Более надежна идентификация по относительному времени удерживания:

$$t_{отн} = \frac{t_x}{t_{СТ}}$$

При этом в колонку сначала вводят известное вещество (например, пентан) и измеряют его  $t_R$ , а затем  $t_x$  относительно  $t_R$  этого стандарта.

Хроматограммы позволяют оценить степень чистоты многих соединений, в частности растворителей: появление дополнительных пиков (помимо основного) указывает на загрязнение.

*Количественный анализ.* В основе этого анализа лежит зависимость высоты пика  $h$  и его площади  $s$  от количества вещества. Для узких пиков предпочтительнее измерение  $h$ , для широких размытых -  $s$ . Площадь пика измеряют разными способами, например графически

В современных хроматографах имеется специальное устройство (электрический или электронный интегратор), измеряющее площадь пиков.

Для определения концентрации обычно используют метод градуировочного графика: строят графики зависимости  $h(s)$  от  $s$  для каждого компонента смеси.

### **Виды хроматографии**

Остановимся на особенностях отдельных наиболее широко применяемых видов хроматографии: жидкостной (ионообменная, распределительная, высокоэффективная жидкостная) и газовой.

## **ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ**

Ионы некоторых веществ способны к обмену с ионами того же заряда и знака, находящимися в растворе электролитов. Ионообменными свойствами обладают многие природные объекты. Вещества, способные к обмену ионами, называют ионообменниками, или *ионитами*; в зависимости от знака заряда обмениваемых ионов различают *катиониты* и *аниониты*. В качестве ионитов в хроматографии обычно используют синтетические полимерные вещества, называемые ионообменными смолами. Они состоят из матрицы (R) и активных групп, содержащих подвижные ионы. Катиониты содержат кислотные, например сульфо- или карбоксил-группы ( $\text{RSO}_3\text{H}$ ,  $\text{RCOOH}$ ), аниониты - основные, например аминогруппы ( $\text{RNH}_2$ ,  $\text{RNH}$ ).

При введении в смолу группы, селективно обмениваемой с ионами раствора, получают модифицированные иониты. Например, смола, содержащая глиоксимные группы  $=\text{N-OH}$ , селективна по отношению к ионам  $\text{Ni}^{2+}$ .

Каждый ионит характеризуется *обменной емкостью*, т. е. количеством эквивалентов ионов, обмениваемых 1 г ионита. Ионообменное равновесие описывают так называемой константой обмена. Например, для равновесия  $\text{RKt} + \text{M}^+ = \text{RM} + \text{Kt}^+$  При замене активностей концентрациями получают концентрационную константу, называемую *коэффициентом селективности*. Если концентрация одного из ионов в фазе ионита и в растворе велика по сравнению с другим, используют *коэффициент распределения* - отношение концентрации вещества в ионите и в растворе:

### РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Подвижной фазой в распределительной хроматографии служит органический растворитель (или смесь растворителей), не смешивающийся с подвижной фазой. Неподвижной фазой обычно служит вода, адсорбированная на твердом носителе. В качестве носителей чаще используют силикагель (кремневая кислота), целлюлозу, крахмал и другие вещества, хорошо удерживающие молекулы воды на своей поверхности.

Можно воду включить в подвижную фазу, а тонкий слой органического растворителя нанести на гидрофобный носитель

(например, фторопласт). Этот вариант называют экстракционной хроматографией или хроматографией с обращенной фазой.

Для распределительной хроматографии справедливы все общие положения, изложенные в предыдущих разделах. Равновесие описывают константой распределения и коэффициентом распределения. Высота  $H$ , эквивалентная теоретической тарелке, достигает  $2 \cdot 10^{-3}$  см, что обеспечивает высокую эффективность колонок. Так же как и в ионообменной хроматографии, хорошие результаты дает градиентное элюирование.

Один из вариантов распределительной хроматографии - *бумажная хроматография*, в которой подвижной фазой служит органический растворитель или смесь растворителей, неподвижной - вода, адсорбированная на носителе, роль которого выполняет бумага. Для более эффективного разделения используют специальную фильтровальную бумагу. Каплю анализируемого раствора наносят капилляром на конец полоски бумаги и высушивают, затем бумагу опускают в растворитель так, чтобы он не касался нанесенного пятна. Возможны разные варианты получения бумажных хроматограмм.

Полоску бумаги можно повесить так, чтобы поток растворителя двигался сверху вниз (нисходящая хроматограмма) и снизу вверх (восходящая хроматограмма). Можно нанести пятно в центр бумажного фильтра - при этом получают радиальную хроматограмму. Под действием капиллярных сил растворитель передвигается по бумаге, при этом компоненты смеси распределяются между подвижной и неподвижной фазами согласно своим коэффициентам распределения, образуя зоны, содержащие разделенные компоненты.

## ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Хроматографирование на колонке - длительный процесс, поскольку продвижение через пористый носитель под действием силы тяжести очень мало. Для ускорения процесса хроматографирование проводят под давлением. Такой метод называют *высокоэффективной жидкостной хроматографией* (ВЖХ), он позволил значительно сократить время анализа.

## ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Подвижной фазой в газовой хроматографии является инертный газ (азот, гелий, водород). Пробу подают в виде паров, неподвижной фазой служит либо твердое вещество (газотвердофазная и газоадсорбционная хроматографии), либо жидкость, нанесенная на твердый носитель (газожидкостная и газораспределительная хроматографии). В аналитической химии чаще используют газораспределительную хроматографию.

В качестве носителей используют кизельгур (диатомит) — разновидность гидратированного силикагеля. Часто его обрабатывают реагентами, которые переводят группы  $\text{Si—OH}$  в группы  $\text{Si—O—Si(CH}_3)_3$ , что повышает инертность носителя по отношению к растворителям (способ силанизации). Таковыми являются, например, носители «хромосорб W» и «газохром Q».

Носитель помещают в спиральные и капиллярные колонки. Спиральные колонки имеют диаметр 2 - 6 мм и длину до 20 м (поэтому их сгибают в спирали). Капиллярные колонки имеют диаметр 0,2 - 0,5 мм и длину до 10 см; число теоретических тарелок в колонках достигает 500000.

На кизельгур наносят неподвижную фазу, которую подбирают эмпирически для каждого разделения. Можно выделить три типа неподвижных фаз: неполярные (например, сквалан), умеренно полярные (например, динонилфталан), полярные (например, диметилформамид). Полярность неподвижной фазы должна быть близка к полярности анализируемой пробы. Например, неполярные пентан, бутан и пропан хорошо разделяются на сквалане. Иногда в качестве подвижной фазы используют органическое соединение, ковалентно связанное с носителем (химически связанные фазы).

Такие фазы менее чувствительны к повышению температуры. Пробу (жидкую пробу) вводят шприцем, а газы с помощью крана. Объем пробы мал: 0,01-50 мкл. Жидкие и твердые пробы перед введением в колонку должны быть переведены в парообразное состояние. Затем продувают инертный газ-носитель (часто под давлением, метод высокоэффективной газовой хроматографии). Выходящие из колонки компоненты можно детектировать различными способами и получать хроматограммы в виде пиков. Для проведения газовой хроматографии используют газовые хроматографы

различных моделей. Особое внимание следует обращать на термостатирование и проводить хроматографирование при температуре, близкой к средней температуре кипения пробы.

**Задание 1** Изучить принцип и виды хроматографии, историю возникновения хроматографии, результаты записать в тетрадь

**Задание 2** Найти ГОСТы с использованием ресурсов сети интернет выполняемые с применением хроматографии и масспектрометрического детектора для исследования продуктов питания, результаты записать в тетрадь.

**Задание 3** Ответить на вопросы, результаты записать в тетрадь

1. Пользуясь кинетической теорией, объясните асимметричность пиков при нелинейности изотермы адсорбции.
2. Почему в количественном хроматографическом анализе предпочитают измерять высоту узких пиков и площадь широких пиков?
3. Почему асимметричные пики мало пригодны для количественных измерений?
4. В чем преимущества элюентной хроматографии перед фронтальной?
5. Почему колонки в газовых хроматограммах имеют вид спирали?
6. Напишите ионообменные уравнения для процессов, имеющих место при очистке воды.
7. Почему избегают наносить большое количество пробы при хроматографировании?
8. Почему пятно пробы на стартовой линии в бумажной хроматографии должно иметь минимальные размеры?
9. Почему скорость подвижной фазы в жидкостной хроматографии должна быть меньше, чем в газожидкостной?
10. Назовите приемы повышения избирательности хроматографических методов анализа.

### **Список рекомендуемой литературы**

1. Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа. Методическое пособие для специального курса. М.: МГУ, 2007. – 109 с.

2. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов. В 4 кн. Книга 3 - Хроматографические методы анализа. М.: Колосс, 2005. - 232 с.
3. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. М.: Высш. шк. 1991. - 296 с.

**Лабораторная работа №7** Исследование продуктов питания с использованием сахариметра, поляриметра.

**Цель работы.** Изучить принцип работы сахариметра, поляриметра. Определить концентрацию сахара в растворе с помощью сахариметра.

### **Краткие теоретические сведения**

При прохождении плоско поляризованного света через некоторые кристаллы и растворы органических соединений, таких как камфора, кокаин, никотин, сахаристые вещества, плоскость колебания вектора поворачивается. Такое явление называется вращением плоскости поляризации.

Вещества, обладающие способностью вращать плоскость поляризации, называются оптически активными.

На опыте установлено, что существует два направления вращения плоскости поляризации. Если поворот плоскости колебаний вектора для наблюдателя, смотрящего навстречу проходящему лучу, совершается по часовой стрелке, то вещество называется правовращающим, против часовой стрелки - левовращающим. Почти все оптически активные вещества существуют в двух модификациях - правовращающие и левовращающие.

Зависимость угла поворота плоскости колебаний плоскополяризованного света от концентрации оптически активных растворов позволяет быстро и надежно определять их концентрацию. Приборы, применяемые для этой цели, называются поляриметрами или сахариметрами.

Метод определения концентрации оптически активного раствора заключается в следующем: между скрещенными поляризатором и анализатором (установленными так, что колебания не пройдут) помещают трубку с раствором активного вещества. В резуль-

тате поворота плоскости поляризации поле зрения просветляется. Для определения угла поворота надо повернуть анализатор до получения первоначального состояния поля зрения. Если известны постоянная вращения и угол поворота, то концентрацию легко рассчитать по формуле.

Для более точного отсчета угла поворота в поляриметрах используется полутеневое устройство, действие которого основано на выравнивании освещенности двух или трех участков поля зрения, что дает возможность довести точность измерений угла.

### Описание установки

В настоящей работе используется поляриметр типа СМ. Принципиальная схема поляриметра представлена на рис.7. Поляризационное устройство состоит из поляризатора (1), осветительной линзы (2) и кварцевой пластинки (3). Кварцевая пластинка расположена симметрично относительно поляризатора и крепится вместе с ним жестко в оправе. Анализатор (4) изготовлен из поляроидной пленки, заклеенной между двумя защитными стеклами, и поворачивается с помощью фрикциона (5) вместе с нониусами и зрительной трубой.

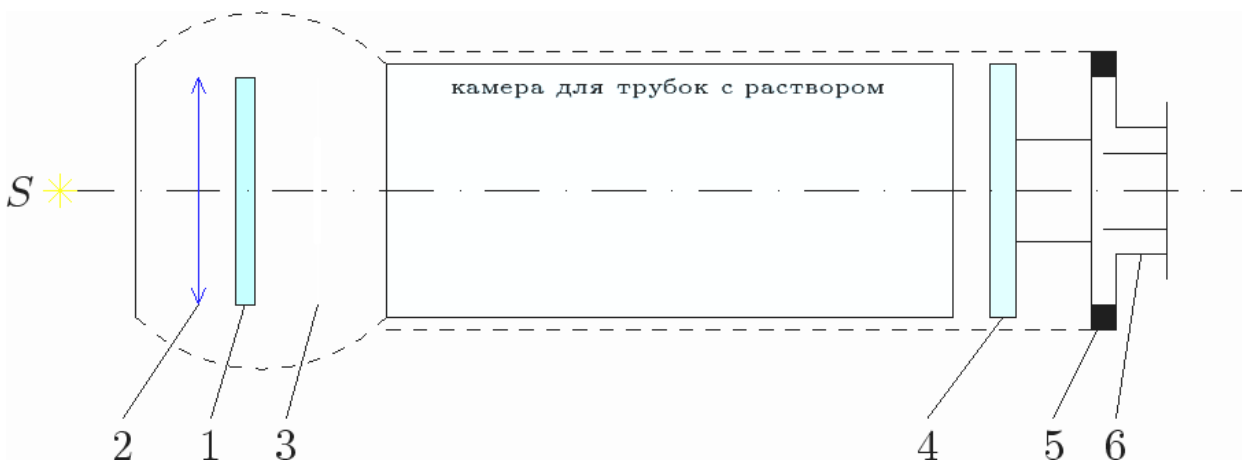


Рис. 7 Схема поляриметра

В данном поляриметре угол плоскости поляризации определяют, выравнивая освещенности двух частей поля зрения.

Если в начальный момент поле зрения было равномерно освещено, то введение трубки с оптически активным раствором нарушает фо-

тометрическое равновесие, которое может быть восстановлено поворотом анализатора на угол, равный углу поворота плоскости поляризации активного раствора. Угол поворота анализатора отсчитывается по лимбу и нониусу.

### **Задание 1.**

Определить нулевое положение прибора.

Для этого включают осветительную лампу. Перемещая муфту (6) зрительной трубы, добиваются резкого изображения двойного поля зрения. Затем, вращая фрикцион (5), добиваются равномерной освещенности двойного поля зрения. При этом нуль нониуса должен совпадать с нулевым делением шкалы лимба. Если нулевой штрих нониуса смещен относительно нуля шкалы, то надо учесть поправку на нуль прибора. Поправка берется со знаком (+), если нуль нониуса смещен по часовой стрелке, и (-), если против часовой стрелки.

### **Задание 2.**

Градуировка поляриметра.

Провести градуировку поляриметра, то есть определить величину удельного вращения исследуемого раствора сахара. Для этого в камеру прибора помещают трубку с раствором известной концентрации. Наводят на резкость поле зрения и, вращая фрикцион, добиваются фотометрического равновесия поля зрения. Отсчет угла поворота анализатора делают так: определяют, на сколько целых градусов сместился нуль шкалы нониуса относительно нуля лимба. Десятые и сотые доли градуса находят по шкале нониуса. Определяют, какое по счету деление нониуса ближе всего совпадает с делением шкалы лимба. Умножают номер этого деления на 0,05. Это число прибавляют к числу целых градусов, взятых на лимбе. Таких измерений с каждой трубкой проводят не менее пяти. Данные измерений заносят в таблицу 2. Находят среднее значение угла поворота. Учитывают поправку, если это нужно. Постоянную вращения находят по формуле.

$$[\alpha_0] = \frac{\varphi_0}{c_0 l} \quad (7)$$

Измерения проводят со всеми эталонными трубками (1, 2 и 4дм).

### **Задание 3.**

Определение концентрации неизвестного раствора сахара.



Помещают трубку с раствором неизвестной концентрации в камеру прибора и находят угол поворота плоскости поляризации, как в задании 2. Каждое измерение проводят не менее пяти раз.

Результаты измерений заносят в таблицу 2. По формуле (7) рассчитывают концентрацию раствора.

### Результаты измерений

Таблица 2

**Определение удельного вращения раствора сахара ( $\alpha_0$ )**

№	$l$ , дм	$C$ , %	$\varphi$ , °				$\alpha_0$	$\Delta\alpha_0$	$\Delta\alpha_0^2$
			$\varphi_1$ , °	$\varphi_2$ , °	$\varphi_3$ , °	$\varphi_{\text{ср}}$ , °			
1									
2									
3									
⋮									
Среднее	X	X	X	X	X	X		X	X
Сумма	X	X	X	X	X	X	X	X	

### Задание 3

#### Определение массовой доли сахарозы поляриметрическим методом

Экспериментальная часть

Приборы, реактивы, оборудование

1. Сахариметр универсальный СУ-5;
2. Кюветы поляриметрические образцовые или контрольные поляриметрические пластинки: правое направление вращения плоскости поляризации +124,290S и левое направление вращения плоскости поляризации – 38,870S;
3. Спирт этиловый по ГОСТ 18300-87;
4. Колба мерная на 200 мл по ГОСТ 1710-74;
5. Цилиндр мерный на 25 мл по ГОСТ 1770-74;
6. Весы лабораторные, класс точности по ГОСТ 24104-2001: 1 специальный (например, типа Аcom JW-1);
7. Сахар-песок 20-30 г;
8. Ложка фарфоровая №2
9. Ареометр для сахара АСТ-1 или набор ареометров АОН-1 по ГОСТ 18841-81;
10. Вода, дистиллированная по ГОСТ 6709-97;

Сахариметр должен быть установлен на столе в затемнённом помещении с окрашенными в тёмный цвет стенами для повышения чувствительности глаз оператора;

- поверните ручку резистора, расположенную на основании прибора до упора против часовой стрелки;
- включите сахариметр в сеть;
- включите кнопкой осветитель;
- установите обойму в положение («С») (светофильтр – при работе с бесцветными и слабоокрашенными растворами или в положение («Д») (диафрагма) – при работе с тёмноокрашенными растворами;
- установите вращением окуляра зрительной трубы максимальную резкость изображения вертикальной линии раздела полей сравнения;
- установите ручкой резистора такую яркость поля, которая наименее утомляет зрение и при которой наиболее чётко воспринимается разница полей сравнения, если сместить нониус на одно деление с его нулевого положения.

Произведите установку нуля в следующем порядке:

- закройте крышку кюветного отделения без установки в нём кюветы;
- уравняйте яркость полей сравнения вращением рукоятки клинового компенсатора;
- установите ключ в механизм установки нониуса;
- совместите нулевое деление нониуса с нулевым делением шкалы перемещая нониус юстировочным ключом;
- проверьте правильность установки нуля не менее шести раз, поворачивая рукоятку клинового компенсатора против и по часовой стрелке.

Среднее арифметическое из шести отсчётов по нониусу составляет нулевой отсчёт, который должен быть в пределах  $\pm 0,050S$ . Шкала сахариметра изображена на рис. 8

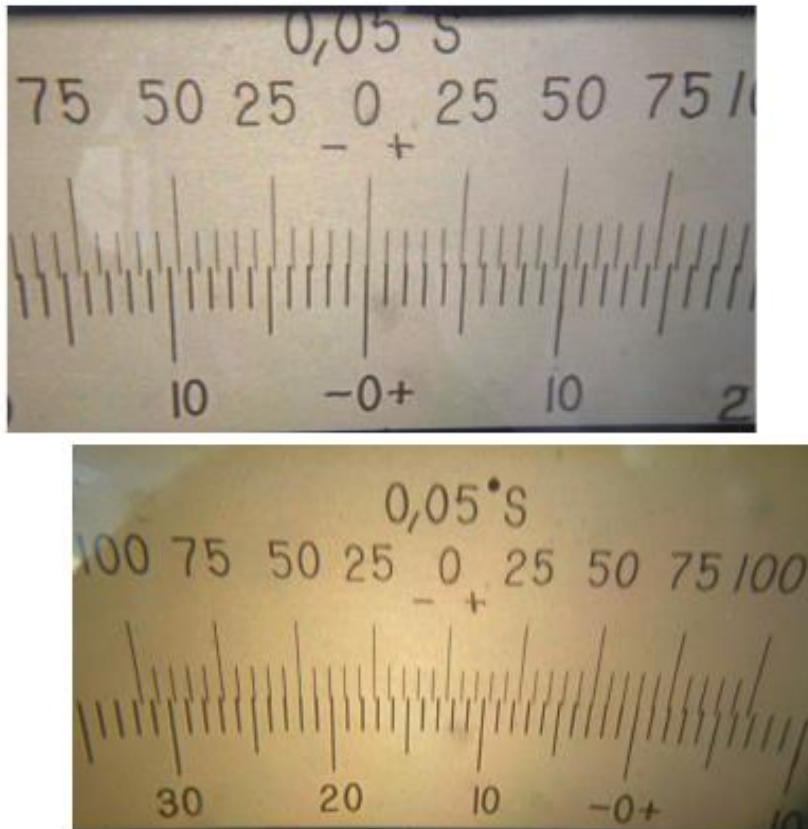


Рис.8 положение нониуса и шкалы, соответствующее отсчёту «-12,650S»

На рис.8 показано положение нониуса и шкалы, соответствующее отсчёту «-12,650S» (нуль нониуса расположен левее нуля шкалы на 12 полных делений и в левой части нониуса с одним из делений шкалы совмещается его тринадцатое деление).

На рис.9 показано положение шкалы и нониуса, соответствующее отсчёту «+134,750S» (ноль нониуса расположен правее нуля шкалы на четыре полных деления и в правой части нониуса с одним из делений шкалы совмещается его пятнадцатое деление).

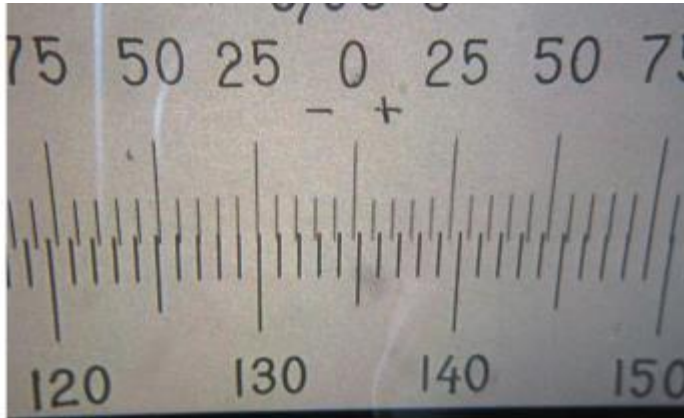


Рис. 9 Положение шкалы и нониуса, соответствующее отсчёту «+134,750S»

Проверка умения проводить измерения Вставьте контрольную поляриметрическую пластинку (кювету) в кюветное отделение поляриметра и закройте его. Произведите измерения. Запишите в журнал. То же самое сделайте и со второй контрольной пластинкой.

Сопоставьте полученные результаты с приведёнными на корпусе контрольных кювет.

#### Приготовление навески

Сделайте на лабораторных весах навеску сахара 20-30 г и поместите её в мерную колбу объёмом 200 мл налейте туда ~ 150-180 мл дистиллированной воды и растворите навеску. Доведите объём до 200 мл. (Температура раствора должна быть 20°C). Подготовьте кювету и залейте в неё раствор.

#### Подготовка кювет (поляриметрических трубок) к работе.

Возьмите поляриметрическую кювету длиной 200 мм перед использованием вымойте кюветы, протрите комком неплотной фильтровальной бумаги, который проталкивайте деревянным шомполом, а затем просушите их. Перед наполнением исследуемым раствором промойте кюветы этим раствором два-три раза. Затем в кювету, закрытую с одной стороны стеклом и гайкой 9 (через прокладку), налейте столько жидкости, чтобы она выступила поверх краёв трубки. После того, как пузырьки воздуха, содержащегося в жидкости, поднимутся наверх, закройте кювету сверху предварительно вымытым и вытертым насухо стеклом. Для того, чтобы под стеклом не оставалось воздушного пузырька, ставьте стекло быстро, надвигая его на торец трубки и при этом как бы срезая высту-

пившую жидкость. Если же воздушный пузырёк останется, установку стекла повторите, закрутите гайку.

Не пережимайте покровные стёкла, так как в результате этого в них может возникнуть напряжение и, вследствие этого, дополнительное вращение плоскости поляризации, что влияет на точность результатов измерений.

Установка кювет.

- откройте кюветное отделение;
- поместите кювету с раствором в кюветное отделение;
- установите её, вращая вокруг оси, в такое положение, чтобы линия раздела полей сравнения делила поле зрения на две равные части.

Проведение измерений.

Измерение производите в следующей последовательности:

- сравнивайте яркость полей сравнения вращением рукоятки клинового компенсатора;
  - произведите отсчёт показаний по шкале и нониусу с точностью до 0,050S;
- снова уравняйте яркость полей сравнения и произведите отсчёт по шкале и нониусу;
- данные операции произведите не менее шести раз вращением рукоятки клинового компенсатора против и по часовой стрелке;
- вычислите среднеарифметическое шести отсчётов, которое равно углу вращения плоскости поляризации раствора в 0S;
- запишите результаты измерений в журнал.

Если температура окружающего воздуха в момент проведения измерений отлична от 200С, необходимо пользоваться методикой измерений, изложенной в «Инструкции по химико-техническому контролю и учёту сахарного производства».

После окончания работы:

- поверните ручку резистора, расположенную на основании прибора, до упора против часовой стрелки;
- выключите кнопку;
- очистите кюветное отделение от остатков исследуемых растворов;

- промойте с помощью деревянной палочки с намотанным на неё тонким слоем гигроскопической ваты, смоченной спиртом по ГОСТ, защитные стёкла кюветного отделения;
- протрите защитные стёкла сухой ватой, намотанной на палочку, соблюдая осторожность, чтобы не поцарапать их поверхности;
- протрите мягкой не ворсистой салфеткой наружные поверхности сахариметра;
- наденьте на сахариметр чехол;
- вымойте, высушите и уложите в футляр используемые кюветы.

В сахариметре применена международная сахарная шкала, 1000S этой шкалы соответствует 34,620 угловым. Сахариметр при измерении показывает 1000S, если температура окружающего воздуха 20<sup>0</sup>C, а в кюветном отделении находится кювета длиной 200 мм с водным раствором сахарозы, объёмом 100 см<sup>3</sup> в котором содержится 26 г химически чистой сухой сахарозы, взвешенной в воздухе при 20<sup>0</sup>C.

Определить по шкале сахариметра непосредственно процент сахарозы в исследуемом веществе можно, если взята его нормальная навеска, водный раствор доведён до 100 см<sup>3</sup>, и измерение произведено в кювете длиной 200 мм. Формула для расчёта процентной концентрации сахарозы при измерении сахариметром выглядит следующим образом:  $K = A \cdot 0,26 \cdot 200 / \ell$  (18) где:

K – концентрация сахарозы в %;

A – показания шкалы сахариметра в международных единицах 0S;

0,26 – коэффициент равный частному деления нормальной навески на 100;

$\ell$  - длина поляриметрической трубки в мм.

Если же кювету длиной 200 мм наполнить исследуемым сахарным раствором, то для определения весового процента сахарозы, необходимо отсчитанные по шкале сахариметра градусы умножить на переводной коэффициент 0,260 и разделить на плотность исследуемого раствора.

В тех случаях, когда в растворе кроме чистой сахарозы содержатся другие оптически активные вещества (например, рафиноза), содержание сахарозы определяется инверсионным методом.

Обработка результатов, записи в журнале

Вес навески сахарозы            г

Температура исследуемого раствора    0С

Показания сахариметра            0S

Длина поляриметрической трубки    мм

Количество сахарозы в 100 см<sup>3</sup>, которое соответствует 10S шкалы сахариметра            г

Расчёт концентрации сахарозы в исследуемом растворе:

$$K = A \cdot C \cdot 0,26 \quad \% (19)$$

Плотность раствора сахарозы, определённая по ареометру    г/см<sup>3</sup>

Значение концентрации сахарозы, определённое табличным способом

по плотности исследуемого раствора    г/100 см<sup>3</sup>

Сопоставьте полученные результаты со справочными данными.

Контрольные вопросы:

1. Что такое поляризация света?
2. Что следует понимать под оптической активностью твёрдых и жидких веществ?
3. Что называется удельным оптическим вращением оптически активных веществ?
4. Приведите примеры оптически активных веществ применяемых в пищевой промышленности или содержащихся в продуктах питания.
5. Объясните устройство и принцип работы поляриметра.
6. В чём состоит основное конструктивное отличие сахариметра от поляриметра?
7. В каких единицах проградуирована шкала сахариметра?
8. Какому количеству сахарозы соответствует 1000S?
9. Как произвести перерасчёт из единиц международной сахарной шкалы в процентное содержание сахарозы в исследуемом веществе (и наоборот)?

## 8 семестр

**Лабораторная работа №1** Определение доброкачественности и фальсификации пищевых продуктов методом люминоскопии

**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 люминоскопии 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	Интенсивное синее свечение	

	примесей		
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 люминескопии.

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 см<sup>3</sup> растительного масла, или 3-4 г сливочного масла помещают в пробирку из нефлюоресцирующего 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<sup>3</sup> продукта и такое же количество бутилового спирта помещают в делительную воронку, энергично встряхивают 60 сек, затем приливают 25 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> 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?

**Лабораторная работа №2** 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, которым 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  $\pm 5$  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, которую осуществляется боковым зеркалом; индексом для отсчёта служит неподвижный вертикальный штрих.

Цена деления шкалы – 5 Ч 10<sup>-4</sup>. 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 отчётливую 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 20<sup>0</sup>С, а при измерениях была другая температура, результаты измерений следует приводить к температуре 20<sup>0</sup>С. Для этих целей к прибору прилагается 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, %; m<sub>1</sub> – масса добавленной воды, г; m<sub>2</sub> – масса навески



продукта,  $n_D$  – массовая доля нерастворимых в воде сухих веществ в продукте, %  $n_D = 5,5\%$  - для томатной пасты с массовой долей растворимых сухих веществ 25-30%;  $n_D = 5,0\%$  - для сушёного винограда;  $n_D = 1,8\%$  - для джемов и повидла;  $n_D = 0$  – для тёмноокрашенных прозрачных жидких продуктов.

### **Обработка результатов, записи в журнале**

Температура окружающего воздуха,  $20^{\circ}\text{C}$ ;

Температура дистиллированной воды, используемой для юстировки,  $20^{\circ}\text{C}$ ;

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.

## **Лабораторная работа №3 ГОСТ 25011-81 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка фотометрическим методом**

**Цель работы:** Изучить фотометрический метод определения содержания белка. Выполнить ГОСТ 25011-81 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка

ГОСТ 25011-81 определяет исследование мяса и мясных продуктов, а также консервов на мясной основе для детского питания и устанавливает фотометрический метод определения белка и метод определения содержания белков по Кьельдалю. Для определения содержания белка используем фотометрический метод.

### **Сущность метода**

Фотометрический метод основан на минерализации пробы по Кьельдалю и фотометрическом измерении интенсивности окраски индофенолового синего, которая пропорциональна количеству аммиака в минерализате.

### **Средства измерений, лабораторное оборудование, реактивы и материалы**

Весы лабораторные общего назначения. Спектрофотометр марок СФ-4, СФ-26 или фотоэлектроколориметр марки 56 ПМ или других аналогичных марок. Мясорубка бытовая с отверстиями решетки диаметром не более 4 мм или электромясорубка бытовая. Промывалка стеклянная лабораторная.

Штатив химический. Пробирки. Пипетки 4-1-1 или 4-2-1, 4-1-5. Колбы мерные 2-100-2, 2-250-2. Воронки В-56-80 Х.С. Стаканы В-1-600 ТС. Стаканчики для взвешивания СВ-14/8. Бумага универсальная индикаторная.

Фильтры обеззоленные. Кислота серная по ГОСТ 4204-77, х.ч., плотностью 1,84 г/см<sup>3</sup>. Кислота соляная по ГОСТ 3118-77, х.ч., раствор (HCl)=1 моль/дм<sup>3</sup>. Водорода перекись. Вода дистиллированная. Аммоний серноокислый. Известь хлорная. Натрия гидроокись. Фенол. Натрий нитропруссидный. Натрий серноватистоокислый (тиосульфат натрия) по ГОСТ 244-76, раствор (Na S O<sub>2</sub> · 5H O)=0,1 моль/дм<sup>3</sup>. Натрия гипохлорит. Калий йодистый.

Натрий углекислый безводный.

### **Ход работы**

Образцы отбирают от каждой исследуемой мясной туши или ее части целым куском массой не менее 200 г из следующих мест: у зареза, против 4 и 5-го шейных позвонков; в области лопатки; в области бедра из толстых частей мышц. Образцы исследуемых субпродуктов отбирают массой не менее 200 г. Образцы от замороженных блоков мяса и субпродуктов отбирают целым куском массой не менее 200 г.

От колбасных изделий точечные пробы для определения органолептических показателей отбирают массой 400-500 г, а для

проведения химических испытаний точечные пробы отбирают массой 200-250 г, отрезая от продукта в поперечном направлении на расстоянии не менее 5 см от края.

Из двух точечных проб от разных единиц продукции составляют объединенные пробы соответственно массой 800-1000 г для органолептических испытаний и 400-500 г - для химических. От сосисок и сарделек точечные пробы отбирают, не нарушая целостности единиц продукции. Из нескольких точечных проб составляют две объединенные пробы массой по 400-500 г.

От зельцев и изделий в пузырях разовые пробы отрезают в виде сегментов массой по 200-250 г. Из точечных проб от разных единиц продукции составляют две одинаковые объединенные пробы массой по 400-500 г.

От языков точечные пробы для определения органолептических показателей берут без нарушения целостности продукции.

Для отбора точечных проб для химических испытаний языки разрезают пополам в продольном направлении.

Из двух точечных проб от разных языков составляют объединенную пробу. От изделий без оболочки (мясных хлебов, паштетов, студней, холодцов) две объединенные пробы массой по 600-750 г составляют из нескольких точечных проб (не менее трех массой по 200-250 г).

### **Задание 1 Подготовить пробы для исследования**

Отобранные пробы мяса и мясных продуктов дважды измельчают на бытовой или электрической мясорубке с отверстиями решетки диаметром 3 мм и тщательно перемешивают. Подготовленную для анализа пробу помещают в стеклянную банку вместимостью 200-400 см<sup>3</sup>, заполнив ее полностью, и закрывают крышкой. Пробу хранят при температуре от 3 до 5 °С до окончания анализа.

### **Задание 2 Приготовить реактивы**

**Приготовление реактива 1** 10 г фенола и 0,05 г нитропрусида натрия растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup> дистиллированной водой, объем колбы доводят до метки.

### **Приготовление реактива 2**

5 г гидроокиси натрия растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup>, после охлаждения добавляют количество исходного раствора гипохлорита натрия из расчета его содержания 0,42 г/дм<sup>3</sup> или 0,2 г дихлоризоцианурата натрия и доводят объем колбы дистиллированной водой до метки. Приготовленные реактивы хранят в темной посуде в холодильнике не более 2 мес. Приготовление исходного гипохлорита натрия В стакане вместимостью 500 см<sup>3</sup> перемешивают 150 г хлорной извести с 250 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; в другом стакане в 250 мл дистиллированной воды растворяют 105 г углекислого натрия, затем сливают оба раствора при постоянном перемешивании. Масса сначала густеет, затем разжижается. Полученную суспензию оставляют на 1-2 сут для отстаивания, затем надосадочную жидкость сливают и отфильтровывают. Полученный реактив имеет концентрацию активного хлора около 60-100 г/дм<sup>3</sup> и может храниться в склянке из темного стекла до 1 года. В полученном реактиве определяют концентрацию активного хлора. Для этого 1 см прозрачного фильтрата разбавляют в конической колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> дистиллированной водой до 40-50 см<sup>3</sup>, прибавляют 2 г калия йодистого и 10 см<sup>3</sup> соляной кислоты 1 моль/дм<sup>3</sup> (1 н.). Образовавшийся йод оттитровывают 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н.) раствором серноватисто-кислого натрия, приготовленного из фиксаля, до исчезновения вишневой окраски (1 см 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н.) раствора серноватисто-кислого натрия соответствует 0,00355 г хлора).

### **Определение количества гипохлорита натрия в исходном растворе**

Перед приготовлением реактива 2 необходимо определить содержание гипохлорита натрия в исходном растворе, учитывая неустойчивость его при хранении. По количеству израсходованного на титрование тиосульфата натрия определяют количество раствора гипохлорита натрия, необходимого для приготовления реактива 2.

Пример расчета:

Количество раствора тиосульфата натрия концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н.), израсходованного на титрование 1 см исходного раствора гипохлорита натрия, составляет, например, 12,09 см<sup>3</sup>.

Эквивалентная масса гипохлорита натрия равна половине молекулярной массы гипохлорита натрия и составляет  $74,4:2=37,2$  г. Следовательно, количество гипохлорита натрия в исходном растворе гипохлорита натрия составляет  $1,209 \times 37,2=44,97$  г.

Учитывая, что реактив 2 должен содержать 0,42 г гипохлорита натрия, из пропорции определяем: в 1000 см исходного раствора - 44,97 г - 0,42 г

$$X = \frac{1000 \cdot 0,42}{44,97} = 9,4 \text{ см}^3.$$

Следовательно, для приготовления 1 дм реактива 2 требуется 9,4 см исходного раствора гипохлорита натрия.

Приготовление стандартного раствора сернокислого аммония для построения градуировочной кривой 0,236 г сернокислого аммония, предварительно высушенного до

постоянной массы при температуре 60 °С, вносят в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup>, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки. Этот раствор является стандартным и содержит 0,1 мг азота в 1 см<sup>3</sup>.

Проведение цветной реакции

В мерные колбы вместимостью по 100 см<sup>3</sup> вносят следующие количества стандартного раствора в см<sup>3</sup>: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0. После доведения объемов колб дистиллированной водой до метки получают серию рабочих растворов концентрации: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 мкг азота в 1 см<sup>3</sup>.

Для проведения цветной реакции в пробирки берут по 1 см<sup>3</sup> рабочего раствора, добавляют 5 см<sup>3</sup> реактива 1 и 5 см<sup>3</sup> реактива 2, перемешивают и через 30 мин измеряют величину оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 625 нм или на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 1 см в отношении контрольного опыта.

Повторность проведения цветной реакции трехкратная. Для каждого определения готовят новый стандартный раствор.

**Задание 3 Построение градуированного графика** По полученным средним из трех стандартных растворов строят на миллиметровой бумаге размером 20x20 см градуировочный график. На

оси абсцисс откладывают величину концентрации азота (мкг/см<sup>3</sup>), на оси ординат - соответствующую ей оптическую плотность. Градуировочный график должен проходить через начало координат. Построение графика возможно автоматически при использовании современных спектрофотометров.

#### **Задание 4 Проведение испытания и обработка результатов**

Навеску продукта рассчитывают по разности, для этого часть измельченной объединенной пробы помещают в бюксу, закрывают крышкой и взвешивают с допустимой погрешностью не более 0,0002 г. Затем из бюксы скальпелем отбирают 0,4-0,5 г продукта на листок беззольного фильтра и вместе с ним осторожно опускают в колбу Кьельдаля. Бюксу закрывают, взвешивают и рассчитывают точную массу продукта, взятого для анализа. Такой же листок беззольного фильтра помещают в контрольную колбу Кьельдаля. Затем в обе колбы добавляют 10 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, 1-2 г сернокислого калия и проводят минерализацию, периодически

добавляя для интенсивности процесса в охлажденную пробу перекись водорода (5-7 см<sup>3</sup> в течение всей минерализации). Допускается применение других катализаторов, обеспечивающих точность определения. После минерализации колбы охлаждают и содержимое количественно переносят в мерные колбы вместимостью 250 см<sup>3</sup>, после охлаждения объем доводят до метки и содержимое перемешивают. 5 см<sup>3</sup> полученного минерализата переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят до метки дистиллированной водой, получая вторично разбавленный минерализат. Для проведения цветной реакции 1 см<sup>3</sup> вторично разбавленного минерализата вносят в пробирку, затем последовательно добавляют 5 см<sup>3</sup> реактива 1 и 5 см<sup>3</sup> реактива 2, перемешивают содержимое пробирки. Через 30 мин определяют оптическую плотность растворов на спектрофотометре при длине волны 625 нм или на фотоэлектроколориметре с применением красного светофильтра. Измерение ведется в сравнении с контрольным раствором. Контрольный раствор готовят одновременно, используя для этой цели контрольный минерализат. Стабильность окраски растворов сохраняется в течение одного часа. Температура реактивов при проведении цветной реакции должна быть не ниже 20 °С. По полученному значению опти-

ческой плотности с помощью калибровочного графика находят концентрацию азота.

### **Обработка результатов**

Массовую долю белка ( ), в процентах, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot 1 \cdot 10^6} \cdot 100 \cdot 6,25,$$

где  $C$  - концентрация азота, найденная по калибровочному графику в соответствии с полученной оптической плотностью, мкг/см<sup>3</sup>;

$m$  - навеска пробы, г;

250 - объем минерализата после первого разведения, см<sup>3</sup>;

5 - объем разбавленного минерализата для вторичного разведения, см<sup>3</sup>;

100 - объем минерализата после вторичного разведения, см<sup>3</sup>;

1 - объем раствора, взятый для проведения цветной реакции, см<sup>3</sup>;

$10^6$  - множитель для перевода г в мкг;

100 - множитель для перевода в проценты;

6,25 - коэффициент пересчета на белок.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,1% по содержанию азота для мяса и мясопродуктов.

### **Контрольные вопросы:**

1 На чем основан фотометрический метод определения содержания белка?

2.Правила отбора проб мяса и изделий из мяса для исследования содержания белка .

3. Правила построения градуировочного графика для проведения исследований.

4 Методика проведения испытаний и обработки результатов

## **Лабораторная работа №4 Методы исследования физико-химических свойств молока и молочных продуктов.**

**Цель работы** – ознакомиться с методами исследования физико-химических свойств молока и молочных продуктов.

**Выполняются задания:** *Задание 1* – определить рН молока. *Задание 2* – ознакомиться с методикой определения взбитости мороженого. *Задание 3* – изучить метод определения растворимости сухого молока.

**Потенциометрические методы** *Метод измерения рН молока (ГОСТ 26781–85)* *Используемое оборудование:* рН-метр, термометр, стакан вместимостью 50-100 см<sup>3</sup>. В стакан вместимостью 50–100 см<sup>3</sup> наливают  $(40 \pm 5)$  см<sup>3</sup> молока температурой  $(20 \pm 2)$  °С и погружают электроды прибора. Электроды не должны касаться стенок и дна стакана. Через 10–15 с снимают показания по шкале прибора. Для быстрого установления показаний прибора измерения проводят при круговом перемещении стаканчика с молоком. После каждого измерения электроды датчика промывают дистиллированной водой. При массовых измерениях рН молока остатки предыдущей пробы удаляют с электродов следующей пробой, а электроды промывают через 3–5 измерений. В промежутках между измерениями электроды датчика погружают в стакан с дистиллированной водой. Проводят два параллельных измерения. За окончательный результат измерения рН принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, расхождение между которыми не должно превышать 0,03.

**Рефрактометрические методы** *Определение лактозы рефрактометрическим методом* Метод основан на способности молочной сыворотки преломлять проходящий через нее луч света на определенный угол в зависимости от концентрации молочного сахара в ней. *Используемое оборудование:* рефрактометр, водяная баня, толстостенная пробирка или пенициллиновый флакон с пробкой, пипетка на 5 см<sup>3</sup>, 4 % раствор хлорида кальция.



**Техника определения.** В толстостенную пробирку или флакон отмеривают 5 см<sup>3</sup> исследуемого молока кислотностью не выше 20 °Т (при исследовании молока повышенной кислотности получают завышенные результаты) и 5 капель 4 % раствора хлорида кальция. Пробирку плотно закрывают пробкой и ставят в кипящую водяную баню на 10 мин. Вынимают пробирку из бани и свернувшееся в ней молоко охлаждают до 20 °С, опуская в холодную воду. Затем берут пипетку или стеклянную трубку с ватным тампоном, в нижней части, погружают конец с ватой в отделившуюся сыворотку и втягивают ее, профильтровывая через вату (жидкость слегка мутноватая). Определение массовой доли лактозы проводят при помощи рефрактометра следующим образом: откидывают верхнюю призму, на поверхность нижней призмы наносят несколько капель молочной сыворотки и верхнюю призму опускают. Пропускают через призмы прибора воду температурой 17,5 °С. Затем, наблюдая в окуляр, движением рукоятки вверх и вниз совмещают границу между темной и светлой частью поля зрения с точкой пересечения пунктирных линий. По шкале отсчитывают коэффициент преломления. По коэффициенту преломления в таблице (приложение В) находят массовую долю лактозы в исследуемом молоке и результат записывают в тетрадь. Коэффициент отсчитывают с точностью до 0,0001.

**Специальные методы исследования молочных продуктов**  
**Определение растворимости сухого молока** *Используемое оборудование:* центрифуга, градуированные центрифужные пробирки на 10 см<sup>3</sup>, резиновые пробки, весы аналитические, термометр, пипетка на 5 см<sup>3</sup>, стеклянная палочка.

1. В градуированную центрифужную пробирку на 10 см<sup>3</sup> на технико-химических весах отвесить 1,25 г сухого молока, прилить пипеткой 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды температурой 65–70 °С при тщательном размешивании и растирании комочков стеклянной палочкой до однородной массы.
2. Палочку вынуть, ополоснуть небольшими порциями воды, которую слить в пробирку, и довести объем жидкости в пробирке до деления 10.
3. Закрывать пробирку резиновой пробкой, перемешать содержимое и поставить на 5 мин в водяную баню (65–70 °С).
4. Пробирки, вынутые из водяной бани, нужно встряхивать в течение 1 мин, затем поместить в центрифугу

одна против другой пробками к центру; центрифугировать 5 мин при скорости вращения центрифуги 1000 об/мин. 5. После центрифугирования отсчитать объем осадка.

**Метод определения взбитости мороженого (ГОСТ Р 52175–2003)** Метод основан на измерении масс фиксированного объема смеси, поступающей во фризера, и того же объема насыщенной воздухом смеси (мороженого), выходящей из фризера, и расчете взбитости мороженого. Взбитость – это выраженное в процентах отношение разности масс смеси и мороженого одного и того же объема к массе мороженого. Диапазоны взбитости мороженого (на выходе из фризера): – от 60 % до 90 % – для молочного мороженого; – от 60 % до 110 % – для сливочного мороженого; – от 60 % до 130 % – для мороженого пломбира. Взбитость мороженого, вырабатываемого на эскимогенераторах, – не менее 40 %. *Используемое оборудование:* весы аналитические, стаканы из нержавеющей стали номинальной вместимостью 50, 100, 150 и 200 см<sup>3</sup>, шпатель, сушильный шкаф.

#### **Техника определения.**

Метод предназначен для определения взбитости мороженого в процессе его изготовления (после фрезерования).

Стакан заполняют смесью для мороженого вровень с краем стакана и взвешивают с записью результата до 1 г. Стакан освобождают от смеси, моют питьевой водой, сушат в сушильном шкафу, охлаждают при комнатной температуре и взвешивают с записью результата до 1 г. Подготовленный стакан заполняют выходящим из фризера мороженым, не допуская образования пустот, вровень с краем стакана. Выступающее за край стакана мороженое осторожно снимают ножом или шпателем. Стакан с мороженым взвешивают с записью результата до 1 г. Взбитость мороженого  $V$ , %, вычисляют по формуле  $V = (M2 - M3) 100 / (M3 - M1)$ , где  $M2$  – масса стакана, заполненного смесью, г;  $M3$  – масса стакана, заполненного мороженым, г;  $M1$  – масса стакана, г; 100 – коэффициент пересчета отношения в проценты, %.

#### **Контрольные вопросы**

1. Что такое взбитость мороженого?
2. На чем основан метод определения взбитости мороженого?
3. Опишите метод исследования растворимости сухого молока.

**Содержание отчета** В отчете необходимо указать: 1. Цель работы. 2. Сущность применяемых методов исследований. 3. Результаты исследований. 4. Выводы.

### **Лабораторная работа №5 Контроль качества кисломолочных продуктов.**

**Цель работы** – провести комплексную оценку качества кисломолочных продуктов для установления соответствия показателей требованиям нормативных документов.

**Задание 1** – провести исследование физико-химических показателей кисломолочных продуктов.

**Задание 2** – установить соответствие полученных данных требованиям стандарта на исследуемую продукцию. При оценке качества кисломолочных продуктов использовать методики, освоённые в ходе выполнения предыдущих лабораторных работ.

**Определение содержания влаги в твороге** Количество влаги в твороге можно определить с помощью прибора Чижовой, экспресс-методом, арбитражным способом – высушиванием навески творога (3–5 г) при  $(102 \pm 2)^\circ\text{C}$  (определение проводят так же, как и при исследовании молока). *Используемое оборудование:* сушильный шкаф, весы аналитические, фарфоровая чашка, стеклянная палочка, песок.

**Техника определения влаги в твороге экспресс-методом (высушивание при 160–165 °С)** 1. Фарфоровую чашку со стеклянной палочкой и 20–25 г песка поместить в сушильный шкаф на 1 ч при температуре 102–105 °С. 2. Не охлаждая чашку, поставить ее на треугольник, находящийся на весах, и взвесить. 3. Отвесить в чашку 5 г творога и тщательно перемешать его с песком, после чего чашку на 20 мин поместить в сушильный шкаф при температуре 160–165 °С. Затем, не охлаждая чашки, поместить ее на треуголь-

ник и взвесить. 4. Вычислить по формуле количество влаги в твороге:

$B = (m - m_1) 100/5$ , где  $B$  – содержание влаги в твороге, %;  $m$  – масса чашки с треугольником, песком, стеклянной палочкой и творогом до высушивания, г;  $m_1$  – масса чашки с треугольником, песком, стеклянной палочкой и творогом после высушивания, г; 5 – навеска творога, г.

#### **Определение кислотности творога**

*Используемое оборудование:* весы аналитические, термометр, фарфоровая ступка, цилиндр на 50 см<sup>3</sup>, фенолфталеин, 0,1 н. раствор щелочи. 1. Навеску творога (5 г) перенести в фарфоровую ступку и растереть в 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, имеющей температуру 35–40 °С. 2. Прибавить 3 капли фенолфталеина и оттитровать 0,1 н. раствором щелочи (перемешивая содержимое пестиком) до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. 3. Вычислить кислотность творога, умножив количество щелочи (см<sup>3</sup>), пошедшей на титрование, на 20. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 4 °Т.

#### **Определение кислотности сметаны**

*Используемое оборудование:* весы аналитические, стакан вместимостью 100 см<sup>3</sup>, стеклянная палочка, фенолфталеин, 0,1 н. раствор NaOH. 1. На теххимических весах отвесить в стакан 5 г сметаны, прибавить 40 см<sup>3</sup> воды, 3 капли фенолфталеина, хорошо размешать стеклянной палочкой. 2. Смесь в стакане оттитровать из бюретки 0,1 н. раствором NaOH до появления не исчезающей в течение 1 мин слабо-розовой окраски. 3. Отсчитать количество щелочи (см<sup>3</sup>), пошедшей на титрование. Умножив результат на 20, получим кислотность в градусах Тернера. Расхождение между параллельными определениями не должно быть более 2 °Т.

**Определение содержания жира в сметане** Кислотный метод Гербера определения массовой доли жира в молоке основан на выделении жира из молока в жиromeре посредством центрифугирования после растворения белковой оболочки жировых шариков концентрированной серной кислотой.

Полному выделению жира в виде сплошного слоя способствует добавление изоамилового спирта. *Используемое оборудование:* жиromeры для сливок, пробки резиновые для жиromeров, при-

боры для отмеривания серной кислоты и изоамилового спирта вместимостью соответственно 10 и 1 см<sup>3</sup>, центрифуга, водяная баня, штатив для жироскопов, термометр со шкалой 0–100 °С, полотенце, серная кислота плотностью 1,81–1,82 г/см<sup>3</sup>, спирт изоамиловый плотностью 0,81–0,82 г/см<sup>3</sup>. 1. В жироскопе на технохимических весах взвесить 5 г продукта. 2. Прилить в жироскоп 5 см<sup>3</sup> воды, 10 см<sup>3</sup> серной кислоты (плотность 1,81–1,82), стараясь не смочить горлышко. Затем в жироскоп добавляют 1 см<sup>3</sup> изоамилового спирта и закрывают сухой пробкой, вводя ее в горлышко жироскопа немного более чем на половину.

Для удобства пробки натирают мелом. 3. Затем жироскопы встряхивают до полного растворения белков, переворачивают 4–5 раз, следя, чтобы жидкости полностью перемешались. Так как при смешивании с кислотой смесь сильно разогревается, то для предохранения рук жироскоп обертывают полотенцем. 4. Жироскопы ставят пробкой вниз в водяную баню с температурой 65 °С на 5 мин. Вынув из бани, жироскопы вставляют в патроны центрифуги узкой градуированной частью к центру, располагая их симметрично один против другого. При нечетном количестве жироскопов в центрифугу помещают жироскоп, наполненный водой. 5. Центрифугу закрывают крышкой. Центрифугируют в течение 5 мин при скорости вращения 1000–1200 об/мин. 6. Жироскопы вынимают из центрифуги (градуированная часть строго вверх) и движением резиновой пробки регулируют столбик жира так, чтобы он находился в узкой градуированной части. Жироскопы помещают в водяную баню пробками вниз. 7. Через 5 мин жироскопы вынимают и быстро производят отсчет количества жира. При отсчете жироскоп держат вертикально, граница жира должна находиться на уровне глаз. Движением пробки вверх или вниз устанавливают нижнюю границу столбика жира на целом делении шкалы жироскопа и от него отсчитывают число делений до нижней точки вогнутого мениска столбика жира.

Граница раздела жира и кислоты должна быть резкой, а столбик жира прозрачным, светло-желтого цвета. Отсчет жира в жироскопе производят с точностью до одного малого деления шкалы жироскопа. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,1 % жира. За окончательный результат при-

нимают среднее арифметическое двух параллельных определений. Показание жиромера соответствует массовой доле жира в продукте в процентах. Из сметаны жирностью выше 40 % берут навеску 2,5 г, а воды 7,5 см<sup>3</sup>. В этом случае содержание жира в продуктах соответствует показателю жиромера, умноженному на 2. Для определения содержания жира в сметане, выработанной из гомогенизированных сливок, применяется трехкратное центрифугирование и перед каждым центрифугированием нагревание в водяной бане при температуре  $(65 \pm 2)$  °С в течение 5 мин.

**Определение содержания жира в твороге** Количество жира в твороге определяют с помощью сливочных или молочных жиромеров.

**Техника определения в сливочном жиромере:** 1. Жиромер уравновесить на технохимических весах, отвесить в него 5 г творога или творожной массы. 2. Снять жиромер с весов, налить в него 5 см<sup>3</sup> воды, 10 см<sup>3</sup> серной кислоты (плотность 1,81–1,82) и 1 см<sup>3</sup> изоамилового спирта. 3. Жиромер закрыть резиновой пробкой и после перемешивания содержимого поставить в баню при температуре воды  $(65 \pm 2)$  °С, периодически встряхивая до растворения белка. 4. Последующие операции выполнять так же, как и при определении содержания жира в сметане. 5. Отсчитать по шкале содержание жира. Жиромер показывает содержание жира в твороге в процентах. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,5 %.

**Техника определения в молочном жиромере:** 1. В жиромер отвесить 2 г творога. Прилить 9 см<sup>3</sup> воды, 10 см<sup>3</sup> серной кислоты (плотность 1,81–1,82) и 1 см<sup>3</sup> изоамилового спирта. 2. Жиромер закрыть резиновой пробкой; содержимое перемешать, поставить на водяную баню при температуре воды  $(65 \pm 2)$  °С и периодически встряхивать до полного растворения белка. 3. Последующие операции такие же, как и при определении содержания жира в сметане. 4. Чтобы получить содержание жира в твороге в процентах, результат отсчета по жиромеру надо умножить на 5,5.

**Контрольные вопросы** 1. По каким химическим показателям оценивают качество кисломолочных продуктов? 2. Какие физические показатели используют при оценке качества кисломолочных

продуктов? 3. Какие показатели могут свидетельствовать о порче кисломолочных продуктов?

**Содержание отчета** Отчет должен содержать: 1. Цель работы. 2. Полученные результаты. 3. Выводы о соответствии исследуемых продуктов требованиям действующего стандарта.

## **Лабораторная работа №6 Изучение технологических свойств пищевых красителей**

**Цель работы:** научиться определять концентрацию красящих веществ в натуральных пищевых красителях и установить оптимальные дозировки красителей для маргаринов и спредов.

### **1. Теоретические положения**

Окраска пищевых продуктов является одним из важных факторов, влияющих на их «аппетитность». В условиях современных пищевых технологий, включающих различные виды термической обработки, а также при хранении продукты питания часто изменяют свою первоначальную, привычную для потребителя окраску. В связи с этим широкое распространение в пищевой промышленности получили красители.

Пищевые красители - это пищевые добавки, применяемые для окрашивания пищевых продуктов. Они представляют собой индивидуальные органические красящие вещества и их смеси или неорганические пигменты и их смеси.

Красители, производимые промышленностью (товарные красители), в том числе пищевые, не являются химически чистыми веществами и содержат наряду с красящими веществами также неокрашенные составляющие органической и неорганической природы. Наличие неокрашенных составляющих обусловлено особенностями технологии получения красителей, но иногда неокрашенные компоненты могут быть введены специально. Важнейшей ха-

рактической пищевой красителей является содержание (массовая доля) красящих веществ.

Натуральные красящие вещества (растительного или животного происхождения) вне зависимости от их растворимости могут называться также пигментами.

К пищевым красителям не относят красители, применяемые для окраски несъедобных внешних оболочек сыра, колбас и пр., а также для клеймения мяса, маркировки яиц и сыров.

### **Классификация пищевых красителей**

По происхождению красители целесообразно подразделить на натуральные и синтетические.

Натуральные пищевые красители - это смеси красящих и сопутствующих веществ, полученные из пищевых продуктов или других источников растительного или животного происхождения. Натуральным красителем считается также карамельный колер - продукт термической карамелизации углеводов, в том числе в присутствии химических реагентов.

К натуральным красителям не относят высушенные или концентрированные формы пряноароматических растений, обладающих комплексом ароматических и питательных свойств и одновременно красящим эффектом, - паприку, измельченный корень куркумы, шафран и др.

Синтетические пищевые красители - это смеси органических красящих веществ и сопутствующих продуктов, полученные химическим путем.

В большинстве случаев источником натуральных красителей является растительное сырье, в том числе и отходы переработки овощей и фруктов. Одним из немногих исключений является кармин, выделяемый из тел самок насекомых кошенили. Качество натуральных красителей зависит от условий развития растений и животных (географического положения, климата, почв, питания), времени сбора растительного сырья, а также от технологии извлечения красящих веществ. Основной способ извлечения красящих веществ из природных объектов - экстракция растворителем, последующая очистка экстракта от сопутствующих соединений и стабилизация пигмента. В качестве растворителя-экстрагента используются этиловый спирт, вода, растительное масло и др.



В некоторых источниках встречается термин «идентичные натуральным красители». К этому классу относят полученные синтетическим путем красители, аналоги которых присутствуют в природе и могут быть выделены из растительного сырья. В качестве примеров красителей этой группы приводят полученный методом микробиологического синтеза  $\beta$ -каротин, обладающий теми же свойствами, что и  $\beta$ -каротин, извлеченный из моркови, и полученный синтетическим путем бетанин, проявляющий те же свойства, что и бетанин, выделенный из свеклы.

По химической природе красящие вещества растительного происхождения подразделяются на 3 группы:

- флавоноиды;
- каротиноиды;
- хлорофиллы.

К первой группе веществ относятся флавоны и флавоноиды, имеющие желтую или желто-оранжевую окраску, а также широко распространенные антоцианы, обеспечивающие красную и красно-фиолетовую окраску многих фруктов и овощей. Наибольшее распространение в производстве пищевых продуктов получили антоцианы, характеризующиеся хорошей свето-, термо- и кислотостойкостью. Кроме того, антоцианы хорошо растворяются в воде, что делает возможным их использование при производстве безалкогольных напитков, мороженого, молочных продуктов и др.

Для окраски пищевых продуктов в желтый и желто-оранжевый цвет широко используются каротиноиды. К несомненным достоинствам натуральных красителей этой группы относится то, что они проявляют А-витаминную активность ( $\beta$ -каротин, ликопин). Наиболее известным красителем из этой группы является  $\beta$ -каротин, широко применяемый в масло-жировой, молочной, макаронной и других отраслях промышленности. В последнее время наблюдается увеличение интереса к экстракту аннато, который характеризуется более высокой по сравнению с  $\beta$ -каротином светостойкостью.

Натуральный пигмент хлорофилл присутствует в листьях многих растений и обуславливает их зеленую окраску. Однако из-за низкой термостабильности природного хлорофилла в качестве нату-

рального красителя нашли применение его медные производные (медные комплексы хлорофилла).

Наибольшее внимание с точки зрения потребителя пищевых продуктов вызывают вопросы токсичности применяемых пищевых красителей. Натуральные пищевые красители, так же как и другие пищевые добавки, прошли тщательные токсикологические испытания. На основании полученных результатов можно считать, что натуральные пищевые красители не представляют опасности для здоровья. Действующими в России «Санитарными правилами по применению пищевых добавок» для большинства натуральных пищевых красителей не установлено максимально допустимых уровней содержания их в пищевых продуктах. Исключение составляют лишь  $\beta$ -каротин (до 6 мг/кг продукта в пересчете на каротин) и экстракт аннато (до 1600 мг/кг продукта).

Наряду с бесспорными достоинствами натуральных красителей их применение при изготовлении пищевых продуктов осложняется присущими им *недостатками*: низкой светостойкостью, невысокой устойчивостью к воздействию окислителей, недостаточной термостойкостью, а также невысокой красящей способностью (по сравнению с синтетическими пищевыми красителями). Указанные недостатки также являются препятствием для более широкого использования натуральных красителей, поэтому основной задачей специалистов является разработка новых торговых препаратов с повышенной световой и температурной устойчивостью. Для этого используются различные технологические приемы: получение суспензий и эмульсий природных красящих веществ, применение микрокапсулированных форм натуральных красителей и др.

С химической точки зрения пищевые красители подразделяются на 5 классов:

- азокрасители (тартразин E 102, желтый «солнечный закат» E 110, азорубин (кармуазин) E 122, пунцовый 4R E 124, черный блестящий BN E 151);
- триарилметановые (синий патентованный V E 131, синий блестящий FCF E 133, зеленый S E 142, коричневый NT E 155), ксантановые (эритрозин E 127);
- хинолиновые (хинолиновый желтый E 104);
- индигоидные (индигокармин E 132).

Их существенным достоинством является высокая красящая способность, что позволяет получать окраску пищевых продуктов необходимой интенсивности, используя малые количества красителей. Они обладают стандартной силой окрашивания, высокой устойчивостью к свету, окислителям и восстановителям, изменениям pH. Синтетические красители термостабильны, поэтому окрашенный продукт можно подвергать всем необходимым технологическим операциям, в том числе пастеризации, стерилизации, охлаждению и замораживанию.

Препараты синтетических красителей содержат, как правило, 80-85 % основного красителя, остальное - сульфат и хлорид натрия. Разработаны красители с наполнителями, в качестве которых выступают соль или сахар. Такие «разбавленные» красители содержат от 5 до 50 % основного красителя и применяются в соответствующих дозировках.

При применении порошкообразных синтетических красителей существуют некоторые проблемы. Красители представляют собой мелкодисперсные порошки. При отвешивании, пересыпании и других технологических операциях они пылят, загрязняя при этом поверхность оборудования, спецодежду, полы и стены помещения и увеличивая потери красителя. Решением этой проблемы является использование гранулированных красителей, которые не пылят, хорошо растворяются в воде, хотя чуть медленнее, чем порошковые, при хранении они более устойчивы к переменам влажности. Они позволяют получать те же цвета и оттенки, что и порошковые красители, не требуя увеличения дозировки. Гранулированные синтетические красители разрешены к применению в пищевой промышленности Российской Федерации и всех европейских стран.

Для придания маргарину и спреда цвета летнего сливочного масла в жировую основу маргарина вводят пищевые красители. Количество красителя зависит от его природы и интенсивности окраски и колеблется в пределах 0,1-0,3 % к массе маргарина или спреда.

В качестве красителя используют масляный раствор, полученный путем масляной экстракции красящих веществ (каротиноидов) из растительного сырья или растворения синтетического кристаллического каротина. Для растворения применяют рафинированные

жидкие растительные масла. Также применяют микробиологический  $\beta$ -каротин.

Маргариновую продукцию подкрашивают масляным красителем аннато, который получают растворением в растительном масле оранжевых пигментов, содержащихся в мясистом покрове семян кустарника орлеана (*Bixa orellana*).

Органолептические и физико-химические показатели красителей приведены в табл. 2.1.

Таблица 2.1

### Характеристика пищевых красителей

Показатель	Каротин	Каротин микробиологический	Аннато
Внешний вид	Прозрачная жидкость оранжево-красного цвета		
Запах и вкус	Свойственные растительному маслу		Присущий пигменту
	с легкой горечью, характерные для каротиноидных препаратов	со специфическим привкусом. Не допускается привкус прогорклости	и растворителю. Допустима горечь от семян орлеана. Наличие постороннего привкуса и запаха не допускается
Каротин, мг/г, не менее	2,0	2,0	-
Красящие вещества, мг/кг, не менее	-	-	1000
Кислотное	4,0	8,0	-

число, мг КОН/г, не более			
---------------------------------	--	--	--

## 2. Практические исследования

**Задание.** Используя информацию, выносимую на этикетку продукта (майонез, спред, маргарин и др.), изучите используемые в производстве данного продукта красители. Заполните табл. 2.2, используя данные приложений 1-4 и справочную литературу.

Таблица 2.2

Характеристика красителей, применяемых в пищевом продукте

Продукт	Е-код красителя	Название красителя	Область применения	Максимально допустимые концентрации

### 2.1. Определение концентрации красящих веществ в натуральных красителях

*Объекты исследований:* порошкообразные или концентрированные натуральные красители.

*Средства контроля, вспомогательные устройства и реактивы:*

- сульфат кобальта, стандартный раствор (25 г  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  растворяют в 100 мл дистиллированной воды, перемешивают);
- концентрированная соляная кислота (HCl, х.ч.);
- мерные колбы на 100 и 250 мл;
- фильтры № 2;
- пипетки на 5 мл;
- ФЭК.

### ***Проведение определения***

Метод основан на определении концентрации красящих веществ в красителях путем сравнения интенсивности окраски стандартного раствора сульфата кобальта и исследуемого раствора красителя.

Навеску сухого красителя массой 1 г помещают в мерную колбу на 250 мл, добавляют 1 мл концентрированной HCl и доводят дистиллированной водой до метки.

При анализе концентрированного красителя берут 1 мл красителя, переносят в мерную колбу на 100 мл, доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают, отбирают 10 мл пипеткой, переносят в другую мерную колбу на 100 мл, вносят туда 5 мл HCl, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. В случае появления мути или хлопьев раствор фильтруют через фильтр № 2 под вакуумом.

Оптическую плотность стандартного раствора сульфата кобальта и раствора красителя определяют на ФЭКе с зеленым светофильтром (кювета с толщиной рабочего слоя 10 мм).

Концентрация красящих веществ для сухого красителя (г/кг) рассчитывается по следующей формуле:

$$K = 22 D_1 \times 1000 / D_0 \times m, \quad (2)$$

где 22 - масса красящих веществ, которые по окраске соответствуют 1 л стандартного раствора, мг;

$D_1$ ,  $D_0$  - значения оптической плотности соответственно раствора красителя и стандартного раствора;

$m$  - масса навески сухого красителя, мг.

Концентрация красящих веществ для концентрированного красителя (г/л) рассчитывается по формуле:

$$K_1 = 22 D_1 \times d / D_0 \times m, \quad (3)$$

где  $d$  - плотность красителя, г/мл (условно принимается равной значению относительной плотности, которая определяется с помощью ареометра или пикнометра);

$m$  - масса навески, г;

$D_1$ ,  $D_0$  - значения оптической плотности соответственно раствора красителя и стандартного раствора.

## 2.2. Определение $\beta$ -каротина в растительном (облепиховом) масле

*Объекты исследования:* облепиховое масло.

*Средства контроля, вспомогательные устройства и реактивы:*

- гексан (петролейный эфир);
- раствор стандартного образца бихромата калия: 0,3600 (точная навеска) бихромата калия растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 мл и доводят объем раствора водой до метки. Раствор по окраске соответствует раствору, содержащему 0,00208 мг  $\beta$ -каротина в 1 мл;
- мерная колба на 100 см<sup>3</sup>;
- кюветы 10 мм;
- химический стакан вместимостью 50, 100 см<sup>3</sup>;
- ФЭК.

### *Проведение определения*

Метод основан на определении оптической плотности раствора растительного масла в органическом растворителе.

В мерную колбу на аналитических весах взвешивают точную навеску масла (около 0,1 г) и доводят до метки растворителем (гексаном). Оптическую плотность полученного раствора измеряют на ФЭКе или спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 450 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного образца (бихромата калия).

Содержание суммы каротиноидов в препарате (в пересчете на  $\beta$ -каротин) в мг/100 г вычисляют по формуле:

$$X = D \cdot 0,00208 \cdot V \cdot 100 / D_1 \cdot a, \quad (4)$$

где  $D$  - оптическая плотность испытуемого раствора;

$D_1$  - оптическая плотность стандартного образца;

0,00208 - количество ( $\beta$ -каротина в миллиграммах в растворе, соответствующем по окраске раствору образца бихромата калия;

a - навеска препарата, г;

V - объем мерной колбы, см<sup>3</sup>.

### 2.3. Подбор оптимальных дозировок красителей для жировых основ маргарина

*Объекты исследований:*

- рафинированные дезодорированные твердые жиры и масла (саломас, пальмовое масло, кокосовое масло);
- пищевые красители (аннато,  $\beta$ -каротин, облепиховое масло).

*Средства контроля и вспомогательные устройства:*

- стакан на 50-100 см<sup>3</sup>;
- мешалка;
- электроплитка.

#### *Проведение определения*

В расплавленный образец твердого жира вносится регламентируемая дозировка красителя (0,5-1,5 мг на 100 г продукта).

Образец тщательно перемешивается при температуре 40-50 °С в течение 5-10 мин, частота вращения мешалки 60-100 об/мин.

Образец охлаждают и определяют цвет, осматривая срез пробы при температуре продукта (18±1) °С.

### 3. Анализ и оформление результатов исследования

Анализируя результаты исследований (табл. 2.3), делают вывод об интенсивности окраски полученных образцов жира и заполняют табл. 2.4.

Таблица 2.3

Характеристика и балльная оценка цвета жира

Цвет	Однородный по всей массе: для неокрашенного - белый и светло-желтый, для подкрашенного - светло-желтый или желтый, свойственный цвету сливочного	10
------	--	----



	масла	
	Неоднородный	6-9
	Со слабым сероватым оттенком	6-9

Таблица 2.4

Характеристика образцов окрашенных жировых продуктов

Краситель	Е-код	Дозировка	Образец подкрашенного жира	Цвет

### Контрольные вопросы

1. Приведите примеры натуральных красителей, которые используются в масложировой промышленности. Какие красящие вещества (пигменты) придают желтую и желто-оранжевую окраску продуктам?
2. Как классифицируются красители? Какой Е-код присваивается красителям?
3. Чем отличаются натуральные красители от синтетических?
4. Приведите примеры синтетических красителей. Назовите их технологические особенности.
5. Каковы требования по органолептическим показателям к натуральным красителям?
6. На чем основан принцип определения концентрации красящих веществ в исследуемом объекте.
7. Расскажите методику определения цвета растительных масел, жиров, жировых основ.

## **Лабораторная работа №7 Изучение технологических свойств эмульгаторов**

**Цель работы:** установить оптимальное количество эмульгатора при получении различного рода эмульсий и изучить влияние температуры плавления эмульгатора на свойства жировых основ маргарина.

### **1. Теоретические положения**

Маргарин представляет собой застывшую водно-жировую эмульсию. Под эмульсией понимают однородные по внешнему виду системы, одна из которых распределена в другой в виде мельчайших частиц (капель).

Различают два типа эмульсий: прямые - неполярная жидкость (масло) в полярной (воде), т.е. М-В; обратные - полярная жидкость (вода) в неполярной (масле), т.е. В-М.

Известны эмульсии смешанного типа, которые образуются при высокой концентрации масла (жира) в воде, например сливочное масло. Эмульсии агрегативно неустойчивы из-за избытка свободной энергии на межфазной поверхности, что проявляется в самопроизвольной коалесценции отдельных капель жидкости друг с другом. На практике это приводит к полному разрушению и разделению эмульсий на два слоя. Для повышения агрегативной устойчивости используют специальные стабилизаторы-эмульгаторы (ПАВ). Гидрофильные эмульгаторы лучше растворимы в воде и способствуют образованию эмульсий типа М-В, а гидрофобные (олеофиль-

ные) лучше растворяются в маслах и стабилизируют эмульсии типа В-М.

С термодинамической точки зрения эмульгатор, адсорбируясь на границе раздела фаз в виде тончайших адсорбционных оболочек, понижает межфазное поверхностное натяжение, препятствует коалесценции частичек дисперсной фазы и удерживает их в дисперсионной среде, чем и обеспечивает агрегативную устойчивость эмульсии. Поскольку толщина адсорбционных слоев невелика, то и эмульгатора требуется мало.

Молекулы эмульгаторов дифильны, они состоят из углеводородного радикала (неполярная часть) и полярных групп. Их эмульгирующее действие тем эффективнее, чем лучше сбалансированы в молекуле полярные и неполярные группы. Хорошо сбалансированной дифильной молекулой является фосфатидилхолин (лецитин), по примеру которого стремятся синтезировать промышленные эмульгаторы.

Эмульгаторы, используемые для производства маргаринов и спредов, должны:

- обладать пищевыми достоинствами и быть физиологически безвредными;
- стабилизировать высокодисперсную и устойчивую эмульсию;
- способствовать удержанию влаги в маргарине и спреде при механической обработке в процессе производства;
- обладать антиразбрызгивающими свойствами;
- обеспечивать стойкость продукта при хранении.

Кроме основного назначения - стабилизировать эмульсию, эмульгаторы улучшают пластичность маргаринов и спредов, а в производстве жиров для хлебопечения обеспечивают некоторые специфические свойства изделий (увеличивают пористость мякиша и объем готового изделия).

Наиболее популярными пищевыми эмульгаторами в производстве маргаринов и спредов являются моно- и диглицериды жирных кислот (Е 471), эфиры глицерина, жирных и органических кислот (Е 472), лецитины, фосфатиды (Е 322), эфиры полиглицерина и взаимоэтерифицированных рициноловых кислот (Е 473). Величины их гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) представлены в табл.

3.1

ПАВ в большинстве являются синтетическими веществами, нестойкими к гидролизу. В организме человека они расщепляются на природные, легкоусвояемые компоненты: глицерин, жирные кислоты, сахарозу, органические кислоты (винную, лимонную, молочную, уксусную). Токсикологическими исследованиями Комитета по пищевым добавкам ФАО/ВОЗ установлено допустимое суточное поступление эмульгаторов в организм человека (см. табл. 3.1).

Таблица 3.1

Значение гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) некоторых эмульгаторов и допустимое суточное потребление (ДСП)

Код Е	Эмульгатор	ГЛБ	ДСП, мг/кг веса тела
Е 322	Лецитины: фракционированный (обогащенный фосфатидилхолином)	2	Не определено
	стандартный	4	4
	обезжиренный	5	5
	ацетилованный	6	6
	гидролизированный обезжиренный	8	8
	гидролизированный ацетилованный	9	9
	гидролизированный	10	10
Е 432...Е 436	Эфиры полиоксиэтиленсорбита, TWEEN'ы	10...15	25
Е 442	Аммонийные соли фосфатидиловой кислоты	4...5	30
Е 471	Моно и диглицериды жирных кислот	3...4	Не определено
Е 472a	Эфиры глицерина и уксусной и жирных кислот	2..3	2...3
Е 472b	Эфиры глицерина и молочной и жирных кислот	4...5	50
Е 472c	Эфиры глицерина и лимонной	4..12	Не определено

	и жирных кислот		лено
E 473	Эфиры сахарозы и жирных кислот	3...16	10
E 474	Сахароглицериды	3...16	10
E 475	Эфиры полиглицерина и жирных кислот	6...11	25
E 476	Эфиры полиглицерина и взаимоэтерифицированных рициноловых кислот	1,5...3	7,5

Окончание табл. 3.1

E 477	Сложные эфиры пропиленгликоля и жирных кислот	5...7	25
E 481(i)	Лактилат натрия	~18	20
E 482	Лактилат кальция	7...9	20
E 491...E 496	Эфиры сорбитана	2...9	25

Срок годности этих веществ, в зависимости от товарной формы, составляет от нескольких месяцев до двух лет.

Эмульгаторы должны храниться в сухом месте и быть защищены от прямых солнечных лучей и длительного воздействия тепла. Емкости, в которых хранят добавку, обязательно следует плотно закрывать после отбора каждой порции.

#### **Характеристика отдельных представителей эмульгаторов**

Отечественной промышленностью выпускается широкий ассортимент эмульгаторов на основе моно- и диглицеридов. Их характеристика представлена в табл. 3.2-3.3. Эмульгатор МТФ получается путем смешивания нагретых до 70-75 °С фосфатидов и моно- и диглицеридов (E 471) в соотношении 1:3. В зависимости от качества фосфатидов и назначения эмульгатора это соотношение может меняться в сторону увеличения доли фосфатидов.

Таблица 3.2

Характеристика эмульгаторов

Показатели	Моноглицериды дистиллированные (МГД) марок				Мо- ноглице- ри-ды мягкие
	1	2	3	4	
Массовая доля моно- и диглицеридов, %	90	90	90	90	50
В том числе: Моноглицеридов	80	80	80	80	4,5
Свободного глицери- на, %	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Йодное число, гJ <sub>2</sub> /100 г	1,0	1,0	34,0	34,0	50-70

Окончание табл. 3.2

Показатели	Моноглицериды дистиллированные (МГД) марок				Мо- ноглице- ри-ды мягкие
	1	2	3	4	
Кислотное число, мг КОН/г	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Температура плавлe- ния, °С	64-68	65-67	56-62	56-62	35-40

Таблица 3.3

Варианты эмульгаторов для маргаринов

Маргарин с мас- совой долей жи- ра, %	Вариан- ты	Эмульгатор	Дозировка, %
Твердый (брус- ковый) 82%-й	1	МГД	0,1-0,2
	2	МФТ твердые	0,2-0,3
	3	МГД + лецитин	0,1-0,2 + 0,2
Твердый (брус- ковый) 70%-й	1	МГД	0,3-0,4
	2	МГД + лецитин	0,3-0,4 + 0,2
	3	МФТ твердые	0,3-0,4
Твердый (бруско-	1	МГД + моноглице-	0,2 + 0,4 + 0,2

Вый) 60%-й		риды мягкие М-60 + лецитин	
	2	МФТ твердые	0,7-0,8
	3	Моноглицериды мягкие М-90	0,4-0,6
	4	МГД + моноглице- риды М-60 мягкие М-60	0,2 + 0,6
Мягкий (налив- ной) 70%-й	1	Моноглицериды мягкие М-90	0,4-0,6
	2	МФТ мягкие	0,6

Для улучшения структурно-механических характеристик продукта, получения масла с хорошей пластичной консистенцией и высокой термоустойчивостью фирма «Палсгаард» рекомендует использовать эмульгирующие добавки, представленные в табл. 3.4.

Таблица 3.4

## Эмульгирующие системы Палсгаард

Наименование продукта	Состав	Информация об использовании
Палсгаард 3228	Лецитин Е 322, моно- и диглицериды жирных кислот Е 471, эфиры лимонной кислоты и моно- и диглицеридов жирных кислот Е 472с (число омыления 185-195, Тпл 50-54 °С)	Эмульгатор. Используется при производстве продуктов с содержанием 60-82 % жира. Дозировка: 0,1-0,3 %
Палсгаард 0291	Дистиллированные моноглицериды жирных ненасыщенных кислот Е 471 (йодное число 60-70, Тпл 50-55 °С)	Эмульгатор. Используется при производстве продуктов с низким содержанием жира. Дозировка: 0,1-0,3 %
Палсгаард 6111	Триглицериды гидрогенизированные (йодное	Жировой кристаллообразователь. Предот-

	число 2-3, Тпл 60-63 °С)	вращает отделение масла. Используется совместно с Палсгаард 0291. Дозировка: 0,1-0,2 %
--	--------------------------	--

Качество эмульгаторов оценивается по органолептическим, физико-химическим, микробиологическим показателям и показателям безопасности. Показатели качества эмульгатора Е 471 (Рикен) представлены в табл. 3.5-3.7.

Таблица 3.5

#### Органолептические и физико-химические показатели

Внешний вид	Мелкие гранулы цвета слоновой кости
Йодное число	Макс. 2
Кислотное число	Макс. 3

Окончание табл. 3.5

Температура плавления	63-68 °С
Содержание моноэфиров, не менее	95 %
Свободный глицерин, не более	1 %

Таблица 3.6

#### Микробиологические показатели

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г	1x10 <sup>4</sup>
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) (колиформные) в 0,1 г продукта	Не допускаются
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы в 25 г продукта	Не допускаются
Количество плесневых грибов и дрожжей в 1 г продукта, КОЕ, не более	500



Таблица 3.7

Допустимые уровни токсичных элементов, мг/кг, не более

Свинец	5,0
Мышьяк	3,0
Кадмий	1,0
Ртуть	1,0

### Лецитин

Использование лецитинов специального назначения в производстве маргаринов имеет определенные преимущества. Обладая биполярными характеристиками, лецитины способны стабилизировать эмульсии в масле, понижая поверхностное напряжение между водой и жиром, что позволяет достигать тонкого гомогенного распределения водяных капель в маргарине и спреде. Дополнительно лецитин обладает положительным антиокислительным эффектом. Это важно для увеличения срока хранения жиров и масел, а также при воздействии на них термических нагрузок.

Лецитины в маргаринах применяются для улучшения пластичности маргарина, предотвращения окисления жира в период хранения, уменьшения разбрызгивания, вспенивания и избежания покоричневения в процессе жарки, предупреждения пригорания компонентов молока, повышения антиокислительного эффекта.

Лецитины, используемые в маргаринах и спредах, можно разделить на три группы:

1. Стандартные лецитины. Густая, вязкая, темно-коричневая, непрозрачная жидкость с содержанием фосфолипидов не менее 62 %, фракционный состав соответствует естественному соотношению.
2. Энзиматически гидролизованные лецитины. Состоят из фосфолипидов, в которых один из радикалов жирных кислот замещен на группу ОН. Степень гидролиза в различных торговых марках таких лецитинов может быть от 40 до 80 %, содержание собственно фосфолипидов, в зависимости от степени гидролиза, - от 54 до 58 %, вязкость ниже, чем у стандартных лецитинов, а прозрачность выше. Наилучшим образом подходят для использования в низкожирных маргаринах.

3. Фракционированные лецитины. Обогащенные фосфатидилхолином (до 35 %), прозрачные. Поскольку именно фракция фосфатидилхолина ответственна за формирование сплошной пленки на поверхности капель жира и воды, такие лецитины хороши для маргаринов, подвергающихся термической обработке.

Тип применяемого лецитина в основном зависит от содержания соли в маргарине. Для маргаринов домашнего использования и многих коммерческих маргаринов для выпечки и слоеного теста подходит стандартный и энзиматически гидролизованный лецитин. Для малосоленых и бессолевых маргаринов используют фракционированный лецитин, обогащенный фосфатидилхолином. Сейчас существует устойчивая тенденция перехода от стандартного лецитина к гидролизованному. Он великолепно подходит для систем с относительно высоким содержанием воды, гораздо проще в использовании, чем стандартный лецитин.

Малосоленые и бессолевые маргарины требуют лецитинов с большим содержанием фракции фосфатидилхолина. Соль является стабилизатором в этих эмульсионных системах, и при ее отсутствии система становится менее стабильной и требует другого стабилизатора. Отличный заменитель в таких системах - фракционированные лецитины с высоким содержанием фосфатидилхолина.

Использование лецитинов в маргарине для жарки улучшает их характеристики. Введение лецитинов предотвращает покоричневение при повторных нагревах и решает проблему разбрызгивания маргарина. Склонные к седиментации компоненты рецептуры, такие как молочный казеин, покрываются пленкой лецитина, что предотвращает их пригорание и налипание на сковородку. Лецитин подавляет вспенивание маргарина.

В маргаринах с низким содержанием жира добавка лецитина улучшает вкусовые качества. Более того, в комбинации с монодиглицеридами он образует маленькие водяные капельки при формировании эмульсии, которые особенно влияют на увеличение сроков хранения.

Применение фракционированных лецитинов позволяет маргарину выдерживать термообработку до 300 °С без разбрызгивания и покоричневения. Обычно практикуют следующие соотношения «лецитин - монодиглицериды»: 1:1; 1:2; 1:3; 2:3 (см. табл. 3.8).

Таблица 3.8

## Дозировки для маргаринов различной жирности

Тип маргарина	Эмульгатор	Доза, % общей массы
Столовый маргарин: с низким содержанием соли (0,15 %)	Фракционированный лецитин/гидролизированный лецитин и моноглицериды (1:1-2)	0,25-0,4
с высоким содержанием соли (0,3 %)		
Маргарин с низким содержанием жира	Фракционированный лецитин и моноглицериды (1:3)	0,5-0,7
Жидкий маргарин	Стандартный лецитин и моноглицериды (1:2)	2
Маргарин для слоеных изделий	Гидролизированный лецитин и моноглицериды (1:1-2)	0,7
Сливочный маргарин	Гидролизированный лецитин и моноглицериды	1-1,5

При производстве маргаринов лецитины вводятся в масляную фазу. Существует несколько основных правил, которым необходимо следовать при приготовлении смесей лецитина и масла. Нужно нагреть масло до температуры 55 °С, затем постепенно добавлять в него лецитин, постоянно перемешивая при помощи миксера, включенного на маленькую скорость (при производстве маргаринов моноглицериды следует растворять в масляной фазе вместе с лецитином). Очень важно, чтобы в течение всего технологического процесса смесь находилась в постоянном движении, не следует допускать превышения температуры более 60 °С.

Наряду с традиционно используемыми ингредиентами для производства спредов (пальмовое и кокосовое масло, красители, ароматизаторы, эмульгаторы) используется пектин Слендид тип 200 - пектин с высокой степенью этерификации, экстрагированный из цитрусовых выжимок и стандартизированный сахарозой. Он обладает исключительной влагосвязывающей (1:50) и эмульгирующей способностью, мгновенно образует гибкие и мягкие частицы, кото-

рые ведут себя подобно жировым частицам, не образуя геля. В результате продукт, полученный на основе растительных жиров, имеет свойства, аналогичные молочным продуктам высокой жирности.

При использовании Слендида тип 200 влага, содержащаяся в продукте, капсулируется, что значительно повышает устойчивость готового продукта и его термостабильность во время хранения. Использование пектина придает готовому продукту нежную консистенцию и сливочный вкус.

Преимущества использования:

- снижает затраты на производство;
- улучшает стабильность и органолептические свойства готового продукта;
- повышает термостабильность;
- устойчив к изменениям рН и механическому воздействию.

Дозировка: 0,2-1 % на массу готового продукта.

## 2. Практические исследования

**Задание.** Используя информацию, выносимую на этикетку продукта (майонез, спред, маргарин и др.), изучите используемые в производстве данного продукта эмульгаторы. Заполните табл. 3.9, используя данные приложений 1-4 и справочную литературу.

Таблица 3.9

Характеристика эмульгаторов,  
применяемых в производстве эмульсий

Продукт	Е-код	Название красителя	Область применения	Максимально допустимые концентрации

### 2.1. Исследование свойств различных композиций эмульгаторов

*Объекты исследований:*

- растительные масла и жиры;
- эмульгаторы;
- вода.

*Вспомогательные устройства:*

- стакан на 50-100 см<sup>3</sup>;
- мешалка;
- центрифуга.

**2.1.1. Подготовка к определению**

Студентам необходимо получить эмульсии с различным соотношением жировой и водной фаз, используя различные эмульгаторы (табл. 3.10).

Моноглицериды (фосфатиды) растворяют при температуре 60-70 °С в растительном масле в соотношении 1:10. В раствор моноглицеридов в масле при перемешивании мешалкой вносят масло и воду. Смешивание рецептурных компонентов проводится при температуре 60 °С в течение 5 мин. Полученную эмульсию гомогенизируют. Затем определяют стойкость эмульсии.

**2.1.2. Проведение определения**

Показателем стойкости эмульсии служит количество масла, выделившегося из продукта при сильном тепловом и механическом воздействии.

Метод основан на воздействии на эмульсию факторов, влияющих на ее агрегативное состояние и приводящих к ее разрушению. Результатом воздействия является расслоение эмульсии.

При проведении работы используют центрифужные градуированные пробирки вместимостью 10 мл. Две пробирки заполняют эмульсией до верхнего деления, устанавливают в центрифуге и центрифугируют при скорости вращения 1500 об/мин в течение 5 мин. Затем осматривают пробы и выявляют признаки разрушения эмульсии. Далее пробы помещают в кипящую воду на 3 мин и вновь центрифугируют в течение 5 мин.

Стойкость неразрушенной эмульсии (X, %) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V}{10} \cdot 100, \quad (5)$$

где  $V$  - количество неразрушенной эмульсии на 100 г продукта, см<sup>3</sup>;

10 - объем пробы эмульсии, см<sup>3</sup>;

100 - пересчет значения показателя в проценты.

По результатам проведенных исследований заполняют сводную таблицу (табл. 3.10) и делают вывод о качестве полученной эмульсии и оптимальном количестве эмульгатора, необходимого для получения агрегативно устойчивых систем.

Таблица 3.10  
Результаты исследований

Соотношение «масло : вода», %	Тип эмульгатора	Количество эмульгатора, %	Стойкость эмульсии X, %
50:50	Моноглицериды + лецитин (Е 471 + Е 322)	0,2 + 0,1	
50:50	Моноглицериды (Е 471)	0,8	

окончание табл. 3.10

50:50	Моноглицериды (Е 471)	1,0	
50:50	Моноглицериды + фосфатиды	0,5 + 0,2	
50:50	Эфиры полиглицерина (Е 476)	0,2	
50:50	Моноглицериды + эфиры полиглицерина (Е 471 + Е 476)	0,5 + 0,1	

## 2.2. Определение антиразбрызгивающей способности

### *Проведение определения*

5 г затвердевшей эмульсии отвешивают на технических весах в предварительно тарированную, совершенно сухую и чистую алюминиевую бюксу (диаметром 40-45 мм и высотой 35-40 мм), покрывают ее предварительно высушенным и взвешенным кружком фильтровальной бумаги, после чего помещают на заранее включенную закрытую электрическую плитку. При отсутствии закрытой электрической плитки можно использовать плитку с открытой спиралью. В этом случае бюксу следует помещать на асбестовую сетку.

После прекращения потрескивания (окончания выделения влаги) нагревание прекращают, взвешивают кружок фильтровальной бумаги и вычисляют процент разбрызгивания жира (x) по формуле:

$$x = \frac{(P_1 - P_2)100}{P}, \quad (6)$$

где  $P_1$  - вес кружка фильтровальной бумаги по окончании определения, г;

$P_2$  - вес кружка фильтровальной бумаги до определения, г;

$P$  - навеска эмульсии, г.

Для соблюдения одинаковых условий нагрева бюксу с навеской следует всегда помещать на уже разогревшуюся плитку.

## 2.3. Изучение влияния дозировок эмульгатора на температуру плавления жиров и масел

### *Объекты исследования:*

- твердые рафинированные дезодорированные масла и жиры;
- эмульгаторы (Е 471, Е 322, Е 471/ Е 322, Е 476 и др.).

### *Средства контроля, вспомогательные устройства и реактивы:*

- лед;
- фильтровальная бумага;

- электроплитка;
- капилляр с шарообразным расширением;
- капилляр, открытый с двух концов;
- термометр;
- штатив с кольцом;
- стакан вместимостью 500 см<sup>3</sup>;
- мешалка;
- фарфоровая чашка;
- пипетка 1 см<sup>3</sup>;
- химическая воронка.

### **2.3.1. Подготовка образцов**

Твердое растительное масло (20-25 г) расплавляют до температуры 65-75 °С и вносят эмульгатор в количестве (0,3-0,8 %). Перемешивание проводят 10-15 мин при температуре на 5-10 °С выше температуры плавления эмульгатора. Далее систему «жир - эмульгатор» охлаждают и определяют в полученном образце температуру плавления.

Температура, при которой происходит переход твердого жира в жидкое состояние, называется *температурой плавления*.

Методы определения температуры плавления заключаются в постепенном нагревании твердого жира в определенных условиях до момента расплавления, который характеризуют по подвижности или прозрачности. Температуру плавления на практике устанавливают по температуре, при которой жир становится подвижным.

Метод основан на фиксации температуры плавления жира по стеканию его капли из расширенной капиллярной трубочки в узкую часть или по поднятию столбика жира в капилляре, открытом с двух концов.

### **2.3.2. Проведение определения**

В капилляре с расширением исследуемый образец жира нагревают на водяной бане в фарфоровой чашке до полного расплавления и фильтруют. В шарообразную часть чистого сухого капилляра помещают пипеткой 1-2 капли расплавленного жира.

Жиру дают застыть, помещая капилляр на лед и выдерживая в течение 10 мин.



Затем капилляр 3 с застывшим жиром (рис. 2) прикрепляют к термометру 2 резиновым кольцом таким образом, чтобы проба жира была на одном уровне с ртутным шариком термометра. Термометр прикрепляют к кольцу на штативе и помещают в стакан с водой, верхний конец капилляра должен быть выше уровня воды. Стакан устанавливают на электрической плитке. Температура воды в стакане должна быть 15...18 °С. При непрерывном перемешивании мешалкой 1 (механической или магнитной) постепенно нагревают воду в стакане со скоростью вначале около 2 °С в минуту, а с приближением к ожидаемой температуре плавления - 1 °С в минуту.

За температуру плавления принимают ту, при которой жир из шарообразной части начинает стекать в нижнюю часть капилляра. Определение производят не менее трех раз, а за результат принимают среднеарифметическое значение из двух определений, различающихся не более чем на 0,5 °С.

В методе с использованием капилляра, открытого с двух концов, исследуемый образец жира нагревают на водяной бане в фарфоровой чашке до полного расплавления и фильтруют. Чистый, сухой, открытый с двух концов капилляр погружают одним концом в расплавленный жир так, чтобы высота подъема его в капилляре была равна 10 мм. Капилляр с жиром помещают на лед и выдерживают в течение 10 мин или же оставляют на 24 часа при комнатной температуре.

После этого капилляр 3 прикрепляют к термометру 2 тонким резиновым кольцом (рис. 3) так, чтобы столбик жира находился на одном уровне с ртутным шариком термометра. Затем термометр с капилляром опускают в стакан с водой на такую глубину, чтобы верхний конец капилляра был выше уровня воды. Температура воды в стакане должна быть 15...18 °С. Следят, чтобы в незаполненный конец капилляра не попала вода.

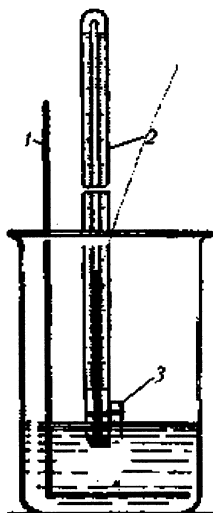


Рис. 2. Прибор для определения температуры плавления в капилляре с рас-

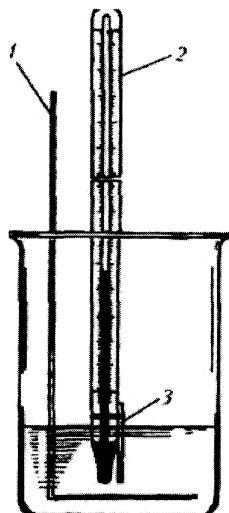


Рис. 3. Прибор для определения температуры плавления в капилляре, открытом

При непрерывном перемешивании мешалкой *1* воду в стакане нагревают вначале со скоростью приблизительно  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  в минуту, а по мере приближения к ожидаемой температуре плавления - не более чем на  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  в минуту.

За температуру плавления принимают ту, при которой жир в капилляре начинает подниматься. Определение производят не менее трех раз, за результат принимают среднеарифметическое значение из двух параллельных опытов, которые должны различаться не более чем на  $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 3. Анализ и оформление результатов исследования

Анализируя результаты исследований, делают вывод о влиянии дозирования эмульгатора на температуру плавления жировой фазы (табл. 3.11).

Таблица 3.11

Температура плавления жировых систем

Температура плавления жира	Температура плавления эмульгатора	Тип и дозировка эмульгатора	Температура плавления системы

			«жир - эмульгатор»
Пальмовое масло $T_{пл} 37\text{ }^{\circ}\text{C}$	E 471 $T_{пл} 55\text{ }^{\circ}\text{C}$	E 471 - мо- ноглицериды 0,3 %	$T_{пл} 38\text{ }^{\circ}\text{C}$

### Контрольные вопросы

1. Какие эмульгаторы используются в производстве маргаринов и спредов? Как их физико-химические показатели влияют на эмульгирующую способность?
2. Какими технологическими свойствами обладает лецитин?
3. По каким показателям оценивается качество эмульгаторов? Как температура плавления эмульгатора влияет на свойства жировых основ?
4. Как осуществляется подбор дозировок эмульгатора? Приведите примеры дозировок эмульгатора для маргаринов различной степени жирности.
5. В какие марки эмульгаторов вносят фосфолипиды? Обоснуйте необходимость их использования в производстве пищевых эмульсий.
6. Какие требования предъявляются к эмульгаторам?
7. Как определяется антиразбрызгивающая способность? Какие факторы влияют на данный показатель?

**Лабораторная работа №8** 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 см<sup>3</sup> и градуированные вместимостью 1 и 5 см<sup>3</sup>; стаканы химические вместимостью 150-200 см<sup>3</sup>, бюретка вместимостью 10 см<sup>3</sup>.

мостью  $25\text{см}^3$  с ценой деления  $0,1\text{см}^3$ , снабжённая трубкой с натронной известью для защиты раствора гидроксида натрия от углекислого газа, и бюретка вместимостью  $50\text{см}^3$  с ценой деления  $0,1\text{см}^3$ ; резиновая груша; гидроксид натрия, ч.д.а. или х.ч. 0,1н 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 63г безводного сульфита натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) растворяют в мерной колбе вместимостью  $500\text{см}^3$  и объём доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор сульфита натрия в количестве  $50\text{см}^3$  нейтрализуют 1н. раствором серной кислоты в присутствии фенолфталеина до слабо-розовой окраски и добавляют точно  $3\text{см}^3$  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  $\text{см}^3$ ), израсходованной на титрование образовавшегося гидроксида натрия, показывает количество формальдегида, содержащегося в  $100\text{см}^3$  формалина ( $\text{г}/100\text{см}^3$ ). Для определения количества белка допускается применять формалин с содержанием формальдегида не менее 3г на  $100\text{см}^3$ . При наличии мути или осадка раствор формалина перед употреблением фильтруют.

Формалин перед употреблением нейтрализуют: к  $50\text{см}^3$  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 150-200см<sup>3</sup> 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 <sup>3</sup>	Массовая доля белков в моло- ке, %	Количество 0,1н. раствора NaOH, см <sup>3</sup>	Массовая доля белков в моло- ке, %
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 см<sup>3</sup> отмеривают с помощью пипетки 20 см<sup>3</sup> молока и добавляют 0,25 см<sup>3</sup> 2 %-ного раствора гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего окраски этанола. Затем в стакан вносят 4 см<sup>3</sup> 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 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в 0,1н NaOH; 2) раствор 0,5 % CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O 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 (Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O) и 25г молибдата натрия Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O растворяют в 700см<sup>3</sup> воды. К смеси добавляют 50см<sup>3</sup> 85 %-го раствора фосфорной и 100см<sup>3</sup> соляной кислот (ρ = 1,19). Затем кипятят (не слишком сильно) 10 ч с обратным холодильником в вытяжном шкафу. После этого в колбу добавляют 150г сернокислого лития, 50 см<sup>3</sup> воды и 5 капель бромной воды. Смесь кипятят в течении 15 мин в вытяжном шкафу для удаления избытка брома, после охлаждения доводят водой до 1дм<sup>3</sup>. 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  $2\text{см}^3$  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  $\gamma$  – глобулина, кристаллического альбумина и др.) растворяют в  $100\text{см}^3$   $0,1\text{н}$  NaOH ( $1\text{см}^3$  содержит 1 мг белка). В 9 мерных колб на  $10\text{см}^3$  приливают раствор белка в возрастающих количествах:  $0,5\text{см}^3$ , а затем от 1 до  $8\text{см}^3$ . 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  $-10^\circ\text{C}$ .

## Задание 3

### *Определение белка колориметрическим методом*

Аппаратура, реактивы и материалы.

В стеклянную пробирку помещают пипеткой  $1\text{см}^3$  раствора молока, приливают  $20\text{см}^3$  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 1 см<sup>3</sup> надосадочной жидкости, помещают в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, 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.

### Список рекомендуемой литературы

1. Лебухов В. И. Физико-химические методы исследования: [Текст]: учебник / В. И. Лебухов, А. И. Окара, Л. П. Павлюченкова; под ред. А. И. Окара. - СПб. Лань, 2013. - 480 с.
2. Криштафович В. И. Физико-химические методы исследования [Текст]: учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки "Товароведение" (квалификация (степень) "бакалавр" / В. И. Криштафович, Д. В. Криштафович, Н. В. Еремеева. - Москва: Дашков и К°, 2015. - 207 с.



3. Базарнова Ю.Г. Методы исследования сырья и готовой продукции: Учебно-методическое пособие. - СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. - 76 с. / Электронная библиотека «Единое окно доступа к образовательным ресурсам» -<http://window.edu.ru/>
4. Тикунова И. В. Практикум по аналитической химии и физико-химическим методам анализа: [Текст]: учебное пособие / И. В. Тикунова, Н. А. Шаповалов, А. И. Артеменко. - М.: Высшая школа, 2006. - 208 с.