

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна
Должность: проректор по учебной работе
Дата подписания: 09.03.2022 09:41:51
Уникальный программный ключ:
0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d089

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

Кафедра товароведения, технологии и экспертизы товаров



**ЗАГРЯЗНИТЕЛИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ
СНИЖЕНИЯ ИХ СОДЕРЖАНИЯ**

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

Курск 2018

УДК: 664

Составитель: А.Г. Беляев

Рецензент

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

Загрязнители и технологические способы снижения их содержания: методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев. Курск, 2018. 60 с.: Библиогр.: с.59

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» всех форм обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать *15.02* Формат 60x84 1/16.
Усл. печ. л.3,48 Уч.-изд. л. 3,15 Тираж 50 экз. Заказ. *1612* 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.

**ЗАГРЯЗНИТЕЛИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ
СНИЖЕНИЯ ИХ СОДЕРЖАНИЯ**

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

Курск 2018

УДК: 664

Составители: А.Г. Беляев

Рецензент

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

Загрязнители и технологические способы снижения их содержания: методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев. Курск, 2018. 60 с.: Библиогр.: с.59

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» всех форм обучения.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать Формат 60x84 1/16.
Усл. печ. л.3,48 Уч.-изд. л. 3,15 Тираж 50 экз. Заказ. Бесплатно.
Юго-Западный государственный университет.
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Лабораторная работа №1 Определение показателей биологической ценности мяса расчетным методом	6
Лабораторная работа №2 Микробиологические показатели безопасности пищевой продукции	8
Лабораторная работа №3 Определение тяжелых металлов	24
Лабораторная работа №4 Определение пестицидов	35
Лабораторная работа №5 Определение нитратов и нитритов.	40
Лабораторная работа №6 Санитарно-бактериологическое исследование воздуха	45
Лабораторная работа №7 Определение тяжелых металлов методом инверсионной вольтамперометрии	47
Лабораторная работа №8 Определение доброкачественности и фальсификации пищевых продуктов методом люминоскопии	51
Список рекомендуемой литературы	59

ВВЕДЕНИЕ

Методические указания к выполнению лабораторных работ предназначены 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 предусмотрено 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 или зачете

Лабораторная работа №1 Определение показателей биологической ценности мяса расчетным методом

Цель занятия: Освоить методы определения показателей биологической ценности мяса расчетным методом.

План

1. Изучение аминокислотного состава мясных продуктов по данным справочной литературы.
2. Расчет коэффициента различия аминокислотного сора (КРАС,%) Оформление таблицы.

Вопросы для изучения.

Студенты изучают аминокислотный состав мяса и мясопродуктов, выписывают данные о содержании незаменимых аминокислот, рассчитывают по формуле аминокислотный скор и коэффициент различия, оценивают сбалансированность аминокислотного состава.

Задания для студентов

Общие:

1. Изучить аминокислотный состав.
2. Рассчитать коэффициент различия аминокислотного сора.

Индивидуальные:

3. Заполнить таблицу.

Методические указания

Рассчитать скор незаменимых аминокислот в мясе, мясных или комбинированных продуктах; выявить лимитирующие аминокислоты, оценить среднюю величину избытка сора незаменимых аминокислот и рассчитать коэффициент утилитарности и показатель «сопоставимой избыточности».

Объекты исследования. Мясо различных видов животных, птицы, мясные продукты, субпродукты, колбасные изделия и консервы.

. В качестве исходных для расчетов используют экспериментально полученные данные при анализе состава аминокислот мясных продуктов или данные из справочной литературы

Используя данные аминокислотного состава, студенты расчетным путем определяют показатели биологической ценности

продуктов. Для сопоставления результатов расчет рекомендуется вести по нескольким объектам.

Подготовка к расчету. Студенты внимательно изучают перечень показателей биологической ценности и выписывают формулы для их определения.

Аминокислотный скор. Выписывают данные о содержании незаменимых аминокислот в исследуемых мясных продуктах и рекомендации ФАО/ВОЗ применительно к «идеальному» (стандартному) белку. Аминокислотный скор определяют по формуле

Лимитирующей биологическую ценность аминокислотой считается та, скор которой наименьший.

Коэффициент различия аминокислотного сора (КРАС, %). Показывает среднюю величину избытка аминокислотного сора незаменимых аминокислот по сравнению с наименьшим уровнем сора какой-либо незаменимой аминокислоты (избыточное количество незаменимых аминокислот, не используемых на пластические нужды):

Коэффициент утилитарности незаменимой аминокислоты используют для расчета коэффициента утилитарности аминокислотного состава (U), который является численной характеристикой, достаточно полно отражающей сбалансированность незаменимых аминокислот по отношению к эталону:

Меньшая возможность утилизации незаменимых аминокислот в составе белка пищевого продукта организмами наблюдается тогда, когда их скоры максимальны или наиболее близки к максимуму.

Общее количество незаменимых аминокислот в белке оцениваемого продукта, которое из-за взаимнесбалансированности по отношению к эталону не может быть утилизировано организмом, служит для оценки сбалансированности состава незаменимых аминокислот по показателю сопоставимой избыточности (г), который определяется по формуле

Коэффициент утилитарности аминокислотного состава имеет практическое значение, так как возможность утилизации аминокислот организмом предопределена минимальным скором одной из них.

Коэффициент утилитарности незаменимой аминокислоты (доли единицы) рассчитывают по формуле

Студенты рассчитывают скор каждой из незаменимых аминокислот, при этом фиксируют, по каким аминокислотам биологическая ценность лимитирована, дают оценку средней величины избытка аминокислотного сора незаменимых аминокислот по сравнению с наименьшим уровнем сора конкретной аминокислоты; делают заключение о биологической ценности белковых продуктов.

Тезаурус

Выучите определения следующих терминов: биологическая ценность, аминокислотный скор, коэффициент утилитарности, незаменимые аминокислоты.

Список литературы.

1. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов.- М.: Колос, 2001
2. Введение в технологию продуктов питания. Лабораторный практикум /Г.М.Мелькина, О.М.Аношина, Л.А.Сапронова и др. – М.: КолосС, 2006
3. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Санитарные требования и нормы СанПиН 2.3.2.562-01. –м., 2002.

Лабораторная работа №2 Микробиологические показатели безопасности пищевой продукции

Цель занятия: изучить методы микробиологического контроля продовольственного сырья и пищевых продуктов.

План.

1. Гигиенические нормативы по микробиологическим показателям.
2. Санитарно-показательные микроорганизмы.
3. Условно-патогенные микроорганизмы.
4. Патогенные микроорганизмы.
5. Микроорганизмы порчи.

Вопросы для изучения.

1. Методы отбора проб.
2. Морфологические свойства основных групп микроорганизмов.
3. Культуральные свойства основных групп микроорганизмов.
4. Методы типизации микроорганизмов.

Задания.

Общие.

1. Изучить схему выявления санитарно-показательных микроорганизмов
2. Изучить схему бактериологического исследования мяса и мясных продуктов на наличие условно-патогенных микроорганизмов.
3. Изучить схему бактериологического исследования мяса и мясных продуктов на наличие патогенных микроорганизмов

Индивидуальные.

1. Произвести окраску мазков отпечатков.
2. Произвести посев на питательные среды.
3. Изучить морфологические и культуральные свойства.
4. Ответить на вопросы тестов.

Пищевые токсикоинфекции сальмонеллезной этиологии.

1. Токсикоинфекции возникают при попадании в организм:
 - а) токсинов инфекционной природы;
 - б) живых возбудителей, вырабатывающих токсины;
 - в) продуктов, содержащих токсины микробов.
2. Бактерии рода сальмонелл:
 - а) Гр - , подвижные палочки;
 - б) Гр - , подвижные палочки, образующие капсулы;
 - в) Гр+ неподвижные палочки.
3. Бактерии рода сальмонелл вырабатывают :
 - а) термостабильные эндотоксины;
 - б) термолабильные эндотоксины;
 - в) термостабильные экзотоксины.
4. Первичные сальмонеллезы - это:
 - а) заболевания впервые возникающие в хозяйстве;
 - б) заболевания, при которых основным этиологическим фактором являются сальмонеллы;

в) заболевания, возникающие у сальмонеллоносителей при инфекционных болезнях.

5. Вторичные сальмонеллезы - это:

а) заболевания повторно возникающие в хозяйстве;

б) заболевания, при которых основным этиологическим фактором являются

сальмонеллы;

в) заболевания, возникающие у сальмонеллоносителей при инфекционных болезнях.

6. Человек заболевает пищевой токсикоинфекцией при:

а) контакте с больными животными;

б) употреблении в пищу мясных продуктов, прошедших недостаточную

термическую обработку;

в) употреблении в пищу молочных продуктов и кремовых изделий;

7. Продукты, обсемененные сальмонеллами:

а) внешний вид не изменен;

б) имеют признаки порчи;

в) имеют запах тухлых яиц или плесени.

8. Обсеменение продуктов сальмонеллами наиболее часто регистрируется:

а) в целых тушах и крупных отрубях;

б) в фарше и мелкоизмельченном мясе;

в) в креме и кондитерских изделиях.

9. При выделении сальмонелл:

а) туши и внутренние органы утилизируют;

б) внутренние органы утилизируют, а туши обеззараживают проваркой или

направляют на изготовление колбас или консервов;

в) после зачистки выпускают свободно.

10. Клинические признаки сальмонеллеза у телят:

а) кашель, затрудненное дыхание;

б) некротические очаги в ротовой полости, покрытые фибринозными пленками;

в) профузные поносы, воспаление суставов.

Ответы: 1 -б; 2 -а; 3 - а; 4 - в; 5 - в; 6 -б; 7 - а; 8 - б; 9 - б; 10 - в.

Пищевые токсикоинфекции, вызываемые условнопатогенной микрофлорой.

1. Токсикоинфекции возникают при попадании в организм:

- а) токсинов инфекционной природы;
- б) живых возбудителей, вырабатывающих токсины;
- в) продуктов, содержащих токсины микробов.

2. Бактерии рода кишечной палочки:

- а) Гр - , подвижные палочки;
- б) Гр - , подвижные палочки, образующие капсулы;
- в) Гр⁺ неподвижные палочки.

3. Серотипизацию бактерий кишечной палочки проводят:

- а) по результатам биопробы;
- б) по О - антигену;
- в) по Н - антигену.

4. Бактерии рода кишечной палочки чаще попадают в продукты :

- а) эндогенным путем;
- б) экзогенным путем;
- в) воздушно-капельным путем.

5. Туши убойных животных чаще обсеменяются кишечной палочкой:

- а) при колибактериозе животных;
- б) при неправильной разделке туш;
- в) при совместной транспортировке туш больных и здоровых животных.

6. Колибактериоз регистрируется у животных:

- а) в первые дни жизни;
- б) в возрасте 2-3-х месяцев;
- в) у старых и переутомленных животных.

7. Человек заболевает пищевой токсикоинфекцией при:

- а) контакте с больными животными;
- б) употреблении в пищу мясных продуктов, прошедших недостаточную

термическую обработку;

- в) употреблении в пищу молочных продуктов и кремовых изделий;

8. Продукты, обсемененные протеем:

- а) внешний вид не изменен;

б) имеют признаки порчи;

в) имеют запах тухлых яиц или плесени.

9. При обнаружении в мясе и внутренних органах энтеропатогенных штаммов

кишечной палочки:

а) туши и внутренние органы утилизируют;

б) внутренние органы утилизируют, а туши обеззараживают проваркой или

направляют на изготовление колбас или консервов;

в) внутренние органы обезвреживают проваркой, а туши выпускают свободно.

10. При выделении энтеропатогенных штаммов кишечной палочки только из

внутренних органов:

а) туши и внутренние органы утилизируют;

б) внутренние органы утилизируют, а туши обеззараживают проваркой или

направляют на изготовление колбас или консервов;

в) внутренние органы обезвреживают проваркой, а туши выпускают свободно.

Ответы: 1 -б; 2 -а; 3 - б; 4 - б; 5 - б; 6 -а; 7 - б; 8 - в; 9 - б; 10 - в.

Пищевые токсикозы.

1. Стафилококки морфологически представляют собой:

а) шаровидные микроорганизмы, располагающиеся цепочкой;

б) шаровидные микроорганизмы, располагающиеся в виде гроздей;

в) палочки с закругленными концами.

2. Основной причиной токсикозов стафилококкового происхождения является:

а) загрязнение мяса содержимым ж.к.т.;

б) не удаление кишечника из туши позднее 2 часов с момента убоя;

в) молоко коров, больных маститом.

3. Пищевой токсикоз возникает при попадании в организм:

а) живых микроорганизмов, вырабатывающих токсины;

б) токсинов животного происхождения;

в) первичных продуктов белкового распада.

4. Стафилококковые токсины представляют собой:
- а) белки;
 - б) продукты распада белков;
 - в) углеводы.
5. Продукты с наличием стафилококков и их токсинов чаще:
- а) имеют признаки порчи;
 - б) имеют неприятный запах;
 - в) не меняют органолептических показателей.
6. При выделении из мяса и лимфоузлов токсигенных стафилококков:
- а) туши и внутренние органы утилизируют;
 - б) внутренние органы утилизируют, а туши направляют на проварку;
 - в) после зачистки выпускают свободно.
7. Готовые продукты, содержащие стафилококки:
- а) утилизируют;
 - б) направляют на повторную переработку;
 - в) выпускают для быстрой реализации.
8. Возбудитель ботулизма чаще попадает в продукты:
- а) при гнойных процессах;
 - б) при маститах;
 - в) из почвы.
9. Человек заболевает ботулизмом чаще :
- а) при употреблении в пищу мясорастительных консервов;
 - б) при употреблении кремовых и молочных изделий;
 - в) при употреблении мяса с недостаточной тепловой обработкой.
10. При выделении из мяса ботулинистического токсина:
- а) туши и внутренние органы утилизируют;
 - б) внутренние органы утилизируют, а туши направляют на проварку;
 - в) после зачистки выпускают свободно.

Ответы: 1 -б; 2 -в; 3 - б; 4 - а; 5 - в; 6 -б; 7 - а; 8 - в; 9 - а; 10 - а.

Методические указания.

Гигиенические нормативы по микробиологическим показателям определяются требованиями СанПиН 2.3.2.1078-01 и включают следующие группы микроорганизмов:

- санитарно-показательные, к которым относятся количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАн М), бактерий группы кишечной палочки (БГКП), бактерий семейства энтеробактериоцее, энтерококки;

- условно-патогенные микроорганизмы;

- патогенные микроорганизмы;

- микроорганизмы порчи;

- микроорганизмы заквасочной микрофлоры.

Нормирование микробиологических показателей безопасности пищевых продуктов осуществляется для большинства групп микроорганизмов по альтернативному принципу, т.е. нормируется масса продукта в которой не допускаются бактерии. В некоторых случаях норматив отражает количество колониеобразующих единиц в 1 гр (мл) продукта (КОЕ/г, мл).

1. Определение общего количества микроорганизмов в 1 г продукта

Сущность метода заключается в способности мезофильных аэробов и факультативных анаэробов расти на питательном агаре при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ с образованием колоний, видимых при увеличении в 5 раз. Метод не распространяется на сырокопченые колбасы.

Порядок проведения анализа. Для определения общего количества микроорганизмов микропипеткой берут $0,1 \text{ см}^3$ взвеси из верхнего слоя жидкости, выливают на середину стерильной чашки Петри и заливают $12\text{—}15 \text{ см}^3$ остуженного мясо-пептонного агара ($45\text{—}50 ^\circ\text{C}$), равномерно распределяя его по всей поверхности. Чашку помещают в термостат и спустя 48 ч подсчитывают общее количество колоний на поверхности среды и в глубине.

Мясо-пептонный агар расплавляют на водяной бане и охлаждают до температуры $45 ^\circ\text{C}$. Стерильные чашки Петри раскладывают на столе, подписывают наименование анализируемого продукта, дату посева и количество посеянного продукта.

Из каждой пробы должно быть сделано не менее двух посевов, различных по объему, взятых с таким расчетом, чтобы на чаш-

ках выросло от 30 до 300 колоний. При этом на одной чашке Петри проводят посев 0,1 г, а на другой — 0,01 г продукта.

Для посева 0,1 г продукта готовят первое разведение испытуемой взвеси: стерильной пипеткой с широким концом отбирают 5 см³ испытуемой взвеси, переносят ее в пробирку с 5 см³ стерильного физиологического раствора или пептонной воды. Конец пипетки должен быть опущен ниже поверхности раствора, не прикасаясь к стенкам пробирки, чтобы избежать смывания бактерий с наружной стороны. 1 см³ полученного раствора содержит 0,1 г испытуемого продукта.

Другой стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки продуванием, отбирают 1 см³ и переносят в стерильную чашку Петри, слегка приоткрывая крышку.

Для посева 0,01 г продукта готовят следующее разведение: стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки, отбирают 1 см³ и переносят в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора. 1 см³ испытуемого раствора вторичного разведения содержит 0,01 г испытуемого продукта. 1 см³ этого раствора переносят в стерильную чашку Петри так, как описано выше. При необходимости таким же образом готовят последующие разведения.

После внесения разведения анализируемой взвеси в чашки Петри последнюю заливают 12—15 см³ расплавленного и охлажденного питательного агара при фламбировании краев пробирки или бутылки, где он содержится. Быстро смешивают с мясопептонным питательным агаром, осторожно наклоняя или вращая чашку по поверхности стола. Необходимо избегать образования пузырьков воздуха, незалитых участков дна чашки Петри, попадания среды на края и крышку чашки.

Для того чтобы помешать развитию на поверхности агара спорообразующих микробов и бактерий группы протей в R-форме, допускается наслоение расплавленного и охлажденного до температуры 45—50 °С голодного агара толщиной 3—4 мм.

После застывания агара чашки Петри перевертывают и помещают в термостат температурой 37 °С на 48 ч. Затем подсчитывают общее количество колоний бактерий, выросших на чашках.

Колонии, выросшие как на поверхности, так и в глубине агар, подсчитывают при помощи лупы с пятикратным увеличением или специальным прибором с лупой. Для этого чашку кладут вверх дном на черный фон и каждую колонию отмечают со стороны дна тушью или чернилами для стекла.

Для определения общего количества микробов в 1 г продукта подсчитанное количество колоний умножают на степень разведения анализируемого продукта.

За окончательный результат определения количества бактерий в 1 г анализируемого продукта принимают среднее арифметическое результатов подсчета двух чашек разной массы продукта.

2. Определение бактерий группы кишечной палочки в 1 г продукта

Метод основан на способности бактерий группы кишечной палочки расщеплять глюкозу и лактозу. При этом в средах «ХБ», Хейфеца и КОДА образуются кислые продукты, меняющие цвет индикаторов, а в среде Кесслера в поплавке вследствие расщепления лактозы образуется газ.

Порядок проведения анализа. Для установления характера микрофлоры по 0,1 см³ взвеси наносят на поверхность мясопептонного агара и среды Эндо, равномерно распределив ее по всей площади. После суточного термостатирования изучают морфологию выросших колоний, а из подозрительных на кишечную палочку или на сальмонеллы готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. При необходимости идентификации микробов взвесь пересевают на среду накопления и типизируют по биохимическим и серологическим свойствам.

В пробирки, содержащие по 5 см³ среды «ХБ», среды Хейфеца двойной концентрации или среды КОДА, вносят стерильной пипеткой вместимостью 5—10 см³ с широким концом по 5 см³ испытуемой взвеси. Для анализа можно также использовать среду Кесслера (10 см³).

Пробирки со средами «ХБ», Кесслера, Хейфеца и КОДА помещают в термостат температурой (37 ± 0,5) °С на 18—20 ч.

Посевы смывов, отобранных тампонами с поверхности изделий без оболочки, выдерживают при температуре 43 °С (для обнаружения повторного бактериального загрязнения).

При росте бактерий группы кишечной палочки среды «ХБ» и КОДА окрашивают в желтый цвет, среда Хейфеца приобретает также желтый цвет, который может изменяться до салатно-зеленого, на среде Кесслера в поплавке образуется газ.

Для окончательного заключения о наличии в продукте бактерий группы кишечной палочки проводят высеивание со среды Кесслера (забродившие пробирки) или Хейфеца (с измененным цветом среды) в чашки Петри со средой Эндо или Плоскирева, или Левина. Чашки Петри помещают в термостат температурой 37 °С на 18—20 ч, после чего посеивания просматривают. На среде Эндо бактерии группы кишечной палочки образуют темно-красные колонии с металлическим блеском или розово-красные без блеска, на среде Плоскирева — кирпично-красные с глянцевой поверхностью, на среде Левина — темно-фиолетовые или фиолетово-черные блестящие колонии. Из подозреваемых колоний готовят мазки, которые окрашивают по Граму.

Специфическое изменение сред «ХБ» и КОДА не требует дальнейшего подтверждения.

При заведомо высокой обсемененности анализируемый продукт массой не более 0,25 г помещают в пустую пробирку, в которую закладывают комочек стерильной фильтровальной бумаги размером 5x5 см, и стерильной стеклянной палочкой или фламбированной проволокой проталкивают материал до дна (не уплотняя). В пробирку наливают среду «ХБ», КОДА или Хейфеца (нормальной концентрации), заполняя ее на 3/4 высоты пробирки. Последнюю помещают в термостат температурой 37 °С на 8—10 ч. При росте бактерий группы кишечной палочки на средах «ХБ» и КОДА среда изменяет свой цвет из фиолетово-пурпурного в желтый, на среде Хейфеца — из красно-фиолетового в желтый, который затем может меняться до салатно-зеленого.

Пробы, отобранные с поверхности изделий без оболочки тампонами, анализируют аналогично.

Обнаружение грамотрицательных не образующих спор палочек, специфически изменяющих цвет жидких дифференциально-диагностических сред и образующих характерные колонии на селективных средах с лактозой, указывает на наличие бактерий группы кишечной палочки.

3. Определение бактерий из рода *Salmonella*

Сущность метода заключается в определении характерного роста сальмонелл на элективных средах. При необходимости рекомендуется проводить идентификацию биохимических и серологических свойств.

Порядок проведения анализа. Навеску продукта массой 25 г, взятую из объединенной пробы, вносят во флакон Сокслета, содержащий 100 см³ среды обогащения (Мюллера, Кауфмана, хлористомagneйевой среды «М»). Жидкость во флаконе должна подняться до отметки 125 см. Флаконы тщательно встряхивают и помещают в термостат температурой 37 °С. Через 16—24 ч после тщательного перемешивания с помощью бактериологической петли (диаметр 0,4—0,5 мм) или пастеровской пипетки проводят высеивание из среды обогащения в чашки Петри с предварительно подсушенной средой Эндо, Плоскирева, Левина или Вильсона—Блера (по выбору).

Чашки с посевами помещают в термостат температурой 37 °С. Посевы, выращенные на средах Эндо, Плоскирева и Левина, просматривают через 16—48 ч, на висмут-сульфитном агаре — через 24—48 ч.

На среде Эндо бактерии из рода сальмонелл образуют бесцветные или с розовым оттенком колонии.

На среде БФА сальмонеллы образуют крупные, гладкие, красноватого оттенка прозрачные колонии (колонии сальмонеллы *Salm. typhi suis*, как и на среде Эндо, мелкие). Бактерии группы кишечной палочки образуют колонии желто-зеленоватого цвета. Бактерии группы протей дают рост через 72 ч.

На среде Плоскирева сальмонеллы растут в виде бесцветных колоний, но они более плотные и несколько меньшего размера, чем на среде Эндо.

На среде Левина сальмонеллы растут в виде прозрачных, бледных, нежно-розовых или розовато-фиолетовых колоний. На висмут-сульфитном агаре сальмонеллы растут в виде черных или коричневых колоний с характерным металлическим блеском. При этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией. Исключение составляют некоторые серологические типы из группы С, которые на этой среде растут в виде нежных светло-зеленых или крупных серовато-зеленых колоний.

Изолированные колонии, характерные для бактерий из рода *Salmonella*, пересевают на среду Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука штрихом по скошенной поверхности и уколом в столбик. Посевы помещают на 12—16 ч в термостат температурой 37 °С.

При росте бактерий из рода сальмонелл цвет скошенной поверхности среды Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука розовый, столбика — желто-бурый; газообразование устанавливают по наличию трещин и разрыву столбика агара, сероводородобразующие вызывают потемнение столбика.

Другие грамотрицательные бактерии дают следующие изменения цвета среды:

бактерии группы кишечной палочки — вся среда окрашивается в синий или сине-зеленый цвет с образованием газа или без него;

бактерии из группы протей — среда окрашивается в ярко-красный цвет, может образоваться черный осадок;

шигеллы и возбудители брюшного тифа — косяк окрашивается в розовый цвет, столбик — в синий или сине-зеленый.

Вместо среды Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука допускается посев на углеводные среды в короткий пестрый ряд, включая среды с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом и мальтозой, полужидкий агар уколом (для определения подвижности) и бульон Хоттингера (для определения образования индола и сероводорода).

Для дальнейшей идентификации бактерий готовят мазки, которые окрашивают по Граму, микроскопируют и изучают серологические свойства микроорганизмов путем постановки пробной агглютинации на предметном стекле с агглютинирующей адсорбированной поливалентной сальмонеллезной О-сывороткой. При получении положительной реакции на стекле с поливалентной сывороткой проводят идентификацию с помощью монорецепторных агглютинирующих О-сывороток.

Установив серологическую группу, к которой относятся исследуемые бактерии, с помощью //сывороток можно определить тип бактерий.

Обнаружение подвижных (кроме *S. pullorum* и *S. gallinarum*) грамотрицательных палочек, дающих характерный рост на элективных средах, не ферментирующих лактозу и сахарозу, ферментирующих глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа (*Salm. typhi suis* не ферментирует маннит), дающих положительную реакцию агглютинации с монорецепторными О- и Н-сальмонеллезными сыворотками, указывает на наличие бактерий из рода *Salmonella*.

4. Определение протей

Метод основан на определении морфологии и роста на питательных средах, способности гидролизовать мочевины и образовывать сероводород.

Порядок проведения анализа. Для определения присутствия протей вносят 0,1 см³ взвеси в конденсационную воду скошенного мясо-пептонного агара (по Шукевичу), термостатируют 18—24 ч и изучают полученную культуру.

Для подтверждения наличия протей в R-форме 0,5 см³ анализируемой взвеси вносят в конденсационную воду свежескошенного мясо-пептонного агара, разлитого в широкие пробирки, не касаясь поверхности среды (метод Шукевича). Пробирки помещают в термостат температурой 37 °С строго вертикально. Через 18—24 ч посева просматривают. Обращают внимание на образование ползучего вуалеобразного налета с голубым оттенком; на скошенном мясо-пептонном агаре культура поднимается из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды. При появлении характерного роста микробов рода *Proteus* окрашенные по Граму мазки микроскопируют и изучают подвижность микробов в «раздавленной» или «висячей капле».

Для обнаружения нероящихся O-форм можно проводить посев на поверхность среды Плоскирева. O-форма протей растет на этой среде в виде прозрачных колоний, слегка подщелачивающих среду, окрашивая ее в желтый цвет. После пересева на среду Крумвиде—Олькеницкого в модификации Ковальчука при наличии бактерий из группы протей среда окрашивается в ярко-красный цвет (вследствие расщепления мочевины) и может образовываться черный осадок с возможным разрывом агарового столбика (вследствие образования сероводорода).

Обнаружение в среде полиморфных грамотрицательных палочек, образующих характерный рост на средах в R -форме (подвижные) и O-форме (неподвижные), ферментирующих глюкозу и мочевины и не ферментирующих лактозу и маннит, указывает на наличие бактерий из рода *Proteus*.

5. Определение коагулазоположительных стафилококков Сущность метода заключается в определении морфологии, характера роста на питательных средах и в способности отдельных стафилококков продуцировать лецитиназу и коагулировать цитратную плазму крови кролика под воздействием фермента коагулазы.

Порядок проведения анализа. Из разведения анализируемой взвеси продукта (1 : 10) в физиологическом растворе или пептонной воде для выявления пигмента проводят посевы на молочно-солевой агар, содержащий 6,5 % хлорида натрия, или желточно-солевой агар, содержащий 6,5 % хлорида натрия, для выявления лецитиназной активности.

Взвесь объемом 0,2 см³ наносят на поверхность агара и равномерно растирают по всей поверхности агаровой среды.

Посевы термостатируют в течение 24 ч при температуре 37 °С и в течение 24 ч выдерживают при комнатной температуре.

На поверхности питательной среды колонии стафилококка имеют вид плоских или слегка выпуклых блестящих колоний с ровным краем. При этом на молочно-солевом агаре лучше проявляется пигмент (эмалево-белый или золотистый), а на желточно-солевом агаре колонии стафилококков могут образовывать радужный венчик, что является одним из признаков их патогенности.

Из подозрительных колоний готовят препараты, которые окрашивают по Граму. При наличии стафилококков в препарате грамположительные мелкие кокки располагаются в виде неправильных гроздьев.

Для подтверждения признаков патогенности стафилококков ставят реакцию плазмокоагуляции. В пробирку с 0,5 см³ цитратной плазмы крови кролика, разведенной физиологическим раствором в соотношении 1 : 4, вносят петлю чистой суточной культуры стафилококка и ставят в термостат при температуре 37 °С. Результаты

реакции плазмокоагуляции фиксируют через 3—4 ч (не встряхивая пробирку) и оставляют в термостате на сутки для окончательного заключения.

Для постановки реакции плазмокоагуляции можно использовать также сухую цитратную плазму крови кролика.

Реакцию считают положительной, если плазма коагулируется в сгусток.

Для определения количества стафилококков учитывают колонии стафилококков, давшие положительную реакцию плазмокоагуляции. При расчете на 1 г продукта количество подсчитанных колоний умножают на степень разведения и на количество посевного материала.

5. Определение сульфитредуцирующих клостридий

Сущность метода заключается в специфическом росте клостридий перфригненс в средах СЦС и Вильсона—Блера, на которых в результате восстановления сульфита натрия в сульфат натрия происходит взаимодействие с хлоридом железа и фиксируется почернение среды за счет сульфида железа.

Порядок проведения анализа. Анализируемую взвесь объемом 1 см³ стерильной пипеткой вносят в пробирку с 9 см³ жидкой сульфит-цикloserиновой среды (среды Вильсона—Блера), затем проводят последовательные пересевы на аналогичные объемы среды, в результате чего получают возрастающие десятикратные разведения суспензии. Инкубируют в течение 8—12 ч при 46 °С. При наличии роста сульфитвосстанавливающих клостридий фиксируют почернение среды.

Почернение среды Вильсона—Блера могут вызвать многие эн-теробактерии. Для подтверждения роста сульфитвосстанавливающих клостридий используют пересев в пробирки со средой Кит-та—Тароцци, предварительно прогретой в течение 25 мин в водяной бане при температуре кипения и быстро охлажденной до 45 °С. Термостатирование посевов проводят при (37 ± 0,5) °С, ежедневно в течение 5 сут проверяя в них помутнение среды, выделение газа, появление постороннего запаха, иногда разложение кусочков печени. Сразу после появления признаков роста готовят микроскопический препарат. Для этого материал берут пастеров-

ской пипеткой со дна пробирки. При микроскопировании отмечают грамположительные палочки, образующие овальные споры.

У спорообразующих грамположительных микроорганизмов выявляют каталазную активность с помощью раствора пероксида водорода концентрацией 30 г/дм³. Отсутствие пузырьков газа при добавлении к капле культуральной жидкости такого же объема раствора пероксида водорода позволяет считать, что в посевах присутствуют микроорганизмы из рода клостридий.

При отсутствии спор в микроскопическом препарате положительной пробы на каталазу и наличии в посевах смешанной микрофлоры 1—2 капли накопительной среды переносят в стерильную чашку Петри и заливают расплавленной и охлажденной до 45 °С средой Вильсона—Блера. Застывшую поверхность плотной среды заливают холодным агаром. Посевы термостатируют в течение 24—48 ч при (37 ± 0,5) °С. Появление в нижнем слое агара черных или коричневых колоний свидетельствует о присутствии в посевах сульфитвосстанавливающих клостридий.

За положительный титр клостридий (сульфитвосстановителей) принимают то максимальное разведение суспензий, в посеве которого произошло почернение среды. Например, если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10⁻¹, то считают, что в исследуемом продукте будет 10 (или 1 • 10¹) клеток в 1 г; если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10⁻², то считают, что в исследуемом продукте 100 (или 1 • 10²) микробных клеток в 1 г.

Результаты бактериологического исследования колбасных и мясных изделий оформляют в виде протокола, форма которого представлена ниже. При этом фиксируют морфологические и культуральные признаки выявленных микроорганизмов, сопоставляют результаты исследований с требованиями соответствующей нормативной документации, дают обоснованную оценку состояния мясных продуктов.

Тезаурус.

Мазок-отпечаток, фиксация, бактериоскопия, бактериология, чистая культура, морфологические свойства, культуральные свойства, типизация, дифференциация, среды Гисса, серовариант, агглютинация, преципитация, биопроба.

Список литературы.

1. Артемьева С.А. и др. Микробиологический контроль мяса животных, птицы, яиц и продуктов их переработки: справочник. - М.: Колос, 2002.
2. ГОСТ 2137-75. Мясо. Методы бактериологического анализа.
3. Методические указания «Лабораторная диагностика сальмонеллезов человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды».-М.: МЗ СССР, 1990.
4. Практикум по ВСЭ с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства, Под ред. Макарова В.А.-М.: Агропромиздат, 1991.
5. СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы.
6. Сидоров М.А., Корнелаева Р.П. Микробиология мяса и мясопродуктов. - М.: Колос, 1998.

Лабораторная работа №3 Определение тяжелых металлов

Цель занятия: освоить методы подготовки проб, качественного и количественного определения токсичных элементов в мясе, вторичных продуктах убоя скота, мясных изделиях.

План:

1. Определению токсичных элементов способами сухой, мокрой минерализации и кислотной экстракции.
 - 1.1. Подготовка проб.
 - 1.2. Определение свинца.
 - 1.3. Определение меди.
 - 1.4. Определение цинка.
2. Определение токсичных элементов колориметрическим методом.

Вопросы для изучения.

1. Определение токсичных элементов способами сухой, мокрой минерализации и кислотной экстракции.
2. Определение массовой доли тяжелых металлов и мышьяка в мясных продуктах колориметрическим методом.

Методические указания.

Лабораторная работа по определению токсикантов является комплексной и включает в себя несколько этапов, каждый из которых может использоваться как самостоятельно, так и в комплексе. Тяжелые металлы и мышьяк в биологических объектах прочно связаны с белками. Для их определения необходимо разрушить эти комплексы (альбуминаты). Цель достигается сухой, мокрой минерализацией или кислотной экстракцией (в случае анализа жировых продуктов) исследуемого материала.

Способ сухой минерализации основан на полном разложении органических веществ путем сжигания образца сырья или продукта в электропечи при контролируемом температурном режиме. Этот способ рекомендуется использовать при подготовке проб всех видов мясного сырья и продуктов, кроме жиров, для определения содержания свинца, кадмия, меди, цинка методом атомно-абсорбционной спектрометрии.

Способ мокрой (кислотной) минерализации основан на полном разрушении органических веществ пробы продукта при нагревании с серной и азотной концентрированными кислотами с добавлением хлорной кислоты или пероксида водорода и может быть использован для исследования всех видов мясного сырья и продуктов, кроме животных жиров.

Способ мокрой минерализации применяется при подготовке проб для качественных реакций обнаружения свинца и цинка, качественного и количественного определений мышьяка, определения олова в мясном сырье и продуктах, за исключением жировых, а также для определения содержания меди во всех видах продуктов, включая жиры.

Каждый из способов имеет свои преимущества и недостатки.

При мокром озолении все металлы без потерь переходят в раствор, однако для пищевых продуктов, содержащих большое ко-

личество органических веществ и имеющих незначительную зольность, приходится брать достаточно большую навеску (10—20) г. Расход кислоты для обугливания оказывается достаточным, чтобы внести в анализируемый раствор дополнительное количество минеральных элементов, а это влияет на количественные результаты.

Поэтому для многих пищевых продуктов лучше применять осторожное сухое озоление. Хорошие результаты дает применение для предварительного обугливания инфракрасной лампы мощностью 250 или 500 Вт. Озоление проводят при температуре 450—550 °С до постоянной массы. Остаток растворяют в 1—2 см³ соляной кислоты, добавляют 3—5 см³ дважды дистиллированной воды и нагревают до растворения. Раствор переносят в колбу вместимостью 50 см³ и доводят водой до метки. При температуре озоления не выше 550 °С сохраняются следующие элементы: натрий, калий, кальций, магний, железо, цинк, медь, кобальт, марганец и олово. В незначительных количествах происходят потери таких элементов, как свинец, серебро и мышьяк.

При неполном обугливании медь и железо адсорбируются углеродом и полностью не экстрагируются. Если зола имеет кислую реакцию и продукт богат фосфорными соединениями, то осадок растворяют в соляной кислоте, отфильтровывают и остаток дополнительно обугливают. Щелочная зола может взаимодействовать с керамикой тигля и образовывать нерастворимые кремнистые соединения. Поэтому для озоления пищевых продуктов лучше использовать платиновые или кварцевые тигли. При исследовании минерального состава животных жиров сухое озоление приводит к значительным потерям меди и железа.

Способ кислотной экстракции (неполной минерализации) основан на экстракции токсичных элементов из пробы продукта при кипячении с разбавленными растворами соляной или азотной кислоты. Способ может быть использован при подготовке проб для определения содержания в животных жирах меди колориметрическим методом, а также других токсичных элементов методами атомно-абсорбционной спектроскопии и вольтамперометрии.

При высоком содержании токсичных металлов и мышьяка в мясе и продуктах убоя животных их присутствие можно обнару-

жить при проведении с минерализатом несложных качественных цветных или других специфических реакций.

Методы качественного обнаружения свинца в минерализате основаны на его растворении в ацетате аммония с последующей постановкой цветной реакции с дитизоном или микрокристаллоскопических реакций.

Метод выявления меди основан на экстрагировании ее из минерализата хлороформом в виде диэтилдитиокарбамината меди, последующего вытеснения из этого соединения в водный слой ртутью, где она и обнаруживается соответствующими цветными реакциями.

Метод обнаружения цинка основан на экстракции цинка из минерализата хлороформом, связывании ионов кадмия и меди (мешающих обнаружению цинка) тиосульфатом натрия или мочевиной, образовании окрашенного соединения цинка с дитизоном — дитизоната цинка.

Практическое значение имеют и различные колориметрические методы определения токсичных элементов.

Например, колориметрический метод определения ртути основан на деструкции анализируемой пробы мяса или мясных продуктов смесью азотной и серной кислот, осаждении ртути иодидом меди и последующем колориметрическом определении в виде тетраиодомеркурата меди путем визуального сравнения со стандартной шкалой. Минимальная определяемая масса ртути составляет 0,15 мкг в колориметрируемом объеме пробы.

Фотоколориметрические методы определения меди и мышьяка в мясе и мясных продуктах основаны на минерализации пробы и последующем измерении интенсивности окраски раствора соответствующего комплексного соединения: меди — с диэтилдитиокарбаматом натрия (желтого цвета), мышьяка — с диэтилдитиокарбаматом серебра в хлороформе.

Минимальная масса токсичных элементов в колориметрируемом объекте, определяемая фотоколориметрическими методами, составляет: меди 5 мкг, мышьяка 2,5 мкг при использовании поглощающего раствора с моноэтаноламином и 5 мкг — с уротропином.

Подготовка проб. Состоит в тщательном измельчении навески исследуемого сырья или продукта массой 100—250 г и последующей минерализации.

Рекомендуемая масса навески для качественного обнаружения токсичных элементов 100 г.

Реакции качественного обнаружения токсичных элементов Минерализация проб

Материалы, реактивы и оборудование. Колба Кьельдаля вместимостью 500 см³; лабораторный штатив; электроплитка или газовая горелка; ступка; фарфоровая луночка; пинцет, ножницы; делительная воронка; стакан вместимостью 200 см³; мерная колба вместимостью 200 см³; мерный цилиндр вместимостью 100 см³; пипетка; бумажный фильтр; концентрированные серная и азотная кислоты; разбавленная азотная кислота (1 :1); формалин; раствор хлорной кислоты массовой долей 42 %; раствор дифениламина в серной кислоте (0,5 г дифениламина растворяют в смеси, состоящей из 100 частей х. ч. концентрированной серной кислоты и 20 частей дистиллированной воды).

Порядок проведения анализа. Навеску исследуемого материала массой 100 г тщательно измельчают в ступке, помещают в колбу Кьельдаля и приливают по 25 см³ дистиллированной воды, концентрированных азотной и серной кислот (можно заранее приготовить смесь из этих ингредиентов и прилить сразу 75 см³). Для ускорения минерализации добавляют 25 см³ раствора хлорной кислоты массовой долей 42 %. При отсутствии хлорной кислоты минерализацию можно проводить и без нее. Колбу закрепляют в лабораторном штативе в вертикальном положении, над ней фиксируют делительную воронку с разбавленной азотной кислотой (1: 1). После прекращения вспенивания колбу нагревают на газовой горелке или плитке (при постепенном усилении нагревания) до начала потемнения жидкости. Затем при постоянном нагревании по каплям добавляют разбавленную азотную кислоту, пока содержимое колбы не станет бесцветным и не будет изменяться по цвету при добавлении HNO₃. После этого продолжают нагревание без добавления HNO₃ до появления белых паров SO₂. Далее колбу охлаждают и ее содержимое переносят в стакан вместимостью 200 см³, несколько раз сполоснув водой.

Наличие оксидов азота в минерализате, мешающих дальнейшему исследованию, определяют при помощи раствора дифениламина в серной кислоте. В фарфоровой луночке каплю минерализата смешивают с раствором дифениламина. В присутствии окислов азота появляется синее окрашивание, которое исчезает при добавлении формалина. К нагретому до кипения минерализату по каплям приливают формалин до прекращения выделения пузырьков газа. Окончание денитрации определяют пробой с дифениламином. Остатки формалина удаляют нагреванием жидкости в течение 5—10 мин. Остывшую жидкость разбавляют водой до 180—190 см³ и оставляют на 18—20 ч при комнатной температуре. Свинец и барий в виде сульфатов выпадают в осадок. Его отфильтровывают на бумажном фильтре. Фильтрат в мерной колбе доводят водой до 200 см³ и исследуют на содержание токсичных элементов (медь, цинк, мышьяк и др.).

При небольшой массе исследуемого материала можно брать 25 или 50 г, соответственно уменьшив объем реактивов, используемых для минерализации.

Определение свинца

Материалы, реактивы и оборудование. Бумажный фильтр с осадком, полученным после фильтрования минерализата; микроскоп; спиртовка; колба; пробирки; предметные стекла; глазные пипетки; раствор ацетата аммония (насыщенный раствор ацетата аммония разбавляют равным объемом воды и на 1 дм³ раствора добавляют 30 см³ ледяной уксусной кислоты); раствор серной кислоты молярной концентрацией 0,81 моль/дм³; раствор дитизона в хлороформе массовой долей 0,01 %; раствор уксусной кислоты массовой долей 30 %; хлорид цезия; иодид калия; нитрит калия; раствор ацетата меди массовой долей 1 %.

Порядок проведения анализа. Бумажный фильтр с осадком, полученным после фильтрования минерализата, промывают 15—20 см³ раствора H₂SO₄ молярной концентрацией 0,1 моль/дм³, а затем 10 см³ воды (жидкость не собирают). Осадок на фильтре обрабатывают кипящим раствором ацетата аммония (от 0,5 до 10 см³ в зависимости от массы осадка). Сульфат свинца растворяется и переходит в фильтрат, который собирают в пробирку.

Реакция с дитизоном. В пробирке смешивают встряхиванием 1—2 см³ фильтрата с равным объемом раствора дитизона в хлороформе массовой долей 0,01 %. При наличии свинца (рН 7—10) слой органического растворителя окрашивается в пурпурно-красный цвет.

Микрокристаллические реакции. По 0,5 см³ фильтрата распределяют на двух предметных стеклах и упаривают на пламени спиртовки.

1. К остатку добавляют 2—3 капли раствора уксусной кислоты массовой долей 30 %. С одной стороны капли вносят 2—3 кристаллика хлорида цезия, а с другой — несколько кристаллов иодида калия. При наличии свинца через несколько минут под малым увеличением микроскопа обнаруживают желто-зеленые игольчатые кристаллы, часто собранные в пучки и сфероиды.

К остатку прибавляют 1—2 капли раствора ацетата меди массовой долей 1 %, упаривают досуха и наносят 2—3 капли раствора уксусной кислоты массовой долей 30 %. На край капли помещают несколько кристаллов нитрита калия. При наличии свинца через несколько минут под микроскопом выявляются черные или коричневые кристаллы в виде кубов.

Определение меди

Материалы, реактивы и оборудование. Фильтрат минерализата (после отделения сульфатов цинка и бария); лабораторный штатив; делительная воронка; колба; пробирки; раствор гидроксида аммония NH₄OH массовой долей 25 %, тетрароданомеркурат аммония (5 г хлорида ртути и 5 г роданида аммония растворяют в 6 см³ воды); спиртовой раствор 2,4-динитро-фенола массовой долей 1 % (индикатор); раствор ферроцианида калия массовой долей 5 %; раствор хлорида кадмия массовой долей 2 %; раствор соляной кислоты молярной концентрацией 6 моль/дм³; раствор хлорида ртути HgCl₂ массовой долей 1 %; хлороформный раствор диэтилдитиокарбамата свинца Рb(ДДТК)₂; хлороформ, сульфат цинка.

Приготовление реактивов. Хлороформный раствор диэтилдитиокарбамата свинца (РbДДТК). 0,5 г ацетата свинца растворяют в воде, добавляют 25 см³ раствора нитрата калия массовой долей 10 % и 0,5 г растворенного в воде Ш(ДДТК). Образовавшийся белый осадок [Рb (ДДТК),] экстрагируют хлороформом; водный рас-

твор, свободный от белого осадка $[Pb (ДДТК)_2]$, отбрасывают, а хлороформный слой фильтруют, после чего к нему добавляют хлороформ, доводя объем до 250 см^3 .

Порядок проведения анализа. В делительную воронку помещают 10 см^3 минерализата, прибавляют несколько капель спиртового раствора 2,4-динитрофенола массовой долей 1 % и по каплям раствор гидроксида аммония массовой долей 25 % до появления желтого окрашивания. Приливают 5 см^3 хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца и энергично встряхивают. Хлороформный слой окрашивается от желтого до коричневого цвета (возможно, за счет естественного содержания меди в мясе и органах). Хлороформный экстракт промывают раствором соляной кислоты молярной концентрацией 6 моль/дм³, а затем дистиллированной водой. Добавляют к нему по каплям (периодически встряхивая) раствор хлорида ртути ($0,5—1 \text{ см}^3$) массовой долей 1 % до обесцвечивания. Приливают $0,5—1 \text{ см}^3$ воды, встряхивают и отделяют водный слой. Делят его на две равные части, переносят в пробирки и проводят две реакции.

В первую пробирку добавляют 0,2 г сульфата цинка и несколько капель раствора тетрароданомеркурата аммония. При наличии меди осадок окрашивается в розово-лиловый цвет.

Во вторую пробирку вносят 10 капель раствора хлорида кадмия массовой долей 2 % и 1—2 капли раствора ферроцианида калия массовой долей 5 %. При наличии меди осадок окрашивается влиловый цвет.

Определение цинка

Материалы, реактивы и оборудование. Универсальная индикаторная

бумага; насыщенный раствор тиомочевины или насыщенный раствор тиосульфата натрия; ацетатный буфер (смесь 4,2 г ацетата натрия и 3,2 г уксусной кислоты, доведенная до 1 дм дистиллированной водой); раствор дитизона в хлороформе массовой долей 0,01 %; хлороформ; раствор гидроксида калия (или натрия) массовой долей 10 %.

Порядок проведения анализа. В пробирку вносят $0,5 \text{ см}^3$ минерализата-, прибавляют $0,25 \text{ см}^3$ насыщенного раствора тиосульфата натрия (или тиомочевины) для связывания ионов кадмия, по

каплям добавляют раствор гидроксида калия массовой долей 10 % до рН смеси 5,0—5,5 (рН устанавливают по универсальной индикаторной бумаге). Добавляют 1 см³ ацетатного буфера, 2—3 капли раствора дитизона в хлороформе массовой долей 0,01 % и 1 см хлороформа. Смесь энергично встряхивают. При наличии цинка зеленый цвет хлороформного слоя переходит в розовый или красно-фиолетовый (в зависимости от его количества)

Количественное определение токсичных элементов колориметрическими методами

Определение меди с диэтилдитиокарбаматом натрия

Материалы, реактивы и оборудование. Весы лабораторные; баня водяная; фотоэлектроколориметр; часы песочные на 1 мин; штатив химический; воронки делительные; колбы мерные вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см³; пипетки; палочки стеклянные; стаканы, цилиндры мерные вместимостью 250 и 500 см³; эксикатор; вода дистиллированная; разбавленный раствор аммиака (2:3 по объему); цитрат аммония; разбавленная соляная кислота (1:1 по объему)- раствор диэтилдитиокарбамата натрия концентрацией 10 г/дм³ (хранят не более 7 сут в посуде из темного стекла); сульфат меди, дважды перекристаллизованный и высушенный в эксикаторе до постоянной массы; хлороформ или четыреххлористый углерод; трилон Б; этанол; раствор фенолфталеина в этаноле концентрацией 10 г/дм³; фильтры обеззоленные; серная кислота плотностью 1,84 г/см³; основной раствор меди концентрацией 1 мг/см³; смешанный раствор трилона Б и цитрата аммония.

Приготовление реактивов. Основной раствор меди концентрацией 1 мг/см³. Сульфат меди дважды перекристаллизовывают и высушивают в эксикаторе до постоянной массы. Навеску сульфата меди массой 3,929 г растворяют дистиллированной водой в мерной колбе вместимостью 1000 см³, добавляют 1 см³ серной кислоты плотностью 1,84 г/см³ и доводят объем водой до метки.

Смешанный раствор трилона Б и цитрата аммония. 100 г цитрата аммония и 25 г трилона Б, взвешенных с погрешностью не более ±0,1 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 см³, растворяют и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Содержимое колбы перемешивают. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 1000 см³, добавляют 0,5 см³ рас-

творя диэтилдитиокарбамата натрия и 50 см³ растворителя (хлороформа или четыреххлористого углерода). Воронку интенсивно встряхивают в течение 1 мин и оставляют в покое до разделения слоев. Нижний слой сливают и отбрасывают. В делительную воронку вносят 50 см³ растворителя, встряхивают в течение 1 мин и после разделения слоев нижний слой сливают и отбрасывают. Последнюю операцию повторяют до получения бесцветного нижнего слоя. Раствор хранят не более 2 мес.

Порядок проведения анализа. Зола, приготовленную сухой минерализацией (см. 4.1.1), растворяют в 5 см³ разбавленной (1 : 1 по объему) соляной кислоты, нагревая на водяной бане при температуре кипения.

При ожидаемом содержании меди в растворе золы, большем чем 40 мкг, его количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³ и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки; при ожидаемом содержании меди в растворе золы, меньшем 40 мкг, раствор золы используют для последующего испытания целиком, без дополнительного разведения.

В каждую делительную воронку вносят 10 см³ смешанного раствора цитрата аммония и трилона Б, две капли раствора фенолфталеина, раствор перемешивают, нейтрализуют, добавляя по каплям раствор аммиака до появления окраски, охлаждают и объем доводят дистиллированной водой до 100 см³. Затем в делительные воронки вводят 2 см³ раствора диэтилдитиокарбамата натрия концентрацией 10 г/дм³ и 15 см³ растворителя (хлороформа или четыреххлористого углерода). Воронки интенсивно встряхивают в течение 1 мин и оставляют в покое до разделения слоев. Нижний слой сливают в мерную колбу вместимостью 25 см³. В делительные воронки вливают 10 см³ растворителя, встряхивают в течение 1 мин и после разделения слоев нижний слой сливают в ту же мерную колбу. В случае необходимости объем раствора в колбе доводят до метки с помощью растворителя и перемешивают. Контрольный раствор готовят аналогично, без введения раствора меди. Содержимое колб с растворами сравнения и контрольным раствором фильтруют через сухой бумажный фильтр в кюветы. Оптическую плотность растворов сравнения измеряют по отношению к контрольному раствору на фотоэлектроколориметре при $X = (440 \pm 5)$

нм или на спектрофотометре при длине волны $\lambda = 440$ нм в кюветках с расстоянием между гранями соответственно 20 и 10 мм. При анализе жировых продуктов расстояние между гранями кювет должно быть соответственно 50 и 20 мм.

При определении меди в растворах с ожидаемым содержанием в них меди, большим 40 мкг, в делительную воронку вместимостью 250 см³ вносят аликвотный объем испытуемого раствора, содержащий от 10 до 40 мкг меди, и добавляют реактивы в той же последовательности, что и в раствор сравнения; при определении меди в растворах с ожидаемым содержанием в них меди, меньшим 40 мкг, содержимое колбы Кьельдаля или чашки с раствором золы количественно переносят в делительную воронку вместимостью : 250 см³ с помощью дистиллированной воды.

Контрольный раствор готовят из контрольной пробы аналогично. Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют по отношению к контрольному раствору.

По полученному значению оптической плотности с помощью калибровочного графика находят массу меди.

Содержание меди X_x (мг/кг) или массовую концентрацию X_2 (мг/дм³) при анализе растворов с использованием объема, взятого для анализа, вычисляют по формулам.

Тезаурус

Токсичные элементы, сухая минерализация, кислотная минерализация, колориметр, атомно-абсорбционный спектрометр, полярограф, буферная смесь, стандартный раствор, калибровочный график.

Список литературы.

1. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов.-М.: Колос, 2001
2. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Титрометрические методы анализа. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1986
3. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Оптические методы анализа. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1989

4. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Хроматографические методы анализа. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2000

Лабораторная работа №4 Определение пестицидов

Цель занятия: Освоить методы контроля остаточных количеств пестицидов в мясе, вторичных продуктах убоя скота и мясных продуктах.

План

1. Определение наличия хлорорганических пестицидов (ХОП) хроматографией в тонком слое (ТСХ)
2. Определение фосфорорганических пестицидов (ФОП) энзимохроматографией.

Вопросы для изучения.

1. Контроль остаточных количеств ХОП, ФОП и их метаболитов в мясе и мясных продуктах, на соответствие санитарно-гигиеническим нормам.
2. Сущность метода тонкослойной хроматографии
3. Сущность энзимохроматографического метода

Задания

Общие

1. Ознакомиться с устройством приборов.
2. Подготовить пробы для проведения анализа.
3. Определить остаточные количества пестицидов.

Индивидуальные.

1. Заполнить таблицу.
2. Определить порядок реализации продуктов в зависимости от ПДУ

Методические указания.

В соответствии с требованиями безопасный уровень содержания хлорорганических пестицидов (ДДТ и его метаболитов, гексахлорциклогексана) в продукте должен составлять не более 0,1 мг/кг продукта, а предельно допустимая концентрация большин-

ства хлорорганических, фосфорорганических и триазиновых пестицидов — 0,01 — 1 мг/кг продукта.

Метод ТСХ для определения остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах считается перспективным с точки зрения экспрессности и избирательности. Его широко используют для контроля за остаточным содержанием пестицидов в пищевом сырье и готовой продукции.

Метод основан на экстрагировании препаратов из исследуемого материала органическими растворителями, очистке экстрактов и последующем хроматографировании в тонком слое сорбентов. Подвижным растворителем служит гексан или гексан в смеси с ацетоном. Места локализации пестицидов обнаруживают после опрыскивания пластинок раствором аммиака серебра с последующим ультрафиолетовым облучением пластинок «Силуфол», содержащих о-толуидин. Количественное определение проводят визуальным сравнением или измерением площадей пятен пробы и стандартных растворов. Этим методом можно определить ДДТ, гексахлоран, альдрин, кельтан, гептахлор, метоксихлор, эфирсульфонат и другие препараты. Наименьшее содержание пестицида, выявляемое в мясе, органах и жире, 0,02 мг/кг.

Определение ФОП энзимохроматографическим методом (метод М. В. Письменной) основано на экстрагировании ФОП из исследуемой пробы органическим растворителем, очистке экстракта охлажденным ацетоном и определении препарата на пластинке методом хроматографии в тонком слое с ферментным проявлением без активации или после активации. Фосфорные (ДДВФ, дибром и др.) и тиофосфорные эфиры (рицид, циодрин и др.) определяют без активации, а тиофосфорнокислые эфиры (метафос, метилнитрофос, пиразофос и др.), дитиофосфаты (карбофос, фталофос, фозалон, рогор и др.) и эфиры фосфорной кислоты (хлорофос) необходимо предварительно активировать. Препараты, угнетающие холинэстеразу, проявляются в виде белых пятен на голубом фоне.

Определение хлорорганических пестицидов методом ТСХ

Материалы, реактивы и оборудование. Пластинки для хроматографии; хроматографическая камера (можно использовать эксикатор); прибор для отгонки растворителей; ртутно-кварцевая лампа ПРК-4; баня водяная; пульверизатор стеклянный для опрыскивания

пластинок; прибор для встряхивания; микропипетки для нанесения стандартных растворов; пипетка или шприц для нанесения пробы; хроматографическая колонка размером 20 x 400 мм; ступка; ножницы; колбы с притертыми пробками вместимостью 250 и 500 см³; воронка диаметром 6 см; круглодонная колба со шлифом вместимостью 250—300 см³; цилиндры мерные вместимостью 50 и 100 см³; пипетки вместимостью 1, 5 и 10 см³; чашки для выпаривания; сульфат натрия безводный; гексан; петролейный эфир (температура кипения 40—70 °С); диэтиловый эфир; бензол; ацетон; стандартные образцы гексахлорана, гептахлора, эфирсульфоната и др.; стандартные растворы ядохимикатов; проявляющие реактивы № 1 или 2.

Приготовление растворов и реактивов. Стандартные образцы гексахлорана, гептахлора, эфирсульфоната и других ядохимикатов. 10 мг пестицида растворяют в гексане в мерной колбе вместимостью 100 см³ и доводят до метки этим же растворителем. Хранят в стеклянной посуде с притертыми пробками в холодильнике.

Проявляющий реактив №1. 0,5 г нитрата серебра растворяют в 5 см⁵ дистиллированной воды, прибавляют 7 см³ аммиака и доводят объем раствора до 100 см³ ацетоном. В готовый раствор добавляют 0,2 см³ пероксида водорода. Раствор хранят в колбе с притертой пробкой в течение 3 сут. Расход раствора на пластинку размером 9 x 12 см — 8—10 см³.

Проявляющий реактив №2. 0,5 г нитрата серебра растворяют в 5 см³ дистиллированной воды, прибавляют 10 см³ 2-феноксиэтанола и доводят объем раствора ацетоном до 200 см³, затем добавляют 6 капель раствора пероксида водорода массовой долей 30 %.

Подготовка проб. Навеску мяса массой 20 г тщательно измельчают в ступке ножницами, смешивают с безводным сульфатом натрия и помещают в колбу с притертой пробкой. Экстрагируют в течение 1,5 ч при встряхивании, дважды приливая по 50 см³ смеси гексана (или петролейного эфира) с ацетоном 1:1.

Подготовка хроматографической колонки. В нижнюю часть колонки помещают стекловату или 500 мг обезжиренной ваты, засыпают 70 см³ силикагеля АСК, уплотняют его постукиванием по колонке, промывают 50 см³ гексана или петролейного эфира.

Порядок проведения анализа. Экстракт фильтруют через воронку с бумажным фильтром, заполненным на $2/3$ безводным сульфатом натрия. Растворитель отгоняют, а сухой остаток растворяют в 20 см^3 гексана и переносят в хроматографическую колонку. После впитывания экстракта в сорбент пестициды элюируют 110 см^3 смеси бензола с гексаном в соотношении $3 : 8$ порциями по $25\text{—}30 \text{ см}^3$. Элюат собирают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью $250\text{—}300 \text{ см}^3$. Через 10 мин после впитывания последней порции растворителя сорбент отжимают с помощью груши. Элюат отгоняют до объема $0,1 \text{ см}^3$.

Для хроматографирования используют пластинку заводского изготовления типа «Силуфол» или готовят накануне с использованием в качестве сорбента оксида алюминия или силикагеля КГК. Пластинки «Силуфол» обрабатывают о-толуидином. Для этого их погружают в раствор о-толуидина в ацетоне массовой долей $0,1 \%$, налитого в камеру для хроматографирования. После того как фронт растворителя поднимется до верхнего края пластинок, их вынимают и сушат на воздухе. Хранят в эксикаторе.

На хроматографической пластинке на расстоянии $1,5 \text{ см}$ от края отмечают линию старта (на которую наносят растворы, подлежащие разделению), а на расстоянии 10 см от нее — линию фронта растворителей (до которой должен подняться растворитель в процессе хроматографирования).

На стартовую линию шприцем или пипеткой наносят экстракт в одну точку так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см . Остаток экстракта в колбе смывают тремя порциями (по $0,2 \text{ см}^3$) диэтилового эфира, которые наносят в центр первого пятна (после высыхания). Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные растворы, содержащие 10 , 5 и 1 мкг исследуемых препаратов. Хроматографическую камеру насыщают парами растворителя. Для этого на дно камеры наливают растворитель слоем толщиной около $0,5 \text{ см}$ и выдерживают 30 мин . Пластинки с нанесенными растворами устанавливают в камере в вертикальном положении или под углом $80\text{—}85^\circ$. Нижний край пластинки (со стороны стартовой линии) погружают в растворитель на $0,5 \text{ см}$. При использовании пластинок с оксидом алюминия или силика-гелем в качестве подвижного растворителя применяют гексан или смесь гексана с

ацетоном (6 : 1), при использовании пластинок «Силуфол» — подвижный растворитель — раствор ацетона в гексане массовой долей 1 %, а в случае, если пластинки «Силуфол» обработаны о-толуидином, — гексан с диэтиловым эфиром (49: 1). После того как растворитель поднимется до фронтальной линии, пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Затем ее орошают проявляющим реактивом и облучают УФ-лучами в течение 10—15 мин (расстояние от лампы ПРК-4 — 20 см). При наличии хлорорганических пестицидов на пластинке появляются пятна серо-черного цвета. При использовании пластинок «Силуфол», обработанных о-толуидином, их сразу после хроматографирования облучают УФ-лучами в течение нескольких минут. При наличии указанных пестицидов появляются пятна сине-голубого цвета. Вид и количество пестицида определяют, сравнивая величины R_f и площади пятна пробы и стандартных растворов. Величина R_f — это отношение фронта вещества (расстояние в сантиметрах от линии старта до центра пятна) и фронта растворителя (расстояние от линии старта до линии фронта). Она служит качественной характеристикой каждого вещества и используется для его идентификации.

Тезаурус

Хлорорганические пестициды, фосфорорганические и триазинные пестициды, предельно допустимый уровень, тонкослойная хроматография, энзимохроматографический метод.

Список литературы.

1. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов.-М.: Колос, 2001
2. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Хроматографические методы анализа. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2000
3. Справочник по пестицидам.// под ред. Медведя Л.И.-К.: Урожай, 1977

Лабораторная работа №5 Определение нитратов и нитритов.

Цель занятия: Освоить ионометрический и фотометрический методы определения нитратов и нитритов в мясе, вторичных продуктах убоя скота, мясных изделиях.

План

1. Определение нитратов и нитритов ионометрическим методом
2. Определение нитратов и нитритов фотометрическим методом
3. Санитарно-гигиеническая оценка мяса, вторичных продуктов убоя скота, мясных продуктов кулинарной готовности.

Вопросы для изучения.

1. Сущность ионометрического метода определения нитратов и нитритов
1. Сущность фотометрического метода определения нитратов и нитритов

Методические указания.

Среди перечня токсических и вредных веществ, обнаруживаемых в сырье и продуктах, большое практическое значение имеет определение нитрат- и нитрит-ионов, источниками которых служат корма животных и собственно нитрит, добавляемый для имитации цвета при производстве мясных продуктов.

Проблема производства экологически чистых продуктов питания связана с реализацией инструментальных методов контроля вредных веществ, применяемых в условиях производства и имеющих достаточную точность и экспрессность. Существующие фотоколориметрические, хроматографические, спектрофотометрические и химические методы определения нитратов и нитритов не отвечают в полной мере требованиям и условиям производственных лабораторий. Методики имеют ряд недостатков: длительность, использование токсичных и дефицитных реактивов, дорогостоящей аппаратуры, определенный уровень требований к квалификации оператора для выполнения работ и т. д. По сравнению с перечисленными ионоселективный метод определения нитрат-и нитрит-ионов имеет

ряд достоинств, прежде всего связанных с малой продолжительностью, точностью и простотой определения, а также компактностью приборов.

В зависимости от уровня материальной базы в аналитической практике могут быть применены те или иные методы. Принципы и основная суть их изложены ниже.

Ионометрический метод определения нитрат- и нитрит-ионов предусматривает использование ионоселективного (нитратного) электрода типа ЭМ-ЛО₃-01 путем индикации и измерения ЭДС электрода на иономере И-130 (или нитратомере). Иономер предназначен для измерения активности ионов водорода (рН), одновалентных и двухвалентных анионов и катионов (рХ), окислительно-восстановительных потенциалов в цифровой форме и в виде сигналов постоянного тока. Содержание нитрат-ионов можно фиксировать без предварительного измерения рН. На точность измерения не влияет присутствие фосфора, белков и жиров. Не рекомендуется проводить определение в объектах, содержащих хлорид натрия в массовых концентрациях более 3,5 %.

Измерение ЭДС и определение концентрации нитратов проводят в водной вытяжке, полученной из пробы продукта после предварительной экстракции при интенсивном перемешивании смеси с последующим фильтрованием.

Для исследования растворов с небольшими концентрациями нитрат- и нитрит-ионов используют метод добавок. В 50 см³ вытяжки измеряют ЭДС, затем в нее вводят нитрат калия так, чтобы массовая концентрация нитрата увеличилась до значений, соответствующих предварительно построенному калибровочному графику. По разнице значений рассчитывают искомую величину.

Для определения содержания нитритов их окисляют персульфатом аммония до нитратов. Разность между найденным суммарным содержанием нитрат-ионов и начальной концентрацией нитрат-ионов равна концентрации нитрит-ионов.

Фотометрические методы применяют в ряде модификаций, каждая из которых имеет практическое значение в анализе мясных продуктов и основана на той или иной химической реакции с образованием специфически окрашенных растворов. Например, применяется метод, основанный на реакции нитрита с N-1-

нафтилэтилендиамином дигидрохлорида и сульфаниламидом в фильтрате с удаленным белком с последующим фотометрированием или визуальным определением интенсивности окраски. При фотоколориметрическом определении интенсивности окраски метод соответствует международному стандарту и применяется при разногласиях в оценке.

Используют также метод, основанный на реакции нитрита с реактивом Грисса (смесь растворов сульфаниловой кислоты и а-нафтиламина в уксусной кислоте) в фильтрате с удаленным белком с последующим измерением интенсивности окраски на фото колориметре.

Подготовка проб. С колбасных изделий снимают оболочку, с фаршированных колбас и языков в шпике — поверхностный слой шпика и оболочку, с окороков, лопаток, рулетов, корейки и грудинки - поверхностный слой шпика. Затем пробы дважды измельчают на мясорубке с отверстиями решетки диаметром от 3 до 4 мм. Продукты, полностью состоящие из шпика с промежуточными слоями мышечной ткани (ветчина в форме, прессованный бекон и аналогичные им), измельчают полностью.

Полученный фарш тщательно перемешивают, помещают в стеклянную или пластмассовую банку вместимостью от 200 до 400 см³, заполнив ее полностью, закрывают крышкой. Пробу хранят при (4 ± 2) °С до окончания анализа. Анализ проводят не позднее чем через 24 ч после отбора проб. Пробу сырых продуктов анализируют сразу после измельчения.

Определение нитрат- и нитрит-ионов ионометрическим методом

Материалы, реактивы и оборудование. Ионометр И-130 или нитратометр; ионоселективный электрод на NO_3^- -ионы; электрод сравнения — хлорсеребряный; весы технические и аналитические; конические колбы вместимостью 250 см³; химические стаканы вместимостью 50 см³; мерный цилиндр вместимостью 100 см³; мерная колба вместимостью 1 дм³; пипетки вместимостью 5 и 10 см³; нитрат калия, ч. д. а.; водный раствор сульфата цинка массовой долей 0,45%; водный раствор сульфата калия концентрацией (1/2 K_2SO_4) 1 моль/дм³; водный раствор гидроксида натрия NaOH (0,1

моль/дм³); водный раствор персульфата аммония (NH₄)₂S₂O₈ массовой долей 8 %.

С целью определения рабочего диапазона концентраций нитрат-ионов предварительно строят калибровочный график.

Построение калибровочного графика. Навеску нитрата калия массой 10,1 г растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 дм³, доводят содержимое колбы водой до метки. Получают раствор нитрата калия молярной концентрацией 10⁻¹ моль/дм³ (pNO₃ = 1). Методом последовательного разбавления из полученного раствора готовят серию стандартных растворов нитрата калия концентрацией 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ и 10⁻⁵ моль/дм³ (pNO₃ равны соответственно 2, 3, 4 и 5).

В пять химических стаканов отбирают по 50 см³ стандартных растворов нитрата калия, в каждый стакан добавляют по 1 см³ раствора сульфата калия. Погрузив электроды в стаканы, в каждом растворе регистрируют ЭДС элемента, составленного из нитратселективного и хлорсеребряного электродов. Перед началом измерений электроды промывают несколько раз дистиллированной водой. Измерения выполняют, переходя от разбавленных растворов к концентрированным. По полученным измерениям строят калибровочный график.

Порядок проведения анализа. Для определения нитрат-ионов в коническую колбу вместимостью 250 см³ помещают навеску продукта массой 10—20 г, взятую с точностью 0,01 г, добавляют 100 см³ дистиллированной воды (подогретой до 50—60 °С) и экстрагируют в течение 30 мин при непрерывном перемешивании. Содержимое колбы охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу. В полученном мутном растворе осаждают белки. Для этого добавляют к фильтрату 2,5 см³ раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ и 10 см³ раствора сульфата цинка массовой долей 0,45 %, нагревают 5 мин на водяной бане при температуре кипения, охлаждают колбу и полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат и промывные воды после промывания осадка белков на фильтре собирают в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем до метки раствором сульфата калия молярной концентрацией 1 моль/дм³. В прозрачном фильтрате измеряют ЭДС, по величине которой на ка-

калибровочном графике находят начальное содержание нитрат-ионов в растворе.

Для определения нитрит-ионов их окисляют персульфатом аммония до нитратов. К 25 см^3 фильтрата добавляют $0,5 \text{ см}^3$ раствора персульфата аммония массовой долей 8 %, энергично перемешивают и через 5 мин измеряют ЭДС, по величине которой находят концентрацию нитрат-ионов после окисления нитрит-ионов, используя калибровочный график. Разность между найденным суммарным содержанием нитрат-ионов и начальной концентрацией нитрат-ионов равна концентрации нитрит-ионов, содержащихся в исследуемом растворе.

Содержание нитрат-ионов (мг %) в мясе и мясных продуктах находят по формуле.

В каждую колбу добавляют 5 см^3 раствора аммиака, 10 см^3 раствора соляной кислоты, доводят водой до метки и перемешивают. В конические колбы вместимостью 100 см^3 пипеткой переносят по 15 см^3 приготовленных растворов, 15 см^3 реактива Грисса и после 15 мин выдержки при комнатной температуре измеряют интенсивность розовой окраски на спектрофотометре при $\lambda = 538 \text{ нм}$ или фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром (№ 6) в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 2 см в отношении раствора сравнения.

Готовят три серии стандартных растворов, начиная каждый раз с приготовления основного раствора из новой навески нитрита натрия.

По полученным средним данным из трех стандартных растворов на миллиметровой бумаге размером 25 x 25 см строят калибровочный график. На оси абсцисс откладывают массовую концентрацию нитрита натрия ($\text{мкг}/\text{см}^3$), а на оси ординат — соответствующие значения оптической плотности. Калибровочный график должен проходить через начало координат.

Результаты анализа сводят в таблицу. Полученные результаты студенты сравнивают с предельно допустимыми значениями для данного вида продуктов, делают выводы и формулируют общее заключение по работе.

Тезаурус

Нитраты, нитриты, ионоселективный метод, фотометрический метод, оптическая плотность, экстинкция, предельно допустимый уровень.

Список литературы.

1. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов.-М.: Колос, 2001
2. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Оптические методы анализа. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1989
3. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Хроматографические методы анализа. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2000

Лабораторная работа №6 Санитарно-бактериологическое исследование воздуха

Оценка санитарного состояния воздуха производственных помещений

Воздух производственных помещений может стать источником микробного загрязнения молочных продуктов.

Санитарно-гигиеническая оценка воздуха производственных помещений проводится по двум микробиологическим показателям: общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) и содержанию санитарно-показательных микроорганизмов – гемолитических стрептококков и стафилококков. Воздух производственных помещений считается чистым, если КМАФАнМ не превышает 1500 КОЕ/м³, а гемолитических стрептококков и стафилококков не более 16 в 1 м³. В качестве питательных сред используют мясопептонный агар (для определения КМАФАнМ) и кровяной агар (для определения гемолитических стрептококков и стафилококков).

Для определения микроорганизмов в воздухе используют седиментационный и аспирационный методы.

Седиментационный метод основан на самопроизвольном оседании пылинок и капель вместе с микроорганизмами на поверхность плотной питательной среды в открытых чашках Петри.

Аспирационный метод заключается в принудительном оседании микроорганизмов из воздуха на поверхности плотных питательных сред. Осуществляется аспирационный метод с помощью специальных приборов (например, прибора Кротова), снабженных

вентиляторами, которые засасывают воздух в прибор через клиновидную щель. В приборе воздух ударяется о поверхность плотной питательной среды в открытой чашке Петри.

Помимо нормируемых микробиологических показателей в воздухе производственных цехов и холодильниках на предприятиях молочной промышленности определяют наличие спор микроскопических грибов и дрожжей, произвольно оседающих на поверхности сусло-агара или среды Сабуро за 5 минут. Посевы культивируют при комнатной температуре в течение 5-и суток. Санитарно-гигиеническая оценка проводится по 3-х бальной шкале. Состояние воздуха отличное, если в посевах споры грибов и дрожжей не обнаружены; хорошее, если на поверхности среды оседает до 2 спор грибов, а споры дрожжей не выявлены; удовлетворительное, если в чашках Петри после культивирования вырастает не более 5-и колоний грибов и 2-х колоний дрожжей.

Для снижения бактериальной обсемененности воздуха на предприятиях молочной промышленности проводят проветривание и влажную уборку помещений. Снизить содержание микроорганизмов в воздухе можно также путем его фильтрации через воздушные фильтры, применяя физические и химические методы обеззараживания воздуха: обработку ультрафиолетовыми лучами, хлорсодержащими препаратами в виде испарений и аэрозолей. Эффективным способом является озонирование воздуха.

4.2.1 Микробиологическое исследование воздуха

Проводят седиментационным методом.

Определяют количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) и содержание микроскопических грибов и дрожжей.

Для каждого определения готовят по 2 чашки Петри с 10-15 см³ мясопептонного агара или среды для определения КМАФАнМ и сус-ло-агара или среды Сабуро. Чашки переносят в исследуемое помещение и помещают на развернутую бумагу, в которой они стерилизовались. Далее сдвигают крышки на самый край бортика чашки так, чтобы вся поверхность агаризованной среды была открыта полностью.

Чашки оставляют открытыми 5, 10 или 15 минут (время экспозиции) в зависимости от загрязненности воздуха. Затем их закрывают крышками, переворачивают вверх дном и помещают в термостат. Чашки с МПА выдерживают в течение 24-48 часов при 370С, а со средой Сабуро – в течение 2-3 суток при 250С.

Подсчет колоний производят визуально и с помощью лупы. Подсчет колоний грибов и дрожжей ведут отдельно. Для определения содержания микроорганизмов в 1 м³ пользуются формулой, предложенной Омелянским, согласно которой на поверхности чашки в 100 см² оседает в течение 5 минут столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 л воздуха:

$$X = a1005100 / ST,$$

где а – число выросших в чашках колоний (среднее из двух);

S – площадь чашки Петри, см²;

T – время экспозиции, мин;

100 – пересчет площади чашки на 100 см²;

5 – время экспозиции по Омелянскому;

100 – пересчет на 1 м³ воздуха.

Контрольные вопросы

1. По каким микробиологическим показателям проводят оценку санитарно-гигиенического состояния воздуха?
2. В чем сущность седиментационного метода определения микроорганизмов в воздухе?
3. Каким образом можно снизить бактериальную обсемененность воздуха?

Лабораторная работа №7 Определение тяжелых металлов методом инверсионной вольтамперометрии

Цель работы. Определить массовую долю тяжёлых металлов в водопроводной и предложенных образцах минеральных вод методом инверсионной вольтамперометрии на вольтамперометрическом 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 качественного 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 см³; колбы 50, 100, 150 см³; 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 см³ вносят 80 см³ пробы воды и 20 см³ 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 см³ 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 см³ пробы воды наливают в коническую колбу емкостью 50 см³, доводят до температуры (20 ± 1)°С 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 см³ и приливают 20 см³ 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 интерметал-

лических 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

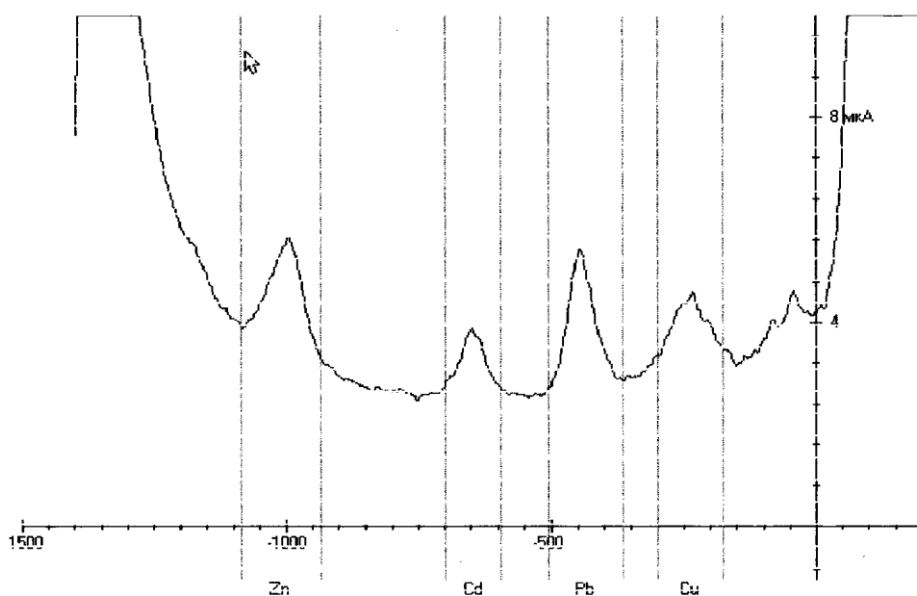


Рис. 2 Вольтамперограмма питьевой воды

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/дм³; S_x - площадь анодного пика металла в анализируемом растворе пробы; S_ϕ - площадь анодного пика металла в растворе контрольной пробы; S - площадь анодного пика металла в анализируемом растворе пробы с добавкой стандартного раствора иона металла; V - объём раствора в ячейке до внесения добавки, см³ ($V = 25 \text{ см}^3$); V_d - объём добавки стандартного раствора металла, см³; C_d - концентрация добавленного стандартного раствора металла, мкг/дм³.

Вычисление площадей пиков проводится по программному обеспечению анализатора.

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

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

где $N = V/V_{пр}$;

C_M - концентрация ионов металла в анализируемом растворе пробы, рассчитанная по формуле (1), мкг/дм³;

$V_{пр}$ - объём пробы в анализируемом растворе пробы, см³;

V - объём анализируемого раствора пробы, см³;

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 №8 Определение доброкачественности и фальсификации пищевых продуктов методом люминескопии

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

Люминесцентный метод основан на наблюдении флюоресценции (свечения) интересующего объекта. Он широко применяется в сельском хозяйстве, пищевой промышленности, медицине и т.д. При измерении флюоресценции овощей, фруктов, мяса позволяет обнаружить начало гниения их на такой ранней стадии, когда

оно неуловимо обычными методами. Сокращается брак консервов в результате применения люминесцентного анализа для отбора консервируемых овощей и фруктов, при установлении порчи рыбы и мяса. С помощью 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 бархатистым оттенком.	
4.	Фарш мясной с присутствием сухожилий и хрящей Фарш мясной с присутствием жира	Голубой цвет Светло-желтое свечение	
5.	Картофель здоровый	Желтая флюоресценция	
6.	Пораженный фитофторой	Интенсивно-голубая окраска	
7.	Картофель подмороженный	Беловатая окраска	
8.	Картофель, пораженный кольцевой гнилью	Зеленоватая окраска	
9.	Яйцо куриное свежее с белой скорлупой - несвежее	Интенсивно красная флюоресценция Голубая флюоресценция	
10.	Несвежее с темной скорлупой	Голубовато-фиолетового тона	
11.	Мука ячменная	Матовая флюоресценция	
12.	Мука соевая	Сине-зеленая флюоресценция	

13.	Мука гороховая	Матовая флюоресценция	
14.	Мука ржаная и пшеничная с примесями зерновых оболочек и вредных примесей	Интенсивное синее свечение	
15.	Мед натуральный	Светло-желтый цвет	
16.	Мед Фальсифицированный	Беловатый или синеватый цвет	
17.	Масло сливочное коровье	коричнево	
18.	Маргарин	Голубая флюоресценция	

Задание 6 Определение химического состава, контроль качества и безвредности пищевых продуктов методом 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: люминескоп ЛПК-1, весы лабораторные, разновесы. Химическая посуда: пробирки, делительная воронка, мерные цилиндры на 10,25 мл, пробки для пробирок, стек-

лянные палочки, колбы с п/п на 250 мл, воронки, фильтры. Реактивы: 10% водный аммиак, 1н р-р едкого натра, 0,1 н р-р едкого натра, бензол, бутиловый спирт, вода, дистиллированная. Сырьё: растительное масло, сливочное масло, овощи или фрукты свежие, сухофрукты.

Методика проведения эксперимента. Для определения степени окисленности жиров, 3-4 см³ растительного масла, или 3-4 г сливочного масла помещают в пробирку из 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 см³ продукта и такое же количество бутилового спирта помещают в делительную воронку, энергично встряхивают 60 сек, затем приливают 25 см³ 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 см³ 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?

Список рекомендованной литературы

1. Безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов [Электронный ресурс]: учебное пособие / И. А. Рогов, Н. И. Дунченко, В. М. Позняковский и др. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. - 228 с.: - ISBN 5-94087-058-9; 978-5-94087-058-6 - Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
2. Мудрецова-Висс, Клавдия Алексеевна. Микробиология, санитария и гигиена [Текст]: учебник / К. А. Мудрецова-Висс, В. П. Дедюхина. - Москва: Форум, 2014. - 400 с.
3. Габелко, С. В. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания [Электронный ресурс]: учебное пособие / С.

- В. Габелко. - Новосибирск: НГТУ, 2012. - Ч. 1. - 183 с.: - ISBN 978-5-7782-2044-7 - Режим доступа: <http://biblioclub.ru/>
4. Образцов В. А. Безопасность пищевой продукции [Текст]: руководство для следователей / В. А. Образцов. - М.: Экзамен, 2005. - 256 с.
5. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям торговли пищевыми продуктами [Текст]. - М.: ИНФРА-М, 2006. - 22 с.
6. Жарикова Г. Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена [Текст]: учебник / Г. Г. Жарикова. - М.: Академия, 2005. - 304 с.
7. Шленская Т. В. Санитария и гигиена питания [Текст]: учебное пособие / Т. В. Шленская, Е. В. Журавко. - М.: КолосС, 2006. - 184 с.