

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна

Должность: проректор по учебной работе

Дата подписания: 29.12.2021 13:13:29

Уникальный программный ключ:

0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d088

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**

« » _____ **2021 г.**

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

**Методические указания по выполнению практических работ для
студентов направления 19.04.03 «Продукты питания животного
происхождения»**

Курск 2021

УДК: 664

Составители: А.Г. Беляев

Рецензент

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

Современные физико-химические методы анализа сырья и пищевых продуктов животного происхождения: методические указания по выполнению практических работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: А.Г. Беляев. Курск, 2021. 32 с.

Приводится перечень практических работ, цель их выполнения, задания, вопросы для подготовки, краткие теоретические сведения, рекомендуемая литература представлена в каждом разделе практических работ.

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

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать Формат 60x84 1/16.
Усл. печ. л. 1,86 Уч.-изд. л. 1,68 Тираж 50 экз. Заказ. Бесплатно.
Юго-Западный государственный университет.
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	6
Практическая работа №1 Нормативная документация, используемая при физико- химических методах анализа пищевого сырья и продуктов питания.	8
Практическая работа №2 Правила отбора проб и пробоподготовки	13
Практическая работа №3 УФ вид спектрометр, принцип работы, выполняемые гост для исследования качества и безопасности продуктов питания. Спектрофотометрия в УФ и видимых областях	23

Наименование работ	Объем, часов		
	очная	заочная	Сокращенная (по индивидуальному плану)
Практическая работа №1 Нормативная документация, используемая при физико- химических методах анализа пищевого сырья и продуктов питания.		2	
Практическая работа №2 Правила отбора проб и пробоподготовки		2	
Практическая работа №3 УФ вид спектрометр, принцип работы, выполняемые гост для исследования качества и безопасности продуктов питания. Спектрофотометрия в УФ и видимых областях		2	

Примечание: * - практические работы, проводиться с использованием интерактивных форм ведения занятий.

ВВЕДЕНИЕ

Методические указания к выполнению практических работ предназначены для студентов направления для студентов направления подготовки 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 практических 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 практической работы.

Каждое занятие содержит цель его выполнения, рекомендуемые для изучения литературные источники, вопросы для подготовки, краткие теоретические сведения, задания для выполнения. При выполнении 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 практической 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 практического 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 практических работ являются допуском к сдаче теоретического курса на экзамене.

Практическая работа №1 Нормативная документация, используемая при физико-химических методах анализа пищевого сырья и продуктов питания.

Цель работы: получить навыки работы с нормативными документами, регламентирующими безопасность продукции.

Краткие теоретические положения

1. Нормативно-правовая база Российской Федерации.

Мониторинг качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов проводится органами, осуществляющими государственный контроль и надзор в области обеспечения безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Нормативно-правовой базой, обеспечивающей безопасность продуктов питания в Российской Федерации, являются:

- Закон РСФСР «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 19.04.91 г,
- «Основы законодательства РФ об охране здоровья граждан» от 22.07.93 г,
- Федерального закона «О внесении изменений и дополнений в Закон Российской Федерации «О защите прав потребителей».

В Российской Федерации качество и безопасность контролируются органами Роспотребнадзора. Безопасность пищевых продуктов должна соответствовать гигиеническим требованиям безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов, отраженных в санитарно-эпидемиологических правилах и нормативах СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов», а также в единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требованиях к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю).

Утверждены Решением Комиссии таможенного союза 28.05.2010.

Безопасность пищевых продуктов оценивается по гигиеническим нормативам, которые включают биологические объекты, потенциально опасные химические соединения, радионуклиды и вредные растительные примеси. Присутствие их в пищевых продуктах не должно превышать допустимых уровней содержания в

заданной массе (объеме) исследуемой продукции. Указанные показатели безопасности установлены для 11 групп продуктов:

1. Мясо и мясопродукты; птицы, яйца и продукты их переработки.
2. Молоко и молочные продукты.
3. Рыба, нерыбные продукты промысла и продукты, вырабатываемые из них.
4. Зерно (семена), мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия.
5. Сахар и кондитерские изделия.
6. Плодоовощная продукция.
7. Масличное сырье и жировые продукты.
8. Напитки.
9. Другие продукты.
10. Биологически активные добавки к пище.
11. Продукты детского питания.

Международная нормативно-правовая база

Кодекс Алиментариус – это свод международных пищевых стандартов, принятых Международной комиссией ФАО/ВОЗ по внедрению кодекса стандартов и правил по пищевым продуктам (Комиссией «Кодекс Алиментариус»).

Стандарты Кодекса охватывают основные продукты питания – как обработанные и полуфабрикаты, так и необработанные: Свежие плоды, овощи и фруктовые соки

Гигиена пищевых продуктов

Руководство по процедуре

Системы контроля и сертификации импорта и экспорта пищевых продуктов

Жиры, масла и производные продукты

Маркировка пищевых продуктов

Мед, сахар, какао-продукты и шоколад

Мясо и бульоны

Молоко и молочные продукты

Рыба и рыбопродукты

Методы анализа и отбора проб

Облученные продукты питания

Органические пищевые продукты
 Переработанные фрукты и овощи
 Питьевые воды
 Производство продуктов животноводства
 Нормы и правила относительно рыбы и рыбопродуктов
 Зерновые, стручковые и бобовые

Положения Кодекса касаются: гигиенических требований и пищевой ценности продуктов питания, включая микробиологические критерии, требования по пищевым добавкам, следам пестицидов и ветеринарных лекарственных препаратов, загрязняющим веществам, маркировке и внешнему виду, а также к методам отбора проб и оценки риска.

Кодекс Алиментариус с полным основанием может рассматриваться как важнейший международный справочник в области качества пищевых продуктов. В нем учтены новейшие достижения научных исследований в области питания. Кодекс значительно повысил информированность мирового сообщества по таким жизненно важным вопросам, как качество продуктов питания, продовольственная безопасность и деятельность общественного здравоохранения.

Стандарты Кодекс Алиментариус обычно относятся к характеристикам продукта и могут охватывать все присущие данному продукту характеристики, регламентируемые государством или только одну характеристику. Примерами стандартов, охватывающих только одну характеристику, являются предельно допустимые содержания (ПДС) в пищевых продуктах остатков пестицидов или ветеринарных лекарственных препаратов. Существуют Общие стандарты

Кодекс Алиментариус на пищевые добавки и загрязняющие примеси и токсины в пищевых продуктах, которые содержат как общие, так и конкретные для отдельных продуктов положения. «Общий стандарт Кодекс Алиментариус на маркировку расфасованных пищевых продуктов» охватывает все пищевые продукты, входящие в эту категорию. Поскольку стандарты касаются характеристик продуктов, они могут применяться повсюду, где ведется торговля этими продуктами. Методы анализа и отбора проб Кодекс

Алиментариус, в том числе методы анализа на содержание загрязняющих примесей и остатков пестицидов и ветеринарных лекарственных препаратов в пищевых продуктах, также считаются стандартами Кодекс Алиментариус.

Технические нормы и правила Кодекс Алиментариус – включая гигиенические нормы и правила – определяют методы и способы производства, переработки, изготовления, транспортировки и хранения отдельных пищевых продуктов или групп пищевых продуктов, считающиеся необходимыми для обеспечения безопасности пищевых продуктов и их пригодности для употребления.

В международных стандартах, принятых Кодекс Алиментариус, целями обеспечения безопасности сырья определено: производство продовольственного сырья необходимо организовать и вести таким образом, чтобы пищевые продукты были безопасны и пригодны для употребления в соответствии с их назначением.

Это включает: неиспользование территорий, на которых окружающая среда создает угрозу для безопасности пищевых продуктов; борьбу с загрязнителями, вредителями и болезнями животных и растений таким образом, чтобы не создавалась угроза для безопасности пищевых продуктов; принятие методов организации производства и мер, обеспечивающих производство пищевых продуктов в надлежащих гигиенических условиях.

Задание 1 Изучить и провести сравнительный анализ нормативной документации

Организация работы

Изучаемые объекты:

- СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов»;
- Кодекс Алиментариус Производство продуктов животноводства.

Порядок выполнения работы: работа заключается в изучении структуры нормативных документов и в сравнительном анализе требований и способов исследования и контроля, предъявляемых к пищевой продукции.

Оформление результатов: Результаты сравнительного анализа документов представляются в виде таблицы 1.

Таблица 1 Результаты сравнительного анализа документов

Позиции сравнения	<i>СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов»</i>	<i>Кодекс Алиментариус «Производство продуктов растениеводства».</i>
Структура документа		
Определение понятия «безопасности»		
Требования к качеству растительного сырья		

Задание 2 Ответить на вопросы

1. Значение биологической безопасности сырья и продуктов животного происхождения.
2. Основные виды контаминации сырья и продуктов животного происхождения.
3. Правовое регулирование биологической безопасности сырья и продуктов животного происхождения.
4. Основные нормативные акты правового регулирования биологической безопасности сырья и продуктов животного происхождения.
5. Основные федеральные законы, обеспечивающие правовое регулирование биологической безопасности сырья и продуктов животного происхождения.

Список литературы

1. ГОСТ Р ИСО 22000-2007 Системы менеджмента безопасности пищевой продукции. Требования к организациям, участвующим в

цепи создания пищевой продукции
(<http://www.gosthelp.ru/gost/gost529.html>)

2. ВСТП-6.02.92 Санитарные и ветеринарные требования к проектированию предприятий мясной промышленности (База нормативной документации -www.complexdoc.ru)

3. ГОСТ Р 51705.1-2001 «Управление качеством пищевых продуктов на основе принципов ХАССП»

4. Донченко, Л. В. Безопасность пищевой продукции [Текст]: учебник / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ДеЛи Принт, 2007. - 539 с.

5. Кодекс Аллиметариус Производство продуктов животноводства (<http://www.icc-iso.ru/toclients/learning/588/>)

6. Позняковский, В. М. Гигиенические основы питания, качество и безопасность пищевых продуктов [Текст]: учебник для студ. вузов/
7. В.М. Позняковский. - 4-е изд., испр. и доп. - Новосибирск : Сиб. унив. изд-во, 2007. - 522 с.

8. Регламент ЕС № 852/2004 Европейского Парламента и Совета от 29 апреля 2004 года «По гигиене пищевых продуктов» (<http://www.icqс.eu/ru/ce-852-2004.php> -Международный Центр Сертификации и Качества, Certified CE)

9. СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов»(http://www.mpunkt.ru/docs/sanpin_cont.php?id=102)

Практическая работа №2 Правила отбора проб и пробоподготовки

Цель работы: Изучить правила отбора проб и пробоподготовки для проведения анализов

Контроль продуктов питания осуществляется на трех этапах. Анализ на любом из указанных этапов включает, как правило, следующие стадии:

- отбор пробы;
- приготовление гомогенной смеси для анализа;

- выделение целевого компонента;
- непосредственно анализ.

Одной из самых важных стадий является отбор проб. Основное требование к отбору пробы для анализа: проба должна отражать свойства всей партии пищевых продуктов или части такой партии.

Партией называется продукция одного наименования, одного изготовителя, одного способа обработки и сорта, оформленного одним документом.

Применение результатов анализа основано на внутреннем убеждении, что результаты, полученные для данной пробы, применимы ко всей массе продукта, из которого она взята. Это предположение справедливо только при условии, что химический состав пробы правильно отражает состав массы продукта.

Выражение «отбор пробы» относят к операциям, состоящим в отборе достаточного количества продукта, представляющего целое.

Масса пробы на конечной стадии отбора составляет несколько граммов или, самое большое, несколько сотен граммов. И хотя она может представлять всего одну миллионную часть общей массы партии, состав пробы должен максимально приближаться к среднему составу общей массы.

Если исследуемый материал представляет собой неоднородное вещество, задача получения представительной пробы трудна. Надежность анализа не может превышать надежности отбора пробы. Различают несколько видов проб:

- а) первичную, или генеральную пробу отбирают на первом этапе от большой массы материала;
- б) лабораторную, или паспортную (0,2–0,3 кг) пробу получают после уменьшения генеральной пробы до массы необходимой для проведения полностью всего анализа;
- в) аналитическую пробу – отбирают от лабораторной для единичного определения.

Перед отбором генеральной пробы необходимо определить ее представительность, а при получении лабораторной, кроме того, рассчитать массу пробы, позволяющую провести весь анализ. Под представительностью понимают соответствие состава пробы сред-

нему составу анализируемого материала. Если материал неоднороден, получению представительной пробы необходимо уделить самое серьезное внимание, чтобы результаты отвечали действительному составу материала.

Методы отбора представительной пробы зависят от характера материала. Если анализу подвергается жидкий продукт, находящийся в большой емкости, то перед взятием пробы ее достаточно перемешать.

При отборе пробы из нескольких емкостей жидкость в каждой из них перемешивают, отбирают из каждой емкости одинаковые объемы жидкости и смешивают их друг с другом.

Если жидкие материалы расфасованы (например, напитки в бутылках и банках), из определенного числа упаковок каждой серии отбирают по несколько бутылок или банок, содержимое которых достаточно для проведения всех необходимых анализов (3 раза). Емкости вскрывают и жидкость смешивают. Для отбора проб жидкостей применяют специальные пробоотборники, которые погружают на определенную глубину и захватывают ими порции жидкости.

Пробы вязких материалов отбирают после тщательного перемешивания из верхней, средней и нижней частей массы. Пробы твердых и сыпучих материалов отбирают из разных мест упаковки, стремясь, чтобы были захвачены наружные и внутренние слои продукта, которые могут отличаться составом вследствие увлажнения, выветривания.

Отобрав представительную первичную пробу сухих продуктов, ее измельчают, перемешивают и сокращают до размеров лабораторной пробы. Сокращение обычно проводят квартованием.

При квартовании измельченную пробу высыпают на ровную поверхность, перемешивают, разравнивают в форме квадрата и делят квадрат по диагонали на четыре части.

Две противоположные части отбрасывают, затем с остатком повторяют квартование до получения необходимой лабораторной пробы. Масса лабораторной пробы зависит от содержания определяемого вещества и чувствительности применяемой методики анализа.

Чем чувствительнее методика, тем меньше масса лабораторной пробы. Подготовив лабораторную пробу, для проведения анализов из нее отбирают аналитические пробы, которые взвешивают на аналитических или технических весах и подвергают дальнейшей аналитической обработке.

Анализ проводят несколько раз и полученные данные усредняют. Обязательным условием получения средних величин определяемых показателей является повторность исследования продукта. Обязательным минимумом считают трехкратность исследований. Ошибки, обусловленные хранением проб, содержащих следовые количества загрязняющих веществ, обычно связаны с адсорбцией определяемых компонентов на стенках сосудов или с их трансформацией в процессе хранения.

Методы извлечения целевых компонентов

Анализируя продукты питания, исследователь определяют содержание в них различных химических элементов, неорганических и органических соединений. Анализ продукта на конкретный его компонент предшествует, как правило, выделению этого компонента.

Если определяют неорганические соединения и элементы, предварительно необходимо минерализовать пробу, т.е. разложить органическую матрицу, и выделить определяемое соединение.

Минерализацию проб проводят, как правило, методами сухого или мокрого озоления. При определении органических соединений для выделения целевого компонента часто используют экстракцию. Подготовку пробы образца к исследованию производят непосредственно перед анализом.

Сухое озоление

Простейший и наиболее доступный метод минерализации заключается в нагревании пробы в муфельной печи в открытой чашке или тигле до тех пор, пока весь углеродсодержащий материал не окислится до углекислого газа. Обычно озоление проводят при температуре 400–500°C. Твердый остаток, затем растворяется в разбавленных минеральных кислотах и анализируется.

Иногда после разложения золу обрабатывают азотной или соляной кислотой и выпаривают досуха. Наряду с достоинствами метод сухого озоления обладает рядом недостатков. Во-первых, метод этот достаточно длительный (14–16 часов). Во-вторых, метод неприменим для определения летучих компонентов, например, ртути, сурьмы, мышьяка, висмута, селена. Возможны также потери кадмия и свинца.

Потери происходят за счет улетучивания элементов в виде хлоридов, металлоорганических соединений, за счет сорбции на стенках тигля, а также при растворении (часть может оставаться в твердом не растворяющемся осадке).

Если исследуемый продукт содержит поваренную соль, то во избежание потерь летучих хлоридов, озоление ведут при невысокой температуре – не выше 500°C. Иногда для создания окислительной среды и ускорения минерализации пробу смачивают раствором смеси нитрата магния и соли молибдена или ванадия.

При этом исключается потеря элементов за счет образования летучих хлоридов, т.к. хлорид-ионы окисляются до свободного хлора. Для снижения потерь при данном процессе используют низкотемпературное озоление в атмосфере кислорода под действием высокочастотного поля (10–15 часов).

Использовать ускоренные методы сухого озоления (добавление нитратов, спирта, повышение температуры до 600°C) можно только для конкретных продуктов после тщательной проверки и сравнения с обычным методом сухой или мокрой минерализации.

Мокрое озоление

Мокрое озоление представляет собой окисление с использованием жидких окислителей, таких, как серная, азотная и хлорная кислоты. Основная проблема, возникающая при использовании этих реагентов, заключается в предотвращении потерь элементов вследствие улетучивания.

Наиболее часто для проведения мокрого озоления используется концентрированная серная кислота. Для увеличения скорости окисления к раствору добавляют азотную кислоту. Еще более эф-

эффективным реагентом, чем смеси серной и азотной кислот, является смесь хлорной и азотной кислот.

По мере нагревания продукта со смесью азотной и хлорной кислот азотная кислота реагирует с наиболее легко окисляющимися веществами. При продолжении нагревания вода и азотная кислота удаляются за счет разложения и упаривания, и раствор постепенно становится сильным окислителем. Потери ионов металлов при этом незначительны. В методе мокрого озоления применяются следующие смеси кислот: $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4:\text{H}_2\text{SO}_4 = 3:2:1$ (окисление начинают с азотной кислоты, далее температуру повышают и добавляют остальные кислоты до полного разложения (200°C) и осветления раствора), $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4 = 2:1$ а также смесь H_2SO_4 с H_2O_2 . Эффективным способом разложения пробы является нагревание пробы в закрытом тefлоновом автоклаве с использованием окисляющей смеси из соляной, серной и плавиковой кислот.

При температуре 160°C и давлении 50 атм. за 10–60 мин разлагаются самые трудноокисляемые продукты.

Экстракция

Для извлечения из проб пищевых продуктов органических веществ, используется экстракция. Экстракция – процесс распределения вещества между двумя или более несмешивающимися фазами. Экстрагент – вещество, вводимое в одну из фаз экстракционной системы с целью усиления экстракции.

При анализе продуктов питания в качестве экстрагентов применяют воду, диэтилацетат, спирты, дихлорметан, бензол, ацетон и др. Выбор экстрагента зависит от природы экстрагируемого соединения (его гидрофобности), от природы пищевых продуктов. Экстракционный способ, однако, имеет недостаток: необходимость отгонки значительных объемов растворителя, что может привести к потерям веществ, особенно летучих или образующих с растворителем азеотропы.

Подготовка к анализу биологических образцов и пищевых продуктов также включает в себя гомогенизацию. Обычно ее проводят в миксерах с вращающимися ножами. Однако они являются главными источниками загрязнения биопроб, поскольку сильно истираются в процессе нагрева при работе. Поэтому рекомендуется применять высокоскоростные миксеры с охлаждением.

Существует метод подготовки проб биологических тканей путем их охлаждения жидким азотом до хрупкого состояния с резким встряхиванием или размалыванием в порошок.

Гомогенизация

Помимо гомогенизации анализ биообъектов практически всегда предусматривает также их деструкцию, осаждение белков и удаление липидов. Простейшей и наименее загрязняющей процедурой является обработка проб разбавленными кислотами (хлорной, вольфрамовой, три - хлоруксусной, сульфосалициловой). При $\text{pH} < 0,5$ многие загрязняющие вещества (например, ионы тяжелых металлов) освобождаются от своих связей в биологическом материале. Эта методика применима как к жидким, так и к твердым образцам. Она имеет то преимущество, что большинство мешающих компонентов при этом выпадает в осадок и их можно отделить центрифугированием.

Депротенизация достигается также добавлением сульфата аммония и некоторых органических растворителей. Основная опасность здесь заключается в возможности адсорбции или окклюзии следовых компонентов осадком.

Эффективность операции нужно контролировать в отношении биоматериала и определяемых веществ. Обычно влияние окклюзии сводят к минимуму не добавлением осаждающих агентов к пробе, а наоборот.

В последнее время для осаждения белков все чаще применяют ацетонитрил, особенно удобный в тех случаях, когда раствор далее анализируют методом ВЭЖХ. Для предотвращения разложения белков следует избегать нагревания, либо использовать мягкие условия их разрушения с помощью коллагеназы и гиалуронидазы, которые применяют для расщепления жиров. Связанные с белками соединения можно выделять и без гидролиза, с помощью специфических ферментов, например субтилизина. Известен и такой прием, как постепенное высвобождение определяемого вещества из белка за счет центрифугирования или изменения pH . В ряде случаев используется мембранное фильтрование суспензий и обработка ультразвуком. Последний метод применялся при извлечении ПАУ в концентрациях 0,5-5 мкг/г.

Концентрирование

Концентрирование чаще всего осуществляют сублимацией твердых, дистилляцией (упариванием) жидких проб или экстрагированием из них анализируемого вещества. Пробу отобранного воздуха, как правило, пропускают через минимальный объем поглотителя или сорбируют на минимальном количестве твердого адсорбента, добываясь тем самым максимального ее концентрирования. При выборе метода концентрирования для целей экоаналитического контроля можно руководствоваться устоявшейся практикой анализа объектов окружающей среды.

Исходя из нее, можно считать, что наиболее универсальными и часто применяемыми методами концентрирования являются сорбция (абсолютный лидер) и экстракция (в особенности «мокрая» и сверхкритическая флюидная). В то же время наиболее сложной средой, с точки зрения концентрирования отобранных из нее проб, является воздух.

Удаление примесей, как и концентрирование, возможно за счет разделения, селективной экстракции, а также другими методами (хроматографированием, «маскированием» и т.д.).

Иногда в качестве методов пробоподготовки используют специальную дополнительную обработку проб для модифицирования (получения производных) анализируемого вещества в другое соединение, более легко определяемое выбранным методом анализа.

Для изменения поведения отдельных компонентов проб в процессах разделения рекомендуются различные способы. Можно, например, изменить растворимость вещества, что сказывается на его поведении при извлечении из жидких и твердых проб. В большинстве случаев физическое, физико-химическое и химическое преобразование (модификация) определяемых соединений базируется на изменении их полярности, молекулярной массы, размеров молекул или их формы.

Так, полярность молекул изменяют путем превращения их в менее полярные производные, что повышает летучесть соединения. В других случаях вводят хромофорные группы (ответственные за окраску) или электрофильные группировки для последующего определения методами спектрофотометрии или вольтамперо-

метрии. В принципе химическую модификацию определяемых соединений можно осуществлять на различных стадиях:

- до выделения компонентов из смеси;
- в процессе выделения (например, непосредственно в хроматографической колонке);
- после выделения вещества из матрицы.

Каждый из перечисленных вариантов имеет свои преимущества и недостатки. Успех модификации во многом зависит от конструкции реакторов: трубчатых, капиллярных, слоевых и др. Обычно применяют трубчатые реакторы из кварцевого стекла и реакторы с неподвижным слоем реагента.

Подготовка пробы к анализу является необходимой не только для того, чтобы сконцентрировать исследуемые компоненты и отделить их от мешающих примесей, но и во многом для «подстройки» пробы к анализатору - прибору, на котором осуществляется количественное измерение содержания анализируемого в пробе загрязняющего вещества. Целью такой подстройки является достижение достоверности и воспроизводимости анализа.

Если речь идет о функциональном анализе (определении вещества по наличию в его структуре специфических функциональных групп) либо об определении различных состояний и форм элементов, то операции пробоподготовки не должны изменять исходные искомые компоненты.

Последнее обстоятельство особенно важно при идентификации многих компонентов пищевых продуктов.

Минерализация в закрытых печах.

Одним из эффективных методов подготовки проб является также метод минерализации в закрытой системе в микроволновых печах (Кингстон, Джесси, 1991), требующий, однако, довольно дорогого оборудования (СВЧ-печей), в том числе герметичных сосудов.

Сочетание высокой нагревательной способности микроволновой энергии с преимуществами разложения в запаянных сосудах позволяет значительно ускорить и автоматизировать процедуры пробоподготовки, обычно весьма трудоемкие.

Задание 1 Дать характеристику оборудованию и способам пробоподготовки

Задание 2 Ответить на вопросы

1. Какие стадии включает в себя анализ продуктов питания?
2. Каково основное требование при отборе пробы?
3. Перечислите основные виды проб?
4. От чего зависят методы отбора представительной пробы?
5. Сущность процесса сухого озоления?
6. Сущность процесса мокрого озоления?
7. Сущность процесса экстракции?
8. На каких стадиях можно осуществить химическую модификацию определяемых соединений?
9. Сущность метода подготовки проб путем минерализации в закрытой системе в микроволновых печах?

Список литературы

1. Браун Д., Флойд А., Сейнзбери М. - Спектроскопия органических веществ / Пер. с англ. - М.: Мир, 1992. - 305 с.
2. Марченко З, Бальцежак М. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе / Пер. с польск. - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. - 711 с.
3. Смирнов В.А., Климочкин Ю.Н.. Аминокислоты и полипептиды: учеб. пособ. Ч. I./ Самара. Самар. гос. техн. ун-т., 2007. – 110 с.
4. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: В 4-х книгах. 2-е изд., перераб. и доп. - Книга 2. Оптические методы анализа. - М.: КолосС, 2005. - 288 с.
5. Купцов А.Х., Жижин Г.Н. Фурье-КР и Фурье -ИК спектры полимеров. - М: Техносфера, 2013. - 69 с.
6. Тарасевич Б.Н. Основы ИК- спектроскопии с преобразованием Фурье, подготовка проб в ИК – спектроскопии. - Москва, 2012 - 22 с.
7. Анисимова Н.А. Идентификация органических соединений. - Горно-Алтайск, 2009. - 118 с.

Практическая работа №3 УФ вид спектрометр, принцип работы, выполняемые гост для исследования качества и безопасности продуктов питания. Спектрофотометрия в УФ и видимых областях

Цель работы: Изучить принцип работы УФ вид спектрометров, ознакомиться с выполняемыми ГОСТ с использованием спектрометрии для исследования качества и безопасности продуктов питания

Спектрофотометрические измерения в УФ и видимой областях чаще проводят для растворов, хотя такие измерения могут быть проведены и для веществ, находящихся в парообразном, жидком и твердом состоянии.

Образец анализируемого вещества при спектрофотометрировании обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этих целей пригодны многие растворители: вода, спирты, хлороформ, низшие углеводороды, эфиры, разведенные растворы аммиака, едкого натра, хлористоводородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примесей, поглощающих в данной спектральной области; для спектрофотометрии выпускаются специальные растворители, гарантирующие отсутствие примесей.

Спектрофотометрический анализ по непосредственному измерению оптической плотности может быть проведен для веществ, обладающих лишь определенными особенностями строения (ароматические соединения, соединения с сопряженными кратными связями, соединения ряда металлов и др.). Измерения оптической плотности D в УФ и видимой области проводятся на фотоэлектрических спектрофотометрах. Основными частями этих приборов являются: источник излучения (лампа накаливания для видимой области, газоразрядная водородная или дейтериевая лампа ультрафиолетовой области); монохроматор, диспергирующая система которого основана на использовании кварцевой призмы или дифракционной решетки; кюветное отделение, в котором располагаются кюветы с исследуемыми веществами; приемное и фотометрическое устройство для сравнительной оценки интенсивности световых ионов I_0 и I , основанное на использовании фотоэлементов.

Измерительная шкала спектрофотометра проградуирована в процентах пропускания T (т.е. $\frac{I}{I_0} \cdot 100$) и в величинах оптической плотности D (т. е. $\lg \frac{I_0}{I}$), а шкала длин волн, или волновых чисел — в нанометрах, или в см^{-1} соответственно.

В процессе измерения на пути выходящего из монохроматора пучка излучения определенной длины волны поочередно устанавливается нулевой раствор (растворитель или раствор, содержащий те же вещества, что и исследуемый, за исключением анализируемого компонента), для которого $T=100\%$, $D=0$ и исследуемый раствор.

Для снижения величины ошибки при определении D концентрация раствора и толщина слоя его подбираются такими, чтобы D в исследуемой спектральной области находилось в пределах от 0,2 до 0,7. В зависимости от способности вещества к поглощению это обычно достигается при использовании концентраций от 0,01 до 0,00001% (кюветы с толщиной слоя 10 мм).

Показатель поглощения ν вычисляют на основании измеренной оптической плотности D для растворов с известной концентрацией по формуле:

$$\nu = \frac{1}{cb} D; \quad (1)$$

Концентрация может быть выражена в молях на 1 л или в граммах на 100 мл раствора. В зависимости от этого по формуле вычисляют молярный показатель поглощения или удельный показатель поглощения. Молярный показатель поглощения (ϵ) представляет собой оптическую плотность одномолярного раствора вещества при толщине слоя 10 мм; удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) — оптическую плотность раствора, содержащего 1г вещества в 100 мл раствора при той же толщине слоя. Переход от удельного показателя поглощения к молярному осуществляется по формуле:

$$\epsilon = E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \frac{M}{10}, \quad (2)$$

где M — молекулярная масса.

Если известно значение ν (в форме ϵ или $E_{1\text{см}}^{1\%}$), определяют концентрацию исследуемых растворов по величине оптической плотности D (2), пользуясь формулой (при условии подчинения закону Бера).

Для идентификации веществ в ультрафиолетовой области спектра рекомендуется применять регистрирующие спектрофотометры. При измерениях на разных спектрофотометрах значения характерных длин волн могут отличаться на ± 2 нм. Если отличие превышает указанный предел, то необходимо провести калибровку шкалы длин волн. При количественных определениях целесообразно использовать такие полосы поглощения, которые отвечают следующим условиям:

- 1) данная полоса должна быть по возможности свободна от наложения полос поглощения других компонентов анализируемой системы;
- 2) выбранная полоса должна обладать достаточно высоким показателем поглощения (ν) для индивидуального соединения.

Такие полосы называются аналитическими. При анализе используют максимум или минимум полосы поглощения и не следует производить измерения на участках крутого спада или подъема кривой.

Для многокомпонентных систем выделение аналитических полос по каждому отдельному компоненту становится затруднительным. В этом случае количественные определения могут быть произведены путем измерения оптической плотности при нескольких значениях длин волн и решения системы линейных уравнений, связывающих суммарную величину оптической плотности смеси при данной длине волны с величиной оптической плотности для каждого индивидуального компонента. Погрешность метода не превышает 2%.

Некоторые анализируемые вещества необходимо предварительно перевести в соединения, поглощающие излучения. Для определения концентрации растворов спектрофотометрическим путем используется закон Бугера – Ламберта – Бера в форме:

$$C = \frac{1}{\nu \epsilon} D \quad (3)$$

где C – концентрация раствора:

ν – показатель поглощения раствора, концентрация которого равна 1:

v – толщина слоя вещества, см.

В ряде случаев даже при использовании монохроматического излучения могут наблюдаться отклонения от закона Б – Л – Б, обусловленные процессами диссоциации, ассоциации и комплекс образования.

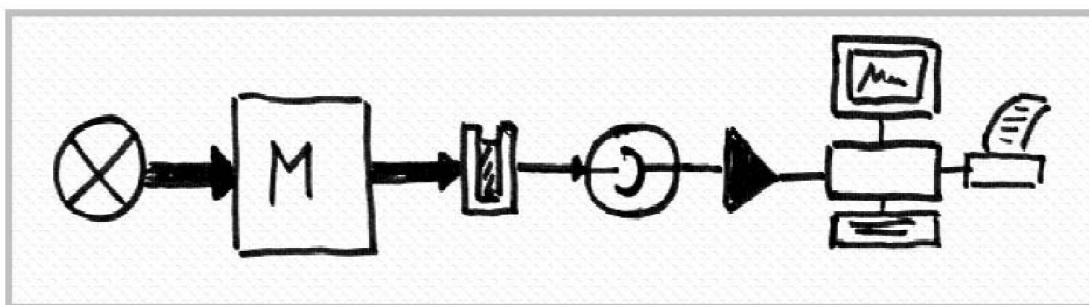
При наличии таких отклонений следует пользоваться не этой формулой, а экспериментально найденной зависимостью оптической плотности от концентрации.

Устройство УФ Вид спектрофотометра

Устройство спектрофотометров и их характеристики могут значительно отличаться в зависимости от производителя и задач, для решения которых рассчитан прибор. Однако основные элементы конструкции у всех приборов сходны. Это источник света, монохроматор, кюветное отделение с образцом и регистрирующего детектора. В качестве источника света чаще всего используются ртутные или галогеновые лампы.

Монохроматор - устройство для выделения из всего излучаемого спектра какой-то узкой его части (1-2 нм). Монохроматоры могут быть построены на основе разделяющих свет призм либо на основе дифракционной решетки. Также в некоторых приборах могут дополнительно применяться наборы светофильтров. Кюветное отделение может быть оборудовано механизмами для термостатирования, перемешивания, добавления веществ непосредственно в ходе процесса измерения.

Для исследований малых объемов веществ может использоваться без кюветная технология, когда образец удерживается за счет сил поверхностного натяжения жидкости.



Light-source Light dispersing system Sample compartment Detector AD-converter PC or other data output systems

Рисунок 1. Блок-схема фотометра.

- источник излучения, - система световой дисперсии, - отделение для пробы, - детектор, - АЦП (аналого-цифровой преобразователь), - компьютер с экраном, и система вывода данных.

Источники света

В основном в спектрофотометрах используются такие непрерывные излучатели, как ксеноновые лампы или комбинации дейтериевых ламп (для УФ спектра) и галоген-вольфрамowych ламп (для спектра, видимого в спектральном диапазоне).

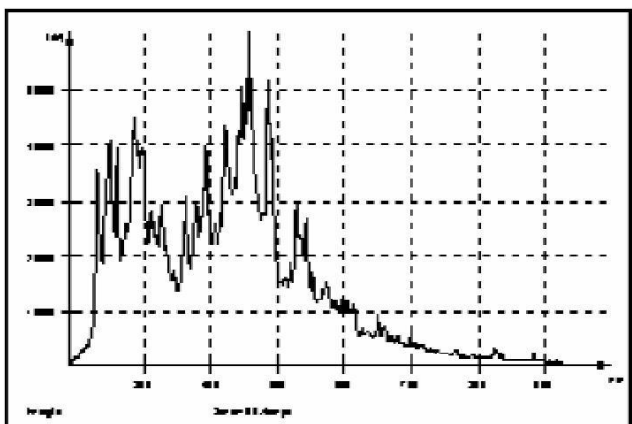


Рисунок 2 Распределение интенсивности излучения ксеноновой лампы

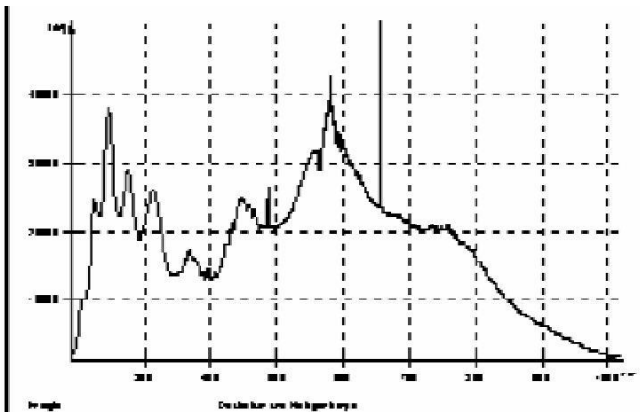


Рисунок 3 Распределение интенсивности излучения Дейтериевой + Галогеновой ламп

У ксеноновых ламп есть ряд недостатков. А комбинация дейтериевых и галоген-вольфрамовых ламп применяется в некоторых спектрофотометрах.

Недостатки ксеноновых ламп:

- в сравнении с другими системами, ксеноновые лампы не так стабильны в распределении спектральной энергии (псевдо-шум). Следовательно, невозможно использование ксеноновых ламп в однолучевых фотометрах.

- Ксеноновые лампы – газоразрядные. Это означает, что эти лампы показывают определенную линию спектра. Спектр показывает характерный псевдо-шум.

Детально рассмотрим основную линию фотометра, при использовании ксеноновой лампы.

- Распределение энергии по спектральному диапазону ксеноновой лампы уступает по качеству комбинации дейтериево-вольфрамовых ламп. Там более, чем на 600 нм меньше энергии (сравните рис. 11 и 12).

Диспергирующая система

Элементами световой дисперсии в фотометре могут быть фильтр, призма или голографические решетки. Далее существует разделение на монохроматичную и полихроматичную системы.

УФ Вид спектрофотометр может быть одно- или двулучевой.

Однолучевая система имеет более высокую светосилу, так как энергия не разделена между двумя лучами.

Двулучевая система имеет лучшую долговременную стабильность, так как колебание интенсивности ламп корректируются вто-

рым лучом. Более того, возможна прямая компенсация "холостой пробы".

Влияние ширины спектральной щели на спектральный анализ
Хорошо известный пример влияния спектральной ширины щели на спектральный анализ при измерении бензола. Бензол, имеет максимальные характеристики в УФ спектре. Спектр бензоловых паров измеренный при различных щелях представлен на рисунке 4.

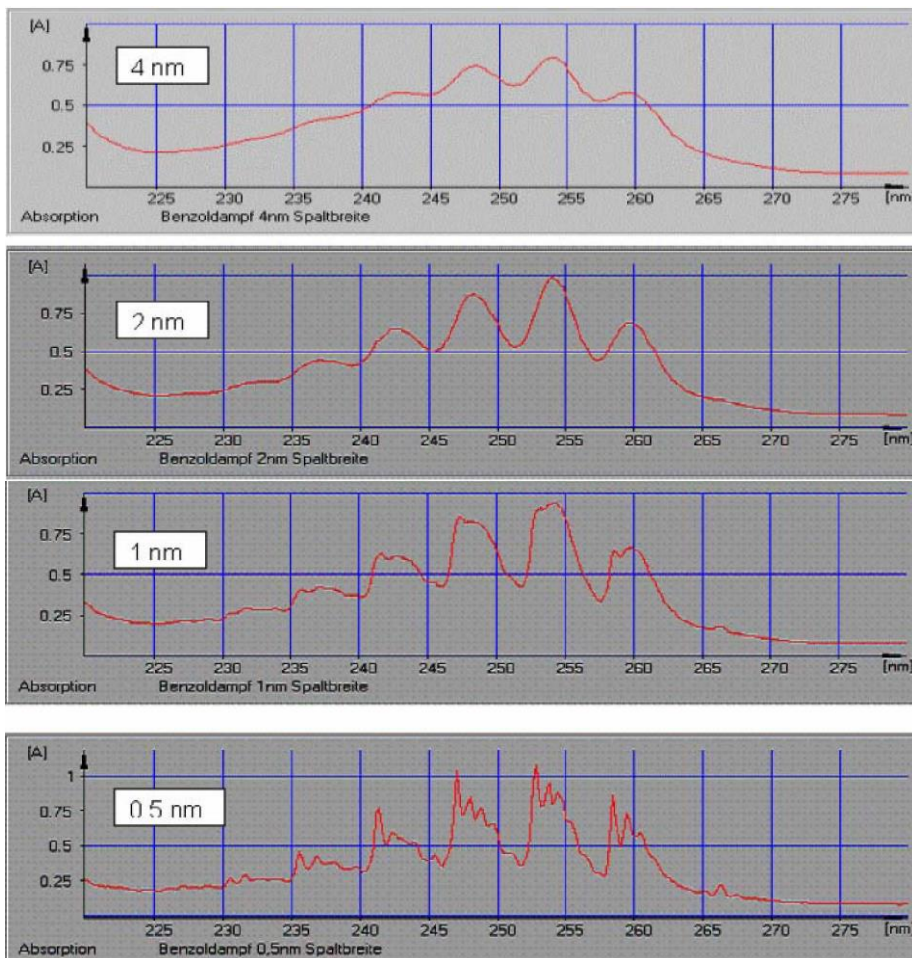


Рисунок 4 Спектры бензола, измеренные с использованием различных щелей

Характерная бензолу структура может быть точно установлена с помощью щели 0.5 нм. Однако, сигнал коэффициента шума, измеряемого с меньшей щелью сильнее, в силу того, что меньшее количество энергии достигает детектора. Для измерений, находящихся на пределе возможного определения, рекомендуется использовать щель большего размера (например, 4 нм). В этом случае

больше энергии достигает детектора и сигнал коэффициента шума намного ниже, и при этом измерения проб с низким коэффициентом поглощения могут быть обработаны более точно.

Типы образцов и детекторы.

УФ Вид – спектроскопия в основном используется для анализа жидкостей и растворов. Жидкости и растворы помещают в ячейки и затем вставляют в отделение для образцов в спектрофотометре. Используя специальное приспособление можно измерять твердые и газообразные субстанции. В УФ Вид спектрофотометрах фотодиоды или фото умножители (ФЭУ) используются в качестве детекторов.

Преимущество отдается фотодиодам, так как ФЭУ имеют ряд критических недостатков. Действие фотоэлементов и фотоумножителей основано на явлении внешнего фотоэффекта. Фотоны, падающие на поверхность fotocувствительного катода, выбивают из него электроны. Эти электроны ускоряются в электрическом поле между катодом и анодом, в результате чего во внешней цепи возникает электрический ток. Спектральная чувствительность фотоэлемента определяется материалом фотокатода. Как правило, фотокатод состоит из трех слоев - проводящего (например, из серебра), полупроводящего (биметаллический или оксидный слой) и тонкого поглощающего слоя (щелочной металл, обычно Cs). Фотокатод с составом слоев Ag/сплав Cs-Sb/Cs («синий» фотокатод) чувствителен к излучению с длиной волны до 650 нм. Для более длинноволновой области используют фотоэлементы с «красным» фотокатодом состава Ag/Cs-0-Cs/Cs.

Постоянная времени фотоэлемента (время отклика) имеет порядок 10^{-8} с. Фотоумножители состоят из нескольких дополнительных диодов на которые последовательно попадают электроны, выбиваемые из фотокатода. Из каждого диода при падении на него электрона выбивается несколько вторичных электронов, падающих далее на следующий диод. В результате достигается многократное увеличение силы тока.

Действие фоторезисторов и фотодиодов основано на внутреннем фотоэффекте и некоторых специфических свойствах полупроводниковых материалов. Фотоны, падающие на светочувствительный слой фотодиода, генерируют электрический ток, который уси-

ливается под действием небольшой разности потенциалов. Величина тока прямо пропорциональна интенсивности потока фотонов, падающих на светочувствительный элемент.

Исследование биологических материалов в УФ Вид спектроскопии.

Для некоторых моделей спектрофотометров существует модуль, оснащенный всеми стандартными параметрами используемыми в биоанализах, таких как анализ и определение количества биологических молекул. Этот модуль включает в себя все необходимое дополнительное оборудование для биоанализов, таких как регулируемый держатель ячейки, программное обеспечение с заранее запрограммированными методами анализа ДНК, протеина, оптической плотности и ферментативной кинетики. Также исследователь имеет возможность запрограммировать свои вычисления. Примеры использования спектрофотометрии для анализа биообъектов представлены на рисунке 4

Задание 1 Изучить принцип работы и устройство спектрофотометра, изучить закон Бугера-Ламберта Берра результаты записать в тетрадь

Задание 2 Ответить на вопросы, результаты записать в тетрадь

1. В чем заключается суть метода спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра?
2. Какие области спектра вы знаете, какие длины волн соответствуют различным областям спектра?
3. Какие методы спектроскопии Вы знаете, чем обусловлено выделение этих методов в спектроскопии?
4. Назовите принцип поглощения энергии в УФ и видимом спектральном диапазоне?
5. Назовите виды информации, полученные с помощью современных УФ, Вид спектрофотометров, и дайте им краткую характеристику.
6. В чем заключается количественная информация, полученная с помощью спектрофотометра?

7. В чем заключается качественная информация, полученная с помощью спектрофотометра?
8. В чем заключается Закон Бугера-Ламберта-Бера?
9. Что такое калибровочные графики в спектрофотометрии?
10. Принципы построения калибровочных графиков при спектрофотометрическом анализе.
11. Правила проведения аналитических определений концентрации вещества с использованием калибровочного графика.
12. Проведение кинетических исследований с использованием спектрофотометрии.
13. Области применения УФ Вид спектрофотометров.
14. Пробоподготовка для спектрофотометрии.
15. Устройство УФ Вид спектрофотометра.
16. Источники света в спектрофотометрах.
17. Что такое диспергирующая система спектрофотометра.
18. Какое влияние оказывает ширина спектральной щели на спектральный анализ?
19. Типы образцов и детекторы в УФ Вид – спектроскопии
20. Исследование биологических материалов в УФ Вид спектроскопии.
21. Кюветы используемые в спектрофотометрии.

Задание 3 Найти с использованием сети интернет и перечислить ГОСТы для исследования пищевых продуктов с помощью спектрофотометрии.

Список рекомендуемой литературы

1. Браун Д., Флойд А., Сейнзбери М, Спектроскопия органических веществ: Пер. с англ. М.: Мир, 1992. - 300 с.
2. Марченко З, Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе / З. Марченко, М. Бальцежак; Пер. с польск.- М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007.-711 с.
3. Смирнов В.А. Аминокислоты и полипептиды: учеб. пособ. Ч. I./ В.А. Смирнов, Ю.Н. Климочкин. – Самара. Самар. гос. техн. ун-т., 2007. – 110 с.
4. Коренман Я. И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: В 4-х книгах. 2-е изд., перераб. и доп. - Книга 2. Оптические методы анализа. - М.: КолосС, 2005. - 288 с.

