

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина»
Агропромышленный институт
Кафедра технологии хранения и переработки сельскохозяйственной
продукции

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
по учебной дисциплине

Методы исследований пищевых производств

Лабораторный практикум подготовил к изданию доцент кафедры технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции, кандидат сельскохозяйственных наук Захаров В.Л.

Одобен и рекомендован к изданию кафедрой технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции
(протокол № 10 от 01.02. 2016 г.)

Рецензенты:

доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Общая химия и экспертиза товаров» Бийского технологического института (филиал) ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова»
Школьникова Марина Николаевна

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры химии и биологии института математики, естествознания и техники Елецкого государственного университета им. И.А. Бунина
Воржев Владимир Фёдорович

Захаров В.Л.

Методы исследований пищевых производств: лабораторный практикум. – Елец: ЕГУ им. И.А. Бунина, 2016. – 62 с.

В пособии представлены методические указания по проведению лабораторных работ в рамках дисциплины методы исследований пищевых производств, приведены алгоритмы выполнения анализов, даны формулы для расчёта важнейших показателей качества пищевых продуктов. Каждая тема содержит описание хода работы и рекомендуемую литературу.

Практикум предназначен для преподавателей и студентов направления подготовки 110900.62 – технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции

Лабораторная работа № 1

Тема 1: Отбор проб продуктов детского питания и подготовка их к анализу. Определение массы нетто или объема

Методы определения массы нетто или объема продукта и массовой доли составных частей описаны в ГОСТ 8756.1 «Продукты пищевые консервированные. Методы определения органолептических показателей, массы нетто и массовой доли составных частей».

Цель работы: изучить теоретически и практически правила отбора проб продукции для детского питания и подготовки их к испытанию. Определить массу нетто или объем исследуемых образцов консервированной продукции.

Аппаратура, реактивы и материалы: сухие молочные продукты детского питания, консервы детского питания; весы лабораторные общего назначения, цилиндры мерные. Отбор проб молочных продуктов и подготовка их к испытаниям проводится согласно ГОСТ 3622-68.

Ход работы

Провести оценку состояния тары и внешнего вида продукта. Провести сравнение с нормируемыми показателями.

После оценки состояния тары и органолептических показателей продукции проверяют температуру содержимого в центре единицы расфасовки.

После измерения температуры проверяют массу продукта в расфасовке.

Взвешивание производят на весах соответствующей грузоподъемности.

Чистую массу продукта в бутылках, банках, стаканах определяют следующим образом: освобождают тару от упаковки и этикеток. Вымытую снаружи бутылку, банку или стакан вытирают насухо и взвешивают на весах с ценой деления не более 5 г. Затем бутылку, банку или стакан освобождают от содержимого, тщательно промывают внутри, банку или стакан насухо вытирают, а бутылку перевертывают вверх дном и оставляют в таком положении на 2-3 мин, после чего взвешивают. Чистую массу находят по разности между первым и вторым взвешиванием. При взвешивании штучных продуктов в бумажной или другой таре на чашку с гирями кладут тот же материал, и в таком же количестве, какое употреблено на упаковке проверяемого продукта.

Объем жидких продуктов (молока, кисломолочных напитков, соков, напитков и др.) в бутылках или пакетах определяют следующим образом: содержимое бутылки или пакета переливают в мерный цилиндр соответствующей вместимости (для бутылок и пакетов: 1 дм³ – на 1000 см³; 0,5 дм³ – на 500 см³; 0,25 и 0,2 дм³ – на 250 см³), после чего бутылку или пакет держат перевернутыми над цилиндром 2-3 мин для стекания молока, соков, напитков, кисломолочных и других продуктов со стенок. Объем определяют с погрешностью не более 5 см³. Для определения объема жидких молочных продуктов в крупной таре чистую массу продукта делят на фактическую плотность.

Отбор проб сухих молочных продуктов и молочных консервов. Путем осмотра тары определяют дефекты: видимое нарушение герметичности, вздутие крышек, помятость корпуса, наличие ржавчины и степень ее распространения, дефекты запайки и закатки крышек. Перед исследованием пробы сухих молочных продуктов для детского питания тщательно перемешивают. При наличии слежавшихся комочков их растирают стеклянной палочкой. Для лучшего смешивания все содержимое банки пересыпают в большую ступку и быстро тщательно перемешивают, растирая пестиком, после чего снова пересыпают в банку и плотно закрывают пробкой. По результатам осмотра составляется отчет по работе.

Тема 2: Методы определения витаминов

Цель работы: изучить теоретические и освоить практически методы исследования витаминов С, β -каротина.

Распространение и значение витаминов

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

Сейчас известно свыше 13 соединений, относящихся к витаминам. Различают собственно витамины и витаминоподобные соединения (полная незаменимость которых не всегда доказана). К ним относятся биофлавоноиды (витамины Р), пангамовая кислота (витамин В₁₅), парааминобензойная кислота (витамин Н₁), оротовая кислота (витамин В₁₃), холин (витамин В₄), инозит (витамин Н₃), метилметионинсульфоний (витамин U), липоевая кислота, карнитин.

В отдельных продуктах содержатся провитаминные соединения, способные превращаться в организме человека в витамины, например, β -каротин, превращающийся в витамин А; эргостеролы, под действием ультрафиолетовых лучей превращаются в витамин Д.

По растворимости витамины могут быть разделены на две группы: водорастворимые (В₁, В₂, В₆, РР, С и другие) и жирорастворимые (А, Д, Е, К).

В качестве единицы измерения пользуются миллиграммами (1 мг = 10⁻³ г), микрограммами (1 мкг = 0,01 мг = 10⁻⁶ г) на 1 г продукта или мг% (миллиграммы витаминов на 100 г продукта) или мкг% (микрограммы витаминов на 100 г продукта). В то же время имеется группа соединений, близких к витаминам по построению, которые, конкурируя с витаминами, могут занять их место в ферментных системах, но не в состоянии выполнять их функции. Они получили название антивитаминов. Здоровое питание населения является одним из важнейших условий здоровья нации. Массовые обследования, проведенные Институтом РАМН, свидетельствуют о дефиците витаминов у большей части населения России. Наиболее эффективный способ витаминной профилактики – обогащение витаминами массовых продуктов питания.

Основные группы продуктов питания для обогащения витаминами:

- мука и хлебобулочные изделия – витамины группы В;
- продукты детского питания – все витамины;
- напитки, в том числе сухие концентраты – все витамины, кроме А, Д;
- молочные продукты – витамины А, Д, Е, К;
- фруктовые соки – все витамины, кроме А, Д.

При производстве продуктов питания нормирование и контроль за содержанием витаминов предусмотрены в продуктах, где они добавляются или где необходимо гарантировать их определенное содержание (продукты для детского и диетического питания, лечебные продукты). Добавляемыми и контролируемыми витаминами в плодоовощных консервах являются витамин С и каротин; витамины В₁ и В₂ определяют при установлении пищевой ценности продукта.

Витамин С находится в продуктах в виде аскорбиновой кислоты и дегидроаскорбиновой кислоты; обе формы физиологически активны, поэтому нормируется их суммарное содержание. В свежеприготовленных продуктах преобладает аскорбиновая кислота, поэтому для контроля витамина С используют упрощенные методы. После хранения часть аскорбиновой кислоты окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты, а часть разрушается. Для контроля витамина С в таких продуктах используют либо потенциометрический метод с восстановлением дегидроаскорбиновой кислоты α -цистеином, либо флуориметрический метод.

Упрощенный метод основан на извлечении аскорбиновой кислоты раствором соляной кислоты (которая извлекает не только свободную, но и связанную аскорбиновую кислоту) с последующим визуальным или потенциометрическим титрованием ее раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (краски). Метод применим для продуктов, содержащих более 2 мг аскорбиновой кислоты в 1 кг или 1 дм³ продукта.

Флуориметрический метод определения витамина С основан на взаимодействии дегидроаскорбиновой кислоты с о-фенилендиамином с образованием флуоресцирующего соединения, интенсивность флуоресценции которого пропорциональна концентрации витамина в растворе. Измерение флуоресценции проводят на флуориметре. Метод определения *каротина* изложен в ГОСТ 8756.22 «Продукты пищевые консервированные. Метод определения каротина». Существующие методы определения каротина дают сумму каротиноизомеров α , β и γ , поэтому правильнее говорить о методе определения содержания каротина. Метод основан на фотометрическом измерении массовой концентрации каротинов в растворе, полученном после экстрагирования каротинов из продукта органическим растворителем и очищенном от сопутствующих красящих веществ на адсорбционной колонке. Также используется метод И.К.Мурри – хроматография на колонках, который основан на экстракции ацетоном с последующим хроматографированием на колонке с окисью алюминия.

Из хроматографических методов также используется хроматография на бумаге и тонкослойной хроматографии. Разделение каротиноидов хроматографией в тонких слоях дает возможность выделить изомеры каротина (α , β).

Методы определения *витаминов В₁ и В₂* изложены в ГОСТ 25999 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витаминов В₁ и В₂». Оба метода основаны на флуориметрии. Начальная стадия анализа в обоих методах одинакова: навеску продукта для высвобождения витаминов подвергают кислотному гидролизу путем кипячения в растворе соляной кислоты, затем ферментативному гидролизу с использованием ферментных препаратов – амилоризина П10Х и пектаваморина П10Х. При определении витамина В₁ полученный гидролизат очищают катионитом, окисляют в тиохром и измеряют интенсивность флуоресценции при длинах волн 320-390 нм возбуждающего и 400-580 нм излучаемого света.

При определении витамина В₂ в слабоокрашенных овощных, фруктовых и ягодных продуктах в полученном гидролизате проводят окисление пигментов перманганатом калия, затем восстанавливают витамин В₂ гидросульфатом натрия и измеряют интенсивность флуоресценции до и после восстановления при длинах волн 360-480 нм возбуждающего и 510-650 нм излучаемого света.

При определении витамина В₂ в темноокрашенных консервированных продуктах, а также в овощных консервах с мясом и крупами в полученном гидролизате окисляют пигменты перманганатом калия, затем облучают раствор светом электролампы в течение 40 мин (при этом рибофлавин переходит в люмифлавин), экстрагируют люмифлавин хлороформом и измеряют интенсивность флуоресценции при длинах волн 360-480 нм возбуждающего и 510-650 нм излучаемого света. Для определения витаминов группы В применяют кроме вышеперечисленного люминесцентный анализ. Витамин В₁ не обладает собственной флуоресценцией, но щелочные растворы его легко окисляются с образованием тиохрома, водно-щелочные растворы которого флуоресцируют синим светом с максимумом интенсивности свечения при 460-470 нм.

Для определения этого витамина, навеску продукта подвергают гидролизу. Если в продукте тиамин содержится преимущественно в свободном виде, то

ограничиваются кислотным гидролизом. Для определения связанной формы витамина проводят гидролиз ферментом с сильной диастатической активностью. Из раствора тиамин выделяют адсорбцией на стеклянной хроматографической колонке, заполненной силикагелем, с последующим элюированием витамина из адсорбента кипящим кислым раствором KCl. Затем тиамин окисляют щелочным раствором $K_3Fe(CN)_6$. Спиртовой раствор полученного тioxрома отделяют от воды и измеряют ИЛ с помощью флуорометра, снабженного первичным светофильтром, который пропускает УФ-излучение в диапазоне 320-390 нм, и вторичным фильтром с полосой пропускания 400-580 нм. Содержание тиамина определяют по расчетной формуле.

Определение содержания аскорбиновой кислоты

1 г сока переносят в мерную колбу на 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через складчатый бумажный фильтр в сухую колбу или стакан. Отбирают в коническую колбу вместимостью 250 см³ 20 см³ фильтрата, приливают 1 см³ 2%-ного раствора соляной кислоты, 0,5 см³ 1%-ного раствора йодистого калия и 2 см³ 0,5%-го раствора крахмала. Смесь перемешивают и титруют из микробюретки 0,001 моль/дм³ раствором йодата калия до устойчивого синего окрашивания.

Параллельно ведут контрольное титрование. Для контрольного титрования вместо фильтрата берут 20 см³ дистиллированной воды. 1 см³ 0,001 моль/дм³ раствора йодата калия соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(C_3 - C_4) \cdot 0,088 \cdot C_1 \cdot 100}{H \cdot C_2},$$

где C_1 – общий объем вытяжки, см³;

C_2 – аликвота вытяжки, взятая на титрование, см³;

C_3 – объем 0,001 моль/дм³ раствора йодата калия, пошедшего на титрование опытного образца, см³;

C_4 – объем 0,001 моль/дм³ раствора йодата калия, пошедшего на титрование контрольного образца, см³;

H – масса навески, г.

Упрощенный метод определения витамина С

Приборы и реактивы: весы лабораторные; микробюретка вместимостью 2-5 мл; колбы конические вместимостью 50 и 100 мл; пипетки вместимостью 1,2,5,10,15 мл; стаканы химические вместимостью 100,150 и 250 мл; воронка стеклянная; палочка стеклянная; вата гигроскопическая; цилиндры измерительные вместимостью 25 и 50 мл; натриевая соль 2,6-дихлорфенолиндофенола, 0,001 н раствор; кислота соляная плотностью 1,19 г/см³, х.ч., 2%-ный раствор; вода дистиллированная.

Проведение испытания

При определении содержания аскорбиновой кислоты необходимо учитывать следующее: 1. Производить не менее двух параллельных титрований из 2-3

навесок; 2. При титровании пользоваться микробюретками; 3. Расхождение между параллельными титрованиями не должно превышать 0,03 мл; 4. Объем титруемой жидкости, состоящей из экстракта и дистиллированной воды, должен быть равен 15 мл. Так, если экстракта взято 4 мл, то воды следует добавить 11 мл (4 мл+11 мл=15 мл). Количество экстракта для титрования зависит от содержания в нем витамина С%; 5. Для более точного улавливания перехода окраски титрование следует производить в конической колбе на поверхности стола белого цвета; 6. Количество пошедшего на титрование индикатора должно быть в пределах 1-2 мл. Если индикатора расходуеться менее 1 мл или более 2 мл, то увеличивается погрешность анализа; 7. Титрование не должно продолжаться более 2 мин. При титровании образца с малым содержанием витамина С раствор приливают из микробюретки по каплям. При титровании образца с большим содержанием витамина С вначале прибавляют по несколько капель индикатора; 8. Продолжительность анализа исследуемого образца – не более 35 мин.

Ход анализа

Жидкие продукты, взятые для анализа по объему или массе, непосредственно перед титрованием для полной экстракции витамина С разводят 2%-ным раствором соляной кислоты в соотношении 1:1 и тщательно перемешивают. Затем отбирают пипеткой 1-10 мл экстракта, в зависимости от содержания витамина С, установленного пробным титрованием, вносят в 2-3 конические колбы вместимостью 50-100 мл, в которые заранее налито по 1 мл 2%-ного раствора соляной кислоты и добавляют такое количество дистиллированной воды, чтобы общий объем жидкости равнялся 15 мл, после чего титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания, не исчезающего 0,5-1 мин. Если жидкие продукты титруют без разведения, то их переносят пипеткой в конические колбы, в которые предварительно налит 1 мл 2%-ного раствора соляной кислоты, в количестве 1-10 мл (в зависимости от содержания витамина С) и добавляют воду до общего объема 15 мл.

Определение каротина по Сапожникову

Растительные пигменты, окрашенные в желтый или оранжевый цвет, нерастворимы в воде, но растворимы в органических растворителях типа бензина, ацетона, петролейного эфира, гексана составляют группу каротиноидов. Наиболее известным представителем её является каротин – пигмент, придающий оранжевую окраску корнеплодам моркови, зёрнам кукурузы, наряду с хлорофиллом он окрашивает зелёные части растений. Формула каротина – $C_{40}H_{56}$. Обычно растительные пигменты представляют собой смесь двух-трёх изомеров, характерной особенностью каротиноидов является наличие в них значительного числа сопряжённых двойных связей (около 15), образующих их хромоформные группы, от которых зависит окраска. Предполагают, что каротиноиды как переносчики активного кислорода у растений играют важную роль в процессах фотосинтеза, дыхания, роста. Их значение в питании человека связано с тем, что при ферментативном разложении одной молекулы каротина в жи-

вотном организме образуется 2 молекулы витамина А. Отсутствие или недостаток витамина А приводит к нарушению роста, снижению иммунитета, ослаблению зрения (куриная слепота). Наиболее важным его источником в пище человека являются листовые овощи (салат, шпинат, зелёный лук), морковь, томаты, жиры из печени морских рыб, для животных – окрашенные корнеплоды и луговые травы. Определение каротина необходимо для оценки качества растительной продукции в зависимости от агротехнических приёмов и факторов, в зоотехнии – для составления рационов кормления, в здравоохранении – для разработки лечебного питания.

Ход анализа

Пробу (20-30 г) свежих листьев, корнеплодов или плодов предварительно измельчают. Из них берут 1-5 г навески и помещают в фарфоровую ступку. Добавляют 0,5 г (на кончике ножа) соды, которая нейтрализует кислоты и стабилизирует каротин, поскольку он разрушается в кислой среде. Добавляют 0,5 г порошкового стекла и растирают до однородной массы. В расчёте на 1 г навески добавляют 3 г безводного сернокислого натрия, тщательно перемешивают. Добавляют 5 г окиси алюминия (Al_2O_3) (при отсутствии берут другой адсорбент, например, окис магния MgO), снова перемешивают, при этом следят, чтобы осадок не прилип ко дну чашки. В таком случае его отсторожно соскабливают ложкой и равномерно перемешивают весь этот порошок. Для полноты адсорбции пигментов эту смесь оставляют на 20 минут в тёмном месте. Тем временем готовят адсорбционную воронку. Для этого в нижнюю часть стеклянной воронки закладывают ватный тампон средней плотности, затем насыпают Al_2O_3 слоем 1 см на вату. Высота адсорбционного слоя (вата и алюминий) должна быть примерно 2,5 см. Поверхность адсорбента выравнивают и смачивают каплями дистиллированной воды по всей поверхности (примерно 15 капель). Воронку вставляют в колбу на 250 мл. По истечении 20 минут смесь порошков из фарфоровой чашки высыпают в адсорбционную воронку, равномерно распределяя. Ступку и пестик ополаскивают бензином, который выливают в адсорбционную воронку. В адсорбционную воронку льют бензин до тех пор, пока вата не станет совершенно белой (сначала она становится жёлтой). Капли бензина должны стать бесцветными. После полного осветления ваты измеряют объём бензина (V), израсходованный на вымывание каротина. Далее проводят колориметрирование на ФЭКе при длине волны 420 нм. Используют кюветы с шириной внутренней камеры 0,5 см. В контрольную кювету наливают чистый бензин, а в опытную – бензин, окрашенный каротином (из колбы на 250 мл). Цифру с ФЭКа переводят в каротин по графику (А).

Расчёт: $\frac{V \cdot A \cdot 100}{H}$

Н

где: V- объём бензина, израсходованный на промывку адсорбента, мл; А – каротин по графику, мг; 100 – коэффициент для перевода на 100 г навески, Н – навеска, г.

Реактивы:

1. Окись алюминия (Al_2O_3), высушенная при 105°C в сушильном шкафу,
2. Натрий сернокислый безводный Na_2SO_4 (порошок),
3. Бензин, очищенный через активированный уголь
4. Основной стандартный раствор двуххромовокислого калия ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) для построения графика на каротин (720 мг $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ «х.ч» растворяют в 1 дм³(л) дистиллированной воды, 1 см³ (мл) этого раствора соответствует 0,00416 мг каротина. Разведения готовят в колбах на 100 мл, доводя раствор до метки дистиллированной водой. Исходный раствор $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ долго сохраняется в темноте.

Работу по извлечению каротина проводят под тягой, при этом недопустима работа любых нагревательных приборов в помещении и курение.

Определение β -каротина

Метод определения каротиноидов основан на фотометрическом измерении массовой концентрации каротиноидов в растворе этилового спирта.

1 см³ сока помещают в мерную колбу на 50 см³, доводят объем этиловым спиртом до метки, перемешивают и фильтруют. В фильтрате определяют оптическую плотность при длине волны 450 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве контроля используется этиловый спирт.

Содержание β -каротина (в мг/100 см³) рассчитывают по формуле:

$$K = D \cdot 0,00208 \cdot 50 \cdot 100,$$

где D – оптическая плотность раствора;

0,00208 – количество β -каротина в мг раствора, соответствующее по окраске стандартного образца;

50 – разведение, см³.

Литература

1. ГОСТ 8756.22-80. Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения каротина. Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета СССР по стандартам от 06.03.1980 г. № 1034. – 4 с.

2. ГОСТ 24556-89 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С. – М.: ИПК Изд-во стандартов, 2003. – 11 с.

3. ГОСТ Р 55482-2013 Мясо и мясные продукты. Методы определения содержания водорастворимых витаминов. М.: Стандартиформ, 2014. – 24 с.

4. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1976. – 255 с.

5. Шлык А.А. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 154–170.

Лабораторная работа № 2

Методы определения белка

Цель работы: изучить методы исследования белка.

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

В природе существует примерно от 10^{10} до 10^{12} различных белков, содержание которых в биологических объектах зависит от ряда факторов – климатических условий, урожайности, биологических особенностей. Белки в питании человека занимают особое место. Они выполняют ряд специфических функций, свойственных только живой материи. Белковые вещества наделяют организм пластическими свойствами, заключающимися в построении структур субклеточных включений (рибосом, митохондрий и т.д.), и обеспечивают обмен между организмом и окружающей внешней средой. В обмене веществ участвуют как структурные белки клеток и тканей, так и ферментные и гормональные системы. Белки регулируют и координируют все то многообразие химических превращений в организме, которое обеспечивает функционирование его как единого целого.

Эффективность обмена белков в значительной степени зависит от количественного и качественного состава пищи. При поступлении белков (с пищей) ниже рекомендуемых норм, в организме начинают распадаться белки тканей (печени, плазмы крови и т.д.), а образующиеся аминокислоты – расходоваться на синтез ферментов, гормонов и других, необходимых для поддержания жизнедеятельности организма, биологически активных соединений. Повышенное содержание белков в составе пищи значительного влияния на обмен веществ в организме человека не оказывает, при этом избыток продуктов азотистого обмена выводится с мочой.

Состояние белкового обмена в большей степени зависит от недостатка или отсутствия незаменимых аминокислот. Клетки организма человека не могут синтезировать необходимые белки, если в составе пищи отсутствует хотя бы одна незаменимая кислота.

Средне суточная физиологическая потребность в белке в течении более чем ста лет постоянно исследуется и периодически отражается в решениях ВОЗ, ФАО и национальных организаций различных стран. Эти величины носят ориентировочный характер, так как они находятся в стадии постоянного уточнения в зависимости от возраста человека, пола, климата, индивидуальных и национальных особенностей и степени загрязнения окружающей среды. В соответствии с рекомендациями ВОЗ и ФАО величина оптимальной потребности в белке составляет 60-100 г в сутки или 12-15 % от общей калорийности пищи.

В пересчёте на 1 кг массы тела потребность белка в сутки для детей, в зависимости от возраста, колеблется от 1,05 до 4,00 г.

По своему строению белки представляют собой высокомолекулярные соединения, состоящие из аминокислот. Соединенные амидной (пептидной) связью (-CO - NH) аминокислоты образуют полипептиды простого (протеина) и сложного (протеида) строения. В состав протеидов дополнительно входят небелковые вещества (липиды, углеводы и т.д.).

Известно, что в состав белков входят двадцать различных аминокислот, причем восемь из них не могут синтезироваться в организме человека и поэтому являются незаменимыми (валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин).

Полузаменимые аминокислоты синтезируются в организме, но в недостаточном количестве, поэтому частично должны поступать с пищей. К таким аминокислотам относятся аргинин, тирозин, гистидин (последняя аминокислота не синтезируется в организме детей).

Заменимые аминокислоты синтезируются в организме в достаточном количестве. Они представлены девятью аминокислотами, хотя некоторые из них можно отнести к условнозаменимым (например, тирозин образуется в организме только из фенилаланина и при поступлении последнего в недостаточном количестве может оказаться незаменимым; цистин и цистеин могут образовываться из метионина, но необходимы при недостатке этой аминокислоты).

В среднем белковые молекулы содержат (50-54) % углерода; (15-18) % азота; (20-23) % кислорода; (6-8) % водорода и (0,3-2,5) % серы.

Присутствие белка в пищевых объектах устанавливается с помощью *качественных реакций*, которые условно разделяют на две группы: цветные реакции и реакции осаждения.

Среди первой группы наиболее распространёнными реакциями является биуретовая реакция на пептидную (амидную) связь (реакция Пиотровского) и нингидриновая реакция на α – аминокислоты, а также специфические, обусловленные присутствием в белках остатков определённых аминокислот. По результатам специфических реакций ориентировочно можно судить о пищевой ценности белков.

Суть реакции Пиотровского состоит в том, что благодаря присутствию в молекуле белка пептидной связи (-CO-NH-) амидная связь
Другой качественной реакцией на белки, содержащие α – аминокислоты является нингидриновая реакция. Нингидрин в концентрации 0,1 % реагирует с равным объёмом раствора белка NH_2 - группами, содержащимися в α – положении при нагревании с последующим охлаждением придаёт системам синее окрашивание.

Наиболее распространёнными *количественными методами* являются метод Кьельдаля, Лоури с реактивом Фолина, Войвуда в модификации Т.А. Глагоревой, К.А. Мерка.

Содержание белка в пищевых объектах обычно определяют по количеству азота с использованием метода Кьельдаля. С целью упрощения и сокращения длительности анализа этот метод с момента его разработки (1983) неодно-

кратно модифицировался с применением различных катализаторов и условий минерализации. На основе модифицированных методов созданы высокопроизводительные автоматические анализаторы типа «Кьельфос», стоимость определения содержания белка на которых и сегодня остаётся высокой.

Определение массовой доли белков методом формольного титрования

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

Для определения содержания формальдегида в техническом формалине готовят раствор сульфита натрия: 126 г сульфита натрия кристаллического (Na₂SO₃ • 7H₂O) или 63г безводного сульфита натрия (Na₂SO₃) растворяют в мерной колбе вместимостью 500см³ и объём доводят дистиллированной водой до метки.

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

Количество 1 н. раствора серной кислоты (в см³), израсходованной на титрование образовавшегося гидроксида натрия, показывает количество формальдегида, содержащегося в 100см³ формалина (г/100см³). Для определения количества белка допускается применять формалин с содержанием формальдегида не менее 36г на 100см³. При наличии мути или осадка раствор формалина перед употреблением фильтруют.

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

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

Для приготовления эталона окраски в химический стакан вместимостью 150-200см³ отмеривают пипеткой 20мл молока и добавляют 0,5мл 2,5 %-ного

раствора сульфата кобальта. Эталон пригоден для работы в течении одной смены. Для лучшего сохранения к эталону можно добавить одну каплю формалина. Во избежание отстоя сливок эталон рекомендуется перемешивать.

Определение содержания белков в молоке при титровании проб в присутствии формалина

Количество 0,1н. раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %	Количество 0,1н. раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %
2,45	2,35	3,3	3,16
2,5	2,4	3,35	3,21
2,55	2,44	3,4	3,25
2,6	2,49	3,45	3,31
2,65	2,54	3,5	3,35
2,7	2,59	3,55	3,4
2,75	2,64	3,6	3,45
2,8	2,69	3,65	3,5
2,85	2,73	3,7	3,55
2,9	2,78	3,75	3,6
2,95	2,83	3,8	3,65
3	2,88	3,85	3,69
3,05	2,93	3,9	3,74
3,1	2,98	3,95	3,79
3,15	3,03	4	3,84
3,2	3,07	4,05	3,89
3,25	3,12	4,1	3,94

Ход работы

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

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

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

Колориметрический метод определения белка (по Лоури)

Аппаратура, реактивы и материалы: 1) 2 %-й раствор Na_2CO_3 в 0,1н NaOH ; 2) раствор 0,5 % $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 %-м растворе двухзамещённого виннокислого натрия или калия; 3) опытный раствор: готовят смешивая 1-й и 2-й растворы (50 : 1 по объёму); реактив годен в течении дня; 4) реактив Фолина.

Приготовление реактива Фолина. Для стандартного раствора 100г вольфрамата натрия ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) и 25г молибдата натрия $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 700см^3 воды. К смеси добавляют 50см^3 85 %-го раствора фосфорной и 100см^3 соляной кислот ($\rho = 1,19$). Затем кипятят (не слишком сильно) 10 ч с обратным холодильником в вытяжном шкафу. После этого в колбу добавляют 150г сернокислого лития, 50 см^3 воды и 5 капель бромной воды. Смесь кипятят в течении 15 мин в вытяжном шкафу для удаления избытка брома, после охлаждения доводят водой до 1дм^3 . Затем фильтруют и хранят в тёмной склянке с притёртой пробкой. Раствор должен быть ярко-жёлтого цвета. Обычно перед употреблением реактив Фолина разбавляют в 2 раза. Раствор можно хранить длительное время.

Ход работы

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

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

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

Определение белка колориметрическим (фотометрическим) методом

Фотометрия

Фотометрический метод количественного анализа основан на способности определяемого вещества, компонента смеси или их окрашенных форм поглощать электромагнитное излучение оптического диапазона. Способность к поглощению зависит от цветности исследуемого вещества. Цветность определяется электронным строением молекулы, обычно ее связывают с наличием в молекуле так называемых хромофорных групп, обуславливающих поглощение электромагнитного излучения веществом в видимой и УФ-областях спектра.

Общая схема выполнения фотометрического определения едина и включает следующие стадии: 1.подготовку пробы и переведения определяемого ве-

щества или компонента в раствор, в реакционноспособную, в зависимости от химизма аналитической реакции форму; 2. получение окрашенной аналитической формы определяемого вещества в результате проведения цветной реакции при оптимальных условиях, обеспечивающих ее избирательность и чувствительность; 3. измерение светопоглощающей способности аналитической формы, т.е. регистрация аналитического сигнала при определенных условиях, отвечающих его локализации и наибольшей интенсивности.

Промышленностью выпускаются различные приборы молекулярно-абсорбционной спектроскопии – колориметры, фотометры, фотоэлектроколориметры, спектрофотометры и т.д., в которых установлены различные комбинации источников света, монохроматизаторов и рецепторов.

Аппаратура, реактивы и материалы.

В стеклянную пробирку помещают пипеткой 1 см³ раствора молока, приливают 20 см³ раствора красителя и, закрыв пробирку резиновой пробкой, перемешивают её содержимое, переворачивая пробирку от 2 до 10 раз.

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

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

Отбирают пипеткой 1 см³ надосадочной жидкости, помещают в мерную колбу вместимостью 50 см³, доливают колбу до метки водой и содержимое перемешивают. Аналогичным способом разбавляют раствор красителя в 50 раз.

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

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

$$Б = 7,78Д - 1,34,$$

где Д – измеренная оптическая плотность, ед. оптической плотности;

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

1,34 – эмпирический коэффициент, %.

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

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

Литература

1. ГОСТ 25011-81 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка. Утверждён постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 27.11.81. № 5145. – 7 с.

2. ГОСТ 7636-85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа. Утверждён постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 27.03.85. № 898. – 86 с.

3. ГОСТ 10846-91 Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка. Утверждён и введён в действие Постановлением комитета стандартизации и метрологии СССР от 18.12.91. № 1995. – 6 с.

4. ГОСТ 13586.1-68 Зерно. Методы определения качества и количества клейковины. М.: Стандартинформ, 2009. – 5 с.

5. ГОСТ Р 54390-2011 Продукты пищевые. Определение общего содержания азота путём сжигания по методу Дюма и расчёт содержания белка. Ч.2. Зерновые бобовые и молотые зерновые продукты. – М.: Стандартинформ, 2013. – 24 с.

Лабораторная работа № 3

Методы определения углеводов

Цель работы: Изучить теоретически и освоить определение углеводов с сырьё и готовой продукции.

Рефрактометрия

Метод рефрактометрии основан на определении показателя преломления (рефракции). Показатель преломления зависит от температуры и концентрации раствора, а также от длины волны проходящего света.

Так как показатель преломления зависит от такого фактора, как температура, поэтому рефрактометрические измерения принято выполнять при температуре 20⁰С. При отклонении температуры от 20⁰С вводят соответствующие температурные поправки.

Для измерения показателя преломления жидких веществ и растворов применяют приборы, называемые рефрактометрами. Большинство рефрактометров устроено так, что исследуемое вещество помещается между двумя призмами (двумя половинами призмы). Свет, пропущенный через призму, преломляясь или отражаясь от границы раздела сред (призма-вещество), освещает только часть шкалы, образуя достаточно резкую границу света и тени. Положение этой границы на шкале зависит от угла полного внутреннего отражения исследуемого вещества. На шкале указаны показатели преломления, соответствующие различным значениям угла полного внутреннего отражения.

Для определения составных частей сырья и готовой продукции используют различные рефрактометры ИРФ-454, ИРФ-464 и др.

Рефрактометрию широко применяют при установлении концентрации углеводов в различных продуктах, массовой доли сухих веществ. Этим методом пользуются также для количественного определения жиров в пищевых продук-

тах, для пофазного контроля в процессе производства пищевых продуктов – кондитерских, напитков, некоторых видов консервов и т.д.

Распространение и классификация углеводов

Согласно принятой в настоящее время классификации углеводы подразделяются на три основные группы: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

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

Наиболее распространённый углевод – целлюлоза, структурный компонент деревьев и других растений. Главный пищевой ингредиент – крахмал. Моносахариды встречаются в свободном виде в природе в небольших количествах, в основном они присутствуют как структурные единицы полисахаридов, входят в дисахариды и олигосахариды.

Среди моносахаридов широко известными являются глюкоза, фруктоза, галактоза, арабиноза, ксилоза и D – рибоза.

Глюкоза (виноградный сахар) в свободном виде содержится в ягодах и фруктах (в винограде до 8 %; в сливе, черешне 5-6 %, в мёде 36 %).

Фруктоза (плодовый сахар) содержится в чистом виде в пчелином мёде (до 37 %), винограде (7,7 %), яблоках (5,5 %).

Галактоза - составная часть молочного сахара (лактозы), которая содержится в молоке млекопитающих, растительных тканях и семенах.

Дисахариды – сложные сахара, каждая молекула которых при гидролизе распадается на две молекулы моносахаридов. Среди дисахаридов особенно широко известны мальтоза, сахароза и лактоза.

Пектиновые вещества, содержащиеся в растительных соках и плодах, представляют собой гетерополисахариды, построенные из остатков галактуроновой кислоты. Пектиновые вещества составляют основу гелей.

Для определения *моно- и олигосахаридов* используют их восстанавливающую способность. Сначала их извлекают из пищевых продуктов 80 %-м этиловым спиртом. Спиртовые экстракты упаривают под вакуумом, разбавляют горячей водой и фильтруют. При анализе продуктов, относительно богатых белками и фенольными соединениями, фильтрат дополнительно обрабатывают нейтральным раствором ацетата свинца, избыток которого удаляют сульфатом, фосфатом или оксалатом натрия. Осадок отфильтровывают, а в фильтрате определяют восстанавливающие (редуцирующие) сахара с использованием гесацианоферрата (III) калия, фелинговой жидкости или йодометрически. Для определения сахарозы (вместе с редуцирующими сахарами) её необходимо предварительно гидролизовать.

Качественный и количественный анализ отдельных сахаров проводят методами газо-жидкостной, ионообменной или высокого разрешения жидкостной хроматографией.

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

Для определения декстринов их извлекают (40°C) водой и осаждают 96 %-м этанолом, проводят гидролиз и определяют глюкозу. Для расчёта используют соответствующие коэффициенты. Можно использовать метод спектрофотометрии, измеряя интенсивность окраски йодокрахмального комплекса.

Общее содержание *пищевых волокон* (лигнин + неусваиваемые углеводы) обычно определяют гравиметрическим методом. Анализ заключается в использовании фракционирования – сначала растворяют крахмал и белки при помощи ферментов, имитирующих расщепление их в желудочно-кишечном тракте человека (α – амилаза, пепсин, панкреатин), растворимые пищевые волокна осаждают спиртом, фильтруют, осадок взвешивают.

Определение *пектина* основано на извлечении пектина (растворимого пектина и протопектина) из пищевого продукта, осаждении и взвешивании. Для извлечения растворимого пектина применяют экстракцию холодной водой с последующим кипячением. Для извлечения протопектина применяют кипячение с соляной кислотой после извлечения растворимого пектина. Для продуктов, богатых крахмалом, применяют специальные приёмы его отделения. Для осаждения пектина проводят реакцию с хлоридом кальция. Помимо взвешивания можно определять в осадке содержание кальция комплексонометрически с трилоном Б и по этим данным рассчитывать содержание пектина.

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

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

Ниже описанные методы определения сахаров, наиболее часто используемые при исследовании сырья и готовой продукции.

Перманганатный метод Бертрана. Этот метод основан на окислении сахаров реактивами, в состав которых медь входит в виде растворимого комплексного соединения. Оно образуется при смешивании равных объёмов раствора серно-кислой меди (Фелинг №1) и щелочного раствора калия-натрия винно-кислого (Фелинг №2). При нагревании жидкость Фелинга окисляет ре-

дуцирующие сахара, в результате чего окись меди восстанавливается до закиси. Закись меди растворяют кислым раствором железоммонийных квасцов или серно-кислого окисного железа, при этом закись меди восстанавливает серно-кислое окисное железо в серно-кислое закисное железо, которое оттитровывают раствором марганцово-кислого натрия. По объёму марганцово-кислого калия рассчитывают количество восстановленной меди, а затем, пользуясь специальными таблицами, находят количество сахара.

Цианидный метод. Данный метод применяют для определения количества хлеба в рубленых полуфабрикатах из мяса (птицы, рыбы); риса в фаршах; муки и манной крупы в творожных изделиях; сахарозы в сладких и вторых блюдах, напитках, лактозы в молочных продуктах.

Метод основан на способности редуцирующих сахаров восстанавливать в щелочном растворе железосинеродистый калий в железисто-синеродистый.

Окончание процесса окисления редуцирующих сахаров определяют по индикатору, в качестве которого используют метиленовый голубой. В конце реакции он восстанавливается сахарами в бесцветное лейкооснование. Метод можно использовать при концентрации сахаров не менее 0,2 % и не более 2 %.

Рефрактометрический метод. Этим методом контролируют содержание сахара в напитках (чае, кофе с сахаром, кофе и какао с молоком), сладких блюдах (киселях, плодово-ягодных, молочных, муссах плодово-ягодных, желе, самбуках), в бисквите и песочных лепёшках, в некоторых кремах. Принцип метода описан ранее.

Для определения сахарозы фруктозы и других кетосахаров в растительных продуктах и сырье используют метод Мак-Рери и Слаттери (1960), основанный на способности кетосахаров давать окраску с резорцином в кислой среде.

Количественное определение большинства высокомолекулярных углеводов основано на свойстве их гидролизываться при кипячении с разбавленными (крахмал, гемицеллюлозы) или концентрированными (целлюлоза) минеральными кислотами до конечного продукта – простых сахаров и на учете последних. Многие углеводы обладают оптической активностью, и это свойство также используется для количественного их определения (крахмал). Очень часто применяются поляриметрические методы с использованием поляриметров различной конструкции. Принцип метода состоит в гидролизе крахмала и определении в гидролизате угла вращения.

Количественное определение пектиновых веществ основано на их свойстве давать окраску с карбазолом. Среди таких методов широко применяют карбазольный метод, который основан на появлении специфического фиолетово-розового окрашивания в результате взаимодействия уроновых кислот с карбазолом в серноокислой среде. При этом образуется 5-карбоксихурфурол, обладающий максимумом поглощения при 535 нм.

Количественное определение каждой из групп полисахаридов затрудняется их растворимостью. Поэтому существует много схем последовательного определения полисахаридов, но ни одну из них нельзя рассматривать как достаточно точную. В большинстве их предварительным кипячением с водой спир-

тонерастворимого остатка извлекают пектиновые вещества, затем, применяя растворы щелочи различной концентрации, извлекают гемицеллюлозы, затем серной кислотой (также различной концентрации) определяют целлюлозу. В некоторых схемах вместо щелочи для определения гемицеллюлоз применяют обработку разбавленной (2-3%-й) кислотой.

Определение целлюлозы проводят по методу Кюршнера и Ганека. Этот метод основан на окислении, разрушении и растворении различных химических соединений, входящих в состав продуктов, смесью уксусной и азотной кислот. При этом целлюлоза (клетчатка) практически не растворяется, отфильтровывается и взвешивается.

Для *качественного* обнаружения различных углеводов используют некоторые характерные для них реакции. В продуктах в свободном состоянии присутствуют различные сахара – моносахариды и олигосахариды. Благодаря введению в лабораторную практику метода распределительной хроматографии на бумаге удается легко и сравнительно быстро разделить сложную смесь сахаров на индивидуальные сахара и идентифицировать их.

Для определения моносахаридного состава используется газохроматическое разделение данных смесей на летучие производные.

Для *качественного* определения крахмала используют очень чувствительную реакцию крахмала с йодом (синее окрашивание), применяемую, например, в качестве контроля на полноту гидролиза. Для обнаружения целлюлозы применяют раствор йода в растворах хлористого цинка и йодистого калия (синее окрашивание), для пектина – окраску с рутением красным или после гидролиза – окраску галактуроновой кислоты карбазолом.

В отдельных случаях требуется получить и другую характеристику полисахаридов, например, определить количество гидроксильных, метоксильных групп, особенности их строения. Для этих целей полисахариды выделяют тем или иным способом, по возможности с сохранением их нативных свойств, и изучают их особенности.

При установлении строения углеводов широко применяется получение метиловых эфиров сахаров. В аналитических и препаративных целях применяется периодатное окисление для определения числа свободных гидроксильных групп, для выделения целевых продуктов окисления, а также для установления структуры полисахаридов, строения гликозидов.

Определение сахарозы рефрактометрическим методом

Аппаратура, реактивы и материалы. Рефрактометр лабораторный РЛУ, РЛ, ИРФ-22 или УРЛ; весы лабораторные общего назначения; баня водяная; воронки стеклянные, колбы мерные вместимостью 100 см³, колбы конические вместимостью 100-200 см³, стаканы химические вместимостью 50-100 см³, палочки стеклянные, кальций хлористый кристаллический 4%-ный раствор; кислота уксусная 80%-ный раствор, вода дистиллированная, бумага фильтровальная.

Подготовка к испытанию. Нулевую точку рефрактометра проверяют по дистиллированной воде. Показатель преломления воды при температуре 20°C равен 1,3330; температурные отклонения вызывают изменения показателя преломления воды, указанные в таблице.

Показатель преломления воды в зависимости от температуры раствора

Температура, °С	Показатель преломления воды	Температура, °С	Показатель преломления воды
15	1,3335	23	1,3327
16	1,3334	24	1,3326
17	1,3333	25	1,3325
18	1,3332	26	1,3324
19	1,3331	27	1,3323
20	1,3330	28	1,3322
21	1,3329	29	1,3321
22	1,3328	30	1,3320

Ход работы

Для определения массовой доли сахарозы в молочных смесях из аналитической пробы отвешивают 10 г продукта с погрешность не более 0,01 г, переносят через сухую воронку в мерную колбу вместимостью 100 см³, приливают 50 см³ дистиллированной воды и оставляют на 15-20 мин периодически взбалтывая. Прибавляют 0,6 см³ 80 %-го раствора уксусной кислоты, доливают колбу до метки дистиллированной водой, перемешивают содержимое и фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу. В фильтрате определяют показатель преломления.

Из полученного фильтрата хорошо оплавленной стеклянной палочкой наносят 2-3 капли на призму рефрактометра и определяют показатель преломления по левой шкале прибора. Во время определения показателя преломления линия раздела светлого и темного полей должна быть резко выражена.

При расчете показателя рефракции необходимо отмечать температуру прибора.

Массовую долю сахарозы, X_2 , %, вычисляют по формуле

$$X_2 = (N_1 - N) \cdot 10000 \cdot K,$$

где N – показатель преломления дистиллированной воды при температуре определения;

N_1 – показатель преломления испытуемого раствора при температуре определения;

K – коэффициент пересчета показателя преломления на процентное содержание сахарозы в исследуемом пищевом концентрате, (для молочных смесей $K=0,2500$ – при рецептурной закладке сахара 18%; $K=0,2770$ – при рецептурной закладке сахара 25%).

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должны превышать 0,3%.

Вычисления проводят с погрешностью не более 0,01%.

Аналитические методы определения свойств сырья и готовой продукции

Кислотность

Кислотность является одним из показателей качества сырья, полуфабрикатов и готовых изделий, в частности, молока и молочных продуктов, соков, сиропов, булочных изделий и др. и характеризует степень их свежести. Под общей кислотностью подразумевается содержание в продукте всех кислот и их кислых солей, реагирующих со щелочью при титровании.

Метод определения титруемой кислотности основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором гидроксида натрия в присутствии индикатора фенолфталеина. Титруемую кислотность выражают в градусах Тернера ($^{\circ}\text{T}$) или градусах Кеттстофера ($^{\circ}\text{K}$), а также в процентах какой-либо кислоты.

Один градус Тернера соответствует объему (см^3) водного раствора гидроксида натрия концентрацией 0,1 моль/ дм^3 , необходимый для нейтрализации 100 г (100 см^3) исследуемого продукта.

Для определения общей кислотности приготавливают вытяжку исследуемого образца, добавляют индикатор 1%-ый фенолфталеин и титруют 0,1 моль/ дм^3 раствором щелочи до слабо-розового окрашивания, не исчезающего (при спокойном стоянии пробы) 1 мин. Замечают объем раствора щелочи, пошедшего на титрование, и рассчитывают титруемую кислотность по формуле, соответствующей данному виду продукта, указанной в конкретной методике.

Активная кислотность также является показателем качества некоторых видов продукции и сырья, таких как бульоны, мясные полуфабрикаты, охлажденная продукция и др. Определяют ее электрометрически с помощью приборов рН-метров разных марок. В состав приборов входят стеклянный и вспомогательный электрод, при погружении которых в раствор исследуемого образца происходит обмен ионами между поверхностью стеклянного электрода и раствора. В результате этого ионы лития в поверхностных слоях стекла замещаются ионами водорода, и стеклянный электрод приобретает свойства водородного электрода. Показатель рН контролируемого раствора определяют по шкале прибора.

Определение общей (титруемой) кислотности в сухих продуктах детского и диетического питания

Метод определения титруемой кислотности изложен в ГОСТ 25555.0 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения титруемой

кислотности», ГОСТ Р 30648.4-99 Продукты молочные для детского питания. Титриметрические методы определения кислотности».

Аппаратура, реактивы и материалы: весы лабораторные общего назначения, бюретки вместимостью 25 см³; воронки стеклянные диаметром 10-15 см; колбы мерные вместимостью 250 см³; колбы конические вместимостью от 100 до 250 см³; пипетки вместимостью 20-25 см³; стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 50, 150 и 200 см³; гидроокись натрия или гидроокись калия; спирт ректификованный; фенолфталеин 1 %-ый спиртовой раствор; вода дистиллированная; бумага фильтровальная лабораторная; бумага лакмусовая; вата медицинская гигроскопическая; палочки стеклянные оплавленные.

Ход работы

Из пробы отвешивают 5 г сухой молочной смеси с погрешностью не более ± 0,01 г в стакан, вместимостью 150-200 см³, добавляют небольшими порциями 40 см³ горячей (65°C) дистиллированной воды и тщательно растирают смесь до однородной массы.

К охлажденному раствору добавляют еще 80 см³ холодной дистиллированной воды, 5 капель 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина, перемешивают и титруют 0,1 моль/дм³ раствором гидроокиси натрия или гидроокиси калия до образования розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 сек.

Кислотность, X₂, °Т, т.е. в 1 см³ 1 моль/дм³ раствора гидроокиси или гидроокиси калия в пересчете на 100 г продукта, вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{V \cdot 10}{m},$$

где V – объем точно 0,1 моль/дм³ раствора гидроокиси натрия или гидроокиси калия, израсходованный на титрование, см³;
m – масса навески испытуемого концентрата, г.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5°.

Вычисления проводят с погрешностью не более 0,01°.

Литература

1. ГОСТ 5672-68 Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли сахара. Утвержден и введен в действие Комитетом стандартов, мер и измерительных приборов от СССР 15.07.68. – 10 с.

2. ГОСТ 13192-73 Вино, виноматериалы и коньяки. Метод определения сахаров. Утвержден и введен в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 26.09.73. № 2205. – 9 с.

3. ГОСТ 13193-73 Вино, виноматериалы и коньячные спирты. Соки плодово-ягодные спиртованные. Методы определения летучих кислот. Утвержден

и введён в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 23.07.73. № 1795. – 6 с.

4. ГОСТ 27082-89 Консервы и пресервы из рыбы и морепродуктов. Методы определения общей кислотности. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 14.03.89. № 469. – 4 с.

5. ГОСТ 25555.0-82 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения титруемой кислотности. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 27.12.82. № 5130, 5132, 5133. – 4 с.

6. ГОСТ 8756.13-87 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сахаров. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 28.09.87. № 3736. – 9 с.

7. ГОСТ 5898-87 Изделия кондитерские. Методы определения кислотности и щёлочности. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 26.10.87. № 4008. – 9 с.

8. ГОСТ 5670-96 Хлебобулочные изделия. Методы определения кислотности. М.: Стандартинформ, 2006. – 8 с.

9. ГОСТ Р 55480-2013 Мясо и мясные продукты. Метод определения кислотного числа. М.: Стандартинформ, 2014. – 8 с.

10. Захаров В.Л. Качественная оценка и анализы пчелиного мёда: сборник методик / Saarbrucken (Германия): LAP LAMBERT Academic Publishing, 2015. – 80 с.

Лабораторная работа № 4

Методы определения влаги и массовой доли сухих веществ

Цель работы: изучить методы определения влажности и содержание сухих веществ в образцах представленного сырья и готовой продукции.

Вода – одно из самых распространенных веществ на земле, она является необходимым условием жизни и входит в состав всех пищевых продуктов и материалов.

Вода, не являясь собственно питательным веществом, жизненно необходима как стабилизатор температуры тела, переносчик нутриентов (питательных веществ) и пищеварительных отходов, реагент и реакционная среда в ряде химических превращений, стабилизатор конформации биополимеров и, наконец, как вещество, облегчающее динамическое поведение макромолекул, включая проявление ими каталитических (энзиматических) свойств.

Вода – важнейшая составляющая пищевых продуктов. Она присутствует в разнообразных растительных и животных продуктах как клеточный и внеклеточный компонент, как диспергирующая среда и растворитель, обуславливая консистенцию и структуру. Вода влияет на внешний вид, вкус и устойчивость продукта при хранении. Благодаря физическому взаимодействию с белками,

полисахаридами, липидами и солями, вода вносит значительный вклад в структуру пищи.

Содержание влаги (%) в пищевых продуктах изменяется в широких пределах: фрукты, овощи – 70-95; мясо – 65-75; молоко – 87; сыр – 37; хлеб – 35;; джем – 28; мука – 12-14; сухое молоко – 4.

Общая влажность продукта указывает на количество влаги в нем, но не характеризует ее причастность к химическим и биологическим изменениям в продукте. В обеспечении его устойчивости при хранении важную роль играет соотношение свободной и связанной влаги.

Связанная влага – это ассоциированная вода, прочно связанная с различными компонентами – белками, липидами и углеводами за счет химических и физических связей.

Свободная влага – это влага, не связанная полимером и доступная для протекания биохимических, химических и микробиологических реакций.

Содержание влаги (сухого вещества) в пищевых продуктах определяют прямыми и косвенными методами. Прямыми методами из продукта извлекают влагу и устанавливают ее количество; косвенными (высушиванием, рефрактометрией, по плотности и электропроводности раствора) – определяют содержание сухих веществ (сухого остатка). К косвенным относят также метод, основанный на взаимодействии воды с определенными реагентами.

Определение содержания влаги *высушиванием до постоянной массы (арбитражный метод)* основано на выделении гигроскопической влаги из исследуемого объекта при определенной температуре. Высушивание производят до постоянной массы или ускоренными методами при повышенной температуре в течение заданного.

Высушивание в аппарате ВЧ производится за счёт инфракрасного излучения в аппарате, состоящем из двух соединённых между собой массивных плит круглой или прямоугольной формы

Рефрактометрический метод применяют для производственного контроля при определении содержания сухих веществ в объектах богатых сахарозой: сладких блюдах, напитках, соках, сиропах.

Определение влаги методом ускоренного высушивания

Аппаратура, реактивы и материалы: Бюксы стеклянные и металлические диаметром 40-50 мм, высотой 40-50 мм; весы лабораторные общего назначения; термометр технический стеклянный ртутный на 150° С; шкаф сушильный электрический; эксикатор; кальций хлористый технический; кислота серная плотностью 1,84г/см³; палочки стеклянные длиной 55-60 мм; песок очищенный прокаленный; щипцы тигельные.

Ход работы

Чистую пустую бюксу с 5-10 г прокаленного песка и стеклянную палочку сушат с крышкой (в открытом виде) в течение 30 мин в сушильном шкафу при температуре 130° С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Из аналитической пробы концентрата в высушенную бюксу берут навеску массой 5 г с погрешность не более $\pm 0,01$ г. Открытую бюксу с навеской вместе с крышкой помещают в сушильный шкаф, предварительно нагретый до 140 – 145 °С. Температуру шкафа при установке бюкс доводят до 130 °С в течение 10 мин и этот момент считают началом сушки.

Продолжительность сушки при температуре $130\pm 2^\circ\text{C}$ установлена: 40 мин для молочных концентратов и продуктов детского питания; 45 мин – для остальных видов концентратов.

После высушивания навески бюксу вынимают из сушильного шкафа тигельными щипцами, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают с погрешность не более $\pm 0,01$ г.

Массовую долю влаги, X, %, вычисляют по формуле

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

где m – масса навески испытуемого концентрата, г;

m_1 – масса бюксы с навеской до высушивания; г;

m_2 – масса бюксы с навеской после высушивания, г.

За результаты испытания принимают среднее арифметическое двух параллельных определений.

Вычисления проводят с погрешностью не более 0,01%.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 0,25%.

Определение влаги на приборе ВЧ

Аппаратура, реактивы и материалы: прибор ВЧ; весы лабораторные общего назначения; термометры стеклянные ртутные на 250°С; часы; эксикатор; кальций хлористый технический; бумага фильтровальная лабораторная, бумага газетная; ножницы.

Ход работы

Перед определением влаги прибор ВЧ нагревают до температуры, указанной в таблице, и подсушивают в нем бумажные пакеты в течение 3 мин. После высушивания пакеты помещают в эксикатор для охлаждения на 2-3 мин.

Масса навески, температура и продолжительность высушивания некоторых продуктов

Вид концентрата	Масса навески, г	Температура высушивания, °С	Продолжительность высушивания, мин
Каша молочные: гречневая, рисовая, манная	4	140	2
Отвары крупяные и мука из круп	4	140	10

Смеси молочные на отварах и на муке, кисель молочный	4	130	3
--	---	-----	---

Примечание: допускается отклонение от температуры высушивания $\pm 1^\circ\text{C}$.

Для изготовления пакетов берут лист газетной бумаги размером 20x14 см, складывают его пополам, а затем открытые с трех сторон края пакета загибают на 1,5 см; размер готовых пакетов 8x11 см.

Можно пользоваться пакетами треугольной формы из бумаги размером 15x15 см, с шириной загиба краев 1,5 см.

При испытании концентратов, содержащих в рецептуре жир, в пакет помещают дополнительно вкладыш из фильтровальной бумаги размером 11x24 мм, сложенный в три слоя таким образом, чтобы два слоя бумаги находились на нижней стороне пакета, а один слой на верхней; навеску помещают на два слоя фильтровальной бумаги, образующей вкладыш.

Из аналитической пробы концентрата в предварительно высушенный и взвешенный пакет берут с погрешностью не более $\pm 0,01$ г навеску в количестве 4 г.

Для получения правильных результатов испытаний навеску берут быстро и распределяют ее ровным слоем по всей поверхности пакета или вкладыша.

Пакет закрывают, помещают в прибор ВЧ и сушат навеску по режимам, указанным в таблице.

В прибор помещают одновременно два пакета с навесками (параллельные определения).

После высушивания пакеты охлаждают в эксикаторе в течение 5 мин и взвешивают с погрешностью не более $\pm 0,01$ г.

Массовую долю влаги, X , %, вычисляют по формуле

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

где m – масса навески испытуемого концентрата, г;

m_1 – масса пакета с навеской до высушивания, г;

m_2 – масса пакета с навеской после высушивания, г.

За результаты испытания принимают среднее арифметическое двух параллельных определений.

Вычисления проводят с погрешностью не более 0,01%.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 0,3%.

Определение содержания сухих веществ рефрактометрическим методом

Аппаратура, реактивы и материалы: рефрактометр лабораторный РПЛ-3, или ИРФ-457; термостат ТС-13; баня водяная; термометр со шкалой до 100°C с ценой деления 1°C ; пипетки вместимостью 2,10 см³ с делениями; чашки фарфоровые выпарительные диаметром 4-6 см; бюксы стеклянные; палочки стеклянные.

ные оплавленные; колба коническая вместимостью 50-100 см³; стакан химический вместимостью 100-150 см³; воронка стеклянная диаметром 3-4 см.

Ход работы

Перед началом работы проверяют показания прибора по дистиллированной воде. На нижнюю призму рефрактометра оплавленной стеклянной палочкой наносят 1-2 капли дистиллированной воды, опускают верхнюю призму и через 2-3 мин проводят замер. Граница светотени должна быть четкой и проходить через точку пересечения нитей (перекрестие) или пунктирную линию.

Рефрактометр установлен на показатель преломления дистиллированной воды при 20⁰С 1,3329, что соответствует 0% сухих веществ.

Призмы рефрактометра вытирают сухой марлей и оплавленной стеклянной палочкой наносят 1-2 капли исследуемой жидкости, профильтрованной через крупнопористую фильтровальную бумагу. Опускают верхнюю призму и через 2-3 мин производят замер.

Замер производят 2-3 раза и рассчитывают среднее арифметическое.

По шкале рефрактометра определяют коэффициент преломления или массовую долю сухих веществ.

Если шкала рефрактометра градуирована на коэффициент преломления, то по таблице находят массовую долю сухих веществ.

Определение содержания сухих веществ по показателю преломления

Показатель преломления при 20 ⁰ С	Массовая доля сухих веществ	Показатель преломления при 20 ⁰ С	Массовая доля сухих веществ	Показатель преломления при 20 ⁰ С	Массовая доля сухих веществ	Показатель преломления при 20 ⁰ С	Массовая доля сухих веществ
1,333	0	1,3456	8,5	1,3598	17,5	1,3865	33,0
1,3337	0,5	1,3464	9,0	1,3606	18,0	1,3883	34,0
1,3344	1,0	1,3471	9,5	1,3614	18,5	1,3902	35,0
1,3351	1,5	1,3479	10,0	1,3622	19,0	1,3920	36,0
1,3359	2,0	1,3487	10,5	1,3631	19,5	1,3939	37,0
1,3367	2,5	1,3494	11,0	1,3639	20,0	1,3958	38,0
1,3374	3,0	1,3502	11,5	1,3655	21,0	1,3978	39,0
1,3381	3,5	1,3510	12,0	1,3672	22,0	1,3997	40,0
1,3388	4,0	1,3518	12,5	1,3689	23,0	1,4016	41,0
1,3395	4,5	1,3526	13,0	1,3706	24,0	1,4036	42,0
1,3403	5,0	1,3533	13,5	1,3723	25,0	1,4056	43,0
1,3411	5,5	1,3541	14,0	1,3740	26,0	1,4076	44,0
1,3418	6,0	1,3549	14,5	1,3758	27,0	1,4096	45,0
1,3425	6,5	1,3557	15,0	1,3775	28,0	1,4117	46,0
1,3433	7,0	1,3565	15,5	1,3793	29,0	1,4137	47,0

1,3435	7,1	1,3573	16,0	1,3811	30,0	1,4158	48,0
1,3441	7,5	1,3582	16,5	1,3829	31,0	1,4179	49,0
1,3448	8,0	1,3590	17,0	1,3847	32,0	1,4200	50,0

Массу сухих веществ для плодово-ягодных напитков (X, г) рассчитывают по формуле

$$X = \frac{a \cdot P}{100},$$

где а – массовая доля сухих веществ, определенная рефрактометрическим методом, %;

P – объем напитка, см³.

Оформление результатов работы

Результаты работы оформляются в виде таблицы

Результаты определение массы сухих веществ

Методы определения	Масса сухих веществ для сырья и готовой продукции, %		

Литература

1. ГОСТ 8756.11-70 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения прозрачности соков и экстрактов, растворимости экстрактов. Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета стандартов, мер и измерительных приборов СССР от 30.10.70. № 1528. – 3 с.

2. ГОСТ 3626-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества. Утверждён и введён в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 28.02.73 № 503. – 12 с.

3. ГОСТ 9404-88 Мука и отруби. Методы определения влажности. Утвержден и введен в действие постановлением государственного комитета СССР по стандартам от 23.11.88 № 3785. – 4 с.

4. ГОСТ 28561-90. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сухих веществ или влаги. Утверждён и введён в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 24.05.90 № 1283. – 9 с.

5. ГОСТ 28562-90 Продукты переработки плодов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ. М.: Стандартинформ, 2010. – 12 с.

6. ГОСТ 28550-90 Чай. Метод приготовления измельчённой пробы и определения сухих веществ. Утверждён и введён в действие Постановлением

Госкомитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 04.05.90. № 1104. – 4 с.

7. ГОСТ 29144-91 Зерно и зернопродукты. Определение влажности (базовый контрольный метод). Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 05.12.91. № 1861. – 8 с.

8. ГОСТ 29031-91 Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения сухих веществ, нерастворимых в воде. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 17.06.91. № 881. – 3 с.

9. ГОСТ 30004.2-93 Майонезы. Правила приёмки и методы испытаний. Утверждён и введён в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 13.12.95 № 595. – 16 с.

10. ГОСТ 13586.5-93 Зерно. Метод определения влажности. Минск: Межгосударственный Совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2009. – 6 с.

11. ГОСТ Р 50475-93 Продукты переработки плодов и овощей. Горошек зелёный и кукуруза консервированные и быстрозамороженные. Метод определения сухих веществ, нерастворимых в спирте. Утверждён и введён в действие Постановлением Госстандарта России от 25.01.93. № 19. – 3 с.

Лабораторная работа № 5. Определение Р-активных веществ

Цель работы: изучить методы определения веществ, входящих в состав витамина Р

Классификация флавоноидов

Флавоноиды – группа классов растительных полифенолов. Их насчитывается 6500 веществ. Это гетероциклические фенольные соединения. Относятся к фенольным соединениям.

К ним относят следующие классы:

1 класс – флавонолы – жёлтые красящие вещества. Самые распространённые из них: кверцетин, кемпферол, мирицетин, изорамнетин

2 класс - флавонолы

3 класс – флавононы

4 класс – флавоны и изофлавоны

5 класс – катехины и лейкоантоцианы (катехины при нагревании до 110 °С с водой превращаются в катехудубильную кислоту)

6 класс – антоцианы и антоцианидины – синие красящие вещества

7 класс – лейкоантоцианидины

8 класс – халконы

9 класс – дигидрохалконы

10 класс – ауроны

Р-активные вещества (биофлавоноиды) – вещества из группы флавоноидов, которые проявляют Р-витаминную активность. Они объединены в группу веществ, под общим названием «Витамин Р». Это группа различных веществ. К группе витамина Р относится ряд веществ обладающих способностью (особенно, в сочетании с аскорбиновой кислотой) уменьшать проницаемость и ломкость капиллярных сосудов. К витамину Р из группы флавоноидов относятся антоцианы, катехины, рутин, кверцетин, гесперидин, эриодиктин, цетрин и другие. Кверцетин относится к флавонолам. **Флавонолы** – это производные флавонов. Р-витаминную активность проявляет также галловая кислота, относящаяся к дубильным веществам.

Биологическая активность фенольных соединений

Пищевые растения содержат соединения фенольной группы с одним-двумя ароматическими кольцами, которые обладают выраженной биологической активностью:

- **адаптогенное и стимулирующее центральную нервную систему - салидрозид** (родиола розовая, или золотой корень);
- **Р-витаминное - рутин** (софора японская, катехины (чай), витамин Р (плоды рябины обыкновенной и шиповника коричневого, ягоды черной смородины и аронии черноплодной).
- **гипотензивное - флавоны** (шлемник байкальский), лигнаны (эвкоммия вязолистная) применяют при гипертонии и функциональных расстройствах нервной системы, при сердечно-сосудистых заболеваниях;
- **спазмолитическое - фурукумарины, хромины** (пастернак посевной, вздутоплодник сибирский, амми зубная) применяют при коронарной недостаточности и неврозах;
- **стимулирующее - лигнаны** (лимонник тайский) используют в качестве общеукрепляющего и тонизирующего средства;
- **седативное - флавонолы** (пустырник сердечный) применяют при сердечно-сосудистых неврозах, гипертонии, бессоннице;
- **мочегонное - кемпферол, изофлавоноиды** (березовые почки, корень стальника полевого) используют в качестве диуретического средства;
- **желчегонное - флавонолы** (пижма обыкновенная, бессмертник песчаный, мята перечная, артишок, шиповник) применяют при острых и хронических заболеваниях печени, желчного пузыря, желчных путей;
- **кровоостанавливающее - флавонолы, кверцетин** (горец птичий, горец почечуйный, горец перечный) применяют при маточных кровотечениях;
- **антимикробное - гидрохинон, арбутин** (толокнянка обыкновенная, брусника обыкновенная) применяют при заболеваниях почек и мочевыводящих путей как мочегонное и дезинфицирующее средство;
- **антигеморрагическое - лигнаны** (джут).

Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом

Фенолоспирты. Фенолоспирты и их гликозиды содержатся в родиоле розовой, повышают работоспособность и сопротивляемость организма к неблагоприятным воздействиям.

Оксикоричные кислоты. Оксикоричные кислоты (п-кумаровая, кофейная, феруловая и синаповая) в различных комбинациях, в свободном виде или в составе гликозидов и сложных эфиров содержатся во многих высших растениях. Наиболее распространены в природе кофейная кислота и ее производные (хлорогеновая и ее изомеры), оказывающие противовоспалительное и желчегонное действие. Хлорогеновая кислота в больших количествах присутствует в зернах кофе, листьях черники обыкновенной, арники горной, ромашки лекарственной и др. Сумма кофейной, хлорогеновой, феруловой, кумаровой и других кофеилхинных кислот оказывает гипоазотемический эффект, усиливает функцию почек, стимулирует антитоксическую функцию печени. Оксикоричные кислоты содержатся также в эхинацее, корнях лопуха, в боярышнике, ревене.

Бензойная и салициловая кислоты цветков ромашки, таволги, коры ивы, черной и красной смородины обладают антисептическим свойством. Яблочная, винная, лимонная, оксикарбоновая кислоты принимают участие в ощелачивании организма. Основной компонент гарцинии камбоджийской - гидроксиминонная кислота - подавляет аппетит, замедляет превращение избыточных углеводов в жиры, повышает энергетический потенциал организма, способствует снижению уровня холестерина в крови, уменьшает ожирение печени. Тартроновая кислота, в больших количествах содержащаяся в капусте, сдерживает превращение углеводов в жиры, предупреждая тем самым ожирение, атеросклероз.

Кумарины, оксикумарины. Кумарины обладают разносторонней биологической активностью. Для них характерна фотосенсибилизирующая (плоды псоралеи, амми большой, листья смоковницы), спазмолитическая (плоды пастернака, корни вздутоплодника сибирского и горчичника горного), Р-витаминная (семена каштана) активность. В чистом виде они проявляют антикоагулирующее (дикумарол), антимикробное (умбеллиферон), эстрогенное (куместролы клевера), противоопухолевое (остол) действие.

Оксикумарины имеют определенное значение в предупреждении инфарктов и инсультов за счет способности этих веществ снижать свертываемость крови.

Хромоны. Хромоны обладают спазмолитическим, коронарорасширяющим, антибактериальным, биостимулирующим, антиаллергенным, антибактериальным действием. Эталонном спазмолитической активности хромонов принято считать келлин, который применяют при спазмах мочевых путей, бронхоспазмах и хронической стенокардии.

Ксантоны. Ксантоны обладают широким спектром биологической активности: являются стимуляторами центральной нервной системы, проявляют кардиотоническую, противоопухолевую, диуретическую активность, антибактериальное, антивирусное, противогрибковое и противотуберкулезное действие.

Мангиферин. Стимулирует ЦНС, в больших дозах оказывает кардиотоническое, диуретическое, антибактериальное и противовоспалительное действие.

Хиноны, убихиноны. Хиноны сенны, ревеня, крушины (антрахиноны) способны усиливать перистальтику толстых кишок, что обуславливает их слабитель-

ное действие. Некоторые антрахиноны хризотфаноловой кислоты и других оксиантрахинонов, а также аминоаллоксильных производных обладают противоопухолевой активностью и являются иммунодепрессантами.

Убихиноны (кофермент Q) - универсальный компонент не только растительных, но и животных тканей и тканей человека. Они входят в состав других клеточных органелл - митохондрий - и являются неперенными и постоянными участниками процесса клеточного дыхания.

Лигнаны. Лигнаны оказывают стимулирующее и адаптогенное (схизандрин и производные сирингорезинола), противоопухолевое (подофиллотоксин), антигеморрагическое (сезамин), противомикробное (арктиин), гепатозащитное (силибин) действие.

Фенольные соединения с двумя ароматическими кольцами

Флавоноиды. Флавоноиды называют «натуральными биологическими модификаторами реакции» из-за способности изменять реакцию организма на аллергены, вирусы и канцерогены. Об этом говорят их противовоспалительные, антиаллергические, противовирусные и антиканцерогенные свойства. Кроме того, флавоноиды исполняют роль сильных антиоксидантов, обеспечивая защиту от окисления и повреждения свободными радикалами.

В 1936 г. венгерский биохимик Альберт Сент-Дьёрди (Albert Szent-Györgyi, 1893-1986, лауреат Нобелевской премии 1937 г. по медицине и физиологии, с 1947 г. работал в США) из кожуры лимона выделил вещество, фармакологическое применение которого уменьшало ломкость и проницаемость кровеносных капилляров. Оно получило название витамин Р. Другие его названия: рутин, тиоктовая кислота, витамин N. Это открытие положило основу для последующего исследования большой группы значимых для организма человека веществ, называемых флавоноиды. Эти исследования были начаты в 60-х годах 20 в. Особое внимание изучению значимости флавоноидов для организма человека стали уделять в конце 20-го, начале 21 вв.

В настоящее время идентифицировано около 4000 флавоноидов. Они представляют собой полифенольные соединения, в основе структуры которых лежит дифенилпропановый углеродный скелет. Большинство из флавоноидов находятся в клетках в виде соединений с сахарами (гликозиды) и органическими кислотами. Примерами флавоноидов, значимых для человека являются рутин и квертецин. Те флавоноиды, которые связаны с одной или более молекулой сахара называют гликозидами флавоноидов. Флавоноиды, не связанные с молекулой сахара называют агликонами. За исключением флавонов, флавоноиды содержатся в большинстве пищевых продуктов растительного происхождения в виде гликозидов. Большинство гликозидов флавоноидов, поступивших в пищеварительный тракт, не подвергаются перевариванию и достигают тонкой кишки в неизменном виде. Флавоноиды агликаны и флавоноиды глюкозиды всасываются в тонкой кишке, где они быстро метаболизируются (метилируются, глюкуронируются или сульфатируются). Важную роль в метаболизме и всасывании флавоноидов играют бактерии толстой кишки. Невсосавшиеся в тонкой кишке флавоноиды и их метаболиты, в полости толстой кишки метаболизируются

ются бактериальными ферментами и могут всасываться. В общем, доля флавоноидов, всосавшихся и доставленных с системным кровотоком к тканям - мишеням, относительно невелика и ограничивается как их быстрым и интенсивным метаболизмом, так и быстрым выведением из организма. Активность метаболитов флавоноидов не всегда подобна активности исходных флавоноидов. Лабораторные исследования (*in vitro*) показывают, что флавоноиды являются эффективными поглотителями свободных радикалов. Таким образом, в искусственных условиях флавоноиды являются активными антиоксидантами.

Хотя большинство исследований флавоноидов относится к их функции антиоксидантов, существуют убедительные доказательства того, что флавоноиды модулируют механизмы передачи вещества и информации в клетке и между клетками и, таким образом участвуют в осуществлении многих функций клеток. В частности флавоноиды осуществляют следующие действия:

1) Стимулируют активность ферментов, катализирующих реакции, которые способствуют выведению из организма потенциально токсических или канцерогенных веществ.

2) Предохраняют от нарушений регуляцию нормального клеточного цикла. Каждая клетка от одного деления до другого проходит последовательность стадий развития (клеточный цикл). Если повреждается ДНК, клеточный цикл блокируется. Если степень повреждения невелика и возможно восстановление ДНК, повреждение является сигналом для ее восстановления. Некомпенсируемые последствия повреждающего воздействия являются сигналом для клеточной смерти (апоптоз). Нарушение регуляции нормального клеточного цикла может приводить к воспроизводству мутаций и к развитию злокачественных новообразований.

3) Тормозят пролиферацию и запускают апоптоз. В отличие от обычных клеток, клетки злокачественных новообразований быстро пролиферируют и теряют способность отвечать на сигналы смерти, побуждающие клетку к апоптозу.

4) Тормозят начальное внедрение опухоли и ангиогенез в новообразованиях. Клетки злокачественных новообразований вторгаются в нормальную ткань посредством ферментов, называемых матрикс-металлопротеиназами. Внедрившееся в нормальную ткань злокачественное новообразование интенсивно растет при условии получения достаточного питания из вновь развивающихся в нем кровеносных сосудов (ангиогенез).

5) Тормозят развитие воспаления. Воспаление сопровождается секрецией и выведением воспалительных ферментов. Они являются причиной местного увеличения выработки свободных радикалов. Аналогично выведение воспалительных медиаторов способствует пролиферации клеток, ангиогенезу и тормозит апоптоз.

6) Предотвращают заболевания сердечно-сосудистой системы. В настоящее время атеросклероз относят к воспалительным заболеваниям. Атеросклероз и некоторые другие виды воспаления связывают с увеличением риска инфаркта миокарда.

7) Уменьшают способность клеток кровеносных сосудов к сцеплению с лейкоцитами. На ранних этапах развития атеросклероза, как воспалительного заболе-

вания, лейкоциты, участвующие в реализации воспаления, из потока крови мобилизуются к стенке артерии. Это явление зависит от выведения клетками эндотелия, выстилающего внутреннюю поверхность артерии, молекул вещества, способствующего сцеплению лейкоцитов с внутренней поверхностью артерии.

8) Уменьшают активность эндотелиальной синтазы окиси азота. Синтаза окиси азота - фермент, который катализирует образование эндотелиальными клетками окиси азота. Окись азота является сосудорасширяющим веществом (вазодилатором), средством управления тонусом артерий и их просветом. Нарушение процесса образования окиси азота считают одной из причин увеличения риска заболеваний сердечно-сосудистой системы.

9) Уменьшают способность кровяных пластинок к агрегации. Агрегация кровяных пластинок - первая ступень в образовании кровяного сгустка, который может закупорить венечную артерию, питающую миокард или артерии головного мозга. Результатом этого может быть инфаркт миокарда или инсульт. Торможение агрегации кровяных пластинок рассматривается как важная мера профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы.

10) Полагают, что противовоспалительное действие флавоноидов, их антиоксидантное действие и способность связывать металлы играют важную роль в этиологии и патогенезе ряда нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера. Поэтому ученые работают над созданием специальных диет для профилактики нейродегенеративных заболеваний.

Антиоксидантные свойства флавоноидов имеют более широкий спектр, чем у таких антиоксидантов, как витамины С и Е, селен, цинк. Флавоноиды также обладают желчегонным, противоязвенным, антивирусным, диуретическим, спазмолитическим, антигеморроидальным и другими действиями. Разные флавоноиды дают различные эффекты.

Изофлавоны. Изофлавоны обладают эстрагенным действием. Изофлавоны сои (дайзин, дайдзеин, глицитеин, генистрин, генистеин) действуют избирательно, проявляя как эстрогенную, так и антиэстрогенную активность в зависимости от количества содержащихся в крови эстрогенов. Изофлавоны сои применяют как средство, понижающее артериальное давление, укрепляющее сердечно-сосудистую и нервную систему. Имея натуральное происхождение, без побочных эффектов, в отличие от гормональных контрацептивов, соевый изофлавоновый хорошо восполняет недостаток эстрогена в организме женщины. Главными изофлавонами соевых бобов является генистеин и дайдзеин.

Изофлавонам приписываются следующие полезные для здоровья качества:

1) Уменьшает симптомы менопаузы. Полезные качества сои не только предотвращают раковые заболевания на длительный срок, сегодняшние разработки показали, что изофлавоны сои снижают различные признаки климактерического синдрома, таких как: отдышка, усталость, ночная потливость, перемена настроения и укрепляет костные ткани женщин. Кстати многие проблемы со здоровьем, в момент менопаузы и после нее могут стать результатом нехватки изофлавонов в типичном восточном рационе питания.

2) Предотвращает риск сердечных заболеваний. Изофлавоны сои также очевидно снижают риск заболеваний сердечно-сосудистой системы посредством различных механизмов. Они тормозят отложение в сосудах атеросклеротических бляшек, которые закупоривают артерию. В этих артериях образуются тромбы, приводящие к сердечному приступу. Доказано, что изофлавоны являются активными компонентами сои, ответственными за контролем уровня холестерина в крови.

3) Защищает от проблем предстательной железы. Потребляя продукты насыщенные изофлавонами, можно предотвратить увеличение предстательной железы у мужчин. Исследования доказывают, что изофлавоны предотвращают рост раковых клеток предстательной железы и удаляют их из нее. Изофлавоны действуют таким же образом против клеток рака, как и многие обычные препараты, назначенные при лечении этого заболевания.

4) Изофлавоны способствуют укреплению костной ткани. Изофлавоны способствуют укреплению костной ткани, помогают предупредить остеопороз. У населения Китая и Японии крайне редко возникает остеопороз, несмотря на то, что у них низкое потребление молочных продуктов, тогда когда в Европе и Северной Америке происходит все наоборот. В отличие от эстрогена, который помогает предотвратить разрушение костной ткани, изофлавоны кроме этого помогают формированию новой костной ткани.

5) Предупреждает доброкачественные и злокачественные новообразования. Изофлавоны конкурентно соединяются в тканях с рецепторами эстрогена, который производит организм или внесенный в организм, предупреждая, таким образом, реакцию рецепторов эстрогена, снижая возможности развития раковых клеток, связанных с гормонами. Изофлавоны так же помогают предупредить разрастание кровеносных сосудов внутри опухоли, таким образом, опухоль остается без источника питания.

Производные флавона (флавонолы). Флавоны оказывают бактерицидное, спазмолитическое, гипотензивное действие. Хорошо растворяются во многих органических растворителях, плохо - в воде. В концентрированной H_2SO_4 растворяются с фиолетовой флуоресценцией, образуя нестабильную соль бензопирилия. При нагревании с алкоголями флавоны образуют α -гидроксиацетофенон и бензойную кислоту (реакция используется для определения строения производных флавоноидов). В природе выделено свыше 500 производных флавонов. Сам флавоны обнаружен в виде налета на листьях и цветах некоторых видов примул.

Флавонолы, в зависимости от структуры, обладают разносторонним влиянием на организм: - кемпферол, морин, мирицетин оказывают мочегонное действие; - госсипетин, морин, кверцетагетин, кверцетин и др. - антиоксидантное; - рамнетин, морин - бактерицидное; - мирицетин, кверцетагетин, изорамнетин возбуждают деятельность сердца; - робинин, леспедин, биоробин, диоробин, гиперозид имеют гипотензивное свойство; - госсипол - антиканцерогенное. Среди флавоноидов наиболее распространенными являются флавоногликозид гесперидин - основной флавоноид апельсинового сока и флавоногликозид нарингин - основной флавоноид грейпфрутового сока, который поло-

жительно влияет на состав крови. Гесперидин относится к комплексу биофлавоноидных соединений, способных уменьшать проницаемость и ломкость капиллярных кровеносных сосудов. Он широко используется при гипо- и авитаминозе Р и лечении многих заболеваний кровеносных сосудов (например, «пурпуровой болезни» - тромбопенической пурпуры, геморрагических диатезов, кровоизлияний в сетчатку глаза, лучевой болезни), а также при гипертонии, кори, скарлатине, сыпном тифе и т.д. Кроме этого, установлено, что кверцетин и гесперидин обладают выраженным антиаллергическим действием и благотворно влияют на стенки сосудов.

Эвгенол, входящий в состав эфирного масла лаврового и гвоздичного дерева, является сильным антисептиком, таким же действием обладает тимол, содержащийся в чабреце. Производные флороглюцина, находящиеся в папоротниках, оказывают противоглистное действие, а апиол из плодов петрушки проявляет спазмолитическое свойство. Арбутин содержится в бруснике и толокнянке груше; обладает диуретическими свойствами и предупреждает ряд заболеваний почек. Гидрохинон, образующийся в результате гидролиза арбутина, проявляет бактерицидные свойства, тормозит окисление жиров. Вакциниин - гликозид, специфичный для брусники и клюквы, является соединением глюкозы с бензойной кислотой, обладает бактерицидным действием. Вакцимиртиллин - горький гликозид черники и голубики, содержащийся в них в количестве 1,2 - 1,8 мг на 100 г, предупреждает диабет. Флавоноиды родиолы розовой («золотого корня») обладают адаптогенными и иммуностимулирующими свойствами.

Проантоцианиды. Это одна из самых целебных групп флавоноидов. Они поддерживают структуру коллагена и препятствуют ее разрушению за счет того, что они способствуют связыванию волокон коллагена, укрепляя тем самым матрицу соединительной ткани. Комплексы биологически активных веществ экстракта виноградной выжимки эффективно нейтрализуют свободные радикалы, подавляют синтез липидных перекисей, ингибируют ферменты, участвующие в образовании активных форм кислорода (например, ксантиноксидазу), препятствуют расщеплению коллагена ферментами, выделяемыми лейкоцитами при воспалении и микроорганизмами при инфицировании тканей, синтезу гистамина, серинпротеазы, лейкотриенов. С этим механизмом связано противовоспалительное действие проантоцианидов. Их антиоксидантное действие выше такового у витамина Е в 50 раз, у витамина С - в 20 раз.

Экстракты из виноградных косточек более предпочтительны, так как за счет содержания сложных галловых эфиров проантоцианидов они имеют повышенную активность. Эти вещества являются самыми активными из всех в настоящее время известных антиоксидантов. С указанными свойствами связана важная область их использования для предотвращения сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе инфаркта миокарда, повреждения эндотелия сосудов, снижения уровня холестерина в крови. Экстракт виноградной выжимки способствует улучшению микроциркуляции, эффективен при лечении ангиопатий, ретинопатии, а также воспалительных процессов за счет ингибирования биосинтеза противовоспалительных лейкотриенов.

Полимерные фенольные соединения (полифенолы)

Дубильные вещества – группа растворимых в воде веществ ароматического ряда, содержащие гидроксильные радикалы фенольного характера. Придают вязущий вкус. Относятся к фенольным соединениям. Самое распространённое дубильное вещество – **танин, или дубильная кислота, или галлодубильная кислота**. Применяются как вяжущие, противовоспалительные и бактерицидные средства (лапчатка прямостоячая, горец змеиный, кровохлебка лекарственная, корневища бадана толстолистного, «шишки» ольхи серой и др.) при острых и хронических поносах, энтероколитах (плоды черники, черемухи), а также при стоматитах, гингивитах и других воспалительных процессах в полости рта, гортани, глотки и т.д. **Другие дубильные вещества:** эллагогендубильная кислота, дубодубильные кислоты, кинодубильная кислота, катехудубильные кислоты, маклурин.

Таниды. Таниды используют при отравлении алкалоидами и тяжелыми металлами. Их вяжущее, противовоспалительное и кровоостанавливающее действие связано с тем, что они свертывают белки и образуют защитную пленку.

Катехины. Катехины — органические вещества из группы флавоноидов. Они представляют собой полифенольные соединения и являются сильными антиоксидантами. Характерные представители семейства - стереоизомеры катехин и эпикатехин.

Больше всего катехинов содержится в белом чае, немного меньше в зелёном чае. В больших количествах они обнаружены во многих плодах и ягодах (яблоки, айва, абрикосы, персики, сливы, вишни, земляника, смородина, малина и др.). Катехины также содержатся в чёрном шоколаде и яблоках. Танин - общее название изомеров одного из катехинов, который присутствует в белом, жёлтом и зеленом чае в большей концентрации, чем в чёрном. Из-за процессов окисления при ферментации чая в чёрном чае уменьшено содержание катехинов. Катехины — это полифенолы, хорошие антиоксиданты.

Антиоксидантные свойства многих растительных продуктов в значительной мере обусловлены именно содержанием катехинов. Полезные защитные свойства катехинов могут быть проиллюстрированы на примере чая. Чай содержит четыре основных компонента катехина: EC, ECg, EGC и EGCg. Каждое из этих соединений можно назвать катехином. Эпигаллокатехин (EGC) — самый сильный антиоксидант из четырёх основных чайных катехинов, в 25-100 раз сильнее, чем витамины С и Е. Одна чашка зеленого чая в день дает 10-40 миллиграммов полифенолов. Антиоксидантный эффект присущ и катехинам из брокколи, шпината, моркови, клубники. Являясь сильным антиоксидантом, зелёный чай уменьшает количество свободных радикалов в организме человека, в определённой мере предотвращая возникновение рака.

В чистом виде катехины применяются редко. Однако редокс-превращения катехинов играют важную роль в технологии многих пищевых производств, таких как ферментация чая, виноделие, изготовление какао.

Кроме того, катехины чая обладают антимикробными свойствами и применяются при лечении дизентерии. Считается также, что катехины полезны для укрепления иммунной системы и для лечения опухолей. Катехины относят к

веществам, обладающим Р-витаминной активностью. Лекарственные препараты и БАД, содержащие катехины и другие биофлавоноиды, широко используют при лечении заболеваний, связанных с нарушениями функций капилляров, отёках сосудистого происхождения и т.п.

Эпикатехингаллат считается наиболее активным среди полифенолов. Эти соединения обладают выраженными антиоксидантными свойствами, способностью повышать функциональную активность систем детоксикации чужеродных соединений и за счет этих свойств существенно снижать риск развития опухолей молочных желез, простаты, легких, кишечника и др.

Распространение в природе

Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Особенно богаты флавоноидами высшие растения, относящиеся к семействам розоцветных (различные виды боярышников, черноплодная рябина), бобовых (софора японская, стальник полевой, солодка), гречишных (различные виды горцев — перечный, почечуйный, птичий: гречиха), астровых (бессмертник песчаный, сушеница топяная, пижма), яснотковых (пустырник сердечный) и др.

Более часто флавоноиды встречаются в тропических и альпийских растениях. Обнаружены и у низших растений: зеленые водоросли (ряски), споровые (мхи, папоротники), хвощи (хвощ полевой), а также у некоторых насекомых (мраморно-белая бабочка).

Находятся флавоноиды в различных органах, но чаще в надземных: цветках, листьях, плодах; значительно меньше их в стеблях и подземных органах (солодка, шлемник байкальский, стальник полевой). Наиболее богаты ими молодые цветки, незрелые плоды. Локализуются в клеточном соке в растворенном виде.

Флавоноиды накапливаются во многих лекарственных растениях: в корнях солодки (*Glycyrrhiza glabra* L.), траве пустырника (*Leonurus cordiaca* L.), цветках бессмертника (*Helichrysum arenarium* L.) — и отличаются широким спектром фармакологического действия. Они обладают желчегонным, бактерицидным, спазмолитическим, кардиотоническим действием. В медицине широко используют свойство многих флавоноидов, например рутина, накапливающегося во многих растениях (Р-витаминный эффект), уменьшать проницаемость и ломкость капилляров. У флавоноидов выявлено также противораковое и противовоспалительное действие, они связывают и выводят из организма радионуклиды. Отсутствие токсических свойств и избирательность действия на организм человека увеличивает ценность флавоноидных соединений и открывает большое будущее для создания на их основе новых лекарственных препаратов.

Экспресс-метод определения антоцианов в плодах (по В.Н. Сорокопудову)

Навеску растительного материала от 2 до 10 г (если плоды слабоокрашенные берут 10 г, а по мере увеличения их окраски навеску уменьшают до 2 г) кладут в фарфоровую ступку. В мерный стакан наливают 50 мл 1%-й HCl. Из этого стакана берут соляной кислоты немного для смачивания навески и нали-

вают в ступку. Добавляют в ступку битого стекла в виде порошка на кончике ножа. Тщательно растирают навеску (стабильность антоцианов повышается в присутствии соляной кислоты, с которой они образуют соли флавиия красного цвета). Раствёртую кашеобразную навеску смывают остатком кислоты (в стакане) в колбу на 100 мл или флакон из тёмного стекла. Накрывают воронками или пробками. Ставят на водяную баню или термостат на 20 минут при температуре 40-50 °С. Охлаждают и доливают ещё 50 мл 1%-й HCl. Фильтруют через фильтр «синяя лента» в другую колбу. В два стакана наливают по 5 мл этой вытяжки: опытный и контрольный стаканы. Опытный ставят ближе к себе, а контрольный – дальше. В контрольный стакан наливают 5-6 мл (15-20 капель) концентрированной перекиси водорода (H₂O₂). Через 10-15 минут происходит обесцвечивание этого раствора. Если обесцвечивания не произошло, то добавляют ещё 5-6 мл перекиси. Для каждого образца готовят свой контроль. После полного обесцвечивания растворы наливают в стеклянные кюветы (ширина внутренней камеры 10,05 мм). В кюветы наливают до метки. С помощью фотоэлектроколориметра (ФЭК) определяют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 490нм (цвет морской волны). Кювету с раствором из опытного стакана ставят в ФЭК ближе к себе, а кювету с раствором из контрольного стакана – дальше от себя. Если вытяжка сильно окрашена, то можно разбавить её 1%-й соляной кислотой перед обесцвечиванием, а затем цифру с ФЭКа умножить на число разбавления. Полученную на ФЭКе цифру умножают на коэффициент 115 и получают содержание антоцианов в мг%.

1мг% - это 1 мг какого-либо вещества в 100 г навески или в 100 мл раствора.

Определение Р-активных флавонолов

Берут навеску 5 г растительного материала (для листьев – 2 г, для яблок – 1 г, для почек рябины и смородины – 2 г, для коры рябины, шиповника, смородины – 2 г, для темноокрашенных ягод – 25 г) из измельчённой и перемешанной пробы. Переносят в фарфоровую ступку. В мерный стакан наливают 25 мл 50%-го этилового спирта (для яблок берут 80%-й спирт). Из этого стакана берут немного для смачивания навески. На кончике ножа берут стеклянного порошка и растирают навеску до кашицы. Остатком спирта из мерного стакана смывают навеску из ступки в колбу на 100 мл или флакон из тёмного стекла. Ставят на водяную баню на 15 минут при температуре 60-70 °С (листья на 5 минут). Накрывают воронками или пробками. После бани отфильтровывают через фильтр «синяя лента» в другую колбу на 100 мл. С фильтра осадок снимают и переносят в ту же колбу, что была на водяной бане и наливают в неё 25 мл 50%-го этилового спирта. Таким образом, такую экстракцию в общей сложности проводят 3-4 раза, до полного обесцвечивания навески и фильтра, что видно по прозрачному спирту, стекающему сквозь навеску. Полученный экстракт доводят до метки (до 100 мл) 50%-ным этиловым спиртом. Если в образцах заведомо мало Р-активных соединений, то собирать экстракт можно для удобства в колбы на 50 мл. Полученный экстракт охлаждают и снова фильтруют через фильтр «синяя лента». Если раствор снова мутный, то фильтруют через 3-4

фильтра «синяя лента». По 2 мл профильтрованного раствора наливают в 2 стакана: опытный (ближний к нам) и контрольный (дальний от нас). В контрольный добавляют 4 мл 50%-го этилового спирта, а в опытный – 2 мл 2%-го раствора хлористого алюминия (2 г на 100 мл 50%-го этилового спирта), перемешивают, ровно через 2 минуты в опытный образец добавляют 2 мл 10%-го раствора ацетата натрия (10 г уксуснокислого натрия на 100 мл 50%-го этилового спирта), перемешивают. Через 2 минуты можно колориметрировать на ФЭКе при длине волны 400 нм (синий светофильтр). Кювета с шириной внутренней камеры 10,05 мм. Показание ФЭКа умножают на коэффициент 1171,53 и получают содержание Р-активных флавонолов в мг%.

Определение Р-активных катехинов

Из основного (уже приготовленного для флавонолов) спиртового экстракта берут по 2 мл и наливают в два стакана: опытный и контрольный. В контроль добавляют 6 мл концентрированной соляной кислоты, а в опытный – 6 мл свежеприготовленного ванилинового раствора (0,25 г ванилина на 100 мл концентрированной соляной кислоты). Перемешиваю и через 3 минуты колориметрируют на ФЭКе при длине волны 540 нм (зелёный светофильтр). Кюветы с шириной внутренней камеры 10 мм. Полученную цифру умножают на коэффициент 790,69 и получают содержание Р-активных катехинов в мг%.

Определение рутина по Мурри

В растениях рутин принимают участие в окислительно-восстановительных процессах. Рутин - гликозид, состоящий из рамнозы, в-глюкозы и флавонола кверцетина. В небольшом количестве (до 25 % сухой массы) рутин содержится в бутонах и цветках софоры японской. Значительное количество рутина содержится во многих овощных и плодово-ягодных культурах, в частности в оболочке гречки. Принцип метода основан на цветной реакции рутина с солями алюминия в присутствии избытка уксуснокислого калия. Интенсивность окраски измеряют на ФЭКе. Ход определения: навеску вегетативной массы или семян растений по 2 – 10г (в зависимости от предполагаемого содержания рутина) переносят в фарфоровые ступки и тщательно растирают в присутствии 80% спирта. Растиертую массу переносят на стеклянный фильтр. Ступку тщательно споласкивают спиртом, перенося остатки растёртой массы на фильтр. Растительный материал на фильтре многократно экстрагируют спиртом до полного обесцвечивания остатка и стекающего экстракта (как хлорофилл). С помощью насоса Комовского, рутин можно также экстрагировать из растительных образцов путем длительного настаивания со спиртом (примерно 5 дней) с последующим отгоном на насосе Комовского с помощью воронки Бюхнера через 2 фильтра синяя лента. Экстракт переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят спиртом до метки, если раствор мутный его фильтруют через двойной фильтр синяя лента. Из этого объема берут 25мл для анализа и переносят в фарфоровую чашку. Удаляют спирт из фарфоровой чашки выпариванием на водяной бане. После удаления спирта к осадку в чашке прибавляют малыми порциями эфир для растворения пигментов (хлорофилла, каротиноидов и других эфирорастворимых веществ). С помощью стеклянной палочки эфирные извлечения и осадок из

чашки количественно переносят на фильтр (красная лента), промывают осадок на фильтре эфиром и эфирные извлечения отбрасывают. Рутин на фильтре растворяют горячим этиловым спиртом и общий объем экстракта доводят в мерной колбе 80 % спиртом до объема 50мл. Этот раствор используют для колориметрического определения рутина. Если при экстрагировании рутина из растительных образцов получают неокрашенные экстракты, то их можно сразу же использовать для анализа, минуя обработку эфиром. Затем готовят раствор для колориметрирования. Для этого в коническую колбу или стакан на 50мл наливают 5мл полученной спиртовой вытяжки, затем добавляют 5мл 2 % раствора хлористого алюминия и 15мл 8% раствора уксуснокислого натрия. Содержимое колбы тщательно перемешивают и оставляют стоять на 2 часа в темном месте. За это время раствор обретает устойчивое желтое окрашивание. Если раствор мутный, его центрифугируют при 8 тыс, об/мин, примерно 30 минут и затем из центрифужной пробирки переливают в кювету через воронку с фильтром «синяя лента». Одновременно готовят контрольный раствор. Для этого в колбу берут 5мл полученной спиртовой вытяжки, добавляют 5мл воды (вместо хлористого алюминия), 15мл 8 % раствора уксуснокислого натрия, перемешивают и оставляют стоять 2 часа. Для колориметрирования используют кювету с толщиной внутренней камеры 10мм. Колориметрирование проводят против контроля при синем светофильтре (420 нм). Содержание рутина вычисляют по калибровочному графику.

СОСТАВЛЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОГО ГРАФИКА. Для построения калибровочного графика готовят стандартный раствор рутина путем растворения 20мг чистого рутина в 100мл 80 % этилового спирта. Для лучшего растворения рутина раствор можно слегка подогреть. Затем в конические колбы на 50 мл вносят следующие количества стандартного раствора рутина: 1,0; 1,5; 2,0 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 4,5 и 5,0 мл и объем каждого раствора доводят до 5мл 80 % этиловым спиртом. В полученном объеме каждой пробирки соответственно содержится 0,2; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 и 1,0 мг рутина. Затем в каждую пробирку добавляют по 5мл 2 % раствора $AlCl_3$ и по 15мл 8 % раствора ацетата натрия, перемешивают и оставляют стоять в темном месте 2 часа. Для построения калибровочного графика на оси абсцисс откладывают миллиграммы рутина, а на оси ординат - оптическую плотность окрашенных растворов.

$$\text{Формула расчёта: } \frac{a \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{N \cdot V_3 \cdot V_4}$$

где: а – показание калибровочного графика,

V_1 - общий объём спиртового экстракта (100 мл), V_2 – объём взятый для анализа (50 мл), V_3 – объём взятый для анализа (25 мл), V_4 – объём взятый в кювету (5 мл), N – навеска (10 г), 100 – коэффициент для перевода на 100 г навески
ПРИМЕР ВЫЧИСЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ: Навеска растительного материала 10г. Общий объем спиртового экстракта 100 мл. Для анализа взято 25мл экстракта. После обработки эфиром объем спиртового раствора рутина 50мл. Для колориметрирования взято 5мл экстракта. По калибровочному графику в 5мл экстракта найдено 0,6мг рутина. Содержание рутина (X) в мг % (в мг на 100г растительного материала) будет:

$$\frac{0,6*100*50*100}{10*25*5} = 240 \text{ мг\% (мг/100г)}$$

Реактивы:

- 1.рутин кристаллический – 20 мг для построения графика,
- 2.этиловый спирт 80% (80 мл спирта доводят дист.водой до 96 мл); расход – 100 мл 80%-го спирта на образец,
- 3.этиловый эфир,
4. 2%-й раствор $AlCl_3$,
- 5.8%-й раствор ацетата натрия

Витамин Р определяют как сумму флавонолов, антоцианов, катехинов и рутина.

Литература

1. Вигоров Л.И., Трибунская А.Я. Методы определения флавонолов и флавонов в плодах и ягодах // Труды III всесоюзного семинара по биологически активным (лечебным) веществам плодов и ягод. Свердловск, 1968.-С. 492-506.
2. ГОСТ 24027.2-80 Сырьё лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 06.03.80. № 1038. – 10 с.
3. ГОСТ 50479-93 Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения содержания витамина РР. Утверждён и введён в действие Постановлением Госстандарта России от 26.01.93. № 23. – 5 с.
4. ГОСТ 19885-74 Чай. Методы определения содержания танина и кофеина. Введён в действие Постановлением государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 25.06.1974 г. № 1539. М.: Стандартинформ, 2009. – 4 с.
5. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. СПб.: Колос, 1972. – 456 с.
6. Исследование пищевых продуктов: руководство по лабораторным занятиям / Козин Н.И., Смирнов В.С., Калевин М.И., Колесник А.А., Бессонов С.М. / Под ред. Ф.В. Цереветинова.М.: Госторгиздат, 1949.–411с.
7. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1985. – 240 с.
8. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Мичуринск, 1973. – 492 с.

Лабораторная работа № 6.

Определение активной кислотности (рН) консервов

Цель работы: изучить методику определения активной кислотности консервов

Метод определения рН установлен в ГОСТ 26188 «Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Метод определения

pH», ГОСТ Р 30648.5-99 «Продукты молочные для детского питания. Методы определения активной кислотности».

Аппаратура, реактивы и материалы: pH-метр или ионметр с измерительным стеклянным электродом и хлорсеребряным электродом сравнения, буферные растворы, изготовленные из стандарт-титров образцовых растворах для pH-метрии и имеющим pH: 1) 3,57 или 4,00; 2) 5,00 или 6,86; 3) 9,22 (один из растворов должен иметь pH, близкий к pH исследуемого продукта); дистиллированная вода перед приготовлением растворов должна быть прокипячена в течение 30 мин; исследуемые образцы продукции.

Ход работы

Установленный на рабочем месте и заземленный прибор включают в сеть с напряжением 220 В и прогревают в течение 25 мин, после чего производят его проверку. Выбирают необходимые электроды и подготавливают их к работе согласно паспорт на них. Электроды перед погружением в буферный или раствор необходимо тщательно промыть дистиллированной водой и затем протереть фильтровальной бумагой. Так как буферные и контрольные растворы при многократном применении могут менять pH, то прежде чем корректировать показания прибора при помощи ручки «Калибровка», надо убедиться, что погрешность измерения вызвана не изменениями настройки прибора, а изменением pH буферного раствора. Это проверяется по свежему буферному или контрольному раствору.

Стрелку измерительного прибора устанавливают на показании величины, соответствующей pH буферного раствора при данной температуре, и проверяют его показания во всех стандартных буферных растворах (pH 4,00; pH 6,86; pH 9,22). Ошибки измерения pH не должны превышать 0,05.

Для измерения pH исследуемого образца анализируемый раствор помещают в стакан и погружают туда электроды. Величину pH отсчитывают по шкале, когда показания прибора примут установившееся значение (на что требуется около 3 мин).

Оформление результатов работы

В отчет по работе необходимо включить краткое описание методов исследования образцов сырья и продукции. Результаты представить в виде таблицы.

Результаты определения кислотности сырья и продукции

Наименование сырья и продукции	Исследуемые свойства		
	Титуемая кислотность	Активная кислотность (pH)	Плотность

Литература

ГОСТ 26188-84 Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Метод определения pH. Утвержден и введен в дей-

ствие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 10.05.84. № 1601.–
4с.

Лабораторная работа №7

Методы определения тяжёлых металлов в пищевых продуктах

Цель: изучить методики определения содержания тяжёлых металлов в пищевых продуктах

Метод определения мышьяка

Мышьяк – высокотоксичный кумулятивный протоплазматический яд, поражающий нервную систему. Смертельная доза 60—200 мг. Хроническая интоксикация наблюдается при потреблении 1—5 мг в день. ФАО/ВОЗ установлена недельная безопасная доза 50 мкг/кг. Токсическое действие соединений мышьяка обусловлено блокированием сульфгидрильных групп ферментов и других биологически активных веществ. Определить мышьяк в пределах 1–50 мг/л можно с помощью колориметрических методов анализа на основе диэтилдитиокарбоната серебра. Удобным является метод атомно-абсорбционной спектроскопии. Он основан на определении арсина, полученного при восстановлении соединений мышьяка. Имеющиеся в продаже приборы для выделения арсина используются в сочетании со стандартным оборудованием. При анализе мышьяка рекомендуется использовать пламя закиси азота–ацетилен. Из-за молекулярной абсорбции газов пламени могут возникать помехи в верхнем диапазоне ультрафиолетовой части спектра, где находятся наиболее чувствительные линии мышьяка. Эти помехи устраняются при корректировке фона. Для определения микроколичества мышьяка с успехом использовался нейтронно-активационный анализ. Это позволило провести точные определения мышьяка в очень малых образцах, например в одном волоске. Часто бывает необходимо установить тип химического соединения мышьяка. Для отличия в водных растворах трехвалентного мышьяка от пятивалентного использовали инверсионную полярографию. Для разделения органических соединений мышьяка от неорганических использовался метод газожидкостной хроматографии. Арбитражный метод – колориметрия с диэтилдитиокарбонатом серебра после отгонки мышьяка из гидролизата (или раствора золы) в виде гидрида или трихлорида мышьяка. Атомно-абсорбционное определение возможно только после предварительного концентрирования в виде гидрида AsH_3 и использования графитовой кюветы.

Методы определения кадмия

Кадмий — высокотоксичный кумулятивный яд, блокирующий, работу ряда ферментов; поражает почки и печень. ФАО/ВОЗ установлена недельная

безопасная доза 6,7—8,3 мкг/кг. В устрицах и печени животных и рыб может накапливаться до значительных величин; в растительных продуктах зависит от дозы удобрения суперфосфатом. Токсическое действие соединений кадмия на организм вызывается тем, что ионы этих металлов вступают во взаимодействие с сульфгидрильными SH-группами белков, ферментов и аминокислот. При взаимодействии ионов металлов с SH-группами образуются слабодиссоциирующие и, как правило, нерастворимые соединения. Поэтому блокирование сульфгидрильных групп приводит к подавлению активности ферментов и свертыванию белков.

Среднее содержание (мг/кг) и ПДК Cd (мг/кг) в пищевых продуктах:

Зерновые 0,03 и 0,1
Зернобобовые 0,03 и 0,1
Крупы 0,018 и 0,1
Хлеб 0,023 и 0,05
Бараночные изделия 0,026 и 0,1
Отруби пшеничные 0,07 и 0,1
Соль поваренная 0,05 и 0,1
Сахар(песок) 0,004 и 0,05
Желатин 0,01 и 0,03
Орехи (ядро) 0,03 и 0,1
Конфеты 0,045 и 0,1
Какао-порошок и шоколад 0,1 и 0,5
Печенье 0,03 и 0,1
Молоко, кисломолочные изделия 0,02 и 0,03
Молоко сгущенное консервированное 0,025 и 0,1
Молоко сухое 0,025 и 0,03
Сыры, творог 0,1 и 0,2
Масло сливочное 0,01 и 0,03
Масло растительное 0,025 и 0,05
Маргарины и жиры 0,03 и 0,05
Овощи свежие и свежемороженые 0,02 и 0,03
Грибы свежие, консервированные и сухие 0,05 и 0,1

Для определения кадмия, как правило, требуется предварительное концентрирование, так как содержание металла в продуктах питания обычно мало. Комитет по аналитическим методам рекомендует проводить кислотную минерализацию серной кислотой с добавлением перекиси водорода. При сухом озолении могут быть потери кадмия, так как при температуре свыше 500°C он испаряется. Содержание кадмия может быть установлено и путем образования комплексов с тетраметилендитиокарбонат-аммония, а также экстракцией кадмия изобутилметилкетонем. Для определения кадмия в пищевых экстрактах может быть также использован колориметрический метод на основе дитизона. В настоящее время наиболее широко применяется атомно-абсорбционная спектрофотометрия. Использование воздушно-ацетиленового пламени позволяет получить хорошие результаты, однако пламя должно тщательно контролироваться. Беспламенная атомно-абсорбционная спектрофотометрия позволяет определять кадмий на уровне 5 мкг/кг. Однако из-за химического влияния некоторых соедине-

ний, например солей калия, результаты могут быть искажены. Есть данные по определению кадмия методом вольтамперометрии с анодным растворением. Результаты хорошо согласуются с данными атомно-абсорбционной спектроскопии. Достаточно надежные и точные данные удается получить с помощью нейтронно-активационного анализа. С использованием нового оборудования и повышением точности стало ясно, что данные, полученные ранее с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии и менее точной пламенной фотометрии, не являются достоверными. Это объясняется несовершенством современных аналитических методов. Определение кадмия в порошковом обезжиренном молоке. Необходимые реактивы. Первичный кислый фосфорнокислый аммоний, 0.5% раствор вес/об. (используется для химической модификации аналита). Примеси следов металлов в модификаторе должны быть удалены комплексобразованием АПДК и экстракцией МИБК. Растворяют порошок молока (1.25 г) в деионизованной дистиллированной воде (25 мл) при хорошем перемешивании с использованием магнитной мешалки или ультразвуковой бани. Немного TRITON X-100 0.01% об. (1 мл) можно добавить для получения лучших диспергирующих свойств. Приготовление градуировочных растворов. Водные стандарты: исходный стандарт 1000 мкг Cd/л в 1 М азотной кислоте. Готовят градуировочный раствор с концентрацией 10 мкг Cd/л разбавлением исходного раствора. Процедура градуировки. Методом стандартных добавок с использованием программируемого дозатора образцов. Рекомендуемый объем образца – 10 мкл, объем стандартных добавок – 5 и 10 мкл, 10 мкл модификатора и бланковый раствор до общего для всех растворов объема 30 мкл. Этот метод не рекомендуется для свежего молока или порошков цельных молочных сливок. Для таких образцов или используют кислотное разложение или добавляют кислород на стадии озоления при анализе. Так как Cd обычно присутствует в малых количествах, градуировочный раствор Cd должен иметь концентрацию 5 мкг/л или меньше. Для кадмия температура озоления должна быть не больше 750°C.

Методы определения свинца

Свинец – высокотоксичный кумулятивный яд, поражающий нервную систему, почки. Хроническая интоксикация наступает при потреблении 1–3 мг в сутки. ФАО/ВОЗ установлена общая недельная безопасная доза 50 мкг/кг массы тела. Так как часть свинца поступает с воздухом и водой, с пищей человек может потреблять 300–400 мкг в день. В моллюсках содержание свинца может достигать 15 мг/кг. В консервированных (в металлической таре) продуктах, содержащих кислоты, особенно в плодовых и овощных, содержание свинца может увеличиваться в 10 раз и более по сравнению с естественным уровнем. Свинец депонируется в основном в скелете (до 90%) в форме труднорастворимого фосфата: (3) Используют как сухое озоление с добавкой нитрата магния или алюминия и кальция, так и мокрое – смесью азотной и хлорной кислот, применение серной кислоты не рекомендуется. Для текущих исследований – колориметрия с дитизоном, в который для устранения мешающего влияния цинка и олова добавляют цианид калия. Теряется в заметном количестве в при-

сутствии хлоридов. Озоление веществ, содержащих свинец, проводится при температуре (500–600)° С. Определение проводят согласно ГОСТ 26932–86, ИСО 6633–84.

Методы определения ртути

Ртуть – высокотоксичный, кумулятивный яд, поражающий нервную систему и почки. Наиболее токсичны некоторые органические соединения, особенно метилртуть, составляющая в рыбе от 50 до 90% общей ртути. Установлена недельная безопасная доза общей ртути 5 мкг/кг массы тела, в том числе метилртути 3,3 мкг/кг. В наибольших количествах содержится в рыбе, обычно пропорционально ее возрасту и размеру, и особенно велико ее содержание у хищных рыб. При кулинарной тепловой обработке рыб теряется около 20% ртути. Токсическое действие соединений ртути на организм вызывается тем, что ионы этих металлов вступают во взаимодействие с сульфгидрильными SH–группами белков, ферментов и аминокислот. При взаимодействии ионов металлов с SH–группами образуются слабодиссоциирующие и, как правило, нерастворимые соединения. Поэтому блокирование сульфгидрильных групп приводит к подавлению активности ферментов и свертыванию белков. Из-за летучести элемента возможны потери даже при хранении и сушке образца. Поэтому рекомендуют только мокрое озоление смесями азотной, серной, иногда хлорной кислот с добавкой перманганата или молибдата при невысоких температурах и в специальной герметичной аппаратуре. Определение ртути в пищевых продуктах и других биологических объектах требует точности и высокого мастерства. В настоящее время ртуть определяют тремя основными аналитическими методами: колориметрический, методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии и методом нейтронно-активационного анализа. Колориметрический метод. Этот метод основан на переводе металла, содержащегося в навески, в комплекс с дитизоном, который экстрагируют органическим растворителем и затем колориметрируют. Эти операции длительны; предел обнаружения составляет около 0,05 мг/кг. Для определения требуется большая навеска (5 г) образца. Метод пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии. Методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии в настоящее время широко используется для определения ртути. Имеется оборудование, позволяющее приспособить стандартную атомно-абсорбционную спектроскопию для так называемой техники холодного испарения. При этом используются циркуляционные и нециркуляционные методы. В первом случае содержание ртути в образце измеряют по значению мгновенной абсорбции ртути при прохождении ее паров через абсорбционную ячейку. При циркуляционных методах пары ртути накапливаются постепенно до достижения постоянной абсорбции. Для перевода ионов ртути в молекулярную форму используется хлорид олова. Метод применим для растворов, содержащих ртуть в форме, легко поддающейся восстановлению хлоридом олова. Для определения ртути используются и другие аналитические методы. Нейтронно-активационный анализ, например, характеризуется высокой селективностью и точностью. Он эффективен для определения ртути в небольших навесках при проведении общего

анализа пищи. Арбитражный метод – атомно-абсорбционный с использованием техники низкотемпературного холодного пара. Для текущих, исследований — колориметрия с йодидом меди. Колориметрия с дитизоном не рекомендуется, так как для большинства продуктов не позволяет определять величины ПДК. Метилртуть определяют методом газожидкостной хроматографии. Также определяют содержание ртути согласно нормативным документам ГОСТ 26927–86.

Методы определения цинка

Цинк – необходимый элемент, участвующий в работе ряда важных ферментов и гормона инсулина. Повышенные количества цинка токсичны. Так, признаки токсичности установлены при длительном потреблении воды с содержанием цинка 0,04 мг/кг. Много содержится в пшеничных отрубях и в устрицах — до 150 мг/кг. При хранении кислых продуктов в оцинкованной таре содержание элемента может увеличиваться в несколько раз. Все еще широко применяется дитизон-колориметрический метод для качественного и количественного определения цинка. Окрашенный комплекс экстрагируют органическим растворителем и сравнивают со стандартами аналогично приготовленным раствором цинка. Предел определения составляет 0,7 мг/л. Наиболее широко в настоящее время применяется метод атомно-абсорбционный спектрофотометрии. Метод чувствителен, и при этом другие элементы практически не мешают определению. Также определяют цинк согласно стандартной методики определения по ГОСТ 26У34–86.

Среднее содержание и ПДК цинка (мг/кг) в пищевых продуктах:

Зерновые 23 и 50,0
Зернобобовые 28 и 50,0
Крупы 22 и 50,0
Хлеб 10 и 25,0
Браночные изделия 7,0 и 30,0
Отруби пшеничные 100 и 130,0
Соль поваренная 6,0 и 10,0
Сахар(песок) 0,9 и 3,0
Желатин 5,0 и 100,0
Орехи (ядро) 21 и 50,0
Конфеты 7,8 и 30,0
Какао–порошок и шоколад 60 и 70,0
Печенье 6,8 и 30,0
Молоко, кисломолочные изделия 4,5 и 5,0
Молоко сгущенное консервированное 5,0 и 15,0
Молоко сухое 5,0 и 5,0
Сыры, творог 44 и 50,0
Масло сливочное 0,3 и 5,0
Масло растительное 0,36 и 5,0
Маргарины и жиры 2,0 и 10,0
Овощи свежие и свежемороженые 1,5 и 10,0
Грибы свежие, консервированные и сухие 2,9 и 20,0

Методы определения железа

Железо – необходимый элемент в жизнедеятельности человека, однако при повышенных содержаниях оно токсично. Установлено, что при потреблении железа >200 мг в день наступает гепатический сидероз. Железо является еще более сильным окислителем, чем медь, и вызывает такие же нежелательные явления. Поэтому часто железо в продуктах нормируют на более низком уровне, чем это необходимо по токсикологическим показателям (например, в жирах и маслах 1,5—5 мг/кг). Много содержится в бобовых растениях и в печени и почках животных (250—400 мг/кг). В напитках при хранении в металлической незащищенной таре из черного металла содержание железа может достигать 7мг/кг и выше. Озолнение образцов, содержащих железо, проводят при температуре (500–600) °С, иногда – до 800 °С. Окислители обычно не добавляют, однако азотная кислота и нитриты ускоряют окисление. При озолении образцов, содержащих хлориды, теряется некоторое количества железа. Железо в биологических материалах легко определяют колориметрическими, спектрофотометрическими и другими инструментальными методами. Способность переходных металлов образовывать окрашенные комплексы используются во многих колориметрических методах. Низкие концентрации железа легко определить методами пламенной и беспламенной атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Наиболее эффективными обычно бывает воздушно–ацетиленовое пламя, при этом другие неорганические вещества не создают помех. Перед анализом образцы подвергаются либо кислотной минерализации, либо озолению с последующим растворением в разбавленной кислоте. Однако при непосредственном анализе жидких пищевых продуктов возникают трудности, связанные с вязкостью и поверхностным натяжением жидкости (растительного масла), а также с наличием в них растворенной углекислоты (пиво). Для решения этих проблем можно использовать метод добавок, а также дегазацию напитков, содержащих углекислый газ.

Литература

1. ГОСТ 13195-73 Вина, виноматериалы, коньяки и коньячные спирты. Соки плодово-ягодные спиртованные. Метод определения железа. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета стандартов СССР от 23.07.73. № 1796. – 4 с.
2. ГОСТ 26928-86 Продукты пищевые. Метод определения железа. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 25.06.86. № 1763.–4с.
3. ГОСТ 26930-86 Сырьё и продукты пищевые. Метод определения мышьяка. 5 с. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 25.06.86. № 1772.–4с.
4. ГОСТ 26929-94 Сырьё и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета РФ по стандартизации, метрологии и сертификации от 21.02.95. № 78. – 12 с.

5. ГОСТ 269267-86 Сырьё и продукты пищевые. Методы определения ртути. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 25.06.86. № 1755.–13с.

6. ГОСТ 26934-86 Сырьё и продукты пищевые. Методы определения цинка. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 25.06.86. № 1776.–9с.

Лабораторная работа №8

Применение других измерительных методов исследования пищевых производств

Цель: освоить методики определения относительной плотности, содержания липидов, минеральных веществ, нитратов и функционально-технологических свойств пищевых продуктов

Определение относительной плотности

Ареометрический метод проводят с помощью прибора ареометр со шкалой, показывающей плотность. В исследуемый жидкий продукт погружают ареометр до тех пор, пока масса жидкого продукта, вытесненного им, не станет равной массе ареометра. Плотность жидкого продукта определяют по градуированной шкале ареометра в зависимости от уровня его погружения. Внутри некоторых ареометров имеется термометр, которым можно измерять температуру исследуемого жидкого продукта.

Пикнометрический метод основан на определении массы равных объемов исследуемого продукта и воды при температуре 20°C с помощью прибора пикнометра, который взвешивается, термостатируется вместе с исследуемым продуктом и отдельно с дистиллированной водой.

Определение липидов

Липидами (от греч. *lipos* – жир) называют сложную смесь органических соединений с близкими физико-химическими свойствами, которая содержится в растениях, животных и микроорганизмах. Липиды широко распространены в природе и вместе с белками и углеводами составляют основную массу органических веществ всех живых организмов, являясь обязательным компонентом каждой клетки. Они широко используются при получении многих продуктов питания, являются важными компонентами пищевого сырья, полуфабрикатов и готовых пищевых продуктов, во многом определяя их пищевую и биологическую полноценность и вкусовые качества.

Липиды не растворимы в воде (гидрофобны), хорошо растворимы в органических растворителях (бензине, диэтиловом эфире, хлороформе и др.).

В растениях липиды накапливаются главным образом, в семенах и плодах. арахис (ядро) – 50-68; какао (бобы) – 49-57; подсолнечник – 30-58; соя (семена) – 15-25; кукуруза – 5,6; гречиха – 3,8; рис – 2,9; пшеница – 2,7.

У животных и рыб липиды концентрируются в подкожных, мозговой и нервных тканях и тканях, окружающих важные органы (сердце, почки). Содержание липидов в тушке рыбы (осетров) можно достигать 20-25 %, сельди – 10 %, у туш наземных животных оно сильно колеблется: 33 % (свинина), 9,8 % (говядина), 3,0 % (поросята). В молоке оленя – 17-18 %, козы – 5,0 %, коровы – 3,5-4,0 %. Содержание липидов в отдельных видах микроорганизмов может достигать 60 %.

По химическому строению липиды являются производными жирных кислот, спиртов, альдегидов, построенных с помощью сложноэфирной, простой эфирной, фосфоэфирной, гликозидной связей. Липиды делят на две основные группы: простые и сложные липиды. К простым нейтральным липидам (не содержащим атомов азота, фосфора, серы) относят производные высших жирных кислот и спиртов, глицериды, воски, эфиры холестерина, гликопептиды и другие соединения. Молекулы сложных липидов содержат в своём составе не только остатки высокомолекулярных карбоновых кислот, но и фосфорную или серную кислоты.

В определении содержания жира в сырье и готовой продукции чаще всего используют методы, приведённые ниже.

Метод Гербера используют при определении жира в полуфабрикатах из мяса (мясной фарш, полуфабрикаты из котлетной массы), творога, в кулинарных изделиях, мучных кондитерских изделиях, молока и молочных продуктах, сухих продуктах детского и диетического питания.

Метод основан на разрушении белков исследуемого продукта концентрированной серной кислотой и растворении жира в изоамиловом спирте. Образующийся в реакции изоамилового спирта с серной кислотой сложный эфир растворяется в ней, что способствует выделению жира. Полученную смесь центрифугируют в жиромерах (бутиролитрах). Отделившийся жировой слой собирается в градуированной части жиромера и отсчитывается там.

Определение жира проводят в молочных или сливочных жиромерах, отличающихся размером и градуировкой. Объём деления в молочных жиромерах равен 0,1 % или 0,011332 жира в продукте. В сливочных жиромерах объём двух делений соответствует 1 % жира в продукте при навеске 5 г. Их используют, если содержание жира в продукте превышает 10 %.

Весовой метод с экстракцией жира в микроизмельчителе. Метод используется для кулинарных изделий и некоторой продукции консервной промышленности. Жир извлекают из продукта при измельчении последнего в микроизмельчителе. После отгона растворителя высушенный жир взвешивают.

Рефрактометрический метод применяют для определения жира в мучных кулинарных, сдобных булочных и мучных кондитерских полуфабрикатах и изделиях, овощных полуфабрикатах, консервированных продуктах.

Метод основан на том, что при растворении жира коэффициент преломления растворителя понижается пропорционально количеству присутствующего жира. По разности между коэффициентом преломления чистого растворителя и раствора жира определяют массовую долю последнего. Чем больше разница между этими коэффициентами, тем точнее определение.

Метод определения жира с предварительным гидролизом крахмала используют при определении жира в полуфабрикатах из муки, булочных и мучных кондитерских изделиях (ГОСТ 5899-85). Он основан на извлечении жира растворителем из навески, обработанной предварительно соляной кислотой, удалении растворителя и взвешивании жира.

Определение минеральных веществ

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

В зависимости от количества минеральных веществ в организме человека и пищевых продуктах их подразделяют на макро- и микроэлементы. Так, если массовая доля элемента в организме превышает 10^{-2} %, то его следует считать микроэлементом. Доля микроэлементов в организме составляет 10^{-3} - 10^{-5} %. Если содержание элемента ниже 10^{-5} %, его считают ультрамикроэлементом.

К макроэлементам относят калий, натрий, кальций, магний, фосфор, хлор, серу.

Микроэлементы условно делят на две группы: абсолютно или жизненно необходимые (кобальт, железо, медь, цинк, марганец, йод, бром, фтор) и, так называемые, вероятно необходимые (алюминий, стронций, молибден, селен, никель, ванадий и некоторые другие). Микроэлементы называют жизненно необходимыми, если при их отсутствии или недостатке нарушается нормальная жизнедеятельность организма. К наиболее дефицитным минеральным веществам в питании современного человека относятся кальций и железо, к избыточным – натрий и фосфор.

При переработке пищевого сырья, как правило, происходит снижение содержания минеральных веществ (кроме добавления пищевой соли). В растительных продуктах они теряются с отходами. Так, содержание ряда макро- и микроэлементов при получении крупы и муки после обработки зерна снижается, так как в удаляемых оболочках и зародышах этих компонентов находится больше, чем в целом зерне. Например, в среднем, в зерне пшеницы и ржи солевых элементов содержится около 1,7%, в муке же в зависимости от сорта от 0,5 (в высшем сорте) до 1,5% (в обойной).

При очистке овощей и картофеля теряется от 10 до 30% минеральных веществ. Если их подвергают тепловой обработке, то в зависимости от технологии теряется еще от 5 до 30%.

Мясные, рыбные продукты и птица в основном теряют такие макроэлементы, как кальций и фосфор, при отделении мякоти от костей. При тепловой обработке (варке, жарке, тушении) мясо теряет от 5 до 50% минеральных веществ.

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

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

Ионометрия. Метод служит для определения ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , F^- , I^- , Cl^- и т.д.

Метод основан на использовании ионоселективных электродов, мембрана которых проницаема для определенного типа ионов (отсюда, как правило, высокая селективность метода).

Количественное содержание определяемого иона проводится либо с помощью градуировочного графика, который строится в координатах Е-рС, либо методом добавок. Метод стандартных добавок рекомендуется использовать для определения ионов в сложных системах, содержащих высокие концентрации посторонних веществ.

Полярография. Метод переменного-токовой полярографии используют для определения токсичных элементов (ртуть, кадмий, свинец, медь, железо). Наиболее часто применяемые методы исследования минеральных веществ – **спектральные методы**. Они представлены ниже.

Определение минеральных веществ спектральными методами

Среди современных методов физико-химических анализов все большее распространение приобретает спектроскопия, позволяющая получить наиболее полную информацию о важнейших свойствах продукта. Спектральные методы исследования основаны на использовании явления поглощения (или испускания) электромагнитного излучения атомами или молекулами определенного вещества. Спектральный анализ используется для определения разнообразных органических соединений, а также минеральных элементов.

Спектроскопию условно можно разделить на эмиссионную и абсорбционную.

Фотометрический анализ (молекулярная абсорбционная спектроскопия). Он используется для определения меди, железа, хрома, марганца, никеля и других элементов. Метод абсорбционной спектроскопии основан на поглощении молекулами вещества излучений в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях электромагнитного спектра. Анализ можно проводить спектрофотометрическим или фотоэлектроколориметрическим методами.

Эмиссионный спектральный анализ. Методы эмиссионного спектрального анализа основаны на измерении длины волны, интенсивности и других характеристик света, излучаемого атомами и ионами вещества в газообразном состоянии. Эмиссионный спектральный анализ позволяет определить элементарный состав неорганических и органических веществ. *Эмиссионная* спектроскопия исследует излучательную способность вещества. Испускание энергии связано с предварительным термическим и энергетическим возбуждением атомов, когда электроны с основного уровня переходят при поглощении энергии на более высокий энергетический уровень.

Интенсивность спектральной линии определяется количеством возбужденных атомов в источнике возбуждения, которое зависит не только от концентрации элемента в пробе, но и от условий возбуждения. При стабильной работе источника возбуждения связь между интенсивностью спектральной линии и концентрацией элемента (если она достаточно мала) имеет линейный характер, т.е. в данном случае количественный анализ можно также проводить методом градуировочного графика.

Наибольшее применение в качестве источника возбуждения получили электрическая дуга, искра, пламя. Температура дуги достигает 5000-6000⁰С. В дуге удается получить спектр почти всех элементов. При искровом разряде развивается температура 7000-10 000⁰С и происходит возбуждение всех элементов. Пламя дает достаточно яркий и стабильный спектр испускания. Метод анализа с использованием в качестве источника возбуждения пламени называют пламенно-эмиссионный анализом. Этим методом определяют свыше сорока элементов (щелочные и щелочно-земельные металлы, Cu²⁺, Mn²⁺ и др.).

Атомная спектроскопия

В атомной спектроскопии вещества исследуют, переводя их в состояние атомного пара – атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) или газообразное состояние – атомно-эмиссионная спектроскопия (АЭС).

Метод атомной спектроскопии находит широкое применение в химии, биохимии, экологии и др., а также в анализе различных видов сырья и пищевых продуктов. Метод позволяет определить около 70 различных элементов; используется для одновременного определения большого числа элементов (многоэлементный анализ); для серийного анализа, благодаря высокой чувствительности и скорости.

Атомно-абсорбционная спектроскопия.

Абсорбционная спектроскопия исследует поглощательную способность вещества. При этом анализируемую пробу помещают между источником электромагнитного излучения с определенным диапазоном частот и спектрометром. Спектрометр измеряет интенсивность света, прошедшего через пробу, в сравнении с источником первоначального излучения при заданной длине волны. Данный метод основан на способности свободных атомов элементов в газах пламени поглощать световую энергию при характерных для каждого элемента длинах волн.

В атомно-абсорбционной спектроскопии для возбуждения атомов используют тепловую энергию. Распыляя образец в пламени, соединения переводят в атомный пар (атомизация).

В атомно-абсорбционной спектроскопии практически полностью исключена возможность наложения спектральных линий различных элементов, т.к. их число в спектре значительно меньше, чем в эмиссионной спектроскопии.

Уменьшение интенсивности резонансного излучения в условиях атомно-абсорбционной спектроскопии экспоненциальному кону убывания интенсивности в зависимости от толщины слоя и концентрации вещества, аналогичному закону Бугера-Ламберта-Бера

$$\lg J/J_0 = A = klc,$$

где J_0 – интенсивность падающего монохроматического света;

J – интенсивность прошедшего через пламя света;

k – коэффициент поглощения;

l – толщина светопоглощающего слоя (пламени);

c – концентрация.

Постоянство толщины светопоглощающего слоя (пламени) достигается с помощью горелок специальной конструкции.

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

Методики атомно-абсорбционного определения разработаны более чем для 70 элементов.

Молекулярно-абсорбционная спектрометрия

В молекулярно-абсорбционной спектрометрии исследуют аналитические сигналы в области от 200 до 750 нм (УФ-излучение и видимый свет), вызванные электронными переходами внешних валентных электронов, а также поглощение излучения в ИК- и микроволновой области, связанное с изменением вращения и колебания молекул.

Инфракрасная спектрометрия

Инфракрасная спектроскопия (ИК) представляет собой один из новейших физических методов количественного и качественного анализа пищевых продуктов. Этот метод позволяет получать достаточно полную информацию о строении и составе органических веществ. ИК-излучение применяется для исследования жирнокислого состава молочных продуктов, широко используется для определения пестицидов в различных пищевых продуктах, при анализе пищевых красителей, а также для контроля технологических процессов при переработке растительного и животного сырья.

Метод ИК-спектроскопии используется для определения содержания в пищевых продуктах витаминов А, К, В₁, В₂, В₆, С, никотиновой кислоты, токоферолов и каротина. В комбинации с хроматографией ИК-спектроскопию можно применить для исследования ароматических веществ и ряда органических соединений.

Молекулярно-люминесцентная спектрометрия

Люминесценцией называют свечение атомов, ионов, молекул и других более сложных частиц вещества, которое возникает в результате перехода в них электронов при возвращении из возбужденного состояния в нормальное. Чтобы вещество начало люминесцировать, к нему необходимо извне подвести определенное количество энергии. Частицы вещества, поглощая энергию, переходят в возбужденное состояние, пребывая в нем некоторое время. Затем они возвращаются в состояние покоя, отдавая при этом часть энергии возбуждения в виде квантов люминесценции.

С помощью люминесцентного анализа (ЛА) можно обнаружить в исследуемом образце присутствие вещества в концентрации 10^{-11} г/г. Качественный и количественный ЛА используют для определения некоторых витаминов в пищевых продуктах, содержание белков и жиров в молоке, исследование свежести мяса и рыбы, диагностики порчи овощей, плодов и обнаружения в продуктах питания консервантов, лекарственных препаратов, канцерогенных веществ, пестицидов.

Флуоресценция – это вид собственного свечения вещества, которое продолжается только при облучении. Если источник возбуждения устранить, то свечение прекращается мгновенно или спустя не более 0,001 сек. Фосфоресценцией называют собственное свечение вещества, которое продолжается после отключения возбуждающего света.

Метод флуориметрии применяют для чувствительного определения очень малых количеств элементов при анализе органических веществ, при определении малых количеств витаминов, гормонов, антибиотиков, канцерогенных соединений и др.

Спектроскопия магнитного резонанса

Применение радио- и микроволновой областей электромагнитного спектра в аналитической химии и физико-химических исследованиях основывается на явлениях ядерного магнитного и электронного парамагнитного резонансов.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) изучает магнитный резонанс, возникающий в результате взаимодействия магнитного момента ядра с внешним магнитным полем. С помощью метода ЯМР можно исследовать ядра с собственным моментом количества движения (спин ядра) и связанным с ним магнитным моментом ядра.

Вещество, исследуемое методом ЯМР, помещают одновременно в два магнитных поля – одно постоянное, а другое радиочастотное. Измерение осуществляют на ЯМР-спектрометре, основными составляющими элементами которого являются: электромагнит (в простых приборах используют постоянный магнит); генератор радиочастотного излучения; датчик, в который помещают пробирку с образцом; электронный усилитель и интегратор; самописец.

Методы ЯМР значительно производительнее по сравнению с базовыми методами анализа и во многих случаях отличаются меньшей погрешностью определения, вместе с тем они требуют использования специально подготовленных образцов сравнения и иногда взвешивания пробы. Данные методы используют в основном для оценки состояния и свойств воды и жира в сырье и готовой продукции.

Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия занимает особое положение среди спектроскопических методов. В строгом смысле слова этот метод не является спектрометрическим, так как вещество при анализе не подвергается воздействию электромагнитного излучения. Этот метод получил свое название из-за формального сходства и графического изображения масс-спектров со спектрами спектроскопических методов. Масс-спектрометрия основана на изучении тока от фрагментов ионов, полученных из нейтральных молекул вещества путем воздействия на них пучка электронов.

Метод масс-спектрометрии применяют в научно-исследовательской практике для идентификации соединений и установления строения неизвестных веществ, точного определения молекулярной массы, определения элементного состава, анализа следовых количеств биологически активных соединений, определения аминокислотной последовательности пептидов, анализа многокомпонентных смесей и т.п.

Функционально-технологические свойства

К функционально-технологическим свойствам относят влагосвязывающую, влагоудерживающую, жирудерживающую, гелеобразующую способность. На практике ***определение влагосвязывающей способности*** чаще всего проводят с помощью метода прессования или центрифугирования.

Метод прессования основан на выделении воды испытуемым образцом при лёгком его прессовании, сорбции выделяющейся воды фильтровальной бумагой и определении количества отделившейся влаги по площади пятна, оставляемого ею на фильтровальной бумаге. Достоверность результатов обеспечивается трёхкратной повторностью определений.

Метод центрифугирования основан на выделении жидкой фазы под действием центробежной силы из исследуемого объекта, находящегося в фиксированном положении. Количество последней зависит от степени взаимодействия влаги с «красной фазой» объекта. Метод условен. Достоверность результатов может быть обеспечена при трёх - четырёхкратной повторности определений. Влагоудерживающая способность сырья определяется как разность между массовой долей влаги в продукте и количеством влаги, отделившейся в процессе термической обработки, а жирудерживающая способность – как разность между массовой долей жира в продукте и количеством жира, отделившегося в процессе термической обработки.

Отношение объёма эмульгированного масла к общему его объёму в системе называют эмульгирующей способностью. В это определение входит и понятие стабильности эмульсии, проявляющейся за промежуток времени, начиная от окончания эмульгирования до момента измерения при фиксированных условиях проведения эксперимента.

Жирудерживающую способность рассчитывают после определения ВВС и высушиванием остатка продукта до постоянной массы. Жирудерживающую способность определяют по коэффициенту, определенному рефрактометрически или методом Сокслета.

Эмульгирующую способность определяют после суспензирования навески продукта в 100 см³ воды в гомогенизаторе или миксере, добавляя затем рафинированное подсолнечное масло и эмульгируют в гомогенизаторе. Эмульгирующую способность определяют по формуле:

$$\text{ЭС} = \frac{V_1}{V} \cdot 100,$$

где V_1 – объём эмульгированного масла, см³;
 V – общий объём масла, см³.

Стабильность эмульсии определяют путём нагревания при температуре 80°С в течение 30 мин и охлаждения водой в течение 15 мин. Затем заполняют эмульсией 4 калиброванные центрифужные пробирки вместимостью по 50 см³ и центрифугируют при частоте вращения 500с⁻¹ в течение 5 мин. Далее определяют объём эмульгированного слоя.

Стабильность эмульсии (%) рассчитывают по формуле

$$\text{СЭ} = \frac{V_1}{V_2} \cdot 100,$$

где V_1 – объём эмульгированного масла, см³;
 V_2 – общий объём эмульсии, см³.

Безопасность пищевых продуктов

Под безопасностью продуктов питания следует понимать отсутствие опасности для здоровья человека при их употреблении, как с точки зрения острого негативного воздействия (пищевые отравления и пищевые инфекции), так и с точки зрения опасности отдаленных последствий (канцерогенное, мутагенное и тератогенное действие). Иными словами, безопасными можно считать продукты питания, не оказывающие вредного, неблагоприятного воздействия на здоровье настоящего и будущих поколений.

С продуктами питания в организм человека могут поступать значительные количества веществ, опасных для его здоровья. Поэтому остро стоят проблемы, связанные с повышением ответственности за эффективность контроля качества пищевых продуктов, гарантирующих их безопасность для здоровья потребителя.

В начале 70-х г.г. была разработана **концепция критической контрольной точки при анализе опасного фактора (ККТАОФ)**, которая призвана обеспечить безопасность пищевых продуктов. Главные принципы, лежащие в сути этой концепции, свидетельствуют о том, что основной акцент должен быть сделан на предупредительный контроль «критических моментов» в производстве продовольствия, а не на проверку готовой продукции. Согласно концепции ККТАОФ ответственность за определение критических точек в технологии производства безопасных пищевых продуктов возлагается на производителей.

Выявление ККТАОФ складывается из двух основных операций.

Операция 1. Выявление опасных факторов и определение контрольных мер. При этом необходимо изучить следующие важные обстоятельства:

- состав используемого сырья и компонентов, а также параметров, которые могут оказывать влияние на безопасность и стойкость продукта;
- параметры и условия процесса производства, влияющие на опасные факторы или их создающие;
- защита от повторного загрязнения химическими веществами и микроорганизмами (целостность, проницаемость и безопасность упаковки);
- использование в потребительской практике (размораживание, подогревание, варка и т.п.);
- группы риска (система общественного питания, дети, пожилые люди, лица с нарушениями иммунной системы, другие категории больных).

Операция 2. Установление критических контрольных точек. При этом необходимо для каждого опасного фактора на каждой стадии ответить на следующие вопросы:

- может ли изучаемый опасный фактор появиться в продукте из сырья или при его переработке, и на каком уровне (допустимом или недопустимом)?
- имеет ли состав сырья или рецептура продукта решающее значение для безопасности продукта?
- имеет ли состав сырья или рецептура продукта решающее значение для безопасности продукта?
- обеспечивает ли технологический процесс безопасность готового продукта за счет снижения уровня опасного фактора или за счет предотвращения его возрастания до опасного уровня?

Кроме названных двух основных операций ККТАОФ включает также спецификацию, систему мониторинга, системы устранения недостатков и проверки. Токсичные элементы (в частности тяжелые металлы) составляют обширную и весьма опасную в токсикологическом отношении группу веществ. Обычно рассматривают 14 элементов: Hg, Pb, Cd, As, Sb, Sn, Zn, Al, Be, Fe, Cu, Ba, Cr, Tl. Современные методы обнаружения и определения содержания *микотоксинов* в пищевых продуктах и кормах включают скрининг – методы - количественные аналитические и биологические методы.

Скрининг – методы отличаются быстротой и удобны для проведения серийных анализов, позволяют быстро и надежно разделять загрязненные и незагрязненные образцы. К ним относятся такие широко распространенные методы, как миниколоночный метод определения афлатоксинов, охратоксина А и зеараленона; методы тонкослойной хроматографии (ТСХ-методы) для одновременного определения до 30 различных микотоксинов, флуоресцентный метод определения зерна, загрязненного афлатоксинами, и некоторые другие.

Количественные аналитические методы определения микотоксинов представлены химическими, радиоиммунологическим и иммуноферментными методами. Химические методы являются в настоящее время наиболее распространенными.

Консерванты – это вещества, подавляющие развитие микроорганизмов и применяемые для предотвращения порчи продуктов. В больших концентрациях эти вещества опасны для здоровья, поэтому Минздравом России определены

предельно допустимые количества их в продуктах и установлена необходимость контроля за их содержанием.

Определение диоксида серы. В ГОСТе описаны два метода определения: дистилляционный и йодометрический.

Дистилляционный метод с предварительной отгонкой диоксида серы применяется при определении малых количеств вещества, а также при арбитражных анализах; йодометрический, сравнительно простой, но менее точный метод, используют при определении диоксида серы с массовой долей его в продукте более 0,01%. Дистилляционный метод основан на вытеснении свободного и связанного диоксида серы из продукта ортофосфорной кислотой и перегонке в токе азота в приемники с пероксидом водорода, где диоксид серы окисляется до серной кислоты. Количество полученной серной кислоты определяют ацидометрически – титрованием раствором гидроксида натрия или комплексонометрически – титрованием раствором трилона Б в присутствии эриохрома черного Т.

Йодометрический метод заключается в высвобождении связанного диоксида серы при обработке щелочью вытяжки из навески продукта с последующим оттитровыванием раствором йода. По количеству израсходованного на титрование йода определяют общее количество диоксида серы.

При определении сорбиновой кислоты используют либо спектрофотометрический, либо фотокolorиметрический метод. Оба метода основаны на отгонке сорбиновой кислоты из навески анализируемого продукта в токе пара с последующим определением ее либо путем измерения оптической плотности отгона на спектрофотометре, либо после получения цветной реакции – на фотоэлектроколориметре. Среди **тяжелых металлов** наиболее опасны свинец, кадмий, ртуть и мышьяк. Поскольку металлы в пищевых продуктах находятся в связанном состоянии, непосредственное их определение невозможно. Поэтому первоначальной задачей химического анализа тяжелых металлов является удаление органических веществ – минерализация (озоление) рекомендуется при определении Cu, Pb, кадмия, Zn, Fe, мышьяка. Для определения содержания Cu, кадмия и Zn используют метод полярографии. Для олова – фотометрический метод, который основан на измерении интенсивности желтой окраски раствора комплексного соединения с кверцетином. Для определения используют минерализат, полученный мокрой минерализацией навески пробы продукта массой 5-10 г. Также фотометрические методы исследования применяют при определении Cu, Fe, мышьяка. Для определения ртути применяют колориметрический или атомно-абсорбционный метод, который основан на окислении ртути в двухвалентный ион в кислой среде и восстановлении ее в растворе до элементного состояния под воздействием сильного восстановителя.

Литература

1. ГОСТ 5698-51 Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли поваренной соли. Утверждён и введён в действие Госкомитетом СССР 16.02.51. – 6 с.

2. ГОСТ 5668-68 Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли жира. Утверждён и введён в действие Комитетом стандартов, мер и измерительных приборов СССР 15.07.68. – 10 с.

3. ГОСТ 26183-84 Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 29.04.84. № 1536. – 5 с.

4. ГОСТ 26181-84 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сорбиновой кислоты. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по стандартам от 29.04.84. № 1542. – 4 с.

5. ГОСТ 28553-90 Чай. Метод определения сырой клетчатки. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 04.05.90. № 10804 – 3 с.

6. ГОСТ 29059-91 Продукты переработки плодов и овощей. Титриметрический метод определения пектиновых веществ. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 27.06.91. № 1081. – 5 с.

7. ГОСТ 29030-91 Продукты переработки плодов и овощей. Пикнометрический метод определения относительной плотности и содержания растворимых сухих веществ. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 17.06.91. № 880. – 6 с.

8. ГОСТ 25555.5-91 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения диоксида серы. Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 23.12.91. № 2051. – 6 с.

9. ГОСТ 25555.4-91 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения золы и щёлочности общей и водорастворимой золы. Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 23.12.91. № 2116. – 4 с.

10. ГОСТ 25555.2-91 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения содержания этилового спирта. Утверждён и введён в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 23.12.91. № 2038. – 6 с.

11. ГОСТ 8756.12-91 Продукты переработки плодов. Методы определения способности плодово-ягодного пюре образовывать желе и пат. Утверждён и введён в действие Постановлением Госкомитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 27.06.91. № 1082. – 5 с.

12. ГОСТ 30046-93 Зерновые. Определение насыпной плотности зерна, называемой «масса гектолитра». Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1993. – 10 с.

13. ГОСТ 29270-95 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения нитратов. Разработан ВНИИ консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП) и МТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей». Введён в действие с 1.01.1997 г. постановлением Комитета РФ по стандартизации, метрологии и сертификации от 25.02.1996 г. № 141. М.: Стандартиформ, 2010. – 11 с.

14. ГОСТ Р 54498-2011. Зерно и мука из мягкой пшеницы. Определение водопоглощения и реологических свойств теста с применением миксолаба. М.: Стандартинформ, 2013. – 16 с.

15. ГОСТ Р 54895-2012 Зерно. Метод определения природы. М.: Стандартинформ, 2013. – 9 с.

СОДЕРЖАНИЕ

Лабораторная работа № 1. Отбор проб продуктов детского питания и подготовка их к анализу. Определение массы нетто или объема	
Методы определения витаминов.....	3
Лабораторная работа № 2. Методы определения белка.....	11
Лабораторная работа № 3. Методы определения углеводов.....	17
Лабораторная работа № 4. Методы определения влаги и массовой доли сухих веществ.....	25
Лабораторная работа № 5. Методы определения Р-активных веществ.....	31
Лабораторная работа № 6. Методы определения рН консервов.....	44
Лабораторная работа № 7. Методы определения тяжёлых металлов.....	46
Лабораторная работа № 8. Применение других измерительных методов исследования пищевых производств.....	52

Учебное издание

Вячеслав Леонидович Захаров

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ:
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**