

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

Н. Ю. Ключко

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Утверждено редакционно-издательским советом ФГБОУ ВО «КГТУ»
в качестве учебно-методического пособия по выполнению лабораторных работ
для студентов магистратуры по направлению подготовки
19.04.01 Биотехнология (профиль подготовки – «Пищевая биотехнология»)

Калининград
Издательство ФГБОУ ВО «КГТУ»
2021

РЕЦЕНЗЕНТ

доктор технических наук, профессор, зав. кафедрой пищевой биотехнологии
ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет»
О. Я. Мезенова

Ключко, Н. Ю.

Методы исследования в биотехнологии: учеб.-методич. пособие по выполнению лаб. работ для студ. магистратуры по направлению подгот. 19.04.01 Биотехнология / Н.Ю. Ключко. – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2021. – 121 с.

Учебно-методическое пособие предназначено для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Методы исследований в биотехнологии». В результате обучающийся должен знать методологию анализа пищевого и биотехнологического сырья, полуфабрикатов и готовой продукции, уметь использовать современные методы исследования (физические, физико-химические, биохимические и др.) для оценки их качества, безопасности и пищевой ценности.

Учебно-методическое пособие предназначено для студентов магистратуры направления подготовки 19.04.01 – Биотехнология (профиль «Пищевая биотехнология»). Оно будет также полезно студентам других направлений и специальностей, имеющим отношение к пищевой промышленности, биотехнологии и сфере питания.

Рис. 5, табл. 25, список лит. – 10 наименований

Учебно-методическое пособие рекомендовано к изданию учебно-методической комиссией механико-технологического факультета ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» 18 ноября 2021 г., протокол № 3

Учебно-методическое пособие рассмотрено и одобрено кафедрой пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» 27 октября 2021 г., протокол № 2

УДК 664

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Калининградский государственный технический университет», 2021 г.

© Ключко Н.Ю., 2021 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Лабораторная работа № 1 Методы организации лабораторного контроля. Методы определения массовой доли влаги и сухих веществ в сырье, пищевых продуктах и БАД	5
Лабораторная работа № 2 Методы определения белковых и небелковых веществ в сырье, пищевых продуктах и БАД	23
Лабораторная работа № 3 Методы определения активной, общей кислотности, щелочности пищевых продуктов. Методы определения органических кислот.	36
Лабораторная работа № 4 Физические и физико-химические методы исследования сырья, пищевых продуктов и БАД	49
Лабораторная работа № 5 Методы определения липидов в сырье, пищевых продуктах и БАД. Методы определения качественных показателей липидов в сырье, пищевых продуктах и БАД	59
Лабораторная работа № 6 Методы определения углеводов в сырье, пищевых продуктах и БАД	79
Лабораторная работа № 7 Методы определения минеральных веществ в сырье, пищевых продуктах и БАД.....	92
Лабораторная работа № 8 Методы определения витаминов в сырье, пищевых продуктах и БАД	110
Литература	119

ВВЕДЕНИЕ

Настоящее учебно-методическое пособие предназначено для студентов магистратуры по направлению подготовки 19.04.01 «Биотехнология», выполняющих лабораторные работы по дисциплине «Методы исследований в биотехнологии».

Лабораторные работы являются важным звеном профессиональной подготовки биотехнологов пищевой промышленности. Цель лабораторных работ заключается в формировании у студентов систематизированных знаний в области современных методов исследований продуктов пищевой биотехнологии, а также воспитании навыков самостоятельной научно-исследовательской работы.

Лабораторные работы способствуют закреплению и углублению теоретических знаний студентов по изучаемой дисциплине, развивают практические умения в работе по организации научных исследований и прививают навыки анализа качества, безопасности и пищевой ценности продукции.

В процессе подготовки и выполнения лабораторных работ студент закрепляет знания по общим принципам анализа и подготовки проб; современным методам химического, физического, физико-химического и биохимического анализа качества и безопасности сырья, пищевой продукции и биологически активных веществ и добавок.

Результаты выполнения лабораторных работ заносятся студентами в рабочую тетрадь. Преподаватель проверяет усвоение студентами теоретического материала, знание методов анализа, оценивает уровень оформления работы и при его соответствии подписывает рабочую тетрадь. Лабораторные работы должны выполняться с соблюдением требований техники безопасности при работе в химической лаборатории.

Автор выражает глубокую благодарность за помощь в подготовке данного учебно-методического пособия ведущему инженеру кафедры пищевой биотехнологии ***Виктории Викторовне Липовской***.

Лабораторная работа № 1

МЕТОДЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ ДОЛИ ВЛАГИ И СУХИХ ВЕЩЕСТВ В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД

Цель работы: формирование умений и навыков по определению массовой доли воды, сухих веществ и плотности в пищевом сырье и готовой продукции с применением различных методов.

Задание по лабораторной работе:

1. Освоить методику определения массовой доли влаги методом высушивания в сушильном шкафу.
2. Освоить методику определения массовой доли влаги экспресс-методом на приборе ВЧ конструкции К.Н. Чижовой.
3. Освоить методы определения массовой доли влаги и сухих веществ рефрактометрическим методом.
4. Освоить методы определения плотности пищевых продуктов ареометрическим и пикнометрическим методами

1.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ВЛАГИ МЕТОДОМ ВЫСУШИВАНИЯ В СУШИЛЬНОМ ШКАФУ

Материалы, реактивы, оборудование: ступка с пестиком, металлические бюксы, аналитические весы, эксикатор, сушильный шкаф.

Проведение анализа.

Металлическую бюксу с 10 г хорошо промытого и прокаленного песка и стеклянной палочкой, не выступающей за края бюксы (для твердых навесок) или со скрученными трубочками из фильтровальной бумаги (для жидких навесок), помещают в сушильный шкаф и выдерживают при 102 ± 2 °С в течение 30-40 мин. После этого бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе не более 40 мин и взвешивают с погрешностью не более 0,001 г.

В эту же бюксу пипеткой вносят 10 см³ молока, или 5 г куриного фарша, или 5 г рыбного фарша, взвешенных с погрешностью не более 0,001 г, закрывают крышкой и немедленно взвешивают.

Затем открытую бюксу и крышку помещают в сушильный шкаф с температурой (102±2) °С. По истечении 2 ч бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе 40 мин и взвешивают.

Последующие взвешивания производят после высушивания в течение 1 ч до тех пор, пока разность между двумя последовательными взвешиваниями будет равна или менее 0,001 г. Если при одном из взвешиваний после высушивания будет найдено увеличение массы, для расчетов принимают результаты предыдущего взвешивания.

После высушивания бюксы вынимают, тотчас закрывают крышками и переносят в эксикатор для охлаждения не менее 20 мин и более 2 ч. После охлаждения взвешивают.

Обработка результатов. Содержание влаги (W_1) в процентах вычисляют по формуле:

$$W_1 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100,$$

где m_1 – масса бюксы с навеской до высушивания, г;

m_2 – масса бюксы с навеской после высушивания, г;

m_0 – масса пустой бюксы, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений. Влажность вычисляют с точностью до 0,5%, причем доли до 0,25 включительно отбрасывают; доли свыше 0,25 и до 0,75 включительно приравнивают к 0,5; доли свыше 0,75 приравнивают к единице.

1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ВЛАГИ ЭКСПРЕСС-МЕТОДОМ НА ПРИБОРЕ ВЧ КОНСТРУКЦИИ К.Н. ЧИЖОВОЙ

Для быстрого удаления влаги используют высушивание с помощью инфракрасных лучей, которые воспринимаются не только поверхностью, но и

проникают в глубь продукта на 2-3 мм, обуславливая его интенсивный прогрев. Одним из источников инфракрасных лучей могут быть нагретые металлические поверхности, дающие излучение в диапазоне длин волн 0,76 - 343 нм.

На этом принципе работает прибор ВЧ (рис. 1.1), представляющий собой две массивные металлические плиты (сплав алюминия и чугуна) круглой или прямоугольной формы, между которыми помещается тонкий слой высушиваемого материала.

Плиты соединены между собой шарниром и нагреваются электрическими элементами, расположенными с внешних сторон прибора, что обеспечивает быстрое обезвоживание продукта. В процессе работы расстояние между плитами прибора составляет 2 мм, температура контролируется двумя ртутными термометрами. Нагрев плит может быть как сильным, так и слабым. Сильный нагрев используется при первоначальном разогревании прибора, слабый - для поддержания требуемой температуры. Переключают сильный нагрев на слабый специальным переключателем. Контактный термометр обеспечивает постоянство заданной температуры в пределах ± 1 °С. В настоящее время выпускается модификация этого прибора под маркой ПИВИ.

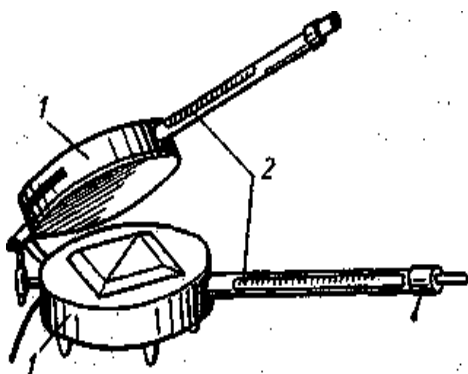


Рисунок 1.1 - Прибор ВЧ
(конструкция К.Н. Чижовой): 1 - металлические плиты;
2 - термометры, заключенные в гильзы

Высушивают объект в пакетах треугольной или прямоугольной формы, которые готовят из газетной бумаги (рис. 1.2).

Пакеты для прибора прямоугольной формы готовят следующим образом. Лист бумаги форматом 20 x 14 см складывают пополам, а открытые с трех сторон края пакета загибают на 1,5 см; размер готовых пакетов 8,5 x 11 см. Для прибора круглой формы бумагу форматом 15 x 15 см складывают по диагонали, за-

гибая края на 1,5 см. В приборе легко помещаются два таких пакета, что позволяет проводить одновременно параллельные определения.

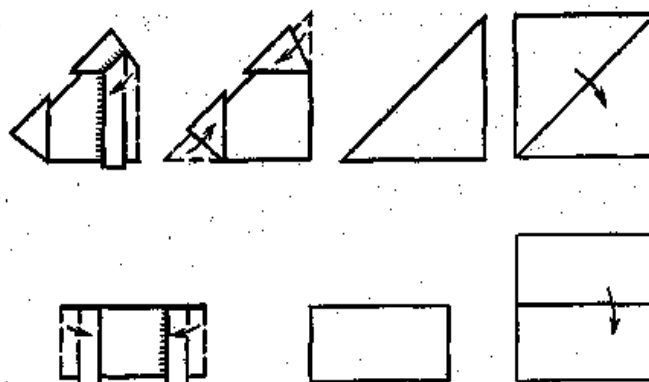


Рисунок 1.2 – Бумажные пакеты для прибора ВЧ

При определении влажности сочного растительного сырья в бумажный пакет помещают дополнительный лист из фильтровальной бумаги размером 11 x 24 см, сложенный в три слоя так, чтобы два слоя помещались на нижней стороне пакета, а один слой - на верхней стороне.

Материалы, реактивы, оборудование. Печенье, фарфоровая ступка с пестиком, пакеты из газетной бумаги, аналитические весы, эксикатор, прибор ВЧ или ПИВИ.

Проведение анализа. Подготовленные пакеты предварительно высушивают в приборе при температуре 160 °С в течение 3 мин, охлаждают 2-3 мин в эксикаторе и взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г.

В высушенный и взвешенный бумажный пакет на технических весах взвешивают 3 г тщательно растертого печенья, помещают его между плитами прибора, нагретого до 160 °С, и выдерживают при этой температуре в течение 3 мин. Затем, охладив в эксикаторе в течение 2 мин, пакет с пробой взвешивают.

Обработка результатов.

Массовую долю влаги в печенье W_2 , % определяют по формуле:

$$W_2 = \frac{m_2 - m_4}{m_3} \cdot 100,$$

где m_1 - масса пакета, г;

m_2 - масса пакета с навеской до высушивания, г;

m_3 - масса навески образца ($m_3 = m_2 - m_1$), г;

m_4 - масса пакета с навеской после высушивания, г

Во всех образцах рассчитать массовую долю сухих веществ (СВ) в % по формуле:

$$СВ = 100 - W.$$

1.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ВЛАГИ И СУХИХ ВЕЩЕСТВ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Массовую долю влаги в мармеладе определяют рефрактометрическим методом, *сущность* которого состоит в определении массовой доли сухих веществ в изделии по коэффициенту преломления его раствора.

Материалы, реактивы, оборудование: мармелад, карамель, дистиллированная вода, стеклянный бюкс, стеклянная палочка, мерный цилиндр вместимостью 10 см³, весы технические, водяная баня, рефрактометр, термометр лабораторный.

Проведение анализа. Если проба имеет жидкую консистенцию (сахарные и сахарно-паточные сиропы и т.п.), две капли ее наносят на призму рефрактометра, темперируют их в течение 5 мин, передвигая окуляр до совмещения визира с границей темного и светлого полей, и, отметив температуру по термометру, установленному на рефрактометре, отсчитывают по шкале процент сухих веществ. Температура может быть в пределах от 15 °С до 30 °С. Показания рефрактометра приводят к температуре 20 °С, пользуясь температурными поправками, приведенными в таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Температурные поправки к показаниям рефрактометра

°С	Поправка	°С	Поправка	°С	Поправка
15	-0,38	20	0	25	+0,40
16	-0,30	21	+0,08	26	+0,48
17	-0,24	22	+0,16	27	+0,56
18	-0,16	23	+0,24	28	+0,64
19	-0,08	24	+0,32	29	+0,73
				30	+0,81

Если проба имеет твердую или очень густую консистенцию или содержит кристаллы сахара и при рефрактометрировании в пробе отсутствует хорошо и четко различимая граница между темным и светлым полями, видимыми в окуляре рефрактометра, во взвешенную вместе с крышкой и стеклянной палочкой бюксу или стаканчик с часовым стеклом помещают навеску продукта массой 5-10 г, взвешенную с погрешностью не более 0,01 г, приливают воду в трехкратном количестве по отношению к массе навески.

Навеску растворяют в открытой бюксе при перемешивании, ускоряя растворение нагреванием на водяной бане при температуре 60 °С - 70 °С, после чего раствор охлаждают, закрывают бюксу крышкой, взвешивают с погрешностью не более 0,01 г и рефрактометрируют, вводя поправку к полученному отсчету массовой доли сухих веществ в растворе навески.

Обработка результатов

Массовую долю сухих веществ (W_3) в процентах в исследуемом изделии вычисляют по формуле:

$$W_3 = \frac{m_1 \cdot a}{m},$$

где m – масса навески, г;

m_1 – масса раствора навески, г;

a – показания рефрактометра.

При расчете массовой доли сухих веществ рефрактометром в яблочном и желейном мармеладах в вычисленный процент сухих веществ вводят следующие величины поправок (%) для различных видов мармелада:

фруктовый	+ 0,8
яблочный формовой	+ 0,7
яблочный пластовый	+ 0,9
желейный формовой	- 0,3
апельсиновые и лимонные дольки	- 0,3

При определении сухих веществ рефрактометром в карамельной массе, изготовленной с патокой, а также в сахарно-паточных сиропах или сахарной помаде, содержащей патоку, в получаемые результаты, выраженные в процентах сухих веществ, вводят поправки в соответствии с таблицей 1.2.

Поправки к массовой доле сухих веществ в процентах в изделиях из сахара и патоки даны из расчета, что каждый процент сухих веществ патоки завышает истинную массовую долю сухих веществ на 0,033%, а каждый процент сухих веществ инвертного сиропа, содержащего в среднем 75% редуцирующих веществ, снижает истинную массовую долю сухих веществ на 0,026%.

Таблица 1.2 – Поправки к показаниям рефрактометра при определении сухих веществ в кондитерских изделиях, изготовленной с патокой

Кол-во весовых частей патоки на 100 весовых частей сахара	Поправка	Кол-во весовых частей патоки на 100 весовых частей сахара	Поправка
5	-0,04	60	-0,97
10	-0,16	65	-1,03
15	-0,27	70	-1,09
20	-0,37	75	-1,14
25	-0,46	80	-1,19
30	-0,55	85	-1,24
35	-0,63	90	-1,28
40	-0,71	95	-1,33
45	-0,78	100	-1,37
50	-0,85	105	-1,41
55	-0,91	110	-1,45

При определении сухих веществ рефрактометром в карамельной массе, изготовленной с уменьшенным количеством патоки и замещением недостающих редуцирующих веществ инвертным сиропом, вводят следующие поправки в соответствии с таблицей 1.3.

Таблица 1.3 – Поправки к показаниям рефрактометра при определении сухих веществ в кондитерских изделиях, изготовленной с уменьшенным количеством патоки

Кол-во весовых частей патоки на 100 весовых частей сахара	Поправка	Кол-во весовых частей патоки на 100 весовых частей сахара	Поправка
40	-0,44	20	-0,00
35	-0,33	15	+0,12
30	-0,23	10	+0,24
25	-0,13	5	+0,36

Результаты параллельных определений вычисляют до второго десятичного знака и округляют до первого десятичного знака. За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Допускаемые расхождения между параллельными определениями не должны превышать 0,3%, при определении в разных лабораториях - 0,5 %, а в изделиях с влажностью более 20% - не более 1,0 %.

Предел возможных значений погрешности измерения 0,5 % (P=0,95); для изделий с массовой долей влаги более 20 % - 1,3 % (P=0,95).

Примеры расчета массовой доли сухих веществ в карамельной массе

Пример 1. Карамельная масса изготовлена согласно рецептуре: 100 кг сахара +50 кг патоки. Навеска карамельной массы - 5,03 г.

Масса раствора навески - 8,79 г.

Отсчет по рефрактометру при температуре 22 °С - 55,9 %.

Температурная поправка - 0,16.

Массовая доля сухих веществ

$$\frac{(55,9 + 0,16) \cdot 8,79}{5,03} = 97,970 \%$$

Поправка по таблице 1.2 без учета нарастания редуцирующих веществ 0,85.

Массовая доля сухих веществ в карамельной массе 97,97-0,85=97,12 %

Влажность карамельной массы 100-97,12=2,88 %

Пример 2. Карамельная масса изготовлена по рецептуре: 100 кг сахара+ 15 кг патоки + 19,3 кг инвертного сиропа с 75 % редуцирующих веществ. Навеска карамельной массы - 5,23 г. Масса раствора навески - 10,77 г. Температура - 27 °С. Отсчет по шкале рефрактометра - 47,1%. Видимая массовая доля сухих веществ составляет: 47,1+0,56=47,66 %, а в самой карамельной массе без поправок за счет сухих веществ патоки и инверта

$$\frac{47,66 \cdot 10,77}{5,23} = 98,14 \%$$

Окончательный результат массовой доли влаги, с учетом поправки на патоку и инверт, составит: 98,14+0,12=98,26 % сухих веществ и 100-98,26=1,74 % влажность карамельной массы.

Результаты исследований представить в виде таблицы 1.4.

Таблица 1.4 – Массовая доля влаги и сухих веществ в продуктах, %

Наименование продукта	Массовая доля влаги, %			Массовая доля сухих веществ, %
	По арбитражному методу	По экспресс-методу	По требованиям ГОСТ	

На основании полученных данных сделать вывод на соответствие требованиям нормативной документации.

1.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ АРЕОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Проведение испытаний.

Пробу молока, объемом 0,25 или 0,50 дм³, тщательно перемешивают и осторожно, во избежание образования пены, переливают по стенке в сухой цилиндр, который следует держать в слегка наклонном положении. Если на поверхности пробы в цилиндре образовалась пена, ее снимают мешалкой.

Цилиндр с исследуемой пробой устанавливают на ровной горизонтальной поверхности и измеряют температуру пробы. Отсчет показаний температуры проводят не ранее, чем через 2-4 мин после опускания термометра в пробу.

Сухой и чистый ареометр опускают медленно в исследуемую пробу, погружая его до тех пор, пока до предполагаемой отметки ареометрической шкалы не останется 3-4 мм, затем оставляют его в свободно плавающем состоянии. Ареометр не должен касаться стенок цилиндра.

Расположение цилиндра с пробой на горизонтальной поверхности должно быть, по отношению к источнику света, удобным для отсчета показаний по шкале плотности и шкале термометра. Первый отсчет показаний плотности проводят визуально со шкалы ареометра через 3 мин после установления его в неподвижном положении.

После этого ареометр осторожно приподнимают на высоту до уровня балласта в нем и снова опускают, оставляя его в свободно плавающем состоянии. После установления его в неподвижном состоянии, проводят второй отсчет показаний плотности. При отсчете показаний плотности глаз должен находиться на уровне мениска. Отсчет показаний проводят по верхнему краю мениска. Затем измеряют температуру пробы.

Расхождение между повторными определениями плотности (последовательно одно определение за другим в одной и той же пробе) не должно превышать 0,5 кг/м³.

Обработка результатов.

За среднее значение температуры исследуемой пробы принимают среднеарифметическое значение результатов двух показаний. Если проба во время определения плотности имела температуру выше или ниже 20 °С, то результаты определения плотности при температуре должны быть приведены к 20 °С в соответствии со справочными таблицами 1.6 – 1.9.

Результаты анализа занести в таблицу 1.5 и сделать необходимые выводы.

Таблица 1.5 – Определение плотности молока

Наименование пробы	Плотность по показаниям ареометра, кг/м ³	Температура молока (°С)	Плотность, приведенная к 20 °С, кг/дм ³

Результат определения плотности молока с учетом погрешности метода должен быть представлен в виде формулы $\rho_M^{20} = \rho_T \pm \Delta\rho_a; P=0,99$

где ρ_T - значение плотности, приведенной к 20 °С, кг/дм³, найденное по таблицам 1.6-1.9;

$\Delta\rho_a$ - погрешность определения плотности молока ареометрическим методом, не более $\pm 0,5$ кг/м³;

P – вероятность, с которой погрешность измерения находится в границах от минус $\Delta\rho_a$ до плюс $\Delta\rho_a$.

1.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПИКНОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Пикнометрический метод предназначен для проведения научных и экспериментальных исследований по определению плотности молока и сгущенных молочных консервов.

Подготовка к измерению

Пикнометры (не менее двух) должны быть тщательно вымыты моющими растворами и промыты дистиллированной водой. После этого их тщательно высушивают в электропечи при (110 ± 10) °С не менее 30 мин, вынимают из электропечи, выдерживают при комнатной температуре не менее 30 мин и взвешивают методом точного взвешивания.

Проведение измерений

Подготовленные к измерениям пикнометры (не менее двух) заполняют при помощи шприца предварительно тщательно перемешанной исследуемой пробой заготавливаемого коровьего или обезжиренного молока немного выше отметки на их шейке, закрывают пробками и взвешивают методом точного взвешивания.

Заполнение пикнометров исследуемой пробой сгущенных молочных консервов проводят при помощи воронки, уровень до отметки доводят пипеткой.

После проведения измерений из пикнометров выливают молоко, и сгущенные молочные консервы промывают, высушивают, закрывают пробкой и хранят до проведения новых измерений.

Обработка результатов

Плотность молока и сгущенных молочных консервов при 20 °С, кг/м³, вычисляют по формуле

$$\rho_1 = ((m_3 - m_1) / (m_2 - m_1)) * (\rho_e - e) + e$$

где m_1 , m_2 , m_3 - массы гирь, уравновешивающих, соответственно, пустой пикнометр, пикнометр с водой и пикнометр с молоком, кг;

ρ_e - плотность воды при 20 °С и нормальном давлении, равном $1,01 \cdot 10^5$ Па ($\rho_e = 998,20$ кг/м³);

e - плотность воздуха при 20 °С и нормальном давлении ($e = 1,2$ кг/м³).

Аналогично определяют плотность ρ_2 той же пробы молока с помощью второго пикнометра.

Допускаемое расхождение между двумя результатами определения плотности не должно превышать по абсолютному значению $0,3 \text{ кг/м}^3$ – для молока и 10 кг/м^3 - для сгущенных молочных консервов. Если расхождения превышают допустимые, то проводят повторные контрольные измерения плотности.

За плотность молока при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ принимают среднеарифметическое значение результатов двух полученных значений плотности молока и при $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Допускаемые расхождения между результатами определения плотности молока пикнометрическим и ареометрическим методами не должны превышать значения величины $1,0 \text{ кг/м}$ при $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Результаты определения плотности двумя методами представить в таблице 1.6 и сравнить полученные результаты с требованиями, предъявляемыми к данной продукции в соответствующем ГОСТ.

Таблица 1.6 – Плотность молока

Наименование продукта	Ареометрический метод	Пикнометрический метод	Требования ГОСТ

На основании результатов сделать вывод о соответствии требованиям нормативной документации.

Таблица 1.7 – Таблица приведения плотности коровьего молока к температуре 20 °С

Плотность молока $\rho_{\text{ср}}^t$, кг/м ³	Плотность, приведенная к 20 °С, кг/м ³ , при температуре молока t , °С										
	15,0	15,5	16,0	16,5	17,0	17,5	18,0	18,5	19,0	19,5	20,0
1025,0	1023,4	1023,6	1023,7	1023,9	1024,0	1024,2	1024,4	1024,5	1024,7	1024,8	1025,0
1025,5	1023,9	1024,1	1024,2	1024,4	1024,5	1024,7	1024,9	1025,0	1025,2	1025,3	1025,5
1026,0	1024,4	1024,6	1024,7	1024,9	1025,0	1025,2	1025,4	1025,5	1025,7	1025,8	1026,0
1026,5	1024,9	1025,1	1025,2	1025,4	1025,5	1025,7	1025,9	1026,0	1026,2	1026,3	1026,5
1027,0	1025,4	1025,6	1025,7	1025,9	1026,0	1026,2	1026,4	1026,5	1026,7	1026,8	1027,0
1027,5	1025,9	1026,1	1026,2	1026,4	1026,5	1026,7	1026,9	1027,0	1027,2	1027,3	1027,5
1028,0	1026,4	1026,6	1026,7	1026,9	1027,0	1027,2	1027,4	1027,5	1027,7	1027,8	1028,0
1028,5	1026,9	1027,1	1027,2	1027,4	1027,5	1027,7	1027,9	1028,0	1028,2	1028,3	1028,5
1029,0	1027,4	1027,6	1027,7	1027,9	1028,0	1028,2	1028,4	1028,5	1028,7	1028,8	1029,0
1029,5	1027,9	1028,1	1028,2	1028,4	1028,5	1028,7	1028,9	1029,0	1029,2	1029,3	1029,5
1030,0	1028,4	1028,6	1028,7	1028,9	1029,0	1029,2	1029,4	1029,5	1029,7	1029,8	1030,0
1030,5	1028,9	1029,1	1029,2	1029,4	1029,5	1029,7	1029,9	1030,0	1030,2	1030,3	1030,5
1031,0	1029,4	1029,6	1029,7	1029,9	1030,0	1030,2	1030,4	1030,5	1030,7	1030,8	1031,0
1031,5	1029,9	1030,1	1030,2	1030,4	1030,5	1030,7	1030,9	1031,0	1031,2	1031,3	1031,5
1032,0	1030,4	1030,6	1030,7	1030,9	1031,0	1031,2	1031,4	1031,5	1031,7	1031,8	1032,0
1032,5	1030,9	1031,1	1031,2	1031,4	1031,5	1031,7	1031,9	1032,0	1032,2	1032,3	1032,5
1033,0	1031,4	1031,6	1031,7	1031,9	1032,0	1032,2	1032,4	1032,5	1032,7	1032,8	1033,0
1033,5	1031,9	1032,1	1032,2	1032,4	1032,5	1032,7	1032,9	1033,0	1033,2	1033,3	1033,5
1034,0	1032,4	1032,6	1032,7	1032,9	1033,0	1033,2	1033,4	1033,5	1033,7	1033,8	1034,0
1034,5	1032,9	1033,1	1033,2	1033,4	1033,5	1033,7	1033,9	1034,0	1034,2	1034,3	1034,5
1035,0	1033,4	1033,6	1033,7	1033,9	1034,0	1034,2	1034,4	1034,5	1034,7	1034,8	1035,0
1035,5	1033,9	1034,1	1034,2	1034,4	1034,5	1034,7	1034,9	1035,0	1035,2	1035,3	1035,5
1036,0	1034,4	1034,6	1034,7	1034,9	1035,0	1035,2	1035,4	1035,5	1035,7	1035,8	1036,0

Продолжение

Плотность молока $\rho_{\text{ср}}^t$, кг/м ³	Плотность, приведенная к 20 °С, кг/м ³ , при температуре молока t , °С									
	20,5	21,0	21,5	22,0	22,5	23,0	23,5	24,0	24,5	25,0
1025,0	1025,2	1025,3	1025,5	1025,6	1025,8	1026,0	1026,1	1026,3	1026,4	1026,6
1025,5	1025,7	1025,8	1026,0	1026,1	1026,3	1026,5	1026,6	1026,8	1026,9	1027,1
1026,0	1026,2	1026,3	1026,5	1026,6	1026,8	1027,0	1027,1	1027,3	1027,4	1027,6
1026,5	1026,7	1026,8	1027,0	1027,1	1027,3	1027,5	1027,6	1027,8	1027,9	1028,1
1027,0	1027,2	1027,3	1027,5	1027,6	1027,8	1028,0	1028,1	1028,3	1028,4	1028,6
1027,5	1027,7	1027,8	1028,0	1028,1	1028,3	1028,5	1028,6	1028,8	1028,9	1029,1
1028,0	1028,2	1028,3	1028,5	1028,6	1028,8	1029,0	1029,1	1029,3	1029,4	1029,6
1028,5	1028,7	1028,8	1029,0	1029,1	1029,3	1029,5	1029,6	1029,8	1029,9	1030,1
1029,0	1029,2	1029,3	1029,5	1029,6	1029,8	1030,0	1030,1	1030,3	1030,4	1030,6
1029,5	1029,7	1029,8	1030,0	1030,1	1030,3	1030,5	1030,6	1030,8	1030,9	1031,1
1030,0	1030,2	1030,3	1030,5	1030,6	1030,8	1031,0	1031,1	1031,3	1031,4	1031,6
1030,5	1030,7	1030,8	1031,0	1031,1	1031,3	1031,5	1031,6	1031,8	1031,9	1032,1
1031,0	1031,2	1031,3	1031,5	1031,6	1031,8	1032,0	1032,1	1032,3	1032,4	1032,6
1031,5	1031,7	1031,8	1032,0	1032,1	1032,3	1032,5	1032,6	1032,8	1032,9	1033,1
1032,0	1032,2	1032,3	1032,5	1032,6	1032,8	1033,0	1033,1	1033,3	1033,4	1033,6
1032,5	1032,7	1032,8	1033,0	1033,1	1033,3	1033,5	1033,6	1033,8	1033,9	1034,1
1033,0	1033,2	1033,3	1033,5	1033,6	1033,8	1034,0	1034,1	1034,3	1034,4	1034,6
1033,5	1033,7	1033,8	1034,0	1034,1	1034,3	1034,5	1034,6	1034,8	1034,9	1035,1
1034,0	1034,2	1034,3	1034,5	1034,6	1034,8	1035,0	1035,1	1035,3	1035,4	1035,6
1034,5	1034,7	1034,8	1035,0	1035,1	1035,3	1035,5	1035,6	1035,8	1035,9	1036,1
1035,0	1035,2	1035,3	1035,5	1035,6	1035,8	1036,0	1036,1	1036,3	1036,4	1036,6
1035,5	1035,7	1035,8	1036,0	1036,1	1036,3	1036,5	1036,6	1036,8	1036,9	1037,1
1036,0	1036,2	1036,3	1036,5	1036,6	1036,8	1037,0	1037,1	1037,3	1037,4	1037,6

Таблица 1.8 – Таблица приведения плотности обезжиренного молока к температуре 20 °С

Плотность молока $\rho_{\text{ср}}^t$, кг/м ³	Плотность, приведенная к 20 °С, кг/м ³ , при температуре молока t , °С										
	15,0	15,5	16,0	16,5	17,0	17,5	18,0	18,5	19,0	19,5	20,0
1028,0	1026,7	1026,8	1027,0	1027,1	1027,2	1027,4	1027,5	1027,6	1027,7	1027,9	1028,0
1028,5	1027,2	1027,3	1027,5	1027,6	1027,7	1027,9	1028,0	1028,1	1028,2	1028,4	1028,5
1029,0	1027,7	1027,8	1028,0	1028,1	1028,2	1028,4	1028,5	1028,6	1028,7	1028,9	1029,0
1029,5	1028,2	1028,3	1028,5	1028,6	1028,7	1028,9	1029,0	1029,1	1029,2	1029,4	1029,5
1030,0	1028,7	1028,8	1029,0	1029,1	1029,2	1029,4	1029,5	1029,6	1029,7	1029,9	1030,0
1030,5	1029,2	1029,3	1029,5	1029,6	1029,7	1029,9	1030,0	1030,1	1030,2	1030,4	1030,5
1031,0	1029,7	1029,8	1030,0	1030,1	1030,2	1030,4	1030,5	1030,6	1030,7	1030,9	1031,0
1031,5	1030,2	1030,3	1030,5	1030,6	1030,7	1030,9	1031,0	1031,1	1031,2	1031,4	1031,5
1032,0	1030,7	1030,8	1031,0	1031,1	1031,2	1031,4	1031,5	1031,6	1031,7	1031,9	1032,0
1032,5	1031,2	1031,3	1031,5	1031,6	1031,7	1031,9	1032,0	1032,1	1032,2	1032,4	1032,5
1033,0	1031,7	1031,8	1032,0	1032,1	1032,2	1032,4	1032,5	1032,6	1032,7	1032,9	1033,0
1033,5	1032,2	1032,3	1032,5	1032,6	1032,7	1032,9	1033,0	1033,1	1033,2	1033,4	1033,5
1034,0	1032,7	1032,8	1033,0	1033,1	1033,2	1033,4	1033,5	1033,6	1033,7	1033,9	1034,0
1034,5	1033,2	1033,3	1033,5	1033,6	1033,7	1033,9	1034,0	1034,1	1034,2	1034,4	1034,5
1035,0	1033,7	1033,8	1034,0	1034,1	1034,2	1034,4	1034,5	1034,6	1034,7	1034,9	1035,0
1035,5	1034,2	1034,3	1034,5	1034,6	1034,7	1034,9	1035,0	1035,1	1035,2	1035,4	1035,5
1036,0	1034,7	1034,8	1035,0	1035,1	1035,2	1035,4	1035,5	1035,6	1035,7	1035,9	1036,0
1036,5	1035,2	1035,3	1035,5	1035,6	1035,7	1035,9	1036,0	1036,1	1036,2	1036,4	1036,5
1037,0	1035,7	1035,8	1036,0	1036,1	1036,2	1036,4	1036,5	1036,6	1036,7	1036,9	1037,0
1037,5	1036,2	1036,3	1036,5	1036,6	1036,7	1036,9	1037,0	1037,1	1037,2	1037,4	1037,5
1038,0	1036,7	1036,8	1037,0	1037,1	1037,2	1037,4	1037,5	1037,6	1037,7	1037,9	1038,0

Продолжение

Плотность молока $\rho_{\text{ср}}^t$, кг/м ³	Плотность, приведенная к 20 °С, кг/м ³ , при температуре молока t , °С									
	20,5	21,0	21,5	22,0	22,5	23,0	23,5	24,0	24,5	25,0
1028,0	1028,1	1028,3	1028,4	1028,5	1028,7	1028,8	1028,9	1029,0	1029,2	1029,3
1028,5	1028,6	1028,8	1028,9	1029,0	1029,2	1029,3	1029,4	1029,5	1029,7	1029,8
1029,0	1029,1	1029,3	1029,4	1029,5	1029,7	1029,8	1029,9	1030,0	1030,2	1030,3
1029,5	1029,6	1029,8	1029,9	1030,0	1030,2	1030,3	1030,4	1030,5	1030,7	1030,8
1030,0	1030,1	1030,3	1030,4	1030,5	1030,7	1030,8	1030,9	1031,0	1031,2	1031,3
1030,5	1030,6	1030,8	1030,9	1031,0	1031,2	1031,3	1031,4	1031,5	1031,7	1031,8
1031,0	1031,1	1031,3	1031,4	1031,5	1031,7	1031,8	1031,9	1032,0	1032,2	1032,3
1031,5	1031,6	1031,8	1031,9	1032,0	1032,2	1032,3	1032,4	1032,5	1032,7	1032,8
1032,0	1032,1	1032,3	1032,4	1032,5	1032,7	1032,8	1032,9	1033,0	1033,2	1033,3
1032,5	1032,6	1032,8	1032,9	1033,0	1033,2	1033,3	1033,4	1033,5	1033,7	1033,8
1033,0	1033,1	1033,3	1033,4	1033,5	1033,7	1033,8	1033,9	1034,0	1034,2	1034,3
1033,5	1033,6	1033,8	1033,9	1034,0	1034,2	1034,3	1034,4	1034,5	1034,7	1034,8
1034,0	1034,1	1034,3	1034,4	1034,5	1034,7	1034,8	1034,9	1035,0	1035,2	1035,3
1034,5	1034,6	1034,8	1034,9	1035,0	1035,2	1035,3	1035,4	1035,5	1035,7	1035,8
1035,0	1035,1	1035,3	1035,4	1035,5	1035,7	1035,8	1035,9	1036,0	1036,2	1036,3
1035,5	1035,6	1035,8	1035,9	1036,0	1036,2	1036,3	1036,4	1036,5	1036,7	1036,8
1036,0	1036,1	1036,3	1036,4	1036,5	1036,7	1036,8	1036,9	1037,0	1037,2	1037,3
1036,5	1036,6	1036,8	1036,9	1037,0	1037,2	1037,3	1037,4	1037,5	1037,7	1037,8
1037,0	1037,1	1037,3	1037,4	1037,5	1037,7	1037,8	1037,9	1038,0	1038,2	1038,3
1037,5	1037,6	1037,8	1037,9	1038,0	1038,2	1038,3	1038,4	1038,5	1038,7	1038,8
1038,0	1038,1	1038,3	1038,4	1038,5	1038,7	1038,8	1038,9	1039,0	1039,2	1039,3

Таблица 1.9 – Таблица поправок для определения фактической плотности сырого коровьего молока в диапазоне температур 10-15 °С

Температура молока <i>t</i> при измере- нии плотно- сти, °С	Значение величины поправки, кг/м ³ , при температуре заготавливаемого молока, °С									
	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0	13,5	14,0	14,5
15,0	1,6	1,4	1,3	1,1	1,0	0,8	0,6	0,5	0,3	0,2
15,5	1,8	1,6	1,4	1,3	1,1	1,0	0,8	0,6	0,5	0,3
16,0	1,9	1,8	1,6	1,4	1,3	1,1	1,0	0,8	0,6	0,5
16,5	2,1	1,9	1,8	1,6	1,4	1,3	1,1	1,0	0,8	0,6
17,0	2,2	2,1	1,9	1,8	1,6	1,4	1,3	1,1	1,0	0,8
17,5	2,4	2,2	2,1	1,9	1,8	1,6	1,4	1,3	1,1	1,0
18,0	2,6	2,4	2,2	2,1	1,9	1,8	1,6	1,4	1,3	1,1
18,5	2,7	2,6	2,4	2,2	2,1	1,9	1,8	1,6	1,4	1,3
19,0	2,9	2,7	2,6	2,4	2,2	2,1	1,9	1,8	1,6	1,4
19,5	3,0	2,9	2,7	2,6	2,4	2,2	2,1	1,9	1,8	1,6
20,0	3,2	3,0	2,9	2,7	2,6	2,4	2,2	2,1	1,9	1,8
20,5	3,4	3,2	3,0	2,9	2,7	2,6	2,4	2,2	2,1	1,9
21,0	3,5	3,4	3,2	3,0	2,9	2,7	2,6	2,4	2,2	2,1
21,5	3,7	3,5	3,4	3,2	3,0	2,9	2,7	2,6	2,4	2,2
22,0	3,8	3,7	3,5	3,4	3,2	3,0	2,9	2,7	2,6	2,4
22,5	4,0	3,8	3,7	3,5	3,4	3,2	3,0	2,9	2,7	2,6
23,0	4,2	4,0	3,8	3,7	3,5	3,4	3,2	3,0	2,9	2,7
23,5	4,3	4,2	4,0	3,8	3,7	3,5	3,4	3,2	3,0	2,9
24,0	4,5	4,3	4,2	4,0	3,8	3,7	3,5	3,4	3,2	3,0
24,5	4,6	4,5	4,3	4,2	4,0	3,8	3,7	3,5	3,4	3,2
25,0	4,8	4,6	4,5	4,3	4,2	4,0	3,8	3,7	3,5	3,4

Таблица 1.10 – Таблица поправок для определения фактической плотности обезжиренного молока в диапазоне температур 10-15 °С

Температура молока t при измере- нии плотно- сти, °С	Значение величины поправки, кг/м ³ , при температуре молока, °С									
	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0	13,5	14,0	14,5
15,0	1,3	1,2	1,1	1,0	0,8	0,7	0,6	0,4	0,3	0,1
15,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,8	0,7	0,6	0,4	0,3
16,0	1,6	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,8	0,7	0,6	0,4
16,5	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,8	0,7	0,6
17,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,8	0,7
17,5	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,8
18,0	2,1	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0
18,5	2,2	2,1	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2	1,1
19,0	2,3	2,2	2,1	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,3	1,2
19,5	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,3
20,0	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4
20,5	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0	1,8	1,7	1,6
21,0	2,9	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0	1,8	1,7
21,5	3,0	2,9	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0	1,8
22,0	3,1	3,0	2,9	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0
22,5	3,3	3,1	3,0	2,9	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1
23,0	3,4	3,3	3,1	3,0	2,9	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2
23,5	3,5	3,4	3,3	3,1	3,0	2,9	2,7	2,6	2,5	2,3
24,0	3,6	3,5	3,4	3,3	3,1	3,0	2,9	2,7	2,6	2,5
24,5	3,8	3,6	3,5	3,4	3,3	3,1	3,0	2,9	2,7	2,6
25,0	3,9	3,8	3,6	3,5	3,4	3,3	3,1	3,0	2,9	2,7

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. *Вода в пищевых продуктах. Классификация видов связи воды с продуктом.*
2. *Активность воды: понятие, значение для микроорганизмов, метод определения.*
3. *Методы определения содержания воды в пищевых продуктах.*
4. *Сущность метода определения массовой доли влаги высушиванием в сушильном шкафу.*

5. *Сущность метода определения массовой доли влаги экспресс-методом на приборе ВЧ конструкции К.Н. Чижовой.*

6. *Прямые методы определения влаги путем отгонки.*

7. *Химические и физические методы определения влаги и сухого остатка.*

8. *Определение содержания сухих веществ по плотности.*

9. *Сущность метода определения массовой доли влаги и сухих веществ рефрактометрическим методом.*

10. *Сущность метода определения плотности пищевых продуктов ареометрическим и пикнометрическим методами.*

Лабораторная работа № 2

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВЫХ И НЕБЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД

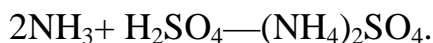
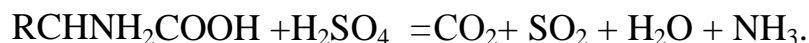
Цель работы: формирование умений и навыков для определения белковых и небелковых веществ в пищевых продуктах.

Задание по лабораторной работе:

1. Освоить методику определения массовой доли белка по методу Кьельдаля.
2. Освоить методику определения белка биуретовым методом.
3. Освоить методику определения белка рефрактометрическим методом.
4. Освоить методику определения белка формольным титрованием.
5. Проанализировать содержание продуктов гидролиза белков и пептидов в мышечной ткани формольным титрованием.

2.1. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА МЕТОДОМ КЬЕЛЬДАЛЯ

Метод основан на минерализации навески продукта при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов. При этом углерод и водород органических соединений окисляются до диоксида углерода и воды, азот, освобождаемый в виде аммиака, соединяется в колбе с серной кислотой, образуя сульфат аммония. Схематично происходящие реакции могут быть представлены следующим образом:



На последующей стадии дистилляции раствор сульфата аммония обрабатывают концентрированным раствором гидроксида натрия, при этом аммиак освобождается и улавливается титрованным раствором серной кислоты. Избыток серной кислоты оттитровывают раствором гидроксида натрия. Метод Кьельдаля применяют в нескольких модификациях, отличающихся в основном

условиями минерализации. Для ускорения процесса вводят различные катализаторы: оксид меди, селен, свинец и другие, повышают температуру кипения серной кислоты добавлением солей, сульфата калия или натрия, сочетают добавление катализатора и солей при сжигании навески.

Методом Кьельдаля в любой модификации определяется количество общего азота. Массовая доля белка вычисляется умножением полученной величины общего азота на переводной коэффициент 6,25, исходя из того, что в белках в среднем содержится 16 % азота. Условность полученных результатов при таком пересчете очевидна, так как не весь азот пищевого продукта находится в форме белка и, кроме того, процентное содержание азота в белках подвержено колебаниям как в сторону повышения, так и в сторону понижения от 16 %. В некоторых продуктах азотистые вещества небелкового характера достигают значительных количеств (мышечная ткань рыбы – 15 %, мясо животных – 10–16 % от общего количества азотистых веществ).

Следовательно, для получения более точных результатов необходимо либо при пересчете общего азота на белок использовать различные коэффициенты в зависимости от процентного содержания азота в белках отдельных продуктов: мясо и овощи – 6,25; пшеница, рожь, горох и др. – 5,7; гречиха, рис – 6,0; молоко – 6,37 и т. д., либо белковый азот определять отдельно специальными методами.

2.1.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО АЗОТА ПО КЬЕЛЬДАЛЮ

В кварцевую пробирку помещают 1 г тонко измельченной пробы. Во избежание потерь вещества на стенках горлышка колбы удобно пользоваться закрытыми с одного конца трубочками из чистой фильтровальной бумаги (не содержащей азотистых веществ). Для сжигания навески в колбу вливают 15 мл концентрированной серной кислоты и добавляют таблетку катализатора. Осторожно круговыми движениями перемешивают содержимое пробирки. Затем вносят в пробирку 20 см³ перекиси водорода, не допуская вспенивания.

Пробирки помещаются в блок озоления, в дальнейшем в печь, которая снабжена числовым дисплеем, датчиком контроля температуры и инфракрасным нагревателем. Возможность проведения озоления параллельно шести образцов. Нагрев печи происходит постепенно в три этапа, достигая максимальной температуры горения 450 °С. Процесс занимает примерно 1,5 часа. Аппарат должен находиться под вытяжкой, либо оборудоваться устройством для отвода рабочих паров с их нейтрализацией концентрированными растворами или сильными щелочами (например скруббер). Пары триоксида серы являются сильно агрессивными для слизистых оболочек даже при низких концентрациях.

По окончании минерализации пробирки оставляют остывать. Когда пробирки остыли, добавляют 20 мл не содержащей аммония дистиллированной воды и встряхивают пробирки.

В это время запускают аппарат отгонки и проводят холостой опыт. В пустую пробирку для минерализации вносят 20 мл воды, а в 250 мл колбу для сбора дистиллята добавляют 25 мл 4 % раствора борной кислоты и 10 капель раствора двойного индикатора. В пробирку для минерализации автоматически добавляется гидроксид натрия для нейтрализации и выщелачивания от (50 до 100 мл) образца, а также дистиллированную воду для разбавления (обычно 50 мл). Конец силиконовой трубки из конденсирующего устройства должен быть опущен ниже поверхности раствора борной кислоты во избежание потерь аммония. Обычно собирают 100 мл конденсата. Данный цикл проходит в течение 5 минут. Содержимое конической колбы титруют раствором соляной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм³ до изменения цвета.

После проведения холостого опыта проводят ту же самую процедуру с опытными пробирками. Холодную пробирку для минерализации и коническую колбу с борной кислотой и индикатором помещают в нужные позиции в паровом дистилляторе и начинают процесс отгонки. В процессе дистилляции цвет двойного индикатора изменяется с фиолетового на зеленый.

Содержимое конической колбы титруют раствором соляной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм³ до изменения цвета индикатора обратно в фиолетовый.

Массовую долю белка X в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{1,4 \cdot N(V_1 - V_0) \cdot 6,38}{m},$$

где 1,4 – количество азота, эквивалентное 1 см³ раствора соляной кислоты с молярной концентрацией с (HCl)=0,1 моль/дм³, мг/см³;

N – коэффициент, численно равный величине молярной концентрации раствора соляной кислоты, выраженный мг/см³;

V₁ – объем раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование дистиллята в основном анализе, см³;

V₀ – объем раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование дистиллята в контрольном анализе, см³;

6,38 – коэффициент пересчета массовой доли общего азота на массовую долю общего белка; m – масса молока, взятая на анализ, г.

За окончательный результат испытания при анализе по Кьельдалю принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать 0,03 %.

2.1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕБЕЛКОВОГО АЗОТА С ОТДЕЛЕНИЕМ БЕЛКОВ ТРИХЛОРУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

Трихлоруксусная кислота, по сравнению с другими осадителями белков, оставляет в растворе наибольшее количество продуктов распада, осаждая одновременно с белками лишь часть пептонов.

Проведение анализа: 50 г используемой пробы растирают в ступке с 100-150 мл воды, переносят в мерную колбу с пришлифованной стеклянной пробкой и доводят объем смеси водой до 250 мл. Смесь взбалтывают в течение 1 часа. Полученную взвесь фильтруют сначала через 2 слоя марли, а затем через сложенную вчетверо марлю. Отбирают 100 мл фильтрата в колбу емкостью

250 мл и приливают небольшими порциями при взбалтывании 25 мл 20%-го раствора трихлоруксусной кислоты. После получасового стояния жидкость фильтруют через сухой складчатый фильтр. В 5 или 10 мл фильтрата (в зависимости от ожидаемого содержания небелкового азота в продукте) определяют азот по способу, описанному в п. 3.1.1. При подсчете результатов учитывают разведение навески по ходу определения.

2.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

Специфической реакцией на содержание белка является биуретовая реакция, так как ее дают полипептидные связи. Она получила свое название от производного мочевины — биурета, который образует в щелочном растворе медного купороса окрашенное комплексное соединение. Интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию пептидных связей, а, следовательно, и концентрации белка в растворе.

Биуретовую реакцию дают все белки, пептоны и полипептиды, начиная с тетрапептидов. Эта реакция длительное время использовалась как качественная реакция на белок. В дальнейшем она стала применяться для количественного определения белка в различных объектах. Биуретовый метод применяют в различных модификациях, различающихся условиями экстрагирования белка, способами внесения биуретового реактива и техникой колориметрирования.

Ниже приводится биуретовый метод определения массовой доли белка в муке в модификации Дженнингса, экспериментальная проверка которого выявила ряд его преимуществ перед другими модификациями.

Биуретовый реактив – 15 см³ 10 н. раствора КОН и 25 г сегнетовой соли, взятой с погрешностью $\pm 0,01$ г, растворяют примерно в 900 см³ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см³. Медленно добавляют при постоянном перемешивании 30 см³ 4 %-го раствора CuSO₄, отмеренных цилиндром, и доводят объем колбы до метки дистиллированной водой.

Техника определения

Взвешивают около 1,5 г муки с погрешностью $\pm 0,001$ г и помещают в сухую коническую колбу вместимостью 250-300 см³, снабженную пробкой. Отмеривают цилиндром с ценой деления 0,1 см³ под тягой 2 см³ четыреххлористого углерода для извлечения жира из образца, добавляют пипеткой 100 см³ биуретового реактива. Закрытую пробкой колбу встряхивают на механическом встряхивателе в течение 60 мин. Далее вытяжку центрифугируют в течение 10 мин при частоте вращения 4500 мин⁻¹. Прозрачный центрифугат помещают в кюветы фотоэлектроколориметра с толщиной слоя раствора 5 мм. Измерение оптической плотности производят при длине волны 550 нм.

По величине оптической плотности белковой вытяжки определяют содержание белка в навеске (мг) с помощью калибровочной кривой (рис. 2.1). Рассчитывают массовую долю белка (в %) на сухие вещества муки.

Запись в лабораторном журнале

Масса муки (m).....г

Величина оптической плотности (D)

Содержание белка в навеске муки

(по калибровочной кривой) (n/1000).....г

Массовая доля белка в муке (M₁)..... %

Массовая доля белка в 100 г сухих веществ (M)....%

Заключение

Построение калибровочной кривой – для построения калибровочной кривой подбирают образцы муки с различной массовой долей белка в диапазоне, встречающемся в реальных условиях (от 8 до 20 %). Интервал в содержании белка образцов должен находиться в пределах не более 1%. Количество образцов не должно быть менее 10. С увеличением их числа точность определений возрастает.

Затем приведенным выше методом Дженнингса определяют оптическую плотность белковых вытяжек всех образцов.

При построении кривой на оси абсцисс откладывают величины оптической плотности, а на оси ординат – содержание белка в навеске в мг.

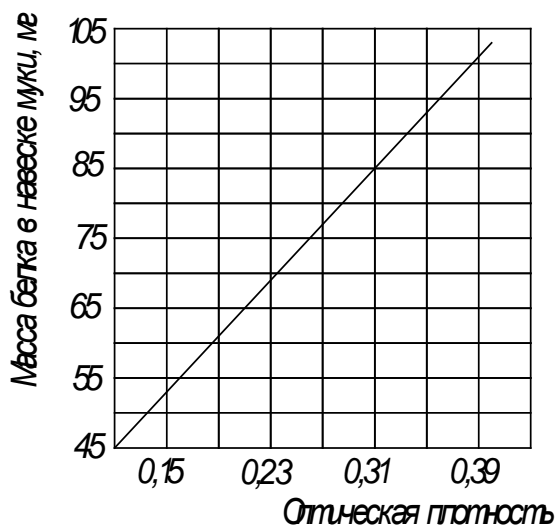


Рисунок 2.1 - Калибровочная кривая (биуретовый метод)

2.3. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Метод основан на установлении разности показателей преломления исследуемого вещества и раствора, полученного после осаждения белков раствором хлористого кальция при кипячении.

Техника определения

Отмеривают пипеткой 5 мл исследуемого вещества (молока) в пробирку, добавляют 5-6 капель 4 %-го раствора хлористого кальция. Пробирку закрывают пробкой, содержимое перемешивают путем переворачивания пробирок и помещают в баню с кипящей водой на 10 мин. Затем содержимое фильтруют через складчатый фильтр. В прозрачном фильтрате, а также в исходном молоке определяют на рефрактометре показатель преломления при 20 °С. Содержание белка в молоке (в %) рассчитывают по формуле

$$a = \frac{n_{D_m}^{20} - n_{D_c}^{20}}{0,002045},$$

где а – содержание белка, %;

$n_{D_M}^{20}$ – показатель преломления молока при 20 °С;

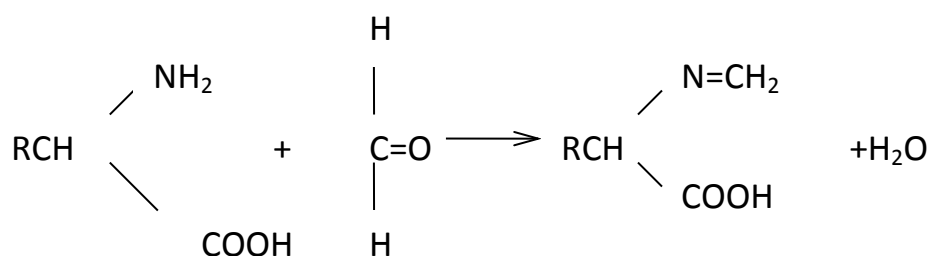
$n_{D_c}^{20}$ – показатель преломления фильтрата при 20 °С;

0,002045 – коэффициент, позволяющий выразить полученную разность показателей преломления, % от общего белка.

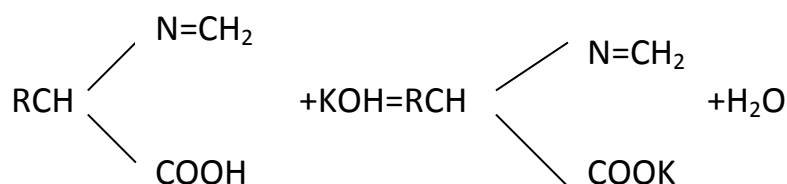
2.4. МЕТОД ФОРМОЛЬНОГО ТИТРОВАНИЯ

Сущность реакции формалина на белок заключается в том, что альдегидная группа формалина взаимодействует с аминогруппой белка, которая теряет свои основные свойства, в связи с чем кислые свойства белка усиливаются. Количество титруемых карбоксильных групп будет эквивалентно количеству связанных формальдегидом аминных групп.

Схематично эти реакции могут быть представлены в следующем виде:



Образующаяся в этой реакции метиленаминокислота является сильной кислотой. Процесс титрования этой является сильной кислотой. Процесс титрования этой кислоты щелочью протекает таким образом:



Техника определения

Отмеривают пипеткой 10 мл исследуемого молока и вносят его в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10-12 капель 1 %-го спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором NaOH до слабо-розового окрашивания, не исчезающего при взбалтывании. После этого в колбу прили-

вают из бюретки 2 мл 30-40 %-го раствора формалина, нейтрализованного щелочью до слабо-розового окрашивания по фенолфталеину.

Содержимое колбы взбалтывают, молоко обесцвечивается, записывают показание бюретки и продолжают титрование до окраски жидкости, соответствующей окраске молока до прибавления формалина.

Показания бюретки вновь записывают и устанавливают количество миллилитров щелочи, пошедшее на второе титрование. Затем рассчитывают содержание белка в молоке.

V_1 – количество 0,1 н. раствора NaOH, израсходованное до прибавления формалина, мл;

V_2 – общее количество 0,1 н. раствора NaOH, израсходованное после прибавления формалина, мл;

$(V_2 - V_1)$ – количество 0,1 н. раствора NaOH, пошедшее на нейтрализацию карбоксильных групп, мл;

$(V_2 - V_1) \cdot 1,92$ – общее количество белка в молоке, %;

$(V_2 - V_1) \cdot 1,51$ – содержание казеина в молоке, %.

Примечание. 1,92 и 1,51 – экспериментально установленные коэффициенты для пересчета оттитрованных карбоксильных групп на процентное содержание белка в молоке.

2.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ФОРМОЛЬНЫМ ТИТРОВАНИЕМ

На стадии глубокого автолиза ферментативный процесс созревания при высоких температурах хранения после достижения мясом полной зрелости может пойти так глубоко, что значительно увеличивается количество аминоамиачного азота и других продуктов распада белков. При этом активизируются ферменты мышечной ткани – катепсины и пептидазы, которые катализируют разрыв пептидных связей белковых полипептидных частиц. При разрушении пептидных связей в белках освобождаются карбоксильные и аминокислотные группы и про-

исходит дезаминирование аминокислот, что приводит к увеличению количества азота аминогрупп и аммиака (аминоаммиачного азота).

Метод аминоаммиачного азота основан на связывании аминогрупп и аммиака формальдегидом и титровании щелочью карбоксильных групп, количество которых эквивалентно азоту аминогрупп и аммиака.

Работа выполняется фронтальным методом тремя группами студентов, которые исследуют мышечную ткань различных сроков и условий хранения. В конце работы сопоставляются полученные результаты и делается вывод о закономерностях накопления низкомолекулярных продуктов гидролиза белков и пептидов на различных стадиях автолиза. Каждой группой студентов выполняется не менее трех параллельных определений.

Техника определения

Приготовление исследуемых экстрактов выполняется всеми группами студентов следующим образом: навески предварительно измельченной мышечной ткани массой $(10,00 \pm 0,02)$ г растирают в ступках с 5-10 мл дистиллированной воды и кварцевым песком. Смесь количественно переносят в мерные колбы с помощью воронок и стеклянных палочек. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой. Тщательно перемешивают и фильтруют экстракт в сухие мерные колбы и снова доводят до метки водой. Полученный экстракт хранят не более семи дней при температуре (4 ± 1) °С и используют для дальнейших определений низкомолекулярных продуктов гидролиза белков и пептидов.

Для опыта отбирают пипеткой по 20 мл образца фильтрата в конические колбы и приливают с помощью цилиндра 20 мл рабочего раствора формольной смеси. Затем из пипетки добавляют раствор гидроксида натрия 0,2М концентрации до появления ярко-розового окрашивания исследуемого раствора.

Одновременно с тремя исследуемыми образцами проводят контрольное титрование. Для этого отбирают пипеткой 20 мл прокипяченной (свободной от CO_2) и охлажденной до комнатной температуры дистиллированной воды, приливают 10 мл рабочего раствора формольной смеси и титруют 0,2М раствором гидроксида натрия до появления ярко-розовой окраски контрольного раствора.

Объем раствора гидроксида натрия фиксируют. Затем оттитровывают избыток NaOH 0,2М раствором HCl.

Расчеты производят по формуле:

$$A = \frac{(V-V_K) \cdot 2,8 \cdot V_э}{V_a \cdot m_{нав}} \cdot 100,$$

где A – содержание низкомолекулярных продуктов гидролиза белков и пептидов;

V – объем 0,2М раствора гидроксида натрия, добавленного к исследуемому раствору, мл;

V_K – объем 0,2М раствора NaOH, добавленного к контрольному образцу, мл;

V_э – объем экстракта, мл;

V_a – аликвотный объем пробы экстракта, мл;

m_{нав} – масса навески мышечной ткани, г;

2,8 – масса амминого азота, соответствующая 1 мл 0,2М раствора NaOH, мг.

Результаты эксперимента заносят в таблицу.

Вид мышечной ткани	m _{нав} , г	V _э , мл	№ пробы	V _a , мл	V _K , мл	V, мл	V _{HCl} , мл конр	V-V _K , мл	A, мг/100г	\bar{A}
		100	1	20						
			2	20						
			3	20						

Производят расчет погрешности определений для мяса различного вида и срока хранения.

Математическая обработка результатов измерений

1. Рассчитать среднее арифметическое значение содержания продуктов гидролиза белков и пептидов \bar{A} в исследуемых образцах мышечной ткани

$$\bar{A} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n A_i,$$

где n – число измерений.

2. В формулу для вычисления относительной погрешности измерения содержания продуктов гидролиза подставляют относительные погрешности измерения содержания продуктов гидролиза, относительные погрешности всех измеряемых величин и находят суммарную относительную погрешность

$$\varepsilon_A = \sqrt{\left(\frac{\Delta V_1}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_2}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_3}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_4}{V_4}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_5}{V_5}\right)^2 + \left(\frac{\Delta m_{\text{нав}}}{m_{\text{нав}}}\right)^2},$$

где ΔV_1 - погрешность разбавления фильтрата в мерной колбе ($\Delta V_1 = 1$ мл);

ΔV_2 - погрешность измерения объема образца фильтрата пипеткой ($\Delta V_2 = 0,02$ мл); ΔV_3 - погрешность измерения объема формольной смеси мерным цилиндром ($\Delta V_3 = 0,05$ мл); ΔV_4 - погрешность измерения объема раствора NaOH градуированной пипеткой ($\Delta V_4 = 0,01$ мл);

ΔV_5 - погрешность измерения объема раствора HCl градуированной пипеткой ($\Delta V_5 = 0,01$ мл);

$\Delta m_{\text{нав}}$ - погрешность взвешивания навески образца мышечной ткани ($\Delta m_{\text{нав}} = 0,02$ г).

3. Рассчитать абсолютную погрешность измерения содержания продуктов гидролиза белков и пептидов в мышечной ткани

$$\Delta_{\bar{A}} = \bar{A} * \varepsilon_A$$

4. Округлить результат определения содержания продуктов гидролиза белков и пептидов в мышечной ткани \bar{A} в соответствии с полученной величиной $\Delta_{\bar{A}}$.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. *Белки: общая характеристика и их содержание в пищевых продуктах.*
2. *Методы определения белковых веществ в пищевых продуктах: качественные реакции.*
3. *Методы определения белковых веществ в пищевых продуктах: количественные методы.*
4. *Определение биологической ценности белков.*
5. *Сущность метода определения массовой доли белка биуретовым методом.*
6. *Сущность метода определения белка рефрактометрическим методом.*
7. *Сущность метода определения белка формольным титрованием.*
8. *Сущность метода определения содержания аминокислотного азота.*

Лабораторная работа № 3
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОЙ, ОБЩЕЙ КИСЛОТНОСТИ,
ЩЕЛОЧНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ.

Цель работы: формирование умений и навыков определения активной и общей кислотности, щелочности пищевых продуктов, органических кислот с применением различных методов.

Задание по лабораторной работе:

1. Ознакомиться с методиками определения активной и общей (титруемой) кислотности пищевых продуктов.
2. Ознакомиться с методикой определения щелочности мучных кондитерских изделий.
3. Ознакомиться с методикой определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах.

**3.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ
ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ ИНДИКАТОРНОЙ БУМАГИ**

Приближенные значения рН растворов могут быть определены при помощи индикаторной бумаги. В аналитической практике используется универсальная лакмусовая бумага.

Полоски универсальной индикаторной бумаги изменяют свою окраску при разных значениях рН от 1 до 14. Для установления величины рН растворов по окраске бумаги служит шкала, прилагаемая к фасовке индикаторной бумаги: каждому значению рН соответствует определенный цвет эталона. Использование индикаторной бумаги позволяет с точностью до единицы установить значение рН.

Проведение анализа. Каплей исследуемого раствора смачивают полоску индикаторной бумаги и, сравнивая образовавшуюся окраску с цветной шкалой, определяют величину рН. Точность метода не выше $\pm 0,5$ единицы рН.

3.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Метод определения рН для продуктов основан на измерении электродвижущей силы электрода, погруженного в испытуемый раствор, величина, которой зависит от концентрации водородных ионов.

Проведение анализа. Перед началом определения предварительно проверяют точность измерения прибора по какому-либо буферному раствору с известным значением рН: для этого в сосуд прибора наливают буферный раствор и помещают в сосуд таким образом, чтобы их концы целиком находились в растворе.

Стрелка шкалы прибора должна показать значение рН применяемого буферного раствора. В противном случае при помощи калибровочного переключателя указанную стрелку точно устанавливают на то деление шкалы, которое отвечает величине рН буферного раствора.

Буферный раствор вынимают и концы электродов тщательно промывают дистиллированной водой.

При проверке точности рН-метра рекомендуется применять буферный раствор с рН, близким к рН исследуемого раствора.

Перед измерением концы электродов тщательно промывают дистиллированной водой. Для проведения испытания из тщательно подготовленной средней пробы берут в стаканчик или фарфоровую чашку навеску 20 г и без потерь переносят, смывая горячей дистиллированной водой через воронку в мерную колбу вместимостью 250 мл, колбу долить дистиллированной водой температурой 80⁰С до $\frac{3}{4}$ её объема. Колбу хорошо встряхивают и оставляют стоять на 30 мин, время от времени встряхивая. Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, доливают дистиллированной водой до метки, закрыв пробкой, хорошо перемешивают. Жидкость фильтруют через сухой складчатый фильтр или вату в сухой стакан. Для определения активной кислотности жидких продуктов (соки, рассолы и т.п.) рН определяют непосредственно в исследуемом растворе.

В сосуд проверяемого прибора наливают исследуемый раствор, помещают в него концы электродов, включают прибор и снимают показания по шкале рН-метра.

Измерение рН повторяют 2-3 раза, каждый раз вынимая электроды из раствора, и при измерении вновь погружая их в раствор.

Значение рН выражают как среднее арифметическое этих определений. Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 0,1 единицы рН.

3.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ (ТИТРУЕМОЙ) КИСЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Кислотность обуславливает вкусовые свойства продуктов и является показателем их свежести и доброкачественности. *Титруемой кислотностью* называют количество свободных органических кислот и их кислых солей, содержащихся в исследуемом продукте.

Метод определения титруемой кислотности основан на нейтрализации водных вытяжек, извлеченных из навесок исследуемого продукта раствором щелочи. Окончание процесса нейтрализации определяют по изменению окраски внесенного индикатора. В качестве индикатора наиболее часто применяют 1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина, в этом случае титрование вытяжки ведут 0,1 н. раствором едкого натрия до устойчивого слабо-розового окрашивания.

3.3.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ КИСЛОТНОСТИ РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ

Проведение анализа. Измельченную навеску 25 г из средней пробы взвешивают на технических весах в стаканчике и без потерь переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³ горячей дистиллированной водой (80 °С) до 3/4 объема колбы. Содержимое колбы хорошо перемешивают и помещают на 0,5 ч на водяную баню, нагретую до 80-85 °С, периодически встряхивая колбу. По истечении времени настаивания содержимое колбы охлаждают до комнатной

температуры, доводят до метки и, закрыв пробкой колбу, тщательно перемешивают. Полученную вытяжку фильтруют через складчатый фильтр, отбирают 50 см³ фильтрата пипеткой в коническую колбу, добавляют индикатор и титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³. При бесцветных или слабоокрашенных фильтратах используют 1%-й спиртовой раствор фенолфталеина (3-5 капель). Сильно окрашенные вытяжки разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:1 и титруют в присутствии фенолфталеина не до розового окрашивания, а до изменения цвета вытяжки. При использовании 0,1 %-го спиртового раствора тимолфталеина (10 капель) конец титрования устанавливают по появлению синей окраски, не исчезающей в течение одной минуты.

Титруемую кислотность (в %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \times K \times K_T \times V_1 \times 100}{M \times V_2},$$

где V – количество раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³, пошедшего на титрование, см³;

K – коэффициент пересчета на соответствующую кислоту: яблочную – 0,0067; лимонную – 0,0064; винную – 0,0075;

K_T – поправка титру раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³;

V₁ – объем вытяжки из продукта в мерной колбе, см³;

V₂ – количество фильтрата, взятого для титрования, см³;

M – масса навески продукта для анализа, г.

Результаты проведенных исследований представить в виде таблицы 3.1.

Таблица 3.1 – Общая кислотность рыбных продуктов

Наименование продукта	Общая кислотность, %	Требования ГОСТ

На основании данных, представленных в таблице, сделать вывод о зависимости общей кислотности от способа приготовления рыбных продуктов.

3.3.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ КИСЛОТНОСТИ ХЛЕБА

Проведение анализа. Взвешивают 25,0 г хлебной крошки. Навеску помещают в сухую бутылку (типа молочной) вместимостью 500 см³, с хорошо пригнанной пробкой.

Мерную колбу вместимостью 250 см³ наполняют до метки дистиллированной водой, подогретой до температуры 60 °С. Около ¼ взятой дистиллированной воды переливают в бутылку с крошкой, быстро растирают деревянной лопаточкой до получения однородной массы, без заметных комочков нерастертой крошки.

К полученной смеси прибавляют из мерной колбы всю оставшуюся дистиллированную воду. Бутылку закрывают пробкой и встряхивают в течение 3 мин.

После встряхивания дают смеси отстояться в течение 1 мин и отстоявшийся жидкий слой осторожно сливают в сухой стакан через частое сито или марлю. Из стакана отбирают пипеткой по 50 см³ раствора в две конические колбы вместимостью по 100 - 150 см³ каждая и титруют раствором молярной концентрации 0,1 моль/дм³ гидроксида натрия или калия с 2-3 каплями фенолфталеина до получения слабо-розового окрашивания, не исчезающего при спокойном стоянии колбы в течение 1 мин.

Титрование продолжают, если по истечении 1 мин окраска пропадает и не появляется от прибавления 2 - 3 капель фенолфталеина.

Правила обработки результатов анализа. Кислотность, град., вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \times V_1 \times a}{10m \times V_2} \times K,$$

где V - объем раствора молярной концентрации $0,1$ моль/дм³ гидроксида натрия или калия, израсходованного при титровании исследуемого раствора, см³;

V_1 - объем дистиллированной воды, взятой для извлечения кислот из исследуемой продукции, см³;

a - коэффициент пересчета на 100 г навески;

K - поправочный коэффициент приведения используемого раствора гидроксида натрия или калия к раствору точной молярной концентрации $0,1$ моль/дм³;

$1/10$ - коэффициент приведения раствора гидроксида натрия или калия молярной концентрации $0,1$ моль/дм³ к $1,0$ моль/дм³;

m - масса навески, г;

V_2 - объем исследуемого раствора, взятого для титрования, см³.

3.3.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ КИСЛОТНОСТИ МОЛОКА

Проведение анализа. Отмеривают пипеткой 10 см³ хорошо перемешанного молока в небольшой стаканчик или коническую колбу, прибавляют 20 см³ воды, 3 капли 1% -го спиртового раствора фенолфталеина и тщательно перемешивают. Колбу помешают на лист белой бумаги и для установления конца титрования рядом располагают эталон (10 см³ молока и 20 см³ воды с 1 см³ $2,5\%$ -го раствора сернокислого кобальта). Титруют молоко $0,1$ моль/дм³ раствором гидроксида натрия. Начиная титрование, приливают сразу около 1 см³ раствора гидроксида натрия, перемешивают, затем раствор гидроксида натрия добавляют медленно и в конце титрования по каплям, все время помешивая содержимое, до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего эталону и не исчезающего в течение 1 мин.

Количество раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию 10 см³ молока, умноженное на 10 , дает кислотность в градусах Тернера. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать ± 1 °Т.

3.3.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОГО ЧИСЛА РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА

Проведение измерения. В коническую колбу вместимостью 250 см взвешивают навеску массой 3...5 г с точностью до 0,01 г. Затем к навеске приливают 50 см³ спиртоэфирной или спиртохлороформной нейтрализованной смеси. Содержимое колбы перемешивают взбалтыванием. Если при этом масло не растворяется, его нагревают на водяной бане, нагретой до (50 ± 2) °С, затем охлаждают до 15...20 °С. К раствору добавляют несколько капель фенолфталеина. Полученный раствор масла при постоянном взбалтывании быстро титруют 0,1 н. раствором гидроксида калия или гидроксида натрия до получения слабо-розовой окраски, устойчивой в течение 30 с.

При титровании водным 0,1 н. раствором КОН или NaOH количество спирта, применяемого вместе с эфиром или хлороформом, во избежание гидролиза раствора мыла должно не менее чем в пять раз превышать количество израсходованного раствора гидроксида.

При кислотном числе масла свыше 6 мг КОН/г берут навеску масла массой 1...2 г с точностью до 0,01 г и растворяют ее в 40 см³ нейтрализованной смеси растворителей. При кислотном числе масла менее 4 мг КОН/г титрование ведут из микробюретки.

Кислотное число масла, мгКОН/г, вычисляют по формуле

$$X = 5,611 * V * K / m,$$

где 5,611 – масса 0,1н раствора КОН, мг; при использовании NaOH значение получают умножением расчетной массы NaOH в 1 см³ раствора 0,1н. (равной 4,0) на 1,4 - отношение молекулярных масс КОН и NaOH;

K – отношение действительной концентрации раствора гидроксида калия или гидроксида натрия к номинальной;

V – объем 0,1 н. раствора гидроксида калия или натрия, израсходованного на титрование, см³;

m – масса навески, г.

Вычисления ведут с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением результатов до первого десятичного знака.

Результаты проведенных исследований представить в виде таблицы 3.2.

Таблица 3.2 – Результаты определения кислотности продуктов

Наименование продукта	Кислотность	Требования ГОСТ
$X_{\text{хлеба}}$, град		
$X_{\text{молока}}$, °Т		
Растительное масло, мгКОН/г		

На основании результатов сделать вывод о соответствии требованиям нормативной документации.

3.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЩЕЛОЧНОСТИ МУЧНЫХ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Для разрыхления печенья применяют химические разрыхлители основного характера: карбонат аммония и гидрокарбонат натрия (NaHCO_3 , питьевая сода). При нагревании теста в печи эти вещества разлагаются с образованием продуктов CO_2 и NH_3 , которые и разрыхляют тесто. Образующаяся в результате реакции углекислая сода придает печенью щелочную реакцию:



Щелочность печенья выражают в градусах. Под *градусом щелочности* понимают количество cm^3 1 н. раствора серной кислоты, пошедшее на нейтрализацию щелочных веществ в 100 г печенья.

Для определения щелочности печенья ГОСТ предусматривает метод титрования, который основан на нейтрализации щелочных веществ, содержащихся в навеске, кислотой в присутствии бромтимолового синего до появления желтой окраски.

Проведение анализа. Навеску тонко измельченного печенья массой 25 г, взвешенного с точностью $\pm 0,01$ г, помещают в коническую колбу вместимостью 500 см³, приливают 250 см³ дистиллированной воды, энергично взбалтывают, закрывают колбу пробкой и оставляют на 30 мин, взбалтывая через каждые 10 мин. Затем содержимое колбы фильтруют через вату, фильтровальную бумагу или два слоя марли в сухую колбу. В коническую колбу вместимостью 200 см³ вносят пипеткой 50 см³ фильтрата, прибавляют 2-3 капли бромтимолового синего и титруют 0,1 н. раствором серной кислоты до появления желтого окрашивания.

Щелочность печенья, град., вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot V_2 \cdot 10}{V_1 \cdot g},$$

где V – количество 0,1 н. кислоты, пошедшее на титрование, мл;

V₁ – объем вытяжки, взятой на титрование, мл;

V₂ – общий объем водной вытяжки, мл;

g – навеска, г.

Результаты проведенных исследований представить в виде таблицы 3.3.

Таблица 3.3 – Результаты определения щелочности печенья

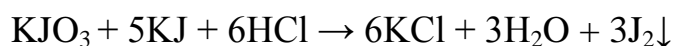
Наименование продукта	Щелочность	Требования ГОСТ

На основании результатов сделать вывод о соответствии требованиям нормативной документации.

3.5. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С

Определение количества аскорбиновой кислоты (витамина С) йодометрическим титрованием

Метод основан на том, что при взаимодействии йодида и йодада калия в кислой среде выделяется йод:



Образовавшийся йод окисляет аскорбиновую кислоту в дегидроаскорбиновую.

В качестве индикатора реакции используем раствор крахмала. Как только вся аскорбиновая кислота прореагирует с йодом, следующая его капля окрасит раствор крахмала в синий цвет.

Количественное определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в соках

Оборудование: Колбы конические на 100 мл, пипетка с меткой на 20 мл, мерный цилиндр на 100 мл, бюретка для титрования на 25 мл

Реактивы: йодид калия (KJ) 1 %-й раствор, крахмал 1 %-й раствор, соляная кислота 5 %-й раствор, йодат калия (KJO₃) 0,1н раствор.

Проведение определения. В три колбы на 100 мл отмерить по 0,5 мл 15%-го раствора йодида калия, 2 мл крахмала, 1 мл 5 %-го раствора соляной кислоты, затем добавить 20 мл исследуемого сока и провести титрование 0,1н раствором йодата калия до появления стойкого слабо-синего окрашивания. Для наблюдения за изменением окраски рядом с титруемым раствором поместить эталон – стакан с исследуемым соком.

Параллельно проверяют термостойкость витамина С.

Четыре пробы стандартного раствора аскорбиновой кислоты (0,001н) по 5 мл нагреть в конических колбах:

✓ пробу № 1 до 80 °С;

- ✓ пробу № 2 – до кипения;
- ✓ пробу № 3 – до кипения и кипятить в течение 10 мин;
- ✓ пробу № 4 – до кипения и кипятить в течение 30 мин

Затем колбы охладить, добавить по 0,5 мл 15 %-го раствора йодида калия, 2 мл крахмала, 1 мл 5 %-го раствора соляной кислоты и провести титрование 0,1 н раствором йодата калия до появления стойкого слабо-синего окрашивания.

Обработка результатов: На основании средней величины титрования, полученной из двух-трёх определений, рассчитать содержание аскорбиновой кислоты по формуле:

$$X=0,088 \cdot V \cdot 5,$$

где X – содержание витамина С в 20 мл исследуемого сока в мг %;

V – объём йодата калия, прошедшего на титрование, в мл;

0,088 – количество аскорбиновой кислоты в мг, соответствующее 1 мл 0,001 н раствора йодата калия;

5 – для перевода результатов в мг % (объём сока, взятого на исследование 20 мл умножить на 5, т.е. $20 \cdot 5 = 100$ мл).

Количественное определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в растительных объектах

Оборудование: колбы конические на 100 мл, пипетка с меткой на 10 мл, ступка фарфоровая с пестиком, бюретка для титрования на 25 мл, весы лабораторные электронные.

Реактивы: йод 0,003н раствор, крахмал 1 %-й раствор, соляная кислота 5%-й раствор.

Проведение определения. Взвесить 2 г исследуемого материала с записью до второго знака, натереть на терке и тщательно растереть в фарфоровой ступке с небольшим количеством измельчённого стекла, добавляя маленькими порциями 10 мл 5 %-го раствора соляной кислоты до получения однородной кашицы.

Хорошо перемешанную массу отфильтровать на стеклянной воронке через вату в коническую колбу на 100 мл. Массу на фильтре промыть несколькими каплями воды. В фильтрат прилить 1мл 1 %-го раствора крахмала и оттитровать рабочим раствором 0,003н йода до появления синего окрашивания.

Обработка результатов: На основании средней величины титрования, полученной из двух-трёх определений, определить содержание аскорбиновой кислоты по формуле

$$X = 0,264 \cdot V \cdot 100/m,$$

где 0,264 – количество аскорбиновой кислоты в мг, соответствующее 1мл 0,003н раствора йода;

V – количество 0,003н раствора йода, израсходованного на титрование, в мл;

m – количество вещества, взятое на анализ, в г;

100 – для пересчёта на 100 г исследуемого материала.

Методика определения содержания аскорбиновой кислоты (витамина С) (для окрашенных объектов).

Проведение определения. В мерную колбу на 100 мл вносят 1 мл исследуемого раствора и доводят водой до метки.

К 20 мл разведенного раствора добавляют 1 мл 2%-й HCl, 1 %-й раствор йодистого калия и 2 мл 0,5 %-го раствора крахмала. Смесь перемешивают и титруют из микробюретки свежеприготовленным 0,001 н. раствором йодата калия до устойчивого синего окрашивания. Параллельно ведут контрольное титрование (вместо 20 мл исследуемого раствора берут 20 мл воды).

Обработка результатов: Содержание аскорбиновой кислоты вычисляют по формуле

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

где X – содержание аскорбиновой кислоты, мг %;

C_1 – общий объем вытяжки, в мл (в данном случае объем разведенного исследуемого раствора, равный 100 мл);

C_2 – аликвота исследуемого раствора, взятая на титрование;

C_3 – количество миллилитров 0,001 н. раствора йодата калия, пошедшего на титрование опытного образца;

C_4 - количество миллилитров 0,001 н. раствора йодата калия, пошедшего на контрольное титрование;

H – навеска исследуемой пробы, г. В данном случае 1 мл исследуемого раствора соответствует 1 г.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. *Пищевые кислоты: общая характеристика и их содержание в пищевых продуктах.*

2. *Методы определения органических кислот в пищевых продуктах.*

3. *Активная кислотность. Сущность метода определения активной кислотности пищевых продуктов с помощью индикаторной бумаги и потенциометрическим методом.*

4. *Сущность метода определения общей (титруемой) кислотности пищевых продуктов (на примере молочных, хлебобулочных, рыбных продуктов, растительных масел).*

5. *Сущность метода определения щелочности мучных кондитерских изделий.*

6. *Методы определения аскорбиновой кислоты.*

Лабораторная работа № 4

ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СЫРЬЯ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И БАД

Цель работы: формирование умений и навыков применения физических и физико-химических методов анализа для оценки качества сырья, пищевых продуктов и БАД.

Задание по лабораторной работе:

1. Приобрести практический навык определения ВУС, ЖУС, ЭС и СЭ в мясных системах гравиметрическим и рефрактометрическим методом.
2. Приобрести практический навык определения способности мяса и мясного сырья связывать воду методами прессования и центрифугирования.

4.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ

Влагоудерживающая способность мясного фарша определяется как разность между массовой долей влаги в фарше и количеством влаги, отделившейся в процессе термической обработки, а *жироудерживающая способность* - как разность между массовой долей жира в фарше и количеством жира, отделившимся в процессе термической обработки.

Отношение объема эмульгированного масла к общему его объему 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.

Устойчивость фарша характеризуется количеством влаги и жира, связанных фаршевой эмульсией, и определяется отношением массы выделившегося в процессе тепловой обработки бульона и жира к массе фарша, взятого на исследование.

Возможность последовательного определения в одной навеске нескольких функциональных показателей (метод Р. М. Салаватулиной и др.) позволяет

снизить погрешность за счет неоднородности химического состава и лабильности свойств сырья. При этом определение и расчет устойчивости фаршевой эмульсии, ВУС и ЖУС по массе фактически связанных компонентов фаршевой эмульсии производится в условиях, максимально приближенных к производственным. Методика отличается простотой и высокой воспроизводимостью результатов.

Порядок проведения анализа. Навеску тщательно измельченного мяса массой 4-6 г равномерно наносят стеклянной палочкой на внутреннюю поверхность широкой части молочного жиромера. Его плотно закрывают пробкой и помещают узкой частью вниз на водяную баню при температуре кипения на 15 мин, после чего определяют массу выделившейся влаги по числу делений на шкале жиромера.

Влагоудерживающая способность мяса (%)

$$ВУС = В - ВВС,$$

влаговыделяющая способность мяса (%) $ВВС = anm^{-1} \cdot 100,$

где $В$ – общая массовая доля влаги в навеске, %;

a – цена деления жиромера; $a = 0,01 \text{ см}^3$;

n – число делений на шкале жиромера;

m – масса навески, г.

4.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ

Порядок проведения анализа. Предварительно рассчитывают ВВС по п. 4.1, находят массу мяса, оставшегося в жиромере, с точностью $\pm 0,0001$ г. Мясо помещают в бюкс и высушивают до постоянной массы при температуре $150 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 1,5 ч. После высушивания берут навеску массой $(2,0000 \pm 0,0002)$ г, помещают в фарфоровую ступку, куда добавляют 2,5 г $(1,6 \text{ см}^3)$ мелкого прокаленного песка и 6 г $(4,3 \text{ см}^3)$ α -монобромнафталина. Содержимое ступки тщательно растирают в течение 4 мин и фильтруют через складчатый бумажный фильтр.

Испытуемый раствор (3-4 капли) равномерно наносят стеклянной палочкой на нижнюю призму рефрактометра. Призмы закрывают, скрепляют винтом. Луч света направляют при помощи зеркала на призму рефрактометра, устанавливая зрительную трубу так, чтобы были отчетливо видны пересекающиеся нити (алиада). Алиаду передвигают до тех пор, пока граница между освещенной и темной частями не совпадет с точкой пересечения нитей, отсчитывают показатель преломления. Одновременно определяют показатель преломления α -монобромнафталина.

Определения повторяют несколько раз, используя при расчете средние данные.

Жиросодержащая способность мяса (%)

$$ЖУС = g_1 g_2 \cdot 100,$$

где g_1 - массовая доля жира в навеске после термообработки, %;

g_2 - то же, до термообработки, %.

Массовая доля жира в навеске (%)

$$g = [10^4 \alpha(n_1 - n_2)m_1]/m,$$

где α — коэффициент, характеризующий такое содержание жира в растворителе, которое изменяет показатель преломления на 0,0001 %;

n_1 и n_2 - показатели преломления соответственно чистого растворителя и испытуемого раствора;

m_1 - масса 4,3 см³ α -монобромнафталина, г;

m - масса навески, г.

Коэффициент α устанавливают опытным путем при сопоставлении результатов определения массовой доли жира методами Сокслета и рефрактометрическим.

$$\alpha = g_\phi / (10^4 \Delta n),$$

$$g_\phi = (m \cdot 100) / m_p,$$

где g_ϕ - массовая доля жира в фильтрате, %;

n - разность между показателями преломления чистого растворителя и испытуемого фильтрата;

m - масса жира в навеске, определенная в аппарате Сокслета, г;

m_p - масса навески растворителя, г.

Коэффициент α для некоторых продуктов приведен ниже.

Продукт	Коэффициент α
Мясной порошок	0,0470
Сосиски:	
свинные	0,0375
русские	0,0369
Колбаса ливерная	0,0394

4.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭМУЛЬГИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ ЭМУЛЬСИИ

Порядок проведения анализа. Навеску измельченного мяса массой 7 г суспензируют в 100 см³ воды в гомогенизаторе (или миксере) при частоте вращения 66,6 с⁻¹ в течение 60 с. Затем добавляют 100 см³ рафинированного подсолнечного масла и смесь эмульгируют в гомогенизаторе или миксере при частоте вращения 1500 с⁻¹ в течение 5 мин. После этого эмульсию разливают в 4 калиброванные центрифужные пробирки вместимостью по 50 см³ и центрифугируют при 500 с⁻¹ в течение 10 мин. Далее определяют объем эмульгированного масла.

Эмульгирующая способность (%)

$$ЭС = V_1 * 100 / V,$$

где V_1 - объем эмульгированного масла, см³;

V - общий объем масла, см³.

Стабильность эмульсии определяют путем 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 500 с⁻¹ в течение 5 мин. Далее определяют объем эмульгированного слоя.

$$CЭ = V_1 * 100 / V_2$$

где V_1 - объем эмульгированного масла, см³;

V_2 - общий объем эмульсии, см³.

4.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГО- И ЖИРОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЕЙ И УСТОЙЧИВОСТИ ФАРШЕВОЙ ЭМУЛЬСИИ В ОДНОЙ НАВЕСКЕ (МЕТОД Р. М. САЛАВАТУЛИНОЙ и др.)

Порядок проведения анализа. Образцы фарша массой 180-200 г, помещенные в герметично закрытые консервные банки № 3, взвешивают и подвергают тепловой обработке при режимах, соответствующих производственным (варка в водяной бане при температуре 78-80 °С в течение 1 ч, охлаждение в проточной воде до температуры 12-15 °С).

Затем консервные банки вскрывают, выделившийся бульон и скопившийся жир переносят в предварительно взвешенные алюминиевые бюксы. После удаления бульона и жира фарш промокают фильтровальной бумагой и взвешивают.

Бюксы с бульоном помещают в сушильный шкаф и сушат до постоянной массы при 103-105 °С. Определяют массовую долю влаги, выделившейся при тепловой обработке фарша и влагоудерживающую способность фарша.

Из бюксов с остатками бульона и жира экстрагируют жир 10-15 см³ растворителя (смесь хлороформа с этанолом в соотношении 1:2). Экстрагирование жира проводят в течение 3-4 мин с трех-четырёхкратной повторностью. Установив массовую долю оставшегося жира после тепловой обработки фарша, рассчитывают жироудерживающую способность.

Устойчивость фаршевой эмульсии (% к массе фарша)

$$УЭ = (m - m_{\delta 1}) \cdot 100 / m$$

$$УЭ = m_c \cdot 100 / m$$

$$m = m_{\delta n} - m_{\delta}$$

$$m_{\delta 1} = m - m_c$$

где m - масса навески фарша, г;

$m_{\delta 1}$ - масса всего отделившегося бульона с жиром, г;

m_c - масса сгустка фарша после термообработки, г;

$m_{\delta n}$ - масса герметизированной консервной банки с навеской фарша, г;

m_{δ} - масса консервной банки, г.

Влагоудерживающая способность (% к массе фарша)

$$ВУС = W - (m_{\delta 1} \cdot m_{\delta} / m_{\delta 2} \cdot m) \cdot 100,$$

где W - массовая доля влаги в фарше, %;

m_{δ} - масса в исследуемом бульоне, г;

$m_{\delta 2}$ - масса исследуемого бульона с жиром, г.

Жирудерживающая способность фарша (% к массе фарша)

$$ЖУС = Ж_{\phi} - (m_{\delta 1} \cdot m_{\delta} / m_{\delta 2} \cdot m),$$

где $Ж_{\phi}$ - массовая доля жира в фарше, %;

m_{δ} - масса жира в исследуемом бульоне, г.

Экспериментальные данные для различных вариантов модельных фаршей оформляют в виде таблицы:

Таблица 4.1 – Результаты исследований функционально-технологических свойств образцов фарша

Массовая доля компонентов в составе модельного фарша, %	ВУС, %	ЖУС, %	ЭС, %	СЭ, %

По результатам определений делают выводы о технологической функциональности сырья и формулируют общее заключение по работе.

4.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГОСВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ (ВСС) МЯСА

В качестве объектов сравнения рекомендуется использовать:

– образцы мышечной ткани убойных животных (птицы) разных видов и сортов;

– образцы имеющих технологическое значение жировой, соединительной тканей с различных анатомических участков туши животных, вторичного мясного сырья (субпродукты II категории, мясо механической дообвалки и т.д.).

Материалы и оборудование. Груз массой 1 кг; планиметр; полиэтиленовые пробирки; центрифуга лабораторная; фильтровальная бумага; стеклянные палочки; стеклянные (или плексигласовые) пластинки.

Методические указания. На практике ВСС чаще всего определяют с помощью прессования или центрифугирования.

Метод прессования основан на выделении воды испытуемым образцом при легком его прессовании, сорбции выделяющейся воды фильтровальной бумагой и определении количества отделившейся влаги по площади пятна, оставляемого ею на фильтровальной бумаге. Достоверность результатов обеспечивается трехкратной 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 «каркасной фазой» объекта. Метод условен. Достоверность результатов может быть обеспечена при трех-четырёхкратной повторности определений.

По заданию преподавателя рекомендуется составить модельные композиции фарша из различных видов сырья.

Подготовка проб. Пробы мышечной ткани животных разных видов и сортов массой по 200-250 г отбирают в колбасном цехе на участке обвалки и жиловки мяса или жилуют в соответствии с нормируемыми показателями массового содержания соединительной ткани и жира. При жиловке говядину любой упитанности разделяют на три сорта в зависимости от массовой доли соединительной ткани и жира. К высшему сорту относят мышечную ткань без жира и соединительной ткани; к I сорту — мышечную ткань, в которой допускается наличие соединительной ткани в виде пленок не более 6 % к массе мяса; ко II сорту — мышечную ткань, содержащую до 20 % соединительной ткани и жира.

При жиловке свинину разделяют в зависимости от массового содержания жировой ткани на три сорта: нежирную, содержащую не более 10% жировой ткани; полужирную — 30-50 % жировой ткани; жирную — более 50 % жировой ткани. Пробы субпродуктов I и II категорий массой по 50-100 г отбирают в цехе обработки субпродуктов или на соответствующих участках цеха первичной обработки скота. Жилованную говядину, свинину, субпродукты I и II категорий тщательно измельчают на волчке или мясорубке с диаметром отверстий решетки 2-3 мм; гомогенизаторе. Замороженное мясо механической обвалки (или дообвалки) предварительно размораживают.

4.5.1. МЕТОД ПРЕССОВАНИЯ

Порядок проведения анализа. При определении ВСС этим методом навеску мясного фарша массой 0,3 г взвешивают на аналитических весах на кружке из полиэтилена диаметром 15-20 мм (диаметр кружка должен быть равен диаметру чашки весов), после чего ее переносят на беззольный фильтр, помещенный на стеклянную или плексигласовую пластинку так, чтобы навеска оказалась под кружком.

Сверху навеску накрывают такой же пластинкой, что и нижнюю, устанавливают на нее груз массой 1 кг и выдерживают в течение 10 мин. После этого фильтр с навеской освобождают от груза и нижней пластинки, а затем карандашом очерчивают контур пятна вокруг спрессованного мяса.

Внешний контур вырисовывается при высыхании фильтровальной бумаги на воздухе. Контуров пятна переводят через копировальную бумагу на миллиметровку и определяют их площадь в см².

Размер влажного пятна (внешнего) вычисляют по разности между общей площадью пятна и площадью пятна, образованного мясом. Экспериментально установлено, что 1 см² площади влажного пятна фильтра соответствует 8,4 мг влаги. Массовую долю связанной влаги в образце вычисляют по формулам

$$x_1 = (M - 8,4S) \cdot 100 / m_0$$

$$x_2 = (M - 8,4S) \cdot 100 / M,$$

где x_1 - массовая доля связанной влаги в мясном фарше, % к массе мяса;
 x_2 - то же, % к общей влаге;
 M - общая масса влаги в навеске, мг;
 S - площадь влажного пятна, мг;
 m_0 - масса навески мяса, мг.

4.5.2. МЕТОД ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

Порядок проведения анализа. При определении ВСС данным методом образцы мяса массой около 4 г помещают в полиэтиленовую пробирку с перфорированным вкладышем, укрепленным таким образом, чтобы был обеспечен необходимый зазор для стекания жидкости. Пробы центрифугируют в течение 20 мин при частоте вращения 100 с^{-1} . После центрифугирования пробы взвешивают и к массе пробы добавляют массу веществ, содержащихся в отделенной центрифугированием жидкости. Эту массу веществ определяют высушиванием при $105 \text{ }^\circ\text{C}$ до постоянной массы. Для расчета количества связанной влаги необходимо иметь данные о содержании влаги в объекте.

Массовую долю связанной влаги (%) рассчитывают по формуле

$$x = (m_1 + m_3 - m_2) \cdot 100 / m_0,$$

где m_0, m_1 - масса навески соответственно до и после центрифугирования, г;
 m_3 - масса сухого остатка выделившейся жидкости, г;
 m_2 - масса сухого остатка в навеске, г.

Экспериментальные данные рекомендуется оформить в виде таблицы:

Таблица 4.2 – Результаты исследований показателей функционально-технологических свойств модельных фаршей

Образец	Состав модельного фарша	ВСС, определенная по методу	
		прессования	центрифугирования

Сравнивая компонентный состав мясных фаршей, делают выводы и самостоятельно формулируют заключение по работе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. *Сущность определения влагоудерживающей способности мясного фарша.*
2. *Сущность определения жироудерживающей способности мясного фарша.*
3. *Сущность определения эмульгирующей способности и стабильности эмульсии.*
4. *Сущность определения влагосвязывающей способности мяса методами прессования и центрифугирования.*

Лабораторная работа № 5

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДОВ В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД

Цель работы: формирование умений и навыков определения массовой доли жира и его качественных показателей в пищевых продуктах.

Задание по лабораторной работе:

1. Ознакомиться с методами определения жира.
2. Провести идентификацию растительных масел по физическим показателям.
3. Провести оценку качества растительных масел по физико-химическим показателям.

5.1. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Изучение липидов начинается с определения их количества (содержания) в пищевых продуктах. Для этого используются методы определения содержания липидов непосредственно в объекте и методы, связанные с извлечением липидов из пищевого продукта. Свободные липиды экстрагируются из анализируемого продукта неполярными растворителями, связанные - системами растворителей, содержащими спирт. Прочносвязанные липиды выделяют из обработанного щелочами и кислотами шрота, оставшегося после выделения связанных липидов.

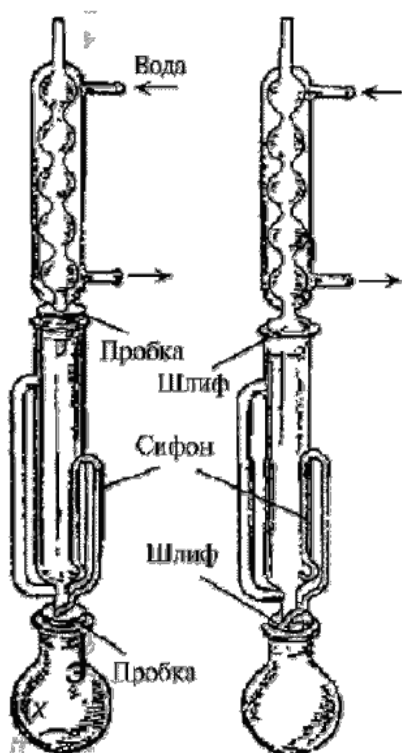


Рис. 5.1. Аппарат Сокслета

Определение жира по Сокслету (прямое определение). Определение основано на извлечении жира растворителем из сухой навески исследуемого продукта в аппарате Сокслета, отгонке растворителя и взвешивании жира. В качестве растворителя чаще всего применяют этиловый эфир. Этиловым эфиром из исследуемого продукта извлекаются не только жиры, но и сопутствующие вещества. Поэтому определяемый этим методом жир называют «сырым» жиром. Берут навеску от 5 до 10 г, обезвоживают и количественно переносят в пакет из фильтровальной бумаги и помещают в экстрактор аппарата Сокслета. К экстрактору присоединяют предварительно высушенную при 105 °С и взвешенную колбу Сокслета, наливают эфир и колбу нагревают на водяной бане. Обычно экстрагирование продолжается 10-12 час. Затем нагревание бани прекращают, колбе дают остыть и из нее отгоняют эфир. Затем колбу высушивают в сушильном шкафу. После окончания высушивания колбу взвешивают, содержание жира рассчитывают по формуле.

Определение жира по Рушковскому (по обезжиренному остатку). Метод заключается в том, что количество жира в исследуемом продукте определяется не по количеству извлекаемого жира, а по обезжиренному остатку. Предварительно готовят по два пакетика для каждой пробы, пакетики попарно высушивают до постоянного веса и окончательный вес записывают. Подготовленные навески заключают в пакетики, которые взвешивают на аналитических весах. Подготовленные пакетики помещают в экстрактор аппарата Сокслета, предварительно наполненный эфиром. По окончании экстракции пакетики высушивают при 100-105° С до постоянного веса. Содержание жира в процентах вычисляют по формуле.

Определение содержания жира методом Гербера. Сущность метода состоит в растворении органических веществ (кроме жира) в концентрированной серной кислоте. Жир экстрагируют изоамиловым спиртом и центрифугируют. Берут навеску в 5 г, помещают ее в стакан, добавляют 10 мл серной кислоты, нагревают на водяной бане до тех пор, пока навеска не растворится в кислоте. Затем переносят жидкость в чистый жиромер, приливают 1 мл изоамилового

спирта, добавляют серную кислоту. Жиросмер помещают на 5 мин в водяную баню при 65 ± 2 °С для более полного растворения навески. Затем его вынимают и центрифугируют. После этого жиросмер погружают в водяную баню, через 5 мин жиросмер вынимают и быстро производят отсчет жира. Содержание жира вычисляют по формуле.

Определение содержания жира экстракционно-весовым методом ВНИИКОПа (по Грживо и Шорниковой). Метод основан на извлечении жира органическим растворителем из обезвоженного продукта, удалении растворителя и взвешивании полученного жира. Высушивают два алюминиевых бюкса и взвешивают их на аналитических весах. Отбирают 10 г гомогенизированного продукта и переносят в металлический цилиндр для экстракции. В цилиндр наливают 25-40 мл дихлорэтана, затем навеску растирают пестиком в течение 5 мин. По окончании экстракции раствор жира фильтруют. По 5 мл отфильтрованного раствора жира переносят в подготовленные алюминиевые бюксы. Для удаления растворителя бюкс помещают на песчаную баню. Бюксы охлаждают, взвешивают и снова высушивают. По разности масс определяют количество жира во взятом объеме раствора. Процентное содержание жира вычисляют по формуле.

Определение содержания жира гравиметрическим методом с экстракцией жира в микроразмельчителе. Навеску исследуемой пробы помещают в стакан микроразмельчителя. Добавляют 50 мл дихлорэтана, производят измельчение и экстракцию навески. Раствор жира фильтруют в мерную колбу через бумажный фильтр. Два металлических бюкса взвешивают на аналитических весах и отбирают в каждый по 10 мл раствора жира. Растворитель выпаривают на электрической. Для полного высушивания жира бюксы помещают в сушильный и после охлаждения взвешивают на аналитических весах. Содержание жира вычисляют по формуле.

Определение жира рефрактометрическим методом. Для определения навеску 2 г, взятую с точностью 0,0002 г, помещают в фарфоровую ступку, добавляют 2,5 г песка (мелкого прокаленного), 6 г монобромнафталина, тща-

но растирают в ступке, в течение 4-5 мин и смесь фильтруют через маленький бумажный фильтр. Фильтрат собирают, перемешивают и наносят стеклянной палочкой на призму рефрактометра так, чтобы вся поверхность была хорошо смочена. Содержание жира в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{10^4 \times \alpha \times (N_1 - N_2) \times b_1}{b_2},$$

где N_1 – показатель преломления чистого растворителя;

N_2 – показатель преломления испытуемого раствора;

b_1 – вес 4 мл монобромнафталина в г;

b_2 – навеска исследуемого продукта в г;

α – коэффициент, устанавливаемый опытным путем, равен примерно 0,03.

5.2. ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ ПО ФИЗИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

При идентификации растительных масел определяют такие физические показатели, как плотность, вязкость, показатель преломления. Для оценки этих показателей используются простые физические приборы. Длительность исследования не превышает 10...20 мин, а методы относят к экспрессным.

5.2.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ ПРЕЛОМЛЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

Аппаратура:

- рефрактометр для измерения показателя преломления от 1,3000 до 1,7000 с дискретностью шкалы не ниже 0,0002, обеспечивающий погрешность измерения $\pm 2 \cdot 10^{-4}$ типа ИРФ-22, ИРФ-23, ИРФ-454;

- термостат или аналогичное устройство, позволяющее регулировать температуру с точностью $\pm 0,25$ °С;

- термометр электроконтактный ТПК с пределами измерения от 0 до 150 °С, с ценой деления 2 °С, погрешностью измерения ± 2 °С.

- стеклянные палочки, пробирки с притертыми крышками, градуированные пипетки на 10 см³, груша резиновая, конические колбы на 100 см³.

Реактивы: α-бромнафталин; петролейный эфир, кипящий при температуре 40...60 °С, или гексан.

Подготовка к определению. Пробу испытуемого масла перемешивают и фильтруют. Если консистенция масла мягкая, то пробу испытуемого масла предварительно расплавляют.

Проведение определения. Перед определением показателя преломления поверхности призм рефрактометра вытирают мягкой тканью из хлопка или льна, смоченной гексаном или петролейным эфиром. Образец масла, нанесенный на призмы рефрактометра, следует выдержать при этой температуре 5 мин.

Показатель преломления испытуемого образца определяют при 20, 40, 60 или 80 °С, в зависимости от того, при какой температуре проба является жидкой. Определение проводят три раза.

Обработка результатов. За результат определения принимают среднее арифметическое результатов трех параллельных определений. Вычисления проводят до четвертого десятичного знака. Если показатель преломления определяли не при 20 °С, то проводят расчет этого показателя по формуле

$$H^{20} = \eta' - f(20-t),$$

где η^{20} – показатель преломления растительного масла при 20 °С;

η' – показатель преломления растительного масла при температуре опыта;

f – температурный коэффициент изменения показателя преломления при изменении температуры на 1°С – пропорционален температурному коэффициенту плотности, равный 0,00035.

Допускаемые абсолютные расхождения между двумя параллельными определениями должны быть не более 0,0002.

По окончании определения масло удаляют с поверхностей призм сухой ватой, призмы протирают ватой, смоченной эфиром, и затем сухой мягкой льняной тканью.

Пользуясь данными, приведенными в таблице 5.1, устанавливается видо-вая принадлежность растительного масла. В окисленных маслах числовое значение показателя преломления выше по сравнению со свежим в результате увеличения молекулярной массы (вследствие присоединения кислорода, оксигрупп и т. д.).

Таблица 5.1 – Значения показателя преломления для растительных масел

Вид растительного масла	Показатель преломления	Температура определения, °С
Подсолнечное	1,4736...1,4762	20
Соевое	1,4722...1,4754	20
Хлопковое	1,4742...1,4768	20
Арахисовое	1,4680...1,4720	20
Льняное	1,4880...1,4870	20
Конопляное	1,4717...1,4780	20
Горчичное	1,4730...1,4769	20
Кукурузное	1,4720...1,4740	20
Рапсовое	1,4720...1,4760	20
Оливковое	1,4660...1,4710	20
Оливковое из ядра косточек	1,4460...1,4740	20
Кокосовое	1,4480...1,4500	40
Пальмовое	1,4540...1,4560	40
Пальмоядровое	1,4480...1,4520	40

5.2.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА ПИКНОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Сущность метода. Пикнометрический метод заключается в установлении массы определенного объема дистиллированной воды при 4 °С и равного объема исследуемого растительного масла при температуре 20 °С в специальной колбе-пикнометре. Пикнометр представляет собой узкогорлую стеклянную колбу с притертой пробкой объемом от 2 до 50 см³ с нанесенной на шейке меткой.

Аппаратура: мерный цилиндр (50см³), пипетка, пикнометр; весы аналитические.

Порядок проведения работы. Тщательно вымытый, высушенный пикнометр взвешивают на аналитических весах и тщательно наполняют дистиллиро-

ванной водой, имеющей комнатную температуру. Для наполнения пикнометра используют пипетку, чтобы избежать образования стойких пузырьков воздуха и попадания капелек воды на горлышко пикнометра выше метки. Наполненный немного выше метки пикнометр ставят в термостат при температуре 20 °С и выдерживают 30 мин. Для некоторых видов растительных масел определение производят при других температурах (таблица 5.2). Уровень воды в пикнометре устанавливают по верхнему краю мениска, избыток воды в пикнометре отбирают пипеткой или фильтровальной бумагой, внутренние стенки и наружные поверхности тщательно вытирают фильтровальной бумагой и взвешивают на аналитических весах с погрешностью измерения 0,0001 г.

Таблица 5.2 – Относительная плотность растительного масла

Вид растительного масла	Относительная плотность масла	Температура, °С	
		масла	воды
Подсолнечное	0,918...0,923	20	20
Соевое	0,919...0,925	20	20
Хлопковое	0,918...0,926	20	20
Арахисовое	0,914...0,917	20	20
Льняное	0,924...0,930	25	25
Конопляное	0,923...0,925	25	25
Горчичное	0,910...0,921	20	20
Кукурузное	0,917...0,925	20	20
Рапсовое	0,914...0,920	20	20
Оливковое	0,910...0,913	20	20
Рыжиковое	0,922...0,928	15,5	15,5
Кокосовое	0,908...0,926	40	20
Пальмовое	0,891...0,899	50	20
Пальмоядровое	0,899...0,914	40	25

Затем воду из пикнометра выливают, ополаскивают его этиловым спиртом для удаления влаги, высушивают в сушильном шкафу и охлаждают. Массу растительного масла определяют так же, как и массу дистиллированной воды.

Обработка полученных результатов. Плотность образца растительного масла определяют по формуле:

$$d_{20}^{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0),$$

где m_0 – масса пустого пикнометра г;

m_2 – масса пикнометра с исследуемым образцом растительного масла, г;

m_1 – масса пикнометра с дистиллированной водой, г.

Плотность воды при 4⁰С равна единице, при температуре 20⁰С – 0,998232 г/см³, при температуре 25⁰С – 0,997074 г/см³, при 15,5⁰С – 0,999048 г/см³.

Основываясь на данных, приведенных в таблице 2, дают заключение о видовой принадлежности пробы растительного масла.

5.2.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЯЗКОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

Вязкость натуральных растительных масел колеблется в относительно узких пределах, но имеет важное значение при установлении природной чистоты жиров. Вязкость определяется при помощи вискозиметров различной конструкции. Наиболее часто используется вискозиметр Освальда.

Приборы и лабораторная посуда: вискозиметр Освальда, цилиндр мерный, пипетки лабораторные.

Вискозиметр Освальда представляет собой U-образную трубку, одна из частей которой имеет сверху расширение, переходящее внизу в капилляр. Другая, более широкая часть трубки, внизу расширена. Выше и ниже грушевидного расширения, в левой части трубки, имеются метки, определяющие объем заполнения.

Порядок проведения исследования. Пробу растительного масла наливают в широкую часть трубки (правую), а затем высасыванием из узкой (левой) части переводят ее в грушевидную часть так, чтобы жидкость поднялась немного

выше верхней метки. После этого жидкость свободно вытекает в широкую (правую) часть вискозиметра. По секундомеру замечают длительность протекания растительного масла от верхней до нижней части прибора.

Обработка результатов исследования и выводы. Динамическую вязкость (в мПа • с) определяют по формулам (3, 4):

$$\mu = \nu \cdot \rho;$$

$$\nu = g / 9.807 \cdot T \cdot K \cdot 1000,$$

где K - постоянная вискозиметра (0,9522 при диаметре капилляра 1,77 мм или 0,2928 при диаметре капилляра 1,52 мм);

T - время истечения масла, с;

g - ускорение свободного падения, м²/с.

Выводы о чистоте природных растительных масел делают, сравнивая полученные результаты с данными, приведенными в таблице 5.3.

Таблица 5.3 – Вязкость растительных масел при температуре 20 °С

Вид растительного масла	Динамическая вязкость, мПа • с	Температура определения, °С
Подсолнечное	54,9...59,8	20
Соевое	53,2...65,9	20
Хлопковое	59,2...72,3	20
Арахисовое	75,9...81,2	20
Льняное	47,9...53,0	20
Конопляное	64,6...64,9	15
Кукурузное	65,7...72,3	20
Оливковое	71,3...87,4	20
Рыжиковое	26,5	15
Кокосовое	27,3	40
Пальмовое	26,2	50
Пальмоядровое	23,5	50

Результаты исследований представить в виде таблицы 5.4. Сделать вывод о соответствии требованиям нормативной документации.

Таблица 5.4 – Физические показатели растительных масел

Наименование продукта	Показатель преломления	Плотность	Вязкость	Соответствие нормативным показателям

5.3. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА ПО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

5.3.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОГО ЧИСЛА РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА

Определение кислотного числа титриметрическим методом с визуальной индикацией (определяют кислотное число светлых и рафинированных масел) проводят по ГОСТ Р 52110-2003.

Аппаратура и материалы: весы лабораторные с пределом допустимой абсолютной погрешности не более $\pm 0,02$ г; шкаф сушильный лабораторный с терморегулятором, обеспечивающим поддержание температуры (50 ± 2) °С; баня водяная; секундомер; цилиндры мерные (на 100 см³ и 500 см³); колбы конические (на 250 см³); бюретки; стаканы химические; термометр жидкостный стеклянный, позволяющий измерять температуру в интервале от 50 °С до 100 °С с ценой деления 1...2 °С; палочка стеклянная; бумага фильтровальная лабораторная.

Реактивы: калия гидроокись, х. ч. или ч.д. а.; 0,1 моль/дм³ (0,1 н.) водный или спиртовой раствор КОН или NaOH; спирт этиловый технический (гидролизный) или спирт этиловый ректификованный технический; хлороформ тех-

нический; эфир этиловый очищенный или эфир медицинский; фенолфталеин спиртовой раствор массовой долей 1 %; вода дистиллированная.

Подготовка к измерению. Спиртоэфирную смесь готовят по объему из двух частей этилового эфира и одной части этилового спирта с добавлением пяти капель раствора фенолфталеина на 50 см³ смеси.

Спиртохлороформную смесь готовят из равных частей хлороформа и этилового спирта с добавлением пяти капель раствора фенолфталеина на 50 см³ смеси.

Спиртоэфирную и спиртохлороформную смеси нейтрализуют 0,1 н раствором КОН или NaOH до едва заметной розовой окраски.

При использовании спиртоэфирной смеси титрование проводят водным или спиртовым раствором гидроокиси калия или гидроокиси натрия; при использовании спиртохлороформной смеси - спиртовым раствором гидроокиси калия или гидроокиси натрия.

Прозрачное незастывшее растительное масло перед взятием навески для анализа хорошо перемешивают. При наличии в жидком масле мути или осадка, а также при анализе застывших масел часть лабораторной пробы (50 г) помещают в сушильный шкаф, в котором поддерживается температура (50 ± 2) °С, и нагревают до той же температуры. Затем масло перемешивают. Если после этого масло не становится прозрачным, его фильтруют в шкафу при температуре 50 °С.

Проведение измерения. В коническую колбу вместимостью 250 см³ взвешивают навеску массой 3...5 г с точностью до 0,01 г. Затем к навеске приливают 50 см³ спиртоэфирной или спиртохлороформной нейтрализованной смеси. Содержимое колбы перемешивают взбалтыванием. Если при этом масло не растворяется, его нагревают на водяной бане, нагретой до (50 ± 2) °С, затем охлаждают до 15...20 °С. К раствору добавляют несколько капель фенолфталеина. Полученный раствор масла при постоянном взбалтывании быстро титруют 0,1 н. раствором гидроокиси калия или гидроокиси натрия до получения слабо-розовой окраски, устойчивой в течение 30 с.

При титровании водным 0,1 н. раствором КОН или NaOH количество спирта, применяемого вместе с эфиром или хлороформом, во избежание гидро-

лиза раствора мыла должно не менее чем в пять раз превышать количество израсходованного раствора гидроокиси.

При кислотном числе масла свыше 6 мг КОН/г берут навеску масла массой 1...2 г с точностью до 0,01 г и растворяют ее в 40 см³ нейтрализованной смеси растворителей. При кислотном числе масла менее 4 мг КОН/г титрование ведут из микробюретки.

Кислотное число масла X , мгКОН/г, вычисляют по формуле:

$$X = 5,611 * V * K / m,$$

где 5,611 – масса 0,1н раствора КОН, мг; при использовании NaOH значение получают умножением расчетной массы NaOH в 1 см³ раствора 0,1 н. (равной 4,0) на 1,4 - отношение молекулярных масс КОН и NaOH;

K – отношение действительной концентрации раствора гидроокиси калия или гидроокиси натрия к номинальной;

V – объем 0,1 н. раствора гидроокиси калия или натрия, израсходованного на титрование, см³;

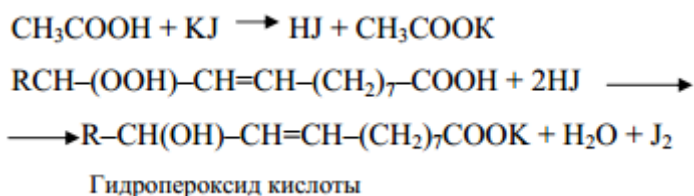
m – масса навески, г.

Вычисления ведут с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением результатов до первого десятичного знака.

5.3.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО (ПЕРОКСИДНОГО) ЧИСЛА

Перекисное (пероксидное) число (ПЧ) выражают в миллимолях активного кислорода на 1000 г жира или в процентах йода, выделившегося при взаимодействии активного пероксидного или гидропероксидного кислорода с йодисто-водородной кислотой.

Метод основан на реакции взаимодействия активного пероксидного или гидропероксидного кислорода с йодисто-водородной кислотой при титровании:



Выделившийся свободный йод оттитровывают 0,01 моль/дм³ раствором тиосульфата натрия:



Метод предназначен для определения первичных продуктов окисления жиров и масел — пероксидных и гидропероксидных соединений.

Проведение анализа.

В коническую колбу с пришлифованной пробкой взвешивают с точностью до третьего десятичного знака 1 г исследуемого масла (жира). Навеску масла (жира) растворяют в предварительно приготовленной смеси ледяной уксусной кислоты и хлороформа (в соотношении 2:1 по объему).

Добавляют в колбу 1 см³ 50 %-го раствора КJ (не должно быть расслоения, в противном случае необходимо увеличить количество смеси). Колбу выдерживают 20 мин без доступа света. Затем в колбу добавляют 50 см³ дистиллированной воды и 5...6 капель 1 %-го раствора крахмального клейстера. Выделенный йод титруют 0,01 моль/дм³ раствором тиосульфата натрия. Параллельно с основным определением проводят контрольное.

Перекисное число в миллимолях активного кислорода на 1000 г (1 кг) вычисляют по формуле:

$$\text{ПЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 1000}{m},$$

где V_1 — количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в основном опыте, см³;

V_2 — количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в контрольном опыте, см³;

C — концентрация раствора тиосульфата натрия, моль/дм³;

m – масса исследуемого образца масла или жира, г;

1000 – коэффициент, учитывающий пересчет результата измерения в миллимоли активного кислорода на 1 кг.

Перекисное число в процентах йода вычисляют по формуле:

$$\text{ПЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \times K \times 0,001269 \times 100}{m},$$

где V_1 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в основном опыте, см³;

V_2 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в контрольном опыте, см³, в котором используются те же реактивы, но без навески;

K – коэффициент нормальности 0,01 моль/дм³ раствора гипосульфита натрия;

0,001269 – количество йода, соответствующее 1 см³ точно 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, г;

m – масса исследуемого образца масла или жира, г;

100 – коэффициент, учитывающий пересчет результата измерения в проценты.

5.3.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИОБАРБИТУРОВОГО ЧИСЛА

Метод основан на реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым альдегидом, образующимся при окислении ненасыщенных жирных кислот, содержащихся в мясе, и на последующем измерении абсорбции образовавшейся окраски на спектрофотометре.

Порядок выполнения работы: К навеске жира (3 г) добавляют 40 мл 0,5 н раствора соляной кислоты, 15 мл трихлоруксусной кислоты, взбалтывают в течение 15 мин. Затем с помощью делительной воронки отделяют нижнюю водную фракцию, 15 мл которой помещают в колбу с притертой пробкой, содержащей 5 мл 0,5 %-й тиобарбитуровой кислоты. Колбу помещают в кипящую

водяную баню на 30 мин, после охлаждения измеряют оптическую плотность при длине волны 540 нм на фотоэлектроколориметре.

Тиобарбитуровое число (ТБЧ), мгМА/кг продукта, вычисляют по формуле:

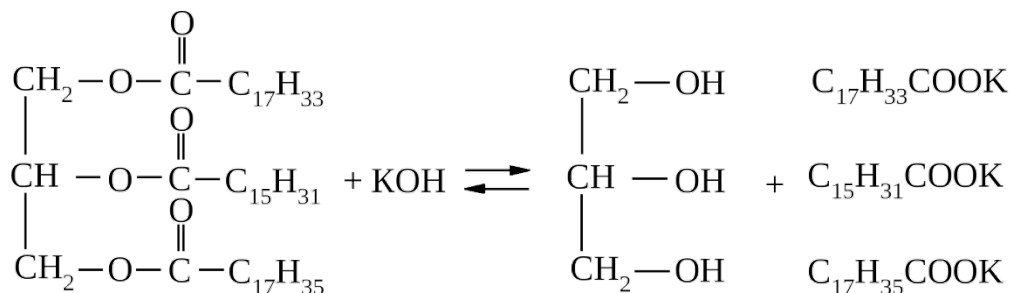
$$\text{ТБЧ} = \text{Д} \cdot 7,8,$$

где Д – оптическая плотность раствора;

7,8 – коэффициент пропорциональной зависимости плотности МА от его концентрации в растворе. Данный коэффициент является постоянной величиной.

5.3.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛА ОМЫЛЕНИЯ

Число омыления - это количество миллиграммов КОН, необходимое для нейтрализации всех свободных и связанных кислот, содержащихся в 1 г жира:



Число омыления характеризует природу жира: чем меньше молярная масса жирных кислот, входящих в состав ТАГ, тем больше число омыления. Число омыления липидов рыб 180-195 мг КОН на 1 г жира.

Оборудование, реактивы, материалы:

Весы аналитические; баня водяная; колбы конические; холодильник обратный; бюретка; цилиндры; кислота соляная (0,5 н раствор); фенолфталеин (1%-й раствор); спирт этиловый; гидроксид калия (0,5 н раствор); жир пищевой.

Порядок выполнения работы:

В коническую колбу из термостойкого стекла вместимостью 250-300 см³ отвешивают 2 г жира (предварительно профильтрованного) и добавляют из бюретки 30 см³ 3 %-го спиртового раствора гидроксида калия, ко-

торый отмеривают очень точно. При этом раствору дают свободно вытекать из бюретки и после перерыва струи отсчитывают 5 капель. Точность отмеривания нужна потому, что 1 капля гидроксида калия соответствует приблизительно 1,7 единиц числа омыления.

Смесь жира с раствором щелочи нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 часа при быстром взбалтывании. После этого колбу снимают с водяной бани, приливают 5 капель 1 %-го спиртового раствора фенолфталеина и горячую жидкость титруют 0,5н раствором соляной кислоты до красно-желтой окраски. Затем прибавляют еще 5 капель индикатора и титруют до исчезновения красного цвета фенолфталеина и получения первоначального цвета раствора жира с щелочью. Свежий жир обычно дает светло-желтую окраску, старый жир - красновато-бурую, затрудняющую улавливание окончания нейтрализации. Титрование сильно окрашенных жиров необходимо проводить при дневном освещении.

Одновременно с определением числа омыления жира ставят контрольную пробу, которая производится в той же колбе, теми же реактивами и в тех же условиях, как и первая проба, только без жира. Делается это для определения количества 0,5 н раствора соляной кислоты, израсходованного на нейтрализацию 30 мл 3 %-го раствора гидроксида калия.

Зная количество 0,5н раствора соляной кислоты, израсходованного на нейтрализацию гидроксида калия, оставшегося несвязанным с жиром, можно высчитать количество мг гидроксида калия, пошедшего на омыление навески жира. Число омыления (O), мг/г, рассчитывают по формуле:

$$O=(V-V_1)*28,055/m,$$

где V – количество 0,5 н раствора соляной кислоты, израсходованного на титрование в контрольном опыте, см³;

V₁ – количества 0,5н раствора соляной кислоты, израсходованного на титрование в опыте, см³;

m – навеска жира, г;

28,055 – количество мг гидроокиси калия, соответствующее 1 см³ 0,5 н раствора соляной кислоты.

5.3.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФИРНОГО ЧИСЛА

Для определения эфирного числа нужно сначала определить число омыления (п. 5.3.4) и кислотное число (п. 5.3.1), после чего находят разность между ними – это и будет эфирное число (ЭЧ):

$$\text{ЭЧ} = \text{О} - \text{КЧ}.$$

5.3.6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОДНОГО ЧИСЛА

Берут точную навеску небольшого количества жира или (и) масла. Для этого, если жир жидкий, его помещают в склянку, в пробку которой вставлена пипетка, и все это взвешивают на аналитических весах. Затем при помощи пипетки 3–4 капли жира помещают в сухую коническую колбу емкостью 250 мл, с пришлифованной стеклянной пробкой, и снова взвешивают склянку с жиром, пробкой и пипеткой.

По разности масс определяют величину навески, взятой на исследование. Отмеривают 25 мл этилового спирта и переносят его в колбу с навеской. Содержимое колбы хорошо перемешивают для растворения жира (масла). Если навеска растворяется плохо, колбу ставят на водяную баню и немного нагревают. Параллельно ставят «слепой» (контрольный) опыт. Для этого берут вторую колбу и вносят в нее 25 мл этилового спирта.

В бюретку наливают 0,2 н спиртового раствора йода и из нее переносят по 12,5 мл раствора в каждую из колб. Затем добавляют в каждую из них по 100 мл дистиллированной воды. Колбы закрывают пробкой и хорошо встряхивают в течение не менее 5 мин. Затем содержимое колб оттитровывают 0,1 н раствором тиосульфата натрия до появления слабо-желтого окрашивания. После чего прибавляют 1 мл раствора крахмала и титруют до исчезновения синего окрашивания. Записывают объемы тиосульфата натрия, которые пошли на титрование растворов каждой из колб.

Разность между объемом 0,1 н раствора тиосульфата натрия, затраченного на титрование опыта и контроля, является показателем количества йода, связанного навеской жира (масла). Йодное число (ЙЧ), г/100г, вычисляют по формуле

$$\text{ЙЧ} = (V_1 - V_2) \cdot 0,0127 \cdot 100 / a,$$

где V_1 – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование контроля, мл;

V_2 – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование опыта, мл;

0,0127 – титр тиосульфата натрия по йоду;

a – навеска жира (масла), г.

Для достоверного определения проводят несколько параллельных опытов и по каждому из них рассчитывают величину йодного числа. Допускается расхождение лишь в десятых долях получаемых значений йодных чисел.

5.3.7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АЛЬДЕГИДОВ (БЕНЗИДИНОВОГО ЧИСЛА)

В сухую мерную колбу вместимостью 25 см³ берут навеску 1 г жира (масла) с погрешностью не более 0,01 и в начале растворяют, затем доводят до метки смесью хлороформа и этилового спирта 1:1. Полученный раствор колориметрируют на фотоэлектроколориметре при длине волны 360 нм в ультрафиолетовой области спектра по отношению к чистому растворителю (спирт : хлороформ 1:1). Значение оптической плотности D_1 характеризует собственную окраску жира.

Затем берут две колбы с притертыми пробками вместимостью 20-25 см³ хлороформенно-спиртового раствора жира, а в другую – 10 см³ чистого растворителя (смеси равных объемов спирта и хлороформа).

В обе колбы добавляют по 1 см³ свежеприготовленного 0,5 %-го раствора бензидина в смеси этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (1:1). Раствор используют только после исчезновения возникающего при его приготовлении красноватого оттенка. Колбы с содержимым энергично встряхивают и выдерживают в течение 15 мин, после чего определяют оптическую плотность D_2 по отношению к обработанному бензидином растворителю.

Полученное значение оптической плотности является суммарным, так как обусловлено окраской самого жира и окраской, развивающейся при взаимодействии альдегидов с бензидином.

Кюветы после каждого определения нужно промывать чистым растворителем (спирт-хлороформ) и тщательно вытирать снаружи марлевым тампоном.

Содержание альдегидов или бензидиновое число (БЧ) (в мг % коричневого альдегида) определяют по формуле

$$\text{БЧ} = \frac{(1,1 \times D_2 - D_1) \times \Phi \times A \times 100}{m},$$

где D_1 – оптическая плотность раствора жира до обработки бензидином;

D_2 – то же после обработки бензидином;

Φ – фактор – постоянная величина, показывающая количество мг коричневого альдегида в 1 см³ реакционной смеси, приходящейся на единицу оптической плотности при длине волны 360 нм и ширине кюветы 1 см, $\Phi=0,0094$ мг;

A – объем хлороформенно-спиртового раствора жира, см³;

1,1 – поправка на изменение объема при добавлении к 10 см³ раствора жира 1 см³ раствора бензидина;

m – навеска жира (масло), г.

При бензидиновом числе более 14 мг % коричневого альдегида масло (жир) считать непригодным в пищу.

Результаты всех исследований представить в виде таблицы 4.5. Сделать вывод о соответствии требованиям нормативной документации.

Таблица 5.5 – Физико-химические показатели растительных масел

Числа жира	Наименование продукта	Требование ГОСТ	Заключение
Кислотное число			
Перекисное число			
Тиобарбитуровое число			
Число омыления			
Эфирное число			
Йодное число			
Бензидиновое число			

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. *Липиды: классификация, общая характеристика и их содержание в пищевых продуктах.*
2. *Строение и свойства жиров.*
3. *Физико-химические показатели жиров.*
4. *Изменения жиров при хранении, технологической обработке.*
5. *Методы определения жиров в пищевых продуктах.*
6. *Методы идентификации растительных масел по физическим показателям.*
7. *Методы оценки качества растительных масел по физико-химическим показателям (определение кислотного, перекисного чисел).*

Лабораторная работа № 6
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УГЛЕВОДОВ
В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД

Цель работы: формирование умений и навыков определения углеводов в пищевых продуктах.

Задание по лабораторной работе:

1. Ознакомиться с методом определения массовой доли редуцирующих веществ.
2. Ознакомиться с методом определения пектиновых веществ.
3. Ознакомиться с методом определения клетчатки.
4. Ознакомиться с методами определения сахаров в напитках.

6.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ РЕДУЦИРУЮЩИХ
ВЕЩЕСТВ В МАРМЕЛАДЕ

В рецептуру мармелада, кроме большого количества сахара, входит патока, поэтому в готовом изделии, наряду с сахарозой, всегда присутствуют и редуцирующие вещества, которые предохраняют мармелад от засахаривания и высыхания, однако их избыточное содержание может вызвать увлажнение мармелада, так как они обладают не только антикристаллизационными свойствами, но еще и гигроскопичны.

Для определения массовой доли редуцирующих веществ в мармеладе могут быть использованы следующие методы: перманганатный, иодометрический, феррицианидный и фотоколориметрический. Определение этими методами включает нижеследующие этапы: приготовление водной вытяжки, осаждение мешающих несхаров, фильтрование и количественное определение редуцирующих сахаров в полученной вытяжке.

Следует иметь в виду, что результат анализа можно получить только при обязательном наличии избытка щелочного раствора феррицианида. Если такого избытка нет, то фотоколориметрирование или титрование не имеет смысла.

Иногда при расчете массы навески предполагаемое количество редуцирующих веществ принято неточно, в результате чего количество редуцирующих веществ в реакционной смеси оказывается большим, чем может окислить 25 см³ раствора феррицианида. В процессе кипения наблюдается сначала полное обесцвечивание раствора с последующей повторно возникающей окраской, но уже желтого цвета, как следствие разложения сахаров в щелочной среде. В этом случае опыт следует повторить, уменьшив вводимый объем водной вытяжки.

Фотоколориметрический метод с применением в качестве окислителя редуцирующих веществ мармелада гексацианоферрата(III)калия (феррицианида) является наиболее быстрым и простым. В основе этого метода лежит способность редуцирующих сахаров при нагревании их со щелочным раствором феррицианида (красной кровяной соли) восстанавливать его в ферроцианид (или желтую кровяную соль), причем сахара окисляются до соответствующих кислот:

$$C_6H_{12}O_6 + 6K_3Fe(CN)_6 + 6KOH = (CHON)_4(COOH)_2 + 4H_2O + 6K_4Fe(CN)_6.$$

Принцип метода заключается в том, что к раствору редуцирующих веществ прибавляют точно отмеренный избыток окислителя - феррицианида. О количестве сахара судят по остатку феррицианида после проведения реакции (чем меньше сахара, тем больше феррицианида). Остаток раствора феррицианида определяют по оптической плотности на приборе ФЭК-56М в кюветах с толщиной слой 10 мм и со светофильтром, имеющим длину волны 440 нм (для ФЭК-56М эта длина волны соответствует светофильтру № 4 - синий).

Материалы, реактивы, оборудование. Мармелад, дистиллированная вода, фарфоровая ступка с пестиком, мерная колба вместимостью 100 см³, стакан вместимостью 100 см³, термометр, конические колбы, градуированная пипетка на 10 см³, бюретка вместимостью 25 см³, щелочной раствор феррицианида, фотоэлектроколориметр, весы технические.

Приготовление щелочного раствора феррицианида. Взвешивают 8 г K₃PF(CN)₆ и 20 г NaOH (или 28 г KOH). Каждую навеску растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды отдельно, а затем сливают в мерную колбу вместимостью 1 дм³, доводят до метки и тщательно перемешивают. Ис-

пользуют реактив не ранее чем через 1 сут, хранят в склянке из темного стекла или в темном месте.

Приготовление стандартного раствора глюкозы. Взвешивают 1,6 г безводной глюкозы с точностью до $\pm 0,0002$ г, растворяют в мерной колбе вместимостью 1 дм³ и доводят дистиллированной водой до метки. Предварительно глюкозу выдерживают в эксикаторе в течение 3 сут над свежeproкаленным хлоридом кальция.

Построение калибровочного графика.

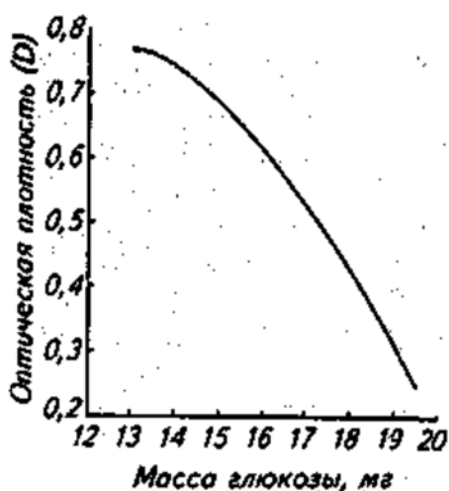


Рисунок 6.1 – Калибровочный график для определения содержания редуцирующих веществ и общего сахара

В шесть конических колб вместимостью 250 см³ вносят пипеткой по 25 см³ щелочного раствора феррицианида и по 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5 см³ стандартного раствора глюкозы. Из бюретки соответственно приливают 9,0; 8,5; 8,0; 7,5; 7,0; 6,5 см³ дистиллированной воды, доводя тем самым объем жидкости в каждой колбе до 41 см³. Содержимое каждой колбы нагревают до кипения и кипятят в течение 1 мин. Затем охлаждают и измеряют оптическую плотность на ФЭКе в кювете с толщиной слоя

10 мм и светофильтре, имеющим длину волны 440 нм. Оптическую плотность измеряют в каждом растворе не менее трех раз и из полученных результатов берут среднее арифметическое значение. По полученным данным строят калибровочный график (рис. 6.1), откладывая на оси ординат значения оптической плотности, а на оси абсцисс - соответствующие этим значениям массы глюкозы в миллиграммах.

Подготовка образца к анализу. Навеску измельченного изделия берут из расчета, чтобы в 100 см³ раствора было около 0,2 г редуцирующих веществ. Масса навески

$$M = \frac{0,2 \times V_1}{C} = \frac{0,2 \times 100}{20} = 1,$$

где V_1 – вместимость мерной колбы, см³;

$$V_1 = 100 \text{ см}^3;$$

C – предполагаемое количество редуцирующих веществ в жележном мармеладе, %; $C = 20$ %.

Навеску растворяют в стакане с дистиллированной водой, подогретой до температуры 60-70 °С. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, охлаждают, доводят объем дистиллированной водой до метки и хорошо перемешивают.

Техника определения. В коническую колбу вместимостью 200-250 см³ отмеривают градуированной пипеткой 10 см³ испытуемого раствора и 6 см³ воды, добавляют из бюретки 25 см³ щелочного раствора феррицианида. Содержимое колбы доводят до кипения, кипятят ровно 1 мин и сразу охлаждают. После охлаждения заполняют раствором кювету прибора и определяют оптическую плотность при толщине просвечиваемого слоя 10 мм. Оптическую плотность измеряют на ФЭК-56М при длине волны 440 нм и светофильтре №4 (синий). По величине оптической плотности раствора с помощью калибровочной кривой (см. рис. 6.1) определяют количество редуцирующих веществ (мг глюкозы). Так как наиболее точные результаты получают при значении оптической плотности в интервале 0,30 - 0,60, то при получении других значений определение повторяют, изменив количество введенного испытуемого раствора и добавляемой дистиллированной воды (общий объем должен быть равен 41 см³).

Запись в лабораторном журнале:

Масса мармелада, взятая для определения редуцирующих сахаров (m), г;

Вместимость мерной колбы, в которой растворена навеска (V_1), см³;

Объем испытуемого раствора, взятый для реакции с феррицианидом (V_2), см³;

Масса мармелада, взятая для реакции с раствором феррицианида

$$m_2 = V_2 \cdot m / V_1, \text{ г};$$

Оптическая плотность (D);

Количество редуцирующих веществ в m_1 (г) мармелада, найденное по калибровочному графику (a), мг;

Поправочный коэффициент (K), величина которого зависит от соотношения в мармеладе сахарозы и редуцирующих веществ:

<i>Количество редуцирующих сахаров, % по отношению к общему сахару</i>	<i>Поправочный коэффициент</i>
5 – 10	0,91
10 – 15	0,93
15 – 20	0,94
20 – 30	0,95
30 – 40	0,97
40 - 60	0,98

Количество редуцирующих веществ в 100 г мармеладной массы

$$m_3 = (100 \cdot a \cdot V_1 \cdot K) / (V_2 \cdot m_1 \cdot 1000), \%$$

Результаты исследований представить в виде таблицы 6.1.

Таблица 6.1 – Содержание редуцирующих веществ в продукте

Наименование продукта	Содержание редуцирующих веществ	Требования ГОСТ

6.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ЯБЛОКАХ МЕТОДОМ МЕЛИТЦА

Метод основан на способности пектиновых веществ, находящихся в клеточном соке и в тканях яблок, извлекаться водой. Протокопектин извлекается водой со слабой кислотой, а свободная пектиновая кислота и ее кальциевые и

магниево-кальциевые соли – кипячением. Извлеченные пектиновые вещества вновь переводятся добавлением $CaCl_2$ в пектат кальция, который определяется весовым методом. Метод позволяет определить общее количество пектиновых веществ.

Подготовка пробы и расчет массы навески. Навеска яблок должна быть подготовлена с таким расчетом, чтобы масса осадка пектата кальция в фильтрате, взятом для обработки гидроксидом натрия и уксусной кислотой, не превышала 0,03 г. В противном случае затрудняется промывание и высушивание осадка, а результаты получаются завышенными. Поэтому, зная примерное содержание пектиновых веществ в продукте, общий объем вытяжки и количество фильтрата, взятое для омыления, расчет необходимой величины навески делают следующим образом:

$$X = \frac{0,03 \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot П},$$

где 0,03 – заданное содержание пектиновых веществ в 10 см³ фильтрата;

V – общий объем фильтрата (500 см³);

V_1 – объем фильтрата, взятый для омыления (10 см³);

$П$ – условное содержание пектиновых веществ в продукте, %.

Например, для яблок с содержанием пектиновых веществ $П = 1$ % максимальная расчетная навеска продукта $X = 150$ г.

Методика выполнения анализа. Среднюю пробу свежих или сушеных яблок нужно измельчить на терке или в ступке, сушеные продукты предварительно разрезать ножом на кусочки размером 2-3 мм. При этом нужно удалить семена, веточки, плод ножки, косточки и т.п., чтобы средняя проба была однородной.

Навеску продукта 50-100 г (сушеного 5-10 г) помещают в химический стакан вместимостью 400-500 см³, прибавляют 150 см³ дистиллированной воды и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч для гидролиза протопектина и получения водной вытяжки пектиновых веществ, поддерживая жидкость в стакане на постоянном уровне. После этого горячую массу переносят через во-

ронку, укрепленную в кольце штатива, в мерную колбу вместимостью 500 см³, смывая остатки дистиллированной водой из промывалки в мерную колбу. Мерную колбу доливают теплой водой ниже метки и оставляют настаиваться. Когда содержимое охладится примерно до 20 °С, в колбу приливают холодную воду до метки, перемешивают содержимое и фильтруют сначала через вату, а затем через бумажный фильтр несколько раз.

10 см³ прозрачного фильтрата переносят пипеткой в стакан вместимостью 400-500 см³, прибавляют 100 см³ раствора гидроксида натрия *NaOH* с концентрацией 0,1 моль/дм³ и оставляют на 5-7 ч в покое для омыления пектина (при упрощенном варианте на 0,5 ч). После этого к смеси приливают 50 см³ раствора уксусной кислоты с концентрацией 0,1 моль/дм³, а через 5 мин - 50 см³ 1 моль/дм³ раствора *CaCl₂* и оставляют на 1 ч. При этом в растворе появляется хлопьевидный беловатый осадок пектата кальция. Содержимое стакана кипятят около 5 мин и фильтруют через заранее высушенный до постоянной массы и взвешенный бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают кипящей водой до тех пор, пока промывная вода перестанет давать положительную реакцию с раствором *AgNO₃* с концентрацией 0,1 моль/дм³, свидетельствующую о присутствии хлор-иона. Для проведения качественной реакции на отсутствие хлора в пробирку отбирают 1-2 см³ стекающей жидкости и добавляют несколько капель азотно-кислого серебра. При наличии в промывной воде ионов хлора образуется белая муть.

Осадок пектата кальция, не содержащий хлор-ионов, помещают вместе с фильтром в бюкс и сушат при 105 °С до постоянной массы. Если масса осадка превышает 0,03 г, то анализ нужно повторить, причем вместо 10 см³ фильтрата взять 5 см³.

Содержание пектиновых веществ (в %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 0,9235 \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot m}$$

где *m* – масса навески продукта, г;

m_1 – масса фильтра с высушенным осадком, г;

m_2 – масса бумажного фильтра, г;

V – объем мерной колбы, см³;

V_1 – объем фильтрата, взятого для омыления, см³;

0,9235 – коэффициент для перевода пектата кальция в пектиновую кислоту.

Результаты исследований представить в виде таблицы 6.2

Таблица 6.2 – Содержание пектиновых веществ в яблоках

Наименование сорта яблок	Содержание пектиновых веществ	Требования ГОСТ

6.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КЛЕТЧАТКИ В ОТРУБЯХ

Сущность метода. Метод определения клетчатки основан на гидролизе легкорастворимых углеводов растворами кислоты и гидроксида натрия с последующим их удалением при промывке и очистке нерастворимого осадка. Для более точного определения предусматриваются экстракция жира петролейным эфиром и поправка на зольные вещества, содержащиеся в клетчатке. В данной работе используется упрощенная методика определения клетчатки.

Проведение анализа. Измельченную навеску печенья от 5 до 10 г из средней пробы (в зависимости от предполагаемого содержания клетчатки) взвешивают на технических весах в стаканчике и без потерь переносят в коническую колбу вместимостью 200-300 см³. Отмеривают цилиндром 50 см³ раствора серной кислоты с концентрацией 1,25 % и часть раствора используют для переноса навески и для ополаскивания стаканчика, оставшийся раствор выливают в колбу с навеской. В течение 30 мин содержимое колбы кипятят, после чего дают осесть осадку и осторожно декантируют, жидкость, не трогая осадка, 2-3 раза осадок промывают водой, каждый раз осторожно сливая надосадочную жид-

кость. Затем добавляют 50 см³ раствора гидроксида натрия с концентрацией 1,25% и снова кипятят 30 мин, декантируют надосадочную жидкость и промывают осадок 10 см³ 1,25 %-го раствора серной кислоты, а потом дважды небольшими порциями дистиллированной воды. Переносят количественно осадок на сухой взвешенный бумажный фильтр, высушивают при 105 °С в сушильном шкафу и взвешивают на аналитических весах. Содержание клетчатки вычисляют в % к массе сырой навески.

Результаты исследований представить в виде таблицы 6.3

Таблица 6.3 – Содержание клетчатки в отрубях

Наименование продукта	Содержание клетчатки	Требования ГОСТ

6.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА САХАРА В СОКЕ

6.4.1. АРЕОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Общее количество сахара можно определить физическим способом, основанным на зависимости плотности сока от содержания в нем сахара.

Проведение анализа. Определяют процентное содержание сахара с помощью ареометра. В сухой, чисто вымытый цилиндр осторожно, без вспенивания, наливают исследуемый сок и погружают в него тщательно вытертый ареометр, не касаясь им стенок цилиндра. Отсчет показаний шкалы проводят по нижнему уровню мениска, после того как прекратится погружение ареометра, при этом глаз наблюдателя должен быть на одном уровне с поверхностью жидкости.

При температуре сока выше 20 °С к показанию ареометра надо прибавить величину, полученную от умножения разности градусов температуры на 0,0002. Например, при 25 °С показания ареометра – 1.052, а действительный вес будет: $1,052+(5\times 0,0002)=1,053$. И, наоборот, если температура сока была

ниже, то разность температур, умноженную на 0,0002, нужно отнять от показания ареометра. Например, показания ареометра – 1,042 при 16°C. Истинное же значение равно $1,042 - (4 \times 0,0002) = 1,0412$. После внесения температурной поправки в показание ареометра по удельному весу сока определяют содержание в нем сахара.

В составе сока, помимо сахаров, имеются и другие экстрактивные вещества, и содержание их сильно колеблется. В показатель удельного веса входят все экстрактивные вещества, не только сахара, и приведенный простой способ определения сахара в соке дает не совсем точные результаты, допуская отклонения в пределах +1. Поэтому при использовании менее экстрактивных соков (культурных сортов яблок, груш) к показателю сахаристости по удельному весу надо прибавить 1.

Расчет ведут по следующей формуле:

$$C = (Y : 5) + 1,$$

где С – содержание сахара в соке в % или в г на 100 мл сока;

У – показатель удельного веса, в котором исключены впереди стоящие единицы и нули.

Например, удельный вес 1,042, то $Y = 42$, тогда $C = (Y : 5) + 1 = 9,4 \%$.

Определяя количество сахара в соках средней экстрактивности (красная и белая смородина, малина, земляника садовая и др.), следует пользоваться формулой: $C = (Y : 5)$.

Содержание сахара в более экстрактивных соках (черная смородина, слива, крыжовники др.), особенно если они были прогреты перед прессованием, вычисляют по формуле: $C = (Y : 5) - 1$.

6.4.2. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Рефрактометрический метод основан на измерении показателя преломления света в капле сока с помощью рефрактометра. Показатель измеряется в единицах массовой доли сухих веществ, %, по сахарозе.

Проведение анализа. На сухую поверхность измерительной призмы наносят 3-4 капли исследуемого напитка, опускают верхнюю камеру и проводят определения; после совпадения границы светотени с перекрестком сетки (визирной линии) проводят отсчет по шкале сухих веществ. Проводят два определения и после каждого из них призмы промывают дистиллированной водой и вытирают насухо мягкой льняной салфеткой.

Результаты исследований представить в виде таблицы 6.4.

Таблица 6.4 – Содержание сахара в соке

Наименование продукта	Ареометрический метод	Рефрактометрический метод	Требования ГОСТ

На основании результатов сделать вывод о соответствии требованиям нормативной документации.

6.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТОЗЫ ЙОДОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Навеску молока массой 25 г с погрешностью $\pm 0,01$ г переносят в мерную колбу вместимостью 500 см³, приливают дистиллированную воду до половины объема. Из бюреток отмеривают 10 см³ раствора Фелинга I и 4 см³ 1 н. раствора гидроксида натрия.

Реактив Фелинга I: навеску перекристаллизованного, не содержащего железа сульфата меди массой 69,26 г растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 дм³, доводят объем до метки и перемешивают.

Жидкость перемешивают после добавления воды и реактивов. Доводят содержимое до метки дистиллированной водой, снова перемешивают и оставляют в покое на 30 мин. Отстоявшуюся жидкость фильтруют в сухую колбу через складчатый бумажный фильтр. Первые порции фильтрата 10-20 см³ удаляют. 50 см³ фильтрата переносят пипеткой в коническую колбу

вместимостью 250-300 см³ с притертой или резиновой пробкой. Приливают из бюретки 25 см³ 0,1 н. раствора йода и медленно при непрерывном перемешивании добавляют из бюретки 37,5 см³ 0,1 н. раствора гидроксида натрия.

Закрыв колбу пробкой, оставляют ее в темном месте на 20 мин при температуре 20 °С. Далее вносят цилиндром 8 мл 0,5 н. раствора соляной кислоты и титруют выделяющийся йод 0,1 н. раствором тиосульфата натрия. Индикатор – 1%-й раствор крахмала — вносят к концу титрования, когда окраска в реакционной колбе приобретает соломенно-желтый цвет.

Титрование продолжают до момента исчезновения синего окрашивания. Параллельно проводят контрольный опыт, отмеривая в колбу 50 см³ дистиллированной воды (вместо фильтрата), и осуществляют эксперимент в той же последовательности и с теми же реактивами, как в основном опыте.

Массовую долю лактозы L (в %) рассчитывают по формуле:

$$L = \frac{0.01801 \times (V_1 - V) \times 100 \times 0.97}{m},$$

где 0,01801 – количество лактозы, соответствующее 1 см³ 0,1 н. раствора йода, г;

V_1 – количество 0,1 н. раствора Na₂S₂O₃, пошедшее на титрование йода в контрольном опыте, см³;

V – количество 0,1 н. раствора Na₂S₂O₃, пошедшее на титрование избытка йода в фильтрате, см³;

0,97 – поправка, установленная эмпирически;

m – масса молока, содержащегося в 50 см³ фильтрата, г.

При взятии навески молока, равной 25 г, формула для расчета лактозы (в %) приобретает следующий вид:

$$L = 0.699 \times (V_1 - V).$$

Таблица 6.5 – Массовая доля лактозы в молоке в зависимости от показателя преломления

Массовая доля лактозы в молоке в зависимости от показателя преломлений

Показатель преломления	Массовая доля лактозы, %	Показатель преломления	Массовая доля лактозы, %
1,3390	3,01	1,3413	4,13
1,3391	3,06	1,3414	4,18
1,3392	3,11	1,3415	4,23
1,3393	3,16	1,3416	4,28
1,3394	3,21	1,3417	4,33
1,3395	3,26	1,3418	4,38
1,3396	3,31	1,3419	4,44
1,3397	3,36	1,3420	4,49
1,3398	3,42	1,3421	4,54
1,3399	3,47	1,3422	4,59
1,3400	3,52	1,3423	4,64
1,3401	3,57	1,3424	4,69
1,3402	3,62	1,3425	4,74
1,3403	3,67	1,3426	4,79
1,3404	3,70	1,3427	4,84
1,3405	3,72	1,3428	4,89
1,3406	3,77	1,3429	4,95
1,3407	3,82	1,3430	5,00
1,3408	3,87	1,3431	5,05
1,3409	3,93	1,3432	5,10
1,3410	3,98	1,3433	5,15
1,3411	4,03	1,3434	5,20

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Углеводы: классификация, общая характеристика и их содержание в пищевых продуктах.
2. Методы определения углеводов.
3. Сущность метода определения редуцирующих веществ в пищевых продуктах.
4. Сущность метода определения пектиновых веществ в яблоках методом Мелитца.
5. Сущность метода определения количества клетчатки в отрубях.
6. Сущность метода определения количества сахара в соке (ареометрический, рефрактометрический методы).

Лабораторная работа № 7

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД

Цель работы: формирование умений и навыков определения массовой доли минеральных веществ «сухим» и «мокрым» способами в пищевом и биотехнологическом сырье, полуфабрикатах и готовых продуктах.

Задание по лабораторной работе:

1. Ознакомиться с «сухим» и «мокрым» методами определения массовой доли минеральных веществ, а также золы, нерастворимой в соляной кислоте.
2. Освоить комплексонометрический метод определения массовой доли кальция и магния в продуктах питания.
3. Освоить определение массовой доли йода.
4. Провести определение поваренной соли в пищевых продуктах.
5. Изучить титриметрический метод определения содержания фосфора.
6. Освоить метод определения металлических примесей в сырье.

7.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЗОЛЫ

Содержание золы определяют путем сжигания и прокаливания исследуемого объекта сухим или мокрым методом.

Сухое озоление осуществляют при высокой температуре (около 500°C) в тигле в муфельной печи в условиях, исключающих потерю зольных элементов. При этом недопустимо доводить тигель до красного каления (500-600 °C), так как фосфаты могут сплавить частицы несгоревшего угля, что усложнит окончательное выгорание углерода. Кроме того, при температуре выше 500°C могут быть потери калия и особенно фосфора.

В ряде случаев при озолении в муфеле температуру контролируют только по окраске каления, что ограничивает использование сухого способа озоления.

Озоление сухим способом длительно и может продолжаться 6 ч и более. Для ускорения этого процесса применяют различные ускорители (концентри-

рованная азотная кислота, пероксид водорода и др.), в присутствии которых процесс озоления сокращается до 2-3 ч. Наряду с этим существуют ускорители, которые одновременно с ускорением озоления предотвращают потери фосфора, связывая его. К такого рода ускорителям относятся ацетат магния, ацетат кальция и др.

При мокром озолении применяют смесь серной и азотной кислот или одну из этих кислот при температуре их кипения, а также пергидроль или другие окислители. Температура озоления находится на уровне 330 °С. Для мокрого озоления можно использовать объекты с высокой влажностью и жидкие.

При определении количества микроэлементов в золе проводят озоление парами азотной кислоты (ускоренное).

В последнее время все большее распространение получает определение макро- и микроэлементов методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, который позволяет определять содержание многих элементов с высокой точностью. Принцип этого метода основан на способности диссоциированных атомов элементов (свободных от химических связей) поглощать свет в очень узкой области спектра. Этот метод прост в работе, универсален и высокочувствителен.

7.1.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЗОЛЫ СУХИМ МЕТОДОМ БЕЗ УСКОРИТЕЛЯ

В заранее прокаленные и доведенные до постоянной массы тигли (взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г) отвешивают навеску исследуемого продукта. Тигли помещают у края дверцы муфельной печи, нагретой до темно-красного каления, что соответствует 400-500 °С. Обугливают навески, не допуская воспламенения продуктов сухой перегонки. После прекращения выделения продуктов сухой перегонки тигли продвигают вглубь печи и сжигают образец до исчезновения черных частиц при температуре 600-900 °С (ярко-красное каление). Цвет золы должен стать белым или слегка сероватым. Затем тигли помещают в эксикатор до полного охлаждения, взвешивают с погрешностью не

более 0,0002 г и вновь помещают в муфельную печь на прокаливание в течение 20 мин. Прокаливание продолжают до тех пор, пока погрешность взвешивания (0,0002 г) не превысит разницы между двумя последовательными взвешиваниями.

Из-за высокой гигроскопичности золы и тигля операцию взвешивания следует проводить быстро.

7.1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЗОЛЫ С АЗОТНОЙ КИСЛОТОЙ

Подготавливают тигли, обугливают продукт, начинают озоление так же, как это указано в методике определения зольности без ускорителя.

Озоление ведут до превращения содержимого тигля в рыхлую массу серого цвета, после этого тигли вынимают из муфельной печи на фарфоровую или металлическую подставку и дают остыть. Затем в тигли с помощью пипетки или стеклянной палочки добавляют 2 капли химически чистой азотной кислоты плотностью 1,2 г/см³ и помещают его на открытую дверцу муфельной печи для выпаривания азотной кислоты. Выпаривают азотную кислоту осторожно, не допуская кипения, во избежание ее разбрызгивания и потери оголяемого продукта. После испарения кислоты тигли прокаливают в глубине муфельной печи, нагретой до 600-900 °С (ярко-красное каление), в течение 20-30 мин. Затем тигли охлаждают в эксикаторе, взвешивают и вычисляют массовую долю золы.

Запись в лабораторном журнале

Масса исследуемого образца, *a* г

Масса пустого тигля , *b* г

Масса тигля с золой после прокаливания, *c* г

$$X = (b - a) * 100 / a$$

7.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЗОЛЫ, НЕ РАСТВОРИМОЙ В СОЛЯНОЙ КИСЛОТЕ

Многие ГОСТы на методы испытания пищевых продуктов для характеристики их чистоты предусматривают определение не только общего содержания золы, но и золы, не растворимой в 10 %-й соляной кислоте. Этот метод в значительной степени условный, поскольку вместе с песком в кислоте не будет растворяться и естественная кремневая кислота, находившаяся в исследуемом объекте, а с другой стороны, среди минеральных загрязнений могут быть соединения, растворимые в соляной кислоте.

Техника определения.

5 г вещества, взвешенного с точностью до 0,01г, озоляют сухим способом в тигле. Полученную золу растворяют в 10-30 мл 10 %-й соляной кислоты при нагревании на водяной бане. Верхний прозрачный слой солянокислого раствора декантируют через маленький беззольный фильтр. Золу обрабатывают кислотой еще раз, после чего содержимое тигля количественно переносят на тот же фильтр. Остаток на фильтре промывают горячей дистиллированной водой до исчезновения реакции на хлор-ион (с 10 %-м раствором AgNO_3). Промытый и подсушенный в сушильном шкафу при температуре 100-105 °С фильтр с осадком переносят в тарированный, чистый, хорошо прокаленный тигель и сжигают до полного озоления. После этого тигель с осадком прокаливают до постоянной массы, охлаждают и взвешивают. Результат взвешивания выражают в процентах.

7.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Цель работы: освоить комплексонометрический метод определения массовой доли кальция и магния в продуктах питания.

Реактивы: сухая индикаторная смесь эриохрома черного Т; сухая индикаторная смесь мурексида; раствор метиленового красного; 0,005 н раствор

трилона Б; аммиачно-аммонийная буферная смесь (рН 9,3); 2 н, 10 %-й растворы гидроксида натрия; 2 %-й раствор сульфата натрия; 25 % соляная кислота.

Посуда и приборы: аналитические весы; муфель; электроплитка; водяная баня; пипетки; бюретки; мерные цилиндры; воронки; конические колбы для титрования.

Кальций – трудноусвояемый элемент, его соединения, поступающие с пищей, практически нерастворимы. Щелочная среда тонкого кишечника способствует образованию трудноусвояемых соединений, и лишь желчные кислоты обеспечивают всасывание кальция. Ассимиляция кальция тканями зависит не только от содержания его в продуктах, но и от соотношения с жирами, магнием, фосфором, белками. Наиболее благоприятное соотношение кальция и фосфора в продуктах питания составляет 1:1,2... 1,5, кальция и магния – 1:0,25...0,3. Избыток фосфора приводит к вымыванию кальция из костей, повышению нагрузки на почки, снижает усвоение железа. Избыток магния сказывается отрицательно на всасывании кальция. Трудность соблюдения такого соотношения обусловлена тем, что большинство продуктов питания богаче фосфором, чем кальцием. Соотношение кальций: фосфор в мясе – 1:20, яйцах 1:4; картофеле – 1:5, хлебе и хлебобулочных изделиях – 1:5. Хорошая сбалансированность кальция и фосфора в плодах и овощах (1:1), но кальция в них содержится немного, тем более, что отрицательно на всасывание кальция влияют фитин и щавелевая кислота, содержащиеся в растительных продуктах. Избыток кальция может привести к кальцинозу почек, аорты и других органов. Избыток фосфора нарушает солевой обмен, тормозит всасывание кальция в кишечнике, способствует формированию сдвигов на уровне клеток при нервно-эмоциональных реакциях. Нарушение фосфорно-кальциевого обмена может вызвать ряд заболеваний: рахит, остеопороз и др.

Определение массовой доли кальция и магния в пищевых продуктах.

Определение кальция и магния основано на комплексонометрическом титровании в присутствии разных металлоорганических индикаторов при определенном

значении рН среды. При взаимодействии трилона Б с ионами кальция и магния образуются растворимые в воде комплексы и тем самым ионы выводятся из ионного состояния. Комплексы ионов кальция и магния с трилоном Б обладают разной прочностью и образуются при определенных для каждого катиона значениях рН. Если в раствор, содержащий ионы одного из металлов, ввести индикатор, дающий непрочное цветное соединение с ионами этого металла, то при добавлении трилона Б к такому окрашенному раствору в эквивалентной точке произойдет изменение окраски.

Материалы, реактивы и оборудование. Зерно, мука, солод и другие виды пищевого сырья или продуктов; трилон Б, водный раствор концентрацией 0,005 н; буферный раствор, рН 9,3, для приготовления буферного раствора в мерной колбе вместимостью 1000 мл в 100 мл 20 %-го водного раствора аммиака растворяют 20 г хлорида аммония и доводят объем до метки дистиллированной водой; гидроксид натрия, водный раствор с массовой долей 10 % и водный раствор концентрации 2 н; сульфат натрия, водный раствор с массовой долей 2 %; соляная кислота, водный раствор с массовой долей 25 %; сухая индикаторная смесь эриохрома черного Т, для приготовления смеси в сухой фарфоровой ступке растирают 10 г хлорида натрия и 0,2 г эриохрома черного Т; сухая индикаторная смесь мурексида, для приготовления смеси в сухой фарфоровой ступке растирают 10 г хлорида натрия и 0,2 г мурексида, полученный порошок хранят в стеклянной посуде с притертой пробкой; метиловый красный, водный раствор с массовой долей 0,01%; аналитические весы, муфельная печь, электроплитка, водяная баня, пипетки вместимостью 2, 5, 10 и 50 мл, микробюретка вместимостью 5 мл, бюретка вместимостью 25 мл, мерный цилиндр вместимостью 100 мл, мерная колба вместимостью 50 мл, конические колбы для титрования.

Перед определением кальция и магния навеску анализируемого материала (за исключением молока) массой 5...25 г озоляют, как описано выше. После определения массовой доли золы в тигель с золой добавляют 5 мл 25 %-го раствора соляной кислоты, покрывают тигель часовым стеклом и помещают в кипящую водяную баню для растворения осадка. Полученный раствор фильтруют

через беззольный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл. Промывают тигель и фильтр трижды порциями дистиллированной воды по 5 мл, собирая промывные воды в ту же мерную колбу, и доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой. 10 мл раствора из мерной колбы переносят в колбу для титрования и нейтрализуют 2 н раствором едкого натра в присутствии метилового красного до перехода окраски раствора в желтый цвет.

В колбу для титрования вместимостью 250 мл вносят 100 мл дистиллированной воды, 2 мл 2%-го раствора сульфата натрия, 5 мл аммиачного буферного раствора (рН 9,3), на кончике шпателя сухой индикаторной смеси эриохрома черного Т и перемешивают. По 50 мл полученного раствора сине-голубого или зелено-голубого цвета переносят в две колбы для титрования. В первую колбу вносят 2 мл нейтрализованного раствора золы. Цвет раствора при этом изменится на винно-красный. Через 2 мин содержимое колбы титруют 0,005 н раствором трилона Б из микробюретки до перехода окраски в сине-голубую. В качестве контроля титруют трилоном Б раствор из второй колбы. Суммарное содержание кальция и магния (X, мг%) в исследуемой пробе рассчитывают по формуле

$$X = 0.1 (V_0 - V_k) * 50 * 100 / m * V,$$

где V_0 и V_k – объем 0,005 н раствора трилона Б, пошедшего на титрование опытного и контрольного образца соответственно, мл; V – объем нейтрализованного фильтрата, взятого для титрования, мл; m – масса навески исследуемого образца, г; 0,1 – количество кальция, соответствующее 1 мл 0,005 н раствора трилона Б, мг; 50 – объем фильтрата, мл, 100 – коэффициент пересчета в проценты.

Определение массовой доли кальция. В колбу для титрования вместимостью 250 мл вносят 100 мл дистиллированной воды, 2 мл 10 %-го раствора гидроксида натрия, на кончике шпателя сухой индикаторной смеси мурексида и

перемешивают. По 50 мл полученного раствора лилового цвета переносят в две колбы для титрования. В первую колбу вносят 2 мл нейтрализованного раствора золы. Содержимое колбы должно приобрести малиново-красный цвет. Через 2 мин содержимое колбы титруют 0,005 н раствором трилона Б из микробюретки до перехода окраски в лиловую. В качестве контроля титруют трилоном Б раствор из второй колбы. Массовую долю кальция (X_{Ca} , мг%) в исследуемой пробе рассчитывают по формуле:

$$X_{Ca} = 0.1 (V_0 - V_k) * 50 * 100 / m * V,$$

где V_0 и V_k - объем 0,005 н раствора трилона Б, пошедшего на титрование опытного и контрольного образца соответственно, мл; V – объем нейтрализованного фильтрата, взятого для титрования, мл; m – масса навески исследуемого образца, г; 0,1 – количество кальция, соответствующее 1 мл 0,005 н раствора трилона Б, мг; 50 – объем фильтрата, мл, 100 – коэффициент пересчета в проценты.

Определение массовой доли магния. Массовую долю магния (X_{Mg} , мг%) в исследуемой пробе рассчитывают по формуле

$$X_{Mg} = 24,2 * (X - X_{Ca}) / 40,$$

где 24,2 и 40 – атомные массы магния и кальция.

Определение массовой доли кальция и магния в молоке. Определение ведут комплексонометрическим методом: кальция в присутствии флуорексона, магния – в присутствии эриохрома черного Т.

Реактивы и оборудование. Гидроксид калия, водный раствор с массовой долей 30%; хлорид кальция, водный раствор концентрации 0,1 н; сухая индикаторная смесь флуорексона, готовят растиранием в ступке 0,2 г флуорексона и 10 г хлорида натрия; трилон Б, водный раствор концентрации 60 0,1 н; аммиач-

ный буферный раствор, готовят растворением 10 г хлорида аммония в 500 мл дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл, затем добавляют 50 мл концентрированного раствора аммиака и смесь доводят до метки; сухая индикаторная смесь эриохрома черного Т, готовят растиранием в ступке 0,2 г эриохрома черного Т и 10 г хлорида натрия; микробюретки вместимостью 5 мл; колбы конические вместимостью 150 мл; пипетки вместимостью 5 и 10 мл.

Определение массовой доли кальция. Для определения кальция в коническую колбу вносят 90 мл воды, 5 мл раствора гидроксида калия, 5 мл исследуемого молока, на кончике шпателя индикаторной смеси флуорексона и перемешивают. Образующийся хлопьевидный осадок не мешает определению. В колбу при постоянном перемешивании приливают 3,5 мл раствора трилона Б. Осадок должен полностью раствориться, а раствор – приобрести красновато-желтую окраску. Содержимое колбы титруют раствором хлорида кальция до появления флуоресцирующего зеленого окрашивания, хорошо видимого на черном фоне. Переход окраски – резкий от одной капли раствора. Параллельно проводят контрольное определение (без молока). Массовую долю кальция (X_{Ca} , %) рассчитывают по формуле

$$X_{Ca} = 40 (V_0 - V)/\rho,$$

где V_0 и V – объемы раствора хлорида кальция, пошедшие на титрование соответственно контрольного и основного раствора, мл; ρ – плотность молока, кг/м³.

Определение массовой доли магния. В коническую колбу вносят 90 мл воды, 5 мл аммиачного буферного раствора, 5 мл исследуемого молока, на кончике шпателя индикаторную смесь эриохрома черного Т. В колбу при постоянном перемешивании приливают 5 мл раствора трилона Б. Раствор должен приобрести синюю окраску. Содержимое колбы титруют раствором хлорида кальция до перехода окраски в малиновую. Переход окраски резкий (от одной – двух капель раствора). Параллельно проводят контрольное определение (без молока). Массовую долю магния (X_{Mg} , %) рассчитывают по формуле

$$X_{Mg} = 24,2(V_0' - V' - V_0 + V)/\rho,$$

где V_0' , V' – объемы раствора хлорида кальция, пошедшие на титрование контрольного и основного раствора, мл.

7.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЙОДА

Качественное определение

Сущность метода. Метод основан на взаимодействии йода с крахмалом и образовании комплексного соединения, окрашенного в синий цвет [6].

Аппаратура, реактивы и материалы. Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104-80; электропечь сопротивления лабораторная по ГОСТ 13474-79; электроплитка бытовая по ГОСТ 14919-83; термометр ртутный стеклянный лабораторный по ГОСТ 215-73 с пределами измерений от 0 до 200 °С; тигли фарфоровые по ГОСТ 9147-80; пипетки по ГОСТ 20292-74, вместимостью 1 и 25 см³; воронки стеклянные по ГОСТ 25336-82; стаканы и колбы стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336-82; бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026-76; бумага лакмусовая. Натрий углекислый безводный по ГОСТ 83-79, х.ч.; натрий углекислый 10-водный по ГОСТ 84-76, х.ч.; натрий азотистокислый по ГОСТ 4197-74, х.ч.; кислота серная по ГОСТ 4204-77, х.ч., раствор 250 г/дм³ (25 %-ный); крахмал растворимый по ГОСТ 10163-76, раствор 10 г/дм³ (1 %-ный); вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

Проведение испытания.

В тигель отвешивают от 0,5 до 1,0 г порошка из ламинарии с абсолютной погрешностью не более 0,001 г, приливают 5 см³ раствора 200 г/дм³ углекислого натрия, высушивают и обугливают в электропечи сопротивления при слабом калении (400 - 450 °С) до сероватого цвета.

Обугленную массу заливают 25 см³ воды, отфильтровывают от угля и промывают еще 25 см³ воды. Промывные воды собирают вместе в стакан или колбу, подкисляют раствором 250 г/дм³ серной кислоты до кислой реакции на лакмус, прибавляют от 1 до 2 капель насыщенного раствора азотистокислого натрия и

1 см³ свежеприготовленного крахмала. Посинение раствора указывает на присутствие йода в продукте.

Количественное определение (титрометрический метод)

Сущность метода. Метод основан на образовании окрашенного комплексного соединения йода с азотистокислым натрием в кислой среде и титрометрическом определении его [6].

Аппаратура, реактивы, и материалы. Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104-80; электропечь сопротивления лабораторная по ГОСТ 13474-79; цилиндры мерные с притертой пробкой по ГОСТ 1770-74, вместимостью 100 см³; электроплитка бытовая по ГОСТ 14919-83; воронки стеклянные по ГОСТ 25336-82; тигли фарфоровые по ГОСТ 9147-80; бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026-76. Калия гидроокись по ГОСТ 24363-80, раствор 330 г/дм³ (33 %-й); калий йодистый по ГОСТ 4232-74, х.ч.; бензин или хлороформ по Госфармакопее СССР; кислота серная по ГОСТ 4204-77, концентрированная, х.ч.; натрий азотистокислый по ГОСТ 4197-74, х.ч., раствор 250 г/дм³ (25 %-ный); вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

Подготовка к испытанию.

Приготовление раствора йодистого калия: 5 г йодистого калия, отвешенных с абсолютной погрешностью не более 0,001 г, растворяют в 1 дм³ дистиллированной воды. В 1 см³ полученного раствора содержится 0,00382 г йода.

Проведение испытания.

Навеску измельченного продукта от 0,5 до 1 г, взвешенную в тигле с абсолютной погрешностью не более 0,001 г, смачивают 5-10 каплями раствора 330 г/дм³ гидроокиси калия. Содержимое тигля подсушивают и осторожно обугливают в электропечи сопротивления при слабом калении (400 – 450 °С), периодически; смачивая водой, до появления черно-стального оттенка.

Уголь измельчают стеклянной палочкой в порошок, обливают кипящей дистиллированной водой в количестве 10 см³, после чего перемешивают и фильтру-

ют через бумажный фильтр в мерный цилиндр с притертой пробкой вместимостью 100 см³.

Уголь промывают кипящей дистиллированной водой на фильтре последовательно пять-шесть раз, причем общее количество фильтрата не должно превышать 60 см³. После охлаждения фильтрата объем жидкости в цилиндре доводят дистиллированной водой до 60 см³ и добавляют 10 см³ бензина (хлороформа), 6 - 7 капель концентрированной серной кислоты и 3-4 капли раствора 250 г/дм³ азотистокислого натрия. Смесь интенсивно взбалтывают в течение 2 мин.

Одновременно проводят контрольный опыт, используя вместо исследуемого образца дистиллированную воду и все реактивы, как в опыте.

Из бюретки по каплям приливают раствор йодистого калия до одинаковой окраски в рабочем и контрольном опытах.

Обработка результатов. Массовую долю йода (X_3) в продукте в процентах, в пересчете на сухое вещество, вычисляют по формуле:

$$X_3 = \frac{V \times 0.00382 \times 100 \times 100}{m(100 - m_1)},$$

где V - объем раствора йодистого калия, израсходованного на титрование, см³;

m - масса образца, г; m_1 - массовая доля воды в продукте, %.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,01 %. Вычисление проводят до второго десятичного знака.

7.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ В СОЛЕННОЙ РЫБЕ

Оборудование: Колбы мерные вместимостью 150 и 200 см³, воронки, пипетки, фильтры бумажные.

Реактивы: нитрат серебра – 0,1 н. (моль/дм³) раствор, хромат калия – 10%-й насыщенный раствор, дистиллированная вода.

Ход определения:

Навеску фарша рыбы массой 2 г помещают в мерную колбу вместимостью 200 см³ и заливают нагретой до 40-50 °С дистиллированной водой на 1/4 объема колбы. Смесь фарша с водой настаивают в течение 15-20 мин, сильно взбалтывая колбу в течение 30 с через каждые 5 мин.

Жидкость в колбе охлаждают до комнатной температуры, затем доводят дистиллированной водой до метки, взбалтывают и фильтруют через сухой складчатый фильтр, причем первые 20-30 см³ фильтрата отбрасывают.

Отбирают пипеткой 25 см³ фильтрата в колбу вместимостью 150 см³ и титруют 0,1 н (моль/дм³) раствором нитрата серебра в присутствии 2-3 капель насыщенного (10 %) раствора хромата калия до исчезающей красновато-бурой окраски.

Содержание хлорида натрия определяют по формуле:

$$X = n * 0,00585 * V * 100 / m * V_1, \%$$

где n – объем 0,1 н. (моль/дм³) раствора нитрата серебра, израсходованного на титрование, см³;

0,00585 – содержание хлорида натрия, соответствующее 1 см³ точно 0,1 н (моль/дм³) раствора нитрата серебра, г;

V – объем жидкости в мерной колбе, см³;

V_1 – объем фильтрата, взятый для титрования, см³;

m – навеска фарша, г.

7.6. ТИТРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФОСФОРА

Сущность метода заключается в осаждении молибдатом аммония фосфат-ионов из раствора, полученного после минерализации анализируемого

образца рыбной или крилевой муки, растворении полученного осадка щело-чью и титровании избытка щелочи раствором серной кислоты.

Аппаратура, материалы и реактивы: весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104; весы лабораторные 3-го и 4-го классов точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТ 24104; электроплитка бытовая; колбы Кьельдаля вместимостью 100 см³ по ГОСТ 25336; воронки стеклянные диаметром 36-56 мм по ГОСТ 25336; колбы мерные 1(2)-2(100) по ГОСТ 1770; пипетки градуированные 1(2,4,5,6)-2-2(5,10,25) по ГОСТ 29169, ГОСТ 29227 - ГОСТ 29230; стаканы химические или колбы конические вместимостью 300-400 см³ по ГОСТ 25336; фильтры беззольные "синяя лента"; серная кислота концентрированная по ГОСТ 4204, х.ч., ч.д.а., и стандарт-титр серной кислоты, раствор концентрации H₂SO₄ 0,05 моль/дм³, 0,1 н. раствор; азотная кислота концентрированная по ГОСТ 4461, х.ч., ч д а. и раствор с массовой долей 1%; аммиак водный по ГОСТ 3760, х.ч., ч д а.; аммоний азотнокислый по ГОСТ 27867, х.ч., ч.д.а., насыщенный раствор; натрия гидроксид по ГОСТ 4328, х.ч., ч.д.а., NaOH 0,1 моль/дм³, (0,1 н.) раствор; аммоний молибденовокислый по ГОСТ 3765, х.ч., ч.д.а.; фенолфталеин, спиртовой раствор с массовой долей 1%, готовят по ГОСТ 4919.1; метил-рот, спиртовой раствор с массовой долей 1%, готовят по ГОСТ 4919.1; спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300; вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Навеску рыбной или крилевой муки массой 0,3-0,5 г взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в колбу Кьельдаля вместимостью 100 см³, приливают 5 см³ концентрированной серной кислоты. Колбу с содержимым осторожно нагревают так, чтобы избежать сильного вспенивания. Для ускорения процесса озоления пробы в колбу, после ее охлаждения, приливают 2 см³ азотной кислоты и снова нагревают.

После обесцвечивания раствор охлаждают и приливают 5 см³ дистиллированной воды, затем осторожно кипятят для удаления окислов азота (до исчезновения бурой окраски паров окислов азота).

Охлажденный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ многократным смыванием дистиллированной водой и после охлаждения объем раствора доводят до метки, перемешивают.

В химический стакан или коническую колбу вместимостью 300-400 см³ отбирают 25 см³ раствора, добавляют 2 капли индикатора метилового красного, нейтрализуют аммиаком до перехода красной окраски в желтую, добавляют 5 см³ азотной кислоты, 10 см³ насыщенного раствора азотнокислого аммония и доводят объем дистиллированной водой до 60-80 см³. Раствор подогревают до 30-45 °С и при перемешивании приливают 10 см³ раствора молибденовокислого аммония, дают постоять 1-2 мин и снова приливают при перемешивании 5 см³ раствора молибденовокислого аммония. Смесь перемешивают в течение 5-10 мин и оставляют на 1 ч. После этого фильтруют через плотный бумажный фильтр, стараясь оставить осадок в колбе. Осадок тщательно промывают один раз раствором азотной кислоты с массовой долей 1%, а затем охлажденной дистиллированной водой до нейтральной реакции на лакмус промывных вод.

Промытый фильтр с осадком переносят в колбу, в которой проводилось осаждение, и приливают 0,1 моль/дм³ раствора гидроокиси натрия в объеме, достаточном для растворения осадка. Осадок растворяют при помешивании, стеклянной палочкой измельчают фильтр, добавляют 20 см³ прокипяченной холодной дистиллированной воды, 0,5 см³ фенолфталеина и оттитровывают избыток щелочи 0,05 моль/дм³ раствором серной кислоты.

Обработка результатов

Массовую долю фосфора, %, вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{(VK_1 - V_1K_2) \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 0,0001348}{m \cdot 25},$$

где V – объем раствора гидроокиси натрия 0,1 моль/дм, добавленный для растворения осадка, см³;

K_1 – коэффициент пересчета на раствор гидроокиси натрия точной концентрации 0,1 моль/дм³;

V_1 – объем раствора серной кислоты концентрацией 0,05 моль/дм³, израсходованный на титрование избытка щелочи, см³;

K_2 – коэффициент пересчета на раствор серной кислоты точной концентрации 0,05 моль/дм³;

V_2 – конечный объем раствора минерализованной пробы, см³;

100 – коэффициент пересчета в проценты;

0,0001348 – количество фосфора, соответствующее 1 см³ раствора концентрацией 0,1 моль/дм³ гидроокиси натрия, г;

m – масса навески, г;

25 – объем испытуемого раствора, взятый для определения, см³.

За результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений. Результаты вычисляют до третьего десятичного знака и округляют до второго десятичного знака.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности $P=0,95$ не должны превышать: $d = 0,05$ абс. %.

7.7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ

Наличие металлических примесей в кормовой муке вызывается интенсивным механическим воздействием на нее металлических деталей аппаратов и машин в процессе переработки: мешалки котла, деталей пресса, дробящего механизма дробилки. Возможно и случайное попадание в муку металлических предметов. Количество металлических (точнее, стальных и железных) примесей в муке зависит от исправности работы магнитных улавливателей, установленных на прессе и в аппарате для просеивания.

Техника определения. 500 г кормовой муки рассыпают на листе плотной бумаги или на стекле тонким слоем. Металлические частицы извлекают с помощью магнита, концы которого обертывают папиросной бумагой для удобства снятия с него частиц. Подъемная сила магнита 150-200 г/см². Магнитом водят над поверхностью муки во всех направлениях, не прикасаясь к муке. По мере накопления частиц на магните их осторожно снимают над листом белой бумаги и собирают на взвешенном часовом стекле. Извлечение заканчивают, когда к магниту перестают приставать металлические частицы. После этого муку смешивают, снова рассыпают и операцию извлечения повторяют. Затем взвешивают извлеченные частицы. Если в них попала кормовая мука, производят обезжиривание в весовом стаканчике серным или петролейным эфиром и высушивают на воздухе или на водяной бане. Железные частицы отделяют магнитом и взвешивают. Количество металлических примесей выражают в граммах на тонну муки.

После взвешивания, пользуясь лупой, устанавливают форму частиц, а затем их размер с помощью сита, руководствуясь требованиями стандарта.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Минеральные вещества: классификация, общая характеристика и их содержание в пищевых продуктах.

2. Методы определения массовой доли минеральных веществ («сухой» и «мокрый»).

3. Методы определения минеральных веществ (фотоэлектроколориметрический, спектрофотометрический анализ, атомно-абсорбционная спектроскопия, метод инверсионной вольтамперометрии и др.).

4. Сущность метода золы, не растворимой в соляной кислоте.

5. Метод определения металлических примесей в сырье.

6. Сущность метода определения массовой доли кальция и магния в продуктах питания.

7. *Сущность метода определения массовой доли йода.*
8. *Сущность метода определения содержания фосфора в пищевых продуктах.*
9. *Методы определения поваренной соли в пищевых продуктах.*
10. *Методы определения тяжелых металлов в пищевых продуктах.*

Лабораторная работа № 8

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНОВ В СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БАД

Цель работы: формирование умений и навыков по определению витаминов в пищевых продуктах с применением различных методов.

Задание по лабораторной работе:

1. Ознакомиться с методиками определения витамина С.
2. Ознакомиться с методикой определения содержания β -каротина в плодах и овощах.
3. Ознакомиться с методикой определения витамина Е.
4. Ознакомиться с методикой определения витамина К.

8.1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С

Количественное определение витамина С представлено в лабораторной работе № 3.

8.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ β -КАРОТИНА В ПЛОДАХ И ОВОЩАХ

Каротиноиды относятся к липохромам – пигментам, которые растворяются в жирах, окрашивая при этом растворы в желтый, оранжевый и красный цвета. Эти пигменты устойчивы к щелочам и чувствительны к действию кислот.

Каротиноиды подразделяются на две большие группы – бескислородные и окисленные. К первой группе относятся: α -, β - и γ -каротины, содержащиеся в корнеплодах моркови; ликопин, содержащийся в плодах помидоров, ягодах паслена и ландыша, цветках календулы; лепротин, выделенный из бактерий *Sarcina aurantiaca*. Ко второй группе относятся ксантофиллы: лютеин, или дигид-роксикаротин, являющийся постоянным спутником каротина; криптоксан-

тин – пигмент желтых зерен кукурузы, содержащийся в кожуре мандаринов, плодах дынного дерева и зародышах пшеницы; зеаксантин – желтый пигмент семян кукурузы; рубиксантин, содержащийся в плодах шиповника; капсорубин и капсантин – важнейшие пигменты стручкового перца.

Основными представителями каротиноидов у высших растений являются пигменты β-каротин (оранжевый) $C_{40}H_{56}$ и ксантофилл (желтый) $C_{40}H_{56}O_2$. Каротин (от лат. *carota* – морковь) – основной каротиноид высших растений, один из наиболее изученных характерных представителей желтых пигментов – был открыт Ваккенродером в 1831 г. в моркови.

В чистом кристаллическом состоянии и в виде масляных препаратов в промышленных масштабах каротин получают из специальных сортов моркови, тыквы, плодов шиповника, зеленой хвои, водорослей и других растительных материалов. Химически чистый каротин – блестящие медно-красные кристаллы. Из-за большого количества двойных связей молекула каротина неустойчива: он не растворяется в воде, глицерине, но легко растворяется в хлороформе, сероуглероде и бензоле, серном эфире, этиловом спирте, бензине и др.

Практическое использование каротинов основывается на биологической связи между каротинами и витамином А. Изомеры каротина обладают различной способностью образовывать в организме человека витамин А. Считается, что 1 мг β-каротина по эффективности соответствует 0,17 мг витамина А. β-каротин вдвое активнее, чем его α- и γ-изомеры. В животном организме β-каротин распадается с образованием двух молекул витамина А, а из α- и γ-каротина образуется по одной молекуле. Каротиноиды накапливаются в печени, именно там происходит расщепление молекул каротина под влиянием фермента каротиназы.

Потребность взрослого человека в витамине А составляет 1 мг/сут. При обычном питании она обеспечивается в одинаковой степени продуктами как животного, так и растительного происхождения (в первую очередь за счет β-каротина). Из продуктов животного происхождения больше всего витамина А (мг/100 г съедобной части) содержится в рыбьем жире – 19, говяжьей

печени – 8, печени трески и свиной печени – 4; гораздо меньше его в сливочном масле – 0,4–0,5, яйцах – 0,4 и молоке – 0,025. Из растительных продуктов β-каротина (мг / 100 г съедобной части) больше всего в красной моркови – 9; ягодах рябины – 9 и морошки – 7,9; зелени петрушки – 5,7 и сельдерея – 4,5; зеленом луке и красном перце – 2; абрикосах – 1,6; тыкве – 1,5; томатах – 1. В моркови β-каротин составляет около 85 % от общего количества каротина, причем особенно много его в Нантской 35 (88,5 %) и Шантене 27 (87,6 %), т. е. в сортах с сильно окрашенными в оранжево-красный цвет мякотью и сердцевинной. Усвоение организмом человека каротина из овощей достигает 50 %, при этом оно увеличивается при добавлении к пище жиров, токоферола. Установлено, что при хранении моркови при температуре 4 °С в течение первых 2,5 месяцев может наблюдаться увеличение содержания β-каротина. При дальнейшем хранении содержание его снижается.

Так как каротин содержится в основном в мякоти овощей и плодов, то соки из каротинсодержащего сырья, как правило, не осветляют; выпускают соки с мякотью, обладающие высокой питательной и физиологической ценностью. Например, ввиду высокого содержания каротина из моркови получают только соки с мякотью – натуральный или с сахаром.

Среди овощных соков доминирующее положение занимают томатный, морковный, тыквенный. Из плодов вырабатывают соки с мякотью натуральные и с добавлением сахарного сиропа (нектары): персиковый, абрикосовый, айвовый. Технический уровень производства соков с мякотью в большинстве стран высок. Также в промышленности вырабатывают значительный ассортимент овощных и фруктовых консервов, богатых каротином, для детского, диетического и лечебного питания. В широком ассортименте выпускается сушеная овощная продукция: овощи (морковь, пряная зелень, зеленый горошек и др.); фрукты (абрикосы, вишня, черешня, виноград, ягоды); овощные и фруктовые порошки (морковный, тыквенный, томатный и др.).

При тепловой обработке плодов и овощей содержание витамина А снижается за счет изомеризации и превращения части витамина А в менее активные

формы: на 15–20 % в зеленых овощах, которые содержат главным образом β -каротин; на 30–35 % – в овощах с желтым цветом, содержащих преимущественно α -каротин. Увеличение продолжительности нагрева увеличивает потери.

Сушка овощей с помощью воздуха вызывает значительные потери каротина, начиная с почти полного их разрушения в сушилках старого типа, в которых применяется горячий воздух при атмосферном давлении, до 10–20 % в вакуум-сушилках. Так, морковь теряет 40–50 % β -каротина при сушке с помощью воздуха, 20 % при сушке под вакуумом и 7 % при сушке под вакуумом с введением в сушилку азота, когда сушка заканчивается и вакуум нарушается. Бланширование и замораживание почти не влияют на величину А-витаминной активности. При переработке моркови образуются отходы с достаточно высоким содержанием каротина; например, при производстве сока на долю отходов приходится 40 %, а при выработке пюре – 20–22 %, из которых получают белково-каротиноидный препарат, содержащий 0,83 % каротина. Белково-каротиноидный препарат используют при производстве комбикормов.

Из растительного сырья, богатого каротином, получают желтый краситель для окраски конфет, плодовых соков, напитков, масла, сыра, мороженого и др. Каротин используют в виде антиоксиданта, улучшающего хранение пищевых жиров. В животноводстве в рацион питания входит витаминная мука из люцерны и хвои, содержащая каротин.

Проведение определения. Метод основан на извлечении β -каротина из растительных объектов гексаном и оптическом определении β -каротина в гексановом экстракте. Лабораторная работа проводится фронтальным методом тремя группами бакалавров по два-четыре человека.

1. Приготовление лабораторных проб. Корнеплоды моркови (три штуки) вымыть, обсушить фильтровальной бумагой, очистить от кожицы, разрезать вдоль. Половинку каждого корнеплода растереть на терке, тщательно перемешать. Мякоть тыквы вымыть, высушить фильтровальной бумагой, очистить от кожуры и натереть на терке, тщательно перемешать. Плоды рябины и (или)

шиповника вымыть, высушить фильтровальной бумагой, растереть в фарфоровой ступке до получения кашицеобразной массы, тщательно перемешать.

2. В три стеклянных стаканчика на 50 мл взять навески исследуемого растительного сырья по 3 г (с точностью до 0,01 г).

3. Перенести навески в фарфоровые ступки и растирать с небольшим количеством песка в течение 3-5 мин; добавить немного Na_2CO_3 , затем добавить Na_2SO_4 и растирать все не более 15 мин до достижения порошкообразной консистенции.

4. Поместить ступки с растертыми навесками в темное место на 30 мин.

5. В воронку Бюхнера поместить бумажный фильтр и закрепить ее в колбе Бунзена. Перенести на фильтр обезвоженную массу из ступки. Ополоснуть ступку небольшим количеством гексана и вылить на фильтр. Чистым гексаном залить растительную массу таким образом, чтобы она была полностью покрыта растворителем.

6. Отделить экстракт с помощью вакуума, добавляя небольшие порции гексана до его полного обесцвечивания (общий объем растворителя не должен превышать 100 мл).

7. Перенести экстракт в мерную колбу на 100 мл, довести объем экстракта до метки гексаном.

8. Измерить оптическую плотность экстракта на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре при длине волны = 440 нм, используя кювету толщиной 10 мм. В качестве стандартного раствора используют гексан.

Обработка полученных результатов. Рассчитать содержание β -каротина в продукте по формуле: $X = 0,626 \cdot V \cdot D \cdot 100 / m$,

где X – содержание β -каротина в продукте, мг/100 г;

0,626 – коэффициент пересчета;

V – объем экстракта (100 мл);

D – оптическая плотность экстракта, отн. ед.;

m – навеска продукта, мг.

Результаты исследования содержания β -каротина в растительных объектах заносят в таблицу 8.1.

Таблица 8.1 – Экспериментальные данные определения содержания β -каротина в продукте

Исследуемое сырье	№ пробы	Объем раствора, мл	D, отн.ед.	Xi	\bar{X}	$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$
				мг/100г		
	1					
	2					
	3					
	1					
	2					
	3					
	1					
	2					
	3					

8.3. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Е

Распространение. Витамин Е широко распространен в растительном и животном мире. Он найден в одноклеточных организмах, дрожжах, водорослях. α -токоферол встречается практически во всех животных тканях. Растительные клетки синтезируют витамина Е, его концентрация особенно высока в хлоропластах. Содержание витамина Е в пшеничной муке и белом хлебе составляет 2,8-3,4 мг на 1 кг сырого веса. Такое же содержание в бобах. В картофеле – 1 мг на 1 кг сырого веса. В неочищенных сырых яблоках – 6,4-11 мг, после чистки и извлечения сердцевинки – соответственно 6,7 и 3,4 мг; в сливочном масле – 29 мг, в говяжьем жире – 100 мг, в арахисовом масле – 140 мг, в кукурузном масле – 100-230 мг на 1 кг сырого веса.

Оборудование и реактивы. Фотоколориметр. Водяная баня. Воронка делительная на 200 мл. Колбы круглодонные на 100 и 250 мл с обратным воздушным холодильником. Колбы мерные на 25 мл (2 шт.). Цилиндры измерительные с носиком на 25 мл (4 шт.). Набор пипеток с одной меткой на 1, 2 и 5 мл. Молоко. Гидроксид калия (60 %-й). Этиловый спирт (96%-й). Диэтиловый эфир. Сульфат калия (60 %-й). Этиловый спирт (96 %-й). Диэтиловый эфир. Сульфат натрия (прокаленный). Этиловый спирт (абсолютный). Азотная кислота (d –

1,4). Серия стандартных спиртовых растворов α -токоферола с возрастающей концентрацией (от 100 до 400 мкг в 1 мл).

Ход анализа. В колбу, снабженную воздушным обратным холодильником, вливают 100 мл молока, 25 мл 60 %-го раствора гидроксида калия и 20 мл 96 %-го этилового спирта. Колбу в течение 2 ч нагревают на кипящей водяной бане. Полученный гидролизат охлаждают, разбавляют 20 мл воды и количественно переносят в делительную воронку. Извлечение α -токоферола ведут диэтиловым эфиром, который вносят в делительную воронку в три приема: первая экстракция – 50 мл, две последующих – по 25 мл эфира. Соединенные вместе эфирные вытяжки промывают 3-4 раза дистиллированной водой в делительной воронке до полного удаления щелочи (по фенолфталеину) и обрабатывают прокаленным сульфатом натрия (5-7 г) до прозрачной жидкости. Экстракт фильтруют в колбу на 100 мл, а осадок на фильтре промывают небольшим количеством эфира, который присоединяют к основному экстракту. Эфир испаряют на водяной бане, а полученный сухой остаток растворяют в 5 мл абсолютного спирта и приливают 1 мл концентрированной азотной кислоты. Присоединяют к колбе обратный холодильник и нагревают ее в течение 3 мин для окисления α -токоферола.

В качестве контроля используют абсолютный этиловый спирт, 5 мл которого нагревают также, как и исследуемый раствор, с 1 мл концентрированной азотной кислоты в течение 3 мин на кипящей водяной бане. Обе колбы охлаждают и оставляют на 15 мин в темноте для развития окраски. Затем опытную и контрольную реакцию смеси переносят количественно в мерные колбы на 25 мл и доводят абсолютным спиртом до метки. Оптическую плотность окрашенного раствора находят на фотоколориметре с синим светофильтром (470 нм) против контроля и по ее величине определяют содержание витамина Е в исходном растворе по калибровочной кривой. Для построения калибровочной кривой 5 мл каждого из серии стандартных спиртовых растворов α -токоферола с определенной его концентрацией окисляют 1 мл концентрированной азотной кислоты на кипящей водяной бане в течение 3 мин. Дальнейшие операции идентичны описанным для контрольной и опытной проб. Полученные величи-

ны экстинций окрашенных стандартных растворов откладывают по оси ординат, а соответствующие им количества α -токоферола – по оси абсцисс.

Расчет ведут по формуле:

$$C = \frac{x \cdot V \cdot d}{a \cdot 1000},$$

где C – содержание витамина Е в 1 г испытуемого материала (мг);

x – найденное по калибровочной кривой количество витамина Е в 1 мл раствора (мкг);

V – общий объем исследованного раствора с учетом всех разведений (мл);

d – плотность исследованного раствора молока;

a – масса молока (г);

1000 – коэффициент для перевода микрограммов в миллиграммы.

8.4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА К

Метод основан на способности витамина К в щелочной среде давать с диэтилмалоновым эфиром окрашенное соединение, интенсивность окраски которого определяют колориметрически.

Распространение. Наиболее богатые источники витамина К – зеленые растения, где он содержится в хлоропластах в виде филлохинона. В животных тканях и микроорганизмах присутствуют различные формы витамина К₂. Содержание витамина К различно, особенно богаты им шпинат (4,0 – 6,0 мг%), капуста белокочанная (2,0 мг%) и тыква (4,0 мг%).

Оборудование и реактивы. Фотоэлектроколориметр. Водяная баня. Воронка Бюхнера с наружным диаметром 110 мм. Колба для фильтрования под вакуумом (Бунзена). Ступка фарфоровая с наружным диаметром 110 мм. Колбы мерные на 10 мл (2 шт.). Пипетки градуированные на 1 мл (4 шт.). Кварцевый песок. Диэтиловый эфир. Хлороформ. Карбонат натрия безводный. Сульфат натрия безводный. Диэтилмалоновый эфир (1 %-й спиртовой). Гидроксид калия (1 %-й). Стандартный раствор витамина К (0,04 мкг в 1 мл).

Ход анализа. 10 – 15 г измельченной моркови тщательно растирают в ступке с кварцевым песком и небольшим количеством карбоната натрия. Затем

в ступку приливают 10 мл диэтилового эфира и вновь растирают. Гомогенат переносят на воронку Бюхнера, дважды ополаскивая ступку небольшими порциями эфира. Фильтруют и трижды промывают осадок на фильтре тем же экстрагентом. Эфирные вытяжки соединяют и сушат безводным сульфатом натрия, после чего эфир выпаривают на теплой водяной бане, а остаток растворяют в 5 мл хлороформа. К полученному раствору прибавляют 1 мл 1 %-ного спиртового раствора диэтилмалонового эфира и 0,2 мл 1 %-ного раствора гидроксида калия. Общий объем доводят водой в мерной колбе до 10 мл. Одновременно ставят определение со стандартным раствором витамина К. Окрашенный раствор колориметрируют.

Рассчитывают содержание витамина К:

$$C = (E_1 * 0,2 * 100) / E_2 * a$$

где c – содержание витамина К (мкг%);

a – масса вещества (г);

E_2 – экстинкция стандартного раствора;

E_1 – экстинкция испытуемого раствора.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

- 1. Витамины: общая характеристика, их содержание в пищевых продуктах и влияние на организм человека.*
- 2. Определение водо- и жирорастворимых витаминов: сущность методов.*
- 3. Методика определения витамина С.*
- 4. Методы определения β -каротина в плодах и овощах.*
- 5. Методы определения витамина Е.*
- 6. Методы определения витамина К.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Аналитическая химия: химические методы анализа / Е.Г. Власова [и др.]. – Москва: Лаборатория знаний, 2021. – 465 с. – ISBN 978-5-93208-502-8. – Текст: электронный // Электронно-библиотечная система IPR BOOKS: [сайт]. – URL: <https://www.iprbookshop.ru/103012.html> (дата обращения: 30.11.2021).
2. Базарнова, Ю.Г. Методы исследования сырья и готовой продукции: Учеб.-метод. Пособие / Ю.Г. Базарнова. – Санкт-Петербург: НИУ ИТМО; ИХИБТ, 2013. – 76 с. <https://books.ifmo.ru/file/pdf/1385.pdf>
3. Голубева, Л. В. Методы исследования сырья и продуктов животного происхождения: экспертиза молока и молочных продуктов: учеб. пособие / Л. В. Голубева, О. И. Долматова; Министерство образования и науки РФ, ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет инженерных технологий". – Воронеж: ВГУИТ, 2016. – 63 с.
4. Ключко Н.Ю. Методы научных исследований. Учебно-методическое пособие / Н.Ю. Ключко. – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2017 г. – 85 с.
5. Лакиза, Н.В. Анализ пищевых продуктов: учеб. пособие / Н.В. Лакиза, Л.К. Неудачина. – Екатеринбург: Изд-во Урал. Ун-та, 2015. – 188 с. https://elar.urfu.ru/bitstream/10995/36106/1/978-5-7996-1568-0_2015.pdf
6. Новые физико-химические и биотехнологические методы обработки пищевого сырья и продуктов: учебное пособие для обучающихся по программе магистратуры 19.04.03 Продукты питания животного происхождения / сост.: А.Л. Алексеев; Донской ГАУ. – Персиановский: Донской ГАУ, 2019. – 183 с.
7. Поддубных, Л.П. Физико-химические методы анализа: учеб.-метод. пособие / Л.П. Поддубных; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2015. – 148 с.
8. Сульман, М.Г. Физико-механические свойства сырья и готовой продукции пищевых производств: учебное пособие / М. Г. Сульман,

Н. Ю. Громова, Э. М. Сульман. – Тверь: Тверской гос. технический ун-т, 2016. – 103 с.

9. Физико-химические методы контроля качества в процессах производства продуктов питания животного происхождения: метод. указания к лабораторным работам / сост. Н. Н. Забашта, Н. Ю. Сарбатова. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – 39 с.

10. Лобухов, В.И. Физико-химические методы исследования / В.И. Лобухов, А.И. Окара, Л.П. Павлюченкова. – Москва: Лань, 2012. – 48 с.

Учебное издание

Наталья Юрьевна Ключко
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Редактор И. Голубева

Подписано в печать 30.12.2021. Формат 60 x 84/16. Печ. л. 7,6
Уч.-изд. л. 6,6. Тираж 30 экз. Заказ 116.

Издательство федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Калининградский государственный технический университет»
236022, Калининград, Советский проспект, 1