Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени И. Т. ТРУБИЛИНА»

Е.В. Щербакова, Е.А. Ольховатов

МЕТОДЫ И СРЕДСТВА НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Учебное пособие

Ай Пи Ар Медиа
Москва • 2020

УДК 001.8
ББК 72.5
Щ61

Авторы:
Щербакова Е.В. — д-р. техн. наук, проф. кафедры технологии хранения и переработки растениеводческой продукции Кубанского государственного аграрного университета, доц. ВАК;
Ольховатов Е.А. — канд. техн. наук, доц. кафедры технологии хранения и переработки растениеводческой продукции Кубанского государственного аграрного университета, доц. ВАК, член-корреспондент Российской инженерной академии

Рецензенты:
Касьянов Г.И. — д-р техн. наук, проф. кафедры технологии продуктов питания животного происхождения Кубанского государственного технологического университета, проф. ВАК, Заслуженный изобретатель РФ, Заслуженный деятель науки Кубани, действительный член Российской инженерной академии;
Донченко Л.В. — д-р техн. наук, директор НИИ Биотехнологии и сертификации пищевой продукции Кубанского государственного аграрного университета, проф. ВАК

Щербакова, Е.В.
Щ61 Методы и средства научных исследований : учебное пособие / Е.В. Щербакова, Е.А. Ольховатов. — Москва : Ай Пи Ар Медиа, 2020. — 122 с. — Текст : электронный.

ISBN 978-5-4497-0574-7

Учебное пособие по дисциплине «Методы и средства научных исследований» подготовлено в соответствии с современными достижениями науки, направленными на глубокое изучение методов научных исследований и средств для их реализации, которые играют важную роль в понимании изменений химического состава перерабатываемого сырья, возможностей применения различных способов его обработки, разработке новых и совершенствовании существующих технологий и рецептур пищевых продуктов с заданными свойствами. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МК-5063.2018.8.

Подготовлено с учетом требований Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования.

Предназначено для обучающихся по программе аспирантуры 19.06.01 «Промышленная экология и биотехнологии», профиль «Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства».

Учебное электронное издание

© Щербакова Е.В., Ольховатов, Е.А., 2020
© ООО Компания «Ай Пи Ар Медиа», 2020

Редактор *А.Д. Матлахова*
Технический редактор, компьютерная верстка *Г.И. Иванова*
Корректор *Т.Г. Саблина*
Обложка *С.С. Сизиумовой*

Для создания электронного издания использовано:
Приложение pdf2swf из ПО Swftools, ПО IPRbooks Reader,
разработанное на основе Adobe Air

Подписано к использованию 15.04.2020. Объем данных 6 Мб.

Издание представлено в электронно-библиотечных системах
IPR BOOKS (www.iprbookshop.ru),
Библиокомплектатор (www.bibliocomplectator.ru)

Бесплатный звонок по России: **8-800-555-22-35**
Тел.: 8 (8452) 24-77-97, 8 (8452) 24-77-96

Отдел продаж и внедрения ЭБС:
доб. 206, 213, 144, 145
E-mail: sales@iprmedia.ru

Отдел комплектования ЭБС:
доб. 224, 227, 208
E-mail: mail@iprbookshop.ru

По вопросам приобретения издания обращаться:
доб. 208, 201, 222, 224
E-mail: izdat@iprmedia.ru, author@iprmedia.ru

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ **5**
ВВЕДЕНИЕ **8**

ГЛАВА 1. МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ **10**
1.1. Измерительные методы исследования 12
1.1.1. Спектральные методы 12
1.1.2. Оптические методы 18
1.1.3. Хроматографические методы 21
1.1.4. Реологические методы 23
1.2. Сенсорные методы анализа 26

ГЛАВА 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА **35**
2.1 Белковые вещества 35
2.2. Липиды 49
2.3. Углеводы 51
2.4. Витамины 56
2.5. Минеральные вещества 60

ГЛАВА 3. МЕТОДЫ БИОХИМИЧЕСКИХ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ **63**
3.1. Методы отбора и составления проб 64
3.2. Определение массовой доли воды в сырье 67
3.3. Определение массовой доли липидов в масличных семенах 72
3.4. Одновременное определение нескольких химических характеристик 87
3.5. Определение массовой доли белковых веществ 91
3.6. Получение изолированных белков (изолятов) из обезжиренных семян 98
3.7. Определение функциональных свойств белков масличных семян 100
3.8. Определение биологической ценности белков масличных семян 106
3.9. Определение минеральных веществ масличных семян 110
3.10. Понятие о безазотистых экстрактивных веществах 112
3.11. Определение радионуклидов в семенах и продуктах их переработки 114

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ **117**
ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ **119**
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ **122**

ПРЕДИСЛОВИЕ

Интенсивное развитие агропромышленного комплекса, внедрение современных технологических приемов обработки, хранения и переработки растениеводческой продукции, развитие предприятий малой и средней мощности, организованных в местах непосредственного производства сельскохозяйственной продукции, предъявляют повышенные требования к качеству продовольственного сырья и продуктов его переработки.

Важную роль для производства высококачественного пищевого сырья и готовой продукции имеет профессиональная подготовка кадров. Специалисты отрасли должны обладать знаниями показателей качества сырья, вспомогательных материалов, полуфабрикатов, готовой продукции, тары, а также средств и методов их контроля.

Дисциплина «Методы и средства научных исследований» является одной из основополагающих дисциплин ФГОС ВО по направлению подготовки кадров высшей квалификации — программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре 19.06.01 «Промышленная экология и биотехнологии», профиль «Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства».

Данная дисциплина является вариативной частью образовательной программы. Для успешного ее освоения необходимы знания по следующим дисциплинам и разделам образовательной программы: «Основы научно-исследовательской деятельности», «Современные информационно-коммуникационные технологии в научно-исследовательской деятельности и образовании».

Полученные знания позволят аспирантам применить их при выполнении научно-исследовательской практики (НИР) и подготовке научно-квалификационной работы (НКР).

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих компетенций:

1) ***универсальные***:

– способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;

– способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки;

– готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач;

– способность следовать этическим нормам в профессиональной деятельности;

– способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития;

2) ***общепрофессиональные***:

– способность и готовность к организации и проведению фундаментальных и прикладных научных исследований;

– способность и готовность к анализу, обобщению и публичному представлению результатов выполненных научных исследований;

– способность и готовность к разработке новых методов исследования и их применению в самостоятельной научно-исследовательской деятельности в сфере промышленной экологии и биотехнологий (с учетом правил соблюдения авторских прав);

– способность и готовность к использованию лабораторной и инструментальной базы для получения научных данных;

3) ***профессиональные компетенции***:

– способность определять и анализировать свойства сырья, полуфабрикатов;

– способность оценивать современные достижения науки и техники и применять на их основе прогрессивные технологии производства новых видов продуктов питания.

Учебное пособие подготовлено в соответствии с современными достижениями науки, направленными на глубокое изучение методов научных исследований и средств для их реализации, которые играют важную роль в понимании изменений химического состава перерабатываемого сырья, возможностей применения различных способов его обработки, разработке новых и совершенствовании существующих технологий и рецептур пищевых продуктов с заданными свойствами.

Знание методов научных исследований и средств для их реализации позволяет совершенствовать известные технологии, разрабатывать новые пищевые продукты заданной пищевой и биологической ценности.

Цель издания — формирование у обучающихся аспирантуры углубленных профессиональных знаний в области методов и средств научных исследований, контроля качества сырья, полуфабрикатов и готовой пищевой продукции из растительного сырья при обработке, хранении и переработке злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства.

Настоящее учебное пособие призвано решить следующие *задачи* изучения материала дисциплины:

– раскрыть роль современных физико-химических методов в контроле качества сырья, полуфабрикатов и готовой пищевой продукции из растительного сырья;

– изучить современные методы контроля качества, условия их применения при составлении схемы эксперимента в ходе научной работы;

– рассмотреть взаимосвязь современных методов контроля с качеством продукции при обработке, хранении и переработке злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства.

В учебном пособии описаны методы и средства определения показателей качества сырья и продуктов питания и их химического состава. Подробно описаны методы биохимических и технологических исследований растительного сырья.

Полученные в ходе освоения материала дисциплины знания позволят обучающимся аспирантуры применить их при создании технологий получения новых видов продукции; разработке научно-технической документации и технологических регламентов на производство пищевой продукции; организации и проведении контроля качества сырья, промежуточных продуктов и готовой продукции; разработке научных основ, создании и внедрении энергосберегающих экологически безопасных технологий производствах пищевых продуктов; обеспечении экологической безопасности промышленных производств.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема качества, пищевой ценности и безопасности пищевых продуктов включает, прежде всего, не только перспективные технологии, но и разработку, усовершенствование соответствующих методов контроля пищевых систем.

В результате фундаментальных и прикладных исследований в области аналитической химии, выполненных учеными многих стран, созданы современные методы контроля показателей качества и безопасности продуктов питания, которые широко представлены в различных стандартах, ГОСТах, научно-технической и учебной литературе.

Изучаемая дисциплина «Методы и средства научных исследований» основывается на достижениях фундаментальных дисциплин (аналитическая химия и физико-химические методы анализа, органическая химия, физика и т.д.) и теснейшим образом взаимодействует с биохимией, пищевой химией, биотехнологией и др.

Исследование любого пищевого продукта — сложная аналитическая задача. Из-за особенностей состава и многокомпонентности продуктов необходимо приспосабливать стандартные методы к особенностям состава и физико-химической структуры продукта, т.е. в каждом конкретном случае требуется проведение в той или иной мере аналитической исследовательской работы.

Для решения глобальных вопросов идентификации и количественного определения всего многообразия соединений в пищевых системах используются как классические методы анализа (гравиметрия, титриметрия), так и современные, высокочувствительные, уникальные физические и физико-химические методы анализа (электрохимические, методы оптической спектроскопии (УФ, ИК-спектроскопия, спектрофотометрия, люминесцентные методы анализа и др.), методы ядерно-магнитного резонанса, рентгеноструктурные, радиометрические, хроматографические) [1, 5, 7].

По методам определения свойства пищевой продукции подразделяются на группы:

– органолептические (цвет, вкус, запах, консистенция);

– физико-механические (влажность, плотность, вязкость, пористость и др.);

– физико-химические (содержание соли, сахара, кислотность);

– микробиологические (коли-титр для молочных продуктов, допустимое количество сальмонелл);

– технологические (увеличение массы макаронных изделий после варки).

По функциональному назначению свойства пищевой продукции подразделяются на:

– экологические;

– эргономические, отражающие взаимодействие системы «человек — продукция»;

– группы надежности (показатели сохраняемости) — способности продукта сохранять качество при определенных условиях и сроках хранения;

– свойства транспортабельности (при перевозках);

– эстетические (стабильности товарного вида, изображение фирменных знаков);

– свойства безопасности потребления, обеспечивающие безвредность;

– свойства физиологического назначения, характеризующие диетические и лечебные свойства продукции.

Методы определения свойств пищевой продукции включают: *органолептический*, основанный на анализе восприятий органов чувств; *измерительный*, осуществляемый на основе технических средств измерения; *экспертный*, осуществляемый на основе решения, принимаемого экспертами; *социологический*, осуществляемый на основе сбора и анализа мнений фактических и возможных потребителей продукции. Наиболее часто в научной практике и на предприятиях-изготовителях применяют органолептический и измерительный методы определения показателей качества [2, 8].

ГЛАВА 1. МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

В зависимости от применяемых средств измерений методы подразделяются на измерительные, регистрационные, расчетные, социологические, экспертные и органолептические.

Измерительные методы базируются на информации, получаемой с использованием средств измерений и контроля. С помощью измерительных методов определяют такие показатели, как масса, размер, оптическая плотность, состав, структура и др.

Измерительные методы могут быть подразделены на *физические*, *химические* и *биологические*.

Физические методы применяют для определения физических свойств продукции — плотности, коэффициента рефракции, вязкости, липкости и др. К таким методам относятся микроскопия, поляриметрия, колориметрия, рефрактометрия, спектроскопия, реология, люминесцентный анализ и другие.

Химические методы применяют для определения состава и количества входящих в продукцию веществ. Они подразделяются на *количественные* и *качественные* — это методы аналитической, органической, физической и биологической химии.

Биологические методы используют для определения пищевой и биологической ценности продукции. Их подразделяют на *физиологические* и *микробиологические*. Физиологические применяют для установления степени усвоения и переваривания питательных веществ, безвредности, биологической ценности. Микробиологические методы применяют для определения степени обсемененности продукции различными микроорганизмами.

Регистрационные методы — это методы определения показателей качества продукции, осуществляемые на основе наблюдения и подсчета числа определенных событий, предметов и затрат. Эти методы основываются на информации, получаемой путем регистрации и подсчета определенных событий, например, подсчета числа дефектных изделий в партии и т.д.

Расчетные методы отражают использование теоретических и эмпирических зависимостей показателей качества продукции от ее параметров. Эти методы применяют в основном при проектировании продукции, когда последняя еще не может быть объектом экспериментального исследования. Этим же методом могут быть установлены зависимости между отдельными показателями качества продукции.

Социологические методы основаны на сборе и анализе мнений фактических и возможных потребителей продукции; осуществляются устным способом, с помощью опроса или распространения анкет-вопросников, путем проведения конференций, совещаний, выставок, дегустаций и т.п. Этот метод применяют для определения коэффициентов весомости.

Экспертные методы — это методы, осуществляемые на основе решения, принимаемого экспертами. Такие методы широко используют для оценки уровня качества (в баллах) при установлении номенклатуры показателей, учитываемых на различных стадиях управления, при определении обобщенных показателей на основе совокупности единичных и комплексных показателей качества, а также при аттестации качества продукции. Экспертные методы оценки качества продукции применяются при невозможности или нецелесообразности по конкретным условиям оценки использовать расчетные или измерительные методы. Их используют самостоятельно или в сочетании с другими методами при оценке нормативно-технической документации на продукцию и качество продукции, при выборе наилучших решений, реализуемых в управлении качеством продукции, а также для классификации оцениваемой продукции и потребителей, определения номенклатуры и коэффициентов весомости показателей качества, выбора базовых образцов и определения значений базовых показателей, измерения и оценки показателей с помощью органов чувств, оценки единичных показателей, значения которых определены расчетным или измерительным методом, определения комплексных показателей качества и в других случаях [6].

Для оценки качества продукции с помощью экспертных методов создают экспертные комиссии (технические, дегустационные и др.). Экспертная комиссия состоит из двух групп: *рабочей* и *экспертной*. При формировании экспертной группы учитывают психофизиологические возможности эксперта и состояние его здоровья. Эксперт должен быть компетентным, деловитым и объективным.

Рабочая группа осуществляет подготовку и проведение экспертной оценки качества продукции и анализ ее результатов.

Оценка уровня качества продукции — это совокупность операций, включающая выбор номенклатуры показателей качества оцениваемой продукции, определение значений этих показателей и сопоставление их с базовыми. При проведении экспертной оценки качества продукции представляют в виде иерархической структуры.

Обобщенные показатели относят к самому высокому уровню, а групповые комплексные — к нижерасположенным. На нижнем уровне структурной схемы

находятся единичные показатели. Число уровней иерархии определяется сложностью продукции, количеством показателей, целью и требуемой точностью.

1.1. Измерительные методы исследования

1.1.1. Спектральные методы

Среди современных методов физико-химических анализов все большее распространение приобретает ***спектроскопия***, позволяющая получить наиболее полную информацию о важнейших свойствах продукта. Спектральные методы исследования основаны на использовании явления поглощения (или испускания) электромагнитного излучения атомами или молекулами определенного вещества. Спектральный анализ используется для определения разнообразных органических соединений, а также минеральных элементов с концентрацией 10^{-2}–10^{-6} моля.

Спектральные методы дают широкие возможности для наблюдения и исследования соответствующих аналитических сигналов в различных областях электромагнитного спектра — рентгеновское излучение, ультрафиолетовое (УФ) излучение, видимый свет, инфракрасное (ИК), а также микро- и радиоволновое излучение.

Спектроскопию условно можно разделить на *эмиссионную* и *абсорбционную*.

Эмиссионная спектроскопия исследует излучательную способность вещества. Испускание энергии связано с предварительным термическим и энергетическим возбуждением атомов, когда электроны с основного уровня переходят при поглощении энергии на более высокий энергетический уровень.

Абсорбционная спектроскопия исследует поглощательную способность вещества. При этом анализируемую пробу помещают между источником электромагнитного излучения с определенным диапазоном частот и спектрометром. Спектрометр измеряет интенсивность света, прошедшего через пробу, в сравнении с источником первоначального излучения при заданной длине волны.

Для исследования свойств пищевых продуктов наибольший интерес представляют области: видимая (200–400 нм) со стеклянной оптикой, ультрафиолетовая (400–800 нм) с кварцевой оптикой и инфракрасная (2–15 мкм).

Под воздействием различных излучений происходят электронные переходы в молекулах вещества или свободных атомах исследуемого химического элемента (аналитический сигнал — поглощение или испускание), а также изменения ориентации спинов атомов (аналитический сигнал — ядерный магнитный резонанс) или электронов (аналитический сигнал — электронный парамаг-

нитный резонанс). Аналитические сигналы измеряют различными методами. В табл. 1 приведена классификация спектральных методов [3, 6].

Таблица 1

Классификация спектральных методов

Спектроскопия	Источник аналитического сигнала	Аналитический сигнал	Метод
Молекулярная	Молекула	Поглощение (абсорбция)	Молекулярно-абсорбционная спектрометрия (МАС)
		Испускание (люминесценция)	Молекулярно-люминесцентная (МЛС), или флуориметрия
Атомная	Атом	Поглощение (абсорбция)	Атомно-абсорбционная (ААС)
		Испускание (эмиссия)	Атомно-эмиссионная (АЭС)
Магнитного резонанса	Ядро атомов (магнитный момент ядра)	Ядерный магнитный резонанс — ЯМР-спектр	Спектометрия ядерного магнитного резонанса (ЯМР)
	Электрон (магнитный момент электрона)	Электронный парамагнитный резонанс — ЭПР-спектр	Спектрометрия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)
Масс-спектроскопия	Ион	Масс-спектр	Масс-спектрометрия

По источнику и типу аналитического сигнала спектральные методы разделяют на молекулярно-абсорбционную спектрометрию (МАС) и молекулярно-люминесцентную (МЛС), или флуориметрию; на атомно-абсорбционную (ААС) и атомно-эмиссионную (АЭС), а также спектрометрию ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

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

Наиболее широкое распространение получил метод, основанный на изучении поглощения в видимой области спектра в интервале длин волн от 400 до 750 нм — *фотометрия*; а также метод, основанный на поглощении излучения в различных частях инфракрасной области электромагнитного спектра — *ИК-спектрометрия*, чаще всего используют поглощение излучения в средней (длина волны 2,5–25 мкм) и ближней (длина волны 0,8–2,5 мкм) ИК-области.

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

Общая схема выполнения фотометрического определения едина и включает следующие стадии:

– подготовку пробы и переведения определяемого вещества или компонента в раствор, в реакционноспособную в зависимости от химизма аналитической реакции форму;

– получение окрашенной аналитической формы определяемого вещества в результате проведения цветной реакции при оптимальных условиях, обеспечивающих ее избирательность и чувствительность;

– измерение светопоглощающей способности аналитической формы, т.е. регистрация аналитического сигнала при определенных условиях, отвечающих его локализации и наибольшей интенсивности.

Промышленностью выпускаются различные приборы молекулярно-абсорбционной спектрометрии — колориметры, фотометры, фотоэлектроколориметры, спектрофотометры и т.д., в которых установлены различные комбинации источников света, монохроматизаторов и рецепторов. Приборы можно классифицировать следующим образом:

– *по способу монохроматизации лучистого потока* — спектрофотометры, т.е. приборы с призменным или решеточным монохроматором, позволяющие достигать высокой степени монохроматизации рабочего излучения; фотоэлектроколориметры, т.е. приборы, в которых монохроматизация достигается с помощью светофильтров;

– *по способу измерения* — однолучевые с прямой схемой измерения (прямопоказывающие) и двухлучевые с компенсационной схемой;

– *по способу регистрации измерений* — регистрирующие и нерегистрирующие.

В настоящее время применение автоматизированного, управляемого микропроцессором фотометра в большей степени расширяет возможности спектрофотометрии: позволяет проводить измерения большого количества образцов при различных длинах волн через различные интервалы времени.

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

К настоящему времени изучены и систематизированы инфракрасные спектры более чем 20 000 соединений, что существенно облегчает практическое проведение анализа. Для получения первых ориентировочных данных часто пользуются так называемой картой Колтупа, на которой указаны спектральные области многих характеристических частот. Для окончательных выводов обычно требуется более тщательный анализ спектра. Иногда задача качественного анализа может быть решена простым сопоставлением спектра известного соединения и анализируемого вещества.

Количественный анализ по инфракрасным спектрам основан на применении закона Бугера — Ламберта — Бера. Чаще всего здесь используется метод градуировочного графика.

Применение ИК-спектроскопии чаще оказывается более полезным в качестве дополнительного метода при проведении идентификации чистых веществ после хроматографического разделения сложных компонентов пищевых продуктов. Инфракрасный спектр органического соединения является одним из наиболее однозначных физических свойств вещества. ИК-спектр более точно характеризует вещество, чем температура плавления, показатель преломления или плотность. При этом совсем не обязательно иметь образец известного для сравнения с определенным, а достаточно сопоставить полученный спектр с опубликованными кривыми поглощения. Однако для идентификации вещества необходимо знать, к какому классу органических соединений относится определяемое вещество.

Метод ИК-спектроскопии используется для определения содержания в пищевых продуктах витаминов А, К, B_1, B_2, B_6, С, никотиновой кислоты, токоферолов и каротина. В комбинации с хроматографией ИК-спектроскопию можно применить для исследования ароматических веществ и ряда органических соединений.

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

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

Свечение, возникающее под действием световых лучей оптического диапазона ультрафиолетовых (УФ) и видимых частот, носит название **фотолюминесценции**, которая в зависимости от вида возбужденного уровня и времени пребывания в нем подразделяется на *флуоресценции* и *фосфоресценцию*.

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

Метод флуориметрии применяют для чувствительного определения очень малых количеств элементов при анализе органических веществ, при определении малых количеств витаминов, гормонов, антибиотиков, канцерогенных соединений и др. Основным преимуществом флуориметрии по сравнению с другими абсорбционными методами является высокая селективность, так как флуоресценцией обладает значительно меньшее число веществ (прежде всего ароматические соединения и порфирины). Ряд соединений можно перевести во флуоресцирующие, введя в молекулу флуоресцирующую группу, т.е. флуорофор (люминифор).

Атомная спектроскопия. В атомной спектроскопии исследуют вещества, переводя их в состояние атомного пара — атомно-абсорбционная спек-

троскопия (ААС) или газообразное состояние — атомно-эмиссионная спектроскопия (АЭС).

В атомно-абсорбционной спектроскопии для возбуждения атомов используют тепловую энергию. Распыляя образец в пламени, соединения переводят в атомный пар *(атомизация)*. Большинство атомов возбуждаясь, переходит на более высокий энергетический уровень. При обратном переходе происходит выделение энергии. В процессе облучения атомов исследуемого элемента, находящихся в состоянии пара, линейчатым излучением того же самого элемента в возбужденном состоянии происходит резонансное поглощение. Этот процесс сопровождается уменьшением интенсивности линейчатого излучения. Измеряемое поглощение является мерой концентрации свободных атомов образца.

В атомно-эмиссионной спектроскопии возбуждения происходят при помощи электрических зарядов. При этом создаются высокие температуры, благодаря которым большинство атомов переходит в возбужденное состояние. Поглощение энергии этими атомами невозможно, поэтому происходит эмиссия (испускание) фотонов возбужденных атомов.

Определение элементов, в большинстве случаев металлов, в атомной спектроскопии проводят чувствительным селективным методом при длине волны, характерной для каждого элемента.

Пределы обнаружения элементов методом атомной спектроскопии достигают 10^{-12}–10^{-14} г.

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

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

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

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

Методы ЯМР значительно производительнее по сравнению с базовыми методами анализа и во многих случаях отличаются меньшей погрешностью определения, вместе с тем они требуют использования специально подготовленных образцов сравнения и иногда взвешивания пробы. Данные методы используют в основном для оценки состояния и свойств воды и жира в сырье и готовой продукции [9].

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

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

1.1.2. Оптические методы

Рефрактометрический и поляриметрический оптические методы широко используют в практике анализа пищевых продуктов.

При прохождении через поверхность раздела двух сред световой луч отклоняется от первоначального направления, т.е. преломляется. Величина угла отклонения зависит от концентрации и температуры среды. Угол падения и преломления связан соотношением, которое называется **показателем преломления**. Рефрактометрия основана на измерении показателя преломления.

Некоторые вещества обладают оптической активностью. Они способны вращать плоскость поляризованного луча. Метод поляриметрии основан на определении угла вращения поляризованного луча [3, 6].

Рефрактометрия. Если монохроматический луч A проходит через поверхность раздела двух сред, то одна часть света A' отражается от поверхности раздела, а другая часть B проходит через вторую среду, изменяя при этом направление (рис. 1). Эту часть монохроматического света называют **преломленным светом**. Преломление луча света описывается законом Снелля:

$$n_1 \cdot \sin \alpha = n_2 \cdot \sin \beta, \tag{1}$$

где α — угол падения, град; β — угол преломления, град; n_1, n_2 — показатели преломления 1-й и 2-й сред.

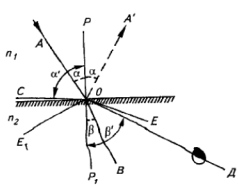

Рис. 1. Схема преломления лучей света

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

Так как показатель преломления зависит от такого фактора, как температура, поэтому рефрактометрические измерения принято выполнять при температуре 20 °С. При отклонении температуры от 20 °С вводят соответствующие температурные поправки.

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

жения исследуемого вещества. На шкале указаны показатели преломления, соответствующие различным значениям угла полного внутреннего отражения.

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

Все измерения проводят в белом свете. Показатель преломления прозрачных сред определяют в проходящем свете, а полупрозрачных — в отраженном.

Рефрактометрию широко применяют при установлении концентрации углеводов в различных продуктах, массовой доли сухих веществ. Этим методом пользуются также для количественного определения жиров в пищевых продуктах, для пофазного контроля в процессе производства пищевых продуктов — кондитерских, напитков, некоторых видов консервов и т.д.

Поляриметрия. Атомы молекул некоторых веществ способны поляризоваться, т.е. приобретать дипольный момент в электрическом поле. Поляризация атомов обусловлена смещением в молекуле атомов разного типа, что связано с несимметричным распределением в молекуле электронной плотности — *асимметрические атомы*. Вещества, содержащие такие атомы, обладают оптической активностью. Они способны вызывать вращение плоскости поляризации проходящего через исследуемое вещество света. Метод исследования веществ, основанный на измерении величины угла вращения плоскости поляризации света при прохождении его через оптически активные вещества, называется поляриметрией. Величина такого вращения в растворах зависит от их концентрации, поэтому поляриметрию широко применяют для измерения концентрации оптически активных веществ, например, сахаров.

Вещества, обладающие свойством изменять направление колебаний при прохождении через них поляризованного света, называются **оптически анизотропными**, или **оптически активными**.

Оптическая активность веществ обусловлена особенностями строения кристаллической решетки — в этом случае вещества проявляют оптическую активность только в твердом кристаллическом состоянии, или особенностями строения молекул — оптическая активность таких веществ проявляется только в растворах.

К веществам последней группы относятся главным образом такие органические вещества, как сахароза, фруктоза, глюкоза, винная кислота. Поляриметрический метод разработан для количественного определения веществ именно этой группы.

Оптическая активность вещества характеризуется *удельным вращением*, под которым понимается угол, на который повернется плоскость поляризации

при прохождении поляризованного луча через раствор, в 1 мл которого содержится 1 г растворенного вещества, при толщине слоя раствора (длине поляризационной трубки), равной 1 дм.

Под **плоскостью поляризации** понимается плоскость, проходящая через поляризованный луч перпендикулярно направлению его колебаний.

Удельное вращение зависит не только от природы вещества, но и от температуры, длины поляризованного света и растворителя, поэтому его принято относить к температуре 200 °С и желтой линии натрия и обозначать $[\sigma]_{Д}^{20}$ с указанием растворителя.

Угол вращения плоскости поляризации [α] определяют по формуле:

$$\alpha = [\sigma]\frac{l \cdot c}{100}, \qquad (2)$$

где l — длина трубки, дм; c — концентрация вещества, г/100 мл; σ — удельное вращение, град.

Пользуясь формулой (2), вычисляем количество вещества в граммах, содержащееся в 100 мл раствора, т.е. концентрацию (c):

$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{1 \cdot [\sigma]}. \qquad (3)$$

Исследования методом поляриметрии осуществляют с помощью прибора поляриметра или его разновидностью — сахариметра, с помощью которого можно определять содержание сахарозы в растворе неизвестной концентрации без предварительного взятия навески.

1.1.3. Хроматографические методы

Хроматографические методы широко применяют при исследовании состава и свойств пищевых продуктов. Они позволяют проводить исследования, не выполнимые другими инструментальными методами.

В основе хроматографических методов лежит широкий круг физико-химических процессов: распределение, адсорбция, ионный обмен, диффузия, комплексообразование и др. [3, 6].

В зависимости от природы процесса, обуславливающего механизм разделения, т.е. от типа взаимодействия между компонентами разделяемой смеси, подвижной и неподвижной фазами различают следующие основные *варианты хроматографии*: распределительную, адсорбционную, ионообменную и гель-фильтрационную.

Хроматографические методы также принято классифицировать в соответствии с выбранным типом подвижной и неподвижной фаз. *Газовая хроматография (ГХ)* объединяет те методы, в которых подвижной фазой является газ; *жидкостная хроматография (ЖХ)* — методы, в которых подвижной фазой служит жидкость.

В зависимости от агрегатного состояния обеих фаз различают следующие *виды хроматографии*: твердо-жидкостную хроматографию (ТЖХ), жидкость-жидкостную (ЖЖХ), газо-адсорбционную (ГАХ), газо-жидкостную (ГЖХ).

В настоящее время преимущественное развитие получила газовая хроматография (ГХ), чему способствовало создание чувствительных и универсальных газовых хроматографов с автоматическим детектированием. Этот метод предназначен для разделения и анализа летучих (в том числе и летучих при высоких температурах) соединений. На сегодняшний день это один из наиболее эффективных способов анализа органических компонентов. Применяется при контроле качества, сертификации продукции, технологическом контроле и экологической безопасности.

Метод ГХ хорошо поддается автоматизации, в чем его неоспоримое преимущество перед другими современными физико-химическим исследованиями. Будучи одновременно и качественным и количественным методом анализа сложных смесей различных органических и неорганических соединений, ГХ используется и для комплексного изучения пищевых продуктов.

Газовая хроматография отличается от других хроматографических методов тем, что газ используется как подвижная фаза, а растворенное вещество перемещается по колонке в виде газа или пара, частично растворенного или адсорбированного в неподвижной фазе.

Разделение компонентов смеси основано на различной адсорбируемости или растворимости анализируемых компонентов при движении их газообразной смеси вдоль поверхности твердого тела или неподвижной жидкости в колонке.

При прохождении через колонку отдельные компоненты улавливаются (адсорбируются) активным адсорбентом или растворяются в пленке неподвижной жидкой фазы, нанесенной на поверхность инертного носителя. В результате неодинаковой адсорбируемости или различного взаимодействия с жидкой фазой компоненты смеси продвигаются по колонке с различными скоростями. Движение молекул веществ, обладающих более высокой сорбируемостью в жидкой фазе, замедляется, а неадсорбируемые или нерастворимые компоненты выходят из колонки первыми.

1.1.4. Реологические методы

Пищевое сырье растительного и животного происхождения при заготовке (уборка урожая, убой скота, лов рыбы и т.д.), транспортировании, хранении и особенно при переработке в продукты питания подвергается различным механическим воздействиям. При этом производственные процессы должны быть организованы так, чтобы обеспечить максимально высокий уровень качества готовой продукции. Успешному решению этой задачи способствует знание реологических свойств и текстуры пищевых продуктов.

Пищевое сырье, полуфабрикаты и продукты относятся к реальным телам, которые обладают упругостью, пластичностью и вязкостью. В зависимости от вида, продолжительности и скорости нагружения реального тела некоторые из реологических свойств проявляются особенно ярко, в то время как другие едва заметны, и поэтому при выбранном нагружении ими можно пренебречь. Для инструментального определения реологических характеристик наиболее пригодны простой сдвиг (сдвиговое течение), одноосное растяжение и одноосное сжатие (компрессия).

Наиболее сложными реологическими свойствами обладают высококонцентрированные дисперсные системы с пространственными структурами (табл. 2).

Таблица 2

Типы дисперсных систем пищевых продуктов

Дисперсионная среда	Дисперсная фаза	Дисперсная система	Продукт (в том числе сырье, полуфабрикат)
Газ	Жидкость	Жидкий аэрозоль	Экстракт кофе при распылительной сушке
	Твердое тело	Твердый аэрозоль	Мука при пневмотранспортировании
Жидкость	Газ	Пена	Белковая пена
	Жидкость	Эмульсия	Молоко, майонез
	Твердое тело	Золь	Какао-масса
		Суспензия	Фруктовый сок
Твердое тело	Газ	Твердая пена, пористое твердое тело	Мороженое, безе, сухари
	Жидкость	Твердая эмульсия	Масло, маргарин
		Пористое твердое тело, заполненное жидкостью	Овощи, фрукты
	Твердое тело	Твердая суспензия	Макаронные изделия, шоколад, карамель

По классификации, предложенной академиком П.А. Ребиндером структуры дисперсных систем в состоянии термодинамического равновесия, делятся на две группы:

– *коагуляционные структуры*, в которых взаимодействие между элементами происходит через тонкий слой дисперсионной среды и обусловлено силами Ван-дер-Ваальса (эти структуры могут проявлять свойства ньютоновских жидкостей (тиксотропию, пластичность, а также способны сильно изменять свои свойства при нагреве, введении ПАВ и других факторов));

– *конденсационно-кристаллизационые структуры*, которые возникают при сцеплении однотипных элементов на границе раздела фаз. Такие структуры обладают относительно высокой прочностью, упругостью и хрупкостью. После разрушения они не восстанавливаются.

Под действием внешней нагрузки в любом продукте возникают деформации и напряжения, которые зависят от состава и строения выбранных объектов исследования, являясь мерой сил внутреннего взаимодействия между элементами их структуры.

Структурно-механические характеристики (СМХ) используют для оценки консистенции продукта как одного из основных показателей его качества. Оценка консистенции продукта осуществляется либо путем измерения СМХ на специальных приборах (реометрах), либо путем сенсорной (органолептической) оценки, т.е. субъективной оценки сопротивляемости и деформации продукта.

Сенсорная оценка консистенции, которую можно характеризовать как эмпирическую характеристику деформационного поведения продукта, была известна до широкого применения реологического анализа и используется до настоящего времени. Однако результаты сенсорной оценки зависят от квалификации дегустатора, тщательности проведения контроля с условием выполнения определенных правил, гарантирующих точность и воспроизводимость результатов, и при отсутствии специально подобранных и обученных экспертов часто носят субъективный характер.

Примеры и описание сложных дисперсных систем приведены в табл. 3.

Таблица 3

Сложные дисперсные системы пищевых продуктов

Продукт	Дисперсная фаза	Дисперсионная среда
Шоколад	Кристаллы сахара, твердые частицы какао, пузырьки воздуха	Кристаллическая форма какао-масла
Мороженое	Пузырьки воздуха, капельки жира, белковые макромолекулы	Кристаллическая водянистая фаза
Мякиш хлеба	Пузырьки воздуха, частично кристаллические молекулы крахмала, частицы отрубей	Крахмальный и белковый гель
Фрукты, овощи, картофель, зерно, масличные семена	Капельки жидкости, пузырьки воздуха, крахмальные зерна	Целлюлоза, белковая оболочка
Мясо	Капельки жидкости, кости, капельки жира	Белковые макромолекулы

Оценку консистенции продукта инструментальными методами (измеряя его СМХ) проводят следующим образом:

1. В зависимости от видов и интенсивности механического воздействия (нагружения во времени) определяют различные СМХ, из которых выбирают наиболее чувствительную к изменению структуры продукта при его деформации. Выбранная СМХ является реологическим показателем консистенции (измеряемой величиной) для данного продукта.

2. Предварительно проводят определение «эталонного» значения СМХ для каждого вида продукта по существующим методикам оценки качества продукта. При этом в качестве «эталонного» принимают значение СМХ продукта высшего качества.

3. Сравнивают величину выбранного реологического показателя для исследуемого образца продукта с «эталонным» для него значением СМХ и по их разности судят о консистенции продукта.

Реометрия имеет целью определить все наиболее существенные реологические константы посредством специального механического воздействия на исследуемое тело.

Так как не всегда при определенном виде деформации тела одновременно появляются все его реологические свойства, то для полной количественной оценки реологических свойств тела необходимо применять различные методы нагружения. Инструментальное определение реологических констант требует

правильного выбора методов измерений и приборов (реометров). Большинство приборов, их теория действия и примерный спектр изучаемых материалов широко освещены в справочной литературе.

В зависимости от поставленной задачи полученные результаты могут быть использованы для определения качества готового продукта, регулирования параметров технологического процесса производства, служить исходными данными при конструировании технологического оборудования и т.п.

1.2. Сенсорные методы анализа

Сенсорный анализ — анализ с помощью органов чувств (высокоспецифических рецепторных органов), обеспечивающих организму получение информации с помощью зрения, слуха, обоняния, вкуса, осязания, вестибулярной рецепции и интерорецепции.

Органолептический анализ — сенсорный анализ пищевых продуктов, вкусовых и ароматизирующих веществ с помощью обоняния, вкуса, зрения, осязания и слуха.

Термин «органолептический» происходит от латинских «органон» — орган, инструмент; «лептикус» — расценивать, чувствовать. Термин «сенсорный» — от латинского «*sensus*» — ощущение, чувство.

Органолептическая оценка — качественная и количественная оценки ответной реакции органов чувств человека на свойства пищевого продукта, определяемые с помощью различных методов (качественное выражение в словесном описании, количественное — в баллах или графически).

Органолептические свойства продовольственного сырья и пищевых продуктов определяются показателями вкуса, цвета, запаха и консистенции, характерными для каждого вида продукции. Органолептические свойства продовольственного сырья и пищевых продуктов должны удовлетворять традиционно сложившимся вкусам и привычкам населения и не вызывать жалоб со стороны потребителей. Продовольственное сырье и пищевые продукты не должны иметь посторонних запахов, привкусов, включений, отличаться по цвету и консистенции, присущих данному виду продукции. Требования, которым должны соответствовать органические свойства продукции, устанавливаются в нормативной и технической документации (НТД) на ее производство. Органолептические свойства пищевой продукции не должны ухудшаться при ее хранении, транспортировке и в процессе реализации.

В основе сенсорного анализа лежит психофизиологический процесс, в котором участвуют несколько сложных систем, называемых ***анализаторами***. Различают *обонятельный*, *вкусовой* и *зрительный* анализаторы. Каждый анализатор

состоит из рецептора (органа чувств), превращающего воспринимаемые человеком раздражения в нервные импульсы, которые по нервным путям от рецептора передаются к головному мозгу, и центра — больших полушарий головного мозга, в котором поступающие импульсы анализируются и оцениваются [10].

Различные вещества имеют неодинаковый **порог чувствительности**, под которым понимают минимальное количество вещества, способное вызывать его ощущение. Величина, обратная порогу чувствительности, называется **степенью чувствительности**.

Под ароматным числом *A* понимают отношение концентрации летучего вещества *B* в продукте к порогу его чувствительности *C (A = B / C)*.

Цвет продуктов обусловлен их способностью поглощать, отражать или пропускать световые волны различной длины. Цвет напитка, воспринимаемый глазом, обусловлен длиной волны лучей, которые прошли через напиток непоглощенными. Световые лучи с длиной волн от 400 до 760 нм, обладающие электромагнитной природой, проникают в глаз через хрусталик и попадают на сетчатку, где расположены светочувствительные центры. Под действием электромагнитных колебаний в клетках происходят фотохимические реакции, вызывающие нервные импульсы, которые поступают в соответствующие центры мозга, «различающие» цвет.

Окраска продуктов характеризуется собственно *цветом* (желтый, зеленый и т.п.), *степенью светлости* (темный, светлый), *насыщенностью* или *яркостью*.

Рецепторы ***вкуса*** в виде сосочков расположены на языке, твердом небе, в глотке и миндалинах. В сосочках находятся почки, к которым подходят чувствительные нервы. Почки проявляют вкусовую специфичность. Так как они расположены на языке неравномерно, то и отдельные участки языка реагируют только на определенный вкус. Вкусовые вещества проявляют свою активность лишь в растворенном состоянии. Основные типы вкуса: сладкий, кислый, горький, соленый. Рецепторы сладкого вкуса сосредоточены, главным образом, на кончике языка, кислого — по краям языка, соленого — в центре, горького — у основания языка. Недавно было доказано, что во рту происходит восприятие щелочного и металлического вкусов.

Минимальные ощущаемые концентрации:

– сладкий вкус (по раствору сахарозы) — 0,05 моль/л;

– соленый вкус (по раствору NaCl) — 0,01 моль/л;

– кислый вкус (по раствору HCl) — 0,0007 моль/л;

– горький вкус (по раствору хинина) — 0,0000007 моль/л.

Кроме основных типов вкуса различают более сложные вкусовые ощущения: кисло-сладкий, кисло-соленый, сладковато-горький, острый, вяжущий

и др., которые складываются из основных и называются **привкусами**. Существуют вещества, усиливающие или уменьшающие вкусовые ощущения [10].

Соленый вкус пищевых веществ и воды обусловлен растворенными в них хлоридами Na и K. Катионы Na^+ и K^+ вызывают соленый вкус, а анион Cl^- — сладость, но порог ощущения у последнего ниже, чем у катионов.

Ощущение *кислого вкуса* связано в основном с концентрацией водородных ионов. В формировании кислого вкуса принимают также участие недиссоциированные молекулы и анионы кислоты (например, HCO_3^-). Поэтому высказывается мнение, что кислый вкус зависит не только от величины pH, но и от титруемой кислотности.

Сладким вкусом обладают сахара, многоатомные спирты (гликоль, глицерин, сорбит), α-аминосахарин, соли свинца и бериллия. Степень сладости зависит от вида сахара.

Горький вкус пищевым продуктам сообщают некоторые органические вещества и минеральные соли. Ионы Mg^{2+} и SO_4^{2-} придают продуктам при определенной концентрации горький и горько-вяжущий вкус. Горьким вкусом обладает большинство глюкозидов и алкалоидов. Глюкозиды — в листьях полыни, в косточках горького миндаля, рябины, яблок, слив. Алкалоиды — азотосодержащие вещества гетероциклического строения, например, пиперин, содержащийся в перце, хинин, кофеин.

Терпкий вяжущий вкус некоторых продуктов обусловлен дубильными соединениями, среди которых важная роль отводится танинам.

Длительность вкусовых ощущений зависит от природы вещества. Наименьшее время ощущается соленый вкус, затем следует сладкий, кислый и горький вкусы. Ощущение горечи в 3,5 раза более продолжительно, чем солености и соответствует 1,1 с.

Явление *вкусового контраста* заключается в том, что вкусовая чувствительность повышается, когда определяем один вкус вслед за другим вкусом, например, сладкий вслед за горьким.

Характер вкусовых ощущений сохраняется до их исчезновения, но иногда возникают новые вторичные вкусовые ощущения («послевкусие»).

Вкусовая чувствительность зависит от температуры продукта: она возрастает почти вдвое при повышении температуры от 10 до 20 ºС, остается устойчивой в пределах 20–30º С и снижается при дальнейшем повышении температуры от 30 до 40 ºС. При 0 ºС вкус теряется. Острота ощущения сладкого вкуса находится в прямой, а горького — в обратной зависимости от температуры.

Органом восприятия ***запаха*** служит нос. Обонятельное поле, где расположены рецепторы запаха, занимает небольшой участок (около 5 $см^2$) слизистого эпителия в области верхних носовых ходов. Обонятельные клетки заканчиваются була-

вовидными утолщениями с ресничками, доходящими до поверхности слизистой. Ароматические вещества характеризуются повышенной летучестью и попадают в носовую полость при дыхании, при приеме, разжевывании и проглатывании продукта. Согласно теории Эмура, решающую роль в передаче запаха играет форма молекулы пахучего вещества и то, как она входит в соответствующее углубление рецептора. Теорию запаха Эмура дополняет физическая, согласно которой молекулы пахучего вещества излучают электромагнитные волны строго определенного диапазона (1–100 мкм), которые улавливаются обонятельными клетками. Спектры излучения сходных по строению пахучих веществ мало различаются.

Запах пищевого сырья и продовольственных товаров обусловлен сложным составом летучих веществ, относящихся к различным классам химических соединений: спиртам, эфирам, альдегидам, кетонам, летучим кислотам, терпенам, аминам, серосодержащим веществам.

Запахи подразделяются на *эфирные* (ацетон, хлороформ); *ароматические* (камфора, ментол, лимон, миндаль); *цветочные* (ванилин); *мускусный запах*; чесночный (H_2S, J_2); *пригорелый* (бензол, фенол, анилин); *каприловый* (каприловая кислота); *отталкивающий* (пиридин, хинолин); *тошнотворный* (индол, скатол).

Как и у всякой науки, органолептический (сенсорный) анализ насчитывает множество методов, с помощью которых выполняются определенные задачи (рис. 2).



Рис. 2. Методы сенсорного анализа

Методы потребительской оценки (предпочтения и приемлемости). Данные методы используют для исследования реакций потребителей на новый продукт, который либо приготовлен по новой технологии, либо содержит новый компонент, либо хранился с использованием новых современных материалов.

Для органолептического анализа могут использовать полупрофессиональных дегустаторов из числа обученных студентов, сотрудников или просто потребителей данной продукции, например, в крупных универсамах, супермаркетах. Подобный метод не только помогает провести предварительные маркетинговые исследования, но и преодолеть «парадокс дегустатора».

Метод оценки предпочтительности продукта сводится к заполнению дегустаторами таблиц, содержащих гедонические (от греч. «*hedone*» — наслаждение) лекала.

Дегустатор (потребитель) ставит крестик напротив той графы, уровень желательности которой соответствует, по его мнению, дегустируемому продукту.

Существуют различные гедонические шкалы. Самые простые — это словесные и гедоническая шкала лиц (рис. 3). Каждая нарисованная «рожица» изображает определенную эмоцию — от плача до радостного смеха. Человеку следует поставить «+» против той или иной «рожицы».



Рис. 3. Гедоническая шкала лиц

Различительные методы сенсорной оценки: группа методов качественного анализа. При использовании данной группы методов перед началом дегустации следует определить, является ли применение теста односторонним (когда представляет интерес только одно направление) или двусторонним (когда оба направления представляют интерес).

Методы применяются, когда исследуется разница в органолептических свойствах двух или более продуктов.

Метод парного сравнения. Этот метод применяется в следующих случаях:

– когда существуют направленные различия между двумя тестируемыми образцами (например, более или менее сладкий);

– чтобы установить, существует ли предпочтение между двумя оцениваемыми образцами;

– при обучении дегустаторов, чтобы отбирать, обучать и контролировать возможности обучаемых.

Согласно данной методике парные образцы должны представляться для оценки одновременно или последовательно. Пары составляют из проб с небольшими различиями. Во всех парах предлагаются одни и те же пробы в произвольной последовательности. Например, АБ, БА, АБ и т.д. Несколько пар могут предлагаться в последовательности (серии пар), позволяющей снизить или полностью избежать усталости органов чувств, адаптации к тестируемой продукции. Метод парного сравнения прост в подготовке и реализации, не требует большого количества образцов. Недостатком парного метода является вероятность элемента угадывания правильного ответа. В зависимости от принятой вероятности (95 или 99 %) для различного количества проведенных парных сравнений число правильных ответов должно быть не ниже указанных по специальной таблице.

Триангулярный (треугольный) метод. Этот метод позволяет выделить различия в восприятии двух продуктов методом треугольника: применяется, когда речь идет о выделении слабо выраженных различий между образцами продуктов. Метод используется также для отбора и тренировки дегустаторов, контроля их рабочих качеств.

Согласно методике, описанной в Международном стандарте, дегустаторам должны представляться одновременно три образца, два из которых одинаковые. Пробы кодируются и комплектуются в виде блоков, например, по следующей схеме: АББ, АБА, БАБ, ББА и т.д. Дегустаторам необходимо определить, какой из трех образцов отличается.

Метод треугольных сравнений несколько сложен, но точность его выше по сравнению с предыдущим методом парных сравнений. Вероятность угадывания правильного ответа в этом случае составляет 33 %, в то время как в методе парных сравнений — 50 %.

В практике органолептического анализа методом треугольника дегустаторы часто допускают ошибку, указывая на один из двух одинаковых образцов как на образец, имеющий отличия, что получило название «парадокс неразличимого».

Метод «дуо-трио». Метод применяется для выявления существенных различий между двумя образцами. Эти различия могут быть связаны как с од-

ной органолептической характеристикой, так и с комплексом характеристик. Данный метод неприменим ни для определения предпочтений, ни для оценки характера воспринимаемых различий.

Существует две формы описываемого метода:

– с изменяющимся контрольным образцом;

– с постоянным контрольным образцом.

Готовится достаточное количество образцов в зависимости от числа членов дегустационной комиссии. Все продукты должны быть приготовлены одинаково (одинаковая температура, посуда, одинаковое количество продуктов и т.д.). Посуда, в которой подаются образцы, должна быть обязательно закодирована, обычно это число из трех произвольных цифр. Затем формируются серии из четырех блоков образцов в следующих комбинациях: $А_к$АБ, $А_к$БА, $Б_к$АБ, $Б_к$БА. В первых двух блоках серии контрольным образцом является образец А, а в двух последующих блоках — Б. Приготовленные блоки образцов распределяются между испытателями в случайном порядке, одновременно или последовательно. Испытателям предлагается выбрать образец, отличающийся от контрольного.

Метод «два из пяти». Метод применяется для дегустации продуктов со слабыми различиями. Как правило, берут два одинаковых образца А и три одинаковых образца Б. Образцы комплектуют по пять в блоках, кодируют и предлагают дегустаторам, например, по схеме: АББАБ, ББААБ, АБАББ, ААБАБ, АБАБА, БАБАА. Задача состоит в том, чтобы дифференцировать образцы в каждом блоке, выделив А и Б. Этот метод считается более эффективным и работоспособным, чем все описанные. К его недостаткам относят высокую трудоемкость и быструю утомляемость органов чувств дегустаторов.

Метод «А» — не «А». Описываемый метод «А» — не «А» используется в сенсорном анализе для:

– *испытаний на различие,* особенно для оценки образцов, имеющих различный внешний вид (что затрудняет получение строго идентичных повторных образцов) или оставляющих различные послевкусия (что затрудняет непосредственное сравнение);

– *испытаний на узнавание*, в особенности для определения того, может ли испытатель или группа испытателей идентифицировать новый импульс в сравнении с известным импульсом (например, распознание сладкого вкуса нового подсластителя);

– *испытаний на восприятие* — для определения чувствительности эксперта к конкретному стимулу. Дегустатор сначала знакомится со стандартным образцом «А», после чего в серии закодированных проб ищет и идентифицирует продукт «А», а также отличные от стандартного продукта — не «А».

Различительные методы сенсорной оценки: группа методов количественного анализа. Количественные различительные методы позволяют количественно оценить интенсивность определенного свойства продукта.

Метод индекса разбавлений. Метод заключается в том, что жидкие продукты подвергаются многократному разбавлению. Как правило, это разбавление проводят до того момента, пока исследуемые запах, вкус, букет или цвет совсем перестают ощущаться, т.е. интенсивность станет меньше порога ощущения и порога распознавания. Чем выше значение индекса разбавления, тем более выражены интенсивность аромата, вкуса, окраски и букета исследуемого продукта.

Этот метод можно применять для исследования свойств, полученных при изменении технологии (производства, хранения): один продукт берут с измененной технологией А, а второй (стандартный) — приготовленный по традиционной технологии.

Рекомендуется применять этот метод и для исследования твердых продуктов. Для этого в коническую колбу помещают 30 г вещества, приливают 270 мл подогретой до 60 ºС дистиллированной воды, после чего колбу закрывают плотно крышкой и встряхивают в течение 15 мин. Полученную смесь фильтруют, фильтрат разбавляют водой или растворителем до полного исчезновения исследуемых свойств продукта. Показатель (индекс) вкуса, запаха, окраски, вкусности и т.д. выражается числом разбавлений или процентным содержанием исходного вещества в растворе. Например, аромат вишни исчезает, если сок разбавляется водой в соотношении 1:30.

Метод Scoring. С английского языка «*Scoring*» переводится как подсчет очков и выражается в балльной или в словесной оценках, либо графически изображаются качества дегустируемого продукта. Метод *Scoring* позволяет количественно оценивать качественные признаки продуктов.

Метод заключается в следующем. Дегустатору предлагают два образца: один — с максимально, другой — с минимально выраженными изучаемыми свойствами. После чего на дегустацию выставляют интересующий комиссию образец. Дегустатору следует на графической или словесной шкалах отметить свое впечатление об исследуемом продукте, чьи характеристики неизвестны (рис. 4).

Графическая шкала — градуированный отрезок прямой определенной длины, на концах которого отмечены предельные значения свойств продукта (max, min). При сравнении свойств этих двух продуктов со свойствами исследуемого образца дегустатор отмечает на шкале свое впечатление штрихом или крестиком. При этом он учитывает расстояние от обоих концов отрезка [3, 6].

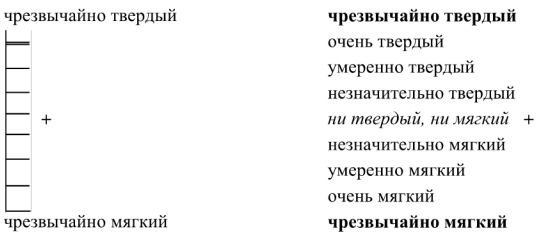

Рис. 4. Графическая и словесная шкалы для оценки твердости пищевых продуктов

ГЛАВА 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

2.1 Белковые вещества

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

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

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

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

Среднесуточная физиологическая потребность в белке в течение более чем ста лет постоянно исследуется и периодически отражается в решениях ВОЗ, ФАО и национальных организаций различных стран. Эти величины носят ориентировочный характер, так как они находятся в стадии постоянного уточнения в зависимости от возраста человека, пола, климата, индивидуальных и национальных особенностей и степени загрязнения окружающей среды. В со-

ответствии с рекомендациями ВОЗ и ФАО величина оптимальной потребности в белке составляет 60–100 г в сутки или 12–15 % от общей калорийности пищи. В пересчете на 1 кг массы тела потребность белка в сутки для детей, в зависимости от возраста, колеблется от 1,05 до 4,00 г.

По своему строению белки представляют собой высокомолекулярные соединения, состоящие из аминокислот. Соединенные амидной (пептидной) связью (-CO-NH) аминокислоты образуют полипептиды простого (протеина) и сложного (протеида) строения. В состав протеидов дополнительно входят небелковые вещества (липиды, углеводы и т.д.) [3].

Известно, что в состав белков входят 20 различных аминокислот, причем восемь из них не могут синтезироваться в организме человека и поэтому являются незаменимыми (валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин).

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

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

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

Несмотря на огромное разнообразие аминокислотного состава белков, каждому индивидуальному белку характерен строго определенный только для него аминокислотный состав, что обусловлено генетическим кодом, сформированным в процессе эволюции.

Все протеиногенные аминокислоты являются α-аминокислотами с характерной для них общей структурной особенностью — наличием карбоксильной и аминной групп, связанных с атомом углерода в α-положении.

Часть структуры всех аминокислот одинакова, однако функциональная группа (*R*–остаток) не одинакова по структуре, электрическому заряду и растворимости. От соответствующего сочетания этих групп зависят свойства белковых молекул.

В зависимости от химических свойств *R*-групп все протеиногенные аминокислоты подразделяются на *четыре основных класса*:

– неполярные (гидрофобные);

– полярные;

– отрицательно заряженные;

– положительно заряженные.

По своей стехиометрической конфигурации все аминокислоты, за исключением глицина, имеют ассиметричный атом углерода в α-положении, с которым связаны четыре разные группы (радикал, атом водорода, карбоксильная группа и аминогруппа). Таким образом, аминокислоты обладают оптической активностью (дисперсией оптического вращения).

Присутствие аминокислот, содержащих основные (-NH_2) и кислые (-COOH), обуславливает амфотерные (амфолитные) свойства. Они определяют высокую буферность водных растворов белков, а следовательно, постоянное значение pH живой клетки. Эти свойства положены в основу методов разделения, идентификации и количественного анализа аминокислот, нашедших широкое использование при определении аминокислотного состава в белковой молекуле.

В табл. 4 приведены свойства протеиногенных *L*-α-аминокислот.

Таблица 4

Физико-химические свойства протеиногенных *L*-α- аминокислот

Название (тривиальное и рациональное)	Сокращенное обозначение	Удельное вращение в водном растворе 25 °С $[\alpha]_д$	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая точка pI	Растворимость при 25 °С, г на 100 г воды
			pK_1	pK_2	pK_3		
1. Моноаминокарбоновые:							
1.1. Глицин (α-аминоуксусная)	*Gly*	–	–	–	–	5,970	24,990
1.2. Аланин (α-аминопропионовая кислота)	*Ala*	+1,8	2,35	9,87	–	6,000	16,510
1.3. Валин (α-аминоизовалериановая кислота)	*Val*	+6,6	2,32	9,62	–	6,000	7,040
1.4. Лейцин (α-аминоизокапроновая кислота)	*Leu*	–11,0	2,36	9,60	–	6,000	0,990

Название (тривиальное и рациональное)	Сокращенное обозначение	Удельное вращение в водном растворе 25 °С $[\alpha]_д$	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая точка pI	Растворимость при 25 °С, г на 100 г воды
			pK_1	pK_2	pK_3		
1.5. Изолейцин (α-амино-β-метил-Н-валериановая кислота)	*Ile*	+12,4	2,26	9,62	–	5,900	2,230
1.6. Тирозин	*Tyr*	+11,8	2,20	9,21	10,16	7,300	0,035
1.7.Фенилаланин (α-амино-β-фенил-пропионовая кислота)	*Phe*	–34,5	2,20	9,31	–	3,500	1,420
2. Моноаминодикарбоновые:							
2.1.Аспарагиновая (α-аминоянтарная кислота)	*Asp*	+6,7	1,88	3,65	9,00	2,800	0,500
2.2.Лизин (α,ε-диаминокарбоновая кислота)	*Lys*	+13,5	2,20	8,90	10,28	9,700	–
2.3.Аргинин (α-амино-δ-гуанидо-валериановая кислота)	*Arg*	12,5	2,18	9,09	13,20	10,90	–
3. Гидрокислоты:							
3.1.Серин (α-амино- β-окси-пропионовая кислота)	*Ser*	–7,9	2,21	9,35	–	5,700	5,030
3.2.Треонин (α-амино- β-окси-масляная кислота)	*Thr*	–28,5	2,15	9,12	–	5,800	20,500
4. Тиаминооксикислоты:							
4.1.Цистеин (α-амино- β-мерка-пто-пропионовая кислота)	Cys	–16,5	1,71	8,33	10,78	5,000	–
4.2.Цистеин (3,3-ди-тио-бис-2-аминопропионовая кислота	*(Cys)*$_2$	1,4	2,01	8,02	5,00	0,011	–
4.3.Метионин (α-амино-γ-метил-меткаптомасляная кислота)	*Met*	–10,0	2,28	9,21	–	5,700	3,350
5. Гетероциклические аминокислоты:							
5.1.Триптофан (α-амино- β-индолилпропионовая кислота)	*Trp*	–33,7	2,38	9,30	–	5,900	1,140

Название (тривиальное и рациональное)	Сокращенное обозначение	Удельное вращение в водном растворе 25 °С $[\alpha]_д$	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая точка pI	Растворимость при 25 °С, г на 100 г воды
			pK_1	pK_2	pK_3		
5.2.Гистидин (α-амино- β-имидозолилпропионовая кислота)	*His*	–38,5	1,78	5,97	8,97	7,00	4,290
5.3.Пролин (пирролидин-α-карбоновая кислота)	*Pro*	–86,2	1,99	10,0	–	6,300	12,300
5.4.Гидроксипролин (α-гидроксипирролидин-β-карбоновая кислота)	*Hyp*	–59,6	1,82	9,65	–	5,800	36,110

Свойства аминокислот определяют функциональные свойства белков, под которыми принято понимать физико-химические характеристики, определяющие их поведение при переработке в пищевые продукты, а также обеспечивающие желаемую структуру, технологические и потребительские свойства пищевых продуктов.

Эта область научных интересов имеет центральное значение для развития технологии переработки белка в новые формы пищи.

Исследование белковых фракций современными методами (хроматография, электрофорез, ультрацентрифугирование, полярография) показали, что они являются гетерогенными и состоят из субфракций, компонентов и субкомпонентов.

Белковые фракции сортов, их биотипов различаются по числу субфракций, компонентов и их соотношению. Субфракции и компоненты имеют специфический аминокислотный состав.

Все методы определения белковых веществ основаны на свойствах и составе белокобразующих аминокислот.

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

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

Суть реакции Пиотровского состоит в том, что благодаря присутствию в молекуле белка пептидной связи (-CO-NH-) амидная связь реагирует с раствором гидроксида меди, жидкость окрашивается в фиолетово-синий или фиолетово-красный цвет.

Для наблюдения реакции в пробирки наливают по 1–2 $см^3$ белка с равным количеством 4 %-ного раствора щелочи и добавляют 1–2 капли 0,5 %-ного раствора медного купороса.

Реакцию дают все белки, а также продукты их гидролиза — пептоны и пептиды, начиная с тетрапептидов.

Другой качественной реакцией на белки, содержащие α-аминокислоты является нингидриновая реакция. Нингидрин в концентрации 0,1 % реагирует с равным объемом раствора белка NH_2-группами, содержащимися в α-положении, при нагревании с последующим охлаждением придает системам синее окрашивание.

Существуют также частные реакции на белки, связанные с присутствием фенольных и гетероциклических групп.

Во второй группе реакций белки осаждают действием солей, органических растворителей, концентрированных кислот, щелочей, ионов тяжелых металлов, температуры и в изоэлектрической точке. Белки в растворенном состоянии крайне неустойчивы, поэтому при добавлении органических растворителей (спирт, ацетон), концентрированных растворов нейтральных солей щелочных металлов и воздействий физических факторов (нагревание, облучение, ультразвук) гидратная оболочка разрушается, и они выпадают в осадок.

Так как белковые вещества сырья (муки, крупы, молока, мяса), включая ферменты, часто являются определяющими в обеспечении качества пищевых изделий, то для изучения физико-химических, биохимических и физиологических свойств этих соединений обязательным условием является получение белков в индивидуальном и, по возможности, неденатурированном состоянии. Белки обычно теряют природные (нативные) свойства (растворимость, гидратацию, ферментативную активность и т.д.), подвергаясь денатурации под влиянием различных факторов.

Наиболее распространенным ***количественными методами*** являются метод Кьельдаля, Лоури с реактивом Фолина, Войвуда в модификации Т.А. Глагоревой, К.А. Мерка [6].

Содержание белка в пищевых объектах обычно определяют по количеству азота с использованием метода Кьельдаля. С целью упрощения и сокращения длительности анализа этот метод с момента его разработки (1983 г.) неоднократно модифицировался с применением различных катализаторов и условий

минерализации. На основе модифицированных методов созданы высокопроизводительные автоматические анализаторы типа «Кьельфос», стоимость определения содержания белка на которых и сегодня остается высокой.

Метод основан на минерализации навесок при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов. Аммиак отгоняют в раствор борной кислоты и оттитровывают его 0,1 н. раствором серной кислоты. Объем кислоты, пошедший на титрование, умножают на титр по азоту и узнают содержание азота в пробе.

Химическая реакция аммиака с борной кислотой идет с образованием метаборной кислоты из ортоборной ($H_3BO_3 \rightarrow HBO_2 + H_2O$). Сама борная кислота очень слабая и не оказывает влияния на концентрацию ионов водорода. Реакция идет следующим образом: $NH_3 + HBO_2 = NH_4^+ + BO_2^-$. Полученный в результате анион BO_2^- оттитровывают раствором кислоты, при этом происходит восстановление протона в боррат-анион (основание): $H^+ + BO_2^- = HBO_2$. Анион BO_2 является сильным основанием и, следовательно, его можно титровать сильной кислотой.

Существует и некоторая условность в методе Кьельдаля при расчете количества белка, заключающаяся в использовании переводного коэффициента. Однако, несмотря на недостатки, метод Кьельдаля является унифицированным, он включен в ГОСТы на многие пищевые продукты.

Для перевода количества азота в содержание белка используют коэффициент 6,25. Принят он потому, что большинство белков содержит 16 % азота (100 / 6,25 = 16). Однако более правильным является использование коэффициентов, соответствующих фактическому содержанию сырого белка в каждом его виде. Так, для пшеницы получен коэффициент 5,7, так как ее белки содержат 17,5 % азота. Для других белковых ресурсов коэффициенты перевода приняты следующими: 5,7 — рожь, ячмень, овес, семена подсолнечника; 5,8 — соя; 6,25 — кукуруза, мясо; 6,38 — молоко [6].

Колориметрический метод определения белка (Метод Лоури) основан на реакции белков с реактивом Фолина, дающей синее окрашивание. Интенсивность окраски определяют на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром (или на спектрофотометре при длине волны 750 нм). Количество белка в растворе находят по калибровочной кривой. Метод применяют для определения белка в растворах с концентрацией от 10 до 100 мкг.

В основе биуретового метода лежит *биуретовая реакция*. По оптической плотности с использованием калибровочных графиков находят концентрацию белка в растворах. Этот метод определения белка требует для выполнения до-

ступных реактивов и используется для определения белков в растворах, в том числе предназначенных для электрофореза.

Имеются различные методы определения азота, такие, как метод Дюма, нейтронно-активационный и с фенолятгипохлоридом на приборе «Техникон». Принцип метода Дюма заключается в разложении органического соединения в атмосфере оксида углерода до газообразного состояния с последующим измерением объема азота (N_2). В нейтронно-активационном методе атомы азота образца бомбардируются нейтронами в ядерном реакторе с получением изотопа ^{13}N. Содержание белка рассчитывают по количеству гамма-лучей.

Широкое распространение получил метод *инфракрасной спектроскопии*, в основе которого лежит поглощение белками света с определенной длиной волны и измерение интенсивности его отражения в пробах анализатораов Приборы калибруют по образцам зерна (эталонам) с известным содержанием белка, определяемым по методу Кьельдаля.

Известны методы количественного определения белка, основанные на различной степени помутнения (нефелометрический метод), способности белков адсорбировать красители (кумасси синий R-250, амидочерный и др.) и преломлять лучи света (по показателю преломления). Они характеризуются высокой точностью и простотой определения, хотя имеют ряд ограничений. Наиболее удобными являются методы с кумасси синим, биуретовый и Лоури [6].

Массовую долю белка определяют также *колориметрическим методом*, который основан на способности белков при pH ниже изоэлектрической точки связывать кислые красители вследствие образования нерастворимого комплекса. При этом интенсивность окраски раствора уменьшается обратно пропорционально количеству белка. После удаления нерастворимого комплекса измеряют оптическую плотность раствора оставшегося красителя и по градуировочному графику определяют массовую долю белка.

Определение массовой доли белков методом *формольного титрования.* Этот метод применяют для контроля массовой доли белка в молоке кислотностью не более 22 °С. Он основан на реакции щелочных аминогрупп белка с формалином, в результате которой высвобождаются карбоксильные кислые группы белка. При этом повышается титруемая кислотность молока, по приросту которой определяют массовую долю белка в молоке.

Для определения массовой доли белка в молоке применяют также *рефрактометрический метод*. Он основан на изменении показателей преломления молока и безбелковой молочной сыворотки, полученной из того же образца молока, разность между которыми пропорциональна массовой доле белка в молоке.

При изучении физико-химических свойств белков и их превращений в пищевых системах широко используют методы фракционирования и очистки от небелковых соединений. Они основаны на различии таких свойств белков, как размер молекул, растворимость заряд и сродство к специфическим химическим группам.

Общая схема операций по выделению белков сводится к измельчению биологического материала (гомогенизации), экстрагирования и собственно выделению, то есть очистки и получению белка в индивидуальном состоянии.

Осаждение белков из раствора под действием солей щелочных и щелочноземельных металлов называют **высаливанием**. Для высаливания чаще применяются сульфат аммония, под влиянием которого белки, как правило, сохраняют растворимость и ферментативную активность.

Глобулины выпадают в осадок при 50 %-ном насыщении, альбумины при 100 %-ном насыщении растворов солей, а при ступенчатом фракционировании (20–100 % насыщения) выпадают белки и других классов (проламины, глютелины).

В практике выделения и очистки белков используются различные *типы хроматографии*: адсорбционная, распределительная, ионообменная и хроматография по сродству [6].

Адсорбционная хроматография основана на различиях в полярности белков. В колонке вместе с буферным раствором упаковывают адсорбент, на который в небольшом объеме растворителя наносят исследуемый образец. Компоненты разделяемой смеси адсорбируются, затем элюируются с помощью буферного раствора с увеличивающейся концентрацией или полярностью. Фракции белка собирают с помощью автоматического коллектора фракций.

В ***распределительной хроматографии,*** в отличие от адсорбционной, в качестве неподвижной фазы выступает водный слой, удерживаемый твердой фазой (силикагель, бумага). Разделяемые вещества многократно распределяются между водным слоем и движущейся фазой растворителя и с разной скоростью перемещаются по длине колонки или бумаге. Распределительную хроматографию на бумаге часто используют для анализа пептидов и аминокислот. Адсорбентом служат нити целлюлозы, а растворителем — смесь органических растворителей, например: бутиловый спирт — уксусная кислота — вода. Хроматограмму проявляют, высушивают и анализируют местонахождение разделяемых компонентов тем или иным способом.

Методом ***ионообменной хроматографии*** белки или аминокислоты разделяют на основе различий в общем заряде молекул. Если белок в нейтральной среде (pH 7) имеет положительный заряд, то он связывается на колонке с ионообменником, содержащим фенольные, сульфо- и карбоксильные группы (кати-

онообменник). Чаще всего для фракционирования белков используют производные полистирола и целлюлозы.

Положительно заряженный белок снимается с колонки с помощью раствора хлористого натрия или изменением pH элюирующего буфера. При этом ионы натрия конкурируют с положительно заряженными группами белков. Белки с меньшим положительным зарядом вымываются с колонки первыми, с большим зарядом — последними.

Хроматография по сродству (аффинная хроматография) основана на принципе избирательного связывания белков со специфическими веществами (лигандами) прикрепленными к носителю. Лиганды (глюкозу) ковалентно присоединяют к носителю (проводя иммобилизацию) и наносят на колонку исследуемую белковую смесь. Несвязавшиеся белки удаляют соответствующим буфером, а нужный белок элюируют раствором, содержащим лиганд в очень высокой концентрации. При этом присоединенные к колонке остатки глюкозы в молекуле белка замещаются на глюкозу, находящуюся в растворе.

Гель-фильтрация, или *метод молекулярных сит* заключается в пропускании белков через колонку с гелем сефадекса или других типов (агарозных, полистирольных). Применяются также пористые стеклянные шарики и пористый кварц (порасил).

Принцип метода *электрофоретического разделения* заключается в способности молекул пептидов и аминокислот, находясь в заряженной форме в виде катионов (+) или анионов (–), передвигаться в электрическом поле с определенной скоростью.

Очень высокую разрешающую способность имеет *метод изоэлектрического фокусирования белков*, в основе которого лежит фронтальный электрофорез, проводимый на колонке одновременно в градиенте pH и напряжения.

В организме синтезируется только часть аминокислот, другие должны доставляться с пищей. Первые из них называются *заменимыми*, вторые *незаменимыми*. Заменимые аминокислоты способны заменять одна другую в рационе, так как они превращаются одна в другую или синтезируются из промежуточных продуктов углеводного или липидного обмена.

Жизнедеятельность человека обеспечивается ежедневным потреблением с пищей сбалансированной смеси, содержащей восемь незаменимых аминокислот и две частичнозаменимые. Незаменимые представлены аминокислотами с разветвленной цепью углерода — лейцином, изолейцином и валином; ароматическими — фенилаланином, триптофаном; алифатическими — треонином,

лизином и метионином. К частичнозаменимым относят аргинин и гистидин, так как в организме они синтезируются довольно медленно.

Важным понятием, характеризующим качество поступающего в организм белка, является *биологическая ценность*, то есть наличие незаменимых аминокислот и степень их усвоения. Чем ближе потребляемый белок по аминокислотному составу подходит к составу белков организма, тем выше его биологическая ценность.

Изучение химического состава пищевых продуктов, закономерностей метаболических превращений в организме каждого из многочисленных белковых веществ, входящих в состав продукта, выявление их участия в жизнедеятельности, а также интегрального биологического эффекта, привело к возникновению научных представлений о биологической ценности, под которой понимают относительную степень задержки азота пищи или эффективность его утилизации для поддержания азотистого равновесия, зависящая от аминокислотного состава и других структурных особенностей белков. Таким образом, термин «биологическая ценность» отражает качество белковых компонентов продукта, связанных как с перевариванием белка, так и со степенью сбалансированности его состава. Биологическая ценность может быть определена химическими и биологическими методами (например, с использованием тест-организмов).

Основываясь на понятии биологической ценности как степени соответствия состава пищи физиологическим потребностям организма, разработаны некоторые принципы биологической оценки качества продуктов питания.

Большинство исследований пришло к единому мнению, что биологическую ценность белков, независимо от использованного варианта проведения эксперимента или метода ее расчета необходимо выражать не в абсолютных, а в относительных величинах (в процентах) то есть в сравнении с аналогичными показателями, полученными с применением стандартных белков.

Химические методы исследования биологической ценности белков разрабатывались на основании результатов изучения состава белков в пищевых продуктах и установленной связи между степенью задержки азота, пищевого белка в живом организме и наличием в нем незаменимых аминокислот.

Наиболее широко используется метод Х. Митчелла и Р. Блока, в соответствии с которым рассчитывается показатель аминокислотного скора (а.с.). Скор выражают в процентах или безразмерной величиной, представляющей собой отношение содержания аминокислот (а.к.) в исследуемом белке к ее количеству в эталонном белке (табл. 5). При расчете скора формула (4) выглядит так:

$$\text{Аминокислотный скор} = \frac{мгАКв\backslash гбелка}{мгАКв\backslash гэталона} \cdot 100 . \quad (4)$$

Аминокислота, скор которой имеет самое низкое значение, называется **лимитирующей аминокислотой.**

Таблица 5

Содержание аминокислот в 1 г идеального белка

Аминокислота	Содержание, мг	Аминокислота	Содержание, мг
Изолейцин	40	Фенилаланин+тирозин	60
Лейцин	70	Треонин	40
Метионини + цистин	35	Триптофан	10
Валин	50	Всего	360

Другой метод определения биологической ценности белков заключается в определении *индекса незаменимых аминокислот* (ИНАК). Метод представляет собой модификацию метода аминокислотного скора и позволяет учитывать количество всех незаменимых кислот. Индекс рассчитывают по формуле (5):

$$\text{ИНАК} = \sqrt[n]{\frac{Лиз_б}{Лиз_э} \times \frac{Три_б}{Три_э} \times ... \times \frac{Гис_б}{Гис_э}}, \quad (5)$$

где n — число аминокислот; индексы «б», «э» — содержание аминокислоты в изучаемом и эталоном белке соответственно.

Известны и другие химические методы, которые основаны на исследовании аминокислотного состава белка с последующим расчетом индексов биологической ценности (индексы Озера, Митчелла, Корпачи).

Вышеперечисленные методы индексов и скора по стандарту не позволяют учитывать одну из важнейших характеристик биологической ценности белка, а именно, доступность усвоения в организме аминокислот, входящих в его состав. Например, количество доступного лизина является в настоящее время наиболее ценным показателем «технологического» снижения биологической ценности белков. В литературе описаны различные способы определения доступного лизина в белковых продуктах: химические, биологические и микробиологические.

Особый интерес вызывают у исследователей такие методы определения биологической ценности белков, в которых в какой-либо степени имитируются условия пищеварения в организме человека. *Метод ферментативного переваривания белков протеолитическими ферментами желудочно-кишечного трак-*

та применяется для изучения скорости расщепления белков, находящихся в составе различных пищевых продуктов.

Для изучения биологической ценности белков наибольшее применение получили биологические методы исследования, результаты которых служат основой для сравнения с данными, полученными при использовании химических методов [9].

Биологические методы основаны на скармливании изучаемого белка живому организму с последующим выявлением его реакции. Основными показателями оценки при этом являются привес (рост животных) за определенный период времени, расход белка и энергии на единицу привеса, коэффициенты перевариваемости и отложения азота в теле, доступность аминокислот. Биологические методы исследования биологической ценности белков можно классифицировать на *росто-весовые* и *балансовые*. Эти методы широко используют для определения различных индексов биологической ценности белков.

Росто-весовые методы основаны на учете прибавки веса тела на единицу потребленного белка за определенное время.

Наибольшее распространение получили разработанные П. Осборном методы определения коэффициента эффективности белка (КЭБ или PER), которым определяют прибавку веса тела на один грамм потребленного белка за экспериментальный период. Для сравнения при определении показателя используют контрольную группу животных со стандартным белком — казеином — в количестве, обеспечивающем в рационе 10 % белка. Методика определения КЭБ признана оригинальной в ряде стран (США, Канада).

Балансовые методы исследования биологической ценности белка основаны на определении различных реакций организма на потребляемый белок. Методы определения биологической ценности белков, основанные на данных балансовых исследований, считают наиболее точными из всех предложенных.

В настоящее время в исследовательских целях используют метод с реснитчатой инфузорией *Tetrahimena pyriformis*. Метод был разработан С.А. Стоттом и Х. Смитом.

Однако наибольшее распространение получил модифицированный метод определения относительной биологической ценности [9]. В отличие от общепринятого метода Стотта и Смита предлагаемый метод значительно проще и дешевле, производительнее и легко доступен любым лабораториям, которые имеют самый необходимый минимум для проведения микробиологических исследований. Модификация сводится к следующему:

1. Используемые в анализе витамины и нуклеотиды заменяются дрожжевым экстрактом, а соли — морской солью.

2. В 10 раз уменьшается количество всех компонентов анализа (величина навески исследуемого продукта, объем инокулята и т.д.).

3. Вместо специальных плоскодонных колб Элрленмейера, занимающих много места в термостате, что существенно ограничивает производительность анализа, используются флаконы из-под антибиотиков с резиновой пробкой, имеющей срез внутреннего валика для аэрации среды. Флаконы размещают в штативе, что значительно облегчает все манипуляции с пробами.

4. Используемый в заключительной стадии опыта раствор формалина для фиксации инфузорий вносится непосредственно во флаконы и из них уже берется взвесь для подсчета клеток.

Сущность метода заключается в термостатировании флаконов микрофлоры с исследуемыми образцами продуктов (мясных, овощных, молочных и др.) и фиксируют инфузории йодноспиртовым раствором или раствором формалина. Относительная биологическая ценность продукта определяется отношением числа выросших на опытном продукте к числу инфузорий, выросших на контрольном продукте, умноженном на 100.

Изложенный выше метод был использован для определения биологической ценности пищевых продуктов, прошедших тепловую обработку и некоторой готовой продукции. Полученные данные позволили предложить ряд рекомендаций для рационализации технологических процессов производства продуктов.

Результаты исследований по определению влияния способов тепловой обработки на биологическую ценность овощей приведены в табл. 6.

Таблица 6

Влияние тепловой обработки на биологическую ценность овощей

Наименование продукта	Общий азот в % (на абсолютно сухое вещество)	ОБЦ по отношению к внутреннему стандарту	Потери в % по отношению к внутреннему стандарту
Капуста белокочанная			
– свежая сырая	2,73	100,00	–
– вареная	2,16	129,97	29,57
– вареная с солью	2,25	122,57	22,57
– тушеная	1,75	125,84	25,84
– тушеная с солью	2,20	112,94	12,94
Капуста квашеная:			
– сырая	2,57	94,66	5,34
– вареная	2,20	125,51	25,51
– тушеная	2,49	92,84	7,16

Наименование продукта	Общий азот в % (на абсолютно сухое вещество)	ОБЦ по отношению к внутреннему стандарту	Потери в % по отношению к внутреннему стандарту
Картофель:			
– сырой очищенный	1,75	100,0	–
– вареный целым клубнем в воде	1,30	121,36	21,36
– вареный на пару	1,24	137,76	37,70
– вареный в кожице в воде	1,40	108,51	8,51

2.2. Липиды

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

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

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

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

По химическому строению липиды являются производными жирных кислот, спиртов, альдегидов, построенных с помощью сложноэфирной, простой эфирной, фосфоэфирной, гликозидной связей. Липиды делят на две основные группы: *простые* и *сложные* липиды. К простым нейтральным липидам (не содержащим атомов азота, фосфора, серы) относят производные высших жирных

кислот и спиртов, глицериды, воски, эфиры холестерина, гликопептиды и другие соединения. Молекулы сложных липидов содержат в своем составе не только остатки высокомолекулярных карбоновых кислот, но и фосфорную или серную кислоты.

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

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

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

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

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

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

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

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

Для качественного определения масел существуют следующие характерные реакции [6].

Проба на акролеин. Две-три капли испытуемого вещества (масло, экстракт после отгонки растворителя) нагревают в пробирке на голом огне с 1,5–2 частями безводного сернокислого натрия. Появление после вспенивания тяжелых белых паров и резкий запах акролеина (чада), вызывающего слезотечение, указывают на наличие масла. **Акролеин** — непредельный альдегид CH_2=CHCHO — образуется из глицерина при отнятии двух молекул воды. Если пары отвести в пробирку с фуксиносернистой кислотой, то последняя приобретает красную окраску.

Проба на омыление. Нагревают 2–3 капли испытуемого вещества в пробирке с 5 $см^3$ раствора спиртовой щелочи, отгоняют спирт. Оставшийся продукт растворяют в воде (мыло в воде растворимо). Прибавление кислоты до кислой реакции вызывает образование всплывающих на поверхность водного раствора жирных кислот.

Проба с галоидами. Эта реакция является характерной для масел, содержащих непредельные жирные кислоты. В пробирку с раствором масла в эфире прибавляют 1–2 капли бромной воды и встряхивают. Быстрое исчезновение желтой окраски бромной воды указывает на присутствие ненасыщенных кислот.

2.3. Углеводы

Согласно принятой в настоящее время классификации углеводы подразделяются на три основные группы: *моносахариды*, *олигосахариды* и *полисахариды* (рис. 5).



Рис. 5. Принципиальная классификация углеводов

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Общее содержание *пищевых волокон* (лигнин + неусваиваемые углеводы) обычно определяют гравиметрическим методом. Анализ заключается в использовании фракционирования — сначала растворяют крахмал и белки при помощи ферментов, имитирующих расщепление их в желудочно-кишечном тракте человека (α-амилаза, пепсин, панкреатин), растворимые пищевые волокна осаждают спиртом, фильтруют, осадок взвешивают [6].

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

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

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

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

Перманганатный метод Бертрана. Этот метод основан на окислении сахаров реактивами, в состав которых медь входит в виде растворимого комплексного соединения. Оно образуется при смешивании равных объемов раствора сернокислой меди (Фелинг № 1) и щелочного раствора калия-натрия виннокислого (Фелинг № 2). При нагревании жидкость Фелинга окисляет редуцирующие сахара, в результате чего окись меди восстанавливается до закиси. Закись меди растворяют кислым раствором железоаммонийных квасцов или серно-кислого окисного железа, при этом закись меди восстанавливает сернокислое окисное железо в сернокислое закисное железо, которое оттитровывают раствором марганцовокислого натрия. По объему марганцовокислого калия рассчитывают количество восстановленной меди, а затем, пользуясь специальными таблицами, находят количество сахара.

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

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

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

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

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

Количественное определение большинства высокомолекулярных углеводов основано на свойстве их гидролизоваться при кипячении с разбавленными (крахмал, гемицеллюлозы) или концентрированными (целлюлоза) минеральными кислотами до конечного продукта — простых сахаров — и на учете последних. Многие углеводы обладают оптической активностью, и это свойство

также используется для количественного их определения (крахмал). Очень часто применяются поляриметрические методы с использованием поляриметров различной конструкции. Принцип метода состоит в гидролизе крахмала и определении в гидролизате угла вращения.

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

Количественное определение каждой из групп полисахаридов затрудняется их растворимостью. Поэтому существует много схем последовательного определения полисахаридов, но ни одну из них нельзя рассматривать как достаточно точную. В большинстве их предварительным кипячением с водой спиртонерастворимого остатка извлекают пектиновые вещества, затем, применяя растворы щелочи различной концентрации, извлекают гемицеллюлозы, затем серной кислотой (также различной концентрации) определяют целлюлозу. В некоторых схемах вместо щелочи для определения гемицеллюлоз применяют обработку разбавленной (2–3 %-й) кислотой.

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

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

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

Для качественного определения крахмала используют очень чувствительную реакцию крахмала с йодом (синее окрашивание), применяемую, например, в качестве контроля на полноту гидролиза. Для обнаружения целлюлозы применяют раствор йода в растворах хлористого цинка и йодистого калия (синее

окрашивание), для пектина — окраску с рутением красным или после гидролиза — окраску галактуроновой кислоты карбазолом.

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

При установлении строения углеводов широко применяется получение метиловых эфиров сахаров. В аналитических и препаративных целях применяется периодатное окисление для определения числа свободных гидроксильных групп, для выделения целевых продуктов окисления, а также для установления структуры полисахаридов, строения гликозидов [3, 6].

2.4. Витамины

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

Сейчас известно свыше 13 соединений, относящихся к витаминам. Различают *собственно витамины* и *витаминоподобные соединения* (полная незаме-

нимость которых не всегда доказана). К ним относятся биофлавоноиды (витамин Р), пангамовая кислота (витамин B_{15}), парааминобензойная кислота (витамин H_1), оротовая кислота (витамин B_{13}), холин (витамин B_4), инозит (витамин H_3), метилметионинсульфоний (витамин U), липоевая кислота, карнитин.

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

По растворимости витамины могут быть разделены на две группы: *водорастворимые* (B_1, B_2, B_6, PP, С и другие) и *жирорастворимые* (А, D, Е, К).

В качестве единицы измерения пользуются миллиграммами (1 мг = 10^{-3} г), микрограммами (1 мкг = 0,01 мг = 10^{-6} г) на 1 г продукта или мг% (миллиграммы витаминов на 100 г продукта) или мкг% (микрограммы витаминов на 100 г продукта).

В то же время имеется группа соединений, близких к витаминам по строению, которые, конкурируя с витаминами, могут занять их место в ферментных системах, но не в состоянии выполнять их функции. Они получили название **антивитаминов**.

Здоровое питание населения является одним из важнейших условий здоровья нации. Массовые обследования, проведенные Институтом РАМН, свидетельствуют о дефиците витаминов у большей части населения России. Наиболее эффективный способ витаминной профилактики — обогащение витаминами массовых продуктов питания.

Основные группы продуктов питания для обогащения витаминами:

– мука и хлебобулочные изделия — витамины группы В;

– продукты детского питания — все витамины;

– напитки, в том числе сухие концентраты — все витамины, кроме А, D;

– молочные продукты — витамины А, D, Е, К;

– фруктовые соки — все витамины, кроме А, D.

При производстве продуктов питания нормирование и контроль за содержанием витаминов предусмотрены в продуктах, где они добавляются или где необходимо гарантировать их определенное содержание (продукты для детского и диетического питания, лечебные продукты). Добавляемыми и контролируемыми витаминами в плодоовощных консервах являются витамин С и каротин; витамины B_1 и B_2 определяют при установлении пищевой ценности продукта.

Витамин С находится в продуктах в виде аскорбиновой кислоты и дегидроаскорбиновой кислоты; обе формы физиологически активны, поэтому нор-

мируется их суммарное содержание. В свежеприготовленных продуктах преобладает аскорбиновая кислота, поэтому для контроля витамина С используют упрощенные методы. После хранения часть аскорбиновой кислоты окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты, а часть разрушается. Для контроля витамина С в таких продуктах используют либо потенциометрический метод с восстановлением дегидроаскорбиновой кислоты α-цистеином, либо флуориметрический метод.

Упрощенный метод основан на извлечении аскорбиновой кислоты раствором соляной кислоты (которая извлекает не только свободную, но и связанную аскорбиновую кислоту) с последующим визуальным или потенциометрическим титрованием ее раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (краски). Метод применим для продуктов, содержащих более 2 мг аскорбиновой кислоты в 1 кг или 1 $дм^3$ продукта.

Флуориметрический метод определения витамина С основан на взаимодействии дегидроаскорбиновой кислоты с о-фенилендиамином с образованием флуоресцирующего соединения, интенсивность флуоресценции которого пропорциональна концентрации витамина в растворе. Измерение флуоресценции проводят на флуориметре.

Метод определения *каротина* изложен в ГОСТ 8756.22 «Продукты пищевые консервированные. Метод определения каротина». Существующие методы определения каротина дают сумму каротинов-изомеров α, β и γ, поэтому правильнее говорить о методе определения содержания каротина.

Метод основан на фотометрическом измерении массовой концентрации каротинов в растворе, полученном после экстрагирования каротинов из продукта органическим растворителем и очищенном от сопутствующих красящих веществ на адсорбционной колонке.

Также используется ***метод И.К. Мурри*** — хроматография на колонках, который основан на экстракции ацетоном с последующим хроматографированием на колонке с окисью алюминия.

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

Методы определения *витаминов B_1 и B_2* изложены в ГОСТ 5999 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витаминов B_1 и B_2». Оба метода основаны на флуометрии.

Начальная стадия анализа в обоих методах одинакова: навеску продукта для высвобождения витаминов подвергают кислотному гидролизу путем кипя-

чения в растворе соляной кислоты, затем ферментативному гидролизу с использованием ферментных препаратов — амилоризина П10Х и пектаваморина П10Х.

При определении витамина B_1 полученный гидролизат очищают катионитом, окисляют в тиохром и измеряют интенсивность флуоресценции при длинах волн 320–390 нм возбуждающего и 400–580 нм излучаемого света.

При определении витамина B_2 в слабоокрашенных овощных, фруктовых и ягодных продуктах в полученном гидролизате проводят окисление пигментов перманганатом калия, затем восстанавливают витамин B_2 гидросульфатом натрия и измеряют интенсивность флуоресценции до и после восстановления при длинах волн 360–480 нм возбуждающего и 510–650 нм излучаемого света.

При определении витамина B_2 в темноокрашенных консервированных продуктах, а также в овощных консервах с мясом и крупами в полученном гидролизате окисляют пигменты перманганатом калия, затем облучают раствор светом электролампы в течение 40 мин (при этом рибофлавин переходит в люмифлавин), экстрагируют люмифлавин хлороформом и измеряют интенсивность флуоресценции при длинах волн 360–480 нм возбуждающего и 510–650 нм излучаемого света.

Для определения витаминов группы В применяют также *люминесцентный анализ*. Витамин B_1 не обладает собственной флуоресценцией, но щелочные растворы его легко окисляются с образованием тиохрома, водно-щелочные растворы которого флуоресцируют синим светом с максимумом интенсивности свечения при 460–470 нм.

Для определения этого витамина, навеску продукта подвергают гидролизу. Если в продукте тиамин содержится преимущественно в свободном виде, то ограничиваются кислотным гидролизом. Для определения связанной формы витамина проводят гидролиз ферментом с сильной диастатической активностью. Из раствора тиамин выделяют адсорбцией на стеклянной хроматографической колонке, заполненной силикагелем, с последующим элюированием витамина из адсорбента кипящим кислым раствором KCl. Затем тиамин окисляют щелочным раствором $K_3Fe(CN)_6$.

Спиртовой раствор полученного тиохрома отделяют от воды и измеряют ИЛ с помощью флуорометра, снабженного первичным светофильтром, который пропускает УФ-излучение в диапазоне 320–390 нм, и вторичным фильтром с полосой пропускания 400–580 нм. Содержание тиамина определяют по расчетной формуле [3, 6].

2.5. Минеральные вещества

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Наиболее часто применяемые методы исследования минеральных веществ, представлены ниже.

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

Эмиссионный спектральный анализ. Методы эмиссионного спектрального анализа основаны на измерении длины волны, интенсивности и других характеристик света, излучаемого атомами и ионами вещества в газообразном состоянии. Эмиссионный спектральный анализ позволяет определить элементарный состав неорганических и органических веществ.

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

Наибольшее применение в качестве источника возбуждения получили электрическая дуга, искра, пламя. Температура дуги достигает 5 000–6 000 °С. В дуге удается получить спектр почти всех элементов. При искровом разряде развивается температура 7 000–10 000 °С и происходит возбуждение всех элементов. Пламя дает достаточно яркий и стабильный спектр испускания. Метод анализа с использованием в качестве источника возбуждения пламени называют пламенно-эмиссионный анализом. Этим методом определяют свыше 40 элементов (щелочные и щелочно-земельные металлы, Cu^{2+}, Mn^{2+} и др.).

Атомно-абсорбционная спектроскопия. Данный метод основан на способности свободных атомов элементов в газах пламени поглощать световую энергию при характерных для каждого элемента длинах волн.

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

Уменьшение интенсивности резонансного излучения в условиях атомно-абсорбционной спектроскопии экспоненциальному кону убывания интенсивности в зависимости от толщины слоя и концентрации вещества, аналогичному закону Бугера — Ламбера — Бера (6):

$$lgJ / J_0 = A = klc, \qquad (6)$$

где J_0 — интенсивность падающего монохроматического света; J — интенсивность прошедшего через пламя света; k — коэффициент поглощения; l — толщина светопоглощающего слоя (пламени); c — концентрация.

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

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

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

Кроме спектральных методов анализа широкое применение нашли электрохимические методы.

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

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

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

Полярография. Метод переменно-токовой полярографии используют для определения токсичных элементов (ртуть, кадмий, свинец, медь, железо).

ГЛАВА 3. МЕТОДЫ БИОХИМИЧЕСКИХ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

В пищевой промышленности очень важно контролировать качество сырья, поступающего на хранение и переработку, продуктов его переработки (полуфабрикатов) и конечной продукции. При контроле качества сырья, материалов, полуфабрикатов и готовой продукции, а также при анализе отходов производства проводят испытания — экспериментальное определение качественных и количественных свойств объекта испытаний [9].

Качество — это совокупность свойств продукции, обусловливающих ее пригодность удовлетворять определенные потребности человека в соответствии с ее назначением. Под **качеством семян** понимают совокупность биологических, физико-химических, технологических и потребительских свойств и признаков семян, определяющих их пригодность к использованию по различному назначению: на семенные, продовольственные и технические нужды.

В соответствии с ГОСТами Р 50779.10-2000 (ИСО 3534-1-93), Р 50779.11-2000 (ИСО 3534-2-93) «Статистические методы» и ГОСТ 16504-81 «Испытания и контроль качества продукции» введены термины и определения, которые строго обязательны во всех отраслях народного хозяйства страны.

Согласно указанным ГОСТам продукция может быть *завершенной* или *незавершенной* или находиться в *стадии изготовления*. По характеру продукция может быть *штучной* (изделие) и *нештучной*.

Изделие — это единица промышленной продукции, количество которой может измеряться в штуках или экземплярах.

К *нештучной продукции* относят такую, количество которой определяется непрерывной величиной массы, объема, поверхности или длины (например, 1 т семян, масла; 1 $м^3$ газа; 1 $м^2$ ткани и т.п.).

ГОСТами Р 50779.10-2000 (ИСО 3534-1-93) и Р 50779.11-2000 (ИСО 3534-2-93) введено понятие **контролируемой партии продукции.** Это совокупность единиц продукции одного наименования, типономинала или типоразмера и исполнения, произведенной в течение определенного интервала времени в одних и тех же условиях. О качестве контролируемой партии продукции судят по результатам технического контроля образцов, взятых для испытания и представляющих собой продукцию или ее часть, непосредственно подвергаемых эксперименту при испытаниях. Для штучной продукции часть (совокупность единиц), взятая для испытания, называется выборкой. **Выборкой** называют изделие или

совокупность изделий, отобранных для контроля из контролируемой партии или потока, т.е. продукции, находящейся в движении на технологической линии.

Показатели качества штучной продукции определяют в ***среднем объеме выборки***, который представляет собой число проверенных изделий, приходящихся на одну контролируемую совокупность — партию изделий или группу изделий в потоке продукции. Отбор среднего объема выборки начинается с отбора ***мгновенной выборки***, т.е. выборки из потока продукции, в состав которой входят изделия, производимые последними к моменту отбора. Серия мгновенных выборок составляет ***объединенную выборку***. Она должна быть случайной, т.е. для любого изделия контролируемой партии (совокупности) должна обеспечиваться одинаковая вероятность его отбора (включения в выборку). В этом случае выборка является представительной. ***Представительная выборка*** — это выборка, при составлении которой из каждой части контролируемой совокупности отбирают такое количество изделий, чтобы в достаточной степени отразить свойства данной совокупности в целом.

3.1. Методы отбора и составления проб

Пробы зерна и семян, анализируемые в производственных или исследовательских лабораториях, должны иметь представительное качество, т.е. по всем химическим и физиологическим показателям соответствовать среднему составу проверяемой партии. Это обусловливает необходимость строгой регламентации методов отбора и составления проб.

Чаще всего в пищевой промышленности контролируют качество нештучной продукции. Образец для испытания нештучной продукции в соответствии с ГОСТами Р 50779.10-2000 (ИСО 3534-1-93) и Р 50779.11-2000 (ИСО 3534-2-93) называется **пробой**, т.е. это определенное количество нештучной продукции, отобранное для контроля. Показатели качества определяют в среднем объеме пробы. **Средний объем пробы** — это число проверенных единиц нештучной продукции, приходящейся в среднем на одну контролируемую совокупность (партию). Обязательным условием является представительность пробы, которая должна быть отобрана таким способом и в таком количестве, чтобы в достаточной степени отразить свойства данной совокупности в целом по всем показателям качества. Качество продукции в среднем объеме пробы должно соответствовать среднему количеству проверяемой совокупности (партии).

Отбор среднего объема пробы начинают с точечной пробы. Согласно указанным ГОСТам **точечная проба** — небольшое количество нештучной про-

дукции, взятое от проверяемой совокупности за один прием из одного места любым регламентированным способом. Все точечные пробы, отобранные из проверяемой продукции, составляют объединенную пробу.

Объединенная проба — это проба, составленная из серии точечных проб путем смешивания. Небольшая часть объединенной пробы, выделенная регламентированными методами, называется **навеской**. Размеры навески могут быть различными, ее величина определяется характером анализа, выполняемого в ходе технохимического контроля продукции.

Партия продукции, качество которой оценивается при помощи технохимического контроля, подразделяется на *поставляемую* и *приобретаемую*.

При оценке качества продукции в партии используют выборочный контроль, при котором решение о качестве контролируемой продукции принимается по результатам проверки одной или нескольких выборок или проб. По результатам технохимического контроля судят о качестве партии продукции в целом. Поэтому основным признаком контролируемой партии должна быть однородность условий производства. Поставляемую и приобретаемую партии допускается составлять из нескольких признанных годными контролируемых партий, формирование которых определяется условиями снабжения, транспортными возможностями и т.п.

Наибольшее значение для пищевой промышленности имеет контроль качества растительного масличного сырья, поступающего на хранение и переработку. Цель технического контроля на этапе приемки и хранения продукции — определение ее качества и его соответствия требованиям действующих нормативных документов.

Точечные пробы из массы поступающей партии отбирают вручную при помощи конусных и цилиндрических пробоотборников или механизированным способом при помощи пневматических или механических пробоотборников.

Отобранные от каждой партии точечные пробы тщательно осматривают и сравнивают. В случае их однородности все точечные пробы объединяют (смешивают) в одну объединенную пробу. Если точечные пробы явно различны, то их объединяют по признаку однородности и каждую однородную группу принимают за объединенную пробу.

Если масса объединенной пробы не превышает 2 кг, то это будет средний объем пробы, если превышает 2 кг, то средний объем пробы выделяют из объединенной пробы методом диагонального деления (ручным способом) или с помощью делительных аппаратов различных конструкций.

Получение среднего объема пробы методом диагонального деления. Объединенную пробу зерна или семян высыпать на ровную поверхность, разровнять в виде квадрата, а затем перемешать так, чтобы зерна или семена, захваченные с противоположных сторон квадрата делительными ножами в правой и левой руках, ссыпались в середину одновременно, образуя валик. Затем зерна или семена захватить с концов валика и также одновременно с обеих планок ссыпать в середину. Перемешать зерна или семена подобным образом три раза. Далее зерна или семена разровнять, образовав квадрат. Затем делительной линейкой разделить образованный квадрат зерен или семян двумя диагоналями на четыре треугольника.

Два противоположных треугольника зерен или семян (остаток объединенной пробы) возвратить в объединенную пробу. Оставшиеся два треугольника перемешать, разровнять и вновь разделить на четыре треугольника.

При необходимости сокращение объединенной пробы повторяют до тех пор, пока на доске не останется порция, превышающая массу зерна или семян, необходимых для анализов, на 10–20 %.

Полученные части среднего объема пробы называются навесками. Навески зерна или семян после специальной подготовки используют для анализов.

От подготовки навесок к анализу в значительной степени зависят точность и надежность получаемых результатов. Поэтому при подготовке навесок зерна или семян к анализу необходимо тщательно проводить все операции по подготовке проб, важнейшие из которых — подсушивание и измельчение.

Очень часто для анализа требуется воздушно-сухой материал, т.е. высушенный до такого состояния, что он не теряет и не поглощает воду из воздуха средней относительной влажности. В этом случае материал подсушивают при комнатной температуре в тонком слое на листе фильтрованной бумаги (если материал обезжиренный) или на стекле (если материал содержит много масла). Материал выдерживают на воздухе не менее 24 ч, периодически перемешивания шпателем. Если материал очень влажный, то время подсушивания увеличивают. Иногда для анализа требуется совершенно обезвоженный материал или материал, высушенный до определенной влажности. В этом случае материал подсушивают в сушильном шкафу при температуре, указанной в соответствующих методиках.

Материалы, в составе которых легко окисляющиеся на воздухе вещества, подсушивают в вакуум-сушильных шкафах или в атмосфере инертных газов (азот, CO_2) при температуре не выше 60 °С.

Если результат анализа требуется выразить в процентах от массы материала при фактической влажности, то для его пересчета предварительно определяют влажность материала перед и после подсушивания. При пересчете результатов анализа на абсолютно сухое вещество ограничиваются определением влажности подсушенного материала.

В большинстве случаев перед проведением биохимических анализов материалы необходимо измельчать. В зависимости от вида анализа и исследуемых семян применяются различные измельчительные устройства. При анализе материалов, которые изменяют свои свойства при нагревании, следует применять измельчительные устройства, не вызывающие нагревания материала (ступки стальные, медные, фарфоровые и агатовые).

3.2. Определение массовой доли воды в сырье

Величина массовой доли воды в сырье, или величина его влажности, — один из наиболее важных показателей при его хранении и переработке. От влажности зависит интенсивность дыхания, развитие плесени и вредителей в сырье, его лежкость, скорость развития процессов самосогревания и ряд других биологических процессов.

В сырье вода связана различными видами связей — химическими, осмотическими, адсорбционными или капиллярными. Между ними в воздушно-сухом сырье существует равновесное состояние, продукция хранится устойчиво. Течение ферментативных процессов усиливается при появлении в тканях свободной связи. В результате гидролитических и окислительных процессов качество продукции ухудшается.

Величина влажности сырья существенно влияет на эффективность технологических процессов его переработки. В связи с определяющим влиянием величины влажности сырья на эффективность технологических процессов разработано множество методов определения влажности.

Содержание воды в исследуемом продукте может быть определено *прямыми* и *косвенными* методами. В прямых методах воду извлекают из исследуемого продукта в виде пара и устанавливают ее количество либо количество воды оценивают по ее химическому взаимодействию с каким-либо реагентом. Более простыми и доступными являются косвенные методы, при которых определяется количество не самой воды, а содержание сухого вещества или какой-либо другой показатель, функционально связанный с влажностью материала. К таким методам относятся методы теплового высушивания материала (термогравиметриче-

ские); рефрактометрические методы; методы, основанные на измерении относительной плотности материала; электрические методы, основанные на измерении диэлектрической проницаемости материала или его электропроводности, которые зависят от содержания влаги в материале.

Наиболее широко при определении влажности используется метод высушивания материала до постоянной массы. При этом влага, находящаяся в навеске исследуемого вещества, переходит в парообразное состояние и испаряется в окружающую среду. Для многих материалов выпаривание влаги происходит под влиянием нагревания при атмосферном давлении; для термически неустойчивых материалов, которые при нагревании могут быть повреждены, применяют высушивание при комнатной или пониженной температуре в вакууме. Количество влаги в материале определяют по разности массы навески до и после удаления влаги.

При высушивании из материала вместе с парами воды удаляются некоторые летучие вещества — низкомолекулярные органические кислоты, эфирные масла, CO_2 и др., и таким образом, с удалением влаги идет снижение сухих веществ в материале. При этом уменьшается его первоначальная масса, и значение определяемой влажности завышается по сравнению с действительным. Одновременно происходит окисление органических соединений исследуемого материала, в первую очередь ненасыщенных жирных кислот, кислородом воздуха. Особенно активно окислительные процессы протекают в маслосодержащих материалах, высушиваемых при повышенных температурах на воздухе, например, в сушильных шкафах. Присоединение кислорода воздуха увеличивает массу высушиваемого материала. Поэтому применяемые в промышленности методы определения влажности носят относительный характер, а величины влажности, определяемые различными методами, как правило, несколько отличаются друг от друга.

Для исключения окислительных процессов высушивание можно вести в атмосфере инертного газа. Для того чтобы избежать окислительных процессов при высушивании исследуемого материала, можно применять лиофильную сушку, при которой предварительно замороженный анализируемый материал высушивают в вакууме. В то же время даже при лиофильной сушке не исключаются погрешности, обусловленные удалением из материала вместе с водой других летучих продуктов.

Таким образом, методически строгое определение влажности сырья и продуктов их переработки, готовой продукции и отходов пищевого производства, как и других материалов растительного или животного происхождения, представляет труднорешаемую задачу. Это обусловлено сложностью химиче-

ского состава сырья, многообразием форм связи воды с гидрофильными и гидрофобными компонентами и зависимостью энергии связи воды в материале от многих факторов.

Поэтому для получения сопоставимых результатов анализа необходимо строго соблюдать одинаковые условия сушки: температуру сушки, величину навески, продолжительность сушки, степень измельчения материала, размер и форму бюкс для взвешивания высушиваемого материала, скорость движения воздуха в сушильном шкафу, а также тип и размеры применяемого сушильного шкафа или устройства. Все эти характеристики и условия регламентированы соответствующими государственными стандартами.

В соответствии с ГОСТами учет количества влаги, находящейся в материале, может быть проведен весовым методом (при высушивании), объемным методом (при прямой отгонке с гидрофобной жидкостью), психрометрическим методом (по измерению относительной влажности воздуха, проходящего через исследуемый продукт), газометрическим карбид-кальциевым методом (по объему ацетилена, выделяющегося при взаимодействии карбида кальция с водой, содержащейся в исследуемом продукте), а также путем измерения электрических и спектральных характеристик исследуемого продукта.

Рассмотрим особенности применяемых методов определения массовой доли воды в растительных материалах, их достоинства и недостатки при оценке влажности растительного сырья и продуктов его промышленной переработки.

Методы, основанные на высушивании. Методы, основанные на высушивании, относятся к классическим методам. Они подразделяются на методы, в основе которых лежит высушивание материалов в течение определенного времени, установленного стандартом, и методы, основанные на достижении высушиваемым материалом постоянной массы.

Основной метод определения содержания влаги в сырье включает высушивание навесок в электрическом сушильном шкафу с закрытым обогревом при температуре 130 ± 2 °С в течение 40 мин.

Масса навески для большинства видов сырья составляет 5 ± 0,01 г. Высушивание целой или измельченной навески ведут в алюминиевых бюксах диаметром 48 мм и высотой 20 мм, в шкафах СЭШ-1, СЭШ-3 или аналогичных им. Допустимые расхождения между двумя параллельными определениями не должны превышать 0,25 %.

Несмотря на условность этого метода в связи с тем, что ускорение вследствие повышенной температуры сушки и ее одноразовость не исключают пол-

ностью течения в материале нежелательных процессов, перечисленных выше, он широко применяется в лабораториях.

Метод высушивания до постоянной массы. По сравнению с основным методом, этот метод является более точным. Здесь процесс высушивания идет не регламентированное время, как при описанном выше основном методе, а до полного удаления не только влаги, но и летучих веществ. Основное отличие этого метода — высушивание при температуре 100–105 °С, а также продолжение высушивания до тех пор, пока два последующих взвешивания навески на весах 2-го класса записью результата до четвертого десятичного знака не покажут практически одинаковую массу навески. Первое взвешивание производят обычно через 2 ч сушки, последующее — через час. За окончательный результат принимают тот, который отличается от предыдущего результата на величину не более 0,001 г. Для влажного сырья первое взвешивание может быть произведено через 4–6 ч после начала сушки, а для семян бобовых культур — через 10–12 ч.

Для легкоокисляющихся продуктов метод высушивания до постоянной массы должен проводиться под вакуумом с использованием или без использования инертного газа при температуре 68–70 °С и ниже.

Метод высушивания в приборе ULTRAx-70. Высушивание навески семян проводят, как и в основном методе, в течение определенного контрольного времени при одновременном непрерывном взвешивании. Убыль массы навески за счет потери влаги находят по шкале весов прибора, проградуированной в процентах массовой доли влаги.

Перед определением влажности сырье измельчают или режут на кусочки размером 1–3 мм и помещают тонким слоем на рабочую (весовую) тарелку прибора. Затем переводят в рабочее состояние инфракрасный излучатель, с помощью которого происходит высушивание пробы, устанавливают в зависимости от предполагаемой влажности навески продолжительность сушки по таймеру и температуру сушки и включают излучатель. По истечении заданного времени сушки таймер прибора подает акустический сигнал и отключает инфракрасный излучатель. Значение показаний влажности пробы находят по шкале весов. Измерение массовой доли влаги в каждом образце повторяют не менее 2–3 раз, расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,5 % абс.

Преимущество этого метода — меньшие затраты времени на проведение анализа по сравнению со стандартными методами, но он точен только при определении влажности материалов однородной структуры и состава. При анализе материалов другого состава необходимо предварительно построить калиб-

ровочные кривые (диаграммы испарения), с помощью которых затем находят параметры сушки — температуру и рекомендуемую продолжительность высушивания, хотя затраты времени на анализ оказываются все же меньшими, чем при определении влаги по способу высушивания до постоянной массы [9].

Методы, основанные на измерении электрических и спектральных характеристик исследуемых материалов. Несмотря на сложность аналитических выражений для определения влажности по изменению электрических характеристик растительных материалов, разработаны электровлагомеры, работа которых основана на измерении электрических параметров. Электровлагомеры подразделяются на *кондуктометрические* и *диэлькометрические*.

В приборах первой группы влажность материала оценивают по результатам измерения электрической проводимости или сопротивления в постоянном или переменном токе (кондуктометрический метод). В приборах второй группы влажность определяют по результатам измерения диэлектрической проницаемости или тангенса угла диэлектрических потерь (диэлькометрический метод).

Диэлькометрические влагомеры подразделяются на приборы, измеряющие диэлектрическую проницаемость (емкостные), и приборы, измеряющие диэлектрические потери. В последних изменяется высокочастотный контур, в поле индуктивности или емкости которого помещается проба материала. Для определения диэлектрической проводимости измеряют электрическую емкость конденсаторного датчика, заполненного исследуемым продуктом. С этой целью используют высокочастотные измерительные схемы. Применение токов высокой частоты (0,3–30 МГц) позволяет повысить точность измерения электрических параметров и, следовательно, влажности анализируемых материалов.

Автоматическое определение содержания влаги продуктов переработки может быть осуществлено ***методом инфракрасной спектроскопии*** на влагомере ПВИС. Влагомер рассчитан на измерение влажности от 2 до 15 %; погрешности измерений при определении влаги — 0,2–0,6 %. Продолжительность измерения 1–2 мин.

Принцип работы инфракрасного влагомера основан на использовании метода инфракрасной спектроскопии диффузионного отражения. Инфракрасное излучение с длиной волны 1,82 и 1,93 мкм попадает на анализируемый продукт, затем на детектор, откуда сигнал, пройдя усилитель, поступает на измерительный прибор. Влагомер стационарный, масса 30 кг, для работы его необходимо подключать к электросети напряжением 220 Вт, а также к линии сжатого воздуха под давлением от 0,4 до 1,4 МПа.

Известен также экспрессный метод определения массовой доли влаги на спектрофотомере. Измерение влажности ведут, предварительно измельчая исследуемые пробы в муку (проход через сито с отверстиями 0,25 мм).

Процесс измерения влажности сводится к нахождению глубины полосы поглощения на длине волны 1,93 мкм и установлению по заранее составленному градуировочному графику влажности, %, соответствующей этой интенсивности. В этой области спектра полоса поглощения обусловлена только содержанием в ней воды.

Для построения градуировочного графика готовят образцы проб (размолотые в муку) с различной влажностью. Градуировочную кривую строят, пользуясь методом базовой линии.

Базовая линия представляет собой касательную *a* к двум нижним точкам спектра отражения *b*, изображенного в координатах λ (длина волны) и *lg* (1 / *R*), где *R* — коэффициент отражения. Точки выбирают слева и справа применяемой длины волны.

Глубина полосы отражения *cd* определяется как расстояние по вертикали от максимума поглощения до базовой линии.

Значения *lg* (1 / *R*) находят по спектрам отражения проб муки с различным содержанием влаги. Графическая зависимость влажности различных проб муки от *lg* (1 / *R*) этих же проб представляет собой градуировочный график, при помощи которого определяют влажность муки.

Техника определения следующая: 5–20 г муки помещают в кювет спектрофотометра и снимают спектр отражения в области 1,93 мкм. Затем по спектрограмме измеряют глубину полученной полосы отражения *R*, вычисляют значение *lg* (1 / *R*) и по градуировочному графику находят искомую влажность образца (в %). Погрешность в измерении влажности муки по этому методу составляет не более ±0,5 %.

Несмотря на известные преимущества электрических и спектральных методов определения влажности, стандартным является термогравиметрический метод, основанный на высушивании сырья [3, 6, 9].

3.3. Определение массовой доли липидов в масличных семенах

Растительное масличное сырье — семена и плоды масличных растений — различается по количеству и химическому составу содержащихся в нем липидов.

Липиды масличных семян представлены группой веществ, различных по физико-химическим свойствам и биологическому значению в живых организ-

мах, общим свойством которых является растворимость в неполярных органических растворителях.

К липидам относят следующие группы веществ:

1. Собственно масла и жиры — триацилглицеролы — сложные эфиры глицерина и высокомолекулярных жирных кислот.

2. Моноацилглицеролы и диацилглицеролы.

3. Фосфолипиды — диацилглицеролы, содержащие остатки фосфорной кислоты и азотистые основания.

4. Гликолипиды — диацилглицеролы, содержащие остатки углеводов (чаще всего галактозы).

5. Воски — сложные эфиры одноатомных, реже двухатомных спиртов и высокомолекулярных жирных кислот.

6. Высокомолекулярные свободные жирные кислоты — насыщенные и ненасыщенные.

7. Жирорастворимые витамины и провитамины — токоферолы, стеролы, каротиноиды, витамин К.

8. Пигменты — хлорофиллы, каротиноиды, ксантофиллы, госсипол и др.

Изучение липидного комплекса семян ведут различными способами. Исследования липидного комплекса семян современными методами позволяет выделить входящие в липидный комплекс отдельные группы липидов, а также установить жирно-кислотный состав триацилглицеролов, восков, фосфо- и гликолипидов.

В технологии производства растительных масел применяют термин — масличность семян. Под **масличностью семян** подразумевают выраженную в процентах массовую долю липидов, переходящих из измельченных семян в экстракт при обработке семян диэтиловым эфиром или подобным ему неполярным органическим растворителем в условиях, регламентированных стандартным методом определения масличности.

По величине массовой доли липидов (масличности) оценивают качество масличного сырья, а также определяют оптимальные способы его технологической переработки. Количественное определение массовой доли липидов в большинстве методов основано на их физических свойствах — способности хорошо растворяться в неполярных органических растворителях.

Согласно определению, **липидами** называют соединения, практически нерастворимые в воде, но хорошо растворимые в неполярных или малополярных органических растворителях, таких, как гексан, бензин, нефрас, диэтиловый и петролейный эфир, хлороформ, четыреххлористый углерод, бензол.

Растворимость позволяет легко отделять липиды от других органических веществ в семенах и других маслосодержащих материалах. В то же время в масличных семенах и продуктах их переработки (мятке, лузге, жмыхе, шроте) некоторая часть липидов соединена с нелипидной частью материала (белками, углеводами) химическими связями различной, иногда достаточно высокой, энергии.

По величине энергии связи с нелипидной частью семян липиды подразделяют на *легкоизвлекаемые* (свободные), *трудноизвлекаемые* (связанные) и *прочносвязанные*. Для извлечения свободных липидов достаточно измельчить маслосодержащий материал и обработать его неполярным растворителем при комнатной температуре, для извлечения связанных и прочносвязанных липидов необходимо разрушить химические связи между липидами и нелипидной частью семян. Этого можно достигнуть путем обработки измельченных семян и материалов более полярными растворителями — этиловым спиртом, хлороформом, ацетоном или их смесью. Частично разрушить связи липидов с нелипидными компонентами можно путем тепловой или влаготепловой обработки. Глубокое извлечение липидов, вплоть до разрушения химически связанных липидов, достигается обработкой материала спиртовым раствором щелочи при повышенных температурах. В этом случае происходит гидролиз связанных липидов щелочью, в экстракт перейдут уже продукты гидролиза — свободные жирные кислоты в виде солей щелочных металлов (мыл).

Таким образом, в зависимости от величины энергии связи липидов с нелипидной частью семян, а также способов подготовки семян к обезжириванию, от условий обезжиривания и вида используемого растворителя состав и количество липидов, извлекаемых из семян и маслосодержащих материалов, будет различным.

Основную массу липидов семян представляют запасные, или легкоизвлекаемые (свободные) липиды, представленные триацилглицеролами. Они локализованы в липидных сферосомах и наименее прочно удерживаются в маслосодержащем материале. Кроме запасных в масличном сырье присутствует разнообразная по физиологической роли, химическому строению и свойствам группа структурных липидов — липидов биомембран клетки. Это более трудно извлекаемые связанные и прочносвязанные липиды, они значительно прочнее связаны с нелипидной частью семян. Среди них много биологически важных соединений: фосфолипиды, жирорастворимые витамины, провитамины и жирорастворимые пигменты.

Под влиянием технологических воздействий на перерабатываемые семена уменьшается энергия связи структурных липидов с нелипидной частью маслосодержащегося материала. Тепловые воздействия на семена приводят к ослаблению связи структурных липидов и способствуют переходу их в легкоизвлека-

емую форму. Аналогичное воздействие оказывают интенсивное измельчение материала, высокие температуры и давление при прессовании, а также воздействие органических растворителей, применяемых в маслоэкстракционном производстве. Одновременно запасные липиды, особенно подвергшиеся окислению и частичному гидролизу, под влиянием технологических факторов могут становиться трудноизвлекаемыми: формируя группу вторичных связанных липидов, образующих так называемую остаточную масличность в продуктах переработки семян — жмыхах и шротах, снижающих выход масла из семян при их переработке.

Определение массовой доли липидов в семенах (масличности семян) экстракционными методами. Экстракцию липидов чаще всего ведут диэтиловым эфиром, так как он имеет низкую температуру кипения (35,6 °С), легко очищается от примесей и регенерируется. Следует иметь в виду, что диэтиловый эфир, как и другие применяемые для экстракции липидов растворители, извлекает из семян липиды селективно, и липидная фракция состоит из смеси групп липидов, соотношение которых в экстракте непостоянно. Поэтому липидная фракция называется суммарными липидами, или «сырым (неочищенным) жиром». Групповой состав суммарных липидов в значительной степени зависит не только от вида растворителя и условий экстракции липидов, но и от чистоты растворителя. Повышенная массовая доля воды в растворителе, а также в самом экстракционном материале способствует значительному завышению результатов из-за большего перехода в экстракт полярных липидов и связанных с липидами белков, углеводов, минеральных элементов и других, способных частично растворяться в оводненном растворителе.

Поэтому перед определением масличности экстрагируемый материал должен быть высушен, а растворитель очищен от воды путем добавления в него водосвязывающих соединений. Иногда вместо высушивания материал перед экстракцией растирают с водопоглощающими соединениями — обезвоженным $CuSO_4$, гипсом, алебастром и др. Методы определения количества «сырого» жира подразделяются на следующие группы.

Методы исчерпывающей экстракции липидов. Методы основаны на максимально возможном извлечении суммарных липидов из анализируемого материала при многократной обработке растворителем. Процесс обезжиривания ведут до тех пор, пока содержание липидов в материале не будет представлять ничтожно малую величину. Затем из полученной вытяжки отгоняют растворитель, а остаток, содержащий липиды, высушивают в условиях, исключающих его

окисление, и взвешивают. На этом принципе основан широко применяемый в масложировой промышленности метод Сокслета.

Определение масличности семян методом исчерпывающей экстракции (по Сокслету). Метод основан на определении количества (%) липидов в анализируемом материале по величине их массовой доли, полученной после экстракции диэтиловым или петролейным эфиром.

Для выполнения анализа используют следующие реактивы: диэтиловый или петролейный эфир; вата гигроскопическая; бумага фильтровальная; хлорид кальция (чистый).

Для выполнения анализа потребуются приборы и химическая посуда: весы лабораторные 2-го класса с разновесами, насадки типа НЭТ для экстрагирования лабораторные стеклянные номинальной вместимостью 250 мл, сушильный электрический шкаф с терморегулятором, эксикатор диаметром 190 или 250 мм, водяная баня с выносным обогревом, лабораторная мельница (измельчитель), бюксы или стаканчики для взвешивания стеклянные с крышками, диаметром 30 или 40 мм, шпатели, пинцеты, деревянная цилиндрическая болванка диаметром 25 мм и длиной 150 мм, фарфоровые чашки вместимостью 100 или 250 мл, часовое стекло, колбы вместимостью 500 мл, холодильники обратные шариковые.

В основе экстракционного метода лежит многократная экстракция липидов из измельченного материала с использованием специального аппарата типа НЭТ или аппарата Сокслета. Он представляет собой экстрактор с подсоединенными к нему водяным холодильником и колбой, которую помещают на водяную баню. При работе аппарата растворитель отгоняется из колбы, проходит через пароотводную трубку экстрактора и конденсируется в холодильнике. Из холодильника чистый растворитель стекает в патрон с измельченным материалом. Под действием растворителя извлекается масло, которое накапливается в экстракторе. По мере накопления в экстракторе растворитель с извлеченным маслом автоматически через сифон переливается в колбу аппарата. Далее чистый растворитель отгоняется в экстрактор, а растворенное масло накапливается в колбе.

По окончании экстракции колбу отсоединяют, растворитель полностью отгоняют из колбы, колбу взвешивают и рассчитывают количество извлеченного масла относительно массы взятого образца. Результаты взвешиваний семян, колбы записывают до четвертого десятичного знака.

Масличные семена массой около 50 г предварительно подсушивают при температуре 102–105 °С в чашках в течение от 30 мин до 2 ч в зависимости от начального содержания влаги, за исключением семян сои, которые подсушива-

ют в течение 3 ч, и семян хлопчатника, которые подсушивают в течение 1 ч. Содержание влаги в подсушенных семенах должно быть около 3–3,5 %. Затем подсушенные семена измельчают с помощью электрической мельницы порциями по 8–10 г в течение 40–50 с. Соевые семена предварительно дробят в ступке вручную, а затем с помощью электрической мельницы измельчают до полного прохода всей пробы семян через сито с отверстиями 0,25 мм.

Первую порцию семян, измельченных в мельнице, выбрасывают, так как выделившееся при ее измельчении масло расходуется на обмасливание рабочих органов мельницы.

Все последующие порции измельченных семян помещают в стакан вместимостью 250 мл и тщательно перемешивают шпателем. Из перемешанной массы измельченных семян берут навески по 8–10 г в два предварительно подготовленных экстракционных патрона. Взвешивание проводят на весах 2-го класса с записью результатов до четвертого десятичного знака.

Патроны для экстракционных насадок типа НЭТ готовят из листа фильтровальной бумаги размером 110×500 мм, проэкстрагированной диэтиловым или петролейным эфиром, следующим образом: на деревянную цилиндрическую болванку навертывают фильтровальную бумагу так, чтобы с одной стороны болванки край бумаги выступал на 2–2,5см. Эту часть бумаги загибают по мере навертывания ее на болванку пинцетом, затем патрон обжимают с торца о плоскую поверхность и снимают с болванки. На дно патрона кладут кусок проэкстрагированной ваты, взвешивают на весах 2-го класса. В патроны, предназначенные для извлечения масла из семян подсолнечника, помещают дополнительно еще кусочек ваты, который затем используют для того, чтобы протереть мельницу, в которой измельчали анализируемые семена.

Измельченные семена пересыпают во взвешенные патроны и вновь взвешивают на весах 2-го класса.

Высота патрона с навеской семян должна быть такой, чтобы верхний край сифона экстракционной насадки типа НЭТ был на 1 см выше патрона. В патроне измельченные семена сверху должны быть покрыты небольшим куском проэкстрагированной ваты, при анализе хлопчатника семена в патроне также покрывают кусочком ваты, которым была протерта мельница.

Края патронов с измельченными семенами загибают внутрь патрона и помещают в экстрактор. К экстрактору присоединяют обезжиренную колбу, предварительно высушенную до постоянной массы при температуре 102–105 °С. Наливают в экстрактор растворитель так, чтобы патрон в нем был полностью покрыт слоем эфира. В колбу также наливают эфир на 1/3 ее объема. Для экс-

тракции масла из всех семян, кроме семян хлопчатника, применяют диэтиловый эфир, из семян хлопчатника — петролейный эфир.

После соединения всех частей аппарата, его холодильник заполняют водой и подогревают колбу с растворителем на водяной бане. Кипение эфира в колбе должно происходить равномерно. Пары кипящего эфира проходят по трубке в холодильник, конденсируются, и эфир по каплям стекает в патрон с экстрагируемыми семенами. Экстрактор постепенно наполняется жидким эфиром, липиды (масло) извлекаются из измельченных семян. Когда уровень эфира в экстракторе поднимется несколько выше верхнего колена сифонной трубки, он сливается через сифон (сифонирует) в колбу. Так, нагреваясь, эфир превращается в пары, которые поднимаются в холодильник и, конденсируясь, стекают в экстрактор, извлекаемые липиды (масло) собираются в колбе.

Началом экстракции считается тот момент, когда растворитель из насадки экстрактора сольется в колбу второй раз. После этого экстракцию ведут непрерывно (для семян подсолнечника 30 ч, для семян мелкосеменных культур — 22–24 ч, для семян сои — 72 ч, для семян хлопчатника — 12 ч).

Если невозможно организовать круглосуточную работу лаборатории, то экстракцию прерывают, выключая обогрев водяной бани, а патроны с измельченными семенами в экстракторах должны оставаться в растворителе. В этом случае время экстракции для семян подсолнечника должно быть не менее 28 ч, для семян мелкосеменных культур — 20 ч, для семян сои — 65–67 ч, для семян хлопчатника — 12 ч).

Растворитель через экстрактор должен сифонировать не менее 7–8 раз в час.

О конце экстрагирования судят по отсутствию жирного пятна на фильтровальной бумаге или часовом стекле при испарении нанесенной на них капли растворителя, стекающего из экстрактора.

Полноту экстракции можно также проверить, помещая каплю растворителя из экстрактора на шероховатую сторону шлифованной части горлышка колбы. Если после высыхания капли на шлифе не остается следов масла, то экстракция считается законченной.

По окончании экстрагирования прекращают нагревать колбу, дают ей остыть, выключают воду и убирают в холодильник. Затем, наклонив экстрактор, сливают в приемную колбу через сифонную трубку оставшийся в нем эфир и отделяют колбу от экстрактора.

Для отгонки эфира колбу с раствором липидов (масла) в растворителе присоединяют к аппарату для отгонки.

Окончательное удаление эфира и высушивание масла в колбе проводят в электрическом сушильном шкафу с терморегулятором при температуре 102–105 °С до постоянной массы.

Первое взвешивание проводят через 1,5 ч, последующие — через 30 мин. Колбы с маслом взвешивают после их охлаждения в эксикаторе в течение 45–60 мин. Если при очередном взвешивании масса колбы с маслом увеличивается, что возможно в результате окисления высушиваемого масла, то за постоянную массу принимают наименьшую.

Одновременно с масличностью определяют содержание влаги в подсушенных семенах методом высушивания до постоянной массы при температуре 102–105 °С. Для этого в предварительно высушенные в тех же условиях металлические или стеклянные стаканчики берут из измельченной массы семян две навески массой около 5 г. Первое взвешивание проводят через 1 ч, последующие — через 30 мин. Перед взвешиванием стаканчики с навесками охлаждают в эксикаторе.

Все взвешивания (патронов с семенами и без них, колб с маслом и без него, стаканчиков при определении влаги) проводят на весах 2-го класса с записью результатов до четвертого десятичного знака.

В лабораторном журнале результаты определения масличности записывают следующим образом:

– масса колбы с маслом, доведенной до постоянной массы m_1, г;

– масса пустой колбы m_1, г;

– навеска извлеченного масла ($m_1 - m_2$), г;

– масса патрона с измельченными семенами m_3, г;

– масса пустого патрона m_4, г;

– навеска измельченных семян P, г.

Доведение колбы с маслом до постоянной массы.

№ п/п	Дата	Время высушивания	Масса, г
1	2	3	4

Расчет.

1. Масличность исследуемого материала (%) при фактической влажности:

$$M = 100\ (m_1 - m_2) / P,$$

где $P = (m_3 - m_4)$ — навеска измельченных семян на анализ, г.

2. Масличность семян в пересчете на абсолютно сухое вещество (%):

$$M' = (M \times 100 / (100 - W),$$

где M — масличность семян при фактической влажности, %; W — влажность измельченных семян, %.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений масличности проб исследуемых семян. Вычисления проводят до второго десятичного знака, результаты записывают с точностью до первого десятичного знака. Расхождения между параллельными определениями не должны превышать 0,5 % абс.

Определение масличности семян по методу С.В. Рушковского. Одним из вариантов экстракционного метода является метод С.В. Рушковского, основанный на учете уменьшения массы исследуемого материала после его обезжиривания. Этот метод более экономичен по сравнению с методом Сокслета и другими экстракционными методами. Он наиболее пригоден для массовых анализов в селекции масличных растений. В этом методе можно высушивать обезжиренную навеску в обычных условиях, не боясь окисления липидов кислородом атмосферы.

Метод основан на определении количества (%) липидов в анализируемом материале по величине массы обезжиренного материала, полученного после экстракции из материала липидов диэтиловым или петролейным эфиром.

Для выполнения анализа используют следующие реактивы: диэтиловый или петролейный эфир, бумагу фильтровальную, хлорид кальция (ч.) для эксикаторов.

Для выполнения анализа потребуются приборы и химическая посуда: весы лабораторные 4-го класса с разновесами, аппарат Сокслета вместимостью 250 мл, сушильный электрический шкаф с терморегулятором, эксикатор диаметром 190 или 250 мм, лабораторная мельница, бюксы или стаканчики для взвешивания стеклянные.

Две навески измельченных, высушенных семян массой по 1 г пересыпают в предварительно приготовленные пакетики из фильтровальной бумаги предварительно высушенные и пронумерованные. Пакетики с навесками по 10–12 шт. помещают в марлевые мешочки, опускают в банку с притертой пробкой и настаивают с петролейным или диэтиловым эфиром в течение двух суток. После настаивания мешочек с частично обезжиренными пакетиками помещают в аппарат Сокслета и экстрагируют в течение 2–4 ч диэтиловым эфиром, причем эфир в экстракторе аппарата Сокслета должен сифонировать 4 раза в час.

После экстракции обезжиренные пакетики помещают в широкий кристаллизатор и дают под тягой испаряться растворителю, затем помещают в бюксы или стаканчики с притертыми крышками и сушат в течение 2–3 ч при 100–105 °С в сушильном шкафу. После этого бюксы или стаканчики закрывают крышками и, охладив в эксикаторе, взвешивают. Разницу массы пакетика с навеской до экстракции и после экстракции относят за счет масла. Преимущество метода состоит в экономном расходе растворителя на каждое определение и в большей производительности.

Запись в лабораторном журнале:

– масса пакетика с семенами до обезжиривания m_1, г;

– масса пустого пакетика m_2, г;

– масса пакетика с семенами после обезжиривания m_3, г.

Содержание липидов X (%) вычисляют по формуле (7):

$$X = (m_1 - m_3) / (m_1 - m_2) \times 100 \quad (7)$$

где m_1 — масса пакетика с семенами до обезжиривания, г; m_2 — масса пустого пакетика, г; m_3 — масса пакетика с семенами после обезжиривания, г.

Метод дает вполне удовлетворительные результаты при анализе различных растительных объектов. Расхождение в содержании масла между парными определениями допустимо до 1 %.

Пример вычисления.

Навеска сухих размельченных семян горчицы вместе с пакетиком равна 1,588 г, масса сухого пакетика — 0,474 г, масса пакетика после обезжиривания — 1,118 г. Следовательно, масса семян была 1, 114 г, масла — 0,470 г. Таким образом, процент масла X в сухих семенах равен:

$$X = 0{,}470 \times 100 / 1{,}114 = 42{,}28\ \%.$$

Современные модификации определения масличности семян по методу Сокслета. К сожалению, при определении масличности исчерпывающей экстракцией липидов по методам Сокслета требуются большие объемы растворителя. Высокая стоимость применяемого растворителя и затраты на его регенерацию, а также большая продолжительность анализа, привели к появлению модифицированных методов Сокслета, не имеющих указанных выше недостатков классического метода.

Современные модификации классического метода Сокслета имеют целью ускорить экстракцию липидов и за счет этого уменьшить продолжительность анализа [9].

Система фирмы Текатор «Сокстен-НТ» состоит из блока скоростной экстракции липидов горячим растворителем, вспомогательного блока для подогревания растворителя в процессе экстракции и воздуха для регенерации растворителя, все взвешивания ведут с помощью электронных весов. Во время процесса экстракции липидов анализируемый образец семян полностью погружен в кипящий растворитель, что позволяет резко повысить скорость экстракции. Продолжительность экстракции составляет 30–60 мин. Система позволяет также регенерировать до 70 % применяемого растворителя. При использовании системы прямой контакт оператора с растворителем существенно уменьшен. Анализ проводится примерно в 5 раз быстрее по сравнению с классическим методом Сокслета. Воспроизводимость измерений составляет 1 %.

Фирма «Сальматек» (Германия) выпускает аппарат для экстракции липидов Сокслет В-810, позволяющий проводить одновременный анализ шести навесок. Аппарат упрощает управление процессом экстракции и имеет устройство, позволяющее регенерировать растворитель после экстракции для повторного применения.

Вариантом ускоренной исчерпывающей экстракции липидов из семян растворителями является система фирмы *Dionex.*

Система *Dionex ASE* представляет собой полностью автоматизированное устройство для ускоренной экстракции липидов. До 24 образцов измельченных семян объемом до 33 мл каждый можно ввести и экстрагировать в автоматическом режиме.

Ускоренная экстракция (*Accelerated Solvent Ektraction ASE*) достигается при использовании растворителей (петролейного эфира, гексана, диэтилового эфира) при повышенных температуре и давлении. Растворитель подается в ячейку экстракции, в которой содержится образец, затем ячейка экстракции нагревается до заданной температуры (от температуры окружающей среды до 200 °С), и при этом в ней одновременно повышается давление. После экстракции экстракт (вытяжка) поступает из нагретой ячейки в стандартный флакон-сборник для дальнейшей очистки или анализа.

Увеличение температуры ускоряет процесс экстракции, а одновременное повышение давления предотвращает вскипание растворителя при температуре выше нормальной точки кипения растворителя.

Основными составными частями *Dionex ASE* 200 являются: насос для подачи из резервуара растворителя для экстракции, термостат, где происходит экстракция и находятся клапаны переключения и для контроля за потоком растворителя и подачи экстракта во флаконы-сборники. Все функции автоматизированы.

Подготовка образцов (проб) для ускоренной экстракции точно такая же, как и для других методов экстракции. Подготовленные образцы вводятся в ячейку для экстракции и помещаются во вращающийся штатив карусельного типа. Когда температура поднимается до заданной величины, карусельный штатив поворачивает ячейку с образцом в положение для подачи в камеру термостата. Затем ячейка подается в камеру термостата и автоматически герметизируется под воздействием внешнего давления.

После установления теплового равновесия (обычно через 5 мин), ячейка выдерживается в термостате в течение от 5 до 15 мин. Затем экстракт смывается свежим растворителем во флакон-сборник, после чего следует продувка ячейки азотом. Затем ячейка возвращается в карусельный штатив и весь процесс экстракции в *ASE* 200 повторяется для следующего образца.

Определение масличности сырья рефрактометрическими методами. В соответствии с действующими ГОСТами определение масличности или массовой доли липидов различных видов пищевого сырья предусматривается двумя методами: исчерпывающей экстракцией (экстракционный метод) и рефрактометрированием растворов липидов в растворителе (рефрактометрический метод). Последний рекомендован для ускорения определения масличности.

Рефрактометрические методы определения масличности пищевого сырья и продуктов основаны на получении постоянной концентрации липидов в растворителе в результате настаивания измельченной пробы в растворителе и установлении равновесной концентрации липидов в анализируемом материале и растворителе.

Сущность этих методов состоит в извлечении липидов из навески исследуемого материала с помощью растворителя с высоким коэффициентом преломления и последующим определением содержания липидов в исследуемом материале по разности коэффициентов преломления чистого растворителя и раствора липидов. Для того чтобы определение липидов рефрактометрическим методом было достаточно точным, необходимо соблюдать одинаковые условия не только при самом определении, но и при подготовке исследуемого материала к анализу.

Для повышения точности определение масличности семян рефрактометрическим методом проводят путем извлечения липидов из пробы нелетучим

растворителем, коэффициент преломления которого резко отличается от коэффициента преломления извлекаемых липидов (масла). Чем больше разница между этими коэффициентами, тем точнее определение.

Принцип метода состоит в том, что при растворении липидов (масла) коэффициент преломления растворителя понижается пропорционально количеству извлеченного растворителем масла. По разности между коэффициентами преломления чистого растворителя и раствора масла в растворителе определяют масличность или массовую долю липидов пищевого сырья или продукта.

Для выполнения анализа используют следующие реактивы: α-бромнафталин с коэффициентом преломления около 1,66 или α-хлорнафталин с коэффициентом преломления около 1,63, бумага фильтровальная, беззольные фильтры, песок, серная кислота.

Для выполнения анализа потребуются приборы и химическая посуда: рефрактометр лабораторный с предельным коэффициентом преломления до 1,7 любой системы, пригодный для определения масличности, пикнометр стеклянный вместимостью 25–30 мл, весы лабораторные 4-го класса с разновесами, ступка фарфоровая диаметром 70 мм или фарфоровая чашка вместимостью 50 или 100 мл, стаканы стеклянные вместимостью 25–50 мл, воронки диаметром 25 мм, микропипетки вместимостью 2 мл с делениями на 0,02 мл.

Для определения могут быть использованы рефрактометры различных конструкций: ИРФ-22, РМ и РЖ. Удобнее всего пользоваться для определения содержания масла двухкамерным рефрактометром РЖ, специально предназначенным для этой цели.

Определение масличности семян с помощью двухкамерного рефрактометра РЖ. В основу конструкции прибора положено определение показателя преломления исследуемых растворов по предельному углу преломления.

Количество извлеченного из семян бром- или хлорнафталином масла определяется по разности показателей преломления чистого растворителя и мисцеллы (однородной смеси масла и растворителя). Одновременное определение показателя преломления, растворителя и мисцеллы исключает необходимость термостатирования прибора при температуре 10–35 °С.

Конструктивно прибор оформлен следующим образом.

На чугунном основании с кронштейном укреплена зрительная труба с камерой, состоящей из двух частей: верхней и нижней. В верхней части камеры находится осветительная призма, в нижней — измерительная призма. Осветительная и измерительная призмы разделены канавкой на две равные части. Верхняя часть камеры имеет окно, через которое свет от источника попадает на

осветительную призму. Перед окном верхней части камеры установлена подвижная диафрагма, которая перемещается вращением винта. Подвижная диафрагма регулирует входящий в рефрактометр световой пучок, что обеспечивает получение контрастной границы светотени. Перевод работы прибора с диапазона 1,61000–1,64000 для хлорнафталина на диапазон 1,63000–1,66000 для бромнафталина производят штуцером.

Монохроматор, представляющий собой призму прямого зрения, служит для устранения окрашенности границы светотени. В нижней части зрительной трубы находится объектив, в верхней части — окуляр, возле нижней части узла окуляра — шкала прибора. Между объективом и окуляром зрительной трубы установлена наклонная плоскопараллельная стеклянная пластина, которая соединена с круговым лимбом, имеющим десять делений. Поворот лимба на десять делений соответствует перемещению границы светотени на одно деление шкалы.

К нижней камере прикреплен осветитель, состоящий из электролампочки и двух линз конденсора, помещенных в трубку. Осветитель может перемещаться в горизонтальном направлении при помощи рукоятки.

Окуляр может быть отрегулирован в пределах ±5 диоптрий, что позволяет добиваться четкой видимости шкалы в зависимости от остроты зрения работающего.

Методика определения масличности заключается в следующем.

На делителе или способом диагонального деления выделяют определенное количество семян.

При определении масличности семян подсолнечника из среднего объема пробы выделяют навеску семян массой 50–60 г и просеивают через сито с круглыми отверстиями диаметром 3 мм. Сход с сита освобождают от минерального и органического сора (свободное ядро обрушенных семян подсолнечника оставляют в пробе). Семена перед измельчением подсушивают в сушильном шкафу при температуре 130 ± 2 °С примерно 30–40 мин до влажности не более 4 %.

Подсушенные семена измельчают ручным или механическим способом до однородного состояния.

Затем измельченные семена перемешивают и берут навески массой 2 г для определения влаги путем высушивания при температуре 130 ± 2 °С в течение 20 мин. Для определения масличности берут навеску измельченных семян массой 5 г, взвешивают на весах 4-го класса, переносят в фарфоровую ступку (или чашку), добавляют 2–3 г песка и из бюретки приливают 5 мл растворителя α-бромнафталина или α-хлорнафталина.

Песок должен быть предварительно просеян, обработан серной кислотой, тщательно промыт и прокален. Для работы применяют фракцию, оставшуюся на 0,5-миллиметровом сите и проходящую через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Необходимое количество песка (2–3 г) можно взвесить один раз, а затем соответствующий объем песка достаточно отмерить пробиркой.

Смесь измельченных семян с песком и растворителем тщательно растирают в течение 3 мин (по секундомеру), затем из той же бюретки приливают еще 15 мл растворителя и содержимое ступки размешивают 2–3 мин. Общий объем прилитого растворителя должен составлять точно 20 мл. Раствор фильтруют через бумажный складчатый фильтр и после того как профильтровалось примерно 20 капель, определяют с помощью рефрактометра коэффициент преломления раствора, не дожидаясь конца фильтрования. Этого количества раствора достаточно для трехкратного определения коэффициента преломления.

Определение коэффициента преломления чистого растворителя и профильтрованного раствора масла в растворителе проводят в соответствии с инструкцией, прилагаемой к рефрактометру. Одновременное определение коэффициентов преломления исключает необходимость термостатирования прибора.

Массовая доля масла в семенах — масличность семян (%) — рассчитывается по формуле:

$$M = (\alpha + b\Delta n)\,\Delta n,$$

где α — коэффициент, показывающий, какая массовая доля масла (%) приходится на 0,0001 Δn при данном растворителе:

$$\alpha = X / \Delta n - b\Delta n,$$

где X — массовая доля масла, найденная методом исчерпывающей экстракции по Сокслету, %; b — постоянная величина (ее значения: при работе с α-бромнафталином b = 12 380; при работе с α-хлорнафталином b = 16 900); Δn — разность между коэффициентами преломления чистого растворителя и раствора масла в растворителе.

Постоянная величина b учитывает отклонение раствора масла в растворителе от правила смешения, а также влияние изменения суммарного объема раствора на величину α. Постоянная величина b найдена экспериментальным путем и представляет собой отношение приращения величины α к приращению величины Δn.

Величину α определяют в начале сезона на одном из маслозаводов данной географической области и сообщают ее значение лабораториям технологического контроля масложировых предприятий.

Для выявления коэффициента α берут пять образцов подсолнечных семян различных сортов, характерных для данной области произрастания, выделяют средние объемы проб, как указано выше, и проводят определение масличности методом исчерпывающей экстракции по Сокслету и одновременно по рефрактометру (в этом случае нет необходимости определять влажность семян) [9].

3.4. Одновременное определение нескольких химических характеристик

В последние годы все более перспективными становятся методы анализа, не требующие применения химических реактивов, а также лишенные ряда недостатков стандартных химических анализов. В качестве таких методов получили развитие методы инфракрасной спектроскопии (ИКС) и методы, основанные на ядерно-магнитном резонансе (ЯМР). Достоинством этих методов являются высокая скорость выполнения анализов (от 1 до 2 мин), возможность одновременного определения нескольких характеристик исследуемого материала, а также простота работы на приборах. Метод ЯМР позволяет определить содержание влаги и масличности одновременно, метод ИКС — масличности, содержания влаги, белка и целлюлозы [3, 6, 9].

При анализе с помощью ИКС-анализаторов используют область спектра в ближней инфракрасной области с длинами волн от 1 000 до 2 500 нм. Анализ проводят по спектрам отражения измельченного в строго заданных условиях материала.

К наиболее известным относятся инфракрасные анализаторы фирмы *Pacific Scientific* модели 4250, работающие в комплексе с компьютером (США), а также аналогичные им анализаторы «Инфрапид-61» (Венгрия).

В комплект к прибору ИКС-анализатора обязательно входит специальная мельница для подготовки проб к анализу. Одна из таких мельниц для размола образцов работает со скоростью размола свыше 3 г/ч на абразивной поверхности карбида вольфрама.

ИКС-анализаторы предварительно необходимо калибровать, что является их серьезным недостатком. Для этого следует предварительно проанализировать не менее 50 образцов стандартными методами, найти для них коэффициен-

ты отражения в инфракрасной области спектра, рассчитать оптические плотности и коэффициенты регрессии и внести в память ЭВМ-анализатора.

После этого оператор измельчает с помощью специальной мельницы анализируемую пробу, засыпает ее в кювету и помещает в анализатор.

В анализаторе измеряется интенсивность диффузно отраженного излучения на заранее определенных длинах волн и по градуировочному уравнению рассчитывается содержание анализируемых компонентов. Выполнение этих операций осуществляется персональным компьютером. Результаты анализа в цифровом виде выдаются на дисплей или печать.

Время одного сканирования — 0,2 с, полное сканирование образца имеет 375 точек спектра, и полный цикл измерения составляет 21 с.

Область спектра ИКС-анализатора фирмы *Pacific Scientific* от 1 000 до 2 500 нм, «Инфрапид-61» — от 1 300 до 2 400 нм.

Перед началом работы следует прогреть прибор и выяснить его готовность к работе по контрольному запечатанному образцу. Каждые три месяца необходимо проверять уровень собственного «шума» ИКС-анализатора.

Опыт работы таких анализаторов показал, что наиболее частым источником погрешности измерений является неудовлетворительная подготовка проб (степень измельчения) к анализу.

Не менее существенным является также высокая стоимость ИКС-анализаторов.

Одновременное определение массовой доли воды и липидов в семенах с помощью ЯМР-анализатора. В нашей стране промышленное применение получил ЯМР-анализатор АМВ-1006М, разработанный специалистами НПО «Масличные культуры» (ВНИИМК, г. Краснодар).

В экспресс-анализаторе семян подсолнечника АМВ-1006М используется импульсный метод ЯМР. При использовании анализатора требуется предварительная градуировка прибора на основании результатов определения масличности и влажности семян стандартными методами (исчерпывающей экстракции липидов по Сокслету и высушиванием семян до постоянной массы). Анализатор АМВ-1006М позволяет анализировать пробы семян объемом 25 ± 5 см^3 (для семян подсолнечника — масса около 10 г).

Систематическая погрешность измерения не более ±0,5 % абс.

ЯМР-анализатор АМВ-1006М позволяет проводить одновременное определение массовой доли масла (липидов) в семенах масличных растений и влажности семян. С помощью анализатора 1006М можно также определять влажность и мас-

личность шрота и жмыха, полученных при промышленной переработке растительного масличного сырья. Диапазоны измерений представлены в табл. 7.

Таблица 7

Диапазоны измерений ЯМР-анализатора АМВ-1006М

Объект исследований	Масличность, %, на абс. сух. в-во	Влажность, %
Семена	от 15 до 60	от 5 до 20
Жмых прессовый	от 7 до 27	от 4 до 12
Шрот после экстракции	от 0,5 до 7,0	от 4 до 12

Определение масличности и влажности семян масличных растений и продуктов их технологической переработки основано на использовании метода ЯМР, измерении амплитуды сигналов свободной процессии и спинового эха, их математической обработки и вычисления процентного содержания масла и воды в анализируемой пробе. При проведении измерений необходимы следующие условия: температура окружающего воздуха — от +18 до +28 °С; относительная влажность воздуха — от 50 до 80 % (при температуре +28 °С); атмосферное давление — от 84 до 106,7 кПа; напряжение питающей сети с частотой 50 Гц от 200 до 242 Вт; предельное отклонение частоты сети — не более 1 Гц.

При проведении анализа отбирают пробу семян массой около 100 г, пробы жмыха и шрота массой около 70 г. Пробу жмыха предварительно измельчают на лабораторной мельнице. Шрот не измельчают, необходимо лишь удаление из проб ферромагнитных примесей.

Из подготовленного для анализа образца отбираемого с помощью пробоотборника массового объема пробы, навеску семян или продуктов их переработки помещают в анализатор и проводят не менее пяти измерений. Результат вычисляют как среднее арифметическое, округленное до первого десятичного знака. Время единичного измерения пробы — не более 2 мин.

Анализируемую пробу в специальной пробирке помещают в датчик сигналов ЯМР; при этом на пробу воздействуют два поля — постоянное поляризующее поле и радиочастотное поле. При определенном соотношении частоты радиочастотных импульсов и величины постоянного магнитного поля, а также амплитуды радиоимпульсов и их длительностей возникает эффект ЯМР, в результате которого в витках катушки контура датчика наводится ЭДС, величина которой пропорциональна количеству протонов в анализируемой пробе. Сигнал ЯМР, наведенный в катушке датчика, поступает на усилитель сигналов ЯМР и после соответствующего усиления — на амплитудно-цифровой преобразова-

тель. Полученная информация об амплитуде сигналов ЯМР в цифровом виде поступает на вычислительное устройство, в качестве которого используется персональный компьютер, к которому подключены электронные весы для измерения массы анализируемой пробы.

По измеренным амплитудам сигналов ЯМР протонов воды и масла с использованием градуировочных уравнений и массы анализируемой пробы вычисляются значения влажности и масличности.

Для уменьшения влияния шумов (случайной составляющей погрешности измерения) предусмотрено накопление сигналов ЯМР и их статистическая обработка. В режиме нормального анализа предусмотрено 35 циклов измерений. Для учета влияния различных факторов (аппаратурных и методических) на результаты измерений предусмотрен специальный режим работы — «Коррекция». В этом режиме осуществляется измерение сигналов ЯМР и их обработка от специального контрольного образца, помещенного в датчик сигналов ЯМР.

Принимаемые вычислительные устройством коды сигналов ЯМР содержат информацию как о суммарном количестве протонов в анализируемой пробе, так и о том, какое количество протонов находится в тех или иных структурных образованиях. Разделяя вклад различных протоносодержащих компонентов по специальному алгоритму обработки информации, определяется количество содержащихся в пробе жира и воды. А затем, с учетом массы анализируемой пробы, производится расчет их процентного содержания.

Метод количественного анализа на основе явления ЯМР является косвенным и требует предварительной градуировки, в ходе которой устанавливается количественная зависимость между амплитудой сигнала ЯМР и количеством анализируемого вещества [9].

Для выполнения этой процедуры в анализаторе предусмотрен специальный режим работы — «Градуировка». В этом режиме анализируются стандартные образцы масличности и влажности, имеющие аттестованные значения измеряемых величин. Полученные от этих образцов амплитуды сигналов ЯМР, пропорциональные количеству воды и масла, а также аттестованные значения содержания этих параметров используются для определения численных значений коэффициентов градуировочных уравнений.

Режим «Градуировка» в анализаторе полуавтоматический и не требует от оператора каких-либо расчетов.

Анализатор АМВ 1006М позволяет определять масличность и влажность семян подсолнечника, сои, рапса, горчицы и льна, а также продуктов их переработки. Градуировка каждого анализатора осуществляется только на те мас-

личные культуры и продукты их переработки, которые были предложены заказчиком анализатора. Выбор анализируемой культуры в пределах заданных видов масличного сырья осуществляется курсором мышки управления и нажатием ее левой клавиши.

В настоящее время анализаторы АМВ-1006М находятся в промышленной эксплуатации на большинстве масложировых предприятий России.

Изготовитель анализаторов АМВ-1006М по выбору заказчика прилагает к выпускаемым анализаторам комплект оборудования, позволяющий определить жирнокислотный состав масла в семенах и его кислотное число.

3.5. Определение массовой доли белковых веществ

Определение массовой доли общего белка (сырого протеина) методом Кьельдаля. Основная часть азотсодержащих веществ пищевого сырья и продуктов питания представлена собственно белками, составляющими до 90–95 % всех соединений, содержащих азот. Метод определения белка в сырье методом Кьельдаля основан на определении количества азота с последующим пересчетом его на белок. Так как какое-то количество азота имеет небелковое происхождение, определяя белок по данному методу, говорят об общем белке, или «сыром» протеине [3, 6, 9].

Принцип метода Кьельдаля основан на полном разрушении белка под действием серной кислоты в присутствии катализатора. Азот белка улавливается в виде сульфата аммония и определяется в виде аммиака, отгоняемого с водяным паром из реакционной среды, подщелоченной добавлением концентрированной NaOH; аммиак поглощается раствором серной кислоты и определяется обратным титрованием. В качестве катализаторов используют сульфат меди. Для повышения температуры кипения реакционной смеси добавляют сульфат натрия.

После сжигания вещества к полученному раствору сульфата аммония добавляют раствор гидроксида натрия, в результате чего происходит разложение сульфата аммония с выделением газообразного аммиака:

$$(NH_4)_2SO_4 + NaOH \rightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + H_2O.$$

Выделившийся аммиак, отгоняемый с водяным паром, поглощается избытком раствора серной кислоты точно установленной концентрации:

$$2NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4.$$

Избыток не прореагировавшей с аммиаком кислоты оттитровывают раствором щелочи.

Зная, сколько кислоты было взято и сколько ее осталось после поглощения аммиака, можно рассчитать количество кислоты, пошедшей на нейтрализацию аммиака, и на основании этого рассчитать количество азота и белка.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: сульфат меди и натрия, 0,1 н. серная кислота (в бюретке), концентрированная серная кислота, дистиллированная вода, 0,1 н. гидроксид калия, 33 %-й гидроксид натрия, 0,2 %-й раствор индикатора метилового красного или метилового оранжевого, подставка с пробирками, отгонная колба вместимостью 1 л, приемная колба вместимостью 500 мл, индикаторная универсальная бумага, мерные цилиндры вместимостью 10 и 100 мл, колба Кьельдаля на 100 мл, водяной холодильник, делительная воронка, электроплитка, весы аналитические.

В пробирку с подставкой поместить навеску (взятую на технических весах) массой около 1 г измельченных семян. При анализе семян клещевины и копры навеске придать форму шарика для удобства извлечения из пробирки. Пробирку с навеской взвесить на аналитических весах.

Навеску из пробирки перенести на дно колбы Кьельдаля, стараясь не допустить попадания на горловину колбы. Для этого на пробирку надеть сухую и чистую колбу Кьельдаля и резким движением перевернуть. Освободившуюся пробирку взвесить на аналитических весах.

В колбу Кьельдаля с навеской семян добавить 1 г сульфата меди, 7–8 г сульфата калия и 15 мл химически чистой концентрированной серной кислоты (измерить цилиндром). Сжечь содержимое на электроплитке до устранения черных несгоревших частиц и достижения зеленовато-голубого цвета без желтых оттенков.

После охлаждения в колбу добавить дистиллированной воды, растворить осадок, довести объем до 500 мл. Количественно перенести раствор в отгонную колбу.

Отгонку аммиака проводят в специальной установке.

Колбу Кьельдаля соединяют через каплеуловитель с шариковым холодильником.

В качестве приемника используют предпочтительно коническую колбу вместимостью 500 мл, в которую из бюретки наливают 50 мл 0,1 н. раствора H_2SO_4 с 3–5 каплями 0,2 %-го раствора индикатора метилового красного. Конец трубки холодильника должен быть опущен в раствор кислоты в приемной колбе. Прибор проверяют на герметичность. После этого из капельной воронки

приливают 33 %-й раствор едкого натра из расчета 50–60 мл на каждые 10 мл концентрированной кислоты, взятой для сжигания. Промывают капельную воронку 2–3 раза 10–15 мл воды, оставляя небольшое количество жидкости в воронке для создания гидрозатвора. Во избежание толчков при перегонке в отгонную колбу кладут перед приливанием щелочи несколько кусочков пемзы. Колбу нагревают с помощью колбонагревателя *2* таким образом, чтобы происходило равномерное кипение и жидкость из приемной колбы не засасывалась в холодильник. Отгоняют около двух третей объема жидкости в отгонной колбе. После этого приемную колбу *8* с кислотой опускают так, чтобы конец трубки холодильника не касался раствора. Конец трубки обмывают из промывалки дистиллированной водой и продолжают отгонку еще около 5 мин для смывания кислоты с внутренних стенок трубки холодильника. Избыток кислоты в приемной колбе оттитровывают 0,1 н. раствором KOH или NaOH до соломенно-желтой окраски.

Расчет.

1. Содержание общего белка или сырого протеина при фактической влажности семян (%):

$$П = 6{,}25 \times 100 \times 0{,}0014(50F_к - aF_щ) / P,$$

где 6,25 — коэффициент для пересчета азота на белок (протеин); 0,0014 — титр 0,1 н. раствора кислоты по азоту; 50 — количество 0,1 н. раствора серной кислоты, взятой в приемник, мл; $F_к$ — фактор раствора кислоты; a — количество 0,1 н. раствора щелочи, пошедшей на титрование кислоты в приемной колбе, мл; $F_щ$ — фактор 0,1 н. раствора щелочи; P — навеска семян, $P = (m_1 - m_2)$, г.

2. Содержание белка (протеина) в пересчете на абсолютно сухое вещество (%):

$$П' = (П \times 100) / (100 - W),$$

где П — содержание сырого протеина при фактической влажности, %; W — влажность семян, взятых для анализа, %, определенная методом высушивания до постоянной массы.

Запись в лабораторном журнале:

– масса пробирки с измельченными семенами m_1, г;

– масса пустой пробирки, m_2, г;

– навеска измельченных семян P, г;

– количество щелочи, пошедшее на титрование, a, мл.

Определение массовой доли белка по биуретовой реакции. Биуретовая реакция заключается в способности белков в щелочной среде по месту пептидных связей образовывать комплексное окрашенное соединение с ионом меди, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию белка, точнее длины его полипептидной цепи в исследуемом материале.

Аналогичную реакцию дает **биурет** — вещество, образующееся при нагревании мочевины и содержащее также пептидные связи в молекулах. Отсюда возникло название реакции — биуретовая.

Появление цветного окрашивания при биуретовой реакции вызвано образованием комплексного соединения меди с белком или пептидом, причем в образовании комплекса участвуют пептидные связи.

Для выполнения анализа потребуются следующие приборы и оборудование: весы лабораторные 2-го класса с разновесами, центрифуга лабораторная, фотоэлектроколориметр, конические колбы вместимостью 250–300 мл с пробками.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы*:* четыреххлористый углерод; 10 н. раствор гидроксида калия, сегнетовая соль, сульфат меди. Модифицированный биуретовый реактив: 15 мл 10 н. раствора КОН и 25 г сегнетовой соли (стабилизатора меди) растворяют в 900 мл дистиллированной воды, затем 30 мл 4 %-го сульфата меди медленно добавляют при постоянном помешивании и доводят объем до 1 л.

Навеску обезжиренного материала массой 1,5 г взвешивают на аналитических весах, помещают в сухую коническую колбу на 250–300 мл, снабженную пробкой, и обрабатывают 2 мл четыреххлористого углерода, добиваясь при этом полного смачивания материала. Затем добавляют 100 мл модифицированного биуретового реактива, закрывают колбу пробкой, энергично встряхивают ее в течение 60 мин, после чего вытяжку центрифугируют 10 мин при 4 500 мин$^{-1}$. В прозрачном центрифугате определяют оптическую плотность при длине волны 550 нм в кювете с длиной рабочей грани 5 мм.

Для расчета массовой доли в навеске белка используют калибровочную кривую.

Перерасчет массовой доли белка в % массы навески исследуемого материала ведут по формуле:

$$(\text{масса белка, найденная по графику} / \text{масса навески}) \times 100. \qquad (8)$$

Определение группового состава (фракционирование по методу Осборна) белков по растворимости. Фракционирование белков по Осборну заключается в последовательном экстрагировании групп белков исследуемого материала тремя растворителями — водой, 10 %-м раствором хлорида натрия и 0,2 %-м раствором гидроксида натрия. Следует учитывать, что при экстрагировании извлекаются из пробы не только белки, но и другие вещества, среди которых могут присутствовать азотсодержащие соединения. Полнота извлечения белковых веществ из масличных семян и продуктов их переработки зависит от многих факторов, в том числе от количества последовательных экстракций и степени измельчения материала. Ниже приводится описание двух вариантов метода определения фракционного состава белков, предложенных ВНИИ жиров. Метод основан на последовательном извлечении белковых веществ из исследуемого материала водой, 10 %-м раствором NaCl и 0,2 %-м раствором NaOH и определении содержания азота в экстрактах и нерастворимом осадке полумакрометодом Кьельдаля.

Принцип метода: извлечение белковых веществ указанными растворами ведут из предварительно обезжиренного вещества последовательно и затем определяют массовую долю азота в экстрактах и нерастворимом остатке методом Кьельдаля.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: петролейный эфир (температура кипения до 60 °С), дистиллированная вода, 10 %-й раствор хлорида натрия, 0,2 %-й раствор гидроксида натрия, толуол, коническая колба вместимостью 250 мл, мерная колба на 500 мл, воронка Бюхнера, реактивы и посуда для определения азота по методу Кьельдаля, фильтр стеклянный диаметром 110 мм, весы аналитические, металлические сита с отверстиями диаметром 0,5 и 1 мм, роторная центрифуга на 2 000 мин$^{-1}$.

Определение можно вести двумя способами.

Первый вариант. Около 50 г материала измельчают до прохода через сито с отверстиями размером 1 мм. Взвешивают 15–16 г измельченного материала и обезжиривают настаиванием со 100 мл петролейного эфира в течение часа при перемешивании через каждые 15 мин. Эфирный экстракт сливают с осадка декантацией на фильтр и осадок заливают свежей порцией растворителя (100 мл). Настаивание продолжают еще 2 ч при перемешивании через каждые 15 мин. По окончании настаивания весь материал отфильтровывают через тот же фильтр и остаток в фильтре промывают 50 мл растворителя. Обезжиренный остаток выдерживают на воздухе до исчезновения запаха растворителя, затем измельчают до прохода через сито с отверстиями диаметром 0,5 мм.

Навеску от 1,0 до 2,0 г измельченного материала помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл и приливают в колбу 100 мл дистиллированной воды. Колбу закрывают пробкой, укрепляют на механическом встряхивателе и встряхивают в течение 30 мин. Через 30 мин смесь центрифугируют в течение 6–10 мин при 1 200 мин$^{-1}$. Отцентрифугированный прозрачный раствор сливают в мерную колбу вместимостью 500 мл. Осадок из центрифужных пробирок количественно переносят новой порцией (100 мл) дистиллированной воды в ту же коническую колбу и проводят вторую, а затем третью экстракцию при встряхивании в течение 15 мин.

После третьей экстракции осадок в центрифужных пробирках, а также колбу, в которой производилось встряхивание, промывают дистиллированной водой (~50 мл). Промывные воды после центрифугирования присоединяют к основному раствору в мерной колбе. Объединенные вытяжки и промывные воды разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе до 500 мл.

Осадок из центрифужных пробирок переносят в ту же коническую колбу емкостью 250 мл 100 мл 10 %-го раствора хлорида натрия. Затем проводят извлечение солерастворимых белков так, как указано выше для случая экстракции водой.

После экстракции белков, растворимых в 10 %-м растворе хлорида натрия, остаток обрабатывают в аналогичных условиях 0,2 %-м раствором гидрооксида натрия.

Если экстракты мутные, то их последовательно фильтруют на воронке Бюхнера через бумажное тесто, которое готовят из мелконарезанных беззольных фильтров, прокипяченных с дистиллированной водой. После окончания фильтрования щелочной вытяжки бумажное тесто вместе с остатками исходного материала количественно переносят в колбу Кьельдаля вместимостью 500 мл, добавляют 1 г сернокислой меди, 7–8 г сернокислого калия и 50 мл концентрированной серной кислоты и сжигают так, как описано в методике определения общего азота методом Кьельдаля.

После сжигания теста с остатком исходного материала колбу Кьельдаля охлаждают, приливают в нее небольшое количество дистиллированной воды, перемешивают и переносят содержимое колбы без потерь в мерную колбу вместимостью 250 мл. Колбу Кьельдаля ополаскивают несколько раз водой, сливая промывные воды в те же мерную колбу. В колбу добавляют воду до метки и тщательно перемешивают. Экстракты водо-, соле- и щелочерастворимых белков консервируют 2–3 каплями толуола и хранят до окончания анализа в прохладном месте.

Для определения содержания азота в экстрактах берут пипеткой 25–30 мл соответствующего экстракта (в зависимости от содержания в нем белка) и помещают в колбу Кьельдаля вместимостью 250 мл. В колбу приливают 5–10 мл концентрированной серной кислоты и прибавляют около 0,1 г смеси сернокислой меди и сернокислотного калия в отношении 1:3. Затем навеску сжигают.

При отгонке аммиака в приемную колбу наливают 10–15 мл титрованного 0,1 н. раствора серной кислоты и 5 капель метилового красного. В отгонную колбу через воронку приливают 20–30 мл 33 %-го раствора едкого натра.

Расчет.

Массовую долю азота отдельных экстрактов в % (X) к массе исходного обезжиренного материала, взятого для экстракции, вычисляют по формуле:

$$X = ((V_1 - V_2)\, K \times 0{,}0014 \times 100 \times 500) / (50 \times P), \qquad (9)$$

где V_1 — количество миллилитров 0,1 н. раствора KOH или NaOH, израсходованное на титрование 50 мл серной кислоты в контрольном опыте; V_2 — то же, израсходованное на титрование серной кислоты в основном опыте; K — поправка к титру 0,1 н. раствора KOH или NaOH; 0,0014 — количество азота, эквивалентное 1 мл 0,1 н. раствора серной кислоты; 500 — объем исходного экстракта; P — навеска исходного обезжиренного материала в г; 50 — количество миллилитров экстракта, взятое для сжигания.

Определение фракционного состава белков рекомендуется проводить параллельно с двумя навесками исходного обезжиренного материала. Допустимое расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,1 % азота.

Результат определения фракционного состава белков может быть выражен несколькими способами:

– в % азота каждой фракции (водорастворимой, солерастворимой, щелочерастворимой и нерастворимой) к массе сухого и обезжиренного материала, взятого на анализ;

– в % общего белка (сырого протеина) каждой фракции к массе сухого и обезжиренного материала путем умножения массовой доли азота на коэффициент 6,25;

– в % азота каждой фракции, отнесенных к суммарному азоту во всех 4 фракциях.

Второй вариант определения фракционного состава белков основан на применении воронки Бюхнера и отсасывании экстракта через бумажное тесто,

что позволяет получать прозрачные экстракты. Обезжиривание анализируемого материала проводят так, как описано выше в первом варианте метода.

Навеску 1–2 г измельченного и обезжиренного материала обрабатывают в конической колбе вместимостью 250 мл 100 мл дистиллированной воды в течение 1 ч при перемешивании через каждые 15 мин и затем в течение 3 ч — свежей порцией воды (100 мл).

Первый (часовой) экстракт фильтруют декантацией через воронку Бюхнера (диаметр 70–80 мм) с бумажным тестом (слой 5 мм). После трехчасового настаивания весь материал переносят на ту же воронку с бумажным тестом, оставшимся после первой фильтрации, хорошо отсасывают и промывают небольшим количеством (около 30 мл) воды. Осадок вместе с бумажным тестом количественно переносят снова в коническую колбу, где производят настаивание с 10 %-м раствором хлорида натрия. Настаивание продолжают в течение одного часа и затем трех часов каждый раз со 100 мл растворителя при перемешивании через каждые 15 мин.

Солевые экстракты фильтруют в такой же последовательности, как и водные. Осадок после промывания его на фильтре 30 мл растворителя вместе с фильтром (бумажным тестом) переносят в колбу для последующей обработки 0,2 %-м раствором гидроксида натрия, как и в предыдущих случаях.

Полученные экстракты (водный, солевой и щелочной) консервируют 1–2 каплями толуола, затем количественно переносят в мерные колбы вместимостью 250 мл и добавляют до метки соответствующие растворители.

Дальнейший ход анализа способ расчета и допустимые расхождения между параллельными определениями указаны в первом варианте метода.

3.6. Получение изолированных белков (изолятов) из обезжиренных семян

Запасные белки семян большинства масличных растений имеют высокую пищевую ценность. Источником их получения являются жмыхи и шроты, получаемые в качестве вторичных продуктов в процессе извлечения масла из семян.

Белковые продукты, получаемые из обезжиренных масличных семян, подразделяются на три группы — обезжиренная мука, концентраты и изоляты, различающиеся по массовой доле в них сырого протеина или суммарного белка, определяемого по методу Кьельдаля. Так, обезжиренной соевой муке массовая доля белка составляет от 50 до 65 %, в белковом концентрате — от 65 до 90 %, в изоляте — от 90 до 95 %. Концентраты получают, удаляя из соевой му-

ки нежелательные компоненты, в основном углеводной природы, изоляты получают путем выделения собственно белка. Технологические свойства этих белковых продуктов различны.

Изолированные белки масличных семян имеют широкое применение в хлебопекарном, кондитерском, мясо-молочном и других производствах, расширяя таким образом сырьевую базу пищевой промышленности и ассортимент продуктов, обогащенных белком [9].

Экстракцию белков из обезжиренных семян производят в зависимости от их последующего применения растворами хлорида натрия или щелочей.

Из полученных экстрактов белки осаждают, снижая pH, добавлением кислоты до достижения белками изоэлектрической точки. Полученную взвесь белков центрифугируют. Надосадочную жидкость сливают, а выделенные белки подвергают лиофильной или сублимационной сушке.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: шрот подсолнечный, 5 %-й раствор хлорида натрия, 1 н. раствор соляной кислоты, pH-метр, центрифуга, электромагнитная мешалка с подогревом, стаканы на 1 000 мл, стеклянные палочки, воронка, вакуум-сушильный шкаф.

Навеску шрота массой 50 г залить 600 мл 50 %-го раствора поваренной соли при температуре 45 °С и термостатировать при 45 °С, перемешивая в течение 10 мин при частоте вращения мешалки 100–110 $мин^{-1}$. По окончании экстракции отделить раствор белка от небелковых компонентов центрифугированием при частоте вращения барабана 3 000 $мин^{-1}$ в течение 7–10 мин.

Добавить в раствор соляной кислоты по достижении изоэлектрической точки pH 4,2–4,1. После осаждения белок отделить на центрифуге при частоте вращения 3 000 $мин^{-1}$ в течение 5 мин.

Осадок белка в виде пасты поместить в вакуум-сушильный шкаф при температуре 45 °С и сушить до воздушно-сухого состояния (остаточная влажность 10–11 %).

Запись в лабораторном журнале:

– масса обезжиренных семян m_2, г;

– масса сухого порошка изолята m_1, г.

Расчет.

Выход белкового изолята (%) при фактической влажности:

$$В = (100 \times m_1) / m_2.$$

3.7. Определение функциональных свойств белков масличных семян

Белковые изоляты, получаемые из обезжиренных масличных семян, шротов и жмыхов, не являются продуктами, непосредственного используемыми в пищу. Это компоненты рецептур пищевых продуктов не только обогащающие их белком, но и формирующие новые физико-химические характеристики продуктов питания. Способность белков, вводимых в рецептуры пищевых продуктов, совмещаться с другими компонентами рецептуры, стабилизировать суспензии, эмульсии и пены и придавать пищевым продуктам заданные технологические характеристики получила название **функциональных свойств белков**.

Термин «функциональные свойства» был введен в научную литературу в 70-х гг. прошлого столетия, когда возникла необходимость описать пригодность изолятов соевых белков для их переработки в пищевые продукты.

Функциональные свойства включают такие характеристики белков, как растворимость и диспергируемость в водных системах, водо- и жиросвязывающая способность, эмульгирующие и пенообразующие свойства, вязкость, гелеобразующая способность и некоторые другие. Эти свойства определяют поведение белков в сложных пищевых системах, в которые они включаются в качестве компонентов рецептуры.

Функциональные свойства растительных белков обусловлены их структурой и способностью изменять структуру белковой глобулы в зависимости от условий окружающей среды, а также под влиянием взаимодействия с высоко- и низкомолекулярными компонентами пищевых систем. Поэтому многие функциональные свойства белков, выявленные на модельных, однокомпонентных системах, требуют корректировки при использовании белков в многокомпонентных системах. Несмотря на это, в производственной практике функциональные свойства белков широко используются при выборе технологии получения обогащенных белком пищевых продуктов и определении путей их применения.

Таким образом, на функциональные свойства белков влияет всякое изменение среды вокруг белковых молекул, вызывающее варьирование из конформации [9].

Функциональные свойства белков могут быть усилены или ослаблены путем обработки их химическими агентами — химической модификацией, путем обработки ферментами — ферментативной модификацией, а также термической обработкой — термической модификацией.

Определение эмульгирующей способности белков

К важным физико-химическим — функциональным — свойствам относят способность белков эмульгировать растительные масла. Чем большее количество масла может эмульгироваться в присутствии белков, тем более высокой эмульгирующей способностью они обладают.

Определение по точке коацервации. Эмульгирующую способность белков по этому методу определяют по максимальному количеству масла, вводимому в коллоидную систему белков до ее расслоения — достижения точки коацервации — расслоения системы на два жидких слоя с четким разделом границ при определенных условиях (температуре, соотношении белков и воды и т.д.).

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: дистиллированная вода, рафинированное подсолнечное масло, белковый изолят, термостат, электромагнитная мешалка, микробюретка, химический стакан на 200 мл, мерная пипетка на 100 мл.

Навеску белка массой 17 г поместить в химический стакан вместимостью 200 мл и прибавить при перемешивании 100 мл дистиллированной воды при температуре 20 °С.

К образцу при постоянном перемешивании из бюретки прибавлять растительное масло со скоростью 5 мл/с до тех пор пока визуально не будет наблюдаться расслоение эмульсии (т.е. по достижении точки коацервации).

Измерить прибавленный объем масла. Точка коацервации (мг/г):

$$T_к = a / 17,$$

где a — количество прибавленного масла, мл; 17 — навеска образца, разведенная в 100 мл воды, г.

Определение по стойкости эмульсии. По методике, разработанной ВНИИЖ, эмульгирующая способность белков или других веществ оценивается по стойкости эмульсии — изменению ее объема через 10 мин от начала разрушения при конденсации водяного пара в вазелиновом масле. Вазелиновое масло является (согласно методике) гидрофобным заменителем (аналогом) растительного масла, более удобного при проведении сравнительных исследований.

Метод излагается с некоторыми изменениями.

При проведении определения применяют прибор. Парообразователь наполняют водой, закрывают пробкой с двумя трубками и нагревают до кипения. Батарейный стакан наполняют водой, закрывают крышкой и нагревают до температуры 93–95 °С. В батарейный стакан наливают воду, нагретую до температуры 19 °С, стакан закрывают крышкой. В градуированную пробирку

наливают 10 мл вазелинового масла, вводят 30 мл 15 %-го водного раствора белка и помещают пробирку в батарейный стакан.

Соединяют трубки с помощью резиновой трубки с винтовым зажимом. Расстояние между трубками составляет около 40 мм. Трубку хорошо прогревают, пропуская пар в течение приблизительно 30 с, освобождают от резиновой трубки и вводят в пробирку так, чтобы конец трубки достигал центра дна пробирки, а термометр находился от него на расстоянии 19–25 мм.

Вновь соединяют трубки с помощью резиновой трубки и регулируют поступление пара в пробирку винтовыми зажимами на трубках так, чтобы температура в пробирке поддерживалась в пределах 88–91 °С. Пар пропускают в течение 7 мин.

Разъединяют трубки и пробирку быстро переносят в стакан, удаляют из пробирки пробку с термометром и трубкой, включают секундомер и отмечают объем эмульсий в пробирке, который должен быть равен 40–45 мл. При нарушении этого условия опыт повторяют, изменяя концентрацию раствора белка.

Отмечают объем выделяющегося водного слоя эмульсии через 2, 5 и 10 мин от начала ее разрушения (с момента пуска секундомера).

Эмульгирующую способность белка в % (Э) вычисляют как отношение количества воды, находящейся в верхнем эмульсионном слое, к количеству эмульсии через 10 мин от начала разрушения (10):

$$Э = ((V - V_1) - 10) / (V - V_1) \times 100, \quad (10)$$

где V — общий (начальный) объем эмульсии в мл; V_1 — объем нижнего водного слоя в мл через 10 мин после начала разрушения эмульсии.

В том случае, если белок образует очень стойкие эмульсии с водой, применяют метод, основанный на центрифугировании эмульсий.

Определение стойкости эмульсий производят в два приема.

Центрифужную пробирку вместимостью 10 мл и ценой делений 0,1 мл заполняют до верхнего деления, затем помещают пробирку с эмульсией в центрифугу и центрифугируют со скоростью 1 500 мин$^{-1}$ в течение 5 мин, после чего наблюдают разрушение эмульсии.

После центрифугирования эту же пробирку помещают в кипящую воду в стакане на 3 мин и опять центрифугируют в течение 5 мин. Выделившееся в результате механического и теплового воздействия количество масла по числу делений в пробирке (мл) вычисляют в процентах, что характеризует стойкость эмульсии.

Стойкость эмульсии в % (X) вычисляют по формуле:

$$X = P_1 \times 10,$$

где P_1 — количество выделенного масла в мл.

Определение водо- и маслоудерживающей способности белков. При использовании белков масличных семян в пищевой промышленности важным требованием является их высокая водо- и маслоудерживающая способность, которая определяется химическими и физическими свойствами белка. Есть предположения, что при раскручивании молекулы белка в процессе ее диссоциации на субъединицы увеличивается захват воды за счет увеличения числа химических группировок, связывающих воду.

В строго регламентированных условиях к белку (белковому изоляту) добавляют воду или масло и после центрифугирования определяют количество оставшейся свободной воды или масла.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: белковый изолят, рафинированное подсолнечное масла, дистиллированная воды, термостат, пипетка на 20 мл, весы технические, мерный цилиндр на 20 мл, центрифуга.

В пробирку центрифуги на 30 мл поместить навеску белка массой 4 г и пипеткой внести 20 мл дистиллированной воды или подсолнечного масла. Поместить пробирку с суспензией в термостат при 20 °С на 30 мин, периодически перемешивая.

Центрифугировать при частоте вращения барабана 15 000 мин$^{-1}$ в течение 15 мин. Измерить объем надосадочной жидкости (супернатанта).

Расчет.

Водо- и маслоудерживающая способность, мл/г, (11):

$$B_c = (20 - a) / 4, \qquad (11)$$

где 20 — количество вносимой жидкости, мл; a — объем супернатанта, мл; 4 — навеска образца, г.

По другой методике водо- и маслоудерживающая способность белка получают в % к массе навески.

В сухие, предварительно взвешенные пробирки для центрифуги емкостью 20 см^3 отвешивают по 3 г белка, добавляют пипеткой по 10 см^3 дистиллированной воды или 10 г растительного рафинированного дезодорированного масла и хорошо смешивают в течение 1 мин стеклянной палочкой. Омывают палочку

соответственно 5 см^3 воды или 5 г масла, добавляя их в те же пробирки. Пробирки с суспензией взвешивают и помещают в термостат при 45 °С на 30 мин, содержимое периодически перемешивают. Затем центрифугируют при 6 000 мин$^{-1}$ в течение 10 мин. Осторожно сливают супернант. Пробирки помещают на 10 мин на фильтровальную бумагу вверх дном, а затем снова взвешивают.

Расчет.

Величину водо- (ВУС) или маслоудерживающей (МУС) способности рассчитывают в процентах по формуле (12):

$$\text{ВУС (МУС)} = (m_н - m_к - m_0) / m_0 \times 100, \quad (12)$$

где $m_н$ — масса пробирки с суспензией, г; $m_к$ — масса пробирки с осадком, г; m_0 — масса навески, г.

Определение пенообразующей способности белков и стойкости пены. Пенообразующая способность белков обусловлена характеристиками поверхности белковой молекулы — распределением полярных и неполярных групп, величиной поверхностной гидрофобности.

Метод, предложенный ВНИИ жиров (Санкт-Петербург), излагается с изменениями.

Оценивают пенообразующую способность белка по изменению высоты образовавшегося в специальных условиях столба пены и уменьшению его через 1, 3 и 5 мин от момента образования.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: прибор Росс-Майлса, состоящий из цилиндрической градуированной трубки, помещенной в водяную рубашку; ультратермостат (водяной); пипетка, дистиллированная вода.

Навеску белка массой 20 г растворяют в 200 мл свежепрокипяченной и охлажденной до 80 °С дистиллированной воде, затем раствор охлаждают до температуры 20 и 50 °С. Концентрация белка — от 5 до 10 %.

Включают термостат. По достижении заданной температуры включают насос.

Промывают стенки трубки дистиллированной водой, которой дают стечь в течение 10 мин. Закрывают кран трубки и наливают в нее из отдельной пипетки 50 мл раствора белка без нерастворившихся частиц.

Раствор в количестве 200 мл набирают в пипетку и устанавливают ее в штатив перпендикулярно сечению трубки так, чтобы струя раствора падала в

центр трубки. Расстояние от отметки «50 мл» на трубке до нижнего конца пипетки (высота падения раствора) составляет 900 мм.

Открывают кран пипетки. По истечении раствора из пипетки немедленно включают секундомер и сразу производят замер высоты образовавшегося столба пены в мм (h_0), а затем — через 1, 3 и 5 мин (h_3, h_5).

Перед каждым новым определением тщательно промывают трубку дистиллированной, дают ей стечь в течение 10 мин, закрывают кран трубки и все операции повторяют.

Для каждой концентрации определение производят три раза и берут среднее значение.

Высоту столба разрушенной пены (X) в % от первоначальной высоты столба вычисляют по формуле (13):

$$X = ((h_0 - h_5) \times 100) / h_0 \quad (13)$$

где h_0 — начальная высота столба пены в мм; h_5 — высота столба пены по истечении 5 мин в мм.

Устойчивость пены (У) выражается как отношение высоты столба пены, не разрушенной через 5 мин, к первоначальной высоте столба пены.

Более простым является определение пенообразующей способности и стойкости пены в аппарате ВНИИЖ.

Основной деталью прибора ВНИИЖ является градуированная делительная воронка емкостью 1 л, совершающая 180 вертикальных возвратно-поступательных движений в минуту.

Делительную воронку промывают несколько раз водой при работе встряхивающего механизма. Воде дают полностью стечь, открывая кран воротки.

Закрывают кран, наливают в воронку 100 мл раствора белка, полученного растворением 1, 2, 3, 4 и 5 г белка в 100 мл воды, и закрывают ее резиновой пробкой.

Включают электродвигатель, одновременно пуская в ход секундомер, и встряхивают воронку в течение 30 с.

После этого выключают электродвигатель, открывают пробку воронки и замеряют начальный объем образовавшейся пены (V_0), а затем объем пены через 1, 3 и 5 мин (V_1, V_3, V_5).

Для каждой концентрации определение повторяют три раза и берут среднее значение.

Объем разрушенной пены в % (X) от первоначального объема вычисляют по формуле (14):

$$X = ((V_0 - V_5) \times 100) / V_0. \quad (14)$$

Стойкость (устойчивость) пены (У) выражается как отношение объема пены, не разрушенной через 5 мин, к первоначальному объему пены (15):

$$У = V_5 / V_0. \quad (15)$$

Расхождение между определениями не должно превышать 1 мл для начального объема пены V_0.

3.8. Определение биологической ценности белков масличных семян

Белки семян, поступающих на хранение и технологическую переработку, не содержат в своем составе полного набора незаменимых аминокислот. Условия хранения семян, продолжительность хранения до переработки, температурные условия послеуборочной обработки, а также другие факторы способны заметно снизить биологическую ценность белков семян, а также уменьшить их усвояемость организмом человека и животных.

Определение относительной биологической ценности белков микрометодом (метод с инфузорией Тетрахимена пириформис) [9]. Под биологической ценностью понимают степень удерживания азота, поступающего с пищей, в растущем организме или эффективность его утилизации при поддержании азотного равновесия в организме, которая зависит от аминокислотного состава белков и их структурных особенностей. Определение биологической ценности белков может производиться различными методами, в основе которых лежат либо установление скорости роста организма, либо определение степени задержки азота в организме, либо контроль азотистого баланса и способность к регенерации тканей.

Биологическую ценность белков независимо от принципа определения или метода расчета выражают не в абсолютных, а в относительных величинах (%), сравнивая с аналогичными показателями стандартных белков. В качестве стандартного принят белок цельного куриного яйца или белок коровьего молока (казеин).

Экспериментальное определение относительной биологической ценности белковых веществ может быть проведено не только на высших животных, но и на микроскопических инфузориях тетрахимена пириформис (*Tetrachymena pyryphormis*).

Определение относительной биологической ценности белковых продуктов проводят по методике, разработанной А.Д. Игнатьевым с сотрудниками.

Инфузория тетрахимена пириформис имеет двойной цикл пищеварения: *кислотный* и *щелочной*. Многие ее ферментативные системы адекватны ферментным системам высших животных, и для ее роста требуются все незаменимые аминокислоты. Общие черты жизнедеятельности высших животных и *Tetrachymena pyryphormis* обусловили ее широкое применение в качестве тест-объекта при изучении обмена веществ, роста и питания животных. Быстрый рост в благоприятных условиях и микроскопические размеры инфузории *Tetrachymena pyryphormis* позволяют получать за короткое время статистически достоверные данные, совпадающие с экспериментальными данными исследований, проводимых на высших животных.

Метод основан на учете числа инфузорий, размножившихся за определенное время в одинаковых условиях при добавлении в пищу стандартного белка (казеина) и испытуемой пробы, содержащей определенное количество азота. Результаты выражают в процентах от стандартного белка.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: растворы А, Б, В; раствор глюкозы, дрожжевой экстракт, культура инфузории, основной раствор Люголя, микробиологические пробирки, ватно-марлевые пробки, весы аналитические, штатив для пробирок, водяная баня, термостат (25 °С), счетная камера Горяева, ступки с пестиком, микроскоп МБИ.

Приготовление растворов:

– *раствор А*: 7 г $MgSO_4 \times 7H_2O$ растворить в 50 мл дистиллированной воды, 3,125 г $Fe(NH_4)_2 \times (SO_4)_2$ растворить в 50 мл воды, 31,3 мг $MnCl_2 \times 4H_2O$ растворить в 50 мл воды, 12,5 мг $ZnCl_2$ растворить в 100 мл воды. По 1 мл полученных растворов солей смешать в мерной колбе и довести объем смеси до 10 мл дистиллированной водой;

– *раствор Б*: 453 мг$CaCl_2$, 60 мг $CuCl_2 \times 2H_2O$, 15 мг $FeCl_3 \times 6H_2O$ растворить раздельно, затем слить вместе и довести объем дистиллированной водой до 200 мл;

– *раствор В*: 1,75 г KH_2PO_4 и 1,7 г K_2HPO_4 растворить в 100 мл воды;

– *дрожжевой экстракт*: 1 г дрожжей растворить в 100 мл воды непосредственно перед проведением анализа;

– *раствор глюкозы*: 15 г глюкозы растворить в 100 мл воды;

– по 1 мл растворов А, Б и В смешать и довести объем до 10 мл дистиллированной водой;

– *основной раствор*: смешать 10 мл растворов А, Б, В, раствора глюкозы и дрожжевого экстракта, установить pH 7,1 титрованием 0,1 н. раствора NaOH;

– *среда для культивирования тест-культуры* (г/100 мл): бактериологический пептон — 2, дрожжевой экстракт — 0,1, глюкоза — 0,5, хлорид натрия — 0,1; казеин, концентрированная культура *Tetrachymena pyryphormis* в 5 %-м растворе глюкозы (pH 7,1), трехсуточная культура *Tetrachymena pyryphormis.*

Испытуемые пробы белковых продуктов и стандартный казеин растереть в ступках до размеров частиц не более 200 нм.

В сухие и чистые пробирки поместить навески (в трех повторностях) испытуемых белковых продуктов и параллельно в другие пробирки — контрольные навески стандартного казеина из расчета 0,4 мг/г общего азота. В пробирки добавить 0,4 мл основного раствора и 0,5 мл дистиллированной воды.

Пробирки в штативе термостатировать при 85 °С в течение 15–20 мин для инактивации посторонней микрофлоры. После охлаждения пробирок до комнатной температуры произвести посев 0,02 мл трехдневной культуры *tetrachymena pyryphormis* и затем термостатировать при 25 °С в течение 4 сут, периодически встряхивая пробирки (через 3–6 ч).

По окончании термостатирования содержимое пробирок фиксировать раствором Люголя, взять пробу суспензии и произвести подсчет микроорганизмов в счетной камере Горяева.

Расчет.

Относительная биологическая ценность (ОБЦ) белковых продуктов, % (16):

$$ОБЦ = К_б \times 100 / К_к, \quad (16)$$

где $К_б$ — количество микроорганизмов, выросших в опытных пробирках с исследуемым белковым веществом; $К_к$ — количество микроорганизмов, выросших в контрольных пробирках с казеином.

Определение синильной кислоты в продуктах гидролиза нитрилглюкозидов семян льна и фруктовых косточек. Синильная кислота входит в состав циан, или нитрилглюкозидов, которые содержатся в семенах льна и плодовых фруктовых косточках. В семенах льна она является составной частью цианглюкозида-линамарина, в плодовых косточках — цианглюкозида-амигдалина.

Под действием ферментов гликозидаз в семенах льна и в плодовых косточках — линамарин и амигдалин — в присутствии воды гидролизуются, высвобождая синильную кислоту. Методика определения синильной кислоты в семенах и жмыхах льна и плодовых косточках основана на ферментативном гидролизе циан- или нитрилглюкозидов, содержащих в семенах или жмыхах и на титровании высвободившейся синильной кислоты азотнокислым серебром по методу Либиха.

Определение массовой доли свободной синильной кислоты. Метод основан на отгонке свободной синильной кислоты с водяным паром из материала, в котором предварительно инактивированы глюкозидазы и титрованием ее азотнокислым серебром по методу Либиха.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: 1,5 %-й раствор KOH, 10 %-я винная кислота, 0,1 н раствор $AgNO_3$; весы 4-го класса, колбы вместимостью 2 000, 750 и 1 000 мл, водяная баня, пароообразователь, холодильник Либиха.

Около 100 г материала, измельченного до прохода через одномиллиметровое сито, взвешивают с точностью до 0,1 г на технических весах и помещают в круглодонную или плоскодонную колбу вместимостью 2 л. Затем приливают 500 мл воды, нагретой до кипения для инактивации ферментов, и 50 мл 10 %-го водного раствора винной кислоты для подкисления содержимого колбы.

Колбу с содержимым ставят на нагретую водяную баню и быстро соединяют с пароообразователем и холодильником Либиха. К холодильнику Либиха присоединяют приемную колбу на 750–1 000 мл с 25–30 мл 1,5 %-го раствора KOH. Отгонку синильной кислоты паром производят при одновременном нагревании колбы с содержимым на кипящей водяной бане. Во время отгонки трубка, подводящая пар в колбу, и конец форштоса холодильника должны быть погружены в жидкость. После получения 400–500 мл дистиллята отгонку прекращают.

Количество синильной кислоты в дистилляте определяют титрованием его 0,1 н. раствором $AgNO_3$.

При прибавлении по каплям раствора $AgNO_3$ к щелочному раствору KCN, образовавшему при взаимодействии HCN с KOH, в месте падения капель образуется белый осадок AgCN, исчезающий при взбалтывании жидкости. AgCN растворяется в избытке щелочного раствора KCN с образованием серебряно-синеродистого калия по уравнению:

$$AgCN + KCN \rightarrow Ag(CN)_2K.$$

Таким образом один ион Ag взаимодействует с двумя ионами CN. Как только весь CN превратится в серебряно-синеродистый калий, следующая за этим капля $AgNO_3$ дает неисчезающий белый осадок:

$$Ag\,(CN)_2\,K + AgNO_3 \rightarrow KNO_3 + 2\,Ag\,CN.$$

После этого титрование заканчивается.

Массовую долю синильной кислоты в % (X) определяют по формуле (17):

$$X = (T \times V \times 0{,}318 \times 100) / P \qquad (17)$$

где T — титр раствора $AgNO_3$; V — количество миллилитров раствора $AgNO_3$, израсходованное на титрование дистиллята; 0,318 — коэффициент, выражающий отношение удвоенного молекулярного веса HCN к молекулярному весу $AgNO_3$; P – навеска материала в г.

Расхождения между параллельными определениями не должны превышать 0,002 %.

3.9. Определение минеральных веществ масличных семян

Минеральные вещества масличных семян представлены макроэлементами (кальций, магний, натрий, калий, фосфор, хлор), содержащимися в относительно больших концентрациях — более 1 мг в 100 г семян, и микроэлементами (фтор, йод, медь, цинк, бром, алюминий и др.) — менее 1 мг в 100 г семян.

К сожалению, в последние годы усиливается загрязнение семян тяжелыми металлами, поступающими преимущественно из почвы. *По степени опасности для живых организмов* тяжелые металлы подразделяют на классы: I класс опасности — ртуть, свинец, кадмий; II класс — медь, цинк, никель, кобальт, хром; III класс — марганец, ванадий, алюминий, барий.

Минеральные вещества, входящие непосредственно в структуру самих семян определяют физиологическую ценность или безвредность получаемых из них белковых продуктов. Содержание минеральных элементов оценивают, сжигая растительный материал в присутствии кислорода и получая золу.

Полученную золу семян называют **«сырой» золой**. Она представлена не только минеральными веществами, точнее, их окислами, входящими в состав исследуемых семян, но может содержать связанный в процессе сжигания диоксид углерода в виде солей, не сгоревшие частицы углерода, заплавленные минеральными солями при сжигании, а также попавшие в семена посторонние

примеси (пыль, песок и пр.). Кроме того, часть золы будет потеряна из-за образования при сжигании летучих окислов.

Таким образом, «сырая зола» — это остаток после сжигания в присутствии кислорода атмосферы семян или продуктов их переработки — массовая доля веществ, оставшихся после полного сгорания навески. Она состоит из нелетучих оксидов металлов и термостойких минеральных соединений, которые входили в состав исследуемого материала или присутствовали в нем в виде сорных смесей. Для характеристики чистоты продуктов, получаемых из семян «сырую» (или общую) золу подразделяют на *золу растворимую* и *золу не растворимую* в соляной кислоте. Зола, растворимая в соляной кислоте, или *чистая зола*, — это массовая доля «сырой» золы (%), растворимая в 10 %-м растворе соляной кислоты. Она состоит из оксидов металлов, хлориды которых растворимы в воде. Количество чистой золы находят по разности между содержанием «сырой» золы и золы, нерастворимой в 10 %-м растворе соляной кислоты. Определение содержания золы ведут в соответствии с ГОСТ 13979.6.

Определение массовой доли золы в семенах методом сжигания. Метод определения массовой доли золы основан на сжигании исследуемого вещества *(озолении)* во взвешенном тигле при свободном доступе кислорода воздуха и последующем доведении тигля с золой до постоянной массы путем повторного прокаливания в муфельной печи.

Определение массовой доли «сырой» золы. Метод основан на определении массовой доли (%) остатка, оставшегося в результате сжигания навески семян в присутствии кислорода воздуха.

Для выполнения анализа потребуются следующие реактивы и оборудование: соляная кислота (ч.), $AgNO_3$; муфельная печь, эксикаторы, тигли фарфоровые № 3, щипцы тигельные, весы лабораторные 2-го класса с разновесами, лабораторная мельница, стаканы химические вместимостью 250 мл.

Навеску измельченных семян массой около 2–5 г помещают в предварительно прокаленный в муфельной печи, охлажденный и взвешенный тигель и взвешивают на весах 2-го класса с записью результатов до четвертого десятичного знака. Если предполагается определить только количество «сырой» золы, то берут около 2 г, при определении чистой золы и золы, не растворимой в соляной кислоте, — около 5 г.

Сначала навеску в тигле осторожно обугливают на электроплитке, не допуская возгорания материала. Затем тигель переносят в муфельную печь и прокаливают при температуре 600–700 °С в течение 2 ч до полного озоления.

Тигель с сожженным образцом извлекают из муфельной печи, ставят на огнеупорную чистую керамическую подставку. После охлаждения примерно до 100 °С переносят эксикатор и по достижении комнатной температуры взвешивают с точностью до 0,0001 г.

Затем тигель с образцом повторно помещают на 1 ч в муфельную печь и поводят до постоянной массы по общей методике.

Запись в лабораторном журнале:

– масса тигля с золой после прокаливания m_1, г;

– масса тигля с измельченными семенами m_3, г;

– масса прокаленного пустого тигля m_2, г;

– навеска семян $P = (m_3 - m_2)$, г.

Доведение навески до постоянной массы.

№ п/п	Дата	Время высушивания	Масса, г
1	2	3	4

Расчет.

1. Массовая доля сырой золы (%) при фактической влажности:

$$З_л = 100\ (m_1 - m_2) / P,$$

где m_1 — масса тигля с золой после прокаливания, г; $P = (m_3 - m_2)$ — навеска семян, г.

2. Массовая доля сырой золы (%) в пересчете на абсолютно сухое вещество:

$$З'_л = (З_л \times 100) / (100 - W),$$

где W — влажность подсушенных семян, %.

3.10. Понятие о безазотистых экстрактивных веществах

В технохимическом контроле технологии получения растительных масел при оценке химического состава масличных семян применяется понятие «безазотистые экстрактивные вещества семян».

Химический состав масличных семян формируется в созревающих на растении продуктов фотосинтеза и минеральных веществ, поступающих в семена путем корневого питания. Основными компонентами химического состава

семян являются липиды, белки, полисахариды и минеральные элементы, определяемые в составе золы.

В то же время было установлено, что сумма относительных долей основных химических компонентов семян — липидов, белков, полисахаридов и минеральных элементов — оказывается меньше 100 %. Недостающее до 100 % количество сухого вещества семян составляют так называемые *безазотистые экстрактивные вещества*, не определяемые ни одним из методов технохимического исследования семян и не входящие в их основные химические компоненты.

При технохимическом анализе безазотистые экстрактивные вещества в семенах определяют без дополнительных анализов, по разности между 100 % и суммой входящих в семена суммарных липидов (сырого жира), общего белка (сырого протеина), сырой (общей) золы и сырой целлюлозы (клетчатки).

В составе безазотистых экстрактивных веществ органические кислоты, водорастворимые углеводы, водорастворимые красящие вещества и некоторые другие.

Для расчета массовой доли в семенах безазотистых экстрактивных веществ берут данные, полученные при определении основных химических компонентов семян.

Расчет.

1. Содержание безазотистых экстрактивных веществ (%) при фактической влажности семян:

$$ЭВ = 100 – (W + М + З_л + П + К),$$

где W — влажность семян, %; М — масличность семян при фактической влажности, %; $З_л$ — зольность семян при фактической влажности, %; П — содержание сырого протеина при фактической влажности, %; К — содержание сырой клетчатки при фактической влажности в пересчете на жирное вещество, %.

2. Содержание экстрактивных веществ (%) в пересчете на абсолютно сухое вещество:

$$ЭВ' = 100 – (М' + З'_л + П' + К'),$$

где М' — масличность в пересчете на абсолютно сухое вещество, %; $З'_л$ — зольность семян в пересчете на абсолютно сухое вещество, %; П' — содержание сырого протеина в пересчете на абсолютно сухое вещество, %; К' — содержание сырой клетчатки в пересчете на абсолютно сухое жирное вещество, %.

3.11. Определение радионуклидов в семенах и продуктах их переработки

В результате испытаний ядерного оружия, длительное время проводившихся в прошлом веке, в окружающую среду поступило огромное количество долгоживущих радионуклидов. В настоящее время постоянным источником выброса радионуклидов в окружающую среду являются предприятия ядерно-топливного цикла, заводы по изготовлению тепловыделяющих элементов (твелов) для атомных электростанций, радиохимические предприятия. Значительные количества радионуклидов дают предприятия по добыче и переработке уранового сырья, по обработке и захоронению радиоактивных отходов. При неизбежных в реальных условиях аварийных и других чрезвычайных обстоятельствах на ядерноопасных предприятиях возможны выбросы в окружающую среду больших количеств долгоживущих радионуклидов. Источником радионуклидов являются также горнодобывающая промышленность, извлекающая в больших количествах на поверхность земли естественные радионуклиды, содержащиеся в глубинных горных породах.

Радионуклиды, как естественные, так и искусственные из окружающей среды, главным образом почвы и воды, включаясь в биологические циклы растений, попадают в организм человека.

Попадание радионуклидов в организм человека может привести к развитию лейкозов, рака внутренних органов и кожи и образованию других злокачественных опухолей.

В связи с этим оценка уровня загрязнения радионуклидами исходного масличного сырья, в первую очередь семян масличных растений, приобретает решающее значение при оценке безвредности пищевых продуктов, кормовых средств и технических (непищевых) продуктов, производимых масложировой промышленностью.

Оценка содержания радионуклидов в готовой продукции возложена на испытательные лаборатории системы сертификации Госстандарта России.

Партии масличных семян с содержанием радиоактивных загрязнений, соответствующих удельной активности радионуклидов свыше 2×10^{-7} Ки/кг, считаются загрязненными и подлежат отдельной переработке.

Следует отметить, что у загрязненного радионуклидами масличного сырья наиболее загрязнены радионуклидами покровные ткани масличных семян — плодовые и семенные оболочки. Поэтому технологическая переработка семян, предусматривающая отделение плодовых и семенных оболочек, приводит к значитель-

ному снижению содержания радионуклидов в готовых продуктах — масле и жмыхе или шроте. Повышенное содержание радионуклидов в покровных тканях семян обусловлено не только их загрязнением радионуклидами из атмосферы, но и избирательным поглощением покровными тканями радионуклидов, поступающих в созревающие семена из почвы. Во всех случаях в продуктах переработки масличных семян, загрязненных радионуклидами, наибольшую радиоактивность проявляют покровные ткани семян, и чем тщательнее проведено отделение лузги или оболочек от ядра семян, тем ниже загрязненность радионуклидами готовой продукции.

Несмотря на относительное снижение радиоактивности масличного сырья в процессе технологической переработки, это не гарантирует полной безвредности для человека получаемой продукции. Канцерогенные и генетические изменения в организме человека и животных наблюдаются при любой дозе облучения, поэтому любая доза, как бы она ни была мала, является канцерогенной и генетически опасной.

Поэтому, несмотря на то, что в шроте и жмыхе наиболее распространенных радионуклидов (радиоактивного цезия-137, радиоактивного стронция-90 и радиоактивного йода-131) содержится в 1,5–3 раза меньше, чем в исходных масличных семенах, радиационный контроль готовой продукции строго обязателен. Он предусмотрен Законом РФ «О защите прав потребителей» для всех видов продукции, выпускаемой масложировой промышленностью, даже полученной из не загрязненного радионуклидами исходного сырья и материалов.

Растительные масла считаются загрязненными радионуклидами при удельной активности, равной 2×10^{-7} Ки/кг и выше.

Наиболее эффективен контроль за содержанием радионуклидов в материалах, сырье и пищевых продуктах по их α-излучению, которое представляет основную опасность для живого организма. Оно обладает высокой проникающей способностью — в воздухе около 100 м, а в биологической ткани 10–15 см, что существенно выше, чем проникающая способность излучений других типов.

При оценке мощности дозы α-излучения дозиметрические приборы имеют относительно простое устройство, используя в качестве детектора счетчик Гейгера (один или два) или сцинтиллятор, светящийся под действием ионизирующего излучения.

Существует ряд дозиметров, позволяющих определить содержание радионуклидов в твердых и сыпучих материалах без сложной предварительной подготовки пробы. Одним из таких дозиметров является автоматизированная α-спектрометрическая установка, состоящая из сцинтилляционного детектора

с кристаллом NaI большого объема с колодцем для помещения пробы, многоканального амплитудного анализатора импульсов типа NTA-1024 и микро-ЭВМ, которая используется для экспресс-обработки результатов измерений с помощью специальной программы. Результаты выводятся на дисплей ЭВМ в виде значений удельных активностей каждого из измеряемых в пробе радионуклидов.

Время одного измерения — от 100 до 1 000 с.

Оценить радиоактивное загрязнение семян и продуктов их переработки, готовых пищевых и кормовых продуктов можно также с помощью более простых по устройству дозиметров, например, типа РКСБ-104, Белла или аналогичных им [9].

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Охарактеризуйте основные термины и определения: качество пищевой продукции, свойства, пищевая ценность и ее составляющие, пищевые продукты.

2. Как классифицируют свойства пищевой продукции по методам определения и по функциональному назначению?

3. Охарактеризуйте основы органолептического анализа.

4. Методы потребительской оценки: предпочтения и приемлемости (органолептический).

5. Различительные методы сенсорной оценки: группа методов качественного анализа.

6. Различительные методы сенсорной оценки: группа методов количественного анализа.

7. Терминология, используемая в органолептическом методе анализа.

8. Методы определения показателей качества сырья и продуктов питания: классификация.

9. Спектральные методы исследования, их разновидности.

10. Инфракрасная спектроскопия (ИК) как один из современных спектральных методов анализа.

11. Молекулярно-люминесцентная спектрометрия.

12. Атомная спектроскопия.

13. Спектроскопия магнитного резонанса. Масс-спектроскопия.

14. Рефрактометрический и поляриметрический оптические методы в практике анализа пищевых продуктов.

15. Хроматографические методы при исследовании состава и свойств пищевых продуктов.

16. Реологические методы исследования.

17. Белковые вещества как объекты исследования.

18. Качественные методики анализа белков.

19. Количественные методы анализа белков.

20. Методы анализа биологической ценности белков и аминокислот.

21. Модифицированный метод определения относительной биологической ценности.

22. Липиды как объекты анализа.

23. Методы определения содержания жира в сырье и готовой продукции.

24. Качественное определение масел.

25. Классификация углеводов и основных представителей.

26. Определение моно- и олигосахаридов (перманганатный метод Бертрана, цианидный метод, рефрактометрический метод, метод Мак-Рери и Слаттери).

27. Определение крахмала, целлюлозы и пищевых волокон.

28. Витамины как объекты анализа (в каких случаях и для каких продуктов определяются).

29. Основные методики определения витаминов С, каротиноидов и витаминов группы В.

30. Физико-химические методы анализа минеральных веществ: оптические и электрохимические. Наиболее часто применяемые методы исследования минеральных веществ.

31. Методы отбора и составления проб.

32. Получение среднего объема пробы для исследования.

33. Методы определения массовой доли воды в сырье.

34. Методы определения влажности, основанные на высушивании.

35. Методы определения влажности, основанные на измерении электрических и спектральных характеристик исследуемых материалов.

36. Методы определение массовой доли липидов: основные понятия и классификация.

37. Определение массовой доли липидов (масличности) экстракционными методами (исчерпывающей экстракции (по Сокслету).

38. Определение масличности по методу С.В. Рушковского.

39. Современные модификации определения масличности по методу Сокслета.

40. Определение масличности сырья рефрактометрическими методами.

41. Методы одновременного определения нескольких химических характеристик.

42. Одновременное определение массовой доли воды и липидов в семенах с помощью ЯМР-анализатора.

43. Определение массовой доли общего белка (сырого протеина) методом Кьельдаля.

44. Определение массовой доли белка по биуретовой реакции.

45. Определение группового состава (фракционирование по методу Осборна) белков по растворимости.

46. Получение изолированных белков (изолятов) из обезжиренных семян.

47. Определение функциональных свойств белков масличных семян.

48. Определение биологической ценности белков.

49. Определение минеральных веществ масличных семян. Определение массовой доли золы в семенах методом сжигания.

50. Определение массовой доли «сырой» золы.

51. Понятие о безазотистых экстрактивных веществах.

52. Определение радионуклидов в семенах и продуктах их переработки.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Аромат — пряный гармоничный запах, типичный для данного пищевого продукта.

Безопасность — это отсутствие недопустимого риска, связанного с возможностью нанесения ущерба здоровью (жизни) человека. На безопасность продуктов питания влияет наличие в пище вредных химических веществ (солей тяжелых металлов, пестицидов, нитратов, канцерогенных веществ), болезнетворных (патогенных) микробов и токсинов. К пестицидам относятся такие вещества, как ДДТ, хлорофос, дихлорофос и другие химические средства защиты растений от вредителей. В стандартах на продукцию предусмотрен контроль за остаточным количеством пестицидов и содержанием нитратов, а также токсичных микроэлементов.

Биологическая ценность продукта — сбалансированность содержания незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, витаминов, минеральных и балластных веществ.

Букет — запах, формирующийся в результате объединения типичного аромата для данного продукта и гармонически сочетающихся нюансов, приобретенных в результате дополнительной обработки продукта.

Горький вкус — ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор хинина или другого алкалоида.

Дегустатор — испытатель, отобранный по специальной методике для проведения органолептической оценки пищевых продуктов и ароматизирующих веществ и систематически тренируемый на специальных образцах и тестах.

Дегустация — органолептическая оценка внешнего вида продукта, цвета, вкуса, запаха с целью выдачи заключения о его качестве.

Доброкачественность продовольственных товаров сочетает в себе органолептическую ценность (цвет, вкус, аромат, консистенция и др.) и безопасность.

Испытатель — лицо, привлекаемое для органолептических испытаний качества продукта после проверки его органов чувств на патологию.

Испытуемый — лицо, принимающее участие в испытаниях, целью которых является изучение реакций человека на продукт, а не оценка качества продукта.

Качество пищевой продукции — совокупность характеристик, которые обуславливают потребительские свойства пищевой продукции и обеспечивают ее безопасность для человека.

Кислый вкус — ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор уксусной кислоты.

Консистенция — характеристика текстуры, выражающая совокупность реологических свойств пищевого продукта.

Надежность — способность изделия выполнять требуемые функции в заданных условиях в течение заданного периода времени.

Органолептика — область науки, изучающая свойства пищевых продуктов и их ингредиентов, вызывающих сенсорную реакцию человека, и стадии технологических процессов, формирующие эти свойства.

Органолептическая ценность — это комплексное сочетание свойств продукта: внешний вид (форма, цвет и окраска, состояние поверхности), консистенция, вкус и запах. Причем, последние три имеют первостепенное значение при потреблении продукта.

Пищевая продукция — продовольственное сырье, пищевые продукты и их ингредиенты, этиловый спирт и алкогольная продукция.

Пищевая ценность продовольственных товаров — это комплексное свойство. Ее составные элементы — энергетическая, биологическая, физиологическая и органолептическая ценность, а также усвояемость и доброкачественность продуктов питания.

Пищевые продукты — продукты, используемые человеком в пищу в натуральном или переработанном виде.

Показатель качества продукции — это количественная характеристика одного или нескольких свойств продукции. Показатели качества бывают единичные (размер) или комплексные (внешний вид), определяющие (например, внешний вид, размер, вкус, запах для различных видов плодов и овощей) и специфические (степень зрелости, длина кочерыжки для капустных овощей, позеленение картофеля).

Порог обнаружения — минимальная величина стимула, вызывающая ощущение.

Порог распознавания — минимальная величина стимула, позволяющая качественно описать (идентифицировать) характер ощущения.

Порок запаха — нетипичный запах пищевого продукта, отсутствующий в продукте хорошего качества.

Потребитель — любое лицо, привлекаемое для оценки потребительских свойств пищевого продукта.

Продовольственное сырье — объекты растительного, животного, микробиологического, а также минерального происхождения, используемые для производства пищевых продуктов. Предприятие должно нести полную ответственность за качество продукции и ее конкурентоспособность на рынке.

Свойство продукции — это объективная особенность продукции, проявляющаяся при ее изготовлении, хранении, транспортировании и потреблении. К основным свойствам продовольственных товаров относятся пищевая ценность, сохраняемость и кулинарно-технологические свойства.

Сладкий вкус — ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор сахарозы.

Соленый вкус — ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор хлорида натрия.

Сохраняемость — одно из свойств качества продукции, относящееся к группе надежности.

Стимул — вещество или электрофизическое воздействие, вызывающее ощущение при взаимодействии с хеморецептором.

Усвояемость — степень использования составных компонентов продовольственных товаров организмом человека. При смешанном питании усвояемость белков составляет 84,5 %, жиров — 94 %, углеводов — 95,6 %. Практическую калорийность рассчитывают путем умножения калорийности белков, жиров, углеводов на процент усвояемости.

Физиологическая ценность обусловлена веществами, оказывающими активное воздействие на организм человека. Выделяют три группы физиологически активных веществ, действующих на нервную систему, желудочно-кишечный тракт, иммунную систему человека. Например, кофеин чая и кофе возбуждающе действует на сердечную и нервную деятельность человека. Тартроновая кислота огурцов, кабачков, капусты способствует выведению из организма холестерина.

Эксперт — дегустатор, которому по опыту работы с данным видом продуктов дано право проводить органолептическую оценку этих продуктов индивидуально или в составе комиссии.

Энергетическая ценность — количество калорий, которые может дать организму продукт в зависимости от содержания в нем белков, жиров, углеводов. Основная потребность организма человека в энергии покрывается за счет жиров, углеводов и белков, содержащихся в пище. Небольшую часть энергии человек получает за счет органических кислот, спирта и др. Энергетическая ценность 1 г белка составляет 4,0 ккал, 1 г жира — 9,0 ккал, 1 г углеводов — 3,75 ккал. Для расчета теоретической энергетической ценности продовольственных товаров необходимо знать химический состав этих товаров, т.е. процентное содержание в них белков, жиров и углеводов, и массу товара. Рассчитанная таким образом калорийность называется теоретической, так как она не учитывает процента усвояемости основных веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа. В 2 т. Т. 1 : учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования / Ю.М. Глубоков, В.А. Головачёва, В.И. Дворкин [и др.] ; под редакцией А.А. Ищенко. — 2-е изд., испр. — Москва : Академия, 2012.

2. *Влащик, Л.Г.* Технохимический контроль пищевых производств : учебное пособие / Л.Г. Влащик. — Краснодар : КубГАУ, 2018.

3. *Кузьмина, С.С.* Методы исследования сырья и готовой продукции / С.С. Кузьмина, А.С. Захарова. — Барнаул : Алт ГТУ, 2008.

4. *Новиков, А.М.* Методология научного исследования / А.М. Новиков, Д.А. Новиков. — Москва : Либроком, 2010.

5. *Отто, М.* Современные методы аналитической химии / М. Отто. — Москва : Техносфера, 2008.

6. *Подлегаева, Т.В.* Методы исследования свойств сырья и продуктов питания : учебное пособие / Т.В. Подлегаева, А.Ю. Просеков. — Кемерово : Изд-во Кемеровского технологического института пищевой промышленности, 2004.

7. *Роева, Н.Н.* Методы исследования свойств сырья и продуктов питания : учебное пособие / Н.Н. Роева, Г.Р. Касьяненко, В.К. Кирничная. — Москва : МГУТУ, 2004.

8. *Сидоров, Ю.Д.* Технохимический контроль пищевых производств : лабораторный практикум / Ю.Д. Сидоров, Д.З. Давлетбаева, М.А. Поливанов. — Казань : Изд-во Казан. гос. технол. ун-та, 2008.

9. *Щербаков, В.Г.* Лабораторный практикум по биохимии и товароведению масличного сырья : учебное пособие для вузов / В.Г. Щербаков, В.Г. Лобанов. — Москва : КолосС, 2007.

10. *Щербакова, Е.В.* Химия вкуса, цвета и аромата : учебное пособие / Е.В. Щербакова, Е.А. Ольховатов. — Саратов : Вузовское образование, 2019.