

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Майкопский государственный технологический
университет»

Кафедра «Стандартизации, метрологии и товарной экспертизы»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по выполнению лабораторных работ для бакалавров по направлению
подготовки 38.03.07. Товароведение
по дисциплине «Современные методы исследования»

Майкоп 2019

УДК 620.2(07)

ББК 30.609

М 54

Печатается по решению научно-технического совета МГТУ

Составитель: Сиюхова Н.Т.. – кандидат с-х. наук, доцент

Методические указания по дисциплине «Современные методы исследования» - 2019. 48 с.

Методические указания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Современные методы исследования» для бакалавров по направлению подготовки 38.03.07. Товароведение

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Количественное определение белков	5
Лабораторная работа №1. Биуретовый микро-метод определения белка (по К.Е. Мерку)	5
Лабораторная работа №2. Фотоколориметрический метод определения белка (по Лоури)	7
Лабораторная работа №3. Нефелометрический метод определения содержания белка (по Дженнингсу)	8
Количественное и качественное определение сахаров	11
Лабораторная работа № 4. Определение содержания сахара в готовых хлебобулочных изделиях. Метод Шорля	11
Лабораторная работа № 5. Колориметрический метод определения сахаров	13
Лабораторная работа № 6. Анализ водной вытяжки на содержание различных сахаров. Определение фруктозы и других кетоз	15
Лабораторная работа № 7. Микро-метод определения сахаров	16
Лабораторная работа №8. Фотоколориметрический метод определения редуцирующих сахаров	17
Определение крахмала	20
Лабораторная работа № 9. Содержание пшеничного крахмала по Эверсу	20
Лабораторная работа № 10. Определение крахмала объемным методом по Починку.	22
Определение количества и качества липидов	24
Лабораторная работа №11. Определение общего содержания липидов	24
Лабораторная работа № 12. Определение содержания жира весовыми методами	27
Лабораторная работа №13. Оценка качества жиров	30
Определение ферментов	34
Лабораторная работа № 14. Определение активности каталаз	34
Лабораторная работа № 15. Определения активности амилаз	36
Количественное определение витаминов	39
Лабораторная работа № 16. Количественное определение витаминов.	39
Определение кислотности (щелочности)	43
Лабораторная работа № 17. Определение титруемой кислотности (щелочности)	43
ЛИТЕРАТУРА	48

ВВЕДЕНИЕ

Методические указания к лабораторным работам по исследованию качества однородных групп пищевых продуктов и сельскохозяйственного сырья предназначена для магистров по направлению подготовки 38.03.07. Товароведение, очной и заочной формы обучения и разработаны в соответствии с учебной программой.

Настоящие методические указания включают лабораторно-практические работы, изучающие основные методы анализа физико-химических показателей пищевых продуктов и сельскохозяйственного сырья. Методические указания предназначены для закрепления теоретического материала и приобретения навыков самостоятельной работы в проведении физико-химических анализов.

Выполнение данных лабораторных работ ориентировано на студентов, имеющих определенные навыки и знания по аналитической и физколлоидной химии. Лабораторные работы следует выполнять при условии соблюдения правил техники безопасности. Перед выполнением следует изучить теоретический материал, лежащих в основе химических и физических методов анализа, а также материал по изучаемой теме.

Работа с настоящими методическими указаниями требует от студента достаточный запас знаний по смежным дисциплинам и определенные навыки в самоподготовке.

Работая с натуральными образцами и действующей нормативной документацией, студенты имеют возможность познакомиться с химическим составом и овладеть основными методами физико-химического анализа, используемые при оценке качества.

После выполнения работы необходимо сделать аргументированный вывод о качестве анализируемого пищевого продукта или сырья и ответить на вопросы.

Студент должен четко написать название работы, ее цель, объекты и результаты исследования. Если предусмотрено оформление работ в виде таблиц, то необходимо все результаты занести в таблицу.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ

БЕЛКИ - высокомолекулярные органические полимеры, главный строительный материал живой клетки. Выделение белков из биологического материала заключается в экстрагировании их тем или иным растворителем после измельчения материала. В качестве растворителя применяются вода, солевые растворы, водно-спиртовые растворы, слабые кислоты и щелочи.

АЛЬБУМИНЫ - растворяются в воде, из водных растворов хорошо высаливаются при насыщении их солями (например, сульфатом аммония).

ГЛОБУЛИНЫ - нерастворимы в чистой воде, но растворяются в водных растворах солей. Обычно используют теплый 10 % раствор хлорида натрия. При разбавлении его большим количеством воды чистый глобулин выпадает в осадок.

ПРОЛАМИНЫ - глиадин ржи и пшеницы, зеин кукурузы, авенин овса получают экстрагируя сырье 70 % этанолом. Затем этанол отгоняют в вакууме, получая густую клейкую массу. Ее снова растворяют в спирте и выливают раствор в большой объем ацетона. Тонкий чистый осадок белка отфильтровывают и сушат. Глютелины получают экстракцией водным раствором щелочи (примерно 0,2 %), высаливают подкислением, отфильтровывают и сушат.

Лабораторная работа № 1

Биуретовый микрометод определения белка (по К.Е. Мерку)

Цель работы: Изучить и освоить биуретовый метод определения белка в различных пищевых продуктах.

Задание: Определить количество белка в муке.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр.

Реактивы:

1) биуретовый реактив (готовят 1 л 0,2 н раствора NaOH, свободный от карбоната; к 400 мл этого раствора в мерной колбе на 1 л добавляют 9 г калия-натрия виннокислого; после растворения добавляют 3г CuSO_4 , перемешивают, затем добавляют 5 г йодида калия и доводят раствор до метки 0,2н NaOH;

2) раствор мочевины (к 300 г мочевины прибавляют кусочек тимола, величиной с горошину, приливают 700 мл воды и смесь нагревают, затем прибавляют 3 г активированного угля, тщательно перемешивают,

фильтруют в колбу на 1 л и доводят до метки дистиллированной водой);

3) стандартный раствор белка. Яичный белок переносят в мерную колбу на 250 мл, доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают. Фильтруют через марлю хранят холодильнике, 1мл раствора содержит 10 мг яичного альбумина.

Ход анализа

1. Качественное определение белков обычно проводится с помощью цветных реакций. Универсальной (на все белки) является биуретовая реакция. В щелочной среде раствор белка при взаимодействии с ионами меди приобретает сине-фиолетовый цвет. Биуретовая реакция обусловлена образованием биуретового комплекса в результате соединения меди с пептидной группировкой белка, продукты неполного гидролиза белка при этом дают розовую окраску. Степень окраски биуретового комплекса зависит от концентрации белка и количества медной соли в растворе. Большого избытка биуретового реактива при количественных определениях белка следует избегать, т.к. синяя окраска ионов меди мешает определению.

Биуретовый микро-метод определения белка (по К.Е. Мерку) позволяет определить белок в растворах концентрацией от 0,04 до 1,6мг/мл.

1. Построение калибровочного графика.

1.1. Приготовление рабочих растворов белка. В пробирки на 10мл помещают 1,5; 2,05,0 мл стандартного раствора белка и доводят объем до 10мл. Перемешивают. Рабочие растворы содержат от 15 до 50мг белка.

1.2. Приготовление окрашенных растворов. В пробирки отмеряют по 2,4мл раствора мочевины, 0,1мл рабочего раствора белка и 2,6мл биуретового реактива. Пробирки помещают в термостат при 40 °С на 10 минут. Вынимают пробирки из термостата и через 30 минут после прибавления биуретового реактива измеряют оптическую плотность растворов на фотоэлектроколориметре при длине волны 545нм и толщине светопоглощающего слоя 10 мм.

1.3. По полученным данным строят калибровочный график (зависимость оптической плотности от содержания белка, D - мг).

2. Анализ образца.

Мука злаков содержит в основном белки, растворимые в этаноле (глиадин) и слабых растворах щелочей (глутенины). Поэтому экстракцию белка ведут спиртовым раствором щелочи. Навеску муки массой 3 г, взвешенную с точностью до 0,01 г помещают в фарфоровую ступку, прибавляют 2 г битого стекла или кварцевого песка и приливают 3 мл спиртового раствора щелочи (0,2% раствор *NaOH* в 50% этаноле) и тщательно растирают пестиком в течение 3 минут. Затем добавляют еще 12мл растворителя и снова растирают 2 минуты. Полученную смесь количественно переносят в колбочку на 25 мл и доводят до метки растворителем, колбочку закрывают пробкой, тщательно перемешивают и оставляют на 1 час. После настаивания фильтруют в сухую коническую

колбу. В фильтрате определяют белок биуретовой реакции, как и при построении калибровочного графика.

3. Расчет белка. Расчет белка ведут по формуле (1):

$$x = \frac{a \cdot V_1 \cdot 100}{m_{нав} \cdot V_2 \cdot 1000}, \quad (1)$$

где: a - количество белка в мг, по графику;

$m_{нав}$ - масса навески, г;

V_1 - объем исходной вытяжки, мл;

V_2 - объем фильтрата, взятого для анализа, мл.

Лабораторная работа №2

Фотоколориметрический метод определения белка (по Лоури).

Цель работы: Изучить и освоить метод определения белка по Лоури в различных пищевых продуктах.

Задание: Определить количество белка в сырье животного происхождения (мясе).

Материалы для работы: образцы мяса, химические реактивы, химическая посуда, фотоколориметр.

Реактивы:

1. Реактив Фолина. 100г вольфрамата натрия (Na_2WO_4) и 25г молибдата натрия (Na_2MoO_4) растворяют в 700мл воды, добавляют 50 мл 85% (фосфорной кислоты и 100мл соляной кислоты (плотностью 1,19г/мл). Кипятят (не слишком сильно) 10ч в колбе с обратным холодильником в вытяжном шкафу. Охлаждают, добавляют 150г сульфата лития, 50мл воды и 5 капель бромной воды. Смесь кипятят в течение 15 минут в вытяжном шкафу для удаления избытка брома, после охлаждения доводят водой до 1л. Фильтруют, хранят в темной склянке с притертой пробкой. Раствор должен быть ярко-желтого цвета. Перед употреблением разбавляют в два раза.

2. 2% раствор Na_2CO_3 в 0,1н NaOH (раствор 1) раствор 0,5% медного купороса в 1% растворе двузамещенного виннокислого калия или натрия (раствор 2). Опытный раствор готовят, смешивая растворы (1) и (2) в соотношении 50 : 1 в день анализа.

Ход анализа

Метод основан на реакции белков с реактивом Фолина, дающим синее окрашивание. Метод применяют для определения белка в растворах с концентрацией от 10 до 100 мкг

Сырье животного происхождения содержит в основном

водорастворимые белки (альбумины), белки, растворимые в солевых растворах (глобулины). Эти белки легко фракционируются.

1. Приготовление стандартного раствора. 100мг чистого белка (сывoroточного γ -глобулина или кристаллического альбумина) растворяют в 100мл 0,1н NaOH. 1 мл раствора содержит 1мг белка.

2. Приготовление окрашенных растворов. В шесть мерных колб на 25мл наливают 3, 6, 9, 12, 15, 18 мл стандартного раствора белка, доводят водой до метки, перемешивают. В пробирку помещают 0,4мл рабочего раствора и 2 мл опытного раствора реактивов. Перемешивают и через 10 мин приливают 0,2мл рабочего раствора Фолина. Через 30 минут измеряют оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре при длине волны 750нм.

3. Вычерчивают график зависимости оптической плотности от содержания белка. Расчет белка производится по формуле (1).

Лабораторная работа № 3

Фотоколориметрический метод определения содержания белка (по Дженнингсу)

Цель работы: Изучить и освоить методы определения белка по Дженнингсу в различных пищевых продуктах.

Задание 1: Определить количество белка в муке фотоколориметрическим методом.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр, механический встряхиватель, центрифуга.

Ход анализа.

Различные модификации биуретового метода определения содержания белков отличаются условиями экстрагирования белка, способом внесения биуретового реактива и техникой колориметрирования.

Настоящий метод отличается простотой и высокой точностью.

Навеску муки около 1,5г с точностью до 0,001г, помещают в сухую коническую колбу на 250мл. Образец полностью смачивается 2мл четыреххлористого углерода для извлечения жира. Затем пипеткой добавляют 100мл биуретового реактива. Закрытая пробкой колба встряхивается на механическом встряхивателе в течение 60 мин. Затем вытяжка центрифугируется 10 мин при частоте 4500 об/мин, прозрачный центрифугат колориметрируют при длине волны 550 нм в кювете с толщиной поглощаемого слоя 5мм.

Приготовление биуретового реактива: 15мл 0,1н раствора КОН и 25г сегнетовой соли, взвешенной с точностью до 0,01г, растворяют примерно в 900 мл дистиллированной воды. 30 мл 4% раствора CuSO_4 , отмеренных цилиндром, медленно добавляют при постоянном помешивании и доводят объем до 1 л.

Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика подбирают образцы муки с различным содержанием белка в диапазоне, встречающемся в реальных условиях (от 8 до 20%). Интервал содержания белков в образцах должен составлять не менее 10. С увеличением количества белка, точность определения возрастает. Образцы обрабатывают также, как и исследуемый; определяют оптическую плотность центрифугата и получают зависимость оптической плотности содержания белка.

По оптической плотности белковой вытяжки исследуемого образца при помощи калибровочного графика определяют содержание в ней белка.

Результат выражают в процентах на сухое вещество.

Задание 2: Определить содержание белка в муке нефелометрическим методом.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр, механический встряхиватель, центрифуга.

Ход анализа.

Метод основан на определении интенсивности светового потока, рассеянного твердыми и коллоидными частицами находящимися в растворе во взвешенном состоянии. По интенсивности светорассеяния, определяемой нефелометром, судят о концентрации вещества.

Растворы белков способны опалесцировать в присутствии некоторых реагентов, например, в присутствии сульфосалициловой кислоты. Продукты гидролиза белков при этом не опалесцируют.

Метод отличается быстротой, высокой точностью и хорошей корреляцией с методом Къельдаля.

Около 0,5г исследуемой муки, взвешенной с точностью до 0,001 г, помещают в коническую колбу на 250мл, снабженную пробкой. В колбу добавляют 50 мл 0,05н раствора NaOH. Закрытую пробкой колбу встряхивают 15 минут. Затем вытяжку центрифугируют 10 мин при частоте вращения 6000 об/мин. 5 мл прозрачного центрифугата переносят в мерную колбу на 50 мл и содержимое колбы доводят до метки сульфосалициловой кислотой.

При нефелометрическом анализе правильность результатов в значительной мере зависит от методики получения суспензии, в частности, от порядка и скорости смешивания реактивов. Поэтому после добавления сульфосалициловой кислоты колбу быстро переворачивают 2-3 раза (не

более), раствор наливают в кювету ($l = 5\text{мм}$) и измеряют оптическую плотность при длине волны 550нм . Замеры следует проводить сразу после добавления реактива, т.к. частицы белка быстро агрегируют.

Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика может быть использован раствор яичного альбумина известной концентрации или образцы муки с различным содержанием белка в диапазоне, встречающемся в реальных условиях (от 8 до 20). Интервал в содержании белков должен находиться в пределах не более 1%, а количество образцов муки не менее 1%. Каждую навеску муки (или переменное количество раствора белка) обрабатывают аналогично исследуемому образцу и получают зависимость оптической плотности от содержания белка. Зависимость должна быть линейной.

По калибровочному графику находят содержание белка в исследуемом образце.

Контрольные вопросы по теме «Количественное определение белков»

1. Состав и структура белковых веществ.
2. Классификация белков по растворимости. Белки муки, их экстракция.
3. Цветные реакции на белки.
4. Сущность биуретового метода. Количественное определение белка. Назначение мочевины, тимола, биуретового реактива.
5. Закон Бугера-Ламберта-Бэра. Зависимость молярного коэффициента поглощения от концентрации. Факторы, влияющие на величину E .
6. Сущность определения белка по Лоури.
7. Нефелометрический метод определения белка.

Перечень основной нормативной документации, используемой при определении белка.

1. ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб.
2. ГОСТ 26574-85 Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия.
3. ГОСТ Р 52189 -2003 Мука пшеничная. Общие технические условия.
4. ГОСТ 27839-88 Мука пшеничная. Методы определения количества и качества клейковины.

5. ГОСТ 2367-79 Колбаса вареная, салями и сардельки мясные. Методы определения качества.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ И КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРОВ

Углеводы являются основной частью пищевого рациона человека. В состав пищевого сырья они входят в виде простых сахаров (моно-, ди-, три-, тетрасахаридов) и полисахаридов. К полисахаридам относятся гемицеллюлоза, крахмал, инулин, гликоген, целлюлоза, пектин, камеди, декстраны и декстрины, которые состоят из цепей различной длины тех или иных моносахаридов.

С точки зрения усвояемости в организме человека углеводы делятся на усвояемые и неусвояемые.

Усвояемые - глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, галактоза, лактоза и рафиноза, инулин, крахмал и декстрины. К неусвояемым относятся грубые пищевые волокна (целлюлоза, гемицеллюлозы, лигнин) и мягкие пищевые волокна (пектиновые вещества, камеди, декстраны). Усвояемость углеводов определяется наличием в желудочно-кишечном тракте человека определенных ферментов.

Легче всего усваиваются глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза и лактоза; несколько медленнее крахмал и декстрины (т.к. они должны гидролизаться до простых сахаров). Углеводы содержатся в основном в растительном сырье.

Из простых сахаров основное значение имеет сахароза. Простые сахара с пищевой точки зрения ценятся за их сладость. Если сладость сахара условно принять за 1, то относительная сладость фруктозы будет 1,73; глюкозы - 0,74; сорбита - 0,48; ксилозы - 0,4; мальтозы - 0,32; лактозы - 0,16.

Сахара легко растворяются в воде, и на этом основано их извлечение. Общим признаком полисахаридов II- порядка является то, что их можно гидролизовать до моносахаров при использовании кислотного или ферментативного гидролиза. Изменяя условия гидролиза (температуру, время, концентрацию и катализатор) можно определить содержание отдельных полисахаридов в исследуемом материале.

Определение содержания сахара в готовых хлебобулочных изделиях. Метод Шорля

Цель работы: Изучить и освоить йодометрический метод определения сахара в хлебобулочных изделиях.

Задание: Определить количество сахара в булочном изделии.

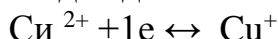
Материалы для работы: образцы булочных изделий, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы: 1. 1н раствор сульфата цинка;
 2. 1 н раствор гидроксида натрия;
 3. 20% раствор HCl ;
 4. 2,5н раствор гидроксида натрия;
 5. Метиловый красный;
 6. 6,925% раствор сульфата меди;
 7. щелочной раствор сегнетовой соли;
 8. 20% раствор йодида калия.

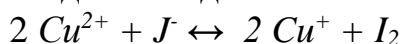
Ход анализа

Определение сахара в готовых хлебобулочных изделиях Метод Шорля проводят в соответствии с ГОСТ 5672-66.

При кипячении точно отмеренного количества Фелинговой жидкости исследуемым раствором редуцирующего сахара двухвалентная медь восстанавливается до оксида одновалентной меди:



На избыток двухвалентной меди действуют йодидом калия, причем йодид-ион окисляется до свободного йода:



Йод оттитровывается раствором тиосульфата натрия:



Количество восстановленного сахаром оксида одновалентной меди определяют по разности объемов 0,1 н раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование раствора в контрольном опыте (без сахаров), и анализируемого раствора. По количеству восстановленной меди находят эквивалентное количество сахара в аликвоте исследуемого раствора. Для приведенной методики титр 0,1н раствора тиосульфата натрия по сахарозе равен 3,1мг/мл.

1. Приготовление водной вытяжки.

Навеску, взвешенную с точностью до 0,001 г (взятую с расчетом, чтобы концентрация сахара в растворе была около 0,5%), переносят в мерную колбу на 200мл, приливают на 2/3 объема дистиллированной воды и взбалтывают 5 мин для полного растворения сахара. Затем осаждают мешающие вещества, добавив в колбу 10мл 1н раствора сульфата цинка и

10мл 1н раствора гидроксида натрия. Тщательно перемешивают, доводят водой до метки и оставляют на 15 минут. Отстоявшуюся жидкость фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу.

2. Гидролиз сахарозы.

Сахароза не обладает редуцирующей способностью, поэтому перед определением её приходится превращать в инвертный сахар.

В мерную колбу на 100мл переносят пипеткой 50мл фильтрата и прибавляют 5мл 20% соляной кислоты. Колбу погружают в нагретую до 70°C водяную баню и выдерживают 5 минут при этой температуре. Затем содержимое колбы осторожно нейтрализуют по метиловому красному 1н раствором гидроксида натрия до появления желто-розового окрашивания. Избытка щелочи необходимо избегать, т.к. моносахара в щелочной среде могут разлагаться. После нейтрализации колбу доводят до метки дистиллированной водой, и содержимое хорошо перемешивают. Полученный раствор используют для определения в нем сахара.

3. Иодометрическое определение сахара.

В коническую колбу на 250мл вносят пипеткой 25мл исследуемого раствора, добавляют пипеткой 5мл раствора сульфата меди и 5мл щелочного раствора сегнетовой соли, быстро доводят смесь до кипения и кипятят ровно 2 минуты, быстро охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 5мл 20% раствора йодида калия, 5мл 25% серной кислоты и сразу же титруют 0,1н раствором тиосульфата натрия до соломенно-желтой окраски. Затем прибавляют 2мл раствора крахмала и продолжают титрование до исчезновения синей окраски. Проводят контрольный опыт, взяв вместо исследуемого раствора 25мл дистиллированной воды. Массовую долю сахаров рассчитывают по формуле (2):

(2)

$$x = \frac{3,1 \cdot (V - V_0)}{m_{нав} \cdot (100 - W)} \cdot 1,6,$$

где: 3,1 - титр 0,1н раствора тиосульфата по сахарозе, мг/мл;

1,6 - коэффициент пересчета, учитывающий разбавление и пересчет на 100 г продукта масса навески, г;

$m_{нав}$ - масса навески, г;

V_0 - объем тиосульфата в холостом опыте, мл;

V - объем тиосульфата в анализируемом опыте, мл;

W - влажность образца, %.

Лабораторная работа № 5

Колориметрический метод определения сахаров.

Цель работы: Изучить и освоить колориметрический метод определения сахара в хлебобулочных изделиях.

Задание: Определить количество сахара в булочном изделии.

Материалы для работы: образцы булочных изделий, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр.

Реактивы:

1. Раствор глицерата меди готовят перед проведением анализа. К 40мл раствора NaOH прибавляют 1мл чистого глицерина, тщательно перемешивают, затем прибавляют 80мл раствора сульфата меди.

2. Стандартный раствор глюкозы с концентрацией 10 мг/мл.

3. 1 % раствор HCl.

Ход анализа: Метод основан на восстановлении ионов двухвалентной меди редуцирующими сахарами и изменении окраски глицерата меди.

1. Построение калибровочного графика.

В пробирки отмеряют 0,2; 0,4; 0,6; 0,8, 1,0 мл стандартного раствора глюкозы и доводят объем до 1мл дистиллированной водой. Перемешивают и прибавляют в пробирку 15мл раствора глицерата, снова перемешивают и нагревают пробирки в кипящей водяной бане ровно 5 мин. Вынимают, охлаждают пробирки в холодной воде и измеряют оптическую плотность прозрачного раствора при длине волны 580нм и толщине светопоглощающего слоя 10мм.

2. Анализ исследуемого вещества.

В ступке со стеклянным песком растирают навеску массой 8г, взвешенную с точностью до 0,01г. Затем в ступку приливают 50мл дистиллированной воды с температурой 70 °С и тщательно перемешивают содержимое. После охлаждения для определения редуцирующих сахаров отбирают в пробирку 1мл прозрачной вытяжки, прибавляют 15мл раствора глицерата меди, перемешивают. Пробирку нагревают на кипящей водяной бане 5 мин, охлаждают. После отстаивания отбирают прозрачный раствор и измеряют его оптическую плотность. По калибровочному графику определяют содержание сахаров.

Для определения суммы моно- и дисахаридов 0,5мл прозрачной вытяжки помещают в сухую пробирку, прибавляют 0,5мл 1% раствора HCl и нагревают на кипящей водяной бане 15 мин. Затем в пробирку добавляют 15мл глицерата меди и нагревают еще 5 мин. Пробирку охлаждают, отстаивают содержимое и измеряют оптическую плотность прозрачного раствора.

Содержание сахаров рассчитывают по формуле (3):

$$x = \frac{a \cdot V \cdot 100}{m_{нав} \cdot 1000}, \quad (3)$$

где: a - содержание сахаров, найденное по калибровочному графику, мг (при определении суммы моно- и дисахаридов удваивается, так как отнесено к 1 мл вытяжки);

V - общий объем вытяжки, мл (равен объему прибавленной воды);

$m_{нав}$ - масса навески, г.

Лабораторная работа № 6

Анализ водной вытяжки на содержание различных сахаров

Цель работы: Изучить и освоить колориметрический метод определения качественного содержания сахара в хлебобулочных изделиях.

Задание 1: Определить редуцирующие сахара и сахарозу в булочном изделии.

Материалы для работы: образцы булочных изделий, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр.

Ход анализа:

Из готовой профильтрованной вытяжки для определения берут пипеткой пробы.

1. Две пробы по 10-20 мл (в зависимости от ожидаемого количества сахара) берут в конические колбы на 150 - 200мл, добавляют реактивы и необходимое количество воды и определяют сахар по Бертрону. При этом определяется сумма моносахаридов - глюкозы и фруктозы. Если результаты титрования параллельных проб сильно расходятся, то количество проб увеличивают.

2. Пипеткой берут 50мл вытяжки в коническую колбу на 100 мл, добавляют 5мл 5% раствора HCl , помещают в кипящую водяную баню на 30 мин для гидролиза сахарозы. Через 30 мин колбу быстро охлаждают, жидкость нейтрализуют щелочью или лучше насыщенным раствором карбоната натрия по лакмусу до слабокислой реакции, переносят в мерную колбу на 100мл, доводят до метки, перемешивают. Если жидкость мутная или образовался осадок, фильтруют; берут пипеткой две пробы по 10-20мл и определяют сахара по Бертрону. В этой пробе определяют и редуцирующие сахара и сахарозу. Разница между 2 и 1 определениями, умноженная на коэффициент 0,95, дает содержание сахарозы.

Прокипяченные с растворами Фелинга пробы ни в коем случае нельзя оставлять надолго, т.к. осадок закиси меди может частично

окислиться и исказить результаты определения.

Если вытяжку готовили, применяя осаждение раствором ацетата свинца, то нет необходимости добавлять антисептики, т.к. свинец предохраняет вытяжку от заражения микроорганизмами.

Если требуется знать не только сумму сахаров, но и отдельно содержание каждого из них (глюкозы и фруктозы), то в аликвоте первоначальной (негидролизованной) вытяжки определяют фруктозу резорциновым методом. По разнице между содержанием сахаров и содержанием фруктозы определяют содержание глюкозы.

Задание 2: Определить фруктозу и другие кетозы в булочном изделии.

Материалы для работы: образцы булочных изделий, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр.

Реактивы:

1. Спиртовой раствор резорцина - 1г резорцина растворяют в 1 л 95% этанола.
2. 30% раствор HCl (раствор 5:1), не должен давать окраски с резорцином.
3. Стандартный раствор фруктозы - 100мг фруктозы растворяют в 100 мл насыщенного раствора бензойной кислоты, хранят в холодильнике. Рабочий раствор - 4мл стандартного раствора доводят в мерной колбе на 100мл водой.

Ход анализа.

Метод основан на способности кетоз давать окраску с резорцином в кислой среде.

В пробирку вносят 5мл экстракта, содержащего от 1 до 8 мг фруктозы в 100мл, 5 мл спиртового раствора резорцина и 15 мл 30% раствора HCl. В другой пробирке готовят холостой опыт - вместо экстракта вливают 5мл воды. Перемешивают, затем выдерживают пробирки 20 минут на водяной бане при температуре 80°C. Охлаждают до комнатной температуры и измеряют оптическую плотность при длине волны 540 нм.

Аналогично обрабатывают стандартные растворы для построения градуировочного графика.

По градуировочному графику определяют содержание фруктозы в исследуемом объекте.

Лабораторная работа № 7

Микрометод определения сахаров

Цель работы: Изучить и освоить микрометод определения сахара в хлебобулочных изделиях.

Задание: Определить количество сахара в булочном изделии.

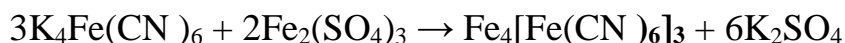
Материалы для работы: образцы булочных изделий, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. 5% раствора HCl и NaOH;
2. Раствор ферроцианида - 1,65г $K_4Fe(CN)_6$ и Na_2CO_3 растворяют в 1л воды, хранят в темной склянке.
3. Раствор $Fe_2(SO_4)_3$ - 2г $Fe_2(SO_4)_3$ растворяют в 10 мл концентрированной серной кислоты (плотностью 1,84 г/мл) и доводят в мерной колбе до 1л.
4. 10% раствор желатина. В день употребления готовят рабочий раствор, смешивая растворы 3 и 4 в соотношении 20:1.
5. 4% раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты.

Ход анализа.

Метод Швецова и Лукьяненко основан на восстановлении ферроцианида калия редуцирующими сахарами. Последний в присутствии желатина образует с сульфатом трехвалентного железа устойчивую синюю окраску:



Достоверно определяется концентрация сахара от 0,01 до 0,1 мг/мл

При суммарном определении сахаров после гидролиза в пробирки с 2мл экстракта приливают 1 мл 5% HCl и нагревают 5 мин на водяной бане при температуре 70°C. Затем пробирки охлаждают и нейтрализуют 5% щелочью по лакмусовой бумажке, затем поступают, как указано ниже.

В вытяжке осаждают мешающие вещества фосфорно-вольфрамовой кислотой. Затем в пробирки, имеющие метки на 20см³, приливают 2 мл вытяжки, по 2мл раствора ферроцианида и воды, перемешивают и нагревают 15 мин на кипящей водяной бане. После нагревания пробирки охлаждают и приливают в каждую по 4мл раствора сульфата железа. Перемешивают и доводят объем водой до метки - до 20мл. Перемешивают, измеряют оптическую плотность за красным светофильтром.

Вычисление результатов производят по градуировочному графику, построенному по растворам глюкозы.

Метод дает завышенные результаты при исследовании веществ с повышенным содержанием азотистых соединений.

Лабораторная работа №8.

Фотоколориметрический метод определения редуцирующих сахаров в кондитерских изделиях и полуфабрикатах

Цель работы: Изучить и освоить колориметрический метод определения редуцирующих сахаров в кондитерских изделиях.

Задание: Определить количество редуцирующих сахаров в карамели.

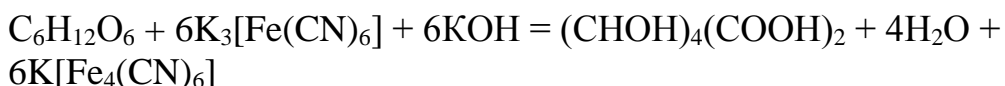
Материалы для работы: образцы карамели, химические реактивы, химическая посуда, фотоэлектроколориметр.

Реактивы:

1. Раствор $K_3Fe(CN)_6$ с концентрацией 10 мг/мл;
2. Стандартный раствор глюкозы или инвертного сахара с концентрацией 2мг/мл редуцирующего сахара;
3. КОН - 2,5н раствор;
4. Сульфат цинка - 1н раствор;
5. NaOH— 1н раствор;
6. фенолфталеин.

Ход анализа

В основе метода (ГОСТ 5903-77) лежит способность редуцирующих сахаров при нагревании с щелочным раствором феррицианида восстанавливается, причем сахара окисляются до соответствующих кислот:



Принцип метода заключается в том, что к раствору редуцирующих веществ прибавляют точно отмеренный избыток раствора окислителя-ферроцианида. О количестве сахара судят по остатку ферроцианида после реакции (чем меньше этот остаток, тем больше редуцирующих веществ) Остаток ферроцианида определяют по оптической плотности раствора.

I. Построение калибровочного графика.

В шесть конических колб вместимостью 100мл вносят пипеткой по 20мл, раствора ферроцианида, 5мл 2.5н раствора КОН и 2, 4, 6, 8, 10 мл стандартного раствора сахара. Доводят объем раствора до 35мл дистиллированной водой. Содержимое колб нагревают до кипения и кипятят ровно 1 минуту. Затем быстро охлаждают до комнатной температуры и измеряют оптическую плотность растворов при длине волны 440 нм. Толщину светопоглощающего слоя выбирают так: чтобы оптическая плотность раствора содержащего 6мл сахара была в пределах 0,2-0,25. Вычерчивают калибровочный график зависимости оптической плотности от количества мг сахара.

2. Анализ исследуемого образца.

Масса навески рассчитывается из условия, чтобы в 100мл вытяжки содержалось 0,2г редуцирующих веществ формула (4):

(4)

$$m_{нав} = \frac{0,2 \cdot V}{p};$$

где: V - объем мерной колбы для приготовления вытяжки, мл

p - предполагаемая массовая доля редуцирующих веществ, %

(При анализе хлебобулочных изделий необходимо воспользоваться справочником «Химический состав пищевых продуктов» т.к. содержание редуцирующих сахаров определяется их содержанием в сырье и мало изменяется в ходе технологических процессов).

Навеску, взвешенную с точностью до 0,01г, помещают в химический стакан и тщательно растирают с 50мл нагретой до 70°C дистиллированной водой. Однородную массу количественно переносят в мерную колбу на 250мл, смывая дистиллированной водой примерно на половину объема колбы. Колбу помещают в водяную баню с температурой 60°C и выдерживают при этой температуре 15 мин периодически взбалтывая содержимое колбы.

Охладив раствор, осаждают мешающие несахара, прибавляя в колбу 10 мл 1н раствора сульфата цинка, если масса навески была меньше 5г (15мл раствора сульфата цинка, если масса навески была больше 5г) и такой объем 1н раствора NaOH, который был установлен отдельным титрованием соответствующего объема раствора сульфата цинка по фенолфталеину. Содержимое колбы взбалтывают, доводят до метки, перемешивают и титруют в сухую колбу.

В коническую колбу на 100мл вносят пипеткой 20мл раствора ферроцианида, 5мл 2,5 н KOH, 8мл фильтрата и 2мл дистиллированной воды. Нагревают до кипения, кипятят ровно 1 минуту, быстро охлаждают и измеряют оптическую плотность так же, как и при построении калибровочного графика. Если значения оптической плотности не входят в интервал 0,15-0,6, определение повторяют, изменив количество мл фильтрата и дистиллированной воды. Массовую долю редуцирующих веществ определяют по формуле (5):

$$x = \frac{a \cdot V_1 \cdot 100 \cdot K}{V \cdot m_{нав} \cdot 1000},$$

(5)

где: a - масса инвертного сахара, найденная по калибровочному графику, мг;

V_1 - объем мерной колбы, взятой для приготовления вытяжки, мл;

V - объем фильтрата, взятого на реакцию с ферроцианидом, мл;

$m_{нав}$ - масса навески, г;

K - поправочный коэффициент, учитывающий частично

окисление сахарозы. Для хлебобулочных изделий $K=0,95$.

Контрольные вопросы по теме «Количественное и качественное определение сахаров»

1. Собственные сахара муки и продуктов его переработки. Редуцирующие и нередуцирующие сахара.
2. Определение редуцирующих сахаров ферроцианидным методом. Расчет навески исследуемого продукта.
3. Определение сахаров медноглицератным методом. Возможность определения общего сахара и редуцирующих сахаров из одной навески.
4. Определение сахара по Шорлю. Ход анализа, реакции, лежащие в основе метода.

Перечень основной нормативной документации, используемой при определении сахаров.

1. ГОСТ 27842-88 Хлеб из пшеничной муки. Технические условия.
2. ГОСТ 5667-65 Хлеб и хлебобулочные изделия. Правила приемки, методы отбора образцов, методы определения органолептических показателей и массы изделий.
3. ГОСТ 21094-75 Хлеб и хлебобулочные изделия. Метод определения влажности.
4. ГОСТ 5672 – 66. Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли сахара.
5. ГОСТ 5903 – 77. Кондитерские изделия. Методы определения массовой доли сахара.
6. ГОСТ 5904-82 Кондитерские изделия. Методы отбора проб.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРАХМАЛА

Лабораторная работа №9

Содержания пшеничного крахмала по методу Эверса

Цель работы: Изучить и освоить поляризационный метод определения

крахмала в муке.

Задание: Определить количество крахмала в муке.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда, поляриметр.

Реактивы:

1. 0,31н (1,124%) раствор HCl.
2. Реактив Карреза 1 - 13% раствор.
3. Реактив Карреза 2 - 17% раствор.

Ход анализа.

Метод основан на гидролизе крахмала при нагревании в слабом растворе соляной кислоты и определении его концентрации по отклонению плоскости поляризации поляризованного луча полученными (в строго определенных условиях) продуктами гидролиза.

Отвешивают на технических весах навеску измельченного исследуемого образца массой 5г, взвешенную с точностью до 0,01г и количественно переносят её в сухую мерную колбу на 100мл. Приливают туда 25мл 0,31н HCl, перемешивают, добиваясь полного смачивания вещества и разрушения комочков. Следующими 25 мл той же кислоты смывают с горлышка и стенок колбы прилипшие частицы. Колбу помещают на 15 минут в кипящую водяную баню. В течение первых трех минут содержимое колбы непрерывно размешивают плавными круговыми движениями. Через 15 минут колбу вынимают, вливают в неё 30 мл дистиллированной воды, взбалтывают и охлаждают до 20 °С.

Для осаждения белков и осветления раствора в колбу добавляют по 2мл растворов реактивов Карреза 1 и 2. Через 5 минут колбу доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают содержимое. Затем фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу. Первые примерно 10мл фильтрата отбрасывают. Прозрачный фильтрат поляризуют при 20 °С немедленно после заполнения поляризметрической трубки.

Содержание крахмала рассчитывают по формуле (5):

$$C = \frac{\alpha_{оп} \cdot 100 \cdot 100}{[\alpha]_p \cdot m_{нав} \cdot l}, \quad (5)$$

где: C - массовая доля крахмала, %;

$\alpha_{оп}$ - величина отклонения плоскости поляризации поляризованного луча продуктами гидролиза крахмала, выраженная в градусах шкалы поляриметра;

$[\alpha]^{20}_p$ -- среднее удельное вращение продуктов гидролиза крахмала. Его величина зависит от вида крахмала, условий и глубины гидролиза. Для приведенных условий значения даны в таблице 1;

l - длина поляризметрической трубки, дм;

$100/[a]^{20}_D$ - количество крахмала, соответствующее повороту плоскости поляризации на 1° круговой шкалы поляриметра;

$m_{нав}$ - масса навески, г.

При навеске 5г и длине трубки 2дм формула приобретает вид (6):

$$C = a_{он} K, \quad (6)$$

где: K - коэффициент, зависящий от типа прибора и вида крахмала.

В пересчете на сухое вещество массовая доля крахмала равна (7):

$$C_{св} = \frac{C \cdot 100}{1 - w}, \quad (7)$$

где: w - влажность исследуемого материала, %.

Таблица 1

Оптические характеристики для различных видов крахмала

Крахмал	Удельное вращение	Коэффициенты	
		Для сахариметра (линейная шкала)	Для поляриметра (линейная шкала)
Кукурузный	184,6	1,879	5,416
Пшеничный	182,7	1,898	5,474
Картофельный	194,5	1,775	5,118
Ржаной	184,0	1,885	5,434
Ячменный	181,5	1,912	5,506
Овсяный	181,3	1,914	5,504
Рисовый	185,9	1,866	5,380

Лабораторная работа №10

Определение крахмала объемным методом (по Х.Н. Починку)

Цель работы: Изучить и освоить объемный метод определения

крахмала в муке.

Задание: Определить количество крахмала в муке.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1) 0.5 н раствор бихромата – 12,5г $K_2Cr_2O_7$, растворяют в 125 мл воды, затем постепенно прибавляют 400 мл концентрированной серной кислоты, после перемешивания и охлаждения приливают в склянку с притертой пробкой;

2) 80% раствор $Ca(NO_3)_2$ - 20 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ растворяют в 70мл дистиллированной воды в мерном цилиндре и постепенно доводят водой до 250мл; из этого раствора по мере надобности готовят 20% или 5% раствор;

3) 0.5% раствор йода в растворе KJ;

4) 0.1 н раствор тиосульфата.

Ход анализа

Метод основан на получении комплексного соединения крахмала с йодом, последующем окислении крахмала бихроматом и йодометрическом учете избытка последнего.

1. Получение раствора крахмала.

Берут 0,25г зерна или муки, содержащих от 20 до 200 мг крахмала растирают в ступке с 5мл 80% раствора нитрата кальция, переносят в коническую колбу на 200 мл, смывают 25 мл того же раствора, колбу накрывают стеклянной воронкой, ставят на плитку и слабо кипятят 3 мин. При этом крахмал переходит в раствор. После охлаждения воронку ополаскивают водой. Содержимое переносят в мерную колбу на 100мл и доводят водой до метки. Затем перемешивают через складчатый фильтр.

2. Осаждение крахмала.

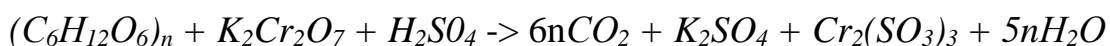
5мл фильтрата переносят в центрифужную пробирку, добавляют 2мл раствора йода, перемешивают стеклянной палочкой с 5-6 каплями воды и оставляют на 30 мин. При этом осаждается соединение крахмала с йодом, содержащее 14-16% йода. Затем центрифугируют, и прозрачный фильтрат сливают, как можно полнее. Осадок промывают несколько раз 5% раствором нитрата кальция, прибавляя его каждый раз по 5мл, перемешивая той же стеклянной палочкой и центрифугируя.

3. Окисление крахмала.

Промытый осадок крахмала с йодом сливают в коническую колбу на 200мл небольшими порциями - по 0,2 – 0,3мл воды, хорошо перемешивая стеклянной палочкой. Общее количество воды не должно превышать 3мл. В колбу прибавляют 5мл раствор бихромата, перемешивают и, тотчас же, помещают на 15 мин на кипящую водяную баню. При этом крахмал окисляется до углекислоты и воды.

Затем колбу снимают, дают остыть, прибавляют 5 мл 20% раствора

KJ, который реагирует с избытком бихромата, выделяется йод. Его оттитровывают 0,1 н раствором тиосульфата в присутствии органического растворителя (в колбу для титрования приливают 20 капель органического растворителя). 1мл 0,1 н раствора тиосульфата соответствует 0,675 мг крахмала. Отдельно титруют 5 мл бихромата после разбавления 60 мл воды и прибавления 1мл бензола (20 капель) + 5мл 20 % раствора *KJ*.



Содержание крахмала рассчитывают по формуле (8):

(8)

$$x = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 100 \cdot T}{5 \cdot m_{нав}}$$

где: V_1 , V_2 - объем тиосульфата в холостом опыте (титрование бихромата), мл;

V_2 - объем тиосульфата, затраченный при титровании крахмала, мл;

$m_{нав}$ - масса навески, г;

100- объем, в котором растворена навеска, мл;

5 — аликвота, взятая на осаждение крахмала;

T — титр раствора тиосульфата.

Контрольные вопросы по теме «Определение крахмала»

1. Крахмал, его состав. Отличительные особенности крахмала в зависимости от вида сырья.
2. Гидролиз крахмала. Факторы, обуславливающие его глубину.
3. Отличительная особенность вещества. Удельное вращение, факторы, от которых зависит его величина.
4. Определение крахмала по Эверсу. Его основные этапы.
5. Определение крахмала по Починку, его основные этапы. Химические реакции, лежащие в основе метода

Перечень основной нормативной документации, используемой при определении крахмала.

6. ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб.
7. ГОСТ 26574-85 Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия.
8. ГОСТ Р 52189 -2003 Мука пшеничная. Общие технические условия.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА ЛИПИДОВ

Методы количественного определения липидов основаны на их

способности растворяться в органических растворителях. Как правило, в исследуемых объектах присутствуют вещества, которые полностью или частично переходят в органический растворитель вместе с жиром. Диэтиловый или петролейный экстракты после удаления растворителя называют сырым жиром.

Сырой жир представляет собой сложную смесь, которая помимо жиров содержит в себе свободные жирные кислоты, воски, стерины, эфирные масла и другие органические соединения. Состав сырого жира меняется в зависимости от вида растворителя и его чистоты. Наличие влаги, как в самом растворителе, так и в исследуемом образце, значительно завышает результаты при определении сырого жира, т. к. некоторые нерастворимые в органическом растворителе части продукта (сахара, соли и др.), растворяясь в воде, переходят в вытяжку. Поэтому перед определением растворитель очищают от примесей и воды, а исследуемый материал высушивают.

Лабораторная работа № 11

Определение общего содержания липидов

Цель работы: Изучить и освоить основные методы определения общего содержания липидов в сливочном масле.

Задание 1: Определение содержания жира методом Сокслета.

Материалы для работы: образцы сливочного масла, химические реактивы, химическая посуда, аппарат Сокслета.

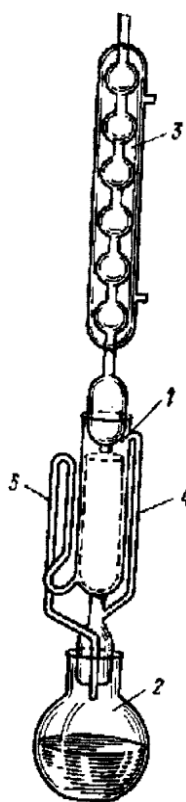
Ход определения.

Извлечение сырого жира по этому методу проводят в аппарате Сокслета, обеспечивающем непрерывность экстрагирования.

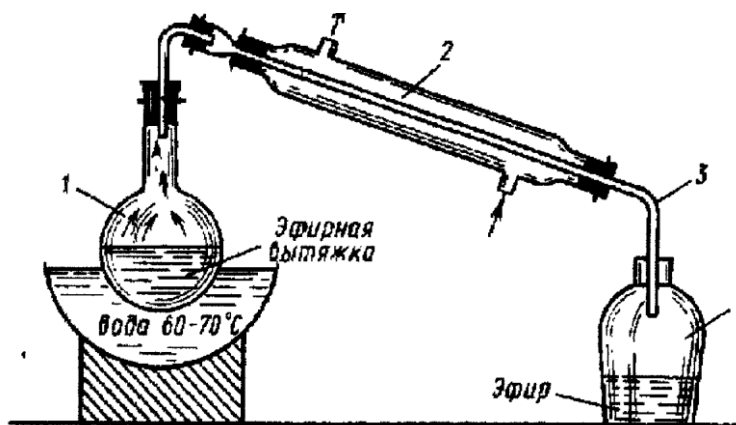
Этот аппарат состоит из трех частей: экстрактора 1, приемной колбы 2 и обратного холодильника 3. Все части прибора соединяются при помощи шлицов.

Главная часть прибора представляет собой цилиндрический сосуд, снабженный двумя боковыми трубками: более широкая трубка 4 служит каналом для отвода паров растворителя в холодильник, более тонкая 5 является сифоном, отводящим эфирную вытяжку в колбу.

Навеску хорошо измельченного вещества после определения в нем влажности массой от 3 до 12г взвешивают с точностью до 0,001г. Если ожидаемое содержание жиров в продукте до 10%, берут навеску 10 г; при содержании жира 50-60% достаточна навеска массой 1-2г.



Навеску заделывают в пакетики или патроны из плотной фильтровальной бумаги. Пакетик помещают в экстрактор аппарата Сокслета. Патрон должен размещаться ниже верхнего изгиба сифонной трубки 5, а его диаметр должен быть несколько меньше внутреннего диаметра экстрактора. Сухую и чистую приемную колбу аппарата Сокслета взвешивают на аналитических весах и наливают в нее на 2/3 - 3/4 объема петролейный эфир (кип. == 40-80 °C). Затем собирают аппарат, пускают в холодильник воду, подогревают колбу с эфиром в колбонагревателе. Нагрев не должен быть очень сильным во избежание потерь растворителя. При слишком слабом кипении нарушается периодичность сливания эфира по боковой трубке, что замедляет экстракцию. Пары кипящего эфира проходят по широкой трубке в холодильник, конденсируются, и эфир по каплям стекает в патрон с веществом. Экстрактор постепенно наполняется эфиром. Когда уровень его поднимется несколько выше верхнего колена сифона, тогда эфир стекает в колбу через сифон. В колбе, вновь нагреваясь, эфир вновь превращается в пары, которые вновь поднимаются в холодильник, а жир остается в колбе и т.д. Таким образом, одним и тем же небольшим количеством растворителя можно перевести в приемную колбу жир, содержащийся в навеске. Конец экстракции устанавливается практическим



путем. При обычной частоте сливания эфира из экстрактора в приемную колбу 10-15 раз в час, на полную экстракцию требуется 4-5 часов. После окончания экстракции выключают колбонагреватель, дают колбе остыть, выключают воду, отсоединяют холодильник. Наклонив экстрактор, сливают в приемную колбу остатки растворителя и отсоединяют колбу от экстрактора. Если эфирная вытяжка получилась мутной от попавших частиц исследуемого вещества, ее отфильтровывают через сухой бумажный фильтр в другую предварительно взвешенную колбу. Затем растворитель отгоняют на водяной бане при температуре 60-70 °C.

Задание 2: Определить количество жира в сливочном масле рефрактометрическим методом.

Материалы для работы: образцы сливочного масла, химические реактивы, химическая посуда, рефрактометр.

Ход анализа.

Метод (по ГОСТ 5899-63) основан на измерении показателя преломления раствора жира в органическом растворителе. Коэффициент преломления растворителя должен значительно отличаться от показателя преломления жира - чем больше разница, тем точнее результаты. Кроме того, растворитель не должен растворять воду и иметь достаточно высокую температуру кипения. Этим условиям удовлетворяет монобромнафталин. Стандартом допускается также использование моноклорнафталина, но показатель преломления последнего несколько ниже, к тому же он летуч и обладает очень резким неприятным запахом.

Перед определением жира устанавливают плотность растворителя, показатели преломления чистого растворителя и чистого жира, и калибруется микропипетка емкостью 2мл с ценой деления 0,02мл.

Для работы используется универсальный рефрактометр с пределом измерений показателя преломления 1,70.

Навеску исследуемого продукта около 1г, взятую с точностью до 0,0002г, помещают в фарфоровую ступку, прибавляют 0,5мл воды, нагревают на водяной бане, прибавляют 1г чистого сухого песка, все хорошо растирают.

Затем добавляют 1мл ледяной уксусной кислоты и нагревают на песчаной бане 2мин. Охладив ступку, прибавляют точно 2мл растворителя, тщательно растирают содержимое ступки с растворителем в течение 3 мин, добавляют 1г карбоната натрия, перемешивают и фильтруют в маленький стаканчик. 2 капли фильтрата переносят на призму рефрактометра и определяют показатель преломления раствора жира.

Массовую долю жира рассчитывают по формуле (9):

$$\omega = \frac{V_p \cdot d_{жс}}{m_{нав}} \cdot \frac{n_p - n_{жс}}{n_{р.жс} - n_{жс}}, \quad (9)$$

где: V_p -объем растворителя, взятый для извлечения жира, мл;
 $d_{жс}$ - плотность жира, г/см³ (данные жировых констант);
 $m_{нав}$ - масса навески, г;
 n - коэффициент преломления растворителя (для α -монобром нафталина равен 1,658;
 n - коэффициент преломления жира (справочная величина если природа жира неизвестна, то коэффициент преломления чистого жира определяют предварительно);
 n – коэффициент преломления раствора жира в растворителе. Для сливочного масла $n_{жс} = 1,4506$; плотность - 0,920 г/см³ . Для маргарина $n_{жс} = 1,4690$; плотность 0,923 г/см³.

Лабораторная работа 12.

Определение содержания жира весовым методом

Цель работы: Изучить и освоить основные весовые методы определения содержания жира в муке.

Задание 1: Определить количество жира весовым методом в муке.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. 5% раствор HCl;
2. NaOH - концентрированный раствор;
3. Фенолфталеин, 1% спирт, раствор;
4. Органический растворитель (петролейный эфир, диэтиловый эфир, гексан).

Ход анализа

Метод (ГОСТ 5668 - 66) основан на извлечении жира из предварительно гидролизованной навески изделия органическим растворителем и определении количества жира весовым методом после удаления растворителя из определенного объема полученного раствора.

Предварительно измельченную навеску продукта с предполагаемым содержанием жира не более 0,5г, взвешенную с точностью до 0,01 г, количественно переносят в коническую колбу. Приливают 50 мл 5% НС1 и кипятят 30 минут на слабой плитке с обратным холодильником.

После охлаждения колбы содержимое количественно переносят в делительную воронку, смывая небольшими порциями (примерно 3-5 мл) той же кислоты, прибавляют 5 мл концентрированного аммиака, 50 мл органического растворителя, закрывают делительную воронку и встряхивают в течение 15 минут. Затем оставляют на 1 час для расслаивания. Если расслаивания не произойдет, добавляют еще 1-2мл аммиака, следя за тем, чтобы реакция по фенолфталеину была кислой.

После расслаивания четко обозначен слой органического растворителя. Аликвотную часть его (20мл) осторожно пипеткой сливают в предварительно взвешенный на аналитических весах бюкс. Бюкс оставляют в вытяжном шкафу открытым до полного испарения растворителя, затем неплотно прикрывают крышкой и сушат в сушильном шкафу при температуре 100-105⁰ С до постоянной массы (обычно не менее 1 часа). Бюкс охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах.

Перед началом работы необходимо довести навеску до постоянной массы при температуре 100-105⁰С, чтобы учесть содержание влаги в определяемом продукте; довести до постоянной массы бюкса при той же температуре. Массовую долю жира в образце рассчитывают по формуле (10):

$$\omega = \frac{(m_1 - m_0) \cdot 50}{m_{нав} \cdot 20} \cdot \frac{100}{100 - \omega}, \quad (10)$$

где: m_1 - масса бюкса с высушенным жиром, г;

m_0 - масса пустого бюкса, г;

$m_{нав}$ - масса навески, г;

ω - влажность продукта, %.

Окончательное удаление жира и высушивание жира ведут в сушильном шкафу при температуре 100-105⁰ С. Затем колбу охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах

Массовую долю сырого жира рассчитывают по формуле (11):

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_{нав}} \cdot 100, \quad (11)$$

где: m_1 - масса колбы с жиром, г;

m_2 , - масса пустой колбы, г;

$m_{нав}$ ~ масса навески, г.

Задание 2: Определить количество сырого жира в муке методом настаивания.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда.

Ход анализа.

Метод предложен А.И. Островским, не требует сложного оборудования и при повторных определениях дает хорошую сходимость.

Из фильтровальной бумаги размером 10x10 см делают пакет, в который между двумя слоями обезжиренной ваты помещают от 2 до 5г исследуемого вещества, предварительно высушенного и тщательно измельченного. Навеску берут на аналитических весах. Закрытый и закрепленный нитками пакет помещают в коническую колбу емкостью 100мл. Пакет должен быть таким, чтобы он мог свободно разместиться на дне колбы горизонтально. В колбу отмеряют 50 мл петролейного эфира, затем плотно закрывают её корковой пробкой и оставляют в вытяжном шкафу на 24 часа. После настаивания из колбы пипеткой с помощью груши переносят 10мл раствора в предварительно взвешенные на аналитических весах стеклянные бюксы. Растворитель из бюксов отгоняют на кипящей водяной бане, после чего остаток сушат при температуре 100-105 °С в течение 1 часа, охлаждают и взвешивают.

Массовую долю жира рассчитывают по формуле (12):

$$X = \frac{5 \cdot (m_1 - m_2)}{m_{нав}} \cdot \frac{100}{100 - \omega}, \quad (12)$$

где: m_2 -масса пустого бюкса, г;

m_1 - масса бюкса с жиром, г;

$m_{нав}$ -масса навески, г;

ω - влажность, %.

$w(\text{муки}) = 12,5\%$, $w(\text{Зерна}) = 12\%$, $w(\text{хлеба}) = 14\%$.

Оценка качества пищевых жиров

Цель работы: Изучить и освоить основные методы оценки качества жиров.

Задание 1: Определить кислотное число подсолнечного масла.

Материалы для работы: образцы подсолнечного масла, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. Смесь этанола и этилового эфира (1:1);
2. 0,1н раствор КОН в этаноле;
3. Фенолфталеин, тимолфталеин - 1% спиртовые растворы.

Ход анализа.

Основными качественными показателями жиров являются кислотное число, число омыления, йодное число.

КИСЛОТНЫМ ЧИСЛОМ называется количество мг едкого калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1г жира. Оно зависит от качества сырья, способа получения масел или жиров, длительности и условий хранения и пр. Кислотное число - один из основных показателей степени свежести жира и оно регламентировано ГОСТами на различные виды пищевых масел и жиров.

Определяют кислотное число нейтрализацией свободных жирных кислот, содержащихся в навеске исследуемого вещества, спиртовым раствором щелочи (ГОСТ 5476-64).

В коническую колбу вместимостью 150-200мл отвешивают 3г испытуемого масла, приливают 25 мл смеси этанола и эфира, добавляют несколько капель индикатора (фенолфталеин для светлых масел или тимолфталеин - для темнокрашенных). Полученный раствор при постоянном перемешивании титруют раствором КОН до получения розовой окраски, устойчивой в течение 30 сек. (при тимолфталеине - до грязно-зеленой)

Кислотное число рассчитывают по формуле (13):

$$K.Ч. = \frac{V \cdot K \cdot 5.61}{m_{нав}}, \quad (13)$$

где: V - объем раствора КОН, израсходованный на титрование, мл;

K - поправочный коэффициент к титру щелочи;

5,61 - титр 0,1н раствора КОН, мг/мл;

$m_{нав}$ - масса навески, г.

В соответствии со стандартами кислотное число пищевых растительных масел в зависимости от природы и сорта колеблется в пределах от 0,2 до 6мг.

Задание 2: Определить число омыления подсолнечного масла.

Материалы для работы: образцы подсолнечного масла, химические

реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

- 1). 0,5н раствор КОН в этаноле;
- 2). 0,5н раствор HCl,
- 3). 1 % спиртовой раствор фенолфталеина.

Ход анализа.

ЧИСЛО ОМЫЛЕНИЯ характеризует общее количество свободных и связанных жирных кислот, входящих в состав данного жира. Оно выражается количеством мг едкого калия, необходимого для нейтрализации свободных и связанных жирных кислот, содержащихся в 1г жира.

Для жиров и масел одинакового происхождения колеблется в незначительных пределах, характеризуя таким образом его природу. Для определения числа омыления (ГОСТ 5478-64) навеску исследуемого жира обрабатывают спиртовым раствором щелочи до полного омыления глицеридов и жирных кислот, избыток щелочи оттитровывают титрованным раствором соляной кислоты.

В коническую колбу на 250-300 мл отвешивают 2г испытуемого масла с точностью до 0,0001г. Чтобы взять точную навеску жидких масел, поступают следующим образом: в предварительно взвешенный на аналитических весах стакан на 50мл пипеткой помещают 10 капель масла, взвешивают и рассчитывают массу одной капли, затем считают число капель для необходимой навески и отсчитывают их той же пипеткой в коническую колбу, не касаясь пипеткой её стенок.

Приливают из бюретки точно 20 мл спиртового раствора КОН. Колбу соединяют с обратным холодильником и кипятят в течение 1 часа, периодически взбалтывая содержимое колбы. К полученному прозрачному, еще не остывшему мыльному раствору, приливают несколько капель индикатора и титруют 0,5н раствором HCl до исчезновения розовой окраски.

Одновременно в тех же условиях проводят контрольный опыт без масла. Число омыления рассчитывают по формуле (14):

(14)

$$Ч.О. = \frac{28,05 \cdot (V_0 - V) \cdot K}{m},$$

где: 28,05 - титр 0,5н раствора КОН, мг/мл;

V_0 - объем 0,5нHCl, пошедший на титрование контрольной пробы, мл;

V - объем 0,5н HCl, пошедший на титрование избытка КОН после взаимодействия с жиром, мл;

m - масса навески, г;

K - поправочный коэффициент к титру щелочи.

Задание 3: Определить йодное число подсолнечного масла.

Материалы для работы: образцы подсолнечного масла, химические

реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

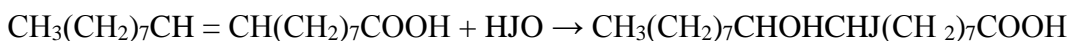
1. Этанол 96%;
2. 2,5% спиртовой раствор йода;
3. 0,1 н раствор тиосульфата натрия;
4. 0.1 % раствор крахмала.

Ход анализа.

ЙОДНОЕ ЧИСЛО - характеризует степень стойкости жира в процессе хранения, склонность его к химическим превращениям, т.к. ненасыщенные жирные кислоты присоединяют по месту двойных связей кислород воздуха, обуславливая процессы прогоркания и высыхания жиров.

Определение йодного числа основано на способности непредельных жирных кислот количественно присоединять молекулу галогена по месту двойной связи в условиях, при которых эта реакция не сопровождается замещением водорода на галоген.

По методу Маргошеса определение йодного числа осуществляется при помощи спиртового раствора йода. Сущность метода основана на реакции: йодноватистая кислота образуется при взаимодействии йода с водой по уравнению



Остаток неприсоединившегося йода оттитровывается тиосульфатом натрия.

На предварительно взвешенное часовое стекло помещают несколько капель исследуемого масла и снова взвешивают. Опускают стекло с маслом в химический стакан и добавляют стократное количество спирта. При навеске в 0,2-0,3 г добавляют 20-30 мл спирта. Для лучшего и более быстрого растворения навески смесь подогревают на водяной бане при температуре 45-50 °С, периодически встряхивая.

Прибавляют пипеткой 20мл спиртового раствора йода, хорошо перемешивают и добавляют мерным цилиндром 200мл дистиллированной воды. Добавляя воду, постоянно перемешивают смесь стеклянной палочкой. Затем оставляют на 5мин, прикрыв стакан часовым стеклом, после чего остаток неприсоединившегося йода оттитровывают 0,1н раствором тиосульфата натрия.

Одновременно проводят контрольный опыт (без жира) и рассчитывают йодное число по формуле (15):

$$Й.Ч. = \frac{(V_0 - V) \cdot K \cdot 100 \cdot 0,01269}{m}, \quad (15)$$

где: V_0 - объем раствора тиосульфата, израсходованный в контрольном опыте, мл;

V - объем раствора тиосульфата, израсходованный на титрование остатка йода после взаимодействия его с жиром, мл;
 K - поправочный коэффициент к титру тиосульфата;
 0,01269 – титр тиосульфата по йоду, мг/мл;
 m - масса навески, г.

Контрольные вопросы по теме «Определение количества и качества липидов»

1. Липиды. Состав жидких и твердых жиров.
2. Что такое «сырой жир»?
3. Сравнить применяемые методы определения «сырого жира».
4. Качественная оценка жиров, ее основные показатели.
5. Кислотное число - характеристика понятия, единицы, техника его определения.
6. Значение числа омыления для качественной оценки жиров и масел. Единицы выражения, техника определения.

Перечень основной нормативной документации, используемой при определении жира.

1. ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб.
2. ГОСТ 26574-85 Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия.
3. ГОСТ Р 52189 -2003 Мука пшеничная. Общие технические условия.
4. ГОСТ 5899-63 Метод определения жира. Рефрактометрический.
5. ГОСТ 5668-66 Метод определения жира. Весовой.
6. ГОСТ 5476-64 Пищевые жиры. Методы определения качества.
7. ГОСТ 5668 – 68. Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли жира.
8. ГОСТ 5867 – 90 Молоко и молочные продукты. Методы определения жира.
9. ГОСТ 3622 – 68 Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию.
10. ГОСТ 26809 – 86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ

Ферменты - специфические белковые вещества, катализирующие биохимические процессы. Активность и специфичность действия ферментов зависят в первую очередь от концентрации субстрата, активной кислотности среды и температуры. Поэтому измерение активности необходимо проводить в строго определенных условиях и за короткий промежуток времени, пока в составе реакционной смеси не произошли существенные изменения.

За единицу активности любого фермента обычно принимают такое его количество, которое способствует превращению 1 мкмоль субстрата за 1 минуту. Часто активность выражают в произвольно выбранных ферментных единицах на единицу массы анализируемого объекта. Международная единица измерения каталитической активности ферментов - катал. Катал или микрокатал - каталитическая активность, способная осуществлять реакции со скоростью 1 моль/сек (или мкмоль/сек).

Каталаза - фермент, относящийся к классу оксидоредуктаз. Роль каталазы в организме заключается в том, что она разрушает ядовитый для клеток пероксид водорода, который образуется в ряде ферментативных процессов жизнедеятельности клетки. В каталазе белковая часть связана двумя карбоксилатами с тетрапиррольным коферментом, содержащим ионы железа (именно кофермент непосредственно участвует в катализируемой реакции, являясь составной частью активного центра). Каталаза ингибируется цианидами, сероводородом, фторидами.

Лабораторная работа № 14

Определение активности каталазы

Цель работы: Изучить и освоить метод определения активности каталазы.

Задание 1: Определить активность каталазы муки.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда.

Ход анализа.

Метод основан на измерении объема выделившегося кислорода после прибавления H_2O_2 к водному экстракту каталазы. Кислород собирают в специально собранном приборе. Он состоит из бюретки, заполненной 5-% раствором H_2SO_4 , уровень которой регулируется, резервуаром, соединенным с ней резиновой трубкой.

Отвешивают по 1 г свежеразмельченных семян (муки) или 10г мелконарезанных листьев с точностью до 0,01г. Переносят в ступку, добавляют 0,5г CaCO_3 для нейтрализации среды, растирают со стеклянным песком. Затем добавляют 5 мл воды в размельченную массу семян (10 мл в массу других органов) и снова растирают. Полученную массу переносят в

мерную колбу на 100 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Препараты муки настаивают 30 минут, из других продуктов - 3-4 часа.

Определение активности проводят в суспензиях или центрифугатах. Активность каталазы в суспензиях выше, чем в прозрачных растворах, что можно объяснить потерей фермента с твердой фазой.

В коническую колбу наливают 50 мл суспензии и прибавляют 3-5 капель толуола, чтобы избежать вспенивания. Затем помещают на дно колбы маленький стаканчик с 5 мл 3 % H_2O_2 . Колбу герметично соединяют с бюреткой и ставят на водяную баню с температурой 20 °С. Регулируют уровень жидкости в приборе и устанавливают ее на нулевом уровне в бюретке. Затем, встряхнув колбу, опрокидывают стаканчик с пероксидом водорода и тотчас пускают секундомер. В течение 10 секунд колбу перемешивают вращательными движениями и снова помещают на баню.

Отсчет выделившегося кислорода делают через 2, 4, 6, 8, минут после начала реакции, уравнивая каждый раз жидкость в бюретке и резервуаре. Активность каталазы выражают в каталах. Ее можно рассчитать по формуле (16).

$$AC = 0,016V(O_2) \frac{P-h}{T} \cdot \frac{1}{\tau}, \quad (16)$$

где: $V(O_2)$ - объем выделившегося кислорода, л;

τ - время, сек;

P - давление, мм. рт. ст.;

$T^\circ K$ - абсолютная температура;

h - давление паров над 5% раствором H_2O_2 при данных условиях рассчитывается по закону Рауля для растворов электролитов (17)

$$h = h_0 \cdot \left(1 - \frac{\frac{5}{98}}{\frac{5}{98} + \frac{95}{18}}\right) = h_0 \cdot 0.99, \quad (17)$$

Для сравнения активности каталазы в различных продуктах можно просто сопоставить объемы кислорода, выделяющиеся через одинаковые промежутки времени при исследовании различных образцов.

Для $t = 20^\circ C$ $h = 23,38.0,99 = 23,16$ мм. рт. ст.

Активность фермента зависит от температуры, рН среды, концентрации субстрата.

Контрольные вопросы по теме «Определение ферментов»

1. К какому классу ферментов относится каталаза? Функции в

организме.

2. Факторы, определяющие активность каталазы.

3. Единицы измерения активности. Расчет активности каталазы в приведенной методике.

Лабораторная работа № 15

Определения активности амилаз

Цель работы: Изучить и освоить метод определения активности амилаз.

Задание: Определить активность амилаз колориметрическим методом в муке.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

- 1) ацетатный буфер с pH 5,5;
- 2) 1%-й раствор NaCl;
- 3) 2%-й раствор крахмала, растворенного в воде (2г крахмала, размешанного в 20см³ холодной воды выливают в 80см³ кипящей воды, после чего нагревают на кипящей водяной бане до просветления раствора;
- 4) 1 н раствор HCl: и 0,1 н раствор HCl,
- 5) 0,3%-й раствор йода в 3%-м растворе йодистого калия.

Ход анализа.

Под действием амилаз в растениях происходит гидролиз высокополимерного углевода - крахмала - с образованием декстринов и мальтозы. В растениях встречаются α и β -амилазы. Раздельное количественное определение активности α и β -амилаз основано на их различной термостабильности. β -амилаза разрушается нагреванием до 70°C, α -амилаза при этом сохраняет свою активность.

Навеску 1г муки или проростков растирают в ступке с небольшим количеством 1%-го NaCl и переносят в коническую колбу на 50см³. Соотношение между навеской и раствором NaCl 1:20. Содержимое колбы хорошо перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре в течение 30 минут, периодически встряхивая. Затем фильтруют через плотный складчатый фильтр. При трудном фильтровании можно сочетать фильтрование и центрифугирование при 4000-5000 об/мин.

Прозрачный раствор используют как ферментный препарат. Для определения активности α и β -амилазы берут 4 пробирки (2 опытные и 2 контрольные) и вносят в них по 3см³ ацетатного буфера и 3 см³ 2%-ного раствора крахмала. Смесь нагревают на водяной бане или в термостате до

40°C. Затем в опытные пробирки вносят по 0,2-1,0 см³ ферментного препарата (в зависимости от активности амилаз в объекте изучения), а в контрольные – такое же количество Н₂О. Содержимое пробирок перемешивают и ставят в термостат при 40°C на 30 минут. После инкубации в каждую пробирку сразу приливают по 2 см³ 1 н раствора НСl для прекращения действия амилаз.

Для выявления непрореагировавшего с ферментом крахмала проводят реакцию с йодом. В мерные колбы на 50 см³ приливают около 30 см³ воды, 1 см³ 0,1 н НСl, 5 капель 0,3%-ного раствора йода и вносят из каждой пробирки по 0,5 см³ смеси.

Содержимое колб хорошо перемешивают доводят до метки водой и колориметрируют на фотоэлектроколориметре за красным светофильтром или на спектрофотометре при 595 нм в кювете с рабочей длиной 1 см.

Для определения активности α - амилазы в коническую колбу на 100 см³ приливают 5 см³ фильтрата (ферментного препарата), добавляют на кончике ножа сухого уксуснокислого кальция и выдерживают в течение 15 мин в ультратермостате или на водяной бане при 70 °С. Затем содержимое колбы быстро охлаждают в сосуде с холодной водой. При таком прогревании β-амилаза полностью инактивируется, а α-амилаза сохраняет свою активность. Далее определение α-амилазной активности сводится к описанной выше процедуре.

Действие обоих ферментов выражают в миллиграммах гидролизованного крахмала в условиях опыта (за 30 минут) на 1 г муки. Активность β-амилазы определяют по разности между суммарной активностью α и β-амилаз и активностью α-амилазы.

Активность амилаз на 1 г муки за 1 ч рассчитывают по формуле (18):

$$x = \frac{(D - D_1) \cdot a \cdot V}{D \cdot H \cdot V}, \quad (18)$$

где: D - оптическая плотность контрольного раствора;

D_1 - оптическая плотность опытного раствора;

a - количество внесенного крахмала (0.06 г), г ;

H - масса навески, г;

V - объем исходной ферментной вытяжки, см³;

V_1 - объем вытяжки, взятой для инкубирования, см³.

Контрольные вопросы по теме «Определение ферментов»

1. Природа ферментов. К какому классу ферментов относятся амилазы? К какому классу белков относятся амилазы? Механизм расщепления крахмала

- α и β -амилазами. Сахарообразующая и газообразующая способность муки.
2. Получение ферментного препарата. Различие ферментных препаратов из муки и солода.
 3. Определение суммарной активности α и β амилаз. Кислотный оптимум активности α и β -амилаз.
 4. Определение активности α -амилазы. Температурный оптимум α и β -амилаз. Роль ацетата кальция в ходе анализа.
 5. Расчет активности β -амилазы.

Перечень основной нормативной документации, используемой при определении ферментов.

1. ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб.
2. ГОСТ 26574-85 Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия.
3. ГОСТ Р 52189 -2003 Мука пшеничная. Общие технические условия.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ

Витамины - это биологически активные вещества с относительно низкой молекулярной массой. Они входят в активные группы двухкомпонентных ферментов. При отсутствии или недостаточном их количестве в них

ослабляются биохимические процессы, нарушается обмен веществ, что приводит к тяжелым заболеваниям, а иногда и гибели организма. Недостаток витаминов приводит к авитаминозам, избыток их также вреден - также возникают нарушения процессов обмена - гипervитаминозы.

К витаминам относятся несколько десятков различных химических соединений. Некоторые из них обладают аналогичной витаминной активностью, поэтому их объединяют в родственные группы, иногда обозначаемые как один витамин.

Классификация витаминов обычно основана на их растворимости в воде или жирах

Лабораторная работа № 16

Количественное определение витаминов.

Цель работы: Изучить и освоить методы определения витаминов.

Задание 1: Определить количество каротина в моркови (по Цирелю К.Е.)

Материалы для работы: образцы моркови, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. Стандартный раствор бихромата калия (0,707г $K_2Cr_2O_7$ растворяют в 1л дистиллированной воды). Титр этого раствора по каротину 0,00416 мг/мл;
2. Al_2O_3 10% влажности (к 90 г безводной окиси алюминия прибавляют 10мл воды, тщательно перемешивают, хранят под шлифом);
3. CaO безводная;
4. Na_2SO_4 безв.;
5. Органический растворитель (бензин авиационный, гексан).

Ход анализа

Определение каротинов основано на их растворимости в органических растворителях. Растворы каротинов в органических растворителях имеют интенсивно желтую окраску. Кристаллический каротин очень легко окисляется на воздухе, поэтому для фотоколориметрического его определения в качестве калибровочных растворов используют раствор бихромата калия (молярный коэффициент поглощения растворов $K_2Cr_2O_7$ практически равен молярному коэффициенту поглощения каротинов). При исследовании растительного сырья в органический растворитель переходят и другие пигменты (хлорофилл), которые отделяют от каротина путем настаивания с сорбентами (Al_2O_3 , CaO).

I. Построение калибровочного графика. В мерные колбы на 50 мл помещают 5,10,15,20,25 мл стандартного раствора бихромата калия и доводят до метки дистиллированной водой. При измерении оптической плотности

(длина волны 400 нм и толщина светопоглощающего слоя 25 мм) в качестве раствора сравнения используют воду. Строят зависимость оптической плотности от количества мг каротина.

II. Калибровка конических колб: в коническую колбу на 100мл помещают 5г песка или измельченного стекла, 15г безводного сульфата натрия, 10г окиси алюминия и 0,5г окиси кальция, заливают 50мл органического растворителя и наносят на стекле метку восковым карандашом.

III. Навеску исследуемого материала 1-3г, взвешенную с точностью до 0,01г растирают с 5г песка или измельченного стекла, количественно переносят в коническую колбу, добавляют 5г сульфата натрия, 10г окиси алюминия, 0,5г окиси кальция и 50 мл гексана. Тщательно перемешивают, герметично закрывают колбу и оставляют на 18-20 часов в темном месте. Затем осторожно пипеткой с резиновой грушей отбирают прозрачный раствор и измеряют его оптическую плотность. Если оптическая плотность раствора очень велика, его разбавляют в определенное число раз, учитывая это разбавление при расчете.

Расчет ведут по формуле(19):

$$x = \frac{a \cdot 100}{m_{нав}} , \quad \text{мг / 100 г продукта,} \quad (19)$$

Задание 2: Определить количество витамина Р (рутина) в чае.

Материалы для работы: образцы настоев чая, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. раствор KMnO_4 0.05н;
2. индигокармин (0,5г индигокармина растирают в фарфоровой ступке, растворяют в 5мл концентрированной серной кислоты, осторожно доводят водой до объема 100 мл, фильтруют и хранят в темной склянке 7-10 дней);
3. чай или готовый экстракт.

Ход анализа.

Принцип метода заключается в способности рутина окисляться перманганатом калия, в качестве индикатора используется индигокармин, который вступает в реакцию с перманганатом после того, как окислится весь рутин. Экспериментально установлено, что 1мл 0,1н раствора перманганата калия окисляет 6,4мкг рутина.

К 100 мг чая приливают 50 мл горячей дистиллированной воды, настаивают в течение 5 минут и перемешивают. Переносят 10 мл экстракта в коническую колбу на 100 мл, добавляют 10 мл дистиллированной воды и 5 капель индикатора индигокармина; появляется синее окрашивание. Титруют из микробюретки 0,05 н раствором перманганата калия до появления устойчивой желтой окраски.

Количество рутина определяют по формуле (20):

$$X = \frac{3,2 \cdot A \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot P \cdot 100}, \text{ мкг/100 г,} \quad (20)$$

Где: 3,2 - пересчетный коэффициент;

A - объем титранта, мл;

V_2 - объем экстракта, мл;

V_1 - аликвота экстракта, взятая на титрование;

P - масса навески, мг.

Задание 3: Определить количество витамина С а) в капусте, б) в картофеле.

Материалы для работы: образцы капусты и картофеля, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. натриевая соль 2,6 дихлорфенолиндифенола;
2. 0,001 н раствор 10% HCl.

Ход анализа.

Принцип метода основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать 2,6 дихлорфенолиндифенол, который в кислой среде имеет красную окраску, а при восстановлении обесцвечивается, в щелочной среде окраска синяя. Так как витамин С - соединение неустойчивое, особенно в нейтральной и щелочной средах исследуемый раствор титруют в кислой среде щелочным раствором 2,6 дихлорфенолиндифенола до появления розового окрашивания.

а) Определение витамина С в капусте. Навеску капусты около 1г, взвешенную с точностью до 0,01г, растирают в ступке с 2мл 10% HCl, приливают 8мл воды и фильтруют. На титрование берут пипеткой 2мл фильтрата в коническую колбу на 100мл, прибавляют 10 капель HCl и титруют раствором 2,6 дихлорфенолиндифенола до розовой окраски, устойчивой в течение 30с.

б) Определение витамина С в картофеле. Навеску картофеля около 5 г, взвешенную с точностью до 0,01г растирают в ступке с 20 каплями 10 % HCl. Постепенно вливают в ступку 15мл дистиллированной воды, постоянно помешивая. Полученную массу количественно переносят в коническую колбу на 100 мл и титруют 0,001 н раствором 2,6 дихлорфенолиндифенола до розовой окраски, устойчивой в течении 30 с.

Количество витамина С определяют по формуле (21):

$$X = \frac{0,088 \cdot U \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot m_{нав}}, \quad (21)$$

где: 0,088 - титр 0,001 н раствора титранта по аскорбиновой кислоте,

мг/мл;

U - объем титранта, мл;

V_1 - объем вытяжки, мл;

V_2 - аликвота вытяжки, взятая на титрование, мл;

$m_{нав}$ - масса навески, г.

Контрольные вопросы по теме «Количественное определение витаминов»

1. Классификация витаминов.
2. В каком пищевом сырье содержатся определенные витамины? Их функции в организме, свойства.
3. Определение каротина. Связь между растворами $K_2Cr_2O_7$ и каротином. Закон Бугер-Ламберта-Бэра, границы его применимости.
4. К какому типу относятся реакции, лежащие в основе определения рутина и аскорбиновой кислоты?

Перечень основной нормативной документации, используемой при определении витаминов.

1. ГОСТ 1721-85 Морковь столовая свежая.
2. ГОСТ 16731-71 Белые корни.
3. 18. ГОСТ 1936-85 «Чай. Правила приемки и методы анализа».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ (ЩЕЛОЧНОСТИ)

Титруемая кислотность может быть определена по питательной смеси (ГОСТ 5898-74) (водно-мучной суспензии), по вытяжке (водному экстракту), по спиртовому или водно-спиртовому экстракту.

ГОСТами на муку и хлеб предусмотрено определение титруемой кислотности по питательной смеси. Результаты при этом получаются несколько завышенные, т.к. часть щелочи адсорбируется на крахмале и

белках. Определение кислотности по водному экстракту дает заниженные результаты, т.к. на фильтре остаются нерастворимые жирные кислоты. Сравнивая результаты этих определений, можно получить представления о доле жирных кислот в общем количестве кислотореагирующих соединений.

Наиболее точные результаты дало титрование водно-спиртового экстракта, т.к. в нем оттитровываются все кислотореагирующие вещества, а адсорбция щелочи частицами муки практически исключена.

Различают титруемую и активную кислотность. Титруемая кислотность обычно выражается в градусах кислотности, под которым понимают число мл однонормального раствора щелочи, расходуемое на нейтрализацию кислотореагирующих соединений, содержащихся в 100 г продукта.

Активная кислотность определяется значениями рН водной вытяжки или суспензии.

Для многих видов пищевого сырья и продуктов питания кислотность определяется соответствующими ГОСТами.

Лабораторная работа № 17

Определение титруемой кислотности (щелочности)

Цель работы: Изучить и освоить методы определения титруемой кислотности (щелочности).

Задание 1: Определение поправочного коэффициента к титру раствора КОН методом потенциометрического титрования.

Материалы для работы: химические реактивы, химическая посуда, потенциометр.

Ход анализа.

Потенциометрическое титрование основано на определении точки эквивалентности по изменению величины электродного потенциала в конце титрования, зависящей от концентрации водородных ионов. Точка эквивалентности определяется по перегибу на кривой титрования, построенной в координатах рН - объем титранта. Метод применяется для анализа всех видов пищевого сырья, в особенности для окрашенных вытяжек и суспензий.

1. Измерение рН производится при помощи рН-метра. Порядок работы с прибором следующий:

- а) проверить заполнение вспомогательного электрода, в случае необходимости залить его насыщенным раствором КСl;
- б) промыть электроды дистиллированной водой;
- в) в присутствии лаборанта или преподавателя настроить прибор по буферному раствору.

2. Определение титра раствора КОН.

Так как при хранении титр раствора щелочи изменяется вследствие поглощения CO_2 , его необходимо устанавливать перед проведением анализа. В стаканчик на 50 мл поместить 10 мл раствора HCl с концентрацией 0,1н. Опустить электроды в стакан так, чтобы они не касались его дна и стенок. Прилить такой объем дистиллированной воды, чтобы шарик стеклянного электрода был полностью погружен в раствор. Из бюретки приливать по 1 мл раствора KOH , перемешивая раствор в стаканчике круговыми движениями. **(Осторожно!!! Стеклянный электрод очень тонкий и хрупкий!)**.

Записать полученные при этом значения рН. Так как точка эквивалентности определяется графически, измерения рН можно проводить в грубом диапазоне. Результаты титрования можно оформить в виде таблицы:

Результаты титрования

Объем титранта	рН
----------------	----

Определив эквивалентный объем раствора KOH , рассчитать его концентрацию щелочи и поправочный коэффициент:

$$C(\text{KOH}) = \frac{C(\text{HCl})V(\text{HCl})}{V(\text{KOH})} \quad K = \frac{C_{\text{теор}}(\text{KOH})}{C_{\text{пр}}(\text{KOH})} = \frac{0,1}{C_{\text{пр}}}$$

Задание 2: Определить титруемую кислотности муки по водно-мучной суспензии.

Материалы для работы: образцы муки, химические реактивы, химическая посуда.

Реактивы:

1. 0,1 н раствор KOH ;
2. фенолфталеин (1% спиртовой раствор).

Ход анализа.

Определение титруемой кислотности муки производят по водно-мучной суспензии (по питательной смеси) (ГОСТ 9404-60).

Титруемая кислотность обусловлена содержанием в ней свободных жирных кислот, кислых фосфатов, белковых веществ, имеющих кислую реакцию и т.д. При хранении муки происходит увеличение титруемой кислотности в результате расщепления сложных соединений и превращения их в продукты, имеющие кислый характер. Мука с повышенной кислотностью - либо хранилась долгое время, либо хранилась при неблагоприятных условиях (при повышенной температуре и влажности).

5г муки, взвешенной с точностью до 0,01г, помещают в коническую колбу на 150-200 мл, приливают 50 мл дистиллированной воды, взбалтывают до образования комочков, добавляют 5 капель фенолфталеина и титруют раствором KOH до розовой окраски, не исчезающей в течение 1 минуты.

Кислотность в градусах определяют по формуле (22):

$$K = \frac{a \cdot 100}{m_{нав} \cdot 10}, \quad (22)$$

где: a - объем 0,1 н раствора КОН, израсходованный на титрование, мл;
 $m_{нав}$ - масса навески, г;
 10 — коэффициент приведения концентрации раствора КОН к 1 н;
 100 - пересчет на 100 г продукта.

Кислотность не стандартизирована, поэтому для оценки качества муки можно пользоваться следующими ориентировочными данными: при нормальных условиях и длительности хранения кислотность

Ржаной муки: сеяной - 4 град;
 обдирной - 5 град;
 обойной - 5,5 град.
 Пшеничной: высшего сорта – 3;
 I сорта - 3,5;
 II сорта - 4,5;
 обойной – 5.

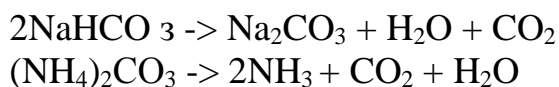
Задание 3: Определить титруемую щелочность печенья.

Материалы для работы: образцы печенья, химические реактивы, химическая посуда.

Ход анализа.

Определение титруемой щелочности печенья производят в соответствии с ГОСТ 5898-74.

Для разрыхления теста в печенье применяют химические разрыхлители основного характера. При нагревании теста в печи эти вещества разлагаются с выделением газов, которые разрыхляют тесто:



Избыток разрыхлителя и продукты его разложения обуславливают щелочность печенья. Ее выражают в градусах - градус щелочности равен количеству мл раствора 1н HCl, пошедшего на нейтрализацию щелочи в 100г печенья. Щелочность печенья определяют путем титрования водной вытяжки раствором 0,1 н H_2SO_4 до pH 7. Конец титрования определяют потенциометрически или по изменению окраски индикатора (бромтимолового синего).

25г тонко измельченного печенья, взвешенного с точностью до 0,01г, помещают в коническую колбу на 300-500 мл, приливают 250мл дистиллированной воды, энергично взбалтывают и оставляют на 30 минут, взбалтывая каждые 10 минут. Затем фильтруют через вату в сухую колбу. 50мл

фильтрата пипеткой вносят в коническую колбу для титрования, прибавляют 2-3 капли раствора индикатора и титруют раствором кислоты до изменения окраски.

Щелочность рассчитывают по формуле (23):

$$щ = \frac{a \cdot 100}{m_{нав} \cdot 10}, \quad (23)$$

где: a - объем раствора HCl , пошедший на титрование, мл;

$m_{нав}$ - масса навески, г.

Для всех сортов печенья щелочность не должна превышать 2°.

Контрольные вопросы по теме «Определение кислотности (щелочности)»

1. Титруемая и активная кислотность.
2. Определение кислотности муки и хлеба в водно-мучной суспензии фильтрата, водно-спиртовой вытяжке.
3. рН, расчет поправочного коэффициента к титру раствора щелочи.
4. Чем обусловлена кислотность муки, хлеба? В каких единицах выражается?
5. Чем обусловлена щелочность кондитерских изделий? Единицы ее выражения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаева, М.А. Теоретические основы товароведения и экспертизы товаров. В 2 ч. Ч. 2: Модуль II. Товарная экспертиза [Электронный ресурс]: учебник / М.А. Николаева. - М.: Норма: ИНФРА-М, 2014. - 192 с. - ЭБС «Znanium.com» - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=452675>

2. Экспертиза свежих плодов и овощей. Качество и безопасность [Электронный ресурс]: учебно-справочное пособие / Т.В. Плотникова [и др.]. - Саратов: Вузовское образование, 2014. - 311 с. - ЭБС «IPRbooks» - Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/4173.html>

3. Евдохова, Л.Н. Товарная экспертиза [Электронный ресурс] : учеб. пособие / Л.Н. Евдохова, С.Л. Масанский. - Минск : Выш. шк., 2013.- 332 с. - ЭБС «Znanium. com» - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=508632>

4. Товароведение и экспертиза потребительских товаров [Электронный ресурс]: учебник / рук. авт. колл. В.В.Шевченко. - М.: ИНФРА-М, 2012-752с. - ЭБС «Znanium.com» - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=303951>

5. Николаева, М.А. Идентификация и обнаружение фальсификации продовольственных товаров [Электронный ресурс]: учебное пособие / М.А. Николаева, М.А. Положишникова. - М.: ФОРУМ: Инфра-М, 2018. - 464 с. - ЭБС «Znanium.com» - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=952273>

9. Заворохина, Н.В. Сенсорный анализ продовольственных товаров на предприятиях пищевой промышленности, торговли и общественного питания [Электронный ресурс]: учебник. / Заворохина Н.В., Голуб О.В., Позняковский В.М. - М.: ИНФРА-М, 2017. - 144 с. - ЭБС «Znanium.com» - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=891059>

10. Кажаяева, О. И. Товароведение и экспертиза продовольственных товаров [Электронный ресурс]: учебное пособие / О. И. Кажаяева, Л. А. Манихина. - Оренбург: Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2014. - 211 с. - ЭБС «IPRbooks» - Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/24347.html>