

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ДЕПАРТАМЕНТ НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПОЛИТИКИ
И ОБРАЗОВАНИЯ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Новые физико-химические и
биотехнологические методы обработки
пищевого сырья и продуктов**

**Учебное пособие
для обучающихся по программе магистратуры
19.04.03 Продукты питания животного происхождения**

**Персиановский
2019**

УДК 664:637.07

ББК 36

Н 76

Рецензенты: **Крючкова В.В.**, д-р тех. наук., профессор кафедры пищевых технологий Донского ГАУ

Тариченко А.И., д-р с.-х. наук, зав. кафедрой товароведения и экспертизы товаров Донского ГАУ

Н76 Новые физико-химические и биотехнологические методы обработки пищевого сырья и продуктов : учебное пособие для обучающихся по программе магистратуры 19.04.03 Продукты питания животного происхождения / сост.: А.Л. Алексеев ; Донской ГАУ. – Персиановский : Донской ГАУ, 2019. - 183 с.

В учебном пособии представлены разделы по изучению свойств пищевой продукции, приведены методы сенсорного, органолептического анализа; инструментальные и физико-химические методы исследования состава и свойств пищевого сырья и продуктов. Рассмотрены методы исследования белков, липидов, углеводов, микроэлементов и витаминов. Пособие предназначено для обучающихся по программе магистратуры 19.04.03 Продукты питания животного происхождения.

УДК 664:637.07

ББК 36

Утверждено на заседании методической комиссии биотехнологического факультета протокол №7 от 26 марта 2019 г.

Рекомендовано к изданию методическим советом университета протокол №2 от 28 марта 2019 г.

© ФГБОУ ВО Донской ГАУ, 2019

©Алексеев А.Л., составление, 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ И ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ.....	6
1.1 Классификация методов исследования пищевого сырья и продуктов.....	6
1.2 Комплексная оценка качества и безопасности пищевого сырья и продуктов. Основные понятия и термины	12
1.3 Общие принципы анализа и подготовки проб	16
Контрольные вопросы.....	21
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ СЕНСОРНОГО АНАЛИЗА.....	23
Контрольные вопросы.....	34
ГЛАВА 3. ИЗМЕРИТЕЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
3.1 Инструментальные методы исследования свойств пищевых продуктов.....	34
3.2 Реологические методы исследования	38
3.3 Спектральные методы	44
3.4 Рефрактометрия и поляриметрия	53
3.5 Хроматография.....	56
Контрольные вопросы.....	58
ГЛАВА 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТАВА И СВОЙСТВ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ	59
4.1 Относительная плотность	59
4.2 Кислотность.....	60
4.3 Методы определения влаги.....	62
4.4 Методы исследования белков в пищевом сырье и продуктах переработки	72
4.5 Методы исследования липидов в пищевом сырье и продуктах переработки	92
4.6 Методы исследования углеводов в пищевом сырье и продуктах переработки	100
4.7 Витамины.....	106
4.7.1. Жирорастворимые витамины и методы их определения.....	111

4.7.2. Водорастворимые витамины и методы их определения.....	116
4.7.3. Витаминоподобные вещества.....	134
4.8 Минеральные вещества	136
4.8.1 Методы определения микроэлементов.....	140
4.9 Методы определения гидролитических ферментов в продовольственном сырье и пищевых продуктах	155
4.10 Методы определения функционально-технологических свойств пищевых продуктов	160
4.11 Методы определения безопасности пищевых продуктов.....	162
Контрольные вопросы.....	180
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	183

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важнейших направлений, определяющих здоровье населения, является обеспечение качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов.

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

Исследование любого пищевого продукта – сложная аналитическая задача. Из-за особенностей состава и многокомпонентности продуктов необходимо приспособлять 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.

Сегодня можно выделить следующие методы, нашедшие широкое применение в пищевой промышленности: газовая хроматография, жидкостная хроматография, атомно-абсорбционная спектрометрия, фотометрия, люминесценция, капиллярный электрофорез, инфра-красная спектроскопия, электрохимия, классические методы анализа (титриметрия, гравиметрия), реологические методы исследования.

Они незаменимы для установления безвредности пищевого сырья в связи с возможным попаданием различных химических соединений, применяемых для борьбы с вредителями сельского хозяйства (пестициды), радиоактивных изотопов, искусственных красителей, химических консервантов, полициклических ароматических углеводородов. Кроме того, современные методы контроля позволяют изучить состав и свойства пищевых продуктов, их качество и пищевую ценность, выявить изменения, не обнаруживаемые органолептическими или обычными физическими и химическими методами, спрогнозировать изменение качества, установить способы хранения и сроки использования.

ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ И ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ

1.1 Классификация методов исследования пищевого сырья и продуктов

Классификация методов исследования пищевого сырья и продуктов его переработки включает: химические, физико-химические, биохимические методы и т.д.

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; осуществляется 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.

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.

Органолептические методы - методы, осуществляемые на основе анализа восприятий органов чувств. Значения показателей качества находятся путем анализа полученных ощущений на основе имеющегося опыта. Толкование термина «органолептический» происходит от греческого

слова «organon» (орудие, инструмент, орган) плюс «lepticos» (склонный брать или принимать) и означает «выявленный с помощью органов чувств».

Органолептические свойства - это свойства объектов, оцениваемые органами чувств человека (вкус, запах, консистенция, окраска, внешний вид и т.п.). Органолептический анализ пищевых и вкусовых продуктов проводится посредством дегустаций, т.е. исследований, осуществляемых с помощью органов чувств специалиста - дегустатора без применения измерительных приборов.

На рисунке 1 приведена классификация органолептических показателей соответственно воспринимающим органам чувств.



Рисунок 1 – Классификация органолептических показателей

*флевор (вкусоароматическое впечатление) - комплексное впечатление вкуса, запаха и осязания при распределении в полости рта, определяемое как качественно, так и количественно

Для оценки некоторых продуктов применяют специфические признаки,

не показанные в приведенной классификации.

Контроль качества продуктов питания, как правило, основан на сочетании органолептических и инструментальных (или других не-сенсорных) методов. Например, микробиологические показатели на-ряду с органолептическими применяют для оценки свежести пищи.

В зависимости от поставленной задачи применяют различные методы, которые можно разделить на три группы:

- методы приемлемости и предпочтения (предпочтительности, желательности, удовлетворительности);
- методы различительные (сравнения, различения, дифференциации);
- методы описательные.

Методы приемлемости и предпочтения используют, когда необходимо знать мнение потребителей о качестве продуктов, поэтому к дегустациям обычно привлекают большое число потребителей.

Различительные методы применяют, когда требуется выяснить, существует ли разница между оцениваемыми образцами. Некоторые методы из этой группы позволяют также количественно оценить имеющуюся разницу. Различительные методы широко используют также при проверке сенсорных способностей дегустаторов.

С помощью описательных методов можно суммировать параметры, определяющие свойства продукта, рассматривать интенсивность этих свойств, а в некоторых случаях и порядок проведения отдельных составляющих свойств продукта, т.е. построить профили свойств (например, профили вкуса, запаха, консистенции продукта).

Методы потребительской оценки ставят своей целью проверку реакции потребителей в связи с изменением рецептуры и технологических режимов. Одновременно с новым продуктом необходимо оценивать существующий продукт, приготовленный традиционным способом. Поскольку потребители очень разные, рекомендуются соблюдать следующие условия:

- к оценке привлекать широкий круг потребителей предпочтительно

того региона, где продукт будет реализовываться. При этом следует ориентироваться на мнение такой категории лиц, для которой продукт предназначен. Например, к оценке качества изделий детского назначения привлекать детей соответствующего возраста и их родителей;

- результаты потребительской оценки будут более достоверными, если к дегустациям продуктов одной товарной группы привлекать постоянный коллектив оценщиков, предварительно прошедших ознакомление с правилами проведения дегустаций и применяемыми методами.

Аналитические методы органолептического анализа основаны на количественной оценке показателей качества и позволяют установить корреляцию между отдельными признаками. К аналитическим относят методы парного сравнения, треугольный, дуо-трио, ранговый, балловый и др.

Дегустационная комиссия должна состоять из 5-9 человек, обладающих специальными знаниями, навыками и проверенной чувствительностью.

Среди аналитических методов можно выделить группы качественных и количественных различительных тестов.

Методы качественных различий позволяют ответить на вопрос, есть ли разница между оцениваемыми образцами по одному из показателей качества (вкусу, запаху, консистенции, внешнему виду) или общему впечатлению о качестве, но не отвечают на вопрос, какова разница между образцами. К этой группе относятся методы сравнения: парного, треугольного, два из трех (дуо-трио), два из пяти. Они основаны на сравнении двух подобных образцов со слабо выраженными различиями. Образцы могут быть представлены в виде пары (парный метод), в виде проб из трех образцов (два из которых идентичны) или в виде проб из пяти образцов (один образец повторяется в пробе два раза, другой - три раза). Пробы должны быть закодированы. Методы применяют в тех случаях, когда следует убедиться, имеются ли различия между двумя образцами продукта. Эти тесты применяют также при

отборе дегустаторов.

К качественным различительным тестам относятся методы индекса разбавления и метод scoring. Эти методы позволяют количественно оценить интенсивность определенного свойства или уровень качества продукта в целом.

Метод индекса разбавлений предназначен для определения интенсивности запаха, вкуса, окраски продукта по величине предельного разбавления. Метод состоит в том, что жидкий продукт подвергают ряду возрастающих разбавлений до получения концентрации, при которой отдельные показатели не улавливаются органолептически. Показатель (индекс) вкуса, запаха, окраски выражается числом разбавлений или процентным содержанием исходного вещества в растворе.

Метод scoring (с англ. отсчет очков) основан на использовании шкал графических и словесных. Дегустатору предлагают два образца продукта, для которого оцениваемая характеристика имеет минимальное и максимальное значение, и один образец, для которого интенсивность характеристики не известна. При сравнении третьего образца с двумя первыми оценивается относительное значение характеристики и отмечается на шкале перпендикулярным штрихом с учетом расстояния от обоих концов.

Метод scoring (баллов) позволяет количественно оценивать качественные признаки продуктов и открывает большие возможности для изучения корреляции между органолептическими свойствами продуктов и объективными параметрами, измеряемыми инструментальными методами.

Наиболее объективную информацию можно получить, только используя измерительные методы. По сравнению с органолептическим анализом они более длительные и сложные, но лишены субъективности эксперта.

1.2 Комплексная оценка качества и безопасности пищевого сырья и продуктов. Основные понятия и термины

Качество пищевых продуктов – это совокупность свойств,

обеспечивающих физиологические потребности человека в пищевых и вкусовых веществах, т. е. совокупность их пищевой ценности и потребительских достоинств. Качество выпускаемых продуктов зависит от многих факторов, среди которых первостепенное значение имеют состав и свойства сырья, рецептуры, условия и режимные параметры технологических процессов производства и хранения, качество используемого оборудования и упаковки.

Пищевая ценность продуктов – это комплекс веществ, определяющих их биологическую и энергетическую ценность. Она характеризуется доброкачественностью (безвредностью) и усвояемостью продуктов, массовой долей питательных и биологически активных веществ, а также их соотношением, органолептической и физиологической ценностью.

Доброкачественность пищевых продуктов (гигиенические и токсикологические показатели) характеризуется:

- органолептическими (цвет, вкус, запах, консистенция, внешний вид) и химическими (химический состав) показателями;
- отсутствием токсинов (ядов), болезнетворных микробов (сальмонелл, протей, бутулинуса и др.), яиц глистов, вредных соединений (ртути, свинца, 3,4-бензпиррена, пестицидов и др.), семян ядовитых растений и посторонних примесей (металла, стекла и т. д.).

Энергетическая ценность – это количество энергии, которая образуется при биологическом окислении содержащихся в продуктах жиров, углеводов и белков и используется для физиологических функций организма.

Важный показатель пищевой ценности продукта – содержание питательных веществ и их соотношение. Оптимальное соотношение между белками, жирами и углеводами в пищевых продуктах для взрослых и детей старшего возраста составляет 1:1:4, для детей младшего возраста – 1:1:3.

Однако питательность пищевых продуктов определяется не только их энергетической ценностью, но и биологической полноценностью, т. е. сбалансированным содержанием незаменимых аминокислот,

полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов, витаминов, минеральных веществ, полифенольных соединений.

Усвояемость пищевых продуктов выражается коэффициентом усвояемости, показывающим, какая часть продукта в целом используется организмом. Усвояемость зависит от внешнего вида, консистенции, вкуса и аромата продукта, количества и качества пищевых веществ, содержащихся в нем, а также от возраста, самочувствия, организма человека и других факторов. При смешанном питании усвояемость белков принята равной 84,5%; жиров – 94%; углеводов – 95,6%.

Влияние органолептических свойств на пищевую ценность продуктов обусловлено воздействием на органы чувств человека и зависит от сложившихся традиций, навыков и вкусов. Внешний вид, консистенция, запах, вкус, состав, степень свежести обуславливают органолептическую ценность пищевых продуктов.

Под физиологической ценностью продуктов подразумевают влияние содержащихся в них веществ на нервную, сердечно-сосудистую, пищеварительную и другие системы, а также на сопротивляемость организма инфекционным заболеваниям.

Помимо рассмотренных показателей, важной характеристикой качества продуктов является стабильность свойств, определяющих степень возможных изменений пищевой ценности и безвредности продукта в процессе хранения, транспортировки и реализации.

Качество продукции оценивают сложным комплексом характеристик, определяемых с помощью различных методов анализа.

Показатель качества – это количественная характеристика одного или нескольких полезных свойств продукта. Качество пищевых продуктов оценивают по единичным и комплексным показателям. Единичный показатель качества характеризует одно из свойств продукта, а комплексный – несколько его свойств.

В отдельных случаях качество продукции оценивают по какому-

либо определяющему показателю. Так как степень значимости отдельных показателей качества неодинакова, необходимо ввести коэффициент весомости. Он широко применяется при определении органолептических показателей качества.

Коэффициент весомости – количественная характеристика значимости показателя среди других показателей при вычислении комплексного показателя качества. Коэффициент весомости можно определить на основе экспертного заключения. В наиболее простом виде комплексный показатель качества представляет собой сумму произведения оценок единичных показателей качества и их весомости.

При комплексной оценке уровня качества пищевых продуктов используют показатели, дающие представление о пищевой ценности продукта, его безопасности, стабильности свойств и отдельных технологических характеристиках. Каждый из показателей, включенных в совокупность свойств, оценивают комбинацией частных признаков.

В нормативной документации установлены регламентированные значения показателей качества продовольственных товаров, причем указываются их предельные значения, т. е. наибольшие или наименьшие регламентированные значения показателей качества.

Оценка качества продукции – совокупность операций, включающая выбор номенклатуры показателей качества оцениваемой продукции, определение значений этих показателей и сопоставление их с базовыми.

Основным при оценке качества продукции является технический контроль, т. е. проверка соответствия продукции или процесса, от которого зависит ее качество, установленным техническим требованиям.

При сплошном контроле проверяют качество каждой единицы продукции. Однако методика такого контроля трудоемкая и дорогая, поэтому чаще применяют выборочный контроль, т. е. контроль выборок или проб из партий или потока продукции. При правильном проведении выборочного контроля результаты выборочной проверки качества продуктов

распространяют на всю партию.

1.3 Общие принципы анализа и подготовки проб

Инструментальные методы анализа пищевого сырья и продуктов можно условно разделить на методы разделения и концентрирования и методы обнаружения пищевых компонентов.

Для описания разделения и концентрирования применяют три термина: разделение, концентрирование и выделение.

Разделение – это операция, в результате которой компоненты, составляющие продукт, отделяют один от другого. В одном случае компоненты продукта могут отличаться или не отличаться друг от друга по концентрации, а в другом – резко различаться.

Концентрирование – операция, в результате которой повышается отношение концентрации или количества микрокомпонентов к концентрации или количеству макрокомпонентов продукта. Действительно, чаще всего говорят о концентрировании компонентов, присутствующих в малых или очень малых концентрациях. Концентрирование микроэлементов занимает важное место среди приемов современного анализа.

Под выделением подразумевают операцию, при которой нужные компоненты продукта выделяют в самостоятельную фазу или часть фазы.

Для разделения и концентрирования используют чаще всего одни и те же методы: экстракцию; осаждение и соосаждение; сорбционные, кристаллизационные, электрохимические и дистилляционные методы; сублимацию; флотацию и др.

Напротив, методы бумажной и тонкослойной хроматографии больше подходят для разделения пищевых компонентов, чем для их концентрирования.

Эффективность метода анализа зависит от того, насколько правильно выбраны условия, обеспечивающие количественный переход нужного (или мешающего) компонента продукта в одну из фаз.

Аналитический цикл включает отбор пробы, ее обработку для

подготовки к определению, собственно определение и обработку результатов.

Концентрирование является составной частью стадии обработки (подготовки) пробы. Наряду с ним этапами этой стадии анализа может быть разложение пробы, например растворением, маскирование и простое разделение отдельных ее компонентов.

Выбор операций на стадии подготовки пробы главным образом зависит от решаемой задачи, природы объекта и метода последующего определения.

За лабораторный образец принимают часть средней пробы, выделенную для лабораторного анализа. Порядок отбора образцов, проб и отдельных единиц для осмотра, испытания или лабораторного исследования устанавливается требованиями нормативно-технической документации на каждый вид продовольственных товаров. Отклонение от установленных правил отбора образцов и проб для анализа ведет к получению недостоверных результатов.

К органолептическим показателям, общим для характеристики почти всех пищевых продуктов, относят внешний вид, вкус, запах, консистенцию. Среди них наиболее значимыми являются внешний вид, вкус и запах, так как они имеют решающее значение для оценки качества пищевых продуктов. Органолептическая оценка этих показателей в большинстве случаев является единственно возможной при определении качества продуктов.

Консистенцию пищевых продуктов также можно определить измерительными методами, однако при этом характеризуется только одно или несколько структурно-механических свойств и не учитывается весь их комплекс, дающий общее представление о консистенции. Только органолептический метод позволяет в полной мере дать общую оценку консистенции пищевых продуктов. Таким образом, органолептический метод имеет решающее значение при проведении контроля качества пищевых продуктов. Несмотря на кажущуюся простоту, доступность и быстроту

органолептической оценки, требуются значительные знания и навыки для ее оценки.

Органолептическая оценка – это совокупность операций, включающая выбор номенклатуры органолептических показателей качества продукта, определение этих показателей и сопоставление их с базовыми.

Органолептические показатели определяют в такой последовательности: сначала определяют внешний вид, а затем цвет, запах, консистенцию и вкус. При оценке внешнего вида продукта определяют его форму, характер поверхности, однородность по размеру (плоды, ягоды, овощи и др.).

Внешний вид продукта – это комплексный показатель, включающий ряд таких единичных показателей, как форма, цвет, состояние поверхности. Для некоторых видов продуктов комплексный показатель «внешний вид» дополняется специфичными показателями. К специфичным показателям относят состояние тары, упаковки или заливки, свежесть, состояние отдельных компонентов, например состояние рассола или заливки, состояние жира и сухожилий, качество бульона, прозрачность (безалкогольные напитки, осветленные соки, растительное масло и др.), качество посола (масло сливочное) или разделки (свежая, копченая рыба), состояние и толщину глазури (мороженая рыба).

При оценке внешнего вида консервной продукции определяют равномерность резки, качество укладки, строение разреза, разлома, состояние заливки, соуса, маринада, сиропа, масла.

При определении цвета устанавливают различные отклонения от цвета, специфического для данного вида продукта. Например, при оценке цвета виноградных вин разных типов решающее значение имеют цветовой тон и насыщенность цвета. Например, цветовой тон марочных сухих вин – рубиново-красный, густой, насыщенный, без постороннего оттенка; цветовой тон сухих белых вин – желтоватый, цвета чайной розы; кагор – интенсивный темно-красный. Чистота цвета, особенно белого, для ряда

пищевых продуктов является показателем загрязненности посторонними примесями или окрашенными частицами самого продукта и служит одним из критериев товарного сорта муки, крахмала, поваренной соли. При органолептической оценке цвета следует учитывать явление цветового контраста, проявляющееся в том, что любой цвет на более темном фоне «светлеет», а на светлом фоне – «темнеет». Поэтому при сопоставлении фактического значения цвета с эталоном необходимо создавать одинаковый фон.

При оценке запаха определяют типичный аромат, гармонию запахов, так называемый «букет», устанавливают наличие посторонних запахов. Для характеристики запаха некоторых пищевых продуктов применяют термины «аромат» и «букет». Аромат обусловлен естественными ароматическими веществами исходного сырья, а букет – комплексом ароматических соединений, образующихся при технологических процессах формирования продуктов. Так, для соков, быстрозамороженных плодов и овощей, пряностей, плодоовощных консервов применяют термин «аромат»; для вин и зрелых сыров – «букет». Умение различать оттенки запаха, характерные для исходного сырья, а также обусловленные вновь образованными веществами при производстве продукта и, особенно, при его хранении (посторонние, не свойственные готовому продукту запахи), является важным условием органолептической оценки его качества.

Дегустационную оценку качества продукта должны осуществлять лица, прошедшие испытания на сенсорную чувствительность.

Сенсорный анализ – оценка качества, проведенная оценщиками, у которых предварительно проверены органы чувств, зрение, что гарантирует точность и воспроизводимость результатов.

Сенсорная чувствительность – это способность восприятия внешнего импульса при помощи органов чувств.

Порог чувствительности – это наименьшая интенсивность импульсов, которые воспринимаются органами чувств. Пороги чувствительности для

различных видов впечатлений разные. Например, порог вкусовой чувствительности – это наименьшее количество вкусового вещества, вызывающее едва уловимое ощущение вкуса. Чем ниже порог чувствительности, тем выше чувствительность оценщика.

Порог распознавания – это наименьшая интенсивность импульсов, воспринимаемых органами чувств, которые качественно можно определить.

Порог разницы – это минимальная, но заметно воспринимаемая разница интенсивности между двумя импульсами одного и того же вида.

Сенсорная память – это способность запоминания, распознавания разных импульсов и сенсорных впечатлений.

Сенсорный минимум – минимальная чувствительность и способность органов чувств воспринимать впечатления, что особенно важно при контроле качества продовольственных товаров.

При оценке консистенции в зависимости от технических требований, предъявляемых к качеству отдельных продуктов, определяют густоту, клейкость и твердость продукта (консистенция жидкая, сиропообразная, густая, плотная). При оценке консистенции учитывают также нежность, волокнистость, грубость, рассыпчатость, крошливость, однородность, наличие твердых частиц. Для определения консистенции пищевых продуктов прилагают усилия – нажатием, надавливанием, прокалыванием, разрезанием, размазыванием с помощью столовых приборов.

При оценке вкуса определяют типичность вкуса для данного продукта, устанавливают наличие специфических нехарактерных вкусовых свойств и прочих посторонних привкусов. Качественное определение вкуса связано не только с определением основных вкусовых ощущений: сладкого, кислого, соленого, горького и их гармоничного сочетания, но и с осязанием пищи, что характеризуется терпкостью вкуса, остротой, жгучестью, нежностью. Вкус многих продуктов определяется также обонятельными ощущениями.

Для характеристики в комплексе вкуса, запаха и осязания, определяемых количественно и качественно, применяют термин «вкусоность

пищевых продуктов». При оценке качества пищевых продуктов применяют разные виды балльных систем. Например, при оценке качества масла, сыра применяют 100-балльные системы.

В настоящее время для оценки качества мяса и мясопродуктов используют пяти- и девятибалльные шкалы, согласно которым каждый показатель имеет соответственно 5 или 9 степеней качества. Ниже условленного балла продукт считается недоброкачественным.

По пятибалльной шкале:

- 5 баллов означают отличное качества;
- 4 балла – хорошее;
- 3 – удовлетворительное;
- 2 – неудовлетворительное, но допустимое;
- 1 – неудовлетворительное.

Рекомендуемая ВНИИМПом десятибалльная шкала расширяет диапазон органолептической оценки качества. Согласно ей каждый показатель шкалы имеет следующие количественные характеристики:

- для оптимального качества – 9;
- очень хорошего – 8;
- хорошего – 7;
- выше среднего – 6;
- среднего – 5;
- приемлемого, но нежелательного – 4 или 3;
- неприемлемого – 2 или 1.

Контрольные вопросы

1. Перечислить основные классификационные принципы методов исследования пищевого сырья и продуктов.
2. В чем состоит принципиальное различие инструментальных и органолептических методов исследования пищевых продуктов?
3. Дать краткую характеристику физических методов исследования

- пищевых продуктов.
4. Дать краткую характеристику физико-химических методов исследования пищевых продуктов.
 5. Дать краткое описание биохимических методов исследования пищевых продуктов.
 6. Привести примеры применения химических методов для анализа пищевых продуктов.
 7. Какие характеристики входят в понятие «качество» пищевых продуктов? Дать их краткое описание.
 8. Что включает понятие доброкачественности пищевого сырья и продуктов?
 9. Что включает понятие «пищевая ценность»?
 10. Как производится оценка качества пищевых продуктов?
 11. Дать характеристику единичных и комплексных показателей качества.
 12. Что такое коэффициент весомости?
 13. Перечислить основные типы контроля качества пищевых продуктов.
 14. Дать описание терминов «разделение», «концентрирование» и «выделение». В чем состоит принципиальная разница этих операций?
 15. Дать определение понятия «аналитический цикл».
 16. Что такое лабораторный образец?
 17. Дать определение органолептической оценки качества пищевых продуктов.
 18. Перечислить и обосновать последовательность определения органолептических показателей.
 19. Дать описание терминов «букет» и «аромат» пищевых продуктов. В чем состоит их различие?
 20. Что такое сенсорный анализ?
 21. Дать краткое описание основных терминов сенсорного анализа.
 22. Дать характеристику балловых систем оценки качества пищевых продуктов. Привести примеры используемых балловых систем.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ СЕНСОРНОГО 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: «органо» - 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.

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 вкуса.

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.

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 (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° С, остается устойчивой в пределах 20-30° С и снижается при дальнейшем повышении температуры от 30 до 40° С. При 0° С 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 см²) слизистого эпителия в области верхних носовых ходов. Обонятельные клетки заканчиваются булавовидными утолщениями с ресничками, достигающими 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. Классификация запахов. Запахи подразделяются на эфирные (ацетон, хлороформ); ароматические (камфора, ментол, лимон, миндаль); цветочные (ванилин); мускусный запах; чесночный (H_2S , I_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. 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 преодолеть «парадокс дегустатора». Метод оценки предпочтительности продукта сводится к заполнению дегустаторами таблиц, содержащих гедонические (от греческого *hedone* - наслаждение) лекала.

Дегустатор (потребитель) ставит крестик против той графы, уровень

желательности которой соответствует, по его мнению дегустируемому продукту.

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

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 продуктах.

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, БАА 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 одной 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 3-х произвольных цифр. Затем формируются серии из четырех блоков образцов в следующих комбинациях: АкАБ, АкБА, БкАБ, БкБА. 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 послевкусы (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, распознавание 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° С дистиллированной воды, после чего колбу закрывают плотно крышкой и встряхивают в течение 15 минут. Полученную смесь фильтруют; фильтрат разбавляют водой или растворителем до полного исчезновения исследуемых свойств продукта. Показатель (индекс) вкуса, запаха, окраски, вкусоности 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 бальной 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.

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 (рис. 2).

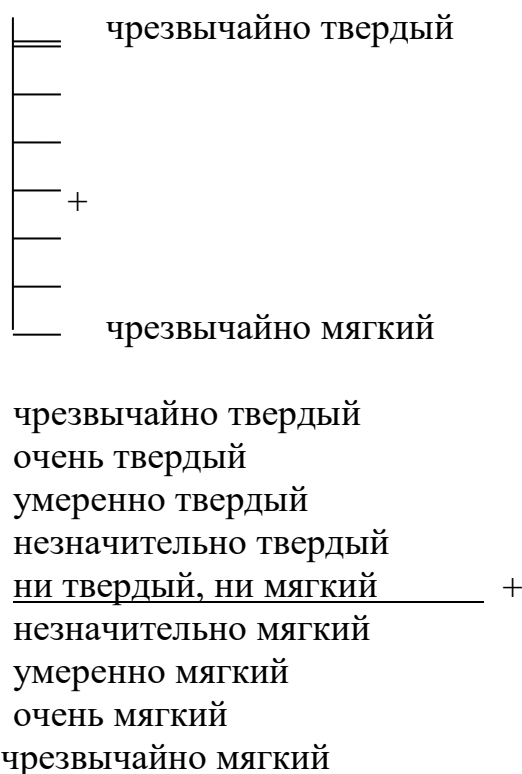


Рисунок 2 - Графическая и словесная шкалы для оценки твердости пищевых продуктов.

Терминология, используемая в органолептическом методе анализа:

Органолептика – область науки, изучающая свойства пищевых продуктов и их ингредиентов, вызывающих сенсорную реакцию человека, и стадии технологических процессов, формирующие эти свойства.

Стимул – вещество или электрофизическое воздействие, вызывающее ощущение при взаимодействии с хеморецептором.

Соленый вкус – ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор хлорида натрия.

Сладкий вкус - ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор сахарозы.

Кислый вкус - ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор уксусной кислоты.

Горький вкус - ощущение, для которого типичным вкусовым стимулом является раствор хинина или другого алкалоида.

Порок запаха – нетипичный запах пищевого продукта, отсутствующий в продукте хорошего качества.

Аромат – пряный гармоничный запах, типичный для данного пищевого продукта.

Букет – запах, формирующийся в результате объединения типичного аромата для данного продукта и гармонически сочетающихся нюансов, приобретенных в результате дополнительной обработки продукта.

Консистенция – характеристика текстуры, выражающая совокупность реологических свойств пищевого продукта.

Порог обнаружения – минимальная величина стимула, вызывающая ощущение.

Порог распознавания – минимальная величина стимула, позволяющая качественно описать (идентифицировать) характер ощущения.

Дегустация – органолептическая оценка внешнего вида продукта, цвета, вкуса, запаха с целью выдачи заключения о его качестве.

Испытатель – лицо, привлекаемое для органолептических испытаний

качества продукта после проверки его органов чувств на патологию.

Дегустатор – испытатель, отобранный по специальной методике для проведения органолептической оценки пищевых продуктов и ароматизирующих веществ и систематически тренируемый на специальных образцах и тестах.

Эксперт – дегустатор, которому по опыту работы с данным видом продуктов дано право проводить органолептическую оценку этих продуктов индивидуально или в составе комиссии.

Испытуемый – лицо, принимающее участие в испытаниях, целью которых является изучение реакций человека на продукт, а не оценка качества продукта.

Потребитель – любое лицо, привлекаемое для оценки потребительских свойств пищевого продукта.

Контрольные вопросы

1. Чем отличается органолептический анализ от сенсорного анализа?
2. Каковы физиологические основы органолептического анализа?
3. Какие известны классы запахов?
4. Что называется дегустацией пищевой продукции и как она осуществляется?
5. Как производится органолептическая оценка качества пищевых продуктов?

ГЛАВА 3. ИЗМЕРИТЕЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Инструментальные методы исследования свойств пищевых продуктов

Инструментальные методы анализа (физические и физико-химические) отличаются большими диапазонами обнаружения, селективностью и экспрессностью; они незаменимы при определении ультрамалых количеств вещества (от $10^{-10}\%$) и позволяют проводить исследования на молекулярном уровне. Инструментальные методы разрешают получать наиболее полную

информацию о ходе технологического процесса и определять параметры его контроля, позволяют автоматизировать контроль технологического процесса и через соответствующие датчики передать информацию на ЭВМ. В пищевой промышленности инструментальные методы анализа применяются для контроля и регулирования технологических процессов, анализа сельскохозяйственного сырья, пищевых продуктов, определения концентрации токсических веществ в пищевых продуктах.

Применяются самые современные физические и физико-химические методы анализа: электрохимические, спектральные, хроматографические, радиоспектроскопические, кинетические и др. За последние годы получил большое распространение потенциометрический метод анализа в связи с использованием различных ионселективных электродов, т.е. электродов с относительно высокой селективностью к какому-либо одному иону в растворе. Селективный электрод для измерения активности ионов водорода используется уже более 50 лет. Изменяя состав стекла электрода в настоящее время получены ионселективные электроды с функциями щелочных металлов, галогенидов, сульфидов и др. Особый интерес для пищевой промышленности представляют ферментные электроды, обладающие высокой селективностью. Принцип действия этих электродов основан на потенциометрической индикации продуктов реакции, катализируемой специфичным энзимом. С помощью ферментных электродов можно проводить определение глюкозы, аминокислот, молочной кислоты и других веществ. Разработан ряд методик потенциометрического определения содержания йода, хлора и Al^{3+} в некоторых пищевых объектах и сырье с применением ионселективных электродов, а также сернистой кислоты, инвертных сахаров с использованием поляризационного индикаторного электрода. Преимущество метода – быстрота (несколько минут), что дает возможность осуществлять постоянный автоматический контроль производства.

В последнее время, особенно в связи с загрязнением атмосферы,

большое значение приобретают вольт амперометрические методы анализа, и в частности полярография, основанная на использовании процессов поляризации, возникающих на микроэлектроде. Подавляющее число неорганических и органических соединений способны к восстановлению на ртутном капельном электроде. Поэтому полярографический анализ применяется для определения белков, аминокислот, углеводов, витаминов, а также микроэлементов, следов тяжелых металлов в сырье и пищевых продуктах: сахаре, картофеле, винах, кондитерских изделиях и др. При этом возможно одновременное определение нескольких веществ при их совместном присутствии.

Кулонометрия объединяет методы анализа, основанные на измерении количества электричества, необходимого для количественного проведения электрохимической реакции. Этот метод может быть применен для анализа влаги в различных продуктах с помощью реактива Фишера. Преимущества метода – простота, быстрота (2-3 минуты).

Спектральные методы анализа являются одними из самых распространенных и широко применяемых методов. Позволяют определять содержание веществ в диапазоне от 30-40% до 10-3%. Это атомно-эмиссионный, спектрофотометрический, атомно-абсорбционный, нефелометрический и турбидиметрический, люминесцентный, а также рефрактометрический и поляриметрический методы анализа. В настоящее время разработано большое количество фотометрических методов анализа, основанных на способности поглощать электромагнитное излучение в видимой, УФ (близкой и дальней) и ИК областях спектра. Эти микро- и макрометоды используются для определения большинства химических элементов и многих органических соединений. Например, Fe, Cu, Co, Ni, Cr, сахаров, белков, аминокислот и т.д., степени окисления жиров, содержания пектиновых веществ, фенольных соединений, витаминов и цветности сахара, крахмала, муки, пива и т.д. ИК-спектроскопия широко применяется для определения пестицидов, витаминов, пищевых красителей, а также для

контроля технологических процессов при переработке растительного и животного сырья (получение информации о строении и составе веществ).

Для исследования пищевых продуктов и сырья используют флуоресцентное излучение, при этом источником возбуждающего электромагнитного излучения служит УФ- или видимый свет с длинами волн от 250 до 500 нм. Люминесценцию наиболее широко применяют для идентификации и количественного определения витаминов, белков, жиров, углеводов и других веществ, для диагностики порчи овощей, плодов, обнаружения в пищевых продуктах консервантов, канцерогенных веществ, для определения сорта муки и наличия в ней примесей, для контроля всхожести семян, а также для исследования лекарственных препаратов и химического состава пищевых продуктов.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) основана на резонансном взаимодействии магнитных моментов ядер и электронов, находящихся в сильном постоянном магнитном поле с перпендикулярным полем радиочастотного или микроволнового диапазона. Главное применение метода ЯМР – это определение отдельных компонентов без их предварительного разделения, а также структурные исследования веществ. В пищевой промышленности – определение влаги и жиров в ряде продуктов.

Импульсный метод ЯМР – методика экспрессного неразрушающего контроля содержания влаги и липидов в сельскохозяйственных продуктах (сое, пшенице, кукурузе, подсолнечнике), какао-продуктах и кондитерских изделиях. Можно определять одновременно белок, крахмал и влагу.

Хроматографический анализ, основанный на разделении смеси веществ сорбционными методами в динамических условиях. Наиболее универсальный и эффективный метод разделения и анализа сложных органических и неорганических соединений – газовая хроматография, используемая для анализа смеси углеводов, летучих жирных кислот, спиртов, эфиров, альдегидов, кетонов, витаминов, аминокислот, углеводов и

др. Газовая хроматография позволяет идентифицировать компоненты аромата в пищевых продуктах. Газово-хроматографические методы используются для определения влажности пищевых продуктов. Ионообменная хроматография используется как метод разделения и выделения веществ, предшествующий их количественному определению, для умягчения и очистки воды, удаления ионизированных соединений из сложных сред (ферментных растворов), определения потерь сахара на сахарных заводах и очистки сточных вод и т.д.

Применяется также масс-спектрометрия, рентгеноструктурные, электрофоретические и другие новейшие методы. Использование современных физических и физико-химических методов в научных исследованиях, применение их в практике производства позволяет повысить надежность химико-аналитического контроля на предприятиях, обеспечивая автоматизацию технологических процессов и улучшая качество пищевых продуктов.

3.2 Реологические методы исследования

Пищевое сырье растительного и животного происхождения при заготовке, 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.

При оценке качества пищевых продуктов большое значение уделяется их консистенции. Наряду с условными, субъективными методами оценки консистенции все чаще применяются структурно-механические, или реологические, методы.

Реология – сравнительно молодая наука, сформировавшаяся как самостоятельная часть физико-химической механики. Она изучает течение и деформации различных веществ и материалов, широко используя при этом

многие положения механики и теории упругости.

К реологическим свойствам тела относятся вязкость, упругость, эластичность и прочность.

Вязкость, или внутреннее трение, – свойство газов, жидкостей и твердых тел, обуславливающее сопротивление относительно перемещению слоев (течению под действием внешних сил). Для твердых тел – это сопротивление развитию остаточных деформаций.

Упругость – способность тел сопротивляться изменению их объема и формы под действием внешних сил, т. е. способность тела восстанавливать свою форму после снятия нагрузки.

Эластичность – способность материала при незначительных усилиях испытывать более или менее значительные упругие обратимые деформации без разрушения его структуры. Различие эластичности и упругости состоит в том, что упругость проявляется мгновенно, а эластичность – во времени.

Прочность – способность тела сопротивляться разрушению. Наряду с указанными терминами используют также понятия пластичность – свойство тел необратимо деформироваться под воздействием нагрузки и ползучесть – частный случай пластической деформации под действием постоянной нагрузки.

Все законы реологии разработаны для идеальных тел.

Известны три основные модели идеальных тел:

- идеально упругое тело;
- идеально пластичное тело;
- идеально вязкая, или ньютоновская, жидкость.

Однако ни один из реальных пищевых материалов не может быть полностью уподоблен ни одному из указанных идеальных тел.

Чаще всего пищевые материалы соответствуют сложным моделям, представляющим собой комбинацию простых, т. е. являются или упругопластичными, или упруговязкими, или вязкопластичными телами. Причем в зависимости от условий (температуры, влажности, давления,

способа и скорости приложения нагрузки) то одни, то другие свойства проявляются в большей или меньшей степени. Поэтому при изучении реологических свойств обязательно должны быть четко указаны условия испытаний, в противном случае полученные результаты будут несопоставимы.

Многие пищевые массы, помимо твердого и жидкого состояний, образуют структуры, которые по физическим свойствам занимают промежуточное положение. К ним относятся белковые и углеводные студни, суспензии разной концентрации (вплоть до паст), эмульсии и пены.

Наличие внутренней структуры придает таким системам определенные механические свойства – упругость, пластичность, вязкость, прочность, которые объективно характеризуют их консистенцию. Механические свойства зависят от природы входящих веществ и их соотношения, а также от сил взаимодействия между ними.

Под деформацией понимают относительное смещение частиц тела, при котором не нарушается его непрерывность. Деформация называется упругой, если она исчезает после снятия нагрузки, и остаточной, если после снятия нагрузки она сохраняется. Величина и характер деформации обусловлены свойствами материала тела, его формой и способом приложения внешних сил.

Пищевое сырье, полуфабрикаты и продукты обладают упругостью, пластичностью и вязкостью. Для инструментального определения реологических характеристик наиболее пригодны простой сдвиг (сдвиговой течение), одноосное растяжение и одноосное сжатие (компрессия). Наиболее сложными реологическими свойствами обладают высококонцентрированные дисперсные системы с пространственными структурами.

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-кристаллизационные 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.

Коагуляционные структуры могут переходить в конденсационно-кристаллизационные в процессе обработки продукта, когда создаются условия для удаления жидких прослоек между частицами, например при сушке или прессовании. Так как механические свойства любой системы теснейшим образом связаны с ее структурой, их часто называют структурно-механическими.

При изучении структурно-механических свойств пищевых материалов исследуется развитие деформаций во времени. В основном изучают два вида деформации – сжатие (растяжение) и сдвиг. В первом случае напряжение действует перпендикулярно поверхности образца, во втором – по касательной (тангенциально).

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 (табл. 1).

Таблица 1 - 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

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 (табл. 2).

Таблица 2 – 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:

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

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. 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.

3.3 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 парамагнитный резонанс). Аналитические сигналы измеряют различными методами.

В таблице 3 приведена классификация спектральных методов.

Таблица 3 – Классификация спектральных методов

Спектроскопия	Источник аналитического сигнала	Аналитический сигнал	Метод
Молекулярная	Молекула	Поглощение (абсорбция) Испускание (люминесценция)	молекулярно-абсорбционную спектрометрию (МАС) молекулярно-люминесцентную (МЛС), или флуориметрию
Атомная	Атом	Поглощение (абсорбция) Испускание (эмиссия)	атомно-абсорбционную (ААС) атомно-эмиссионную (АЭС)
Магнитного резонанса	Ядро атомов (магнитный момент ядра) Электрон (магнитный момент электрона)	Ядерный магнитный резонанс – ЯМР-спектр Электронный парамагнитный резонанс – ЭПР-спектр	Спектрометрия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) Спектрометрия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)
Масс-спектрометрия	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, обуславливающих 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 спектromетрии – колориметры, фотометры, фотоэлектрокolorиметры, 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 призмным или решеточным монохроматором, позволяющие достигать высокой степени монохроматизации рабочего излучения; фотоэлектрокolorиметры, 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 спектromетрия. 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 проведения 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, В1, В2, В6, С, никотиновой кислоты, токоферолов и каротина. В комбинации с хроматографией ИК-спектроскопию можно применить для исследования ароматических веществ и ряда органических соединений.

Молекулярно-люминесцентная спектрометрия. Люминесценцией называют свечение атомов, ионов, молекул и других более сложных частиц вещества, которое возникает в результате перехода в них электронов при возвращении из возбужденного состояния в нормальное. Чтобы вещество начало люминесцировать, к нему необходимо извне подвести определенное

количество энергии. Частицы вещества, поглощая энергию, переходят в возбужденное состояние, пребывая в нем некоторое время. Затем они возвращаются в состояние покоя, отдавая при этом часть энергии возбуждения в виде квантов люминесценции.

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

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 сек. Фосфоресценцией называют собственное свечение вещества, которое продолжается после отключения возбуждающего света.

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

Атомная спектроскопия. В атомной спектроскопии вещества исследуют, переводя их в состояние атомного пара – атомно-абсорбционная спектроскопия (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 скорости.

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

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

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

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

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

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

3.4 Рефрактометрия и поляриметрия

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.

Рефрактометрия. Если монохроматический луч А проходит через поверхность раздела двух сред, то одна часть света отражается от поверхности раздела, а другая часть В проходит через вторую среду, изменяя при этом направление (рисунок 3). Эту часть монохроматического света называют преломленным светом. Преломление луча света описывается законом Снелля:

$$n_1 \cdot \sin \alpha = n_2 \cdot \sin \beta,$$

где α – угол падения, град;

β – угол преломления, град;

n_1, n_2 – показатель преломления 1-й и 2-й сред.

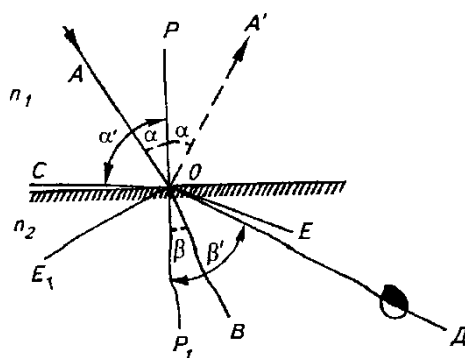


Рисунок 3 – Схема преломления лучей света

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 200С. При отклонении температуры от 200С вводят соответствующие температурные поправки.

Для измерения показателя преломления жидких веществ и растворов применяют приборы, называемые рефрактометрами. Большинство рефрактометров устроено так, что исследуемое вещество помещается между двумя призмами (двумя половинами призмы). Свет, пропущенный через призму, преломляясь или отражаясь от границы раздела сред (призма-вещество), освещает только часть шкалы, образуя достаточно резкую границу света и тени. Положение этой границы на шкале зависит от угла полного внутреннего отражения исследуемого вещества. На шкале указаны показатели преломления, соответствующие различным значениям угла полного внутреннего отражения. Для определения составных частей сырья и готовой продукции используют различные рефрактометры ИРФ-454, ИРФ-464 и др. 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 – ассиметрические 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 поляризацией. Величина такого вращения в растворах зависит от их концентрации, поэтому поляризацию 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 20^oC и желтой линии натрия и обозначать $[\sigma]$ с указанием растворителя.

Угол вращения плоскости поляризации $[\alpha]$ определяют по формуле

$$\alpha = [\sigma] \frac{l \cdot c}{100},$$

$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot [\sigma]},$$

где l – длина трубки, дм;

c – концентрация вещества, г/100 мл;

σ – удельное вращение, град.

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

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.

3.5 Хроматография

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. 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 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. 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-химическими 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.

Контрольные вопросы

1. Какие инструментальные методы используют для анализа пищевых продуктов и в чем их преимущества?
2. Для определения каких компонентов пищевой продукции применяют полярографический метод анализа?
3. Какие спектральные методы анализа используют для определения состава и качества пищевой продукции?
4. В чем сущность хроматографического метода и для анализа каких компонентов пищевой продукции он используется?
5. Дать характеристику понятия реологии как науки.
6. Перечислить основные понятия реологии.
7. Дать краткую характеристику коагуляционных структур.

8. Дать краткую характеристику конденсационно-кристаллизационных структур.
9. Что такое вискозиметрия?
10. В чем состоят особенности измерений деформации пищевых смесей?
11. В чем состоят особенности измерений вязкости пищевых смесей?
12. Дать краткое описание основных типов вискозиметров

ГЛАВА 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТАВА И СВОЙСТВ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ

4.1 Относительная плотность

Относительная плотность определяется как отношение плотности исследуемого вещества к плотности «стандартного» вещества в определенных физических условиях:

$$d = \frac{\rho}{\rho_0},$$

где ρ - плотность данного вещества (кг/м^3);

ρ_0 - плотность «стандартного» вещества (кг/м^3).

Плотность вещества, ρ , кг/м^3 , определяется как отношение покоящейся массы, m (кг) к ее объему v (м^3):

$$\rho = \frac{m}{v},$$

Для жидких пищевых веществ «стандартным» веществом является чистая вода при температуре $3,98^\circ\text{C}$ и нормальном атмосферном давлении, что соответствует наибольшей ее плотности.

Относительную плотность определяют при температуре продукта 20°C и воды 4°C или 20°C и обозначают символами $d_{4^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}}$ или $d_{20^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}}$. Для пересчета значений плотности $d_{4^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}}$ в $d_{20^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}}$ или наоборот пользуются температурными коэффициентами расширения.

$$d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}} = 1,00177 \quad d_{4^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}} \quad \text{и} \quad d_{4^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}} = 0,99823 \quad d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}}$$

Относительная плотность жидких продуктов зависит не только от их температуры, но и от концентрации сухих веществ.

Показатели плотности учитываются при оценке качества молока, определении содержания сухих веществ в плодовых и ягодных экстрактах, содержания поваренной соли в растворах.

Для определения относительной плотности чаще всего применяют пикнометрический или ареометрический метод.

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

Плотность исследуемого продукта вычисляется по формуле

$$d_{20} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m},$$

где m - масса пустого пикнометра, г;

m_1 - масса пикнометра с исследуемой жидкостью, г;

m_2 - масса пикнометра с дистиллированной водой, г.

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

4.2 Кислотность

Кислотность является одним из показателей качества сырья, полуфабрикатов и готовых изделий, в частности, молока и молочных

продуктов, соков, сиропов, булочных изделий и др. и характеризует степень их свежести. Под общей кислотностью подразумевается содержание в продукте всех кислот и их кислых солей, реагирующих со щелочью при титровании.

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

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

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

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

4.3 Методы определения влаги

У взрослого человека вода составляет больше половины массы тела. В возрасте от 18 до 50 лет содержание воды в организме мужчин составляет 61%, женщин – 54%. Большая часть водного запаса организма (70%) содержится внутри клеток, в составе клеточной протоплазмы, остальное количество – внеклеточная вода, часть которой (~7%) содержится внутри кровеносных сосудов и образует плазму крови (межтканевая вода). Между межклеточной и внутриклеточной водой поддерживается постоянный обмен.

Вода – одно из самых распространенных веществ на земле, она является необходимым условием жизни и входит в состав всех пищевых продуктов и материалов. Вода, не являясь собственно питательным веществом, жизненно необходима как стабилизатор температуры тела, переносчик нутриентов (питательных веществ) и пищеварительных отходов, реагент и реакционная среда в ряде химических превращений, стабилизатор конформации биополимеров и, наконец, как вещество, облегчающее динамическое поведение макромолекул, включая проявление ими каталитических (энзиматических) свойств.

Вода, потребляемая человеком, должна быть соответствующей нормам качества, безопасной в эпидемиологическом отношении и безвредной по химическому составу. Например, длительное применение воды с повышенной жесткостью вызывает учащение камнеобразования в мочевом пузыре.

Природная вода считается пресной, если она содержит $\leq 0,1\%$ растворенных примесей; при наличии 0,1-5% - минерализованная; $\geq 5\%$ сухого остатка – рассол.

Распространенные природные воды – содовые (обусловлено наличием карбонатных и загипсованных пород в разрезе бассейна). Маломинерализованная мягкая минеральная вода может быть использована кроме лечебных целей и как питьевая столовая. Давно известны минеральные источники типа «буркутов». Кроме минеральных,

природная вода содержит и органические вещества, которые играют большую роль в слабоминерализованных водах. Именно органическим веществам обязана своей целебной силой «Нафтуся» - минеральная вода курорта Трускавец.

Введен в действие государственный стандарт природной питьевой минеральной воды: лечебно-столовые – 2-8 г/л солей (Боржоми); лечебная >8 г/л солей (Есентуки № 17) по назначению врача.

Важно содержание различных элементов в питьевой воде. Норма содержания фтора составляет 1,0-1,5 мл/л. Содержание фтора больше нормы приводит к разрушению зубов, меньше нормы – к кариесу зубов. При кариесе растворимость тканей зуба увеличивается, ионы фтора, проникая в эмаль и дентин образуют с веществами зуба труднорастворимые соединения – фторопатиты (они не разрушаются, даже если кислотность слюны выше нормы).

Отрицательная характеристика некоторых вод – повышенное содержание сероводорода. В воде возможно содержание молекулярного сероводорода H_2S , гидросульфид-иона HS^- и сульфид-иона S^{2-} . Сульфид-ион с ионами многих металлов образует труднорастворимые соединения, в результате чего в воде образуется тонкодисперсная взвесь, например, черная с ионами Fe^{2+} .

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

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

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

- связанная влага – это ассоциированная вода, прочно связанная с различными компонентами – белками, липидами и углеводами за счет химических и физических связей.
- свободная влага – это влага, не связанная полимером и доступная для протекания биохимических, химических и микробиологических реакций.

К связанной воде относится также кристаллизационная вода. Например, вода, входящая в состав кристаллов лимонной кислоты и глюкозы ($C_6H_{12}O_6 \cdot nH_2O$). Конституционная вода выделяется из продукта в результате термического разложения некоторых веществ при повышенных температурах. Связанная вода имеет другой показатель преломления, имеет более низкую температуру замерзания, плотность, не усваивается микроорганизмами и положительно влияет на сохранность продукта.

Вода связанная может переходить в воду свободную и наоборот. Например, при оттаивании мяса, рыбы, свежих плодов и овощей часть связанной воды переходит в свободную, что приводит к порче под действием микроорганизмов. При замесе теста, варке макаронных изделий свободная вода поглощается белками и превращается в связанную коллоидными системами воду.

Для коллоидных капиллярно-пористых тел П.А.Ребиндер предложил следующую классификацию форм связи воды с сухими веществами:

- химическая форма связи – молекулы воды входят в состав веществ в точном количественном соотношении. Для удаления ее требуется интенсивная обработка теплом, приводящая к разрушению структуры материала (связанная вода).

- физико-химическая форма связи – адсорбционная и осмотическая. Адсорбционно-связанная вода удерживается силами Ван-дер-Ваальса поверхностных молекул коллоидных веществ (белков и углеводов) на границе раздела твердое тело – вода. Например, в зерновых культурах при их влажности меньше 14% вода находится в связанном состоянии. С повышением влажности 14,5-15,5% появляется свободная вода. Дальнейшее поглощение воды обуславливается силами осмоса и диффузии. Такая вода называется осмотически поглощенной или структурной. Она менее прочно связана, характеризует стадию набухания (свободная вода).
- физико-механическая форма связи характерна для воды, заполняющей капилляры, крупные поры и пустоты в телах. Капиллярами вода удерживается с большой силой (связанная вода). Влага, удерживаемая силами сцепления, наименее прочно связана с материалом и может быть удалена механическим путем (свободная вода).

Методы определения влаги подразделяются на две группы: прямые и косвенные. Прямые методы основаны на разделении материала на сухое вещество и воду, используя тепло, безводные растворители и химические реактивы. Косвенные методы основаны на измерении изменения физических величин и свойств, функционально связанных с влажностью материалов.

Прямые методы:

Теплофизические, основанные на испарении воды из навески анализируемого материала. По разности между массой материала до высушивания и оставшейся массой сухого вещества вычисляют массу испарившейся воды. Для высушивания используются различные приборы.

Известны методы:

1) высушивание до постоянной массы (в СЭШ при $t=105^{\circ}\text{C}$). Навеску объекта исследования массой 3-10 г берут на аналитических весах с точностью до 0,001 г, в предварительно высушенные, охлажденные в эксикаторе и взвешанные бюксы, высотой не более 30 мм, диаметром 45 мм.

Объект взвешивают в закрытых бюксах. Бюксы открывают и помещают в сушильный или вакуум-сушильный шкаф по возможности ближе к термометру. В сушильном шкафу навеску высушивают при t 100-105° С, а в вакуум-сушильном - при t 100° С. Разрезание при этом поддерживают порядка 700 мм рт.ст. Высушивание в обоих случаях начинают при 50° С и, постепенно повышая температуру, достигают 100-105° С примерно через 30 мин. Через 1,5-3 ч бюксу взвешивают первый раз. Предварительно ее охлаждают в эксикотере над концентрированной серной кислотой или прокаленным хлористым кальцием. Затем открывают бюксы, вновь помещают в сушильный шкаф. Последующие взвешивания производят через 1 ч. Высушивание и взвешивание повторяют до тех пор, пока разница в массе не достигнет 0,001 г. Обычно продолжительность сушки составляет 3-5 ч содержание влаги вычисляют по формуле:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \cdot 100\%,$$

где - W - содержание влаги в объекте, %;

m - масса бюкса, г

m_1 - масса бюкса с навеской до высушивания, г;

m_2 – масса бюкса с навеской после высушивания, г.

- 2) метод ускоренного высушивания в СЭШ (температура повышается до 130° С, менее длительный способ);
- 3) метод высушивания в приборе К.Н.Чижовой (высушивание материала осуществляется путем передачи тепла от плотно прилегающих к нему плит, нагреваемых электричеством, обычно $t \sim 160^\circ \text{C} \sim 3$ мин);
- 4) метод высушивания ИК-лучами. ИК-лучи – электромагнитное излучение, испускаемое нагретыми телами, поэтому ИК-лучи называются тепловыми лучами. Вода способна почти полностью поглощать все падающие на нее тепловые лучи (95-96%), при этом она быстро нагревается и испаряется. Метод основан на высокой способности влажных материалов поглощать мощный тепловой поток ИК-излучений, время сушки значительно

сокращается (25 мин). Метод используется в приборах-влажномерах – сушильная камера соединена с весами. Шкала весов градуирована так, что показывает понижение массы навески за счет испарения воды. В термическом анализе рассматривается ряд методов, основанных на изменении какого-либо свойства системы как функции температуры или на изменении количества выделенного или поглощенного в реакции тепла (табл. 4).

Таблица 4 - Методы термического анализа

Название	Измеряемый параметр	Измерительный прибор
Термогравиметрия (ТГА)	Измерение массы	Термовесы
Термогравиметрия по производной (ТГП)	Скорость измерения массы	То же
Дифференциальный Термический анализ (ДТА)	Выделяемое или поглощаемое тепло	Аппаратура ДТА
Дифференциальный сканирующая калориметрия (ДСК)	То же	Дифференциальный сканирующий калориметр
Термометрическое титрование	Изменение температуры	Адиабатический калориметр
Прямая инжекционная эктальпиметрия	Выделяемое или поглощаемое тепло	То же

Термогравиметрический анализ (ТГА) основан на наблюдении за изменением массы пробы в течение некоторого периода времени при линейном повышении температуры.

Регистрирующие аналитические весы с устройством для контролируемого нагревания образца называется термовесами. Наиболее современные из них представляют собой электронные полуавтоматические одночашечные весы. Нагреватель или печь обычно устанавливают под

весами, так что держатель образца можно повесить прямо к коромыслу весов. Поэтому необходимо устранить конвекционные потоки воздуха от нагревательных приборов, мешающие работе весов. Электронное регистрирующее устройство или чертит график зависимости массы от времени, или с помощью двухкоординатного самописца прямо дает зависимость массы от температуры. Если записывают зависимость от времени, то желательно одновременно вторым самописцем записывать температуру.

Дифференциальная термогравиметрия (ТГП) основана на сравнении термограммы с ее первой производной.

Дифференциальный термический анализ (ДТА) позволяет следить за фазовыми переходами или химическими реакциями на основании изменения количества поглощенного или выделенного тепла. Он, в частности, удобен для изучения структурных изменений, происходящих в твердых веществах при повышенных температурах, когда другие методы мало пригодны. В методе ДТА ведут непрерывную запись разности температур анализируемого образца и инертного материала сравнения (эталоны) при повышении температуры окружающей среды.

Дифференциальная сканирующая калориметрия. Традиционный метод ДТА позволяет получить данные о температурах и знаках переходов, но этим способом трудно получить количественную информацию об образце или теплоте перехода. Трудности обусловлены тем, что часто неизвестны такие важные факторы, как удельная теплоемкость и теплопроводность.

Дистилляционные методы основаны на совместной отгонке из анализируемого вещества воды и органического растворителя, не смешивающегося с водой.

Температура кипения смеси меньше температуры кипения компонентов: воды (100°C) с толуолом (110°C) - 88°C , с ксилолом (138°C) - 92°C . Преимущество метода - понижается возможность разложения органических веществ, и органическая жидкость предохраняет высушенный материал от

окисления. Отгонка воды заканчивается за 10-20 минут.

Эти методы делятся на две группы: прямого определения и открытой дистилляции.

- 1) смесь паров воды и не смешивающиеся с ней жидкости конденсируют, дистиллят собирают в градуировочный приемник, где проходит расслоение его на 2 слоя, и по границе раздела двух жидкостей отсчитывают объем воды, отогнанный из взятой навески материала. Требования к органическому веществу: не смешивается с водой и химически инертен по отношению к веществам, входящим в состав анализируемого вещества. Температура кипения органической жидкости должна быть больше температуры кипения воды;
- 2) метод открытой дистилляции А.Г.Кульмана. Влажность материала определяют по убыли массы после нагревания анализируемого материала в среде высококипящих веществ, масса которых при нагревании не изменяется. Используются растительные и вазелиновые масла, парафин. Метод основан на нагревании навески исследуемого продукта с обезвоженным растительным маслом при 160-170° С в течение нескольких минут. Происходящая при этом потеря веса принимается за влажность.

Определение ведется следующим образом: в металлический тигель, совершенно чистый и сухой, вносят 20-22 мл растительного масла (или хлопкового, парафина, сало-масла), вкладывают в тигель термометр-палочку и взвешивают на техно-химических весах с точностью до 0,01 г (тара). После этого в тигель вносят 5 г исследуемого вещества, предварительно подготовленного для анализа и снова взвешивают. По разности между первым и вторым взвешиваниями находят точную величину взятой навески.

Перемешивают содержимое тигеля термометром, помещают тигель на разогретую песчаную баню и нагревают с таким расчетом, чтобы содержимое тигеля нагрелось до 165° в течение 4-5 минут, после чего при этой температуре выдерживают тигель в течение 3-5 мин., смотря по

исследуемому объекту. Во время нагревания колебания температуры массы, находящейся в тигле, допускаются в пределах $\pm 5^\circ \text{C}$.

Затем снимают тигель с огня, дают ему немного остыть, после чего дно тигеля погружают в холодную воду и охлаждают до комнатной температуры ($18-20^\circ$). Обтерев насухо тигель, его взвешивают.

Количество влаги в исследуемом веществе находят по формуле:

$$W = \frac{(a - b) \cdot 100}{g},$$

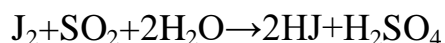
где - a - вес тигля с маслом, термометром и навеской до нагревания, г;

b - вес тигля с маслом, термометром и навеской после нагревания, г;

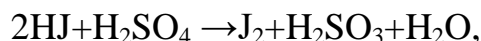
g - взятой навеска, г.

После каждого определения содержимое тигля сливают в сухую склянку с притертой пробкой; когда остатков соберется достаточное количество, содержимое склянки подогревают до $80-100^\circ \text{C}$ (на водяной бане) и отфильтровывают масло. Это обезвоженное масло можно использовать для дальнейших определений.

Химические методы основаны на способности некоторых реагентов (металлов, Na, карбида Ca и др.) вступать в химическое взаимодействие с водой. Количество воды находят по эквивалентному объему выделившегося при реакции газа (водорода, ацетилена). Однако из-за трудоемкости и других причин эти методы не получили применения. Используется титриметрический метод К. Фишера, в основу которого положена открытая Бунзенем реакция йода с водой в присутствии диоксида серы:



Накапливающиеся в среде кислотные продукты превращают эту реакцию в обратимую:



что затрудняет определение конца реакции.

Для связывания кислотных продуктов и устранения обратимости реакции готовят растворы йода и диоксида серы в пиридине (органическое

основание). В качестве безводного растворителя пиридина используют метанол или бензол.

Определение влажности зерна. Пробу зерна измельчают так, чтобы поток проходил через сито с диаметром отверстий 0,5 мм. На технических весах берут $1 \pm 0,01$ г помола, навеску помещают в мерную колбу на 100 мл и добавляют 50 мл метанола, колбу закрывают пробкой, содержимое колбы тщательно смешивают и оставляют на 30–60 мин, периодически взбалтывая, затем титруют реактивом Фишера.

W зерна (в %) рассчитывают по формуле

$$W = \frac{(a - a_0) \cdot 100}{1000 \cdot b}$$

где - a - количество реактива, пошедшего на титрование пробы зерна, мл

a_0 - количество реактива, пошедшего на титрование метанола, мл

b - навеска зерна, г.

Для определения поправки на содержание воды в метаноле в такую же колбу отмеривают 50 мл метанола и титруют реактивом Фишера до появления отчетливой окраски йода.

Прямые методы требуют большой затраты времени и труда, поэтому часто используются косвенные методы, более разработанные.

Косвенные методы. Практическое применение в пищевой промышленности получили электрохимические методы, в которых измеряют электропроводимость и диэлектрическую проницаемость.

1. Кондуктометрический метод основан на зависимости электрического сопротивления материала от степени его влажности: чем больше влажность, тем меньше удельное сопротивление материала и тем больше его электропроводимость. Степень диссоциации молекул органических веществ очень низкая, поэтому в сухом состоянии они являются диэлектриками, слабо проводящими электрический ток. При увлажнении материала его электропроводимость увеличивается за счет растворения в воде содержащихся в материале минеральных солей, способных почти полностью

диссоциировать на ионы, которые являются очень хорошим проводником электрического тока. В результате этого удельная сопротивленность материала уменьшается на 12-18 порядков. Метод применяется при низкой и средней влажности материала (~ до 18-20%). Небольшое увеличение влажности приводит к значительному уменьшению сопротивления (кривая круто падает).

В лабораторном контроле используют влагомеры, работающие по принципу измерения электропроводимости.

Емкостной метод основан на зависимости величины диэлектрической проницаемости (ДП; ϵ) материала от содержания в нем воды. $\epsilon=81$, ДП сухого вещества (в зерне) ~ 3-5, следовательно повышение влажности приводит к увеличению ДП.

Метод ядерно-магнитного резонанса (ЯМР).

Метод сверхвысоких частот (СВЧ) основан на поглощении водой энергии, возбуждаемой генератором СВЧ-излучений.

4.4 Методы исследования белков

в пищевом сырье и продуктах переработки

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 течении более чем ста лет постоянно исследуется и периодически отражается в решениях ВОЗ, ФАО и национальных организаций различных стран. Эти величины носят ориентировочный характер, так как они находятся в стадии постоянного уточнения в зависимости от возраста человека, пола, климата, индивидуальных и национальных особенностей и степени загрязнения окружающей среды. В соответствии с рекомендациями ВОЗ и ФАО величина оптимальной потребности в белке составляет 60-100 г в сутки или 12-15 % от общей калорийности пищи. В пересчёте на 1 кг массы тела потребность белка в сутки для детей, в зависимости от возраста, колеблется от 1,05 до 4,00 г.

По своему строению белки представляют собой высокомолекулярные соединения, состоящие из аминокислот. Соединенные амидной (пептидной) связью (-CO - NH) аминокислоты образуют полипептиды простого

(протеина) и сложного (протеида) строения. В состав протеидов дополнительно входят небелковые вещества (липиды, углеводы и т.д.).

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

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

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

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

Несмотря на огромное разнообразие аминокислотного состава белков, каждому индивидуальному белку характерен только для него строго определенный 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 одинаков 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 обуславливают высокую буферность водных растворов белков, а следовательно, постоянное значение рН 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 таблице 5 приведены свойства протеиногенных L- α -аминокислот.

Свойства аминокислот определяют функциональные свойства белков, под которыми принято понимать физико-химические характеристики, определяющие их поведение при переработке в пищевые продукты, а так же 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.

Таблица 5 - Физико-химические свойства протеиногенных L- α - аминокислот

Название (тривиальное и рациональное)	Сокращённое обозначение	Удельное вращение в водном растворе 25°C [α] _д	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая точка pI	Растворимость при 25°C, г на 100г воды
			pK ₁	pK ₂	pK ₃		
1	2	3	4	5	6	7	8
1. Моноаминокислоты							
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
1.5. Изолейцин (α -амино- β -метил-Н-валериановая кислота)	Ile	+ 12,4	2,26	9,62	-	5,900	2,230
Название (тривиальное и рациональное)	Сокращённое обозначение	Удельное вращение	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая	Растворимость при

	ение	е в водном растворе 25°С [α] _д	pK ₁	pK ₂	pK ₃	точка pI	25°С, г на 100г воды
1.6. Тирозин	Tyr	+ 11,8	2,20	9,21	10,16	7,300	0,035
1.7.Фенилаланин (α-амино-β- фенилпропионова я кислота)	Phe	- 34,5	2,20	9,31	-	3,500	1,420
2.Моноаминодикарбоновые							
2.1.Аспарагинова я (α- аминоянтарная кислота)	Asp	+ 6,7	1,88	3,65	9,00	2,800	0,500
2.2.Лизин (α,ε- диаминокарбонов ая 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- оксипропионовая кислота)	Ser	- 7,9	2,21	9,35	-	5,700	5,030
3.2.Треонин (α- амино-β- оксимасляная	Thr	-28,5	2,15	9,12	-	5,800	20,500

кислота)							
Название (тривиальное и рациональное)	Сокращённое обозначение	Удельное вращение в водном растворе 25°С [α] _д	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая точка pI	Растворимость при 25°С, г на 100г воды
			pK ₁	pK ₂	pK ₃		
4.Тиаминокислоты							
4.1.Цистеин (α-амино-β-меркаптопропионовая кислота)	Cys	-16,5	1,71	8,33	10,78	5,000	-
4.2.Цистеин (3,3-ди-тио-бис-2аминопропионовая кислота)	(Cys) ₂	1,4	2,01	8,02	5,00	0,011	-
4.3.Метионин (α-амино-γ-метилметкаптомасляная 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
5.2.Гистидин (α-	His	- 38,5	1,78	5,97	8,97	7,00	4,290

амино- β-имидозолилпропионовая кислота)							
5.3.Пролин (пирролидин- α-карбоновая кислота)	Pro	- 86,2	1,99	10,0	-	6,300	12,300
Название (тривиальное и рациональное)	Сокращённое обозначение	Удельное вращение в водном растворе 25°С [α] _D	Константа кислотной диссоциации			Изоэлектрическая точка pI	Растворимость при 25°С, г на 100г воды
			pK ₁	pK ₂	pK ₃		
5.4.Гидроксипролин (α-гидроксипирролидин- β-карбоновая кислота)	Нур	- 59,6	1,82	9,65	-	5,800	36,110

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

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

Для наблюдения реакции в пробирки наливают по 1-2 см³ белка с равным количеством 4 % раствора щёлочи и добавляют 1-2 капли 0,5% раствора медного купороса.

Реакцию дают все белки, а так же 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 объёмом раствора белка NH₂- группами, содержащимися в α – положении при нагревании с последующим охлаждением придаёт 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 тяжёлых металлов, температуры и в изоэлектрической точке. Белки в растворённом 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 распространёнными *количественными методами* являются метод Кьельдаля, Лоури с реактивом Фолина, Войвуда в модификации Т.А. Глагоревой, К.А. Мерка.

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

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

Химическая реакция аммиака с борной кислотой идёт с образованием метаборной кислоты из ортоборной ($\text{H}_3\text{BO}_3 \rightarrow \text{HBO}_2 + \text{H}_2\text{O}$). Сама борная кислота очень слабая и не оказывает влияния на концентрацию ионов

водорода. Реакция идёт следующим образом: $\text{NH}_3 + \text{HBO}_2 = \text{NH}_4^+ + \text{BO}_2^-$. Полученный в результате анион BO_2^- оттитровывают раствором кислоты; при этом происходит восстановление протона в боррат-анион (основание): $\text{H}^+ + \text{BO}_2^- = \text{HBO}_2$. Анион BO_2^- является сильным основанием и, следовательно, его можно титровать сильной кислотой.

Существует и некоторая условность в методе Кьельдаля при расчёте количества белка, заключающаяся в использовании переводного коэффициента. Однако, несмотря на недостатки, метод Кьельдаля является унифицированным, он включён 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 её белки содержат 17,5 % азота. Для других белковых ресурсов коэффициенты перевода приняты следующими: 5,7 – рожь, ячмень, овёс, семена подсолнечника; 5,8 – соя; 6,25 – кукуруза, мясо; 6,38 – молоко.

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 доступных 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 объёма 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 определённой длиной волны и измерение интенсивности его отражения в пробах анализаторах. 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, амидочёрный 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.

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 $22^\circ C$. 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 превращении 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% насыщении, альбумины при 100% 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.

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 твёрдой 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 (рН 7) имеет положительный заряд, то он связывается на колонке с ионообменником, содержащим фенольные, сульфо- и карбоксильные группы (катионообменник). Чаще всего для фракционирования белков используют производные полистерола и целлюлозы.

Положительно заряженный белок снимается с колонки с помощью раствора хлористого натрия или изменением рН 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) прикреплёнными 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 присоединённые 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 методов электрофоретического разделения заключается в способности молекул пептидов и аминокислот, находясь в заряженной форме в виде катионов (+) или анионов (-), передвигаться в электрическом поле с определённой скоростью.

Очень высокую разрешающую способность имеет метод изоэлектрического фокусирования белков, в основе которого лежит фронтальный электрофорез, проводимый на колонке одновременно в градиенте рН 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 разветвлённой цепью углерода – лейцином, изолейцином и валином, ароматическими – фенилаланином, триптофаном и 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 её расчёта 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 нём незаменимых аминокислот.

Наиболее широко используется метод Х. Митчела и Р. Блока, в соответствии с которым рассчитывается показатель аминокислотного сора (а.с.). Скор выражают в процентах или безразмерной величиной, представляющей собой отношение содержания аминокислот (а.к.) в исследуемом белке к её количеству в эталонном белке. При расчёте сора формула выглядит следующим образом:

$$\text{Аминокислотный скор} = \frac{\text{мгАКв1гбелка}}{\text{мгАКв1гэталона}} \cdot 100 ,$$

Аминокислота, скор которой имеет самое низкое значение, называется лимитирующей аминокислотой (табл, 6).

Таблица 6 - 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 сора и позволяет учитывать количество всех незаменимых кислот. Индекс рассчитывают по формуле:

$$\text{ИНАК} = \sqrt[n]{\frac{\text{Лиз}_6}{\text{Лиз}_3} \times \frac{\text{Три}_6}{\text{Три}_3} \times \dots \times \frac{\text{Гис}_6}{\text{Гис}_3}} ,$$

где n – число аминокислот;

индексы b , a – содержание аминокислоты в изучаемом и эталонном белке соответственно.

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

Вышеперечисленные методы индексов и сора 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 тракта 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.

Биологические методы основаны на скармливании изучаемого белка живому организму с последующим выявлением его реакции. Основными показателями оценки при этом являются привес (рост животных) за определённый 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 учёте прибавки веса тела на единицу потреблённого белка за определённое время.

Наибольшее распространение получили, разработанные П.Осборном, методы определения коэффициента эффективности белка (КЭБ или PER), которым определяют прибавку веса тела на один грамм потреблённого 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 S.A. Stott и H. Smith.

Однако наибольшее распространение получил модифицированный метод определения относительной биологической ценности. 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, объём инокулята и т.д.).

3. Вместо специальных плоскодонных колб Эрленмеера, 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 берётся взвесь для подсчёта клеток.

Сущность метода заключается в термостатировании флаконов микрофлоры с исследуемыми образцами продуктов (мясных, овощных, молочных и др.) и фиксируют инфузории йодоспиртовым 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 таблице 7.

Таблица 7 - 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	100,0	-
варёная	2,16	129,97	29,57
варёная с солью	2,25	122,57	22,57
тушёная	1,75	125,84	25,84
тушёная с солью	2,20	112,94	12,94
Капуста квашенная			
сырая	2,57	94,66	5,34
варёная	2,20	125,51	25,51
тушёная	2,49	92,84	7,16
Картофель			
сырой очищенный	1,75	100,0	-
варёный целым клубнем в воде	1,30	121,36	21,36
варёный на пару	1,24	137,76	37,70
варёный в кожце в воде	1,4	108,51	8,51

4.5 Методы исследования липидов

в пищевом сырье и продуктах переработки

Методы исследования липидов зависят от строения и состава липидов, жирнокислотного состава масел и жиров и претерпевают сложные стадии пробоподготовки.

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. Ниже приведено содержание липидов (%) 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

своём составе не только остатки высокомолекулярных карбоновых кислот, но и фосфорную или серную кислоты (табл. 8).

Таблица 8 - Содержание липидов в семенах и плодах растений

Культура	Сод. липидов, %	Культура	Сод. липидов, %
Подсолнечник (семянка)	30-58	Пшеница (зерновка)	2,7
Хлопчатник (семена)	20-29	Рожь (зерновка)	2,5
Соя (семена)	15-25	Кукуруза (зерновка)	5,6
Лен (семена)	30-48	Рис (зерновка)	2,9
Арахис (ядро)	50-61	Овес (зерновка)	7,2
Маслины (мякоть)	28-50	Просо (зерновка)	4,5
Конопля (семена)	32-38	Гречиха	3,8
Рапс (семена)	45-48	Кедр (ядро ореха)	26-28
Горчица (семена)	25-49	Какао (бобы)	49-57

К простым нейтральным липидам (не содержащим атомов азота, фосфора, серы) относят производные высших жирных кислот (табл. 9) и спиртов: глицеролипиды, воски, эфиры холестерина, гликолипиды и др.

Таблица 9 - Основные карбоновые кислоты, входящие в состав природных масел и жиров

Кислота	Формула	Символ
Насыщенные кислоты		
Лауриновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$	C_{12}^0
Миристиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$	C_{14}^0
Пальмитиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$	C_{16}^0
Стеариновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$	C_{18}^0

Ненасыщенные

Олеиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	C_{18}^1 -9-цис
Эруковая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{COOH}$	C_{22}^1 -13-цис
Линолевая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ $(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	C_{18}^2 -9-цис
Линоленовая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	C_{18}^3 -9-цис,12-цис,15- цис
Арахидоновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}-\text{CH}=\text{CH})_4-(\text{CH}_2)_3-$ COOH	C_{20}^4 -5-цис,8-цис

Оксикислоты

Рициноленовая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CHOH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ $(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	C_{18}^1 -9-цис,12-ол
---------------	---	--------------------------------

Фосфолипиды - обязательные компоненты растений: соя - 1,8%, хлопчатник - 1,7%, подсолнечник - 1,7%, клещевина - 0,3%, лен - 0,6%, пшеница - 0,54%, рожь-0,6%, кукурузы - 0,9%. Фосфолипиды образуют сложные комплексы с белками (липопротеиды), углеводами (гликопротеиды). Это труднорастворимые и «связанные», «прочносвязанные» липиды. Для их извлечения из анализируемого объекта необходимо предварительно разрушить их связь с белками, углеводами. Их выделяют гидрофильными полярными растворителями или их смесями (хлороформ-метанол, хлороформ-этанол), которые разрушают некоторые белково-липидные, гликолипидные соединения. Прочносвязанные липиды извлекают после обработки липидсодержащего материала спиртовым раствором щелочи при кипячении, для разрушения прочных комплексов липидов с нелипидными компонентами. При этом может происходить гидролиз отдельных групп липидов и омыление жирных кислот щелочью. При извлечении липидов из масличного сырья в экстракт переходит большая группа сопутствующих жирам жирорастворимых веществ: пигменты, жирорастворимые витамины, изопреноиды; в том числе стеринны и другие соединения.

Извлекаемая (экстрагируемая) из семян смесь, состоящая из разных групп липидов и растворенных в них сопутствующих веществ, получила название сырого жира.

Среди жирорастворимых пигментов, веществ, определяющих окраску масел и жиров, наиболее распространены каротиноиды (красно-желтые пигменты), хлорофилы. В хлопковых семенах содержится пигмент госсипол (темно-желтый, коричневый цвет).

Методы основаны на извлечении липидов из пищевых объектов (свободные, связанные, прочносвязанные липиды). Свободные липиды экстрагируются неполярными растворителями (экстрагентами) - гексаном, диэтиловым эфиром, связанные - системами растворителей (хлороформ-спирт в объемном соотношении 2:1) Основными требованиями при этом является полнота экстракции и сохранение нативности выделенных липидов.

В каждом конкретном случае может подбираться такой набор методов анализа, который позволяет получить максимальный объем интересующей исследователей информации.

Для разделения и идентификации ацилглицеринов, фосфолипидов, сфинголипидов, гликолипидов применяется метод ТСХ.

При исследовании состава липидов проводят мягкий щелочной гидролиз, приводящий к отщеплению жирных кислот, но не затрагивает глицерофосфоспиртовой состав исходной молекулы. При гидролизе фосфоглицеридов в сильно щелочной среде отщепляются как жирные кислоты, так и спирт.

Поскольку связь между глицерином и фосфорной кислотой сравнительно устойчива к щелочному гидролизу, то еще одним продуктом гидролиза в сильно щелочной среде является глицеринол-3-фосфат. Это соединение расщепляется при кислотном гидролизе.

Анализ смесей жирных кислот, полученных в результате гидролиза липидов, наиболее четко и точно проводится методом газожидкостной хроматографии. Для этого необходимо провести перевод жирных кислот в

летучие соединения. Обычно их переводят в метиловые эфиры жирных кислот. Пробу вводят в нагретую хроматографическую колонку. В качестве неподвижной жидкой фазы используют парафиновую или силиконовую жидкие фазы. Подвижной фазой является газ – “носитель” (азот, аргон). Метиловые эфиры жирных кислот под давлением движутся по колонке. Распределение (порядок выхода вещества из колонки) основан на различной растворимости эфиров в стационарной жидкой фазе. Чем ниже растворимость эфира в жидкой фазе, тем быстрее он выходит из колонки и попадает в специальное регистрирующее аналитический сигнал устройство (детектор). В результате получают набор пиков на хроматограмме, каждый из которых соответствует определенной жирной кислоте.

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

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

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

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

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

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

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

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

Для определения общего содержания фосфолипидов используется фотоколориметрический метод анализа. Метод основан на предварительном сухом сжигании масла с оксидом магния. Затем с помощью молибдата натрия (или аммония) получают фосфорномолибденовый комплекс, который восстанавливают гидразинсульфатом до молибденовой сини и измеряют на фотоэлектроколориметре оптическую плотность окрашенного раствора.

Предварительно готовят стандартные растворы и строят градуировочный график.

Содержание фосфорсодержащих веществ (х, %) в пересчете на стеаролейцетин определяют по формуле:

$$X = a \cdot 100 \cdot 0,0026 / n,$$

где: a – содержание фосфора в растворе, определенное по градуировочной кривой, мкг/см³;

0,0026 – коэффициент пересчета фосфора в стеароолеолецитин;

n – навеска масла, г

Для качественного определения масел существуют следующие характерные реакции.

Проба на акролеин. Две-три капли испытуемого вещества (масло, экстракт после отгонки растворителя) нагревают в пробирке на голем 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 $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$ – образуется из глицерина при отнятии двух молекул воды. Если пары отвести в пробирку с фуксिनсернистой кислотой, то последняя приобретает красную окраску.

Проба на омыление. Нагревают 2-3 капли испытуемого вещества в пробирке с 5 см³ 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.

В практике пищевой промышленности состав и качество жиров и масел характеризуют с помощью разнообразных аналитических “чисел”, имея в виду расход определенных реагентов на реакции с жиром. Наибольшее значение имеют числа: кислотное, омыления, иодное.

Кислотным числом называется показатель, характеризующий количество свободных жирных кислот, содержащихся в жире и выражающейся числом миллиграммов едкого калия, затраченного на нейтрализацию свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира или масла.

Число омыления равно количеству миллиграммов едкого калия, необходимого для омыления глицеридов и нейтрализацию кислот, содержащихся в 1г жира или масла.

Иодное число – показатель, характеризующий непредельность жирных кислот, входящих в состав жира. Оно выражается в процентах иода, эквивалентного галогену, присоединяющемуся к 100г жира. Существует несколько методов его определения. Одним из наиболее распространенных является бромометрический метод. К анализируемому объекту добавляют избыток раствора брома в бромистом натрии.

4.6 Методы исследования углеводов в пищевом сырье и продуктах переработки

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.

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

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

Среди моносахаридов широко известными являются глюкоза,

фруктоза, галактоза, арабиноза, ксилоза и D – рибоза.

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

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

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

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

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

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

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

Определение крахмала основано, как правило, на определении полученной при гидролизе глюкозы химическими методами или на

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

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

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

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

комплексометрически с трилоном Б и по этим данным рассчитывать содержание пектина.

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

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

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

Перманганатный метод Бертрана. Этот метод основан на окислении сахаров реактивами, в состав которых медь входит в виде растворимого комплексного соединения. Оно образуется при смешивании равных объёмов раствора серно-кислой меди (Фелинг №1) и щелочного раствора калия-натрия винно-кислого (Фелинг №2). При нагревании жидкость Фелинга окисляет 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 серно-кислое окисное железо в серно-кислое закисное железо, которое оттитровывают раствором марганцово-кислого натрия. По объёму марганцово-кислого калия рассчитывают количество восстановленной меди, а затем, пользуясь специальными таблицами, находят количество сахара.

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

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

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

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

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

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

Количественное определение пектиновых веществ основано на их свойстве давать окраску с карбазолом. Среди таких методов широко применяют карбазольный метод, который основан на появлении

специфического фиолетово-розового окрашивания в результате взаимодействия уроновых кислот с карбазолом в 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 удастся 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.

4.7 Витамины

Витамины – низкомолекулярные органические соединения разнообразной химической природы, не синтезируемые (или синтезируемые в недостаточном количестве) в организме людей и большинства животных, поступающие с пищей и необходимые для каталитической активности ферментов, определяющих биохимические и физиологические процессы в живом организме. Витамины относятся к незаменимым микрокомпонентам пищи в отличие от макрокомпонентов – белков, липидов и углеводов.

Витамины обладают высокой биологической активностью и поэтому нужны организму в весьма малых количествах. Содержание их в тканях организма и в пищевых продуктах очень невелико и выражается в мг, % или в гаммах (одна гамма $\gamma = 0,001$ мг = 1 мкг). Иногда содержание витаминов выражается также в международных единицах МЕ (1 МЕ равна 0,3 мкг ретинола или 0,6 мкг β -каротина).

В 1880 г. русский врач Н.И.Луниин на опытах с белыми мышами установил, что для нормальной жизнедеятельности недостаточно белков, жиров, углеводов и минеральных веществ, необходимы дополнительные факторы питания, которые находятся в натуральных продуктах.

В 1911 г. польский ученый биохимик Функ выделил из рисовых отрубей кристаллическое вещество, отсутствие которого в пище вызывало заболевание у животных и даже гибель. Функ установил принадлежность вещества к аминам и назвал его витамином, что в переводе с латинского означает «жизненный амин». В дальнейшем все вещества с подобными физиологическими свойствами стали называть витаминами, хотя большинство из них, как оказалось, не содержит азота (табл.10).

Таблица 10 - Названия витаминов

Буквенные обозначения	Название
Витамины, растворимые в жирах	
А	Ретинол
А ₂	Дегидроретинол
D	Кальциферол
D ₂	Эргокальциферол
Е	Токоферолы (α, β, γ)
К ₁	Филлохинон
Витамины, растворимые в воде	
С	Аскорбиновая кислота
В ₁	Тиамин
В ₂	Рибофлавин
В ₃	Пантотеновая кислота
В ₆	Пиридоксин
В ₁₂	Цианкобаламин
В ₁₅	Пангамовая кислота

PP	Никотиновая кислота и ее амид
H	Биотин
-	Холин
B _c	Фолиева кислота
P	Флавоноиды
-	Инозит (мезоинозит)
-	Пара-аминобензойная кислота

Вначале витамины обозначались латинскими буквами – А, С, D, В₁, В₂, Р и др. В настоящее время в международной классификации принято называть витамины соответственно химическому строению. Например, витамин С – аскорбиновая кислота, витамин D – кальциферол, витамин Е – токоферол.

Витамины подразделяют на водо- и жирорастворимые. К водорастворимым витаминам относятся витамины С, группы В, Р и РР, к жирорастворимым – витамины А, D, Е и К.

Выделяют также группу витаминоподобных веществ, к которым относят холин, инозит, витамин U, карнитин, оротовую, пангамовую (витамин В₁₅) и парааминобензойную кислоты, витамин F.

Некоторым витаминам свойственна так называемая витамерия. Это явление заключается в том, что физиологическим действием, характерным для какого-либо витамина обладает не одно, а несколько сходных по химическому строению веществ, называемых витамерами. Так витамин А имеет два витамера – витамины А₁ и А₂. Известно несколько витамеров D – витамины D₂, D₃ и др.

Наиболее крупным достижением химии витаминов было доказательство существования связи между ферментами и витаминами. Витамины, как правило, являются коферментами, т.е. активными группами ферментных систем. Иногда витамины служат сырьем для синтеза коферментов, претерпевая в клетках химические превращения (табл.11).

Таблица 11 - Групповая характеристика некоторых витаминов

Группа витаминов (по лечебно-профилактическому эффекту)	Функции	Название основных витаминов
Повышает общую реактивность организма	Регулируют функции центральной нервной системы, обмен веществ, питания тканей	В ₁ , В ₂ , РР, В ₆ , В ₁₅ , А, С
Производят антиинфекционные действия	Повышают устойчивость организма к инфекции, стимулируют выработку антител, усиливают фагоцитоз	С, А и группа В
Производят антианемическое действие	Нормализуют и стимулируют кроветворение	В ₁₂ , фолиевая кислота, В ₆
Препятствуют развитию склероза и ожирения		Холин, В ₃ , В ₆ , В ₁₅
Регулируют зрение	Облегчают адаптацию глаза к темноте, усиливают остроту зрения, расширяют поля цветного зрения	А, В ₂ , С
Защищают кожные покровы и волосы		А, В ₂ , В ₃ , РР, В ₆ , Н
Оказывают антигеморрагическое действие	Обеспечивают нормальную проницаемость и резистентность кровеносных сосудов, повышают свертываемость крови	С, Р, К

Витамины синтезируются растениями, животными и некоторыми

микроорганизмами. Организм человека не может синтезировать большинство витаминов, поэтому он должен получать их в готовом виде с пищей. В процессе жизнедеятельности витамины в тканях разрушаются, и количество их должно пополняться новыми поступлениями извне.

Потребность человека в витаминах зависит от его возраста, состояния здоровья, характера деятельности, времени года, содержания в пище основных макрокомпонентов питания (табл. 12).

Таблица 12 - Некоторые данные о связи между коферментами и витаминами

Витамин	Кофермент	Функция фермента
Никотиновая кислота	Ди- и три-фосфоникотинамиднуклеозид	Перенос водорода
Витамин В ₁ (тиамин)	Тиаминфосфат	Разложение кетокислот – декарбоксилирование
Витамин В ₂ (рибофлавин)	Рибофлавинфосфорный эфир	Перенос водорода
Витамин В ₆ (пиридоксин)	Пиридоксаль-фосфорный эфир	Трансаминирование, декарбоксилирование

Различают три степени обеспеченности организма витаминами:

- авитаминоз – когда витамины отсутствуют полностью;
- гиповитаминоз – недостаток витаминов, иногда отсутствие какого-либо одного или нескольких витаминов;
- гипервитаминоз – избыточное их поступление.

Нормы потребления витаминов приведены в нормативных документах, разработанных национальными органами, занимающимися вопросами питания. В России это нормы Института питания Академии медицинских наук, в США – рекомендуемые нормы потребления (RDA), разработанные Департаментом продуктов и питания при Национальном совете по исследованиям. RDA зависят от пола и возраста. Усредненные дозы витаминов (USRDA) рассчитаны, соотносятся с ежедневной нормой питания

и иногда указывается на этикетках упакованных пищевых продуктов.

4.7.1. Жирорастворимые витамины и методы их определения

Витамин А (ретинол). Витамин А по своему химическому строению близок к желто-оранжевому растительному пигменту каротину и представляет собой циклический, ненасыщенный одноатомный спирт с большим количеством двойных связей.

Витамин А образуется в печени животных и человека под действием фермента каротиногеназы из каротина, поступающего в организм с продуктами растительного происхождения. Поэтому потребность организма в витамине А может удовлетворяться как за счет поступления самого витамина, так и его провитамина – каротина. Суточная потребность человека в витамине А для взрослого составляет 1,0-2,5 мг, или 25000 МЕ, или 6 мг каротина. Потребность в витамине возрастает при беременности, кормлении грудью, заболеваниях кишечника, поджелудочной железы, печени и желчевыводящих путей.

При гиповитаминозе А появляется сухость кожи и слизистых, развивается «куриная слепота» (ксерофтальмия – резкое ухудшение зрения в сумерках), замедляется рост костей и зубов, снижается сопротивляемость организма инфекциям. Кроме того, А-витаминная недостаточность предрасполагает к развитию опухолей (табл. 13).

Таблица 13 - Содержание витамина А в продуктах питания

Наименование	Содержание, МЕ/100 г	Наименование	Содержание, МЕ/100 г
Баранья печень	50500	Цикорий	3300
Говяжья печень	43900	Абрикосы	2700
Красный перец чили	22500	Капуста брокколи	2500
Печень цыплят	21600	Зеленый лук	2000
Морковь	12100	Папайя	1750

Сушеные абрикосы	11000	Персики	1650
Петрушка	10900	Сушеный чернослив	1600
Шпинат	8500	Тыква	1600
Манго	8100	Взбитые сливки	1540
Красный сладкий перец	4800	Яйца	1180
		Вишня	1000

Признаки гипервитаминоза А – головная боль, рвота, облысение, пересыхание слизистой, нарушение в костной ткани и повреждения в печени. Как правило, эти признаки появляются только после хронического приема доз ретинола, превышающих 15 мг для взрослых и 6 мг для детей в сутки.

Витамин А и каротин, будучи сильно ненасыщенными соединениями, окисляются и теряют свою активность под действием кислорода воздуха и света. Это следует учитывать при хранении и переработке сельскохозяйственных продуктов.

Для определения витамина А в пищевых продуктах используют в основном колориметрический метод. Метод основан на реакции витамина А с треххлористой сурьмой в хлороформе с образованием раствора синей окраски, оптическую плотность которого измеряют на спектрофотометре при длине волны 325 нм. Предварительно проводят щелочной гидролиз, экстракцию витамина А органическими растворителями и отделение его от других неомыляемых веществ с помощью адсорбционной хроматографии. Так как витамин А легко разрушается под действием света, кислорода воздуха и других факторов, во время анализа необходимо соблюдать специальные меры предосторожности, защищающие витамин от воздействия этих факторов: определение проводят, предохраняя от света, в присутствии антиоксидантов и т.д. При анализе молока, мяса, рыбы и блюд из них, приготовляемых без добавления растительных продуктов, возможно определение витамина А и β-каротина из одной навески после разделения их на колонке с окисью алюминия. β-Каротин определяют

спектрофотометрическим методом по поглощению его растворов при длине волны 450-451 нм.

Метод определения β -каротина в пищевых продуктах основан на измерении интенсивности светопоглощения его растворов. Как соединения с сопряженными двойными связями каротиноиды имеют характерные спектры поглощения каротиноидов в ультрафиолетовой и видимой области. Максимум поглощения каротиноидов зависит от числа сопряженных двойных связей и от растворителя. Каротиноиды экстрагируют органическими растворителями, отделяют β -каротин от других каротиноидов с помощью адсорбционной хроматографии и измеряют поглощение его растворов на спектрофотометре при длине волны 450-451 нм. Определение ведут при затемненном свете.

Витамин D (кальциферол) является регулятором кальциево-фосфорного обмена, способствует всасыванию кальция и отложению его в костях.

Витамин D является производным циклических спиртов стеролов, играющих роль провитаминов. Под действием ультрафиолетовых лучей или просто солнечного света они превращаются в витамин D. Поэтому иногда витамин D называют «витамином солнечного света».

Существует несколько разновидностей витамина D, но наибольшее значение из них имеют витамины D₂ (эргокальциферол) и D₃ (холекальциферол), синтезируемые в организме.

Витамин D₂ образуется из эргостерола, содержащегося в растениях и, особенно в большом количестве, в дрожжах. Витамин D₃ образуется в коже человека и животных под действием ультрафиолетовых лучей из 7-дегидрохолестерола и разносится по всему телу.

Суточная потребность в витамине D до 0,01 мг или 400 МЕ.

Недостаточность кальциферола приводит к рахиту – заболеванию, наблюдаемому у детей раннего возраста. У взрослых разновидность этого заболевания называется остеопорозом (демнерализация костей) или остеомалацией (размягчение костей).

Избыток витамина D в организме человека чрезвычайно опасен. При передозировке кальциферола развивается метастатическое обызвествление мягких тканей, в том числе артерий, отложением в них солей кальция, что приводит к летальному исходу.

Естественными источниками витамина D являются животные продукты. В наибольших количествах витамин D содержится (мг %) в рыбьем жире – 125, жирных сорбах рыбы – 100-110, яйцах – 2,2, сливочном масле – 1,3-1,5, молоке – 0,005.

Витамин D более устойчив, чем витамин A, к нагреванию и окислительным процессам, поэтому хорошо сохраняется при консервировании и кулинарной обработке.

Витамин E (токоферол) – основной представитель группы антиоксидантных витаминов. Он способствует замедлению окислительных процессов, стимулирует мышечную деятельность, препятствуя окислению витамина A, жиров, каротиноидов. Витамин E участвует в энергетическом обмене, белковом и нуклеотидном обменах. Витамин E называют также фактором размножения (при недостатке витамина E наступает бесплодие). У кормящих женщин при E-авитаминозе нарушается лактация.

Витамин E представляет собой высокомолекулярный, гетероциклический спирт – токоферол (греческое *tocos* – потомство, *fero* – несу). Известно 3 полимера токоферолов – α , β , γ . Наибольшей биологической активностью обладает α -токоферол.

Физиологическая потребность в токофероле составляет в сутки для взрослых 10 мг (800 ME), для детей – 3-15 мг, однако зависит от характера и количества жиров в рационе. Человек получает с пищей 20-30 мг токоферона, при этом в кишечнике всасывается только 50%.

Состояние гиповитаминоза E у человека – крайне редкое явление. Оно регистрируется при перегруженности рациона полиненасыщенными жирными кислотами, большой физической нагрузке у спортсменов.

Гипервитаминоз витамина E вызывает усталость, слабость, чрезмерную

скорость свертывания крови. Такие симптомы наблюдаются при потреблении витамина Е в дозе 12000 МЕ и более.

Содержание токоферола в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 14.

Токоферолы устойчивы к действию высоких температур, сохраняются в пищевых продуктах даже при сложной кулинарной обработке, однако быстро разрушаются при прогоркании жиров.

Витамин К (филлохинон) стимулирует в организме биосинтез веществ (протромбина и др.), участвующих в процессе свертывания крови. Этот витамин обозначен буквой К от слова коагуляция – свертывание. Он обладает сильным болеутоляющим и антимикробным действием, способствует заживлению ран, ожогов, обморожений.

Таблица 14 - Содержание витамина Е в пищевых продуктах

Наименование	Содержани е, МЕ/100 г	Наименование	Содержани е, МЕ/100 г
Пшеничное масло	216,00	Пшеничные отруби	3,00
Подсолнечное масло	88,00	Лосось	2,50
Миндальное масло	48,00	Зерна ржи	2,30
Кукурузное масло	45,00	Ржаной хлеб	2,20
Кунжутное масло	29,00	Орехи пекан	1,90
Пророщенная пшеница	22,00	Ржаные крекеры	1,90
Арахис	18,00	Хлеб из цельных зерен пшеницы	1,40
Оливковое масло	18,00	Морковь	1,00
Соевое масло	14,00	Горох	0,99
Жареный арахис	13,00	Грецкие орехи	0,92
Арахисовое масло	11,00	Бананы	0,88
Масло сливочное	3,60	Яйца	0,83
Шпинат	3,20	Помидоры	0,72

Овсяная крупа	3,00	Баранина	0,29
---------------	------	----------	------

Существует два ряда витаминов группы К – филлохинон и менахинон.

Потребность взрослого человека в витамине К составляет 0,2-0,3 мг/сут.

При недостатке витамина К резко понижается способность крови к свертыванию и возникают внутренние кровоизлияния (геморрагии).

Токсические эффекты при избытке витамина К не установлены.

Основными источниками витамина К являются (мг/100 г): свиная печень – 0,6, томаты – 0,4, зеленый горошек – 0,1-0,3, телятина, баранина, свинина – 0,15, морковь – 0,1, картофель – 0,08, цветная капуста – 0,06, яйца – 0,02. Витамин К образуется также в кишечнике человека в результате жизнедеятельности некоторых микроорганизмов.

Витамин К не окисляется даже при высоких температурах, но разрушается в щелочной среде и под действием солнечных лучей.

4.7.2 Водорастворимые витамины и методы их определения

Витамин С (аскорбиновая кислота) участвует во многих биохимических окислительно-восстановительных процессах в организме, оказывая антиоксидантное действие и способствуя регенерации и заживлению тканей, поддерживает устойчивость организма к различным видам стрессов; способствует образованию костной ткани зубов, усвоению железа; обеспечивает нормальный иммунологический и гематологический статус.

По своей химической природе аскорбиновая кислота ($C_6H_8O_6$) близка к углеводам. Важным ее свойством является способность легко отдавать и присоединять водород. Поэтому она принимает активное участие в окислительно-восстановительных реакциях организма и играет очень важную роль в обмене веществ. Отдавая водород, аскорбиновая кислота легко переходит в окислительную форму – дегидроаскорбиновую кислоту, которая тоже обладает витаминной активностью, но легче разрушается.

Суточная потребность в витамине С 50-100 мг. При отсутствии в пище витамина С у человека развивается заболевание цинга. Характерным

признаком этого заболевания является кровоточивость десен, расшатывание и выпадение зубов, снижение прочности костной ткани. Это объясняется тем, что при недостатке витамина С нарушается в организме синтез белков соединительной и костной тканей – коллагена и оссеина. Недостаток витамина С вызывает плохое самочувствие, снижение умственной и физической работоспособности, повышает чувствительность к простуде и инфекциям. Табачный дым снижает содержание витамина С в организме.

В настоящее время авитаминоза С не наблюдается ни в одной развитой стране. Гиповитаминоз наблюдается в зимне-весенний период.

Содержание витамина С в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 15.

Витамин С является наименее стойким витамином, он легко окисляется кислородом воздуха. Окислению способствует нагревание до 100° С, а также ионы меди и железа. Кислая среда способствует сохранению витамина С, щелочная – его разрушению. Окуривание плодов и ягод перед сушкой сернистым газом, а также обработка паром способствует сохранению в них витамина С. Хорошо сохраняется витамин С в замороженных плодах и овощах.

Витамин С в пищевых продуктах может присутствовать как в восстановленной (аскорбиновая кислота - АК), так и в окисленной (дегидроаскорбиновая кислота - ДАК) формах. ДАК может образовываться в результате окисления АК при кулинарной обработке пищевых продуктов. Кроме того, в них могут содержаться вещества, способные вступать во взаимодействие с используемыми реагентами и влиять на результаты анализа. Поэтому методы, применяемые для определения витамина С, должны обеспечивать определение АК и ДАК и исключать влияние мешающих анализу соединений.

Таблица 15 - Содержание витамина С в пищевых продуктах

Наименование	Содержание мг/100 г	Наименование	Содержание мг/100 г
Красный перец чили	360	Репка	36
Красный сладкий перец	204	Ягоды бузины	36
Петрушка	172	Телячья печень	36
Сладкий зеленый перец	128	Манго	35
Брокколи	113	Зеленый лук	32
Брюссельская капуста	102	Мандарины	31
Зелень горчицы	97	Устрицы	30
Цветная капуста	78	Соевые бобы	29
Хурма	66	Зеленый горошек	27
Земляника	59	Редис	26
Шпинат	51	Малина	25
Апельсины	50	Помидоры	23
Капуста белокочанная	47	Свиная печень	23

При определении витамина С в пищевых продуктах используют в основном два метода: первый, основанный на способности АК, окисляясь, количественно восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол, и второй, основанный на способности дикетогулоновой кислоты, получаемой в ходе анализа при окислении ДАК, образовывать соединения с 2,4-динитрофенилгидразином - озазоны, имеющие оранжевую окраску.

Метод титрования АК 2,6-дихлорфенолиндофенолом более прост по выполнению и в сочетании с определенными приемами обработки может быть использован для анализа всех видов пищевых продуктов и готовых

блюд. Наиболее полное восстановление ДАК в АК получено при применении сульфгидрильных соединений: гомоцистеина и цистеина. Для отделения АК от редуцирующих соединений, присутствующих в пищевых продуктах, подвергавшихся тепловой обработке и длительно хранившихся, экстракты обрабатывают формальдегидом. Формальдегид в зависимости от рН среды избирательно взаимодействует с АК и посторонними редуцирующими примесями. При анализе продуктов, не содержащих естественных красителей, количество 2,6-дихлорфенолиндофенола, вступающего в реакцию, определяют визуально. Если продукты окрашены, количество израсходованного 2,6-дихлорфенолиндофенола устанавливают методом индофенол-ксилоловой экстракции. Способ основан на количественном обесцвечивании 2,6-дихлорфенолиндофенола АК. Избыток краски экстрагируется ксилолом и измеряется колориметрически при длине волны 500 нм.

Витамин В₁ (тиамин) принимает участие в превращении пировиноградной кислоты в ацетальдегид, в обмене углеводов, аминокислот и жирных кислот. Витамин В₁ входит в состав очень важного фермента пируватдекарбоксилазы. Этот фермент участвует в расщеплении пировиноградной кислоты, образующейся в организме в процессе дыхания при окислительном распаде углеводов.

Суточная потребность тиамин у здорового человека 1,5-2,5 мг. Потребность в витамине В₁ повышена у лиц с неуравновешенной нервной системой, при беременности и у кормящих матерей, при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и хронических инфекциях, оперативных вмешательствах, ожогах, сахарном диабете, лечении любых заболеваний антибиотиками.

При отсутствии в пище витамина В₁ нарушается синтез пируватдекарбоксилазы и в тканях начинает накапливаться пировиноградная кислота, являющаяся ядом для нервной системы. В результате у человека возникает тяжелое заболевание – полиневрит или бери-бери. Недостаток

витамина В₁ приводит к снижению аппетита, выделения желудочного и кишечного соков, массы тела, нарушению сердечной деятельности, понижению умственной и физической работоспособности.

При избытке тиамин в организме человека токсических эффектов не установлено. Почки легко выводят избыток этого витамина.

Содержание тиамин в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 16.

Таблица 16 - Содержание витамина В₁ в пищевых продуктах

Наименование	Содержание мг/100 г	Наименование	Содержание мг/100 г
Семена подсолнечника	1,96	Фундук	0,46
Очищенный рис	1,84	Дикий рис	0,45
Кедровые орехи	1,28	Зерна ржи	0,43
Арахис	1,14	Баранья печень	0,41
Соевые бобы сухие	1,10	Омары	0,41
Свинина нежирная	0,93	Кукурузная каша	0,38
Орехи пекан	0,86	Говяжьи почки	0,36
Горох	0,74	Зеленый горошек	0,35
Просо	0,73	Грецкие орехи	0,33
Пшеничные отруби	0,72	Свиная печень	0,30
Фисташки	0,67	Чеснок	0,25
Телячье сердце	0,63	Говяжья печень	0,25
Гречиха	0,60	Миндаль	0,24
Овсяная крупа	0,60	Семена тыквы	0,24
Мука из цельной пшеницы	0,55	Семена кабачков	0,24
Зерна пшеницы	0,55	Свежие каштаны	0,23

При потреблении риса, ягод (черники, черной смородины, вишни),

шпината, брюссельской капусты, кофе и сырых яиц, а также сырой рыбы надо знать, что эти продукты содержат антивитамины тиаминазу, которая разрушает в большей степени витамин В₁. Соль также разрушает витамин В₁. Витамин В₁ хорошо сохраняется в кислой среде, но разрушается в щелочной, устойчив к нагреванию, не разрушается при выпечке хлеба, сушке овощей и фруктов.

Для определения тиамина в пищевых продуктах используют, как правило, флюорометрический метод, основанный на окислении тиамина в щелочной среде железосинеродистым калием с образованием сильнофлюоресцирующего в ультрафиолетовом свете соединения – тиохрома (максимум возбуждения при 365 нм и максимум флюоресценции при 436 нм). Интенсивность флюорисценции тиохрома прямо пропорциональна содержанию тиамина.

Поскольку в большинстве продуктов тиамин присутствует в виде дифосфорного эфира, связанного с белком, для его количественного определения необходимо предварительное разрушение этих связей. Освобождение тиамина из связанного состояния достигается с помощью гидролиза при воздействии протелитических и фосфатазных ферментов. Анализ затрудняется также наличием в ряде объектов веществ, обладающих флюоресценцией. Маскируя флюоресценцию тиохрома, эти вещества искажают результаты анализа и делают невозможным проведение определения без специальных обработок проб. Удаляют мешающие соединения, пропуская гидролизат через колонки с ионообменными смолами.

Витамин В₂ (рибофлавин) входит в состав ферментов, регулирующих окислительно-восстановительные реакции в организме. Витамин В₂ был первым витамином, о котором стало известно, что он является составной частью ферментов. Известно не менее 12 ферментов, в которые входит этот витамин. Рибофлавин улучшает состояние кожи, нервной системы, слизистых оболочек, функцию печени и кроветворения.

Витамин В₂ – желтое вещество, относится к группе желтых пигментов-

флавинов; содержит в своем составе остаток рибозы, почему и был назван рибофлавином.

Рекомендуемая норма потребления рибофлавина 1,3-2,4 мг/сутки. Потребность в витамине В₂ возрастает при гастритах с пониженной секрецией, заболеваниях кишечника, гепатитах, болезнях кожи, глаз, малокровии. При увеличении в пище норм белка и жира повышается потребность организма в витамине В₂.

Недостаток витамина В₂ приводит к вялости, утомляемости, бессоннице, ослаблению зрения, неврастении, нарушению пищеварения, задержке роста, выпадению волос, повреждению кожи и слизистых оболочек полости рта, губ. Крайне необходим в период беременности и лактации.

Токсических эффектов при избытке витамина не установлено, так как пищеварительный тракт человека не способен всасывать опасное количество рибофлавина.

Содержание рибофлавина в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 17.

Витамин В₂ неустойчив в щелочной среде, разрушается при высокой температуре и действии ультрафиолетовых лучей.

В пищевых продуктах рибофлавин может находиться в свободном состоянии и в форме фосфорных эфиров: флавинмононуклеотида (ФМН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД). Оба соединения связаны с белками и не могут быть определены без предварительного ферментативного расщепления. При определении общего содержания рибофлавина в пищевых продуктах прибегают к таким способам обработки, которые разрушают флавиннуклеотидный комплекс, в результате чего образуется свободный рибофлавин. Для этих целей используют гидролиз с соляной кислотой, обработку ферментными препаратами пепсином, амилоризином П10Х или пектаваморином П10Х.

Таблица 17 - Содержание витамина В₂ в пищевых продуктах

Наименование	Содержание мг/100 г	Наименование	Содержание мг/100 г
Пивные дрожжи	4,28	Пшеничные отруби	0,35
Баранья печень	3,28	Сухие соевые бобы	0,31
Говяжья печень	3,26	Горох	0,29
Свиная печень	3,03	Говяжий язык	0,29
Телячья печень	2,72	Мозги	0,26
Печень цыпленка	2,49	Капуста	0,26
Бараньи почки	2,42	Петрушка	0,26
Телячье сердце	1,05	Орехи кешью	0,25
Миндаль	0,92	Рисовые отруби	0,25
Говяжье сердце	0,88	Телятина	0,25
Баранье сердце	0,74	Баранина нежирная	0,24
Пророщенная пшеница	0,68	Брокколи	0,23
Дикий рис	0,63	Цыплята	0,23
Грибы	0,46	Кедровые орехи	0,23
Яичный желток	0,44	Лосось	0,23
Просо	0,38	Семена подсолнечника	0,23
Красный перец чили	0,36	Чечевица	0,22
Мука соевая	0,35	Свинина нежирная	0,22

Свободный рибофлафин и продукт его фотолиза – люмофлавин - обладают характерной желто-зеленой флюоресценцией при облучении их растворов светом с длиной волны 440-500 нм. На этом свойстве основан наиболее широко используемый флюориметрический метод определения рибофлавина. Метод разработан и применяется в двух

вариантах. Один из них – вариант прямой флюорометрии - основан на определении интенсивности флюоресценции до и после восстановления рибофлавина гидросульфитом натрия. Второй вариант – люмифлавиновый - основан на использовании свойства рибофлавина при облучении в щелочной среде переходить в люмифлавин, интенсивность флюоресценции которого измеряют после извлечения его хлороформом.

Метод прямой флюорометрии не применим при анализе объектов с очень низким содержанием рибофлавина (некоторые овощи, плоды, ягоды), готовых блюд и кулинарных изделий, а также при исследовании зерновых продуктов (круп, муки, зерна, хлеба и т.п.). В этих случаях предпочтительным является люмифлавиновый метод.

Образование люмифлавина из рибофлавина идет количественно при облучении в щелочных растворах и концентрациях рибофлавина не более 2,4 мкг/мл. Предварительная (до фотолиза) обработка испытуемого раствора хлороформом позволяет удалить из него посторонние флюоресцирующие вещества, растворимые в хлороформе, и тем самым повысить специфичность метода.

Витамин В₃ (пантотеновая кислота) участвует в синтезе жирных кислот, осуществляя перенос ацильных групп, в углеводном обмене, активизирует многие биохимические реакции, обмен гормонов, гемоглобина. Действие пантотеновой кислоты зависит от обеспеченности организма другими витаминами, именно фолиевой кислотой и биотином.

Пантотеновая кислота представляет собой пептид, образованный β-аланином и пантоевой кислотой.

Потребность в пантотеновой кислоте 5-10 мг/сут.

Гиповитаминоз пантотеновой кислоты встречается крайне редко – она обнаружена во всех растительных и животных продуктах.

Недостаток этого витамина может возникнуть при длительном употреблении антибиотиков и сульфаминов, которые угнетают кишечные бактерии, способные производить пантотеновую кислоту. При уменьшении

содержания витамина В₃ в организме нарушаются процессы обмена веществ, деятельность желудочно-кишечного тракта, надпочечников, почек, сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной систем, понижается сопротивляемость организма к инфекциям.

Содержание витамина В₃ в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 18.

Пантотеновая кислота сравнительно устойчива, она не изменяется под действием воздуха и освещения, но разлагается при нагревании, действии кислот и щелочей.

Таблица 18 - Содержание витамина В₃ в пищевых продуктах

Наименование	Содержание мг/100 г	Наименование	Содержание мг/100 г
Пивные дрожжи	37,9	Гусиное мясо	7,7
Рисовые отруби	29,8	Лосось	7,2
Очищенный рис	28,2	Телятина	6,4
Отруби пшеницы	21,0	Говяжьи почки	6,4
Арахис	17,2	Дикий рис	6,2
Баранья печень	16,9	Гусиные потроха	6,1
Свиная печень	16,4	Постная баранина	5,7
Арахис без кожуры	15,8	Семена кунжута	5,4
Говяжья печень	13,6	Семена подсолнечника	5,4
Телячья печень	11,4	Постная говядина	5,1
Мясо индейки	11,3	Постная свинина	5,0
Печень цыплят	10,8	Гречиха	4,4
Цыпята (белое мясо)	10,7	Зерна пшеницы	4,4
Форель	8,4	Мука из цельной пшеницы	4,4

Палтус	8,3	Миндаль	3,5
--------	-----	---------	-----

Витамин В₆ (адермин) участвует в синтезе и превращениях amino- и жирных кислот, регуляции обмена холестерина, образовании гемоглобина, обеспечивает нормальное функционирование нервной системы. Существует в трех различных химических формах: пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин.

Коферментные формы пиридоксина участвуют в более чем 50 ферментативных реакциях, включая процессы метаболизма аминокислот. Витамин В₆ входит в состав кофермента ряда переносчиков аминокислот-ферментов, называемых трансминазами, а также в состав декарбоксилаз и других ферментов.

Суточная потребность в витамине В₆ 1,8-2,0 мг. Потребность увеличивается при атеросклерозе, заболеваниях печени, беременности, интоксикациях, приеме антибиотиков и сульфаниламидных препаратов. Чем в больших количествах человек потребляет белковую пищу, тем больше необходим ему витамин В₆.

Гиповитаминоз В₆ сопровождается выраженными нарушениями со стороны центральной нервной системы (раздражительность, сонливость, полиневриты), повреждением кожных покровов и слизистых оболочек.

В больших дозах этот витамин токсичен. Длительный прием повышенных доз может вызвать нервные расстройства.

Содержание витамина В₆ в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 19.

Таблица 19 - Содержание витамина В₆ в основных пищевых продуктах

Наименование	Содержани е мг/100 г	Наименование	Содержани е мг/100 г
Пивные дрожжи	2,50	Телячьи почки	0,41

Семена подсолнечника	1,25	Мука из цельной пшеницы	0,34
Мясо тунца	0,90	Свежие каштаны	0,33
Говяжья печень	0,84	Яичный желток	0,30
Сухие соевые бобы	0,81	Капуста белокочанная	0,30
Печень цыпленка	0,75	Ржаная мука	0,30
Грецкие орехи	0,73	Шпинат	0,28
Мясо лосося	0,70	Сладкий перец	0,26
Мясо форели	0,69	Говяжье сердце	0,25
Телячья печень	0,67	Картофель	0,25
Свиная печень	0,65	Чернослив	0,24
Соевая мука	0,63	Изюм	0,24
Чечевица	0,60	Сардины	0,24
Мука из гречихи	0,58	Брюссельская капуста	0,23
Фундук	0,54	Мясо окуня	0,23
Бананы	0,51	Мясо трески	0,22
Свинина нежирная	0,45	Ячмень	0,22
Говядина нежирная	0,43		

Витамин В₉ (В_с, фолиевая кислота, фолацин, фолат) участвует в процессах свертывания крови и кроветворения. Витамин В₉ вместе с витамином В₁₂ применяется для лечения злокачественной анемии, неврастении, лучевой болезни, энтеритов и других заболеваний. Крайне необходим для беременных женщин. Рекомендуются для профилактики атеросклероза. Биохимические функции фолиевой кислоты весьма разнообразны и связаны с участием в процессах биосинтеза нуклеиновых кислот, реакциях метилирования и метаболизма аминокислот. Вырабатывается микрофлорой кишечника. Алкоголь и антибиотики снижают синтез фолиевой кислоты.

Потребность взрослого человека в витамине В₉ 0,2 мг/сут.

Недостаточность фолиевой кислоты сопровождается развитием заболеваний крови и желудочно-кишечного тракта. В период беременности ее недостаток может оказать тератогенное действие – появление уродств, а также вести к нарушению психического развития новорожденных.

Избыток фолиевой кислоты вызывает токсические эффекты при некоторых заболеваниях. Например, у эпилептиков высокие дозы ее могут вызвать конвульсии. Кроме того, фолиевая кислота откладывается в печени, и поэтому ее не рекомендуется принимать большими дозами в течение длительного времени.

Содержание фолиевой кислоты в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 20.

Фолиевая кислота разрушается и в кислых, и в щелочных растворах, устойчива она лишь в интервале значений рН от 5,0 до 10,0. Фолиевая кислота легко разлагается при кулинарной обработке с нагреванием и при консервировании.

Витамин В₁₂ (цианокобаламин) участвует в создании клеточного вещества и образовании красных кровяных телец, нормализует деятельность нервной системы. Витамин В₁₂ обладает способностью регулировать кроветворные функции организма и излечивать людей от злокачественной анемии. Витамин В₁₂ участвует в построении ряда ферментных систем, являясь промежуточным переносчиком метильной группы.

Таблица 20 - Содержание витамина В₉ в основных пищевых продуктах

Наименование	Содержание мг/100 г	Наименование	Содержание мг/100 г
Пивные дрожжи	2022	Брокколи	53
Пророщенный рис	430	Ячмень	50
Соевая мука	425	Горох	50
Пророщенная	305	Брюссельская капуста	49

пшеница			
Говяжья печень	195	Миндаль	45
Баранья печень	275	Капуста белокочанная	32
Соевые бобы	225	Сушеный инжир	32
Свиная печень	220	Авокадо	30
Пшеничные отруби	195	Зеленая фасоль	28
Фасоль	180	Кукуруза	28
Чечевица	105	Свежий кокос	28
Грецкие орехи	77	Орехи пекан	27
Свежий шпинат	75	Грибы	25
Капуста цветная	70	Финики	25
Фундук	65	Ежевика	14
Жареный арахис	56		

Витамин В₁₂ является комплексным соединением кобальта, похожим по общему типу строения на гемоглобин; одной из его индивидуальных особенностей следует считать наличие группы циана CN и аминных групп, откуда и химическое название витамина – цианокобаламин. Витамин В₁₂ – это единственный из известных витаминов, который содержит в своих молекулах металл. Присутствие кобальта придает кристаллам цианокобаламина темно-красный цвет.

Суточная потребность в витамине В₁₂ взрослого человека 2,5-5,0 мкг.

Недостаток в организме витамина В₁₂ вызывает тяжелую форму злокачественной анемии, нарушение обмена белков, жиров и углеводов, снижение аппетита, слабость, боли в области желудка, паралич.

Токсических эффектов при избытке витамина В₁₂ в организме человека не установлено.

Витамин В₁₂ не вырабатывается ни растениями, ни животными, его

синтезируют только некоторые формы микроорганизмов. Он содержится в животных продуктах, в растительных он практически отсутствует; он также не содержится в дрожжах, которые являются богатым источником многих витаминов.

Содержание витамина В₁₂ в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 21.

Витамин РР (ниацин, никотиновая кислота) участвует в процессах клеточного дыхания, окисления углеводов, регуляции деятельности нервной системы, обмена белков и холестерина. Основное физиологическое значение ниацина определяется его участием в образовании ряда окислительно-восстановительных ферментов (дегидрогеназ) в качестве переносчика электронов.

Таблица 21 - Содержание витамина В₁₂ в пищевых продуктах

Наименование	Содержание мкг/100 г	Наименование	Содержание мкг/100 г
Баранья печень	104,0	Мозги животных	4,0
Морские моллюски	98,0	Мясо лосося	4,0
Говяжья печень	80,0	Мясо тунца	3,0
Бараньи почки	63,0	Баранина	2,1
Телячья печень	60,0	Яйца	2,0
Говяжьи почки	31,0	Сухая сыворотка	2,0
Печень цыпленка	25,0	Постная говядина	1,8
Устрицы	18,0	Эдамский сыр	1,8
Сардины	17,0	Швейцарский сыр	1,8
Говяжье сердце	11,0	Камбала	1,2
Яичный желток	6,0	Творог	1,0
Баранье сердце	5,2	Палтус	1,0
Форель	5,0	Мясо окуня	1,0

Суточная потребность в ниацине 15-20 мг. Потребность увеличивается у людей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, особенно кишечника, почек.

При недостаточности ниацина развивается пеллагра, характеризующаяся поражением желудочно-кишечного тракта, кожи и центральной нервной системы. Название «пеллагра» происходит от итальянского слова, означающего грубую шершавую кожу, что является одним из признаков данной болезни. Витамин РР частично синтезируется в организме из триптофана, относящегося к числу незаменимых аминокислот. Поэтому заболевания, связанные с недостатком витамина РР, чаще возникают у людей, в пище которых преобладают неполноценные белки, бедные триптофаном.

При избытке витамина РР некоторые его формы вызывают расширение сосудов, в том числе и прилив крови к лицу. Кроме того, высокие дозы витамина опасны для печени.

Основными источниками витамина РР являются (мг/100г): печень – 9-12, мясные продукты – 4,4-12, хлебопекарные дрожжи – 11,4, почки – 5,7-6, овощи и плоды – 0,2-2.

Витамин РР довольно стойкий витамин. На него почти не действуют кислоты и щелочи, он устойчив к повышенным температурам, поэтому хорошо сохраняется при тепловой обработке и консервировании.

В пищевых продуктах ниацин (никотиновая кислота и ее амид) находится как в свободной, так и в связанной форме, входя в состав важнейших ферментов окислительного превращения. Существующие методы количественного определения ниацина в пищевых продуктах предполагают наиболее полное выделение и превращение его связанных форм, входящих в состав сложного органического вещества клеток, в свободную никотиновую кислоту. Освобождение связанных форм никотиновой кислоты и превращение ее амида в никотиновую кислоту осуществляют воздействием растворов кислот или гидроксида кальция при нагревании.

Для количественного определения ниацина широко используют микробиологический метод с тест-организмом *Lactobacillus arabinosus* (*plantarum*) АТСС 8014 и химический колориметрический метод.

Микробиологический метод прост в исполнении, специфичен и позволяет определять ниацин в продуктах, в которых химическим путем это сделать невозможно (объекты с низким содержанием ниацина и богатые сахарами). Вместе с тем микробиологический метод более длительный в сравнении с химическим и требует соблюдение условий, необходимых для выполнения микробиологических исследований, и специальной подготовки исполнителя.

В основе химического метода определения ниацина лежит реакция, протекающая в две стадии. Первая стадия - реакция взаимодействия пиридинового кольца никотиновой кислоты с бромистым роданом (цианом) и вторая - образование окрашенного производного глутаконового альдегида в результате взаимодействия с ароматическими аминами. Интенсивность окраски образующегося соединения, прямо пропорциональная количеству ниацина, измеряется колориметрически при длине волны 400-425 нм.

Витамин Р (рутин) снижает проницаемость кровеносных сосудов, укрепляет их стенки, способствует усвоению аскорбиновой кислоты. Между витаминами С и Р существует взаимосвязь. Витамин Р не оказывает благоприятного действия, если он поступает в организм без аскорбиновой кислоты, и в то же время потребность организма в аскорбиновой кислоте снижается в присутствии витамина Р.

Суточная потребность в витамине Р взрослого человека составляет 25 мг.

При недостатке этого витамина (что, впрочем, практически бывает редко) наблюдаются утомляемость, ломкость капилляров, точечные кровоизлияния, боли в суставах. В пищу целесообразно вводить смесь витамина С с рутином («аскорутин»), т.к. оба эти витамина действуют совместно.

Основными источниками рутина являются (мг/100г): черноплодная рябина – 4000, черная смородина – 1500, шиповник – 680, лимоны и апельсины – 500, петрушка – 157, салат – 139 и другие овощи.

Витамин Н (биотин, витамин В₇) участвует в обмене жирных кислот и аминокислот, перенося карбоксильную группу.

Существует два изомерных биотина: α-биотин из желтков и β-биотин – витамин Н, выделенный из молока и печени. По биологической активности они одинаковы. Молекула биотина содержат серу и два атома азота, являющихся активными центрами молекулы. Биотин играет роль кофермента в нескольких типах биохимических реакций: основная функция биотина заключается в том, что он активирует оксид углерода (IV), превращает его в карбоксильную группу.

В природе кофермент биотин связан с соответствующим белком довольно прочно, причем связь осуществляется через карбоксильную группу биотина, вступающую в соединение с аминогруппой остатка лизина белковой молекулы.

Суточная потребность в биотине составляет 0,15-0,3 мг.

При недостатке биотина наблюдается заболевания кожи (экзема, себорея), выпадение волос, ломкость ногтей, анемия, мышечные боли. Недостаток биотина развивается при употреблении большого количества сырых яичных белков, в которых содержится белок авидин, связывающий этот витамин, препятствуя всасыванию биотина в кишечнике.

Содержание биотина в некоторых пищевых продуктах приведено в таблице 22.

Таблица 22 - Содержание биотина в пищевых продуктах

Наименование	Содержание мг/100 г	Наименование	Содержание мг/100 г
Пивные дрожжи	200	Ячмень	31
Баранья печень	127	Орехи пекан	27

Свиная печень	100	Овсяная крупа	24
Говяжья печень	96	Сардины	24
Соевая мука	70	Яйца	24
Рисовые отруби	60	Горох	18
Зародыши риса	58	Миндаль	18
Очищенный рис	57	Цветная капуста	17
Яичный желток	52	Грибы	16
Арахисовое масло	39	Каша пшеничная	16
Грецкие орехи	37	Лосось	15
Жареный арахис	34	Пшеничные отруби	14

4.7.3. Витаминоподобные вещества

Витаминоподобные вещества – группа веществ, обладающих рядом свойств, присущих истинным витаминам, однако не удовлетворяющим всем требованиям, предъявляемым к ним.

Холин участвует в основных обменных процессах, прежде всего в обмене жиров, имеет кроветворное значение, положительно влияет на процессы роста и сопротивляемость организма инфекциям.

Суточная потребность в холине 0,5 мг.

Недостаток холина сопровождается белковой недостаточностью, вызывает развитие цирроза печени, приводит к увеличению содержания холестерина в организме, гипертонии и диабету.

Источником холина являются (мг/100 г): печень - 630-635, почки - 310-325, сыр - 155-230, нерафинированные растительные масла - 120-124, бобовые - 50-60, творог - 45-48, некоторые овощи - капуста, шпинат и др.

Витамин В₁₂ (оротовая кислота) оказывает стимулирующее влияние на белковый обмен, благоприятно воздействует на функциональное состояние печени.

Суточная потребность в оротовой кислоте 0,5-1,5 г.

Гиповитаминоз оротовой кислоты приводит к нарушению белкового обмена, синтеза метионина, обмена фолацина и превращений пантотеновой кислоты.

Основными пищевыми продуктами, содержащими витамин В₁₃, являются дрожжи, печень, молоко и молочные продукты.

Витамин В₁₅ (пангамоновая кислота) улучшает тканевое дыхание, повышает использование кислорода в тканях и участвует в окислительных процессах, стимулируя их, в связи с чем используется при острых и хронических интоксикациях. Витамин В₁₅ улучшает жировой обмен, применяется при лечении болезней печени, сердца, сосудов, легкие, кожи, глаз, кишечника, а также при остром и хроническом отравлении наркотиками, алкоголем, лекарственными препаратами. Важнейшее физиологическое значение пангамоновой кислоты заключается в ее участии в биосинтезе нуклеиновых кислот, фосфолипидов, креатина и других важных компонентов.

Суточная потребность в пангамоновой кислоте не известна. Не установлены и проявления авитаминоза В₁₅. Существуют отдельные данные о том, что потребность взрослого человека в пангамоновой кислоте равна 2 мг/сут.

Витамин В₁₅ содержат дрожжи, семена растений, ядра косточек абрикосов, рисовые отруби, капустный и картофельный сок, фрукты, печень животных.

Инозит наряду с пантотеновой кислотой считается «витамином юности». Как и холин, он помогает поддерживать в здоровом состоянии печень, понижает содержание холестерина в крови, предотвращает хрупкость стенок кровеносных сосудов, участвует в регуляции моторной функции желудка и кишечника.

Суточная потребность человека в инозите равна 1-1,5 г. Случаев авитаминоза инозита у человека не установлено.

Гиповитаминоз инозита приводит к понижению подвижности желудка и

кишечника.

Основными источниками инозита являются (мг/100 г): апельсины - 250, зеленый горошек - 240, дыня - 120, цветная капуста - 95, капуста белокочанная - 66, картофель - 30, морковь, персики - 95, печень говяжья - 50, яйца - 33.

Карнитин необходим для нормальной функции мышц и поддержания оптимального физиологического состояния.

Суточная потребность в карнитине не установлена. Основными источниками поступления карнитина в человеческий организм являются мясо и мясопродукты.

Витамин U (S-метилметионинсульфоний-хлорид) - вещество, способствующее заживлению язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, обладает противогистаминным и антисклеротическим действием.

Суточная потребность в витамине U не установлена.

Источниками витамина U являются (мг/100 г): капуста белокочанная - 16,4 - 20,7, свекла столовая - 14,6, капуста кольраби - 12,9, зелень петрушки - 6,4, томаты - 1,0, картофель - 0,17, морковь - 0,12.

Витамин F – это полиненасыщенные жирные кислоты - линоленовая и арахидоновая. Они регулируют жировой обмен и уровень холестерина в крови.

Содержится витамин F в растительных маслах и в жире рыб.

Суточная норма витамина 2-6 г, такое количество его содержится в 15-20 г подсолнечного масла.

Недостаток витамин F создает условия для развития атеросклероза, образования тромбов в кровеносных сосудах.

4.8 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 макроэлементом. 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 фотоэлектроколориметрическими 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 5000-6000⁰С. В дуге удается получить спектр почти всех элементов. При искровом разряде развивается температура 7000-10 000⁰С и происходит возбуждение всех элементов. Пламя дает достаточно яркий и стабильный спектр испускания. Метод анализа с использованием в качестве источника возбуждения пламени называют пламенно-эмиссионный анализом. Этим методом определяют свыше сорока элементов (щелочные и щелочно-земельные металлы, 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, т.к. их число в спектре значительно меньше, чем в эмиссионной спектроскопии.

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

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

где J_0 – интенсивность падающего монохроматического света;

J – интенсивность прошедшего через пламя света;

k – коэффициент поглощения;

l – толщина светопоглощающего слоя (пламени);

c – концентрация.

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

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

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

Кроме спектральных методов анализа широкое применение нашли электрохимические методы, из которых выделяются нижеперечисленные.

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

4.8.1 Методы определения микроэлементов

Минеральные вещества в пищевых продуктах условно делят на две

группы – макроэлементы, к которым относятся O, H, C, N, K, Na, Ca, Mg, P, S, Cl и микроэлементы – все остальные. Методы определения макроэлементов, как правило, достаточно надежны. Другая картина вырисовывается в отношении микроэлементов. Методы часто различаются по чувствительности, по отношению к помехам при анализе.

Значительная часть микроэлементов (Hg, Cd, Pb, As и ряд других) в определенных концентрациях может проявлять токсичные свойства. Поэтому аналитический контроль за их содержанием должен проводиться достаточно надежными методами. С этой целью в нашей стране был создан комплекс ГОСТов на методы определения Hg, As, Pb, Cd, Cu, Sn, Fe и Zn в пищевых продуктах.

Важным вопросом является выбор наиболее надежных методов. Помимо общих требований, воспроизводимости и селективности, к методам анализа микроэлементов предъявляется еще одно – надежность при определении весьма низких концентраций в пищевых продуктах.

В соответствии с международными требованиями Объединенной Комиссией FAO/ВОЗ Кодекс Алиментариус наиболее важным в гигиеническом контроле пищевых продуктов являются восемь микроэлементов – ртуть, кадмий, свинец, мышьяк, цинк, медь, олово и железо.

Ртуть. В наибольших количествах содержится в рыбе, обычно пропорционально и возрасту, и размеру, и особенно велико ее содержание у хищных рыб. При кулинарной тепловой обработке рыб теряется около 20% ртути.

Кадмий. В устрицах и печени животных и рыб может накапливаться до значительных величин; в растительных продуктах зависит от дозы удобрения суперфосфатом.

Свинец. В моллюсках содержание свинца может достигать 15 мг/кг. В консервированных продуктах, содержащих кислоты, особенно в плодовых и овощных, содержание свинца может увеличиваться в 10 раз и более по

сравнению с естественным уровнем.

Мышьяк. В рыбах содержание может достигать 8 мг/кг, а в устрицах и креветках – до 45 мг/кг.

Медь. Относительно много содержится ее в бобах и особенно в печени животных и рыб – 60 мг/кг.

Цинк. Много содержится в пшеничных отрубях и в устрицах – до 150 мг/кг. При хранении кислых продуктов в оцинкованной таре содержание элемента может увеличиваться в несколько раз.

Олово. Относительно много лишь в печени – до 3 мг/кг. В консервированных продуктах, особенно в присутствии нитратов, содержание олова из-за частичной коррозии при длительном хранении может увеличиваться до величин, опасных для здоровья – 200 мг/кг.

Железо. Много содержится в бобовых растениях и в печени, и в почках животных (250-400 мг/кг).

В зависимости от роли, которую микроэлементы играют в процессах обмена веществ у человека, их подразделяют на необходимые, индифферентные и вредные.

К элементам, не являющимся биологически важными для правильного обмена веществ, но при превышении определенной дозы оказывающим сильное токсичное воздействие, относятся тяжелые металлы, свинец, ртуть, кадмий.

Существующие кумуляции данных имеют ограниченное применение из-за многих причин – несопоставимости результатов отдельных исследований вследствие различий в аналитических методах, частого отсутствия точных указаний на вид и характер продуктов питания, отсутствия информации, касающейся процесса переработки продуктов. Микроэлементный состав пищевых продуктов может сильно варьировать в зависимости от географических и геохимических условий.

Совершенствование сельскохозяйственной технологии, в том числе использование новых сортов растений и химических удобрений, приводит к

изменениям микроэлементного состава продуктов питания. Следует учитывать также и применение в питании человека новых нетрадиционных продуктов, различных смесей, заменителей.

Для получения достоверной информации необходимо проводить постоянные систематические исследования химического состава продуктов питания с применением единых, современных аналитических методов.

В настоящее время 14 микроэлементов считаются необходимыми для животных – это железо, йод, медь, цинк, марганец, кобальт, молибден, селен, хром, никель, олово, кремний, фтор и ванадий. Все эти микроэлементы существенны в питании человека, лишь кремний, составляет исключение. Хотя доказана его необходимость в питании крыс и цыплят, для человека его полезность пока не выявлена.

Железо содержится в организме человека в количестве 4-5 г, суточная потребность в нем оценивается по одним данным в 15 мг, а по другим – в 12 мг. Недостаточность железа приводит к заболеваниям кроветворной системы и нарушению развития детей. Обычный избыток железа не приводит к заболеваниям человека, но портит органолептические свойства пищевых продуктов. Медь входит в состав ряда ферментов, в ней нуждаются грудные дети.

Недостаток цинка приводит к ослаблению роста детей и к развитию ряда заболеваний. В малых дозах необходим селен, причем его физиологическое действие аналогично витамину Е, но они не взаимозаменяемы.

В качестве примера токсичного элемента отметим свинец. Основные признаки токсического действия свинца – анемия, нервное расстройство и нарушение функции почек. У детей старшего возраста всасывается примерно 10% свинца, поступающего в организм.

Всемирной организацией здравоохранения установлена предельно допустимая норма потребления человеком свинца, равная 3 мг в неделю.

Методы определения микроэлементов в растениях, биологических объектах сводятся к определению следовых количеств (10^{-3} - 10^{-9} %).

В настоящее время для определения микроэлементов основное значение имеют физико-химические методы анализа: фотоэлектроколориметрия, нефелометрия, спектрофотометрия, пламенная фотометрия, атомно-абсорбционная спектрометрия (пламенная и электротермическая), атомно-эмиссионный, химико-атомно-эмиссионный, рентгеновский спектральный и флуоресцентный без обогащения, полярографический, нейтроно-активационный, ферментативные и кинетические. До недавнего времени наиболее часто применяли колориметрические методы в различных модификациях. Однако в наборе обычных микроэлементов: алюминий, железо, никель, хром, медь, кобальт, магний – возможности совместного определения этими методами очень ограничены.

Достаточно широкое распространение получил метод спектрофотометрии, а также переменного-токовой полярографии, дифференциальной импульсной полярографии, анодной вольтамперометрии. Преимуществом названных методов является точность и низкие пределы обнаружения (табл. 23, 24).

Таблица 23 - Среднее содержание некоторых токсичных элементов в основных группах продуктов мг/кг (мг/л)

Элемент	Рыба и рыбопродукты	Мясо и мясопродукты	Хлеб и зерновые продукты	Картофель	Овощи	Фрукты	Фрукты и ягоды
Сурьма	0,04	0,01	0,001	0,006	0,006	0,006	0,003
Никель	0,06	0,1	0,02	0,2	0,05	0,05	0,05
Селен	0,06	0,05	0,04	0,2	0,1	0,1	0,05
Хром	0,15	0,09	0,02	0,05	0,05	0,04	0,03
Алюминий	2,5	1,0	0,3	12	8,6	5,0	4,0

Фтор	7,0*	0,4	0,3	0,4	0,3	0,2	0,1
Йод	0,7*	0,1	0,14	0,15	0,05	0,03	0,05
Бром	1,2	0,4	0,15	0,6	0,4	0,4	0,35
Бор	0,4	0,35	0,18	1,5	1,15	2,0	1,5
Марганец	0,9	0,35	0,6	40,0	1,7	2,0	0,8
Молибден	0,35	0,1	0,05	0,2	0,08	0,1	0,05
Кобальт	0,1	0,07	0,009	0,04	0,05	0,04	0,01
Ванадий	0,5	0,1	0,01	0,15	0,1	0,1	0,05
Кремний	2,8	5,0	2,0	15,0	80,0	80,0	50,0
Стронций	0,5	0,2	0,05	0,5	0,4	0,4	0,3

- Для морской рыбы

Таблица 24 - Предельно допустимые концентрации некоторых химических элементов в основных группах пищевых продуктов мг/кг (мг/л)

Элемент	Рыба и рыбопродукты	Мясо и мясопродукты	Молоко и молочные продукты	Хлеб и зерновые продукты	Овощи	Фрукты	Соки и напитки
Сурьма	0,5	0,1	0,05	0,1	0,3	0,3	0,2
Никель	0,5	0,5	0,1	0,5	0,5	0,5	0,3
Селен	1,0	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Хром	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
Алюминий	30,0	10,0	1,0	20,0	30,0	20,0	10,0
Фтор	10,0	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Йод	2,0	1,0	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0

Содержание минеральных веществ в зерне пшеницы и продуктах его переработки определяют многокомпонентным количественным спектральным анализом, основанным на использовании промежуточного (внешнего) стандарта.

Для уверенного обнаружения микроэлементов в пробах золы применяют светосильный дифракционный спектрограф. Точность метода характеризуется относительным стандартным отклонением, равным 10-12%. Для анализа пищевых продуктов (рожь, горох, пшеница, кукуруза) в различных районах России на содержание кобальта, марганца, никеля, свинца, хрома применяют атомно-эмиссионую спектроскопию. С использованием этого метода получены четкие результаты при определении микроэлементов – Co, Mn, Mo, V – в консервированных соках.

Спектрохимический метод анализа детских молочных продуктов позволяет с высокой точностью определять более 10 элементов, в том числе Cu, Zn, Sn, Co, Fe, Mn.

Отмечены положительные результаты при использовании рентгеноспектрального метода, позволяющего проводить полный анализ за 10 мин. Пределы обнаружения тяжелых металлов (хрома, никеля, меди) указанным методом составляют от 0,5 до 1 мг/кг.

Для определения основных микроэлементов в пищевых продуктах преимущественно используется метод атомно-абсорбционной спектрометрии. Он характеризуется высокой чувствительностью, позволяющей определить некоторые элементы на уровне 0,1-0,005 мкг/мл раствора. Точность определения 1-4%

Отмечается превосходность атомно-абсорбционного метода над другими методами анализа, особенно для определения химического состава биологических объектов.

Установлено, что пламенный атомно-абсорбционный метод позволяет определить концентрации металлов (% мас.): железа 0,0001, цинка 0,00001,

кобальта 0,00005; относительное стандартное отклонение 2-4%.

Атомно-абсорбционным методом определяли содержание меди и цинка в завтраках. Содержание меди и цинка было пропорционально количеству грубой клетчатки. Исследования показали, что эти продукты могут обеспечить значительную часть потребности человека в меди (2-3 мкг/сут) и цинке (15 мг/сут). Этим методом определено содержание, К, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn в рецептурах растворимых кофейных напитков из хлебных злаков и цикория. Содержание элементов падает в ряду $K > Na > Ca > Mg > Fe > Cu > Mn > Zn$.

Применение электротермической абсорбционной спектрометрии позволило снизить предел обнаружения ртути в продуктах детского питания.

Атомно-абсорбционным методом исследовали содержание меди, цинка, железа, марганца в продуктах детского питания. Определены допустимые концентрации микроэлементов в консервах для детей разного возраста, также такую долю суточной потребности в микроэлементах обеспечивает 1 порция продукта.

Сравнение атомно-абсорбционного и фотометрического методов при определении железа в пищевых продуктах показало, что для отдельных видов продуктов использование первого может давать более точные и надежные результаты. Сопоставление (методов) результатов атомно-абсорбционного анализа зерна ячменя на содержание кадмия и цинка после мокрого и сухого озоления проб с данными прямого анализа муки, полученной из этого зерна, показало отсутствие значимых различий между данными, что также может рассматриваться как мера надежности метода.

Установление точности характеристик методов определения цинка и меди в сырых и вареных семенах бобовых растений показало, что атомно-абсорбционный и рентгено-флуоресцентный методы анализа обладают примерно одинаковой точностью при атомно-абсорбционном определении свинца в ион-сервированных зеленых бобах применение для озоления смеси $HNO_3+H_2SO_4+H_2O_2$ оказалось предпочтительнее смеси HNO_3+HClO_4 т.к. при

использовании первой смеси не образуется осадка в процессе нейтрализации пробы.

Для проведения одновременного многокомпонентного анализа микроэлементов рекомендуется атомно-эмиссионный метод с использованием индуктивно-связанной плазмы. При этом применимы две техники фиксации спектров: полихромный метод наблюдения эмиссионных спектров металлов и металлоидов и метод с программируемым сканирующим спектрометром для последовательного анализа 40-50 элементов. Метод позволяет одновременно определить в одном образце следующие элементы: алюминий, мышьяк, бор, бериллий, кальций, кадмий, кобальт, хром, медь, железо, марганец, магний, молибден, никель, фосфор, свинец, сурьма, селен, титан, ванадий.

Обнаружение микроэлементов в растениях и выявление их функциональной роли зависит от возможностей методов их определения. Одним из методов является нейтронно-активационный анализ, высокая чувствительность и селективность которого позволяют получать обширную информацию о качественном и количественном составе набора элементов в исследуемом материале.

Преимущества нейтронно-активационного анализа – низкий порог обнаружения элементов, высокая селективность и точность определения микроколичеств элементов, экспрессность анализа. К достоинствам относятся и неразрушающий характер метода, т.к. образцы после анализа сохраняют свои физические, химические и биологические свойства.

Атомно-эмиссионное определение микроэлементов. Методом изучали микроэлементный состав пшеницы, ржи и продуктов их переработки. Содержание минеральных веществ в зерне пшеницы определяют многокомпонентным количественным спектральным анализом.

Спектрохимический метод анализа детских молочных продуктов позволяет с высокой точностью определять содержание более 10 элементов (Cu, Zn, Sn, Co, Fe, Mn). Норма содержания олова в молочных смесях

“Малыш” и “Малютка” снижена до 50 мг/кг продуктов.

Для определения основных микроэлементов в пищевых продуктах преимущественно используется метод атомно-абсорбционной спектроскопии. Характеризуется высокой чувствительностью. Точность определения 1-4%.

Превосходство этого метода отмечается над другими методами анализа, особенно для определения химического состава биологических объектов.

Микроэлементы бор, железо, алюминий, марганец, титан, молибден, медь определяли на спектрографе ДФС-8 с дифракционной решеткой 1200 штр/мм. Воспроизводимость метода не ниже 15%.

Отдельно остановимся на определении мышьяка в пищевых продуктах. Мышьяк широко распространен в земной коре и биосфере. Он обнаружен во многих почвах, воде почти во всех растениях и в большинстве тканей животных. Мышьяк встречается в природе большей частью в соединениях с металлами или серой и лишь изредка в свободном состоянии. Собственно мышьяковые руды играют лишь незначительную роль в производстве мышьяка (9% добычи). В основном мышьяк и его соединения получают как побочный продукт из руд меди, золота, свинца и других металлов. Мировое производство As_2O_3 составляет 50 тыс. тонн в год и вырастает на 25% каждые 10 лет.

Соединения мышьяка вводят в низких концентрациях в корм для птиц и скота с целью ускорения их роста и откорма. Остаточные количества, превышающие естественное фоновое содержание, были обнаружены в мышцах, почках и печени (0,2, 2 и 4 мг/г триоксида мышьяка соответственно) у свиней.

Соединения мышьяка нашли применение в медицине, преимущественно для лечения заболеваний кожи. Однако последнее время есть указания на то, что мышьяк является канцерогенным веществом.

Основные поступления мышьяка в окружающую среду обусловлены, во-первых, его рассеиванием в биосферу в виде сопутствующего элемента

минерального сырья, извлекаемого из земной коры, и, во-вторых, наличием в различных соединениях, применяемых главным образом в сельском хозяйстве. Применение препаратов мышьяка в агротехнике может быть причиной появления его в плодах.

Для определения уровня загрязнения мышьяком и его ограничениями производными были собраны пробы ливневых стоков. Показано, что доминирующей формой мышьяка в природных водах являются арсенаты и метаарсенаты. В ливневых стоках обнаружено до 200 мкг/г арсенатов и 189 мкг/г метаарсенатов.

Последнее время использование в производстве продуктов питания препаратов, содержащих мышьяк, значительно сокращено, применение некоторых таких препаратов запрещено.

Хроническое отравление мышьяком приводит к потере аппетита и снижению массы тела, гастрономическим расстройствам, неврозам, и кожным заболеваниям. Меланоза возникает при длительном воздействии мышьяка и может привести к развитию рака кожи.

Разовая доза мышьяка 30 мг смертельна для человека.

Существует версия об отравлении мышьяком Наполеона Бонапарта. С помощью нейронно-активационного анализа волос Наполеона разных периодов его жизни эксперты установили, что содержание мышьяка в них 13 раз превышает обычную норму для человеческих волос, а отложения мышьяка в растущих волосах совпадали по времени с периодом пребывания Наполеона на острове Святой Елены.

Трагический случай произошел в Японии в 1955 г., когда отравилось более 12000 детей. Их кормили молочной смесью, в состав которой входило сухое молоко, загрязненное оксидом As (III). Он случайно попал в фосфат Na, которым стабилизировали порошок молока. Фосфат натрия является отходом при выделении алюминия из вонсинта, в котором содержалось существенное количество мышьяка. Более 120 детей погибли от потребления смеси через 33 дня ежедневной дозы As_2O_3 3,5 мг.

Основным источником поступления мышьяка в атмосферу остаются промышленные предприятия и энергетические установки, использующие природное топливо.

Мышьяк содержится практически во всех водах. Содержание его в глубинных водах значительной мере зависит от пород. Содержание мышьяка в речной воде может достигь 0,2 мг/л.

ПДК мышьяка в питьевой воде, предложенные ВОЗ в 1975 г. для стран Европы, для людей и домашних животных составляют 0,05 и 0,2 мг/л соответственно.

Избыточное поступление мышьяка в организм с питьевой водой приводит к хроническим отравлениям.

Основное поступление в организм человека с потреблением пищевых продуктов растительного и животного происхождения.

Наиболее высокое содержание мышьяка обнаружены в продуктах моря. Водоросли и морские растения в условиях значительных загрязнений вод приспособились усваивать мышьяк в ощутимых количествах, преобразуя его в нетоксичные для данных организмов формы, - так, отдельные морские организмы из природных вод Великобритании содержат 170 мг As/кг. Значительное количество мышьяка содержат панцирные моллюски; например, есть сообщение о том, что креветки прибрежных вод США содержат до 40 мг As/кг.

Неорганические соединения мышьяка при попадании в больших количествах в желудочно-кишечный тракт оказывают высокотоксичное действие. Растворимые соединения мышьяка легко всасываются слизистыми оболочками, желудочно-кишечным трактом, легкими. В крови образуются стойкие соединения с белковой частью гемоглобина, и мышьяк в виде протеинового комплекса быстро распределяется по всем органам и тканям. Мышьяк обладает способностью накапливаться в различных тканях, главным образом в волосах, ногтях, печени, коже, в меньшей степени в костях и мышцах.

Соединения мышьяка повышают проницаемость стенок капилляров, действуют на вегетативную, центральную и периферическую нервную систему, обмен веществ, деятельность органов пищеварения, печени, вызывают воспаления головного и спинного мозга, почек. Местное действие вызывает нарушение питания тканей и злокачественные новообразования. Соединения пятивалентного мышьяка менее токсичны, чем трехвалентного. Наиболее токсичной формой является As_2O_3 – его смертельная доза составляет 70-180 мг.

Мышьяк – протоплазменный яд. Он связывает органические сульфгидрильные группы и таким образом ингибирует действие энзимов, особенно тех, которые связаны с клеточным метаболизмом и дыханием.

Выведение мышьяка происходит через желудочно-кишечный тракт, почки, печень. Органические (метилированные) формы мышьяка выводятся практически полностью и за сравнительно короткое время (30 ч).

Общее количество мышьяка в организме взрослого человека составляет 14-20 мг.

Различное содержание мышьяка в волосах жителей различных регионов свидетельствует о различном фоновом содержании мышьяка.

В среднем содержание мышьяка в продуктах повседневного пользования обычно регламентируется на уровне 1 мг/кг.

Использование химических средств в землевладении может вызвать повышенное поступление мышьяка из почвы за счет интенсификации процессов обмена. Вместе с тем использование фосфатных удобрений может приводить и увеличению содержания мышьяка в почве и растениях, так как используемые удобрения могут содержать значительные количества мышьяка.

На состав продуктов животного происхождения, а именно: мяса, молока и яиц, могут, в свою очередь влиять растения, потребляемые животными, и применяемые минеральные добавки.

При определении мышьяка в продуктах питания возникает ряд

аналитических проблем, связанных с летучестью некоторых соединений мышьяка, сложностью неорганического и органического состава пищи и др.

Наиболее ранние методы определения мышьяка включали нагрев подкисленных растворов пробы в присутствии медной проволоки. После образования на проволоке тонкой пленки мышьяка проводили сублимацию в стеклянную трубочку и под микроскопом идентифицировали кристаллы оксида мышьяка (III). Однако таким образом может быть обнаружено только достаточно большое количество мышьяка, и, кроме того, с медной проволокой реагируют и другие элементы.

Более чувствительные методы состоят в восстановлении мышьяка в гидрид мышьяка (арсин) с помощью водопровода, который получают либо химическим, либо электролитическим путем. В одном из первых методов проверки на мышьяк (метод Марша) арсин пропускали через нагретую трубку, в которой он разлагался, давая зеркало металлического мышьяка на стенках трубки. Метод чувствителен при содержании мышьяка в виде As_2O_3 на уровне 0,001-0,2 мг.

Хроматографические методы. Для обнаружения мышьяка широко используется метод Гутцайта, который заключается в том, что арсин пропускают над бумагой, пропитанной раствором хлорида ртути (II), и сравнивают интенсивность и длину пятен со стандартами. Хотя метод полуколичественный, из-за простоты выполнения он сохранил свое значение для анализа продуктов питания и в настоящее время.

Для определения содержания мышьяка в продуктах питания применяют также метод осадочной хроматографии. При этом пробу, содержащую мышьяк, разлагают кислотным (смесь азотной и серной кислот) методом. Затем выделяют мышьяк в виде арсина, который улавливают в хроматографической колонне, заполненной смесью безводного оксида алюминия и нитрата серебра. Предельно определяемое количество мышьяка составляет 0,18 мг в 1 кг продукта.

Фотометрические методы. С развитием приборной техники широкое

применение получили фотометрические методы определения мышьяка как более чувствительные и экспрессные. Получившие широкое распространение спектрофотометрические методы определения мышьяка включают либо реакцию с молибдатом с образованием молибдоарсената, который затем может быть восстановлен рядом реагентов и дать голубую окраску молибденовой сини, либо восстановление мышьяка до арсина и реакцию с диэтилдитиокарбоматом серебра с образованием красного окрашивания. Последний метод по сравнению с методом, основанным на образовании молибденовой сини, более быстрый и в меньшей степени зависит от опыта химика-аналитика. Кроме того, определению мышьяка по методу молибденовой сини мешают фосфаты и силикаты.

Из других методов этого определения мышьяка можно отметить методы с рутином и с кверцетином. Для определения мышьяка раствор образца выпаривают досуха в присутствии рутина и щавелевой кислоты, растворяют сухой остаток в спирте и измеряют поглощение при 450 нм (рутин реагирует с мышьяком и дает желтое окрашивание, $\lambda=450$ нм). Закон Ламберта-Бера соблюдается в области 0,0-1,0 мг/кг As.

Коэффициент молярного поглощения $\epsilon=26000$; средняя погрешность определения 4,3%. Кверцетин реагирует с As (V) и дает желтое окрашивание, $\lambda_{\max}=398$ нм, линейность соблюдается в диапазоне 0,0-2,0 мг/кг, $\epsilon=25000$; средняя погрешность определения 6,2%.

Кинетические методы. Известен каталитический метод, основанный на влиянии As (III) на восстановление Os (VIII) до Os (III), который, в свою очередь, влияет на бромато-иодидную реакцию. Получены удовлетворительные результаты на уровне 1 мг/кг. Однако серьезные проблемы представляют медь, железо и сульфит.

Поляррографические методы. Методом поляррографии можно определить только трехвалентный мышьяк ($As_2O_3^{3-}$), так как пентавалентный мышьяк ($As_2O_4^{3-}$) в водных растворах кислот, солей, щелочей поляррографически неактивен. Известен метод определения мышьяка в биологических

материалах.

Предложен метод полярографического определения мышьяка, по которому мышьяк осаждают при помощи NaH_2PO_3 в солянокислой среде. Описано полярографическое определение мышьяка в сточных водах на фоне винной кислоты.

Разработан простой метод отгонки малых количеств мышьяка в виде хлорида мышьяка из сернокислого раствора небольшого объема. Определение мышьяка проводят полярографическим методом. Метод не требует реактивов, трудно очищаемых от следов мышьяка.

Атомно-адсорбционная спектроскопия. Атомно-абсорбционное определение мышьяка после перевода его в арсин является одним из самых чувствительных и точных методов. Определению не мешают никакие матричные элементы пробы. Возможно применение как пламенной, так и беспламенной техники. Метод используется для анализа продуктов питания, в частности рыбы. Он включает кислотное разложение пробы. Принцип обнаружения составляет 10-20 мкг/кг, относительное стандартное отклонение 1-2%. Результаты анализа хорошо соглашаются с данными других методов.

4.9 Методы определения гидролитических ферментов в продовольственном сырье и пищевых продуктах

В основе технологических процессов многих производств, в частности бродильного, лежат биохимические превращения веществ, катализируемые разнообразными ферментами. Так, с действием ферментов связано осахаривание крахмала, превращение белков и полипептидов в усвояемые дрожжами аминокислоты, а также растворение солода. Названные выше процессы катализируются гидролитическими ферментами. Сбраживание же сахаров суслу в спирт и получение микробного кормового белка происходит под действием оксидоредуктаз, изомераз, лиаз и миаз, локализованных в дрожжах.

Источники гидролитических ферментов разнообразны. В небольшом количестве они содержатся в растительном сырье. При проращивании увлажненного зерна количество ферментов возрастает, появляются новые ферменты. Солод используется в производстве спирта и пива как источник гидролаз. В последние годы широкое распространение в бродильной промышленности получили ферментные препараты (ФП) микробного происхождения различного спектра действия и степени очистки.

Активность ферментов. Ферменты относятся к высокомолекулярным белковым веществам. Их каталитическая активность обусловлена сложностью структуры и специфичностью функциональных групп активного центра белковой молекулы. Ферменты как биологические катализаторы отличаются высокой специфичностью действия на субстрат. Они весьма лабильны, т.е. их активность зависит от ряда внешних воздействий: величины рН, окислительно-восстановительного потенциала и температуры среды, продолжительности реакций и соотношения фермент-субстрат.

В смеси с другими белками количество фермента, как правило, прямым определением установить не удастся, поэтому его находят косвенно, измеряя скорость ферментативной реакции. В большинстве случаев активность фермента определяют при строго заданных условиях опыта по начальной скорости реакций, при которой концентрация субстрата достаточна для насыщения фермента, и реакция проходит по типу реакции нулевого порядка. Измерение активности фермента производят в течение короткого отрезка времени, пока нет существенных изменений в составе реакционной среды.

Так как количество фермента в абсолютных единицах (мг или г) установить трудно, его обычно выражают в условных “ферментных единицах” (так называемых единицах активности). За единицу активности принимают такое количество фермента, которому соответствует определенная, заранее выбранная скорость ферментативной реакции при принятых условиях опыта. По скорости реакции находят число единиц

активности фермента. Скорость же ферментативной реакции определяют по количеству прогидролизованного субстрата или по количеству продуктов гидролиза в единицу времени.

С целью унификации требований к методам анализа и оценке качества ферментных препаратов, а также уточнения терминов комиссия по ферментам Международного биохимического союза предложила за единицу активности Е любого фермента принимать такое его количество, которое катализирует превращение одного микромоля субстрата в минуту при заданных условиях опыта. Если в качестве субстрата используют белок, полисахарид или другое вещество, в котором фермент атакует более одной связи, то вместо микромоля субстрата принимают микроэквивалент затронутых реакцией групп. Тогда скорость реакции определяется не числом прогидролизованных молекул, а количеством расщепленных пептидных, глюкозидных или иных связей.

Различают удельную и молекулярную активность ферментных препаратов (ФП). Удельную активность ФП выражают в единицах активности на 1 мг белка, а молекулярную – числом молекул субстрата (или эквивалентов затронутой группы), превращаемых одной молекулой фермента, или числом ферментных единиц в 1 мк/моль фермента при оптимальной концентрации субстрата за 1 мин.

В промышленности, в том числе и бродильной, часто используют иную размерность единиц фермента, а именно: за единицу активности фермента принимается такое его количество, которое катализирует расщепление (г субстрата за 1 час (или за 1 мин, что более правильно) в принятых условиях. Активность же выражается числом единиц фермента, содержащихся в 1 г ФП или другого материала. Зная эти данные, легко рассчитать расход ФП для технологических целей.

Разработаны методы определения активностей солода из различных зерновых культур и многих ФП микробного происхождения, в основу которых положено строгое соотношение компонентов в системе субстрат –

фермент. Это позволяет осуществлять ферментативную реакцию, при постоянных условиях опыта вводить в нее постоянное количество субстрата, обеспечить одну степень гидролиза (30% или другое количество введенного), следовательно, унифицировать и повысить точность метода определения активности ФП. Для удобства расчетов пользуются таблицами, графиками или уравнениями, составленными для данного типа солода или ФП с учетом процента фермента. Это обусловлено специфичностью действия ферментов различного происхождения и тем, что в каждом ФП содержится неодинаковый комплекс ферментов одного спектра действия. Таблицы, графики или уравнения, используемые для нахождения единиц активности и активности солода, а также ФП, составлены на основании большого экспериментального материала, обработанного методами математической статистики.

Пример составления таблицы и расчета активности для ФП. Вначале проводят ферментативную реакцию гидролиза крахмала с исследуемым ФП, взятым в различных опытах с таким расчетом, чтобы обеспечить гидролиз субстрата на 10-90%. В качестве субстрата берут 10 мл 1%-ного раствора крахмала, к нему добавляют 5 мл раствора ФП, содержащего различное количество фермента. Субстрат гидролизуют 10 мин при рН 4,7 и температуре 30°C, проводят 7-8 опытов с различной дозировкой ФП (табл. 25).

Таблица 25 - Зависимость степени гидролиза субстрата от расхода и активности ферментного препарата

Показатели	Расход ферментного препарата, мг							
	0,02	0,04	0,06	0,08	0,010	0,12	0,14	0,16
Крахмал,г	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Прогидролизovaný крахмал, г	0,013	0,023	0,032	0,041	0,050	0,060	0,069	0,0788
	5	0	0	5	5	0	5	5

%	13,5	23,0	32,0	41,5	50,5	60,0	69,5	78,5
Число единиц активности	0,067	0,131	0,197	0,262	0,328	0,394	0,458	0,5256
Активность ФП, ед/г	3385	3285	3285	3285	3285	3285	3277	3260

Определим, например, число единиц активности в 0,06 мг ФП, которые обеспечили гидролиз крахмала на 32%. Зная, что за единицу активности принимают такое количество фермента, которое гидролизует 1 г крахмала за 60 мин, находим число единиц активности N во взятой навеске ФП при условии времени гидролиза 60 мин и ввода в реакции 0,1 г крахмала. $N=0,032 \cdot 0,1 : 0,1 = 0,032$ ед. Учитывая, что 0,032 прогидролизованного крахмала образовалось за время, в 6 раз меньше принятого ($60:10=6$), фактическое число единиц активности N , содержащееся в 0,06 мл ФП, составляет $N=0,032 \cdot 6 = 0,192$ ед.

Зная N , находят активность ФП по формуле $A_k = N \cdot 1000 : H$, где H – навеска ферментного препарата, мг. Для рассматриваемого случая активность ФП представлена декстрикогенной (аминолитической) активностью, поэтому $D_{ак} = 0,192 \cdot 1000 : 0,06 = 3200$ ед/г.

Описанный опыт и расчет выполняют всякий раз при изучении новых ФП, разработке методов активностей, выполнении специальных работ исследовательского характера.

В практике технологического контроля производства обычно используют ту степень гидролиза, которую рекомендуют авторы метода или действующие стандарты на методы анализа ФП, и точно следуют прописи метода. Многие ФП изучают при степени гидролиза, равной 30%. Для расчетов активности солода и ФП пользуются формулами или уравнениями, в основу которых положена прямая зависимость между числом единиц активности данного ФП и количеством превращенного субстрата.

Независимо от характера действия и агрегатного состояния солода и ФП определение их активности включает три стадии: подготовку ферментных

материалов к анализу, выбор и приготовление раствора специфического субстрата, проведение ферментативной реакции в заданных условиях с последующей количественной оценкой процесса.

Точность определения активности солода и ФП микробного происхождения тесно связана с обеспечением метрологических требований к отбору проб объектов исследования, составу субстрата и условиям проведения ферментативной реакции.

4.10 Методы определения функционально-технологических свойств пищевых продуктов

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

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

Метод центрифугирования основан на выделении жидкой фазы под действием центробежной силы из исследуемого объекта, находящегося в фиксированном положении. Количество последней зависит от степени взаимодействия влаги с «красной фазой» объекта. Метод условен. Достоверность результатов может быть обеспечена при трёх - четырёхкратной повторности определений.

Влагоудерживающая способность сырья определяется как разность между массовой долей влаги в продукте и количеством влаги, отделившейся в процессе термической обработки, а жирудерживающая способность – как

разность между массовой долей жира в продукте и количеством жира, отделившемся в процессе термической обработки.

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

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

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

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

где V_1 – объём эмульгированного масла, см³;

V – общий объём масла, см³.

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

Стабильность эмульсии (%) рассчитывают по формуле

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

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

4.11 Методы определения безопасности пищевых продуктов

Состояние питания и здоровья населения России требует проведения в рамках единой государственной политики необходимых профилактических мероприятий, среди которых важное значение занимают вопросы рационализации питания, осуществления контроля за безопасностью пищевых продуктов, проведения широкой просветительной работы.

Обеспечение безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов является одной из основных задач современного общества, определяющих здоровье население и сохранение его генофонда, исходя из этого тема "безопасность продовольственных товаров и сырья" является актуальной и современной.

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

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.

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

Выявление ККТАОФ складывается из двух основных операций.

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

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

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

- может ли изучаемый опасный фактор появиться в продукте из сырья или при его переработке, и на каком уровне (допустимом или недопустимом)?

- имеет ли состав сырья или рецептура продукта решающее значение для безопасности продукта?
- имеет ли состав сырья или рецептура продукта решающее значение для безопасности продукта?
- обеспечивает ли технологический процесс безопасность готового продукта за счет снижения уровня опасного фактора или за счет предотвращения его возрастания до опасного уровня?

Кроме названных двух основных операций ККТАОФ включает также спецификацию, систему мониторинга, системы устранения недостатков и проверки.

Токсичные элементы (в частности тяжелые металлы) составляют обширную и весьма опасную в токсикологическом отношении группу веществ. Обычно рассматривают 14 элементов: Hg, Pb, Cd, As, Sb, Sn, Zn, Al, Be, Fe, Cu, Ba, Cr, Tl.

Современные методы обнаружения и определения содержания микотоксинов в пищевых продуктах включают скрининг-методы - количественные аналитические и биологические методы.

Скрининг-методы отличаются быстротой и удобны для проведения серийных анализов, позволяют быстро и надежно разделять загрязненные и незагрязненные образцы. К ним относятся такие широко распространенные методы, как миниколоночный метод определения афлатоксинов, охратоксина А и зеараленона; методы тонкослойной хроматографии (ТСХ-методы) для одновременного определения до 30 различных микотоксинов, флуоресцентный метод определения зерна, загрязненного афлатоксинами, и некоторые другие. Количественные аналитические методы определения микотоксинов представлены химическими, радиоиммунологическим и иммуноферментными методами. Химические методы являются в настоящее время наиболее распространенными.

Консерванты – это вещества, подавляющие развитие микроорганизмов и применяемые для предотвращения порчи продуктов. В больших

концентрациях эти вещества опасны для здоровья, поэтому Минздравом России определены предельно допустимые количества их в продуктах и установлена необходимость контроля за их содержанием.

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

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

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

При определении сорбиновой кислоты используют либо спектрофотометрический, либо фотоколориметрический метод. Оба метода основаны на отгонке сорбиновой кислоты из навески анализируемого продукта в токе пара с последующим определением ее либо путем измерения оптической плотности отгона на спектрофотометре, либо после получения цветной реакции – на фотоэлектроколориметре.

Среди тяжелых металлов наиболее опасны свинец, кадмий, ртуть и мышьяк. Поскольку металлы в пищевых продуктах находятся в связанном состоянии, непосредственное их определение невозможно. Поэтому

первоначальной задачей химического анализа тяжелых металлов является удаление органических веществ – минерализация (озоление) рекомендуется при определении Cu, Pb, кадмия, Zn, Fe, мышьяка.

Для определения содержания Cu, кадмия и Zn используют метод полярографии. Для олова – фотометрический метод, который основан на измерении интенсивности желтой окраски раствора комплексного соединения с кверцетином. Для определения используют минерализат, полученный мокрой минерализацией навески пробы продукта массой 5-10 г. Также фотометрические методы исследования применяют при определении Cu, Fe, мышьяка. Для определения ртути применяют колориметрический или атомно-абсорбционный метод, который основан на окислении ртути в двухвалентный ион в кислой среде и восстановлении ее в растворе до элементного состояния под воздействием сильного восстановителя.

Вода является во многих продуктах количественно преобладающим компонентом. Она существенно влияет на качественные характеристики пищевого сырья и его устойчивость к воздействию микробиологических факторов. Массовая доля воды в пищевом сырье зависит от особенностей химического состава, сроков и условий хранения. Вода в биологических объектах присутствует в трех формах: в виде свободной, слабо связанной и прочно связанной. Свободная вода, сохраняя подвижность до температуры замерзания около 0С, служит растворителем многих веществ. Связанная вода прочно соединена с коллоидными веществами, образуя их гидратную оболочку, и не является растворителем. Слабо связанная вода замерзает при температуре –3...–5 С. В процессе хранения происходит изменение соотношения между свободной и связанной водой, что влияет на свойства пищевого сырья.

Существуют различные методы аналитического определения содержания воды. В наиболее распространенных методах воду удаляют из исследуемого объекта высушиванием, отгонкой и поглощением

осушителями. В качестве осушителей чаще всего используют перхлорат магния, сульфат кальция, сульфат натрия, оксид фосфора и хлорид кальция.

В настоящее время для определения влажности используют также химические методы и методы, основанные на измерении некоторых физических свойств продукта, например диэлектрической проницаемости. Указанный принцип положен в основу одного из вариантов дистанционного измерения влажности продукта. Быстрым и универсальным способом определения воды в пищевых объектах является метод газожидкостной хроматографии метанольных экстрактов. Этот метод характеризуется высокой точностью и воспроизводимостью.

Метод высушивания – наиболее распространенный и универсальный способ определения воды. Содержание воды определяют по потере массы испытываемых образцов при их высушивании. Свободную влагу удаляют при температуре, близкой к температуре кипения воды. При воздействии повышенной температуры в образцах пищевых продуктов могут возникать побочные явления, связанные с развитием процессов дезаминирования и декарбоксилирования, образованием летучих соединений в результате термического разложения компонентов продукта, испарением летучих веществ и окислительными изменениями при контакте с кислородом воздуха. Увеличение массы исследуемых образцов за счет образования продуктов окисления липидов может быть особенно значительным при сушке жиров или биоматериалов с высокой массовой долей жира. Поэтому наиболее объективные результаты можно получить при высушивании образцов в условиях вакуума или в атмосфере инертных газов. Условия сушки необходимо подбирать с учетом особенности состава и свойств высушиваемого материала. Точность результатов определения и продолжительность анализа зависят от температурного режима сушки и условий подготовки проб к высушиванию. Обычно высушивание проводят при температуре, не превышающей 105 С, до достижения постоянной массы образцов. Ткани, содержащие нативные (неденатурированные) белки,

следует сушить под вакуумом при температуре ниже температуры денатурации белков. При сушке жиров или продуктов с высоким содержанием жира температура не должна превышать 105 С.

При сушке продуктов с невысокой массовой долей жира и высоким содержанием влаги температуру высушивания можно доводить до 150 С, при этом продолжительность сушки не должна превышать 1 ч. Для ускорения сушки рекомендуется уменьшить толщину высушиваемого слоя и увеличить пористость продукта, смешивая его с твердым инертным материалом, например песком. Песок, применяемый для этой цели, промывают водой, просеивают через сито с отверстиями 1–3 мм и настаивают с разбавленной соляной кислотой в течение суток. После обработки кислотой песок промывают водой до нейтральной реакции промывных вод на лакмус и высушивают при 150 С. Скорость сушки можно увеличить, добавляя к материалу этанол.

В лабораторной практике высушивание под вакуумом проводят лишь в специальных случаях. Обычно продукты высушивают при атмосферном давлении. Для этого служат сушильные шкафы разных устройств. Наиболее удобны шкафы с электрическим обогревом и терморегулятором, позволяющим поддерживать определенную температуру. Общее содержание минеральных веществ может быть определено озолением.

Зола представляет собой минеральную часть продукта, полученную после сжигания органических веществ. В состав минеральных веществ входят хлористые, карбонатные, фосфорные и сульфатные соли калия, натрия, аммония, магния, кальция. В небольших количествах содержится железо; в микродозах – медь, цинк, стронций, барий, бор, кремний, олово, молибден, кобальт, никель и другие химические элементы. Содержание золы дает приближенное представление о количестве минеральных веществ в продукте, так как процесс озоления может сопровождаться изменением их состава. Например, в зависимости от условий озоления карбонаты могут частично или полностью превращаться в оксиды с выделением двуокиси

углерода; ортофосфаты – в пирофосфаты; сульфиды – в сульфаты; нитриты и нитраты частично переходят в оксиды. Повышение температуры может сопровождаться потерями серы, фосфора, хлора. При озолении продуктов, содержащих относительно высокое количество хлоридов, могут наблюдаться потери железа, свинца, алюминия и меди благодаря образованию летучих хлоридов этих металлов.

В состав золы входят элементы, которые содержались в органических компонентах продукта до его минерализации. При определенных условиях минерализации проб может быть обеспечен сравнительно постоянный состав золы, что позволяет получить сопоставимые результаты. В настоящее время для определения содержания золы используют три метода: метод без предварительного высушивания навески; ускоренный метод; метод определения минеральных веществ, не растворимых в 10%-м растворе соляной кислоты. Метод без предварительного высушивания навески применяют в том случае, если содержание влаги в продукте не превышает 20%.

Большинство методов количественного определения жира основано на извлечении его органическими растворителями и последующем определении количества жира в экстракте. Для извлечения жира применяют растворители с низкой температурой кипения, удаление которых из жира не представляет затруднений. Чаще всего используют серный или петролейный эфир, хлороформ, дихлорэтан. Петролейный эфир имеет преимущество перед другими растворителями, поскольку извлекает меньше веществ, сопутствующих жирам. На экстрагирующую способность жира влияет наличие в нем посторонних примесей, в частности воды.

Полнота извлечения жира из пищевых объектов растворителями зависит от характера и степени взаимодействия липидов с другими компонентами продукта, содержания в нем влаги, структуры, соотношения растворителя и жирсодержащего материала, а также продолжительности экстрагирования. Более полно липиды извлекаются смесью бинарных

растворителей с разными полярными свойствами, например смесью хлороформа с метанолом и хлороформа с этанолом. Вода, содержащаяся в тканях, препятствует диффузии жира из материала в растворитель. Поэтому прибегают к обезвоживанию материала перед экстракцией. Перед экстракцией измельченные пробы рекомендуется растирать с песком.

Наряду с высушиванием при повышенной температуре применяют способ, при котором пробы исследуемого материала растирают с нейтральными водоотнимающими веществами, например безводным сульфатом натрия, а также обезвоживание материала настаиванием или кипячением со спиртом. Чаще всего жир определяют методом Сокслета.

Методом Сокслета извлекают не только липиды, но и сопутствующие им вещества – фосфатиды, стерины, свободные жирные кислоты, красящие вещества, поэтому определяемый таким образом жир называют «сырым жиром». Полученный экстракт используют для количественного определения жира, кислотного и перекисного чисел.

Для экстракции липидов с последующим хроматографированием экстрактов применяют метод Фолча. Данный метод основан на экстракции липидов из тканей хлороформ-метаноловой смесью. Он позволяет выделить как полярные, так и неполярные липиды и полностью сохранить фракцию фосфолипидов. Полученный экстракт липидов используют для исследования фракционного состава липидов и их жирно-кислотного состава.

Обычно о содержании белковых веществ в пищевом сырье животного происхождения судят по количеству азота. При проведении производственного анализа содержание белковых веществ подсчитывают не по белковому, а по общему азоту, входящему в состав всех органических и неорганических веществ. Такое отклонение в точности определения содержания белков вполне допустимо.

Минерализацию (сжигание) производят нагреванием навески продукта с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов (серно-

кислой меди или пероксида водорода), а также веществ, повышающих температуру кипения смеси (сульфата натрия или калия).

Кислотность обуславливает вкусовые свойства продукта и является показателем его свежести и доброкачественности. Титруемой кислотностью называют количество свободных органических кислот и их кислых солей, содержащихся в исследуемом продукте. Метод основан на нейтрализации раствором щелочи водных вытяжек кислот и кислых солей, извлеченных из навесок исследуемого продукта. Обычно для титрования применяют 0,1 н. раствор едкого натрия, который удобно готовить из фиксанола; в этом случае его поправочный коэффициент равен единице. Окончание нейтрализации определяют по изменению окраски внесенного индикатора. В качестве индикатора наиболее часто применяют 1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина, в этом случае титрование вытяжки ведут 0,1 н. раствором едкого натрия до устойчивого слабо-розового окрашивания.

При титровании окрашенных вытяжек кислот их разбавляют дистиллированной водой в два–три раза и титруют в присутствии фенолфталеина до изменения цвета вытяжки, что устанавливают сравнением с цветом такой же нетитрованной пробы (контроль). Титрование вытяжки и сравнение ее с контролем проводят на белом фоне (колбочки помещают на белый лист бумаги). Окрашенные вытяжки можно титровать щелочью в присутствии 0,1%-го спиртового раствора тимолфталеина. Окончание титрования определяют по получению устойчивой синей окраски. Титрование можно проводить потенциометрическим методом, обычно его применяют для титрования окрашенных растворов. В этом случае окончание нейтрализации определяют по изменению электропроводности исследуемого раствора с помощью потенциометра.

Кислотность выражается в различных единицах измерения. Кислотность продуктов, содержащих разные кислоты и значительное количество кислых солей, выражают в градусах.

В процентах к преобладающей кислоте выражают кислотность плодово-ягодных соков (яблочная), маринадов (уксусная), квашеных овощей (молочная). Кислотность муки, хлебобулочных и кондитерских изделий выражают в градусах кислотности. Под градусом кислотности понимают количество миллилитров нормальной едкой щелочи, необходимое для нейтрализации кислот, содержащихся в 100 г исследуемого продукта. Кислотность молочных продуктов выражают в градусах Тернера, что означает количество миллилитров 0,1 н. раствора едкой щелочи, необходимого для нейтрализации кислот, находящихся в 100 миллилитрах или 100 граммах продукта. Кислотность жиров выражают в миллиграммах едкого калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, находящихся в 1 г исследуемого жира.

При прохождении светового луча через поверхность раздела двух сред он отклоняется от первоначального направления, т. е. преломляется. Величина угла отклонения зависит от концентрации и температуры вещества. Угол падения и угол преломления связаны соотношением, которое называется показателем преломления. Метод измерения показателя преломления называется рефрактометрией.

Если монохроматический луч проходит через поверхность раздела двух сред, то одна часть света отражается от поверхности раздела, а другая часть проходит через вторую среду, изменяя при этом скорость и направление. Эту часть монохроматического света называют «преломленным» светом. Отношение скоростей распространения света в обеих средах называют относительным показателем преломления. Преломление луча света описывается законом Снеллиуса.

В большинстве случаев при измерении показателей преломления в качестве стандартной среды используют вакуум. Отношение скорости света в вакууме к скорости света в данной среде называют абсолютным показателем преломления этой среды. В некоторых случаях абсолютным считают показатель преломления, рассчитанный по отношению к воздуху, что не

является большой ошибкой, так как нет существенной разницы при распространении электромагнитной волны в воздухе и вакууме (в некоторых источниках эту величину называют относительным показателем преломления, отнесенным к воздуху). Показатель преломления среды по отношению к воздуху на 0,03 % меньше абсолютного показателя преломления по отношению к вакууму.

Значение показателя преломления практически не зависит от давления, однако в значительной степени зависит от температуры. Показатель преломления органических жидкостей уменьшается при увеличении температуры. Показатели преломления измеряют при помощи рефрактометров. Стандартным рефрактометром является прибор Аббе. Основные элементы прибора: измерительная и освещающая призмы, элементы микроскопа, термостат и источник света.

Большинство лабораторных рефрактометров позволяют измерять показатели преломления в интервале температур от 0 до 80 °С. Рефрактометры специального назначения работают в интервале температур от 0 до 200 °С и находят широкое применение в промышленности. Показатель преломления твердых объектов определяют в отраженном свете. В этом случае контрастность значительно хуже, чем при измерении в проходящем свете. Для измерения показателя преломления прозрачных тел на поверхность измерительной призмы рефрактометра наносят каплю жидкости с большим показателем преломления, чем у измеряемого тела (монобромнафталин). Затем плотно прикладывают полированную плоскую поверхность измеряемого тела, причем освещающая призма остается открытой. Показатель преломления сильноокрашенных жидкостей также определяют в отраженном свете, нанося вещество прямо на поверхность измерительной призмы. Если температура плавления вещества находится в диапазоне температур, регулируемых термостатом, то измеряют показатель преломления вещества в расплавленном состоянии. Недостаток метода

рефрактометрии – испарение жидкости с поверхности измерительной призмы.

Люминесцентные методы исследования состава и свойств пищевых продуктов основаны на измерении интенсивности свечения (люминесценции) атомов, ионов, молекул при их возбуждении различными видами энергии. При люминесценции происходит испускание света возбужденными частицами. Переходя в более низкое энергетическое состояние, частица испускает квант света – люминесцирует. Главным преимуществом люминесцентного метода является низкий предел обнаружения (10–8% и менее), что практически важно при определении различных добавок и загрязнений в мясе и мясных продуктах. Этот метод хорошо зарекомендовал себя также при экспресс-определении доброкачественности мяса.

Люминесценция характеризуется длительностью возбужденного состояния, которая у различных веществ имеет определенную среднюю величину. Поглощенная энергия некоторое время остается в возбужденной частице. Это время – средняя длительность возбужденного состояния – определяется свойствами возбужденной частицы и действием на нее окружающей среды. Источники возбуждения люминесценции могут быть разными. В зависимости от вида источника различают термолюминесценцию, радиолюминесценцию и др. Чаще всего источником возбуждения является свет оптического диапазона ультрафиолетовых и видимых частот, в этом случае явление называют фотолюминесценцией.

В зависимости от вида возбужденного уровня и времени пребывания в нем фотолюминесценция подразделяется на флуоресценцию и фосфоресценцию.

Флуоресценция – кратковременное свечение (10^{-7} ... 10^{-10} с), которое продолжается только при облучении. Если источник возбуждения устранить, то свечение прекращается мгновенно или не более чем через 10–3 с.

Фосфоресценция – более длительное свечение ($10^{-3} \dots 10^{-2}$ с), которое продолжается после отключения источника электромагнитного излучения.

При исследовании пищевых продуктов основную роль играет флуоресценция. Важной характеристикой люминесцирующих веществ является квантовый выход люминесценции, который показывает, насколько эффективно в исследуемом веществе энергия возбуждения преобразуется в люминесценцию. Размер квантового выхода зависит от концентрации люминесцирующего вещества в растворе, температуры, присутствия посторонних примесей. Уменьшение квантового выхода под влиянием этих факторов получило название тушения люминесценции. Одна из основных закономерностей люминесценции заключается в том, что спектр люминесценции (его форма и положение) не зависит от длины волны возбуждающего света.

Согласно правилу Стокса–Ломмеля, спектр излучения в целом и его максимум всегда сдвинуты по сравнению со спектром поглощения и его максимумом в сторону более длинных волн. Правило Стокса–Ломмеля строго выполняется для большинства веществ, причем сдвиг спектров люминесценции относительно спектров поглощения дает возможность отфильтровать рассеянную часть возбуждающего света, примешивающегося к люминесценции.

Люминесцентный анализ сводится к визуальному наблюдению или регистрации с помощью приборов люминесценции. В зависимости от поставленных целей и задач исследования, способов возбуждения и регистрации люминесценции используются различные методы и приемы анализа. Различают две группы люминесцентных методов – люминесцентные методы обнаружения и физико-химические люминесцентные методы.

Люминесцентные методы обнаружения в основном используются как качественные экспресс-тесты, так как они не требуют количественных измерений и связанных с ними усложнений. В этой группе методов выделяют: люминесцентный видовой и сортовой анализ – анализ, при

котором по цвету и яркости свечения определяют вид и сорт продуктов; люминесцентную диагностику – обнаружение начальных признаков порчи продуктов, наличия примесей, загрязнений и т. д.

К группе физико-химических люминесцентных методов относят качественный люминесцентный анализ, с помощью которого устанавливают качественный состав исследуемого продукта, строение и свойства отдельных компонентов, а также количественный люминесцентный анализ, в задачи которого входит определение количественного содержания в продукте отдельных компонентов или соотношения составных частей продукта. Визуальные наблюдения за цветом люминесценции используют для диагностики порчи и определения сорта мяса, обнаружения природы пищевых жиров, установления безвредности некоторых мясных продуктов. Некоторые различия цвета люминесценции имеют растительные масла. Флуоресцентным методом можно обнаружить примесь минеральных масел в растительных. Топленые животные жиры (говяжий, свиной, бараний) не флуоресцируют. Сливочное масло имеет канареечно-желтую флуоресценцию, а маргарин – голубую. Этот признак позволяет определить простым методом примесь маргарина в животных жирах.

Люминесцентный анализ позволяет также установить степень окисленности пищевых жиров. Визуальным наблюдением за люминесценцией можно характеризовать степень свежести яичных продуктов. Например, свежие куриные яйца с белой скорлупой имеют интенсивную красную флуоресценцию, при хранении цвет флуоресценции становится голубым. В процессе хранения куриных яиц с темной скорлупой в люминесценции появляются голубовато-фиолетовые тона.

С помощью качественного люминесцентного анализа можно определить вид мяса и дать ориентировочную оценку его сортности. Мышечная ткань мяса животных обладает собственной флуоресценцией красновато-коричневых тонов, причем для мышц говядины характерны бархатистые темно-красные оттенки, для баранины – темно-коричневые, для

свинины – светло-коричневые. При порче мяса изменяется цвет его флуоресценции. На первой стадии порчи на темно-красном флуоресцирующем фоне мышечной ткани говядины появляются зеленые точки, которые расширяются по мере углубления порчи продукта. Несвежие мышцы флуоресцируют темно-красным цветом со сплошным зеленым налетом.

Фотоэлектрические измерения интенсивности люминесценции позволяют судить о степени свежести мяса. Сила тока, возникающего в цепи фотоэлемента, пропорциональна световому потоку люминесценции, падающему на фотоэлемент. Предварительная градуировка шкалы позволяет измерить интенсивность люминесценции без непосредственного сравнения опытного и контрольного образцов.

Количественный люминесцентный анализ позволяет определить концентрацию исследуемого вещества в растворе по интенсивности люминесценции. Техника количественного анализа основана на том, что при небольшом содержании флуоресцирующего вещества в растворе существует пропорциональная зависимость между яркостью свечения и концентрацией вещества в пробе. Наиболее удобно проводить сравнение по интенсивности люминесценции раствора неизвестной концентрации с эталонным раствором. По концентрации вещества в стандартных растворах рассчитывают содержание вещества в пробах. Можно использовать также предварительно построенный калибровочный график, но этот метод менее надежен, так как на люминесценцию влияет множество факторов, поэтому при проведении люминесцентного анализа очень важным условием является создание идентичных условий для исследуемого и стандартного образцов.

Флуорометрический анализ основан на выявлении зависимости между интенсивностью флуоресценции и концентрацией люминесцирующего вещества. Этот метод применяется в тех случаях, когда способностью к люминесценции обладает только определяемое вещество. В противном случае определению должны предшествовать операции по выделению и

очистке определяемого вещества или маскированию примесей специальными реагентами. В количественном люминесцентном анализе применяют люминесцентные фотометры, которые часто называют флуориметрами или флуорометрами.

Электрохимические методы основаны на изучении и использовании процессов, протекающих на поверхности электрода или в электродном пространстве. Любой электрический параметр (потенциал, сила тока, сопротивление и др.), функционально связанный с концентрацией анализируемого субстрата, может служить аналитическим сигналом.

В основе потенциометрических измерений лежит зависимость равновесного потенциала электрода от активности (концентрации) определяемого иона. Для измерений необходимо составить гальванический элемент из подходящего индикаторного электрода и электрода сравнения, а также иметь прибор для измерения потенциала индикаторного электрода в условиях, близких к термодинамическим, т. е. без отвода заметного тока от гальванического элемента при замыкании цепи. Различают прямую и косвенную потенциометрию, или потенциометрическое титрование. В косвенных методах потенциал измеряют в целях нахождения конечной точки титрования определенного компонента подходящим титрантом.

В потенциометрическом методе измеряют разность потенциалов (напряжение) между индикаторным электродом и электродом сравнения, имеющим постоянный потенциал. Индикаторный электрод должен быстро и обратимо реагировать на изменение концентрации определяемого иона. Например, при потенциометрическом титровании ионов Ag^+ можно использовать серебряный электрод, а при титровании кислот и оснований – водородный. Для измерения потенциала составляют ячейку из индикаторного полуэлемента, содержащего электрод сравнения, соединяют их электролитическим ключом и измеряют разность потенциалов между обоими электродами. В качестве электродов сравнения используют обычно

каломельный электрод ($E = 0,2241 \text{ В}$) или хлоридсеребряный электрод ($E = 0,198 \text{ В}$) для насыщенного раствора KCl . На практике обычно и индикаторный электрод, и электрод сравнения погружают в анализируемый раствор; иногда оба электрода размещают в одном корпусе. Электрод сравнения в этих случаях помещают в стеклянный цилиндр, заполненный раствором электролита, который отделен от анализируемого раствора при помощи диафрагмы.

В настоящее время получили распространение ионоселективные электроды, которые по принципу действия подобны стеклянному электроду. В них используются кристаллические или ионообменные мембраны, а также жидкие ионообменники. Они обеспечивают установление разности потенциалов между внутренним вспомогательным электродом и внешним раствором, которая обусловлена присутствием иона, находящегося в равновесии с мембраной.

Электроды с твердыми мембранами имеют мембрану из электропроводящего материала (монокристалла или прессованного порошка). Материал мембраны выбирают таким образом, чтобы она могла пропускать только ионы определенного размера. Это достигается в том случае, если катион и анион вещества, составляющего основу мембраны, сильно различаются по своим размерам. Электроды с жидкими мембранами действуют по принципу стеклянного электрода. В состав мембраны входит органический полимерный ионообменник (твердый или жидкий) с функциональными группами типа RCOO^- или $(\text{RO})_2\text{POO}^-$, имеющими специфическое сродство к определяемому иону. С помощью электродов с жидкими мембранами можно определять ионы K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , NO_3^- и ClO_4^- . Для определения анионов используют ионообменные мембраны, содержащие хелатные комплексы металлов.

Активная кислотность (pH) – показатель концентрации свободных ионов водорода в растворе. Величина pH и ее изменение при хранении и переработке пищевых продуктов характеризуют их качество, так как

деятельность ферментов и бактерий связана с кислотностью среды. рН определяют непосредственно в пищевых продуктах или водных вытяжках и экстрактах из измельченных пищевых продуктов, если показатель рН служит мерой контроля качества (например, при определении доброкачественности плодовых и овощных соков, свежести мяса). Концентрацию водородных ионов можно определить потенциометрическим (арбитражным) методом и с помощью универсальных индикаторных бумажек (технический метод). Значение рН выражают как среднее арифметическое двух–трех определений. Точность измерений составляет $\pm 0,05$ единиц рН.

Контрольные вопросы

1. Каково содержание влаги в основных видах пищевой продукции?
2. Какие известны формы связи воды с сухими веществами пищевой продукции?
3. В чем заключается сущность теплофизических методов определения влажности?
4. Какие существуют дистилляционные и химические методы определения влажности?
5. В чем сущность косвенных методов определения влажности?
6. Укажите химическое строение и физико-химические свойства аминокислот образующих белки.
7. В чем заключается пробоподготовка при анализе белков. Приведите все стадии?
8. Каковы основные операции и методы используемые при установлении первичной структуры белка?
9. Охарактеризуйте схему рентгеновского кристаллографического исследования пространственной структуры белка.
10. Какие методы анализа основаны на реакционной способности α -аминогруппы белков?
11. Методы определения общего содержания белка. В чем заключается метод Къельдаля?

12. Химический состав и свойства липидов.
13. Какими основными свойствами обладают ацилглицерины и фосфолипиды?
14. Назовите основные возможные процессы превращения липидов в технологическом процессе.
15. В чем заключается пробоподготовка при анализе липидов?
16. Какие методы используются для анализа липидов. В чем заключается их сущность?
17. С помощью каких аналитических «чисел» характеризуют состав и качество жиров? В чем заключается бромметрический метод определения иодного числа.
18. Какие углеводы присутствуют в пищевых объектах?
19. В чем заключается пробоподготовка при анализе углеводов?
20. Как проводится анализ моносахаридов? Какие методы используются при этом?
21. В чем заключается фотометрический анализ редуцирующих сахаров?
22. Охарактеризуйте метод газожидкостной хроматографии углеводов.
23. Как проводится амперметрический метод определения редуцирующих сахаров?
24. В каких пищевых продуктах содержится наибольшее количество витамина А и каковы методы его определения?
25. В каких пищевых продуктах содержится наибольшее количество витамина С и каковы методы его определения?
26. Каковы методы определения витаминов группы В?
27. Какие микроэлементы являются наиболее важными в гигиеническом контроле пищевых продуктов в соответствии с международными требованиями Объединенной Комиссии ФАО/ВОЗ Кодекс Алиментариус?
28. В каких продуктах содержатся в наибольших количествах основные микроэлементы и какова суточная потребность в них для человека?
29. В чем заключается сущность спектрофотометрического и

полярографического методов определения микроэлементов?

30. В чем сущность атомно-абсорбционного метода определения микроэлементов?

31. Какие известны методы определения содержания мышьяка в пищевых продуктах?

32. Чем обусловлена каталитическая активность ферментов?

33. Что принимают за единицу активности фермента согласно терминологии комиссии по ферментам Международного биохимического союза?

34. Как рассчитывается активность ферментных препаратов?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Подлегаева, Т.В. Методы исследования свойств сырья и продуктов питания : учебное пособие / Т.В. Подлегаева, А.Ю. Просеков - Кемерово : Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2004. - 101 с.
2. Базарнова, Ю.Г. Методы исследования сырья и готовой продукции : учебно-методическое пособие / Ю.Г. Базарнова - Санкт-Петербург : НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. - 76 с.
3. Корячкина, С.Я. Научные основы производства продуктов питания: учебное пособие для высшего профессионального образования / С.Я. Корячкина, О.М. Пригарина – Орел : ФГБОУ ВПО «Госуниверситет-УНПК», 2011. – 377 с.
4. Лакиза, Н. В. Анализ пищевых продуктов : учебное пособие для вузов / Н. В. Лакиза, Л. К. Неудачина. — Екатеринбург : УрФУ, 2015. — 188 с.
5. Сизова, Л.С. Химические методы исследования свойств сырья и продукции : учебное пособие / Л.С. Сизова, В.П. Гуськова. - Кемерово : КемТИПП, 2007. - 94 с.
6. Роева, Н.Н. Методы исследования свойств сырья и продуктов питания : учебно-практическое пособие / Н.Н. Роева, Г.Р. Касьяненко, В.К. Кирничная. – Москва : МГУТУ, 2004. - 96 с.

Учебное издание

**Новые физико-химические и биотехнологические методы
обработки пищевого сырья и продуктов**

**Учебное пособие
для обучающихся по программе магистратуры
19.04.03 Продукты питания животного происхождения**

Составитель: Алексеев Андрей Леонидович

Издается в авторской редакции

Подписано в печать 29.03.2019 г. Формат 60x84 1/16.

Бумага офсетная. Гарнитура шрифта Times.

Усл. печ. л. 11,4. Уч.-изд.л. 12,0

Тираж 300. Заказ № 179

Издательство Лик 346430, г. Новочеркасск, пр. Платовский, 82 Е тел. 8(8635)226-442,
8-918-518-04-29, center-op@mail.ru

Отдел оперативной полиграфии НИМИ Донской ГАУ
346428, г. Новочеркасск, ул. Пушкинская, 111