

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, МЕХАНИКИ И ОПТИКИ

ИНСТИТУТ ХОЛОДА И БИОТЕХНОЛОГИЙ



Ю.Г. Базарнова

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

Учебное пособие



Санкт-Петербург
2014

УДК 001.8:637.07
ББК 36-1
БА317

Базарнова Ю.Г. Теоретические основы методов исследования пищевых продуктов: Учеб. пособие. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2014. – 136 с.

Пособие содержит материал по дисциплинам «Теоретические основы исследования свойств пищевых продуктов» и «Методы исследования сырья и продуктов общественного питания».

Предназначено для магистрантов направлений 260100 Продукты питания из растительного сырья и 260200 Продукты питания животного происхождения.

Рецензенты: кафедра технологии переработки животноводческой продукции Воронежского государственного аграрного университета им. императора Петра I (зав. кафедрой доктор техн. наук И.А. Глотова); кандидат техн. наук Н.А. Третьяков (кафедра технологии хранения и переработки сельскохозяйственных продуктов Санкт-Петербургского аграрного университета)

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом Института холода и биотехнологий



В 2009 году Университет стал победителем многоэтапного конкурса, в результате которого определены 12 ведущих университетов России, которым присвоена категория «Национальный исследовательский университет». Министерством образования и науки Российской Федерации была утверждена программа его развития на 2009–2018 годы. В 2011 году Университет получил наименование «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики».

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2014

© Базарнова Ю.Г., 2014

ВВЕДЕНИЕ

Первоочередными задачами любого пищевого производства с учетом нынешней стоимости сырья следует считать:

- организацию контроля технологического процесса;
- управление качеством и безопасностью продукции;
- снижение потерь сырья.

Выполнение этих требований гарантирует высокие потребительские свойства пищевых продуктов, которые обусловлены совокупностью их физических, химических, биохимических и других природных свойств.

Пищевые продукты – это сложные по структуре многокомпонентные системы, качество которых зависит от свойств сырья и совокупности изменений в его составе и структуре при технологической обработке и последующем хранении. В связи с этим важным является получение информации о природе процессов, формирующих качество пищевых продуктов на разных стадиях производства и хранения.

В современных условиях проблемы оценки качества и рационального использования сырья, а также повышения пищевой ценности и потребительских свойств готовых продуктов решаются на основе комплексного исследования их состава и свойств с помощью современных методов анализа.

Необходимость применения современных аналитических методов определяется также тем, что пищевая ценность сырья и готовых продуктов зависит прежде всего от содержания в них усвояемых веществ и элементов в оптимальном соотношении.

Научные данные о сбалансированном содержании питательных веществ и элементов в среднем суточном рационе питания подтверждают, что питательная ценность продуктов зависит не только от общего содержания белков, жиров, углеводов, макро- и микроэлементов, витаминов, но и, главным образом, от аминокислотного состава белка, жирно-кислотного состава липидов и т. д.

Современные аналитические методы исследования незаменимы для установления безвредности пищевого сырья и продуктов в связи с возможным попаданием в них различных химических соединений, применяемых для борьбы с вредителями сельского хозяйства (пестициды), радиоактивных изотопов, полициклических ароматиче-

ских углеводов, а также искусственных красителей, химических консервантов и т. д.

Применение современных инструментальных методов исследования пищевых продуктов позволяет не только изучить их свойства, но и получить информацию об изменениях их состава, не обнаруживаемых органолептическими методами, а также прогнозировать изменение качества при технологической обработке и хранении продуктов для установления способов и режимов хранения и сроков годности.

В настоящее время система управление качеством пищевых продуктов тесно взаимосвязана с дистанционными методами определения температуры, влажности, освещенности, состава и движения воздуха и других режимных параметров, на основе которых могут быть обеспечены оптимальные технологические режимы.

1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Строение и структура пищевых продуктов, а также количественные соотношения, характеризующие взаимораспределение органической и неорганической частей продуктов, весьма разнообразны.

Системы, составные части которых распределены равномерно, но не вступают в химические взаимодействия, называются *дисперсными*. Основные характеристики таких систем – степень дисперсности и гетерогенность. Именно эти свойства определяют коллоидные и химические свойства дисперсных систем, а также их устойчивость.

Чаще всего пищевые продукты представляют собой полидисперсные системы, в которых *дисперсионной средой* является вода, а *дисперсной фазой* – органические вещества и минеральные соли.

Современные представления о структуре пищевых продуктов основаны на их классификации по степени дисперсности и агрегатном состоянии фаз (рис. 1.1).

В соответствии с представлениями академика П.А. Ребиндера и его школы принято различать два основных типа дисперсных структур – коагуляционную и конденсационно-кристаллизационную.

Коагуляционные структуры удерживаются силами Ван-дер-Ваальса, действующими через жидкие прослойки. Основными условиями их образования являются неоднородность поверхности соприкосновения частиц и наличие гидрофобных участков, на которых возникают точечные контакты – начальные звенья будущей структуры.

Конденсационно-кристаллизационные структуры образуются в процессе конденсации полимеров или кристаллизации из растворов и расплавов; их существование определяется прочными химическими связями, отдельные частицы срастаются, жидкие прослойки между ними отсутствуют. Системы с такой структурой обладают большей прочностью, хрупкостью и необратимостью при разрушении.

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.

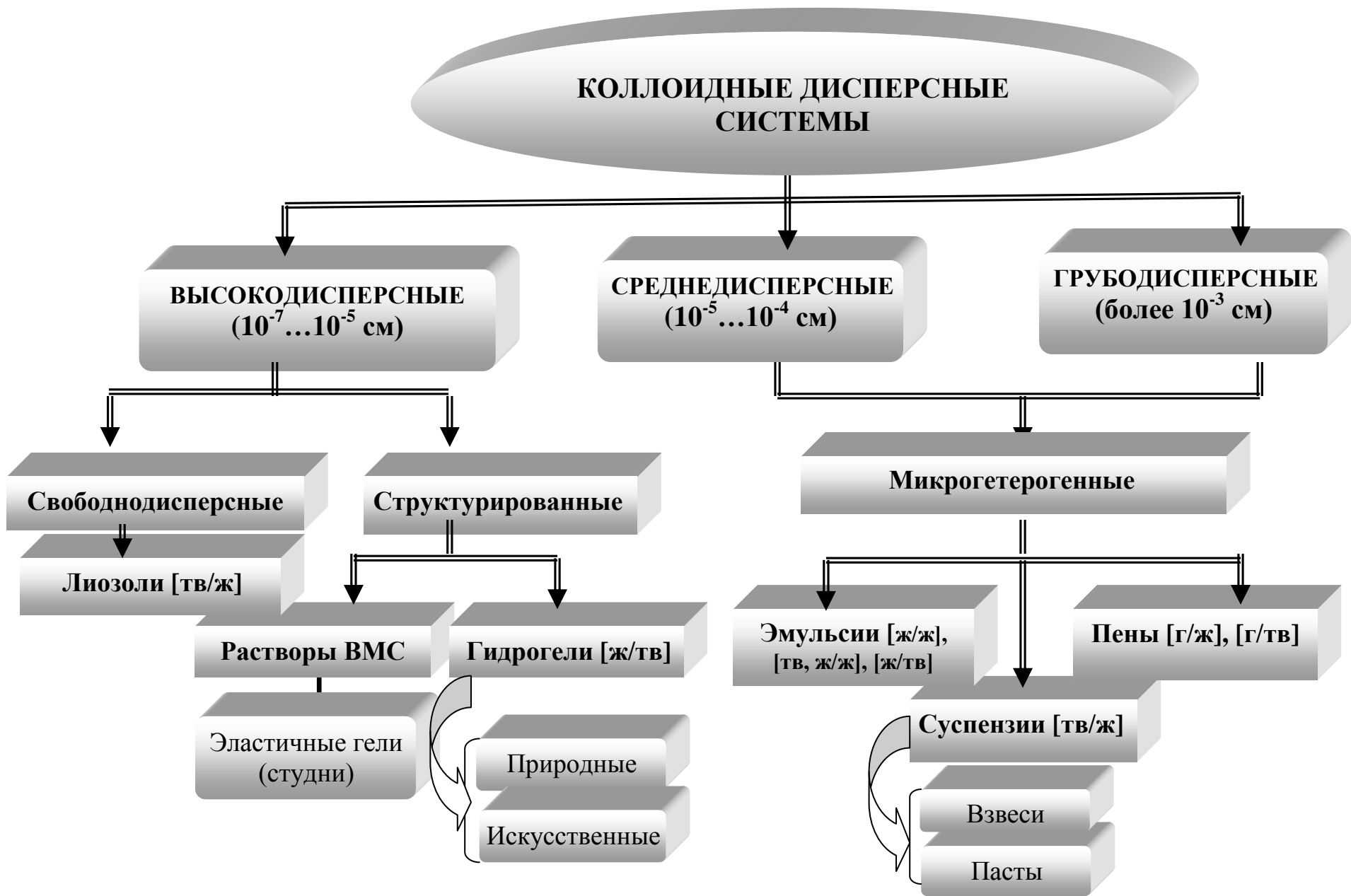


Рис. 1.1. Классификация дисперсных систем

Минеральные вещества и растворимые углеводы образуют в пищевых продуктах *истинные растворы*. Такие растворы характеризуются полной однородностью, наличием теплового эффекта при растворении.

Липиды распределены в пищевых продуктах в виде *эмульсий* различной степени дисперсности.

Белки и сложные углеводы образуют в пищевых продуктах мономолекулярные растворы, которые являются термодинамически устойчивыми системами, но имеют очень высокую вязкость, малое осмотическое давление и не способны проникать через полупроницаемые перегородки.

Жидкие коллоидные растворы и растворы высокомолекулярных соединений называются *золями*. Многие золи при благоприятных условиях образуют *студни* или *гели*. Гелеобразование представляет собой процесс связывания дисперсионной среды частицами дисперсной фазы. Мясо, рыба, а также растительное сырье, имеющее тканевую природу, представляют собой смешанные структуры белковых водных гелей и зольей, истинных растворов минеральных солей и углеводов.

Пищевые смеси могут быть классифицированы как *грубо-, средне- и высокодисперсные* (см. рис. 1.1).

Существует также понятие *структурированных* и *свободнодисперсных* (бесструктурных) дисперсных систем. Так, пищевое сырье растительного и животного происхождения, имеющее тканевую структуру, относится к структурированным высокодисперсным системам.

Пищевые эмульсии различного происхождения, например молоко и масложировые продукты, а также эмульгированные мясные продукты классифицируются как системы средней степени дисперсности.

Многие пищевые смеси относятся к коллоидным суспензиям. Среди них могут быть свободнодисперсные (фруктовые и овощные соки, пиво) и связнодисперсные (пищевые пасты) системы.

Хлебопродукты, экструзионные продукты нового поколения, мучные кондитерские изделия, кремовые охлажденные и замороженные десерты, в том числе и мороженое, являются пищевыми пенами и относятся к грубодисперсным системам.

Стабильность коллоидных, в том числе пищевых, дисперсий характеризуется *агрегативной* и *кинетической* устойчивостью. Основными факторами, влияющими на потерю устойчивости дисперсных систем, являются:

- термодинамический;
- температурный;
- структурно-механический;
- гравитационный;
- химический;
- электростатический;
- электрический;
- адсорбционно-сольватный.

Воздействие хотя бы одного из этих факторов может вызвать потерю устойчивости дисперсных систем.

2. КАЧЕСТВО ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ: ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И ТЕРМИНЫ

Качество пищевых продуктов – это совокупность их пищевой ценности и потребительских свойств.

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

Доброкачественность пищевых продуктов характеризуется их органолептическими показателями (цвет, вкус, запах, консистенция, внешний вид) и химическим составом, а также отсутствием токсинов (ядов), болезнетворных микроорганизмов, яиц глистов, вредных соединений и посторонних примесей.

Энергетическая ценность пищевых продуктов – это количество энергии, которое образуется при биологическом окислении содержащихся в продуктах жиров, углеводов и белков; используется для характеристики физиологических функций организма. Так, энергия, выделяемая при окислении в организме 1 г жира, равна 9 ккал (37,7 кДж); 1 г белка – 4 ккал (16,7 кДж); 1 г усвояемых углеводов – 3,76 ккал (15,7 кДж).

Биологическая ценность пищевых продуктов – это сбалансированное содержание 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. Она зависит от внешнего вида, консистенции, вкуса и аромата продукта, количества и качества пищевых веществ, а также от возраста и самочувствия человека. При смешанном питании усвояемость белков принята равной 84,5 %; жиров – 94 %; углеводов – 95,6 %.

Влияние органолептических свойств продуктов на их пищевую ценность обусловлено воздействием на органы чувств человека и зависит от сложившихся традиций, навыков и вкусов.

Внешний вид, консистенция, запах, вкус, состав и степень свежести обуславливают *органолептическую ценность* пищевых продуктов.

Лучше усваиваются пищевые продукты, имеющие привлекательный внешний вид: свежие или мало хранившиеся фрукты, мясо и рыба, диетические яйца, хлебобулочные изделия из высококачественного сырья.

Вкус и аромат пищевых продуктов имеют важное значение для их усвоения. Поэтому в некоторых случаях для их усиления применяют специальные способы технологической обработки, например копчение рыбы и колбасных изделий, что обуславливает даже некоторое снижение усвояемости белковых веществ.

Под *физиологической ценностью* продуктов подразумевают воздействие пищевых веществ на нервную, сердечно-сосудистую, пищеварительную и другие системы организма, а также на сопротивляемость организма инфекционным заболеваниям.

Помимо вышперечисленных, важной характеристикой качества продуктов является *стабильность свойств*, определяющих степень возможных изменений пищевой ценности и безвредности продуктов в процессе их хранения, транспортировки и реализации. Несомненное влияние на стабильность свойств мясных продуктов, величину потерь при тепловой обработке и хранении имеют такие показатели, как рН и водосвязывающая способность.

Качество пищевых продуктов зависит от многих факторов, среди которых первостепенное значение имеют состав и свойства сырья, рецептура, условия и режимные параметры технологических процессов производства и хранения, качество используемого оборудования и упаковки. Качество пищевых продуктов оценивают с помощью комплекса характеристик, определяемых различными методами 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, *комплексный* показатель качества – несколько его свойств. Например, для сливочного масла показатель «цвет» является единичным, а показатель «консистенция» – комплексным, поскольку

включает в себя такие характеристики, как однородность, пластичность, плотность, состояние поверхности на разрезе.

В отдельных случаях качество продукции оценивают по какому-либо определяющему показателю. Так как степень значимости отдельных показателей качества неодинакова, необходимо вводить коэффициенты весомости. Они широко применяются при определении органолептических показателей качества.

Коэффициент весомости – это количественная характеристика значимости среди других показателей при вычислении комплексного показателя качества. Коэффициенты весомости определяют на основании заключения экспертов.

Чаще всего комплексный показатель качества представляет собой сумму произведения оценок единичных показателей и их весомости:

$$K = \sum_{i=1}^n m_i k_i ,$$

где n – число показателей в группе; m_i – коэффициент весомости для i -показателя качества; k_i – значение показателя качества в безразмерной форме.

Значение k_i определяют как отношение абсолютного значения показателя качества продукта к абсолютному значению этого показателя для эталонного образца.

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

В нормативной документации приведены регламентированные значения показателей качества пищевых продуктов, причем указаны их предельные значения, т. е. наибольшие или наименьшие регламентированные значения.

Оценка качества пищевых продуктов – это совокупность операций, включающая выбор номенклатуры показателей качества, определение значений этих показателей и сопоставление их с нормативными значениями.

Контрольные вопросы

1. Какие характеристики входят в понятие «качество» пищевых продуктов? Дать их краткое описание.
2. Что включает понятие «доброкачественность пищевого сырья и продуктов»?
3. Что включает понятие «пищевая ценность»?
4. Как производится оценка качества пищевых продуктов?
5. Дать характеристику единичных и комплексных показателей качества.
6. Что такое коэффициент весомости?
7. Перечислить основные типы контроля качества пищевых продуктов.

3. КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

В зависимости от используемых средств методы исследования подразделяют на *инструментальные* и *органолептические*.

Применяемые в настоящее время инструментальные методы исследования состава и свойств пищевых продуктов весьма разнообразны. Они основываются на использовании физических, химических, биохимических и других эффектов взаимодействия исследуемого объекта с первичными преобразователями (датчиками). Сигналы от датчиков воспринимаются вторичными приборами и преобразуются в информацию.

Многообразие применяемых схем и конструкций датчиков и вторичных приборов обуславливает необходимость классификации этих методов и их систематизации.

Для практического использования наиболее удобной является классификация методов исследования состава и свойств вещества, приведенная в табл. 3.1.

К приборам, используемым для исследования пищевых продуктов, предъявляются особенно строгие требования. Многие пищевые продукты содержат химически активные вещества, поэтому контактирующие с ними материалы должны обладать устойчивостью к коррозии и эрозии. В то же время должна быть исключена возможность взаимодействия этих материалов с исследуемыми пищевыми продуктами, приводящего к ухудшению их вкуса и цвета, снижению пищевой ценности, появлению постороннего запаха и т. д.

При проведении исследований необходимо устранить возможность развития побочной микрофлоры и исключить попадание в продукт токсичных веществ.

С позиций определяемых свойств инструментальные методы исследования пищевых продуктов можно условно разделить на физические, химические, физико-химические, биохимические, микробиологические и физиологические.

Физические методы основаны на изучении структурно-механических, оптических и электрических свойств, с помощью которых можно определить структуру, состояние и концентрацию отдельных компонентов продукта.

**Классификация измерительных методов исследования
состава и свойств вещества**

Измеряемые параметры	Определяемые свойства	Методы исследования
Механические	Плотность, удельный вес, коэффициент динамической и кинематической вязкости	Поплавковый Весовой Гидростатический Динамический Капиллярный
Термодинамические	Тепловой эффект реакции, упругость паров	Термохимический Манометрический
Электрохимические	Электрическая проводимость, электродный потенциал, сдвиг электродного потенциала, потенциал выделения ионов, предельная плотность тока, скорость электролиза	Кондуктометрический Потенциометрический Депольризационный Гальванический Полярографический Кулонометрический
Волновые	Интенсивность излучения, рассеяния и поглощения света; показатель преломления света; вращение плоскости поляризации; интенсивность взаимодействия со средой рентгеновских и радиоактивных излучений; скорость распространения и поглощения ультразвука; интенсивность поглощения электромагнитных колебаний	Фотометрический Фотоколориметрический Нефелометрический Спектрометрический Оптико-акустический Квантометрический Рефрактометрический Интерферометрический Поляриметрический Рентгеноспектрометрический Радиоизотопный Ультразвуковой Ядерного магнитного резонанса Электронный Парамагнитного резонанса

Измеряемые параметры	Определяемые свойства	Методы исследования
Электрические и магнитные	Электрическая проводимость газов и паров, диэлектрическая проницаемость, удельная магнитная восприимчивость, удельный заряд частиц	Термическая ионизация Ионизация радиоактивными излучениями Фотоионизация Диэлькометрический Емкостный Термомагнитный Магнитоэффузионный Магнитомеханический Масс-спектрометрический

С помощью физических методов определяют относительную плотность и удельную массу, температуру плавления и затвердевания, концентрацию водородных ионов, показатель преломления света, механическую устойчивость и прочность, эластичность и пористость, наличие примесей и другие показатели.

Несомненное значение для оценки свойств мяса и мясопродуктов имеют реологические методы, позволяющие определять зависимость структурно-механических свойств мясных продуктов от различных факторов.

Химические методы используются для идентификации и количественного определения отдельных органических или неорганических компонентов продукта. Химические методы основаны на специфических для исследуемого компонента качественных химических реакциях с определенными реактивами.

Физико-химические методы применяются для количественного определения основных компонентов продуктов: углеводов, липидов, белков, минеральных веществ, витаминов.

С помощью *спектральных* методов определяют элементарный и молекулярный состав продуктов, в том числе содержание микро- и макроэлементов, витаминов А, К, В₁, В₆ и др.

С помощью *хроматографических* методов определяют аминокислотный и жирно-кислотный состав продуктов, содержание летучих органических токсических веществ – нитрозаминов, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ).

С помощью метода *ядерного магнитного резонанса* (ЯМР) можно определять состояние свободной и связанной влаги в пищевых продуктах.

В практике определения показателей свежести мяса широко используют потенциометрический метод, позволяющий оценивать концентрацию ионов водорода и, наряду с другими показателями, прогнозировать стабильность свойств мяса в отношении развития микробиологических процессов, окислительных изменений, а также судить об уровне гидратации белков, их способности удерживать влагу.

Биохимические методы широко используют при изучении изменения качества продуктов при хранении или формирования качества продуктов в процессе технологической обработки. Например, при регулировании процесса хранения плодов определяют интенсивность их дыхания, при созревании мяса и рыбы – глубину протекания процессов гидролиза и автолиза.

Микробиологические методы позволяют определять степень обсемененности пищевых продуктов микроорганизмами, в том числе наличие бактерий, вызывающих пищевые отравления (ботулинус, золотистый стафилококк и др.)

Физиологические методы используют при определении биологической ценности и безвредности продуктов, степени усвоения пищевых веществ, их реальной энергетической способности.

В комплекс показателей, определяющих пищевую ценность пищевых продуктов, входят органолептические характеристики, оцениваемые с помощью органов чувств: зрения, обоняния, вкусовых ощущений и осязания. Серьезное преимущество органолептических методов – возможность за короткий срок получить представление о комплексе свойств продукта, таких как внешний вид, цвет, вкус, запах, консистенция и др. Данные показатели имеют решающее значение при оценке качества пищевых продуктов.

Для количественного выражения органолептических свойств продуктов применяют систему балловых оценок. Каждый балл соответствует определенному условию качества, характеризующему словесным описанием.

Сопоставление органолептических показателей цвета, запаха и консистенции с данными, полученными с помощью инструментальных методов определения цветовых характеристик, количественного и качественного состава летучих органических веществ

и структурно-механических характеристик продукта, позволяет выявлять корреляционные зависимости.

Контрольные вопросы

1. Перечислить основные классификационные принципы методов исследования пищевого сырья и продуктов.
2. В чем 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.

4. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ПОДГОТОВКИ И ОТБОРА ПРОБ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

4.1. Общие принципы подготовки проб

Методы подготовки проб пищевых продуктов к анализу можно условно разделить на методы разделения, выделения и концентрирования компонентов, а методы анализа – на методы обнаружения компонентов и их количественного определения.

Разделение – это операция, в результате которой составные компоненты образца продукта отделяют один от другого. При этом концентрация компонентов может отличаться или не отличаться друг от друга (рис. 4.1, а и б).

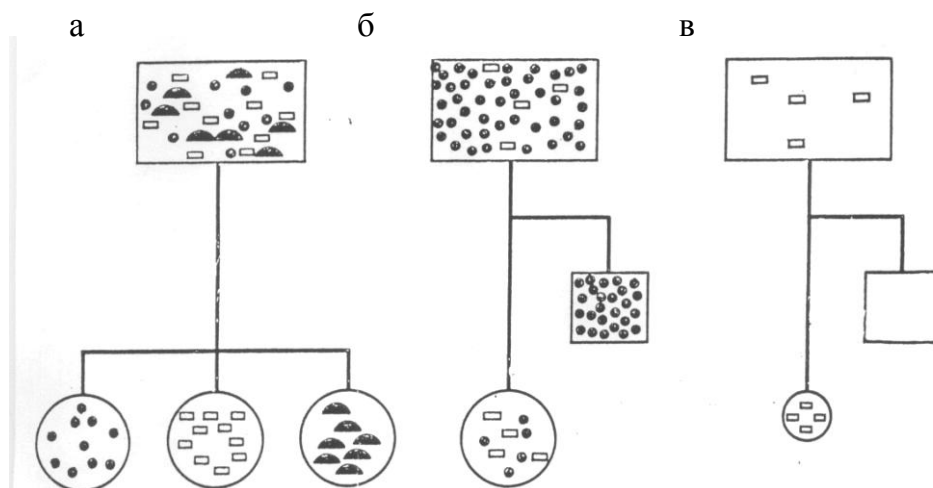


Рис. 4.1. Абсолютное (а) и относительное (б) разделение и концентрирование (в) компонентов смеси

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

Концентрирование – операция, в результате которой повышается отношение концентрации или количества микрокомпонентов к концентрации или количеству макрокомпонента продукта (см. рис. 4.1, в). Действительно, чаще всего говорят о концентрировании компонентов, присутствующих в малых или очень малых концентрациях. Концентрирование микроэлементов занимает важное место среди приемов современного анализа.

Для разделения и концентрирования обычно используют одни и те же методы: экстракцию, осаждение, сорбцию, кристаллизацию, электролиз, дистилляцию, сублимацию, флотацию и т. д.

Концентрирование является составной частью стадии обработки (подготовки) пробы. Наряду с ним на стадии подготовки пробы используют операции разложения, например растворением, маскирования и разделения отдельных компонентов пробы. Выбор операций на стадии подготовки пробы зависит от решаемой задачи, природы объекта и метода анализа. Эффективность того или иного метода анализа зависит от того, насколько правильно выбраны условия, обеспечивающие количественный переход целевого компонента в одну из фаз.

Совокупность операций по отбору пробы, ее обработке и подготовке к определению, собственно измерение и математическая обработка полученных результатов представляют собой *аналитический цикл*.

4.2. Правила отбора проб пищевых продуктов для анализа

При проведении контроля качества пищевого сырья и продуктов основным является *технический контроль*, означающий проверку соответствия продукции или технологического процесса установленным техническим требованиям (ГОСТ 16504–74).

В случае *сплошного контроля* проверяют качество каждой единицы продукции. Однако методика такого контроля трудоемкая и дорогостоящая, поэтому обычно применяют *выборочный контроль*, т. е. контроль выборок либо проб из партий или потока продукции. При правильном проведении выборочного контроля результаты выборочной проверки качества продуктов распространяют на всю партию.

Партия – это определенное количество продукта одного наименования, способа обработки, сорта, изготовленное одним предприятием за смену и оформляемое одним документом, удостоверяющим качество и безопасность продукта. В соответствии с указанием нормативных документов от партии отбирают определенное количество единиц транспортной упаковки, из которых составляют выборку.

Выборка – это определенное количество единиц продукта, отбираемое за один прием из одной единицы транспортной упаковки.

Если отбор проб осуществляют от нештучной продукции (сыпучей, жидкой или монолитной), то роль выборки играет точечная проба.

Точечная проба – это количество продукта, отобранного из одного места за один прием из партии продукта и необходимого для составления объединенной пробы.

Объединенная проба – совокупность отдельных выборок или точечных проб.

Средняя проба – часть объединенной пробы, отобранная для лабораторных испытаний.

Проба – часть средней пробы, подготовленная для испытаний.

Лабораторный образец – часть средней пробы, выделенная для лабораторного анализа.

Порядок отбора проб для осмотра или лабораторных испытаний устанавливается требованиями нормативно-технической документации на каждый вид пищевых продуктов. Отклонение от установленных правил отбора образцов и проб для анализа ведет к получению недостоверных результатов.

Для лабораторных исследований *мяса* убойных животных отбирают образцы в соответствии с ГОСТ 7269–79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести». Образцы отбирают от каждой исследуемой мясной туши (или полутуши) в виде куска не менее 200 г из следующих мест: у зареза (против четвертого и пятого шейных позвонков), в области лопатки, в области бедра и толстых частей мышц. Отобранную среднюю пробу пропускают дважды через мясорубку (диаметр отверстий решетки 2–3 мм), фарш перемешивают и переносят в склянку с притертой пробкой, откуда и берут лабораторные образцы для анализа.

Для лабораторных исследований *рыбы* образцы отбирают в соответствии с ГОСТ 7631–85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, методы органолептической оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний». Из разных мест партии отбирают неповрежденные единицы транспортной упаковки, в зависимости от средней массы составляют выборку. Для контроля качества свежей рыбы из разных мест партии отбирают до 3 % рыбы по массе.

Объединенную пробу составляют следующим образом: при массе экземпляра 0,1 кг и менее отбирают не более 0,5 кг рыбы; при массе экземпляра от 0,5 до 1 кг – три экземпляра. В случае, если

масса отдельных экземпляров рыбы составляет более 1 кг, из трех тушек рыбы вырезают филе в области предхвостовой и средней части тушки. Отобранную среднюю пробу пропускают дважды через мясорубку (диаметр отверстий решетки 2–3 мм), фарш перемешивают и переносят в склянку с притертой пробкой.

Для лабораторных исследований *растительного масла* образцы для анализа отбирают согласно ГОСТ 5471–83 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб». Хранят образцы масла в темноте при температуре 15–20 °С не более 30 сут.

Для лабораторных исследований *коровьего масла* в выборку отбирают 5 % единиц от партии. Пробы масла отбирают с помощью щупа, вводя его от торцевой части к центру монолита. Из каждого контрольного места отбирают по 50 г масла, после чего пробы объединяют вместе, растапливая на водяной бане при температуре 30 °С, перемешивают и охлаждают до (20 ± 2) °С.

Для лабораторных исследований *молока* образцы для анализа отбирают согласно ГОСТ 26809–86 «Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу». Перед определением органолептических и физико-химических показателей среднюю пробу молока после перемешивания доводят до температуры (20 ± 2) °С.

Для лабораторных исследований *плодоовощных консервов* образцы для анализа отбирают согласно ГОСТ 263130–84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб». Для приготовления лабораторной пробы твердую часть консервов пропускают два раза через мясорубку, смешивают с жидкой частью, растирают в фарфоровой ступке до однородной массы и переносят в склянку с притертой пробкой.

Контрольные вопросы

1. Дать описание терминов «разделение», «концентрирование» и «выделение». В чем принципиальная разница этих операций?
2. Дать определение понятия «аналитический цикл».
3. Что такое лабораторный образец?
4. Что такое партия пищевых продуктов?
5. Дать формулировку понятия «выборка».
6. Что такое точечная, средняя и объединенная проба?

5. ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Органолептические методы имеют решающее значение при проведении контроля качества пищевых продуктов. На методы определения органолептических показателей для некоторых продуктов разработана нормативно-техническая документация.

Несмотря на кажущуюся простоту, доступность и быстроту органолептических методов, требуются значительные знания и навыки для их осуществления.

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

Органолептическая оценка качества пищевых продуктов предусматривает очередность в определении показателей в соответствии с естественной последовательностью восприятия. Сначала зрительно оценивают такие характеристики продукта, как внешний вид, форма и цвет, затем с помощью обоняния определяют запах и, наконец, оценивают ощущения, возникающие в полости рта при приеме пищи, – вкус, консистенцию (нежность, жесткость и сочность).

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 специфическими показателями.

К специфическим показателям относятся состояние тары, упаковки или заправки, свежесть или состояние отдельных компонентов продукта. 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 толщина глазури (мороженая рыба).

Так, 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. Так, 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; 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, несвойственные готовому продукту запахи), является важным условием органолептической оценки его качества.

При оценке *консистенции* в зависимости от технических требований, предъявляемых к качеству отдельных продуктов, определяют густоту, клейкость и твердость продукта. Например, консистенция жидкая, сиропоподобная, 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 осознанием 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 *флейвор*. Флейвор (*flavour*) – комплексное ощущение в полости рта, вызываемое вкусом, запахом и текстурой пищевого продукта.

Дегустационную оценку качества продуктов 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 разные для разных видов впечатлений; 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 – минимальная, но заметно воспринимаемая разница интенсивности между двумя импульсами одного и того же вида.

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

Сенсорный минимум – минимальная чувствительность и способность органов чувств воспринимать впечатления.

Методы сенсорного анализа классифицируют по группам: дискриминантные, дескриптивные и предпочтительно-приемлемые.

Дискриминантные (различительные) методы применяют для нахождения различий и определения направления изменений. К этой группе относятся методы парного и треугольного сравнений, дуо-трио, ранговый метод, с помощью которых изучают влияние сырья, рецептуры, технологических параметров, условий хранения на органолептические показатели качества продуктов.

Дескриптивные (описательные) методы позволяют описать качество продукта (профильный метод) и определить величины различий между образцами продуктов, применяя простые и сложные шкалы.

Предпочтительно-приемлемые методы используются для выяснения отношений потребителей к качеству продуктов.

При подготовке образцов к дегустации большое внимание уделяют температуре образцов. Как правило, температура продуктов, потребляемых в холодном виде, например хлеба, копченой и соленой рыбы, закусочных консервов и других, должна быть около 18–20 °С. Продукты, потребляемые в горячем виде, например супы, жареное мясо, обеденные блюда, должны иметь температуру 55–60 °С.

Для оценки внешнего вида продукт подают целиком (банки с консервами, тушки рыбы холодного и горячего копчения, буханки и батоны хлеба и т. д.), а затем разрезают и аккуратно выкладывают на общее блюдо, индивидуальные тарелки.

При подведении итогов дегустаторы должны сравнить мнения о внешнем виде, цвете, запахе, консистенции и вкусе каждого продукта с их описаниями в нормативно-технической документации или дать количественную оценку каждого показателя в баллах, если это указано в нормативно-техническом документе на данный вид продукта.

При оценке качества пищевых продуктов применяют разные виды балловых шкал. Балловые шкалы являются наиболее удобным методом количественной оценки качественных признаков продуктов, воспринимаемых сенсорно. Например, 100-балловые шкалы применяют для сенсорной оценки твердых сычужных сыров, 30-балловые – для аттестации кондитерских и хлебобулочных изделий улучшенного качества, 10-балловые – для оценки качества вин.

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

По пятибалловой шкале 5 баллов означают отличное качество; 4 – хорошее; 3 – удовлетворительно; 2 – неудовлетворительное, но допустимое; 1 – неудовлетворительное.

Рекомендуемая ВНИИМП десятибалловая шкала расширяет диапазон органолептической оценки качества мясных продуктов. 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.

Количественное выражение органолептических признаков в баллах позволяет использовать расчетные и графические приемы для определения корреляции между показателями, определяемыми сенсорными и инструментальными методами.

Контрольные вопросы

1. Дать определение органолептической оценки качества пищевых продуктов.
2. Перечислить и обосновать последовательность определения органолептических показателей.
3. Дать описание терминов «букет» и «аромат» пищевых продуктов. В чем состоит их различие?
4. Что такое сенсорный анализ?
5. Дать краткое описание основных терминов сенсорного анализа.
6. В чем состоит различие дискриминантных и дескриптивных методов органолептического анализа?
7. Дать характеристику балловых систем оценки качества пищевых продуктов. Привести примеры используемых балловых систем.

6. МЕТОДЫ АНАЛИЗА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Анализ химического состава пищевых продуктов проводят на соответствие массовой доли их основных компонентов (воды, жира, белка, углеводов, золы, кислотности, пищевых добавок) требованиям стандартов. Отклонения в содержании составных частей продуктов влияют на их пищевую ценность, органолептические свойства и стойкость при хранении.

6.1. Определение содержания влаги

Во многих продуктах вода является количественно преобладающим компонентом. Она существенно влияет на качественные характеристики пищевого сырья и его устойчивость к воздействию микробиологических факторов. Содержание воды в пищевых продуктах 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 0 °С, 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 пищевых продуктов.

Существуют различные методы аналитического определения содержания воды. Наиболее распространены методы удаления воды высушиванием, отгонкой и поглощением осушителями. В качестве осушителей чаще всего используют обезвоженный перхлорат магния, сульфат кальция, сульфат натрия, оксид фосфора, 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 в пищевых продуктах. Содержание воды определяют по потере массы испытываемых образцов при их высушивании. Свободную влагу удаляют при температуре, близкой к температуре кипения воды.

При повышенной температуре 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 липидов при контакте с кислородом воздуха.

Увеличение массы исследуемых образцов за счет образования продуктов окисления липидов особенно значительным может быть при высушивании жиров или биоматериала 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 особенностей состава и свойств высушиваемого материала.

Точность результатов и продолжительность высушивания зависят от температурного режима сушки и условий подготовки проб. Обычно высушивание проводят при температуре, которая не превышает 105 °С, до достижения постоянной массы образцов.

Ткани, содержащие нативные (неденатурированные) белки, следует сушить под вакуумом при температуре ниже температуры денатурации белков.

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 уменьшать толщину высушиваемого слоя и увеличивать 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 температуре 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 различного устройства. Наиболее удобны шкафы с электрическим обогревом и терморегулятором, позволяющим поддерживать определенную температуру.

Влажность определяют двумя способами – высушиванием до постоянного веса и высушиванием в течение строго определенного времени. В первом случае сушку ведут до тех пор, пока разница между двумя взвешиваниями после повторного высушивания не будет выходить за пределы установленной для данного опыта точности (в третьем знаке после запятой – для продуктов с высоким содержанием влаги, не более 0,0002 г – для продуктов с низким содержанием влаги). Во втором случае навеску сушат в течение времени, установленного в ходе предварительных опытов для определенных условий сушки (размеры бюксы, масса навески и температура высушивания и т. д.), регламентированных стандартом для данного продукта. Масса навески составляет от 2 до 3 г.

Для проведения анализов в режиме «*on-line*» удобно применять метод высушивания с помощью ламп инфракрасного излучения (обычно мощностью 500 Вт). Этот метод позволяет сократить продолжительность сушки до нескольких минут. Температура и продолжительность нагревания зависят от природы биоматериала. Поэтому для каждого вида биоматериала опытным путем должны быть определены соответствующие условия сушки (масса навески, толщина слоя, расстояние от источника излучения, продолжительность сушки и т. п.).

Лампу укрепляют на штативе в вертикальном положении. Кюветы или бюксы с материалом, подлежащим сушке, устанавливают на асбестовый картон, фарфоровую или глиняную плитку в центр отбрасываемой лампой светового круга. Навеску измельченного продукта массой около 2 г, взвешенную с точностью до третьего знака после запятой, смешивают с двойным (по массе) количеством песка, переносят в бюксу и устанавливают под лампу инфракрасного излучения. Первое взвешивание бюксы с навеской производят через час сушки, повторные – через 30 мин. Каждый раз перед взвешива-

нием бюксу охлаждают в эксикаторе в течение 30 мин. Сушку ведут до тех пор, пока разница между двумя взвешиваниями не будет выходить за пределы установленной для данного опыта точности. Общая продолжительность сушки не должна превышать 6 ч. Если в процессе сушки наблюдается увеличение массы образца вследствие побочных процессов, учитывают наименьшую массу.

При определении влаги высушиванием расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,3–0,5 %.

Массовую долю влаги (в процентах) вычисляют по формуле

$$\omega_{\text{вл}} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} 100, \quad (6.1)$$

где m – масса бюксы, г; m_1 – масса бюксы с навеской до высушивания, г; m_2 – масса бюксы с навеской после высушивания, г.

6.2. Определение содержания минеральных веществ (золы)

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 $10^{-3} \dots 10^{-5}$ %. 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 микроэлементы (кобальт, железо, медь, цинк, марганец, йод, бром, фтор); так называемые вероятно необходимые микроэлементы (алюминий, стронций, молибден, селен, никель, ванадий и некоторые другие).

Микроэлементы называются 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.

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 в золе содержится железо, в микродозах – медь, цинк, стронций, барий, бор, кремний, олово, молибден, кобальт, никель и др.

Содержания 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 несколько методов: метод без предварительного высушивания навески, ускоренный метод и 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 %.

Для повышения скорости озоления и снижения потерь летучих компонентов к навеске продукта массой около 2 г, взвешенной с точностью до третьего знака после запятой, добавляют 0,2–0,3 г ацетата магния, азотной кислоты и ее солей, серную кислоту, пероксид водорода.

Органическую часть продукта сжигают при температуре 500–800 °С.

Массовую долю золы (в процентах) вычисляют по формуле

$$\omega_3 = \frac{m_2 - m_1}{m} 100, \quad (6.2)$$

где m – навеска исследуемого образца продукта, г; m_1 – масса тигля, г; m_2 – масса тигля с золой, г.

6.3. Определение содержания жира

Липиды широко распространены в природе и вместе с белками и углеводами составляют основную массу органических веществ всех живых организмов, являясь обязательным компонентом каждой клетки.

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

По химическому строению липиды являются производными жирных кислот, спиртов, альдегидов, построенных с помощью сложноэфирной, простой эфирной, фосфоэфирной, гликозидной связей.

Липиды делятся на две основные группы – простые и сложные липиды. К простым нейтральным липидам, не содержащим атомов азота, фосфора и серы, относят производные высших жирных кислот и спиртов, глицериды, воски, эфиры холестерина, гликопептиды и другие соединения.

Молекулы сложных липидов содержат в своем составе не только остатки высокомолекулярных карбоновых кислот, но и фосфорную или серную кислоту.

Жиры являются важными компонентами пищевого сырья, полуфабрикатов и готовых пищевых продуктов, во многом определяя их пищевую и биологическую полноценность и вкусовые качества.

Большинство методов количественного определения жира основано на его извлечении 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 жи-

рам. 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 жиросодержащего материала, а также продолжительности экстрагирования. Более полно липиды извлекаются бинарными смесями 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. Измельченные пробы рекомендуется перед экстракцией растереть 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. Устройство экстрактора Сокслета показано на рис. 6.1.

Методом Сокслета извлекают не только липиды, но и сопутствующие им вещества (фосфатиды, стеринны, 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, который основан на экстракции липидов из тканей хлороформ-метаноловой смесью. Данный метод 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.

Метод количественного определения липидов по Сокслету основан на взвешивании жира, извлеченного растворителем из сухой навески исследуемого образца в экстракторе Сокслета. Навеска воздушно-сухого вещества в этом случае составляет от 3 до 5 г.

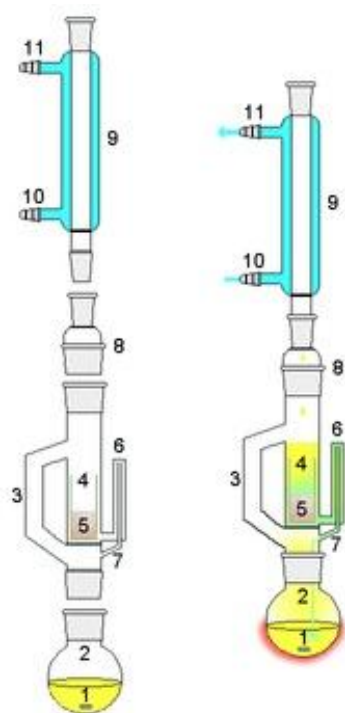


Рис. 6.1. Устройство экстрактора Сокслета:

1 – растворитель; 2 – колба для кипячения экстрагента; 3 – трубка для паров растворителя; 4 – патрон из пористого материала; 5 – сухая смесь; 6 – сифон; 7 – слив сифона; 8 – шлифовый переходник (в случае необходимости); 9 – обратный холодильник; 10, 11 – патрубки для холодной воды

Содержание жира (в процентах) вычисляют по формуле

$$\omega_{\text{ж}} = \frac{m_2 - m_1}{m} 100, \quad (6.3)$$

где m_1 – вес колбы до экстракции, г; m_2 – вес колбы после экстракции, г; m – навеска исследуемого продукта, г.

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

Метод основан на том, что при растворении жира показатель преломления растворителя снижается пропорционально содержанию жира. По разности между показателями преломления чистого растворителя и раствора жира определяют массовую долю последнего.

6.4. Определение содержания белковых веществ

Белки – высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения. 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.

По своему строению белки являются высокомолекулярными соединениями, состоящими из аминокислот. Соединенные амидной (пептидной) связью аминокислоты образуют полипептиды простого (протеина) и сложного (протеида) строения. В состав протеидов дополнительно входят небелковые вещества (липиды, углеводы и т. д.).

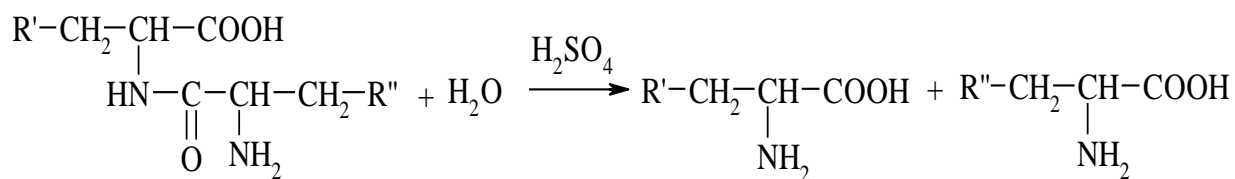
В среднем белковые молекулы содержат: 50–54 % углерода; 15–18 % азота; 20–23 % кислорода; 6–8 % водорода и 0,3–2,5 % серы.

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.

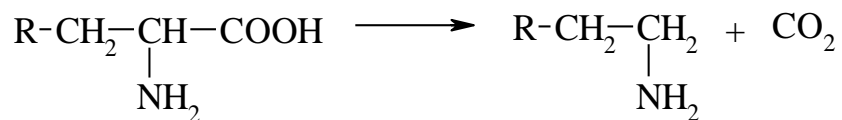
Обычно содержание общего азота в пищевых продуктах определяют с использованием метода Кьельдаля. В целях упрощения и сокращения длительности анализа этот метод неоднократно подвергался модификации. В настоящее время разработаны высокопроизводительные автоматические анализаторы типа «Кьельфос».

Минерализацию (сжигание) производят нагреванием навески продукта с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов (сернокислой меди или пероксида водорода), а также веществ, повышающих температуру кипения смеси (сульфата натрия или калия). Минерализация органических веществ протекает в четыре стадии по нижеприведенной схеме.

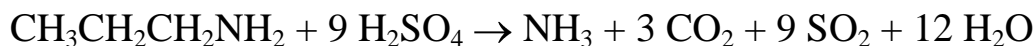
1. Гидролитический распад:



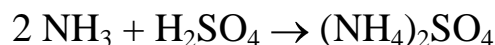
2. Декарбоксилирование:



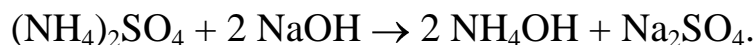
3. Окисление:



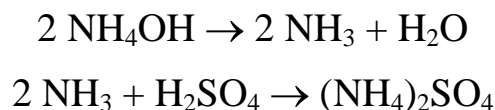
4. Связывание кислотой:



Из образовавшегося сернокислого аммония аммиак вытесняют концентрированной щелочью:



Выделяющийся аммиак отгоняют и улавливают титрованным раствором серной кислоты, которую берут в избытке:



Содержание общего азота (в процентах) рассчитывают по формуле

$$\omega_N = \frac{(V - V_1) K \cdot 0,0014 \cdot 100}{m}, \quad (6.4)$$

где V – объем 0,1 М раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование серной кислоты в контрольной пробе, см^3 ; V_1 – объем 0,1 М раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование избытка серной кислоты в рабочей пробе, см^3 ; K – коэффициент пересчета на точный титр 0,1 М раствора гидроксида натрия, г; 0,0014 – количество азота, эквивалентное 1 см^3 0,1 М раствора гидроксида натрия, г; m – масса навески образца, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2 %. Вычисление проводят до второго знака после запятой.

Для определения азота истинных белков исследуемый образец смешивают с водой и прибавляют к смеси соответствующий реактив, осаждающий белок. Выпавший осадок белка отфильтровывают, затем проводят определение азота в осадке и фильтрате. Азот осадка соответствует белковому азоту, а азот фильтрата – небелковому. Зная содержание общего азота в образце, можно ограничиться определением азота только в осадке или в фильтрате. По разности между общим азотом и азотом, найденным в осадке или фильтрате, судят о количестве белкового и небелкового азота.

Колориметрический метод определения содержания белка (метод Лоури) основан на цветной реакции белков с реактивом Фолина.

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 содержания белка в растворах с концентрацией от 10 до 100 мкг.

В основе биуретового метода определения содержания белка лежит биуретовая реакция.

Имеются различные методы определения содержания азота, например метод Дюма. Метод заключается в разложении органического соединения в атмосфере оксида углерода до газообразного состояния с последующим измерением объема азота N_2 .

Широкое распространение получил метод инфракрасной спектроскопии, в основе которого лежит поглощение молекулами белков света с определенной длиной волны. Приборы калибруют по образцам с известным содержанием белка (эталонам), определяемым по методу Кьельдаля.

Известны методы количественного определения белка, основанные на различной степени помутнения (нефелометрический метод) и способности белков адсорбировать красители (кумасси синий R-250, амидочерный и др.). Данные методы характеризуются высокой точностью и простотой определения, хотя имеют ряд ограничений.

Массовую долю белка в пищевых продуктах определяют также колориметрическим методом, основанным на способности белков при рН ниже изоэлектрической точки связывать кислотные красители с образованием нерастворимых комплексов. При этом интенсивность окраски раствора уменьшается обратно пропорционально количеству белка. После удаления нерастворимого комплекса измеряют оптическую плотность раствора и по градуировочному графику определяют массовую долю белка.

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

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

6.5. Определение содержания углеводов

Углеводы представляют собой обширную группу органических соединений, характерных главным образом для пищевого сырья и продуктов растительного происхождения. Доля углеводов в растительном сырье составляет около 90 % от общего количества сухих веществ.

Все углеводы подразделяются на три группы: моносахариды (монозы); олигосахариды, или кристаллические полисахариды, молекулы которых состоят из 2–10 остатков моноз; высшие, или коллоидные, полисахариды (полиозы), в состав которых входят более 10 остатков моносахаридов.

Моно- и олигосахариды образуют в воде истинные растворы, из которых способны кристаллизоваться; обладают сладким вкусом. Высшие полисахариды относятся к высокомолекулярным веществам. В отличие от моно- и олигосахаридов их называют коллоидными, или некристаллизующимися, углеводами.

Моносахариды, окисляясь в щелочной среде, восстанавливают соли меди (II), соли окиси висмута и соли серебра. Это свойство моносахаридов используется для количественного определения так называемых восстанавливающих (или редуцирующих) моносахаридов, молекулы которых содержат карбонильную группу.

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 с высоким содержанием белка и фенольных соединений 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 (совместно с редуцирующими сахарами) ее необходимо предварительно гидролизовать.

При повышении температуры происходит частичное ферментативное расщепление дисахаридов, полисахаридов, а также фосфорных эфиров сахаров. Длительное выдерживание проб при высокой температуре ведет к частичному разрушению фруктозы.

Качественный и количественный анализ отдельных сахаров проводят методами газожидкостной, ионообменной или жидкостной хроматографии высокого разрешения.

Определение *крахмала* основано на определении полученной при его гидролизе глюкозы с помощью химических методов или с использованием поляриметрии. Предварительно необходимо удалить моно- и олигосахариды, для чего используют их экстракцию 80 %-м этанолом. Затем крахмал извлекают из продукта каким-либо способом, например растворением пробы сначала в холодной, а затем в горячей воде. После чего освобождают от белков путем обработки полученного раствора фосфорно-вольфрамовой кислотой, ацетатом цинка, гесацианоферратом (III) калия или другими осадителями белка.

Как правило, определение крахмала проводят путем определения глюкозы после ферментативного или кислотного гидролиза. Для расчета используют соответствующие коэффициенты.

Для определения *декстринов* их извлекают теплой (40 °С) водой и осаждают 96 %-м этанолом. После этого проводят гидролиз и в полученном гидролизате определяют глюкозу.

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

Определение *пектина* основано на его извлечении из продукта, осаждении и взвешивании. Для извлечения растворимого пектина применяют экстракцию холодной водой с последующим кипячением. Для извлечения протопектина навеску продукта после извлечения растворимого пектина кипятят с соляной кислотой.

Для продуктов с высоким содержанием крахмала используют специальные приемы его предварительного отделения, после чего для осаждения пектина проводят реакцию с хлоридом кальция. В полученном осадке определяют содержание кальция с помощью комплексометрического титрования, а полученные результаты используют для расчета содержания пектина.

Количественное определение пектиновых веществ основано на их свойстве давать окрашенный комплекс с карбазолом. Карбазольный метод основан на образовании специфической фиолетово-розовой окраски в результате взаимодействия уроновых кислот с карбазолом в сернокислой среде. Образующийся 5-карбоксихурфурол обладает максимумом поглощения при 535 нм.

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

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

Метод Бертрана основан на окислении сахаров реактивами, в состав которых медь входит в виде растворимого комплексного соединения – реактива Феллинга, представляющего собой смесь мед-

ного купороса ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) с сегнетовой солью ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) в щелочной среде.

Цианидный метод применяют для определения содержания хлеба в рубленых полуфабрикатах из мяса (птицы, рыбы); риса в фаршах; муки и манной крупы в творожных изделиях; сахарозы в сладких и вторых блюдах и напитках, а также лактозы в молочных продуктах. Метод основан на способности редуцирующих сахаров восстанавливать в щелочных средах железосинеродистый калий в железисто-синеродистый. Окончание процесса окисления редуцирующих сахаров определяют по индикатору, в качестве которого используют метиленовый голубой. Метод можно использовать при содержании сахаров в пробе от 0,2 до 2 %.

С помощью *рефрактометрического метода* определяют содержание сахара в напитках (чай, кофе с сахаром, кофе и какао с молоком), сладких блюдах (плодово-ягодных киселях и молочных муссах, желе), в бисквитах, в некоторых кремовых изделиях.

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

6.6. Определение содержания витаминов

Витамины – низкомолекулярные органические соединения различной химической природы, выполняющие роль биорегуляторов процессов, протекающих в живом организме. Это важнейший класс незаменимых пищевых веществ. Для нормальной жизнедеятельности человека витамины необходимы в небольших количествах, но поскольку организм не синтезирует витамины или синтезирует их в недостаточном количестве, они должны поступать с пищей.

Из витаминов образуются коферменты или простетические группы ферментов, некоторые из них участвуют в транспортных процессах через клеточные барьеры, в защите компонентов биологических мембран и т. д.

Отсутствие или недостаток в организме витаминов вызывает болезни недостаточности – гиповитаминозы, обусловленные длительным недостатком витаминов, и авитаминозы, вызванные отсутствием или резко выраженным глубоким дефицитом витаминов.

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

В некоторых продуктах содержатся провитаминные соединения, способные превращаться в организме человека в витамины, например, β-каротин, являющийся предшественником витамина А; эргостеролы, превращающиеся под воздействием ультрафиолетовых лучей в витамин Д.

По растворимости витамины подразделяются на две группы: водорастворимые, в том числе В₁, В₂, В₆, РР, С и др.; жирорастворимые, например витамины А, Д, Е, К.

Группа соединений, близких к витаминам по построению, которые способны конкурировать с витаминами, замещая их в ферментных системах, но не обладающие витаминной активностью, получили название антивитаминов.

При производстве пищевых продуктов предусмотрен контроль за содержанием витаминов. Добавляемыми и контролируемые витаминами в плодоовощных консервах являются витамин С и каротин. Витамины В₁ и В₂ определяют при установлении пищевой ценности продуктов животного происхождения.

Витамин С присутствует в плодах и овощах в виде аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот. Обе формы являются физиологически активными, поэтому необходимо определить их суммарное содержание.

В свежеприготовленных продуктах преобладает аскорбиновая кислота, поэтому для контроля содержания витамина С используют упрощенные методы.

В процессе хранения часть аскорбиновой кислоты окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты, а часть разрушается. Поэтому с целью контроля за содержанием витамина С в продуктах в процессе их хранения используют либо потенциометрический метод, основанный на реакции восстановления дегидроаскорбиновой кислоты α-цистеином, либо флуориметрический метод.

Упрощенный *титриметрический* метод определения содержания витамина С в пищевых продуктах основан на извлечении аскорбиновой кислоты свободной и связанной форм из продукта раствором соляной кислоты с последующим визуальным или потенциометрическим титрованием полученных экстрактов раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (краска Тильманса). Метод может быть использован для определения содержания аскорбиновой кислоты в продуктах, содержащих более 2 мг аскорбиновой кислоты в 1 кг или 1 дм³ продукта.

Флуориметрический метод определения содержания витамина С в пищевых продуктах основан на взаимодействии дегидроаскорбиновой кислоты с *о*-фенилендиамином с образованием флуоресцирующего соединения, интенсивность флуоресценции которого пропорциональна концентрации витамина С в растворе.

Существующие в настоящее время методы определения *каротина* позволяют определять сумму изомеров каротина (α -, β - и γ -каротины), поэтому правильнее говорить о методе определения содержания каротинов.

Фотометрический метод определения содержания каротинов основан на их извлечении из продукта органическими растворителями. Также используют метод, основанный на экстракции каротинов из продукта ацетоном и их последующем хроматографическом определении на колонке с окисью алюминия.

Для разделения каротиноидов используют хроматографию на бумаге или в тонком слое. Разделение каротиноидов хроматографией в тонких слоях дает возможность выделить изомеры α - и β -каротина.

Методы определения витаминов В₁ и В₂ приведены в ГОСТ 25999–83 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витаминов В₁ и В₂». Для определения содержания витаминов В₁ и В₂ навеску продукта подвергают кислотному гидролизу кипячением в растворе соляной кислоты, затем ферментативному гидролизу с использованием следующих ферментных препаратов: амилоризина П10Х и пектаваморина П10Х.

Для определения витамина В₁ полученный гидролизат очищают катионитом, окисляют в тиохром и измеряют интенсивность флуоресценции при длинах волн 320–390 нм возбуждающего и 400–580 нм излучаемого света.

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

При определении витамина В₂ в интенсивно окрашенных консервированных продуктах, а также в овощных консервах с мясом и крупами в полученном гидролизате пигменты окисляют перманганатом калия, затем облучают раствор светом лампы накаливания в течение 40 мин для перехода рибофлавина в люмифлавин, после чего экстрагируют люмифлавин хлороформом и измеряют интенсивность флуоресценции при длинах волн 360–480 нм возбуждающего и 510–650 нм излучаемого света.

6.7. Определение титруемой кислотности

Кислотность обуславливает вкусовые свойства продуктов и является показателем их свежести и доброкачественности.

Титруемой кислотностью называют количество свободных органических кислот и их кислых солей, содержащихся в исследуемом продукте.

Метод определения титруемой кислотности основан на нейтрализации водных вытяжек, извлеченных из навесок исследуемого продукта раствором щелочи. Обычно для титрования применяют 0,1 н. раствор щелочи натрия, который удобно готовить из фиксанала. В этом случае поправочный коэффициент к его титру равен единице. Окончание процесса нейтрализации определяют по изменению окраски внесенного индикатора. В качестве индикатора наиболее часто применяют 1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина, в этом случае титрование вытяжки ведут 0,1 н. раствором едкого натрия до устойчивого слабо-розового окрашивания.

При титровании окрашенных вытяжек их разбавляют дистиллированной водой в два–три раза и титруют в присутствии фенолфталеина до изменения цвета вытяжки, что устанавливают сравнением с цветом такой же, но не титрованной пробы (контроль). Титрование вытяжки и сравнение ее с контрольным образцом проводят на белом фоне (колбы размещают на белом листе бумаги).

Окрашенные вытяжки можно титровать щелочью в присутствии 0,1 %-го спиртового раствора тимолфталейна. Окончание титрования определяют по получению устойчивой синей окраски.

Титрование можно проводить потенциометрическим методом. Обычно его применяют для титрования окрашенных вытяжек из растительной ткани. В этом случае окончание нейтрализации определяют по изменению электропроводности исследуемого раствора с помощью потенциометра.

Содержание органических кислот и кислых солей (в процентах) рассчитывают по формуле

$$\omega_k = \frac{V_T K P}{V_3 m} 100, \quad (6.5)$$

где V_T – объем 0,1 н. раствора NaOH, пошедшего на титрование, мл; K – коэффициент пересчета на преобладающую кислоту; P – степень разбавления; V_3 – объем вытяжки из исследуемого продукта, взятой для титрования, мл; m – навеска продукта, г.

Кислотность продуктов, содержащих различные кислоты и значительное количество кислых солей, выражают в *градусах*. Под градусом кислотности понимают объем 0,1 н. раствора NaOH, необходимого для нейтрализации кислот, содержащихся в 100 г исследуемого продукта.

В *процентах к преобладающей кислоте* выражают кислотность плодово-ягодных соков (яблочная), маринадов (уксусная), квашеных овощей (молочная).

Кислотность молочных продуктов выражают в *градусах Тернера*, означающих объем 0,1 н. раствора NaOH, необходимого для нейтрализации кислот, содержащихся в 100 мл или 100 г продукта.

Кислотность жиров выражают в миллиграммах KOH, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г исследуемого жира.

Контрольные вопросы

1. Перечислить основные показатели, характеризующие химический состав пищевого сырья и продуктов его переработки.

2. Дать описание метода определения содержания влаги в пищевых продуктах.

3. Дать описание методов определения содержания жира в пищевом сырье и продуктах.

4. Дать описание метода определения содержания белка в пищевых продуктах.

5. Дать описание метода определения содержания золы в пищевых продуктах.

6. Перечислить основные методы определения содержания углеводов в пищевых продуктах.

7. Перечислить основные группы витаминов, контролируемых в пищевых продуктах.

8. Дать описание метода определения содержания титруемой кислотности в пищевых продуктах.

7. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

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. Углы падения и преломления связаны соотношением, которое называется *показателем преломления (рефракции)*. Метод измерения показателя преломления называется *рефрактометрией*.

Оптически активными (анизотропными) называются вещества, обладающие свойством изменять направление электромагнитных колебаний при прохождении поляризованного света.

Метод измерения угла поворота плоскости поляризации света раствором, содержащим оптически активное вещество, называется *поляризацией*.

7.1. Теория и практика рефрактометрии

Если монохроматический луч P проходит через поверхность раздела двух сред, то луч Q проходит через вторую среду, изменяя при этом направление движения, т. е. преломляется (рис. 7.1).

Преломление луча света описывается законом Снеллиуса:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2, \quad (7.1)$$

где θ_1 – угол падения, град; θ_2 – угол преломления, град; n_1 и n_2 – показатели преломления первой и второй сред.

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 вносит большой ошибки, 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.

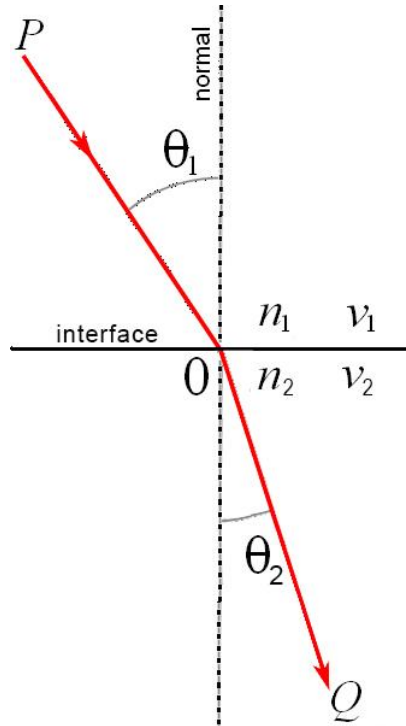


Рис. 7.1. Схема преломления луча света, проходящего через поверхность раздела двух сред

Измерение показателя преломления проводят в монохроматическом свете с известной длиной волны. Для этого обычно используют спектральную линию желтого натриевого пламени (D -линия, $\lambda = 583,3$ нм) или три спектральные линии водорода (H_α -линия, $\lambda = 656,3$ нм; H_β -линия, $\lambda = 486,1$ нм; H_γ -линия, $\lambda = 434,1$ нм). Длину волны, при которой был измерен показатель преломления, обозначают соответствующим индексом, например: n_D , n_α , n_β или n_γ .

Показатель преломления зависит от температуры и концентрации раствора, а также от длины волны проходящего света. Поэтому рефрактометрические измерения принято выполнять при температуре 20°C . Если измерения проводят при температуре выше или ниже 20°C , то значение показателя преломления приводят к 20°C по формуле

$$n^{20} = n^t + (t - 20) 0,00035, \quad (7.2)$$

где n^{20} – показатель преломления при температуре 20°C ; n^t – показатель преломления при температуре опыта; t – температура опыта, $^\circ\text{C}$; $0,00035$ – поправка к показателю.

Для измерения показателя преломления жидких веществ и растворов применяют приборы, называемые рефрактометрами. Большинство рефрактометров устроены 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 рефрактометр ИРФ-454 (рис. 7.2, а) и рефрактометр ИРФ-464 (см. рис. 7.2, б) и др.

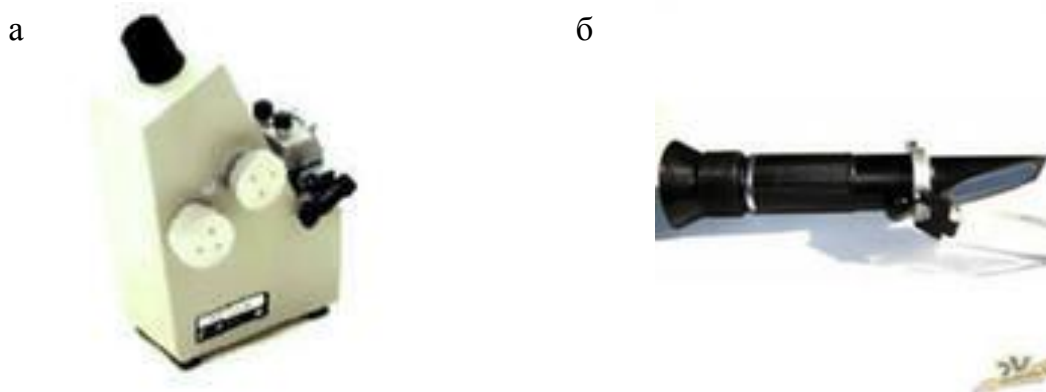


Рис. 7.2. Рефрактометры ИРФ-454 (а) и ИРФ-464 (б)

Лабораторные рефрактометры позволяют измерять показатели преломления в интервале температур от 0 до 80 °С. Рефрактометры специального назначения позволяют осуществлять измерения в интервале температур от 0 до 200 °С.

Показатель преломления прозрачных сред определяют в проходящем свете, полупрозрачных – в отраженном. 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, показатель преломления которой выше, чем у исследуемой жидкости (например, монобромнафталин). Затем плотно приклады-

вают полированную плоскую поверхность измеряемого тела, причем освещающая призма остается открытой.

Показатель преломления сильноокрашенных жидкостей 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.

Рефрактометрию широко используют для анализа содержания углеводов в пищевых продуктах, а также для определения массовой доли сухих веществ в томатопродуктах, сладкой консервной продукции, соках, патоке и т. д.

Шкала рефрактометра градуирована таким образом, что когда прибор установлен по дистиллированной воде, содержание сухих веществ (правая шкала) равно 0, а показатель преломления – 1,333. При нанесении на измерительную призму исследуемой жидкости происходит сдвиг границы светотени и соответственно изменяются показания прибора.

Содержание сухих веществ (СВ) в процентах вычисляют по формуле

$$СВ = 2 a, \quad (7.3)$$

где a – содержание сухих веществ по рефрактометру с учетом поправки на температуру, %

Показатель преломления характеризует чистоту, насыщенность и степень окисленности жиров. По величине показателя преломления можно судить о природе масла, его чистоте и степени окисленности.

Интервалы значений показателя преломления для некоторых пищевых жиров и масел:

подсолнечное масло – от 1,4736 до 1,4762;

кукурузное масло – от 1,4720 до 1,4740;

свиной жир – от 1,4536 до 1,4588.

Показатель преломления возрастает при увеличении молекулярной массы жира в результате присоединения кислорода.

Существенным недостатком рефрактометрии является испарение жидкости с поверхности измерительной призмы рефрактометра.

7.2. Основы поляриметрии

Атомы в составе 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 электронной плотности в молекуле. Вещества, содержащие такие асимметрические атомы, обладают оптической активностью. Они способны вызывать вращение плоскости поляризации проходящего через исследуемое вещество света.

Величина угла вращения зависит от концентрации вещества, поэтому поляриметрию широко применяют для измерения концентрации оптически активных веществ, например сахаров.

Если оптическая активность обусловлена особенностями строения их кристаллической решетки, то вещество проявляет оптическую активность только в кристаллическом состоянии. Если оптическая активность обусловлена особенностями молекулярного строения вещества, то она проявляется только в растворах. К веществам последней группы относятся сахароза, фруктоза, глюкоза, винная кислота. Для их количественного определения используют поляриметрию.

Оптическая активность вещества характеризуется *удельным вращением*. Под удельным вращением понимают угол поворота плоскости поляризации при прохождении поляризованного луча через раствор, в 1 мл которого содержится 1 г растворенного вещества, при толщине слоя раствора 1 дм.

Под плоскостью поляризации понимают плоскость, проходящую через поляризованный луч перпендикулярно направлению его колебаний.

Удельное вращение $[\sigma]_D^{20}$ зависит от природы исследуемого вещества и растворителя, температуры, толщины слоя исследуемого раствора, поэтому его величину измеряют при температуре 20 °С и относят к желтой линии натрия D , указывая используемый растворитель.

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

$$[\alpha] = [\sigma] \frac{lC}{100}, \quad (7.4)$$

где $[\sigma]$ – удельное вращение, град.; l – длина трубки, дм; C – концентрация исследуемого вещества, г/100 мл;

Для расчета концентрации вещества C (г/100 мл) используют формулу

$$C = \frac{[\alpha] \cdot 100}{l [\sigma]}. \quad (7.5)$$

Исследования оптически активных веществ осуществляют путем использования поляриметров (рис 7.3, а) или сахариметров (см. рис. 7.3, б), с помощью которых можно определять содержание сахарозы.

а



б



Рис. 7.3. Общий вид поляриметра (а) и сахариметра СУ-5 (б)

Контрольные вопросы

1. Дать краткое описание теоретических и практических аспектов применения рефрактометрии для анализа состава пищевых продуктов.
2. В чем состоят особенности измерений показателя преломления пищевых продуктов?
3. Перечислить принципы работы рефрактометра.
4. Привести примеры применения поляриметрии для анализа состава пищевых продуктов.
5. Дать определение понятия «оптическая активность».
6. Что такое удельное вращение плоскости поляризации?

8. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

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

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

8.1. Основные понятия реологии

Все реальные тела способны деформироваться под воздействием внешних сил, т. е. изменять свою форму и размеры.

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.

При деформировании тела возникают внутренние силы взаимодействия его отдельных частиц. Мету интенсивности этих внутренних сил называют *напряжением*.

После прекращения воздействия на тело внешних сил напряжения частично или полностью рассасываются вследствие теплового движения молекул или других элементов структуры. Процесс убывания напряжений во времени называется *релаксацией*. Время релаксации является важной структурно-механической характеристикой тела.

Остаточная (необратимая) деформация – это вязкое и пластическое течение материала. При вязком течении деформация пропорциональна напряжению по закону Ньютона, после снятия нагрузки такая деформация не восстанавливается.

Пластическая деформация возникает при напряжении, превышающем некоторую предельную величину, называемую *пределом текучести*, до достижения которой материал ведет себя как упругий.

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

Вязкость, или *внутреннее трение*, – свойство тел, обуславливающее сопротивление относительному перемещению его слоев (течению под воздействием 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 тела при незначительных усилиях испытывать более или менее значительные упругие обратимые деформации без разрушения его структуры. Отличие эластичности от упругости состоит в том, что упругость проявляется мгновенно, а эластичность – во времени.

Прочность – способность тела сопротивляться разрушению.

Все законы реологии разработаны для идеальных тел.

Известны три основные модели идеальных тел: идеально упругое тело, идеально пластичное тело и 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 системы 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 пищевых систем обязательно указывают условия испытаний, в противном случае полученные результаты являются несопоставимыми.

Многие пищевые массы, помимо твердого и жидкого состояний, образуют структуры, которые по физическим свойствам занимают промежуточное положение. К таковым относятся белковые и углеводные студни, суспензии различной 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 пищевых систем зависят от природы входящих веществ и их соотношения, а также от сил взаимодействия между ними.

8.2. Основы реологии жидких и твердых пищевых продуктов

Как было указано ранее, реология изучает деформацию и течение пищевых продуктов в четко определенных условиях. Эти условия могут быть выражены в терминах скорости деформации либо величины приложенного напряжения или деформации. Пищевые продукты с разными внутренними структурами и связями различным образом реагируют на созданные условия.

В простейшем случае создаваемое в жидкости напряжение сдвига (касательное напряжение) прямо пропорционально скорости деформации, или скорости сдвига. В этом случае жидкость называют *ньютоновской*, ее течение можно описать уравнением

$$\tau = \mu \dot{\gamma}, \quad (8.1)$$

где τ – напряжение сдвига, Па; μ – вязкость, Па·с; $\dot{\gamma}$ – скорость сдвига, с^{-1} .

Коэффициент пропорциональности μ между напряжением сдвига и скоростью сдвига называется вязкостью жидкости и, согласно определению, данному Паскалем в 1663 г., может рассматриваться в качестве меры ее внутреннего трения, т. е. способности сопротивляться движению в ответ на приложенное напряжение сдвига.

Принципы работы многих современных приборов основаны на модели двух поверхностей, одна из которых неподвижна, а вторая находится в движении. При этом для оценки вязкости жидкости измеряют скорость на одной из поверхностей.

Поскольку ньютоновские жидкости имеют сравнительно простую форму кривых течения (рис. 8.1, а), они могут быть охарактеризованы только одним параметром – вязкостью. Для количественного выражения реологических характеристик таких жидкостей достаточно проведения однократного эксперимента, в котором измеряют напряжение сдвига на одной поверхности при одной скорости сдвига. К сожалению, только немногие жидкости подчиняются этой

простой зависимости: вода, молоко, растительные масла, некоторые разбавленные растворы.

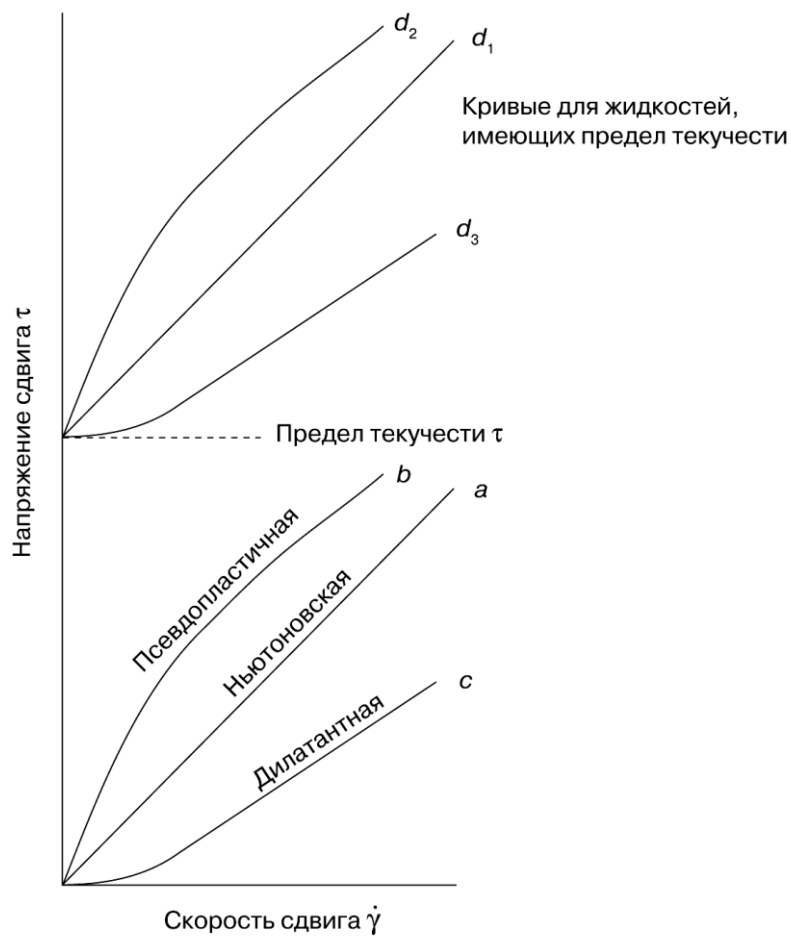


Рис. 8.1. Типичные кривые течения

Течение большинства пищевых жидкостей, которые не являются ньютоновскими, можно описать с помощью показанных на рис. 8.1 кривых b , c или d . Вязкость таких жидкостей нельзя измерить с помощью единственной скорости сдвига, как в случае ньютоновских жидкостей. Более того, существует немало жидких пищевых продуктов, напряжение сдвига которых зависит не только от скорости сдвига, но и от времени.

Многие пищевые продукты являются *псевдопластичными* телами, их реакция на приложенное напряжение изменяется в зависимости от скорости сдвига. Течение таких жидкостей можно описать кривой b (см. рис. 8.1). Для подобных жидкостей часто используют термин «разжижение при сдвиге», поскольку наклон кривых их

течения уменьшается с увеличением скорости сдвига. Примерами таких жидкостей являются: концентрированное молоко, растворы ксантана и гуаровой смолы, некоторые фруктовые соки.

Реже встречаются так называемые *дилатантные*, или «загущающиеся при сдвиге», жидкие пищевые системы, представленные кривой c (см. рис. 8.1). Примером данной системы является концентрированная суспензия зерен крахмала.

Для получения математических моделей, описывающих течение жидких пищевых продуктов, обычно используют зависимость логарифма напряжения сдвига от логарифма скорости сдвига.

Для многих псевдопластичных, или дилатантных, жидкостей подобная зависимость линейна и описывается уравнением

$$\tau = k \dot{\gamma}^n, \quad (8.2)$$

где n – показатель степени этого закона; k – кажущаяся вязкость, или коэффициент, консистенции.

Уравнение (8.2) называют степенным законом. Для ньютоновской жидкости n равно единице, а k – ее вязкости. Для псевдопластичных жидкостей значение n составляет от нуля до единицы, тогда как в случае дилатантных жидкостей значение n больше единицы.

Пищевые продукты, течение которых можно описать с помощью кривых d (см. рис. 8.1), характеризуются наличием предела текучести τ , который нужно превысить, чтобы тело приобрело свойство текучести. Подобные материалы при низких значениях напряжения ведут себя как твердые тела, а при высоких значениях – как жидкости.

Для некоторых пищевых смесей (шоколад, кондитерские глазированные изделия) наличие предела текучести является необходимым условием использования определенной технологии.

При отсутствии быстрой кристаллизации или затвердевания покрытия величина предела текучести будет определять его толщину на вертикальной поверхности. Если масса покрытия, отнесенная к площади вертикальной поверхности продукта, т. е. напряжение сдвига, создаваемое самим покрытием, превосходит предел текучести, покрытие будет стекать с продукта.

Для математического описания кривых течения подобных продуктов предложены уравнения Кэссона (Casson)

$$\tau^{0,5} = \tau_y^{0,5} + \kappa' \dot{\gamma}^{0,5} \quad (8.3)$$

и Гершеля–Бакли (Herschel–Buckley)

$$\tau = \tau_y + \kappa'' \dot{\gamma}^n, \quad (8.4)$$

где τ_y – предел текучести; κ' и κ'' – константы.

Уравнение Кэссона широко используется в пищевой промышленности, в частности при производстве шоколада, где оно применяется для моделирования поведения расплавленных шоколадных масс. Уравнение Гершеля–Бакли является модификацией степенного закона за счет внесения поправки предела текучести.

Поскольку внутреннее трение – явление молекулярное, реологические свойства многих пищевых продуктов в значительной степени зависят от температуры. Например, измерения вязкости в температурном диапазоне от 20 до 25 °С показали, что при изменении температуры на один градус вязкость воды изменяется на 2,5 %, а вязкость растительных масел – на 10 %. Поэтому строгий температурный контроль является обязательным требованием для измерения вязкости.

Твердые тела, известные как идеально упругие, дают линейную зависимость между приложенным напряжением и возникающей деформацией. Эта зависимость, известная как закон Гука, характерна для идеально упругого тела:

$$\tau = G \varepsilon, \quad (8.5)$$

где τ – напряжение сдвига, Па; G – модуль сдвига, Па; ε – деформация, являющаяся безразмерной величиной,

$$\varepsilon = \frac{L - L_0}{L_0}, \quad (8.6)$$

здесь L_0 – длина тела до деформации; L – после деформации.

Многие сложноструктурированные пищевые продукты обладают одновременно как вязкими, так и упругими свойствами, поэтому их называют *вязкоупругими*.

Термин «вязкоупругие» обычно применяют к твердым телам, в то время как термин «упруговязкие» используют для описания жидкостей, проявляющих подобные характеристики.

Линейная вязкоупругость – простейший случай вязкоупругого поведения, при котором отношение напряжения к деформации является только функцией времени и не зависит от величины напряжения и деформации.

Если скорость деформации образца постоянна и известна по величине, то накапливающееся напряжение вычисляют по формуле

$$\tau = \mu \dot{\gamma} (1 - e^{-t/\tau}), \quad (8.7)$$

где t – время релаксации.

В случае нелинейной вязкоупругости механические свойства материалов зависят как от времени, так и от величины приложенного напряжения. Теоретическая сложность нелинейной вязкоупругости делает ее малоприменимой для практического применения.

8.3. Измерительные системы

Инструментальные измерительные системы, используемые в пищевой реологии, можно условно разделить на *фундаментальные* и *эмпирические*.

Фундаментальные системы основаны на создании в материале строго заданного напряжения и измерении деформации (или скорости сдвига) либо измерении напряжения, создаваемого путем приложения строго определенной скорости сдвига.

Основываясь на геометрии приборов, фундаментальные измерительные системы можно разделить на две группы:

- капиллярные вискозиметры, принцип действия которых основан на использовании силы тяжести (гидростатического напора) или давления, создаваемого с помощью поршня либо сжатого газа;
- ротационные вискозиметры, в которых образец находится между вращающимися или колеблющимися поверхностями.

Эмпирические системы позволяют быстро получать результаты, но они произвольны, не строго определены, не имеют абсолютного стандарта и эффективны только для ограниченного числа пищевых продуктов. Как правило, такие измерительные системы используют для измерения деформации и течения при механической нагрузке,

в целях последующего определения корреляционных связей с исследуемой характеристикой продукта.

Капиллярные вискозиметры (рис. 8.2) – простейший тип существующих вискозиметров, с помощью которых можно получить абсолютные значения вязкости для ньютоновских жидкостей и ограниченную информацию для жидкостей, подчиняющихся степенному закону [см. уравнение (8.2)].

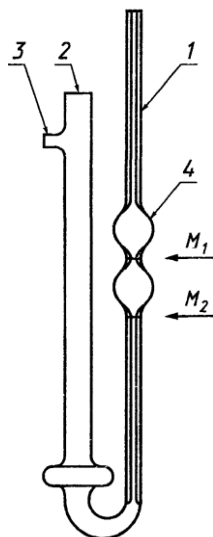


Рис. 8.2. Вискозиметр Пинкевича (ВПЖТ-4, ВПЖ-4):
1 – трубка; 2 – капиллярная трубка; 3 – отводная трубка; 4 – расширение;
M₁ и M₂ – метки измерительной части вискозиметра

При использовании капиллярных вискозиметров измеряемым параметром является время t , в течение которого фиксированный объем V исследуемой жидкости истекает через капиллярную трубку длиной L . Осевая часть образца жидкости и часть жидкости, контактирующей со стенками трубки, движутся с разными скоростями.

Жидкость течет по капилляру под воздействием силы тяжести, определяемой по разнице гидростатических напоров в двух резервуарах, имеющихся в стеклянном вискозиметре с U-образной трубкой, сжатого газа или плунжера (в капиллярных вискозиметрах высокого давления).

В целях определения расхода жидкости в капилляре или трубке для ньютоновских жидкостей используют уравнение, называемое законом Хагена–Пуазейля (Hagen–Poiseuille):

$$\frac{Q}{d^3} = \frac{\pi d \Delta p}{128 \mu L}. \quad (8.8)$$

Уравнение (8.8) связывает скорость потока с создающим поток давлением, при этом многочисленные переменные такой системы представлены в уравнении через константы. Данное уравнение может быть преобразовано в уравнение

$$\mu = \frac{\pi \Delta p d^4}{128 L Q}, \quad (8.9)$$

где μ – коэффициент вязкости; Δp – разность давления в капилляре, Н·м²; d – диаметр капилляра, м; L – длина капилляра, м; Q – расход жидкости, вытекающей через капилляр, м³/с.

Поскольку для вискозиметров значения d и L являются фиксированными величинами, то, измеряя Q при известном Δp , можно вычислить коэффициент вязкости μ .

Рабочий объем жидкости V в капилляре также является фиксированной величиной, поэтому Q можно заменить на отношение V/t , где t – время истечения жидкости через капилляр.

Силой, создающей поток в стеклянном капиллярном вискозиметре с U -образной трубкой, является гидростатический напор, равный ρgh , где ρ – плотность жидкости, g – гравитационная постоянная, h – разница уровней жидкости в резервуарах системы.

В случае U -образного вискозиметра уравнение (8.9) можно упростить и записать его в следующем виде:

$$\mu = K \rho t, \quad (8.10)$$

где K – константа для данного прибора; ρ – плотность исследуемой жидкости, кг/м³; t – время, которое требуется для прохождения жидкости через капилляр;

Константа, характеризующая капиллярные стеклянные вискозиметры, включает в себя фиксированные для каждого прибора величины и указывается производителем:

$$K = \frac{\pi g h d^4}{128 L V}. \quad (8.11)$$

При работе с капиллярными вискозиметрами часто используют альтернативный (так называемый относительный) метод, при кото-

ром время истечения исследуемой жидкости через капилляр сравнивают со значениями, полученными для эталонной жидкости известной плотности. При одинаковых условиях отношение вязкости исследуемой и эталонной жидкостей будет равно отношению времени, которое требуется равным объемам этих жидкостей для прохождения через капилляр вискозиметра. Подобным образом эталонные жидкости можно использовать для вычисления или проверки значения K [см. уравнение (8.11)].

Приведенные выше уравнения традиционно используются не только для измерения вязкости, но и для определения скорости течения (расхода) жидкости в трубопроводе путем фиксации падения давления на некоторой секции трубопровода. Однако в случае жидких пищевых продуктов этот метод можно использовать лишь как приближенный, поскольку «неньютоновское поведение» жидких пищевых продуктов требует применения более сложных зависимостей.

Для описания течения сложных жидкостей используют различные варианты уравнения (8.8).

В случае жидкостей, подчиняющихся степенному закону, ламинарный поток через цилиндрическую трубку под действием разницы давлений Δp описывается следующим уравнением:

$$\frac{Q}{d^3} = \frac{\pi}{8(3+1/n)} \left(\frac{d\Delta p}{4kL} \right)^{1/n}, \quad (8.12)$$

где n и k – константы степенного закона.

Часто используют вариант капиллярной вискозиметрии, в котором характеристикой вязкости служит продолжительность истечения определенного (стандартизованного) объема жидкости под действием собственного веса через калиброванный капилляр. Поскольку сопротивление протеканию жидкости по капилляру зависит не только от ее вязкости, в формулы, используемые для расчета, вводят поправки, которые учитывают возможные погрешности, связанные, например, с изменением кинетической энергии струи, с накоплением упругой энергии, разогревом системы.

В *ротационном* вискозиметре (реометре) исследуемый продукт помещают между двумя поверхностями, из которых одна вращается при проведении испытания (рис. 8.3).

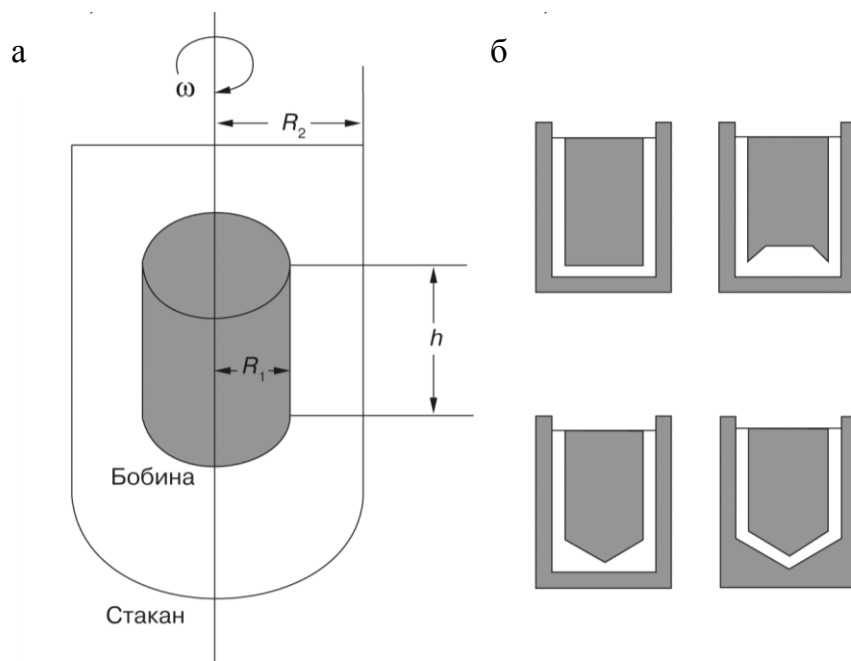


Рис. 8.3. Коаксиально-цилиндрический вискозиметр: общая схема (а) и различные профили дна – плоский, угловой и углубленный (б)

Геометрия этих поверхностей может быть различной: в виде концентрических цилиндров, конуса и плоскости или пары параллельных плоскостей. В зависимости от способа управления вращением эти вискозиметры подразделяются на устройства с регулируемой (контролируемой) скоростью или с регулируемым напряжением.

В устройствах с регулируемой скоростью сдвига контролируют скорость вращения поверхности, а на измеряемой поверхности регистрируют переданный крутящий момент, тогда как в устройствах с регулируемым напряжением контролируемым параметром является крутящий момент, приложенный к одной из поверхностей, а регистрируют результирующую скорость вращения.

Изначально ротационные вискозиметры были запроектированы для проведения измерений при контролируемом напряжении или контролируемой скорости сдвига, однако в настоящее время имеются комбинированные устройства, позволяющие производить измерения в обоих режимах. Вискозиметр «Реотест-RV» (рис. 8.4) является одной из первых моделей этой марки.

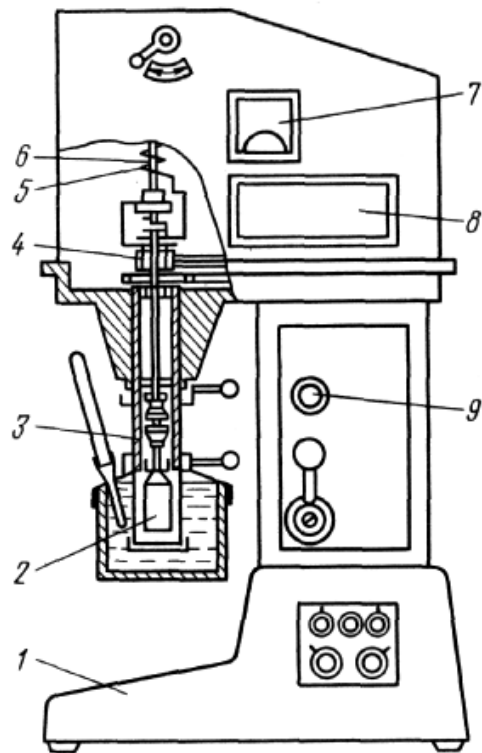


Рис. 8.4. Вискозиметр «Реотест-RV»

Внутри станины 1 прибора установлен синхронный электродвигатель, соединенный с 12-ступенчатой коробкой передач, которая позволяет изменять частоту вращения внутреннего цилиндра 2 от 0 до 1500 с^{-1} . Крутящий момент от коробки передач передается ведущему валу 6 и далее через спиральную пружину 5 – ведомому валу 4, соединенному с внутренним цилиндром 2 муфтой. Наружный цилиндр 3 крепится к корпусу вискозиметра специальным зажимом. В приборе имеется термостатирующий сосуд. Величина крутящего момента отсчитывается по шкале прибора 8, скорость вращения – по указателю 9. Измеритель моментов торсионного типа с омическими датчиками работает на принципе превращения механических усилий в электрические импульсы. Показания прибора 8 прямо пропорциональны крутящему моменту, а также напряжению сдвига и вязкости исследуемого материала. Частота вращения синхронного электродвигателя и, следовательно, внутреннего цилиндра 2 зависит от напряжения тока в сети. Отклонения от номинальной частоты 50 Гц фиксируются прибором 7.

Пределы измерения: вязкости – от 10^{-2} до $10^4 \text{ Па} \cdot \text{с}$; скорости сдвига – от 0,1667 до $1,458 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$; напряжения сдвига – от 12 до $3 \cdot 10^3 \text{ Па}$;

температуры – от 30 до 150 °С. Погрешность измерений составляет $\pm 3\%$ (для ньютоновских жидкостей).

Контрольные вопросы

1. Дать характеристику реологических методов исследования пищевых продуктов.
2. Перечислить основные понятия реологии.
3. Что такое вискозиметрия?
4. В чем состоят особенности измерения деформации пищевых смесей?
5. В чем состоят особенности измерения вязкости пищевых смесей?
6. Дать краткое описание основных типов вискозиметров.

9. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Методы исследования люминесцентных свойств вещества 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 измерительных люминесцентных методов является низкий предел обнаружения (менее 10^{-8} %), в связи с чем методы исследования люминесцентных свойств пищевых продуктов хорошо зарекомендовали себя в качестве экспресс-оценки их доброкачественности.

9.1. Теоретические основы люминесценции

Люминесценция характеризуется длительностью возбужденного состояния, которая для различных веществ имеет определенную среднюю величину. Средняя длительность возбужденного состояния τ определяется свойствами возбужденной частицы и воздействием на нее окружающей среды.

В зависимости от вида источника возбуждения различают термолюминесценцию, радиолюминесценцию, хемиллюминесценцию и др. Чаще всего источником возбуждения люминесценции является свет оптического диапазона ультрафиолетовых и видимых частот, в этом случае явление называют фотолюминесценцией. В зависимости от времени пребывания частиц в возбужденном состоянии различают флуоресценцию и фосфоресценцию.

Флуоресценция – кратковременное свечение ($\tau = 10^{-7} \div 10^{-10}$ 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 ($\tau = 10^{-3} \div 10^{-2}$ с), которое продолжается после отключения источника излучения.

Важной характеристикой люминесценции является квантовый выход, который показывает, насколько эффективно в исследуемом веществе энергия возбуждения преобразуется в люминесценцию.

Квантовый выход φ_L определяется отношением числа излученных квантов возбуждающего света N_f к числу поглощенных веществом квантов света N_a :

$$\varphi_L = \frac{N_f}{N_a}. \quad (9.1)$$

Размер квантового выхода зависит от концентрации люминесцирующего вещества, температуры, присутствия посторонних примесей. Уменьшение величины φ_L под влиянием этих факторов получило название тушения люминесценции. Оно начинается с некоторой «пороговой» концентрации вещества C_0 .

Зависимость квантового выхода от концентрации вещества имеет экспоненциальный характер:

$$\varphi_L = \varphi_0 \exp [-k (C - C_0)], \quad (9.2)$$

где φ_0 – выход люминесценции при бесконечном разбавлении.

Величина C_0 (моль/л) и константа k зависят от природы люминесцирующего вещества. При условии $C \leq C_0$ $\varphi_L = \varphi_0$.

О концентрации люминесцирующего вещества можно судить по интенсивности его свечения I_f , которая пропорциональна количеству поглощенной веществом энергии I_a и квантовому выходу φ_L :

$$I_f = I_a \varphi_L. \quad (9.3)$$

Значение I_a можно вычислить из уравнения (9.3).

Зависимость интенсивности люминесценции I_f от концентрации вещества имеет вид

$$I_f = I_0 \varepsilon_\lambda C l \varphi_L, \quad (9.4)$$

где I_0 – интенсивность люминесценции при бесконечном разбавлении; ε_λ – молярный коэффициент экстинкции (светопоглощения) вещества, л(моль · см); l – толщина поглощающего слоя, см.

Поскольку ε_λ , l , I_0 – величины постоянные для данного вещества, то при условии $C \leq C_0$ уравнение (9.4) принимает вид

$$I_f = k C. \quad (9.5)$$

Таким образом, зависимость интенсивности люминесценции вещества от его концентрации имеет линейный характер. Эту зависимость используют для количественных определений в люминесцентном анализе.

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, максимум спектра излучения вещества всегда сдвинут по отношению к максимуму его спектра поглощения в область больших длин волн.

На рис. 9.1 показаны спектры поглощения и излучения (А) и схема энергетических уровней молекулы тирозина (Б).

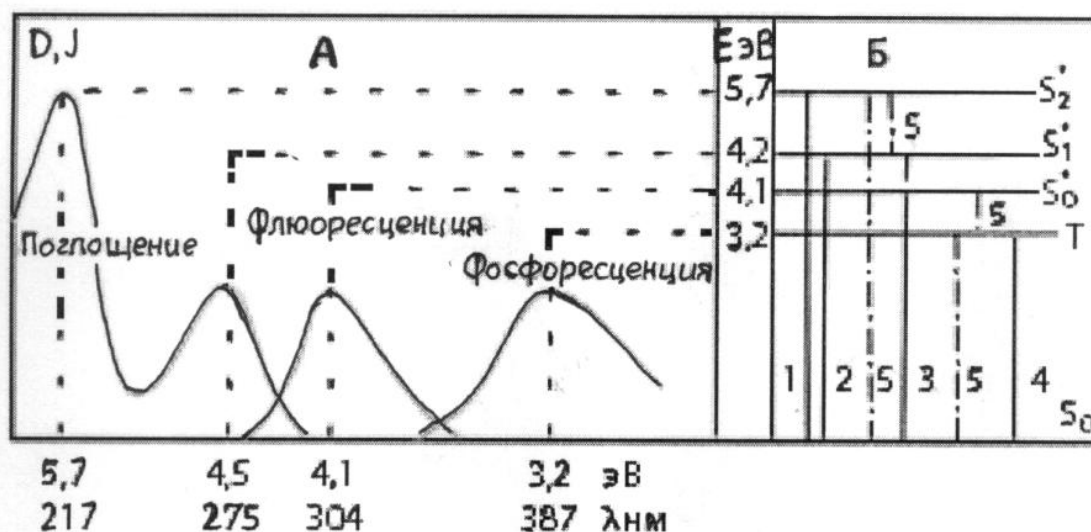


Рис. 9.1. Спектры поглощения и излучения (А) и схема энергетических уровней молекулы тирозина (Б)

Закон Стокса–Ломмеля выполняется для большинства веществ, поэтому сдвиг максимума спектра люминесценции относительно максимума спектра поглощения дает возможность отфильтровать рассеянную часть возбуждающего света, примешивающегося к люминесценции.

9.2. Применение люминесцентных методов для определения доброкачественности пищевых продуктов

Люминесцентный анализ включает визуальные наблюдения люминесценции или ее регистрацию с помощью приборов. 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 в качестве тестовых экспресс-методов, так как они не требуют количественных измерений и связанных с ними усложнений. К этой группе методов относятся люминесцентный видовой и сортовой анализ, с помощью которого по цвету и яркости свечения устанавливают вид и сорт пищевых продуктов, а также люминесцентную диагностику, заключающуюся в обнаружении начальных признаков порчи пищевых продуктов, наличия примесей, загрязнений и т. д.

Визуальные наблюдения за цветом люминесценции могут быть использованы для диагностики порчи плодов и овощей, определения сорта муки и мяса, обнаружения природы молочных продуктов, пищевых жиров, установления безвредности некоторых продуктов питания.

Здоровый картофель на разрезе имеет желтую флуоресценцию, которая при поражении картофеля фитофторой становится интенсивно голубой, при подмораживании – белой, при поражении кольцевой гнилью – зеленоватой. При появлении вирусных заболеваний цвет люминесценции может быть различным и проявляться в сосудистой части клубня.

По изменению цвета флуоресценции свежих плодов и овощей можно обнаружить начало их порчи на очень ранней стадии. Люминесцентный анализ эффективен при сортовом отборе плодов и овощей, направляемых на хранение, а также предназначенных для длительного транспортирования или консервирования.

Некоторые различия по цвету люминесценции имеют растительные масла. Флуоресцентным методом можно обнаружить примесь минеральных масел в растительных. Топленые животные жиры –

говяжий, свиной, бараний не флуоресцируют, в то время как коровье масло имеет канареечно-желтый цвет флуоресценции, а маргарин – голубой. Этот признак позволяет определить примесь маргарина в животных жирах. С помощью люминесцентного анализа можно устанавливать также 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.

К группе *физико-химических люминесцентных методов* относятся 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 отдельных компонентов продукта или соотношения его составных частей.

Количественный флуоресцентный 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.

Удобно проводить сравнение интенсивности люминесценции раствора неизвестной концентрации с эталонными растворами.

По концентрации вещества в эталонах рассчитывают содержание вещества в пробе. Можно использовать также предварительно построенный калибровочный график, однако этот метод менее надежен, поскольку интенсивность люминесценции зависит от множества факторов. Поэтому при осуществлении измерений интенсивности люминесценции очень важным является создание идентичных условий для исследуемого и стандартного растворов.

Для количественных определений применяют люминесцентные фотометры, которые часто называют флуориметрами или флуорометрами (рис. 9.2).

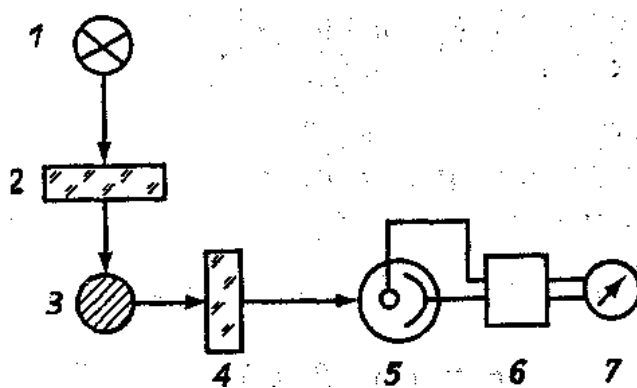


Рис. 9.2. Принципиальная схема флуориметра:

1 – источник УФ-излучения; 2 – первичный светофильтр; 3 – кювета с исследуемым образцом; 4 – вторичный светофильтр; 5 – фотоэлемент; 6 – электронный усилитель; 7 – миллиамперметр

Сила тока, возникающего в цепи фотоэлемента, пропорциональна световому потоку люминесценции, падающему на фотоэлемент. Предварительная градуировка шкалы прибора позволяет измерять интенсивность люминесценции без использования эталонов.

Фотоэлектрические измерения интенсивности люминесценции позволяют судить о степени свежести рыбы и мяса.

Предложены люминесцентные параметры свежести рыбы в области 360–365 нм. В соответствии с этими параметрами рыбу делят на два типа. К первому типу относят виды рыб со слабыми люминесцентными свойствами: карп, судак, щуку, треску, окунь; ко второму типу – виды рыб с выраженными люминесцентными свойствами, например палтус.

Ниже приведены значения интенсивности люминесценции и критерии свежести рыбы различных типов.

<i>Степень свежести рыбы</i>	I_f , мкА	
	1-й тип	2-й тип
Свежая	25–50	50–70
Сомнительной свежести	60–80	120–140
Несвежая	100–180	160–200

Усовершенствованный люминесцентный фотометр, предназначенный для определения свежести рыбы, позволяет проводить экспресс-анализ непосредственно на поверхности тушек и может быть использован при сортировке рыбы по качеству.

С помощью количественного люминесцентного анализа можно определять концентрацию исследуемого вещества в растворе.

Люминесценция широко используется для определения белков и жиров в молоке, а также витаминов группы В и фолиевой кислоты в пищевых продуктах.

Белки молока обладают собственной (первичной) флуоресценцией в УФ-области спектра. Интенсивность люминесценции в максимуме 340–350 нм пропорциональна концентрации белков в молоке.

Витамин В₁ (тиамин, или аневрин) не обладает собственной (первичной) флуоресценцией, однако в щелочной среде он легко окисляется с образованием тиохрома, растворы которого в щелочной среде флуоресцируют синим цветом с максимумом при 460–470 нм.

Для определения витамина В₁ навеску продукта подвергают гидролизу. Если в продукте тиамин содержится преимущественно в свободном виде, то ограничиваются кислотным гидролизом. Для определения связанной формы витамина В₁ проводят ферментативный гидролиз. Из раствора тиамин выделяют адсорбцией на стеклянной хроматографической колонке, заполненной силикагелем, с последующим элюированием витамина В₁ из адсорбента кипящим подкисленным раствором КСl. Затем тиамин окисляют щелочным раствором $K_3Fe(CN)_6$ до тиохрома. Спиртовый раствор тиохрома отделяют и измеряют интенсивность люминесценции с помощью флуорометра, снабженного первичным светофильтром, который пропускает УФ-излучение в диапазоне 320–390 нм, и вторичным светофильтром с полосой пропускания 400–580 нм.

Витамин В₂ присутствует в пищевых продуктах в четырех формах: в виде свободного рибофлавина, мононуклеотида и флавинаденидинуклеотида рибофлавина, а также прочно связанного с белком

нуклеотида. Нейтральные водные или спиртовые растворы свободного рибофлавина и его мононуклеотида флуоресцируют желто-зеленым цветом, полоса флуоресценции находится в области 513–613 нм с максимумом при 565 нм.

Флуоресцентные методы незаменимы для обнаружения и количественного определения полициклических ароматических углеводородов (ПАУ). Определение бензпиррена и других канцерогенных ПАУ проводят по тонкой структуре спектра флуоресценции при низких значениях температуры.

Первичной флуоресценцией обладают также некоторые пестициды, например варфалин, потозон, индолинуксусная кислота, нафтилацетат и др. Пестициды, не обладающие первичной люминесценцией, в том числе ДДТ, метоксихлор, альдрин, хлордан, гептахлор и другие, могут быть химическим путем переведены во флуоресцирующие соединения. Например, инсектицид 0,0-диэтил-0-нафтилимидотиофосфат можно определить с помощью люминесцентных методов, предварительно окислив его во флуоресцирующее соединение.

Контрольные вопросы

1. Дать краткое описание основных характеристик люминесценции.
2. Что такое фосфоресценция?
3. Что такое флуоресценция?
4. Перечислить методы люминесцентного анализа и привести примеры их применения для определения доброкачественности пищевого сырья.
5. Привести примеры применения флуориметрического анализа для оценки свежести пищевых продуктов.

10. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Электрохимические методы исследования основаны на изучении процессов, протекающих на поверхности электрода или в электродном пространстве электролитической ячейки.

Любой электрический параметр, например потенциал, сила тока, сопротивление, функционально связанный с концентрацией анализируемого вещества, может служить аналитическим сигналом, если они измерены с достаточной точностью.

При отсутствии электрического тока в замкнутой гальванической цепи на межфазной границе устанавливается равновесие, потенциал достигает равновесного значения. Если через ячейку проходит электрический ток, то на границе раздела фаз протекают химические реакции, сопровождающиеся окислением или восстановлением компонентов системы.

В состав электролитической ячейки входят два электрода – индикаторный, или рабочий, электрод и электрод сравнения.

Электрод, используемый как датчик, является *индикаторным*. Индикаторный электрод должен быстро и обратимо реагировать на изменение концентрации определяемого иона.

Электрод сравнения служит для создания измерительной цепи и определения потенциала рабочего или индикаторного электрода.

На практике обычно и индикаторный электрод, и электрод сравнения погружают в анализируемый раствор. Иногда оба электрода размещают в одном корпусе. В этом случае их помещают в стеклянный цилиндр, заполненный раствором электролита, который отделен от анализируемого раствора диафрагмой.

Возможно использование двух видов электрохимических методов – прямых и титриметрических.

Прямые электрохимические методы основаны на зависимости аналитического сигнала и химического состава вещества.

В *титриметрических* электрохимических методах аналитический сигнал служит для определения точки эквивалентности. Поэтому их целесообразно использовать в тех случаях, когда зависимость между аналитическим сигналом и составом вещества имеет сложный характер.

В табл. 10.1 приведена классификация электрохимических методов анализа согласно измеряемому параметру электрохимической ячейки.

**Классификация электрохимических методов
по измеряемому параметру электрохимической ячейки**

Измеряемый параметр	Условия измерения	Метод
Потенциал E , эВ	$I = 0$	Потенциометрия
Ток I , мкА	$I = f(E)$	Вольтамперометрия
Количество электричества Q , Кл	$I = \text{const} (E = \text{const})$	Кулонометрия
Удельная электропроводность γ , См	$I \sim 1000$ Гц	Кондуктометрия
Масса m , г	$I = \text{const} (E = \text{const})$	Электрогравиметрия

С помощью электрохимических методов можно определять концентрацию исследуемого компонента в пробе с точностью от 10^{-9} до 1 моль/л.

Кондуктометрический метод используют в двух разновидностях: как прямую кондуктометрию и как кондуктометрическое титрование.

Метод *прямой кондуктометрии* основан на нахождении зависимости между электропроводностью и концентрацией исследуемого иона в растворе. Недостаток метода состоит в том, что электропроводность зависит от ионной силы раствора.

Кондуктометрическое титрование основано на кислотно-основном равновесии раствора. При титровании сильной кислоты сильным основанием электропроводность раствора сначала резко уменьшается, так как уменьшается количество ионов водорода в растворе. Точка эквивалентности соответствует минимальному значению электропроводности раствора, после чего происходит ее возрастание.

Аналогично при титровании слабого основания (или слабым основанием) точку эквивалентности определяют по излому кривой титрования. Если излом на кривой не выражен, то линейные участки кривой с обеих сторон от предполагаемого излома продлевают, а точкой эквивалентности считают точку их пересечения.

Достоинством кондуктометрического титрования относительно индикаторного метода является большая объективность, возможность титрования мутных и окрашенных растворов, для которых визуализация перехода окраски индикатора затруднена или невозможна.

Потенциометрический (ионометрический) метод основан на определении зависимости между электродным потенциалом и концентрацией (активностью) определяемых ионов.

В основу потенциометрического метода положено уравнение Нернста:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{окисл}}}{a_{\text{восст}}}, \quad (10.1)$$

где E – электродный потенциал в данных условиях, эВ; E_0 – стандартный электродный потенциал при температуре 298 К и активности (концентрации) всех веществ, входящих в уравнение полуреакции, равной 1 моль/дм³; R – универсальная газовая постоянная, $R = 8,31$ Дж(моль · К); F – постоянная Фарадея, $F = 96\,500$ Кл/моль; n – число электронов, принимающих участие в данной полуреакции; $a_{\text{окисл}}$ – произведение активности всех веществ в системе, находящихся в окисленной форме (левая часть полуреакции); $a_{\text{восст}}$ – произведение активности всех веществ в системе, находящихся в восстановленной форме (правая часть полуреакции).

При низкой ионной силе раствора вместо активности с достаточной точностью можно использовать значения молярной концентрации веществ.

Таким образом, электродный потенциал пропорционален логарифму активности (концентрации) реагирующих веществ. Между тем, чтобы измерить потенциал электрода, необходимо создать электрохимическую ячейку, в которой потенциал измерительного электрода будет зависеть от концентрации исследуемого вещества, а потенциал электрода сравнения известен или легко определяется в ходе контрольного опыта. В этом случае ЭДС (разность потенциалов) тоже будет пропорциональна логарифму активности (концентрации) исследуемого вещества.

На рис. 10.1 показана установка для потенциометрических определений.

В качестве электродов сравнения чаще всего используют каломельный ($E_0 = 0,2241$ эВ) и хлоридсеребряный ($E_0 = 0,198$ эВ) электроды (рис. 10.2).

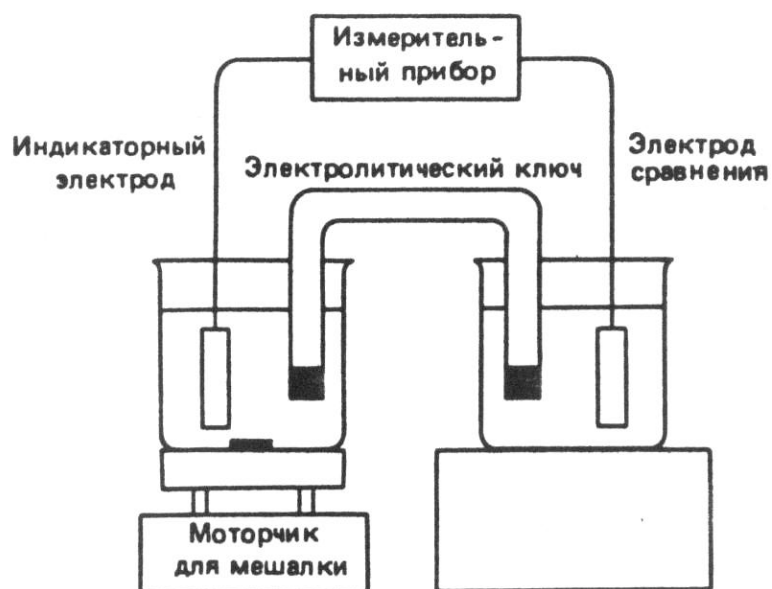


Рис. 10.1. Установка для проведения потенциометрических измерений

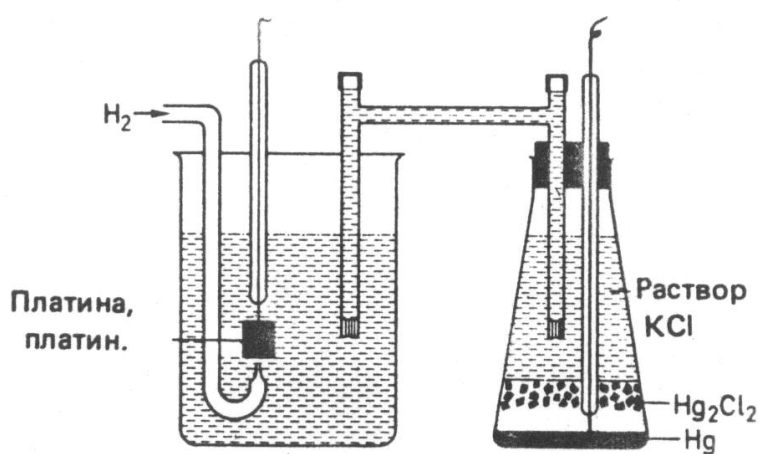


Рис. 10.2. Схема электролитической ячейки, состоящей из водородного и каломельного электродов

Хлоридсеребряный электрод представляет собой тонкую серебряную проволоку, покрытую слоем хлорида серебра и погруженную в раствор хлорида калия.

Для определения рН растворов в качестве индикаторных электродов используют водородный либо стеклянный электрод. В стеклянном электроде, как и в хлоридсеребряном, имеется серебряная проволока, покрытая хлоридом серебра и погруженная в раствор 0,1 М соляной кислоты. Электрод отделен от измерительной системы стеклянной мембраной, проницаемой только для ионов водорода. Если рН раствора выше рН электрода, то ионы водорода переходят в раствор, заряжая электролит внутри мембраны отрицательно, а вне мембраны – положительно. Избыток отрицательного заряда электролита вызывает сдвиг равновесия полуреакции, при этом анионы хлора связываются с металлическим серебром в хлорид серебра, сообщая электроду избыточный отрицательный заряд. Таким образом, потенциал стеклянного электрода пропорционален рН раствора.

При измерениях рН следует иметь в виду, что эта величина связана с активностью ионов водорода, а не с их равновесной концентрацией. Поэтому при выполнении измерений целесообразно использовать *стандартные растворы* с известным значением рН.

В качестве таких растворов используют:

– раствор тригидрооксалата калия $\text{KH}_3(\text{C}_2\text{O}_4)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$; $C = 0,05 \text{ M}$ (рН 1,680);

– насыщенный раствор гидротартрата калия (рН 3,557);

– раствор гидрофталата калия; $C = 0,05 \text{ M}$ (рН 4,008);

– смесь растворов KH_2PO_4 и Na_2HPO_4 , для каждого из которых $C = 0,025 \text{ M}$ (рН 6,865);

– раствор тетрабората натрия $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$; $C = 0,011 \text{ M}$ (рН 9,180);

– насыщенный раствор гидроксида кальция (рН 12,454).

Кроме указанных растворов, используют буферные смеси, имеющие целочисленные значения рН.

В настоящее время получили распространение *ионоселективные* электроды, принцип действия которых подобен 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.

Однако для успешного проведения потенциометрических определений с помощью ионоселективных электродов необходимо сначала

ла использовать прием маскировки мешающих ионов, например осаждение.

В случае прямых потенциометрических определений измеряемым параметром является ЭДС ячейки, с помощью которой определяют логарифм концентрации исследуемого иона. Зачастую линейная зависимость ЭДС и логарифма концентрации реагирующих веществ отсутствует, поэтому перед определением проводят градуировку прибора либо строят градуировочный график.

Метод потенциометрического титрования не требует установления точной зависимости между концентрацией исследуемого иона и ЭДС ячейки. Чаще всего метод используют для потенциометрических определений кислотности.

Поскольку ЭДС ячейки, состоящей из стеклянного электрода, линейно зависит от рН, кривая титрования будет максимально приближена к классической (теоретической) кривой титрования, для которой определение точки эквивалентности поддается расчету.

В случае проблем с фиксацией точки эквивалентности, например при очень малом скачке титрования, выполняют построение дифференциальной кривой, максимум которой соответствует точке эквивалентности.

При правильном выборе измерительного электрода потенциометрическое титрование можно проводить даже в тех системах, для которых методы кондуктометрического и индикаторного титрования неприменимы.

Вольтамперометрический (полярографический) метод основан на том, что электрический ток в электрохимической ячейке возникает только в случае разряда ионов в электролите. Соответственно, если увеличивать потенциал рабочего электрода, то сила тока будет возрастать линейно, однако его величина будет очень мала. При достижении разности потенциалов, достаточной для разряда, на полярограмме фиксируют резкое возрастание силы тока (скачок). Положение этого скачка характеризует природу разряжаемого вещества (деполяризатора). Если концентрация исследуемого вещества в растворе велика, то после скачка сила тока в ячейке будет значительно выше начальной. Область применения полярографии для количественных определений ограничена использованием очень разбавленных растворов деполяризатора.

Для снижения сопротивления в систему вносят фоновый раствор – электролит высокой концентрации, деполяризуемый, как правило, значительно раньше исследуемого вещества. В такой системе поляризационная кривая будет иметь характерный пик, высота которого прямо пропорциональна концентрации деполяризатора.

Для осуществления вольтамперометрического титрования используют специальные электроды – рабочий (индикаторный) электрод и электрод сравнения.

В качестве рабочих используют электроды с малой поверхностью, чаще всего платиновый, графитовый или ртутный. Отдельно следует упомянуть ртутно-капельный электрод, рабочей поверхностью которого является ртутная капля, вытекающая из капилляра, в связи с чем поверхность рабочего электрода постоянно обновляется, что обеспечивает максимальную точность метода. В этом случае метод называют полярографией. Поверхность электрода сравнения достаточно большая, а его потенциал поддерживается постоянным и условно принимается равным нулю.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризовать принципы классификации электрохимических методов анализа.
2. Дать характеристику кондуктометрических методов исследования.
3. Дать характеристику потенциометрических методов исследования.
4. Привести описание индикаторных электродов и электродов сравнения.
5. Привести краткое описание принципов измерения активной кислотности (рН) пищевых продуктов.
6. Дать характеристику вольтамперометрических методов исследования.

11. СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Спектральные методы анализа основаны на взаимодействии *электромагнитного излучения* (квантов света) с веществом.

Спектральный анализ с высокой точностью характеризует состав вещества, отличается высокой избирательностью, универсальностью и чувствительностью. С его помощью можно исследовать любые вещества в различных агрегатных состояниях. Практическая значимость спектральных аналитических методов заключается в возможности осуществления автоматического контроля измеряемых параметров.

Электромагнитное излучение представляет собой вид энергии, который распространяется со скоростью света ($3 \cdot 10^8$ м/с в вакууме) и имеет двойственную природу – волновую и квантовую. Электромагнитное излучение характеризуется электрическим и магнитным векторами, которые колеблются в двух взаимно перпендикулярных плоскостях.

Волновые характеристики электромагнитного излучения – длина волны λ (м) и частота излучения ν (с^{-1}).

Длина волны характеризует расстояние между двумя точками, колеблющимися в одной фазе, и изменяется в широких пределах: от 10^{-12} м до 10^2 м.

Частота электромагнитного излучения – это число полных волновых циклов за 1 с (или число длин волн в $3 \cdot 10^8$ м):

$$\nu = \frac{c}{\lambda}.$$

Квантовая характеристика электромагнитного излучения E , Дж/моль, – это энергия квантов света (фотонов):

$$E = h \nu = h \frac{c}{\lambda}, \quad (11.1)$$

где h – постоянная Планка, $h = 6,63 \cdot 10^{-34}$ Дж · с.

Спектральные методы позволяют регистрировать и исследовать сигналы в различных областях спектра электромагнитного излучения. В табл. 11.1 приведены классификация спектральных методов

исследования согласно процессам, индуцируемым воздействием электромагнитного излучения на вещество, а также волновые и квантовые характеристики излучения.

Таблица 11.1

Классификация спектральных методов

Область спектра; вид спектроскопии	Процесс, индуцируемый воздействием излучения	Длина волны, м	E , кДж/моль
Радиочастотная: ЯМР-спектроскопия ЭПР-спектроскопия	Спиновые переходы ядер Спиновые переходы электронов	$10^{-2}-10^0$	$\sim 10^{-6}-10^{-2}$
Микроволновая; вращательная спектроскопия	Вращение молекул	$10^{-2}-10^{-1}$	$\sim 10^{-1}$
Инфракрасная; ИК-спектроскопия	Колебания атомов в молекулах	$10^{-2}-10^{-3}$	~ 10
Видимая и ультрафиолетовая; оптическая спектроскопия	Переходы валентных электронов	$10^{-3}-10^{-8}$	$\sim 100-600$
Рентгеновская; рентгеновская спектроскопия	Переходы внутренних электронов	$10^{-7}-10^{-8}$	$\sim 10^4$
Гамма-лучевая; ядерная гамма-резонансная спектроскопия	Перестройка ядер	$10^{-7}-10^{-9}$	$\sim 10^6-10^8$

Совокупность фотонов, испускаемых или поглощаемых при переходе атома или молекулы из одного энергетического состояния в другое, соответствует *спектральной линии*.

Совокупность длин волн электромагнитного излучения (спектральных линий), относящихся к определенному атому (молекуле), называется *спектром* данного атома (молекулы).

Помимо длины волны спектральная линия имеет еще одну очень важную характеристику – интенсивность.

Интенсивность спектральных линий зависит от вероятности электронных переходов и от заселенности уровней, начальных для этих переходов. Очевидно, что чем больше число возбужденных атомов (молекул), тем более интенсивна спектральная линия. Поглощение или испускание квантов веществом можно преобразовать в характеристический сигнал, дающий информацию о его качественном и количественном составе. При этом частота (длина волны) излучения отражает качественный состав вещества, а интенсивность аналитического сигнала пропорциональна количественному составу определяемого компонента.

В практике спектрального анализа интенсивность спектральных линий измеряют относительно интенсивности спектральных линий вещества, выбранного в качестве эталона.

В зависимости от характера взаимодействия излучения с веществом и способа его регистрации различают следующие виды спектрального анализа:

– *атомную спектроскопию* – анализ, основанный на регистрации спектров испускания предварительно возбужденных атомов (атомно-эмиссионная спектроскопия) и спектров поглощения атомов в основном состоянии (атомно-абсорбционная спектроскопия);

– *молекулярную абсорбционную спектроскопию* – анализ спектров поглощения электромагнитного излучения после прохождения его через раствор исследуемого вещества.

11.1. Атомная спектроскопия

Атомная спектроскопия широко используется для качественного и количественного анализа элементного состава пищевых продуктов. Метод основан на поглощении или испускании рентгеновского, видимого или УФ-излучения.

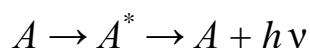
Методы атомной спектроскопии отличаются высокой избирательностью, чувствительностью, скоростью. Во всех случаях характер образующихся спектров обусловлен квантовыми переходами внешних (валентных) или внутренних электронов атома из одного энергетического состояния в другое.

Наиболее отличительные свойства атомных спектров – их дискретность (линейчатая структура) и индивидуальный характер – делают такие спектры опознавательным признаком атомов данного

элемента. Эту особенность атомных спектров используют для идентификации элементов в анализируемой пробе.

Концентрацию анализируемого элемента в пробе определяют путем измерения интенсивности отдельных спектральных линий, называемых аналитическими.

Для получения *спектра эмиссии* частицам анализируемого вещества необходимо сообщить дополнительную энергию. С этой целью пробу вносят в источник излучения, где она нагревается и испаряется. Вследствие высокой температуры источника молекулы вещества диссоциируют на атомы, которые при столкновениях с электронами ионизируются и возбуждаются:



В возбужденном состоянии атомы могут находиться около 10^{-8} с.

Переходы с различных возбужденных уровней на основной приводят к появлению в спектре испускания серии спектральных линий, соответствующих этим электронным переходам. Например:

Атомизация	$\text{NaCl} \rightarrow \text{Na} + \text{Cl}$
Возбуждение	$\text{Na} \rightarrow \text{Na}^* (3s \rightarrow 3p)$
Излучение	$\text{Na}^* \rightarrow \text{Na} + h\nu (3p \rightarrow 3s)$

Электронные переходы с вышележащих уровней на основной называют *резонансными*, причем резонансный переход с близлежащего возбужденного уровня соответствует, как правило, наиболее яркой линии спектра.

Возможность тех или иных переходов определяется квантово-механическими правилами отбора. Помимо основного требования по совпадению между поглощаемой энергией и энергией перехода, запрещенными являются переходы с изменением спина электрона. Кроме того, электронные переходы разрешены только между теми орбиталями, для которых различие орбитальных квантовых чисел равно единице. Наконец, запрещенными являются переходы, при которых происходит возбуждение более чем одного электрона.

Количество разрешенных электронных переходов определяет число линий в спектре элемента и, следовательно, его сложность, что,

в свою очередь, оказывает влияние на простоту выполнения качественного эмиссионного спектрального анализа.

Принцип метода *пламенной фотометрии* заключается в распылении исследуемой пробы с помощью сжатого воздуха в высокотемпературном пламени.

Излучение направляют в спектральный прибор, где его пропускают через светофильтр или монохроматор. Попадая на детектор (фотоэлемент), излучение вызывает фототок, который после усиления измеряют регистрирующим прибором.

Повышение температуры пламени увеличивает интенсивность спектральных линий, а следовательно, увеличивает чувствительность анализа. Температура пламени используемых газовых смесей составляет:

$C_2H_2 + O_2$	3060 °С
$(CN)_2 + O_2$	4700 °С
$H_2 + F_2$	4800 °С

Для определения концентрации вещества методом атомно-эмиссионной фотометрии пламени необходимы эталоны, химический состав и физические свойства которых должны быть как можно ближе к составу и свойствам анализируемых проб.

Для количественных определений строят градуировочный график, представляющий зависимость величины фототока I (мкА) от концентрации определяемого элемента C (мкг/мл).

Независимо от выбранного способа определения концентрации элемента предварительно устанавливают наличие линейной зависимости между током и концентрацией. Метод используют для определения примерно 50 элементов. Чувствительность метода фотометрии пламени составляет около 10^{-3} мкг/мл (щелочные металлы) и 10^{-1} мкг/мл (другие элементы).

Сущность метода *атомно-абсорбционной спектроскопии* заключается в измерении поглощения резонансного излучения невозбужденными атомами определяемого элемента, которые находятся в газовой фазе, и определении функциональной зависимости интенсивности поглощения от концентрации определяемого элемента в анализируемой пробе.

Через анализируемую пробу, помещенную в высокотемпературное пламя, пропускают монохроматический свет. Энергию источника подбирают таким образом, чтобы она точно соответствовала энергии резонансного электронного перехода. Очевидно, что поглощать энергию источника будут атомы, находящиеся в основном состоянии.

На рис. 11.1 показана принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрофотометра.

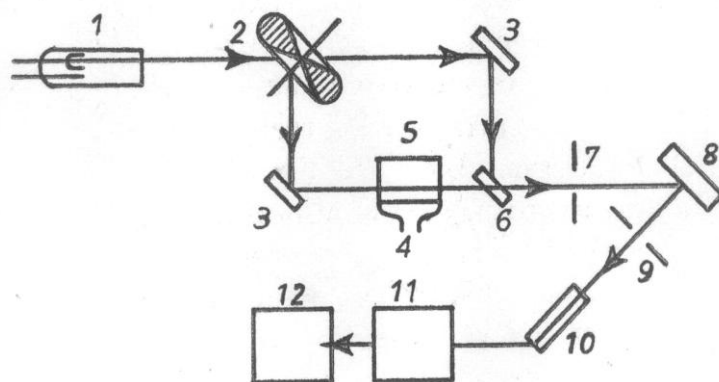


Рис. 11.1. Схема двухлучевого атомно-абсорбционного спектрофотометра:
 1 – лампа с полым катодом; 2 – модулятор; 3 – зеркало; 4 – щелевая горелка;
 5 – пламя; 6 – тонкая пластинка; 7 – входная щель монохроматора;
 8 – дифракционная решетка; 9 – выходная щель; 10 – фотоумножитель;
 11 – усилитель; 12 – измерительный блок

В настоящее время в качестве источников света для атомно-абсорбционного анализа используют газоразрядные лампы, спектр испускания которых совпадает со спектром определяемого атома. Конструкция ламп такова, что в спектре испускания интенсивно проявляются спектральные линии атомов, входящих в состав материала катода или веществ, специально помещенных в полость катода. Обычно каждая лампа для атомно-абсорбционного анализа дает спектр испускания атомов какого-либо одного элемента. Поэтому при определении нескольких элементов в пробе необходимо иметь набор ламп для различных элементов.

При выполнении атомно-абсорбционного анализа выбирают в спектре испускания резонансную линию и определяют ослабление ее интенсивности при прохождении излучения через слой поглощающих атомов. Для отделения выбранной спектральной линии

от других линий в спектре испускания источника излучения применяют монохроматор.

Метод атомно-абсорбционной спектроскопии высокоэкспрессен, характеризуется низкими пределами обнаружения – от 0,1 до 0,005 мкг/мл и позволяет определять более 60 элементов с погрешностью до 5 %.

11.2. Молекулярная абсорбционная спектроскопия

Метод молекулярной абсорбционной спектроскопии основан на поглощении электромагнитного излучения молекулами анализируемого вещества.

Молекулярные спектры поглощения в отличие от атомных состоят из более широких полос, так как представляют собой сумму различных типов переходов молекулы из основного состояния в возбужденное.

В молекулярных спектрах поглощения заложена обширная и ценная информация о природе и состоянии молекулы в целом, поэтому молекулярная спектроскопия широко применяется для установления качественного (ИК-спектроскопия) и количественного (фотометрия) состава вещества.

Молекулярный абсорбционный анализ используют главным образом для определения компонентов, характеризующих пищевую и биологическую ценность продуктов (белков, углеводов, жиров, витаминов, кислот, минеральных веществ и др.), а также для оценки глубины процессов, протекающих при производстве и хранении продуктов (гидролиза, окисления, денатурации).

В зависимости от используемой области спектра излучения внешнего источника различают:

- УФ-спектроскопию – абсорбционный анализ в ультрафиолетовой области спектра (10–400 нм);
- спектроскопию в видимой области спектра (400–780 нм);
- ИК-спектроскопию – абсорбционный анализ в инфракрасной области спектра (от 0,8 до 100 мкм).

По характеру регистрируемого излучения, технике измерений и используемой аппаратуре в абсорбционном анализе выделяют:

– *колориметрический метод* – основан на ослаблении (уменьшении) интенсивности излучения, прошедшего через исследуемый раствор, определяемой визуально относительно стандартного раствора;

– *фотоколориметрический метод* – основан на поглощении прошедшего через светофильтр излучения и фотоэлектрической регистрации светового потока после его прохождения через исследуемый раствор;

– *спектрофотометрический метод* – отличается от фотоколориметрического метода тем, что через исследуемый раствор пропускается последовательно излучение каждого из участков спектра, т. е. монохроматическое излучение.

На рис. 11.2 показана схема однолучевого фотометра для проведения фотоколориметрических измерений.

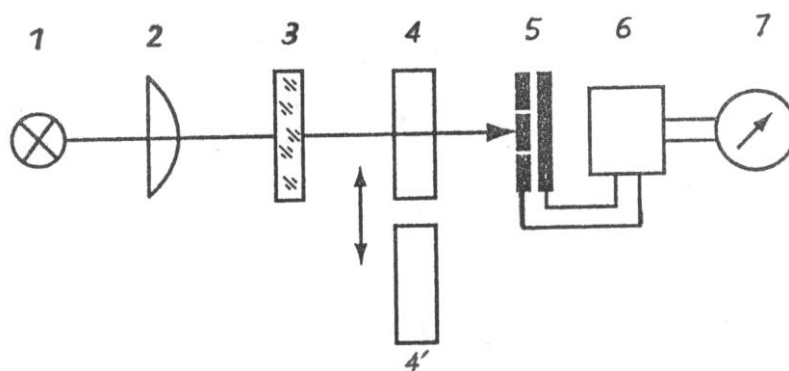
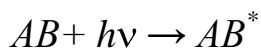


Рис. 11.2. Схема однолучевого фотоэлектроколориметра:

1 – источник света; 2 – линза; 3 – светофильтр; 4 – кювета с раствором сравнения; 4' – кювета с исследуемым раствором; 5 – фотоэлемент; 6 – усилитель; 7 – гальванометр

При поглощении излучения молекулы переходят в возбужденное состояние:



Этот процесс сопровождается переходом валентных электронов на более высокоэнергетические электронные уровни. Электронные переходы связаны с поглощением строго определенных порций энергии, которая колеблется от 100 до 600 кДж/моль.

Помимо электронных переходов, в молекуле происходят *колебательные переходы*, связанные с изменением длин связей и валент-

ных углов, так как ядра атомов не фиксированы, а также *вращательные переходы*, связанные с вращением молекулы как отдельной частицы вокруг определенных осей.

Существование у каждого из электронных состояний молекулы колебательных и вращательных уровней энергии приводит к тому, что электронный переход в спектре оказывается представленным не одной линией (как в случае атомов), а сложной системой линий, принадлежащих разным электронно-колебательно-вращательным переходам (рис. 11.3).

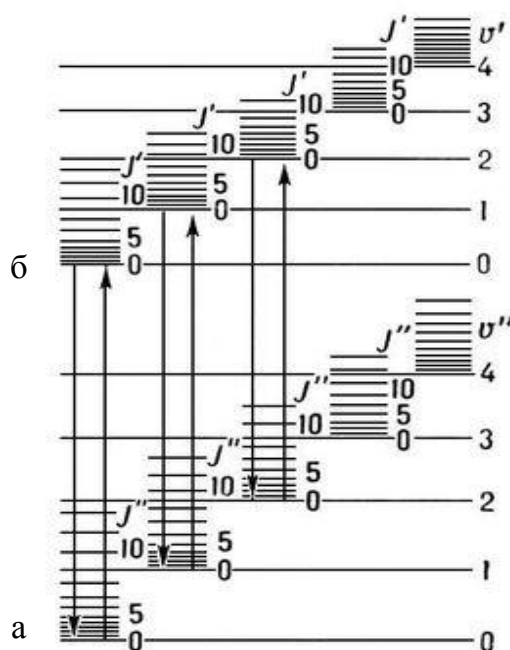


Рис. 11.3. Схема энергетических уровней двухатомной молекулы:
а и б – электронные уровни; v' и v'' – квантовые числа колебательных уровней;
 J' и J'' – квантовые числа вращательных уровней

Таким образом, молекулярный спектр представляет собой серию близколежащих спектральных линий. Волновое число ν линии такого спектра описывается выражением

$$\nu = \nu_{\text{эл}} + \nu_{\text{кол}} + \nu_{\text{вр}},$$

где $\nu_{\text{эл}}$ – разность электронных энергий молекулы в минимумах поверхности потенциальной энергии молекулы; $\nu_{\text{кол}}$ и $\nu_{\text{вр}}$ – разность энергий, соответствующая для колебательных и вращательных уровней.

Основным законом, используемым в количественном абсорбционном анализе, является закон Ламберта–Бугера–Бера, связывающий интенсивность света, прошедшего через слой раствора светопоглощающего вещества, с концентрацией вещества и толщиной светопоглощающего слоя:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon_\lambda Cl}, \quad (11.2)$$

где I , I_0 – интенсивность падающего света и прошедшего света, квант/(с · см²); ε_λ – молярный коэффициент экстинкции (светопоглощения) вещества при длине волны λ , л/(моль · см); C – концентрация вещества в растворе, моль/л; l – толщина светопоглощающего слоя, см.

Отношение интенсивности падающего и прошедшего через исследуемый раствор света называют *пропусканием* T , а отрицательный десятичный логарифм пропускания – *оптической плотностью* D :

$$\frac{I}{I_0} = T; \quad (11.3)$$

$$D = -\lg T. \quad (11.4)$$

Преобразуя выражение (11.2), получаем

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon Cl; \quad (11.5)$$

$$D = \varepsilon Cl. \quad (11.6)$$

Оптическая плотность (светопоглощение) зависит от природы вещества и растворителя, температуры и длины волны возбуждающего света и используется в количественном абсорбционном анализе.

Спектр поглощения вещества представляет собой графическую зависимость оптической плотности от длины волны (частоты) возбуждающего света и характеризуется положением максимума λ_{\max} , которое определяет энергию электронного перехода.

Этапы количественного фотометрического анализа включают:

- перевод определяемого вещества в окрашенную форму;
- получение спектра поглощения исследуемого вещества и выбор спектральной области, соответствующей максимуму полосы поглощения определяемого компонента;
- получение зависимости оптической плотности раствора от концентрации вещества, взятого в качестве стандарта при длине волны λ_{\max} ;
- определение концентрации вещества.

Закон Ламберта–Бугера–Бера применим только для монохроматического света, пучок которого должен проходить через раствор строго параллельно. Для устранения явлений рассеивания и преломления света, искажающих результаты фотометрических измерений, используют прозрачные растворы умеренных концентраций.

Источниками ошибок в абсорбционном анализе являются недостаточная монохроматизация света и процессы полимеризации, агрегации и образования окрашенных комплексов в исследуемом растворе, искажающие точность фотометрических измерений.

Допустимое отклонение температуры опыта составляет около ± 2 °С.

11.3. Молекулярный абсорбционный анализ в ИК-области спектра

Молекулярный абсорбционный анализ в инфракрасной (ИК) области спектра принципиально не отличается от анализа в ультрафиолетовой и видимой областях. В основе его лежит взаимодействие вещества с электромагнитным излучением больших длин волн.

Излучение с длиной волны от 2,5 до 500 мкм (ν – от 4000 до 200 см⁻¹) вызывает изменение длин связей и валентных углов. Такое излучение сообщает молекуле энергию, достаточную только для электронных переходов между вращательными и колебательными уровнями.

ИК-спектры большинства сложных органических веществ включают значительный набор полос поглощения, относящихся к различным функциональным группам.

ИК-спектроскопия оказывается полезной в качестве дополнительного метода при проведении идентификации веществ после

хроматографического разделения сложных смесей, поскольку ИК-спектр более точно характеризует вещество, чем температура плавления, показатель преломления или плотность. При этом наличие эталонов не является обязательным, достаточно сопоставить полученные результаты с имеющимися в литературе справочными данными. Для этого необходима только информация, к какому классу относится определяемое вещество.

Колебания атомов в молекуле называют *нормальными*, если центр тяжести молекулы не смещается, т. е. молекула не испытывает поступательного движения. Нормальные колебания связанных атомов подразделяют на два основных вида – *валентные* и *деформационные*.

Если при колебании происходит изменение длин связей, а углы между ними изменяются незначительно, то колебания называются валентными и обозначаются ν .

Если наблюдается заметное изменение углов связей, а длины связей изменяются мало, то колебания относят к деформационным и обозначают σ . Деформационные колебания обусловлены меньшими затратами энергии, чем валентные, поэтому им соответствуют полосы, отвечающие меньшим волновым числам.

Интенсивность полос поглощения в ИК-спектрах зависит от электроотрицательности атомов. Так, полосы поглощения веществ, состоящих только из атомов углерода и водорода, являются слабыми, так как разница электроотрицательности этих атомов мала ($\epsilon_{\text{H}} = 2,1$; $\epsilon_{\text{C}} = 2,5$).

Полосы поглощения, относящиеся к связям, соединяющим атомы, электроотрицательность которых значительно различается между собой, например атомы углерода и азота или углерода и кислорода, обычно довольно интенсивны. Интенсивные полосы используют для идентификации функциональной группы только в том случае, если они проявляются в области, характерной для данной группы. Такие полосы называются характеристическими полосами, или характеристическими частотами.

Характеристическая частота ОН-группы – $3630\text{--}3610\text{ см}^{-1}$, а карбонильной группы С=О – $1900\text{--}1580\text{ см}^{-1}$. Однако каждый класс карбонильных соединений дает полосы поглощения в узком интервале частот. Например, муравьиный альдегид – в интервале $1745\text{--}1740\text{ см}^{-1}$, а альдегиды жирных кислот – в интервале $1740\text{--}1720\text{ см}^{-1}$.

Сложные эфиры насыщенных жирных кислот характеризуются полосами поглощения в области $1750\text{--}1735\text{ см}^{-1}$, а ароматические эфиры – в области $1730\text{--}1715\text{ см}^{-1}$. Инфракрасный спектр аминокислот характеризуется полосами поглощения, присущими обоим функциональным группам их молекул: карбоксильной (в области $1600\text{--}1560\text{ см}^{-1}$) и аминогруппы (в области $3130\text{--}3030\text{ см}^{-1}$).

На колебание атомов в молекуле оказывают воздействие соседние атомы и связи, поэтому положение и интенсивность характеристических полос функциональных групп могут изменяться. Вследствие этого в справочных таблицах максимуму характеристической полосы поглощения соответствует интервал частот. Изменение положения полосы поглощения в зависимости от окружения данной группы в молекуле используется для установления строения вещества.

Исследование вещества методом ИК-спектроскопии включает три этапа: подготовку образца, регистрацию спектра и его расшифровку.

В качестве растворителей чаще всего используют четыреххлористый углерод или сероуглерод. Многие вещества, не растворяющиеся в этих растворителях, фотометрируют в виде суспензий в вазелиновом масле, тонких пленках, образующихся после испарения растворителей, или прессованных таблеток с бромидом калия.

Инфракрасные спектры являются полным и однозначным источником информации о составе и структуре молекул, благодаря чему ИК-спектроскопия широко используется для идентификации и определения строения сложных органических соединений в пищевых продуктах. При проведении качественного анализа смесей их компоненты идентифицируют путем сопоставления ИК-спектров исследуемого вещества со спектром эталона.

Количественные определения основаны на измерении интенсивности поглощения, которая зависит от концентрации вещества, в соответствии с законом Бугера–Ламберта–Бера.

Количественный анализ проводят методом градуировочного графика, который строят по какой-либо характеристической полосе, или методом внутреннего стандарта. Используя эталоны с известным содержанием определяемого вещества, можно установить его содержание в анализируемой пробе.

Метод ИК-спектроскопии используют для определения жирно-кислотного состава молока и молочных продуктов и контроля содержания пестицидов и гербицидов в этих продуктах.

Инфракрасную спектроскопию применяют для определения качества масла и жира при хранении. Окислительная порча жиров связана с образованием гидроперекисей и соединений, содержащих карбонильную группу.

В ИК-спектре жиров и масел имеются характеристические полосы поглощения, связанные с деформационными колебаниями СН-группы (2900, 1470–1390 см⁻¹) и группы С=О (1770–1730 см⁻¹). Положение полос во времени не изменяется. При этом степень окисленности жира отражается на интенсивности поглощения полосы карбонильной группы, тогда как интенсивность поглощения в области частот СН-группы остается неизменной. В связи с этим для количественного определения соединений, содержащих карбонильную группу, можно применить метод внутреннего стандарта с использованием в качестве такового полосы поглощения СН-группы (2900 см⁻¹).

Интенсивность полос поглощения групп С=О и –СН, найденную по спектру, выражают в единицах оптической плотности, а степень окисленности (СО) жира находят из соотношения

$$CO = \frac{D_{C=O}}{D_{C-H}},$$

где $D_{C=O}$ – оптическая плотность на полосе группы С=О; D_{C-H} – оптическая плотность на полосе группы С–Н.

Контрольные вопросы

1. Привести примеры применения спектральных методов для анализа состава и свойств пищевых продуктов.
2. Дать описание метода атомно-эмиссионной спектроскопии. Привести примеры применения для анализа пищевых продуктов, указать точность метода.
3. Дать описание метода атомно-абсорбционной спектроскопии. Привести примеры применения для анализа пищевых продуктов. Указать точность метода.

4. Перечислить основные методы молекулярного абсорбционного анализа.

5. Закон Бугера–Ламберта–Бера и его применение для количественного анализа пищевых смесей.

6. Область применения закона Бугера–Ламберта–Бера и основные этапы фотометрического анализа.

7. Выбор области для спектральных определений, подготовка проб к анализу.

8. Особенности молекулярного абсорбционного анализа в ИК-области спектра. Примеры применения для анализа пищевых продуктов.

12. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Впервые термин *хроматография* был использован российским биологом Михаилом Семеновичем Цветом в 1903 г. для описания разработанного им метода разделения компонентов хлорофилла на бумаге.

В настоящее время хроматография представляет собой самый распространенный и совершенный метод разделения смесей, атомов, изотопов, молекул, всех типов изомерных молекул, включая оптические изомеры, макромолекул (синтетических полимеров и биополимеров), ионов, устойчивых свободных радикалов, комплексов, ассоциатов, микрочастиц.

Хроматография является уникальным методом анализа сложных многокомпонентных смесей, препаративным и промышленным методом выделения веществ в чистом виде. Кроме того, хроматография представляет собой мощную отрасль научного приборостроения.

Ни один аналитический метод не может конкурировать с хроматографией по универсальности применения и эффективности разделения многокомпонентных смесей. На современных газохроматографических капиллярных колонках в условиях одного эксперимента могут быть идентифицированы и количественно определены более 1000 индивидуальных компонентов.

Хроматография изучает термодинамику состояния двухфазных систем газ–жидкость, жидкость–жидкость и жидкость–твердое тело, сверхкритическое и жидкокристаллическое состояния веществ; исследует природу межмолекулярных взаимодействий, кинетику процессов внутреннего и межфазного массообмена, процессы комплексообразования, ассоциации и образования соединений, стереохимию органических соединений и многое другое.

В связи с исключительной многогранностью понятия «хроматография» оно не может быть охвачено одним единственным определением. В категориях «явление, процесс, метод, наука» хроматографию предложено определять как:

– явление образования, движения и изменения концентрационных зон веществ (частиц) в условиях массообмена между несме-

шивающимися и движущимися относительно друг друга фазами или на границе раздела этих фаз;

– процесс дифференцированного многократного перераспределения веществ или частиц между несмешивающимися и движущимися относительно друг друга фазами;

– метод разделения смесей веществ или частиц, основанный на различии в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз;

– науку о межмолекулярных взаимодействиях и переносе частиц вещества в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.

В общем случае хроматография – это наука о принципах и методах разделения и количественного и качественного анализа веществ по принципу различия размеров, зарядов, массы, полярности их частиц в потоке на границе нескольких гетерогенных сред (газ–твердое тело, жидкость–твердое тело, газ–жидкость, несмешивающиеся жидкости и т. д.).

Хроматографические методы анализа классифицируют также по системе несмешивающихся фаз, принципу разделения, форме проведения процесса, способу проведения эксперимента и другим признакам (рис. 12.1).

По форме проведения процесса различают колоночную, бумажную и тонкослойную хроматографию. В колоночной хроматографии разделение проводят на хроматографической колонке. В бумажной хроматографии разделение осуществляют на специальной фильтровальной бумаге, в тонкослойной – на стеклянной или пластмассовой пластинке, на которую нанесен адсорбент.

В табл. 12.1 приведена классификация хроматографических методов анализа согласно системе несмешивающихся фаз.



Рис. 12.1. Классификация хроматографических методов анализа

**Классификация хроматографических методов
по системе несмешивающихся фаз**

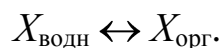
Система несмешивающихся фаз	Тип хроматографии	Принцип разделения
Жидкость–жидкость	Распределительная	Экстракция
Жидкость–твердое тело	Адсорбционная	Адсорбция
Жидкость–твердое тело	Ионообменная	Электростатическое взаимодействие и диффузия
Жидкость–твердое тело	Гель-хроматография	Диффузия
Жидкость–твердое тело	Афинная	Биоспецифическое взаимодействие с афинным лигандом
Газ–жидкость	Распределительная газожидкостная	Экстракция
Газ–твердое тело	Адсорбционная	Адсорбция

Одностадийным процессом хроматографического разделения является *экстракция*.

12.1. Теоретические основы экстракции

Распределение растворенного вещества между двумя несмешивающимися жидкостями характеризуется коэффициентом распределения D .

Если вещество X находится в водной и органической фазах, то между фазами устанавливается равновесие:



Суммарную концентрацию вещества X , учитывающую все формы вещества в органической фазе, можно представить следующим образом:

$$[X]_{\text{орг}} = [X]_{\text{орг}} + [X^+]_{\text{орг}} + [X^-]_{\text{орг}} + [X_2]_{\text{орг}};$$

суммарную концентрацию вещества в водной фазе –

$$[X]_{\text{водн}} = [X]_{\text{водн}} + [X^+]_{\text{водн}} + [X^-]_{\text{водн}} + [X_2]_{\text{водн}}.$$

Отношение суммарных концентраций вещества X в органической и водной фазах

$$D_C = \frac{[X]_{\text{орг}}}{[X]_{\text{водн}}} \quad (12.1)$$

называют *концентрационным коэффициентом распределения* вещества X .

Используют также *массовый коэффициент распределения*:

$$D_m = \frac{m_{\text{орг}}}{m_{\text{водн}}}. \quad (12.2)$$

Поскольку $[X] = m/V$, то соотношение между D_C и D_m можно записать следующим образом:

$$D_C = D_m \frac{V_{\text{водн}}}{V_{\text{орг}}}; \quad (12.3)$$

$$D_m = D_C \frac{V_{\text{орг}}}{V_{\text{водн}}}. \quad (12.4)$$

Если $V_{\text{орг}} = V_{\text{водн}}$, то $D_C = D_m$.

Зная коэффициент распределения, можно рассчитать долю вещества, извлеченного органическим растворителем из водной фазы:

$$X_{\text{орг}} = \frac{m_{\text{орг}}}{m_{\text{орг}} + m_{\text{водн}}} = \frac{m_{\text{орг}}}{m_{\text{орг}} + \frac{m_{\text{орг}}}{D_m}}. \quad (12.5)$$

Тогда доля вещества, оставшегося в водной фазе,

$$X_{\text{водн}} = 1 - X_{\text{орг}} = 1 - \frac{D_m}{D_m + 1} = \frac{1}{D_m + 1}. \quad (12.6)$$

Если в результате однократной экстракции вещество извлекается не полностью, прибегают к многократной экстракции.

После первой экстракции органическую фазу отделяют, а водный раствор смешивают с новой порцией экстрагента. Эту операцию можно повторить несколько раз. Тогда доля вещества, оставшегося в водной фазе после n -й экстракции,

$$X_{\text{водн}}^n = \left(\frac{1}{D_m} \right)^n. \quad (12.7)$$

Молярная доля вещества, экстрагированного в органическую фазу,

$$X_{\text{орг}}^n = 1 - X_{\text{водн}}^n = 1 - \left(\frac{1}{D_m + 1} \right)^n. \quad (12.8)$$

Если молярная доля экстрагированного вещества составляет 99,9 %, можно считать, что экстракция проведена полностью. В случае, если доля экстрагированного вещества составляет 90 %, необходимо провести двух-, трехкратную экстракцию.

Если экстрагированного вещества существенно меньше, то необходимо провести многостадийный процесс. Многостадийными процессами являются *противоточная экстракция* и *элюентная (распределительная) хроматография*.

12.2. Способы хроматографического разделения

Хроматографическое разделение можно осуществлять тремя методами: фронтальным, вытеснительным и элюентным.

Фронтальный метод наиболее прост. Через хроматографическую колонку с сорбентом непрерывным потоком пропускают раствор исследуемой смеси веществ или газовую смесь. В результате сорбент насыщается компонентами смеси.

Данный метод предусматривает непрерывный ввод в колонку разделяемой смеси компонентов ($A + B + C$). При этом из колонки сначала выходит чистый растворитель, затем компонент A , обладающий самым малым сродством к неподвижной фазе и поэтому слабее

удерживающийся. Затем из колонки выходит смесь компонентов ($A + B$) и, наконец, когда неподвижная фаза насыщается компонентом C , выходит раствор, содержащий смесь всех трех компонентов ($A + B + C$).

Если пропускать жидкость или газ, выходящие из колонки, через детектор концентраций и наносить его показания в течение всего опыта на график, то полученная выходная кривая будет ступенчатой (рис. 12.2).

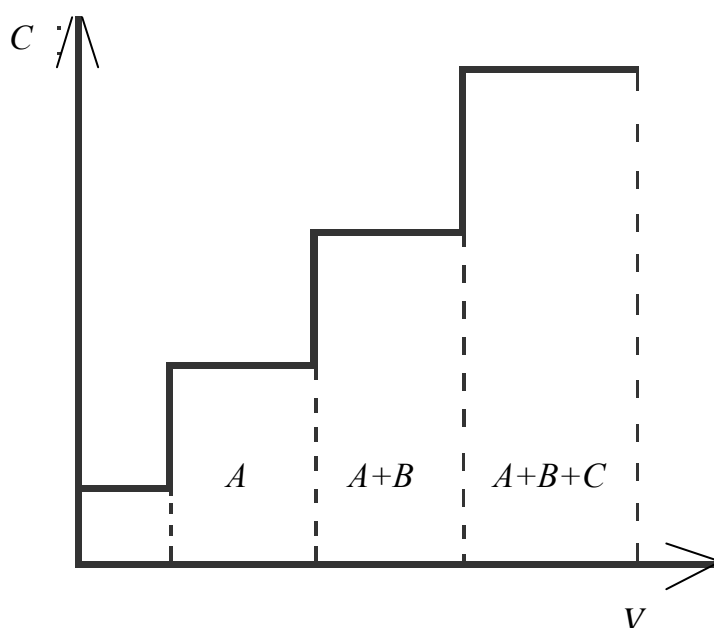


Рис. 12.2. Выходная кривая фронтального анализа:
 A, B, C – разделяемые вещества

Несмотря на простоту проведения хроматографирования, фронтальный метод не нашел широкого применения, поскольку не дает полного разделения компонентов анализируемой смеси. Однако этот метод весьма эффективен для препаративного выделения чистых веществ из образца при условии, что эти вещества удерживаются на колонке слабее других компонентов пробы.

Типичные примеры применения фронтального анализа: очистка и умягчение воды ионообменными материалами; очистка воздуха активированным углем от отравляющих веществ в противогазах

и вентиляционных фильтрах химических предприятий; концентрирование ценных веществ из сточных промышленных вод металлургических предприятий; очистка лекарственных препаратов и пищевых продуктов с помощью ионообменников и т. д.

Вытеснительный метод отличается от фронтального тем, что после введения пробы исследуемой смеси колонку промывают растворителем или газом-носителем, к которым добавляют растворимое вещество (в жидкостной хроматографии) или вещество в газообразном состоянии (в газовой хроматографии). Это вещество должно адсорбироваться сильнее любого из компонентов разделяемой смеси. Оно называется вытеснителем, поскольку, обладая наибольшей сорбируемостью, вытесняет более слабо сорбирующиеся компоненты разделяемой смеси.

Благодаря эффекту адсорбционного вытеснения, открытому М.С. Цветом, происходит вытеснение компонентов из адсорбента в последовательности, соответствующей их адсорбируемости, и компоненты разделяются. При этом зоны компонентов движутся по слою адсорбента с одинаковой скоростью, соприкасаясь между собой, по направлению к выходу из колонки.

К моменту полного насыщения адсорбента вытеснителем детектор запишет ступенчатую выходную кривую, отличающуюся от кривой фронтального анализа тем, что каждая ступень соответствует чистому компоненту.

Трудности выбора концентрации вытеснителя, взаимная диффузия на границе зон, препятствующая получению на выходе из колонки чистых компонентов разделяемой смеси, а также длительность процесса разделения затрудняют использование этого метода в аналитических целях. Однако для препаративных целей метод не потерял значения, так как возможность применения таких высокоактивных и доступных адсорбентов, как активированный уголь, позволяет достигнуть высокой производительности. Достоинством метода является также отсутствие размываемости зон.

Для разделения многокомпонентных смесей чаще всего применяют *элюентный*, или проявительный, метод, поскольку он не имеет указанных недостатков фронтального и вытеснительного методов. Хроматографическое разделение этим методом основано на том, что отдельные компоненты образца имеют разное сродство с подвижной и неподвижной фазами и по мере продвижения растворителя

по колонке происходят распределение и перераспределение компонентов между этими фазами. Исследуемую смесь вводят в колонку в виде порции раствора или газа, а не непрерывно. После введения такой порции колонку промывают растворителем или газом-носителем (проявителем или элюентом).

Растворитель, проходящий через колонку, называют *элюентом*, а процесс вымывания из колонки растворенного вещества пропусканьем чистого растворителя – *элюированием*. В результате компоненты перемещаются по колонке с различной скоростью и разделяются на полосы, которые продвигаются к выходу из колонки.

На выходе из колонки детектор непрерывно фиксирует концентрацию компонентов, а связанный с ним регистрирующий прибор записывает выходную кривую в виде ряда пиков, число которых соответствует числу разделенных компонентов (рис. 12.3).

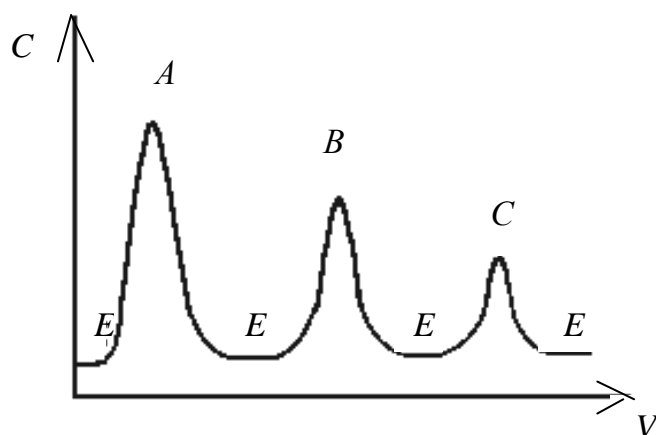


Рис. 12.3. Выходная кривая проявительного анализа:
 A, B, C – разделяемые вещества; E – растворитель (элюент или проявитель)

Проявительный метод получил широкое применение как в жидкостной, так и газовой хроматографии. При правильном выборе условий разделения компоненты смеси выходят из колонки в чистом виде, их можно выделить для исследования.

Качественный и количественный состав анализируемой смеси можно определить простым измерением объемов удерживания и площадей пиков анализируемых компонентов на полученной хромато-

грамме. Каждый пик хроматограммы соответствует отдельному компоненту, а площадь каждого пика характеризует его относительное содержание в пробе.

12.3. Теоретические основы хроматографического разделения

Основным количественным выражением скорости движения частиц через колонку служит *время удерживания* t_R или *объем удерживания* V_R .

Основным количественным выражением неравномерности распределения вещества между фазами является число *теоретических тарелок* n или высота, эквивалентная теоретической тарелке H .

Время удерживания t_R – это время, необходимое для элюирования вещества до достижения его максимальной концентрации.

Скорость миграции вещества из колонки выражают отношением l/t_R , где l – длина колонки.

Время, необходимое для выхода из колонки вещества, не задерживаемого неподвижной фазой, называют *мертвым временем* t_m . При этом скорость движения вещества, не задерживаемого неподвижной фазой, составляет l/t_m .

Отношение скорости движения по колонке растворенного вещества U_i к скорости движения подвижной фазы U называют *индексом удерживания*, или *фактором запаздывания* R :

$$R = \frac{U_i}{U} = \frac{t_m}{t_R}. \quad (12.9)$$

Вместо показателя времени удерживания вещества на колонке t_R можно использовать показатель *объема удерживания* V_R – объема элюента, прошедшего через колонку от момента ввода пробы до момента выхода определяемого вещества в максимальной концентрации. Объем удерживания рассчитывают по формуле

$$V_R = t_R U. \quad (12.10)$$

При этом для элюента объем удерживания

$$V_m = t_m U, \quad (12.11)$$

где V_m – рабочий объем колонки.

Объем удерживания компонента V'_R за вычетом рабочего объема колонки называют *исправленным* объемом удерживания:

$$V'_R = V_R - V_m. \quad (12.12)$$

Аналогично рассчитывают *исправленное время* удерживания:

$$t'_R = t_R - t_m. \quad (12.13)$$

Исправленное время удерживания – это время, в течение которого определяемый компонент находится в неподвижной фазе.

В подвижной фазе все вещества, независимо от времени удерживания, находятся в течение t_m .

Отношение исправленного времени удерживания к мертвому времени, определяемое экспериментально, пропорционально отношению количества компонента в неподвижной фазе к количеству этого же компонента в подвижной фазе. Это отношение представляет собой массовый коэффициент распределения, или, как его обычно называют в хроматографии, фактор емкости K :

$$K = D_m = D_C \frac{V_s}{V_m}, \quad (12.14)$$

где V_s и V_m – объемы неподвижной и подвижной фаз.

Если выражение (12.11) подставить в уравнение (12.10), то получим

$$R = \frac{U_i}{U} = \frac{t_m}{t_R} = \frac{1}{1 + K} \quad (12.15)$$

или

$$t_R = t_m (1 + K). \quad (12.16)$$

Умножая почленно уравнение (12.16) на скорость движения подвижной фазы, получаем

$$V_R = V_m (1 + K). \quad (12.17)$$

При условии $V_s = V_m$ $K = D_s$ и выражение (12.17) можно записать в виде

$$V_R = V_m + D_s V_s. \quad (12.18)$$

Используя выражение (12.12), получаем

$$V'_R = D_s V_s. \quad (12.19)$$

Таким образом, объем удерживания пропорционален коэффициенту распределения и объему неподвижной фазы.

Параметры удерживания вещества можно рассчитать, зная коэффициент его распределения для данной хроматографической системы.

Уравнения (12.18) и (12.19) называются основными уравнениями хроматографии.

12.4. Модель теоретической тарелки Критерии разделения

Модель теоретической тарелки основывается на представлении о том, что хроматографическая колонка состоит из отрезков, в каждом из которых достигается равновесное распределение вещества между фазами.

Длину одного отрезка колонки называют высотой H , эквивалентной одной теоретической тарелке (ВЭТТ). Число таких отрезков или число теоретических тарелок n характеризует размывание пиков и является мерой эффективности колонки.

Величины H и n взаимосвязаны:

$$n = \frac{1}{H}.$$

При анализе многокомпонентных смесей количественной мерой их разделения служит разрешение кривых удерживания для двух наиболее трудно разделяемых соединений.

Разрешение $R_{1,2}$ определяется следующим соотношением:

$$R_{1,2} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}, \quad (12.20)$$

где W_1 и W_2 обозначают ширину хроматографических пиков компонентов 1 и 2 (рис. 12.4).

Удовлетворительное разрешение компонентов 1 и 2 достигается в том случае, если площадь перекрывания составляет около 0,1 %, а разрешение $R_{1,2} = 1,5$.

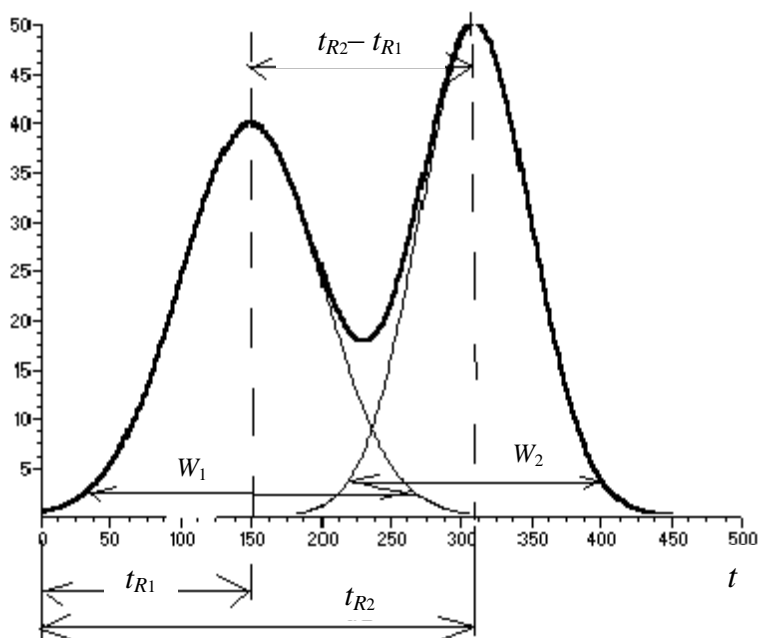


Рис. 12.4. Разрешение хроматографических пиков компонентов 1 и 2

Другим критерием разделения компонентов является фактор разделения α :

$$\alpha = \frac{D_1}{D_2},$$

где D_1 и D_2 — меньший и больший коэффициенты распределения.

Чем больше величина α , тем полнее происходит хроматографическое разделение данных веществ. Если фактор разделения велик ($\alpha = 5 \div 10$), то полное разделение достигается на колонке с небольшим числом n , если α мал, то для разделения требуется высокоэффективная колонка с большим числом теоретических тарелок n .

Между числом теоретических тарелок n , разрешением $R_{1,2}$ и фактором разделения α существует взаимосвязь:

$$n = \left(\frac{4 R_{1,2} \alpha}{2 - 1} \right)^2. \quad (12.21)$$

Зная требуемую степень разрешения компонентов $R_{1,2}$ и фактор разделения α , можно рассчитать число теоретических тарелок n , необходимое для их разделения.

Для эффективного разделения многокомпонентных смесей необходимо соблюдать следующие условия:

1. Равновесие между подвижной и неподвижной фазами должно устанавливаться достаточно быстро, твердый носитель должен быть пористым и состоять из небольших однородных частиц сферической формы.

2. Для устранения влияние факторов, приводящих к размыванию пиков, колонка должна быть плотно и равномерно заполнена и иметь достаточное число теоретических тарелок.

3. Режимы хроматографического разделения следует подбирать таким образом, чтобы значения коэффициентов распределения были не слишком малы и не слишком велики. В случае, если значения коэффициентов распределения малы, компоненты быстро проходят через колонку и плохо разделяются. При больших значениях коэффициентов распределения увеличивается время элюирования и происходит размывание пиков.

12.5. Газовая хроматография

В *газовой хроматографии* в качестве подвижной фазы используется инертный газ.

Неподвижной фазой в газодсорбционной хроматографии (ГАХ) является активное дисперсное твердое вещество, в газожидкостной (ГЖХ) – слой жидкости, нанесенный на твердый носитель.

Принцип газохроматографического анализа сводится к следующему. Через колонку, заполненную *неподвижной фазой*, непрерывно пропускают инертный газ, называемый *газом-носителем*. В этот газ у входа в колонку вносят в виде пара небольшое количество анализируемой смеси. Вследствие различий в сорбируемости или растворимости в стационарной жидкой фазе компоненты смеси передвигаются по колонке с различной скоростью. На выходе из колонки установлен детектор, регистрирующий изменение какого-либо физического свойства газового потока. Использование автоматизированной системы детектирования позволяет получить хроматографическую кривую. В качестве газа-носителя обычно используют либо инертные газы (гелий, аргон, азот), либо водород.

Насадочные колонки заполняют неподвижной фазой, которая тонким слоем покрывает их внутреннюю поверхность. В качестве неподвижной фазы в ГАХ используют твердые полярные и неполярные сорбенты: активный уголь, силикагель, алюмосиликаты, сополимеры стирола и дивинилбензола, хромосорб.

В ГЖХ колонку заполняют гранулированным твердым носителем, на который наносят слой нелетучей жидкой фазы. Твердые носители – это пористые гранулированные вещества, обладающие химической и каталитической инертностью, механической прочностью, термостабильностью и хорошей смачиваемостью жидкой фазой.

Большинство твердых носителей – диатомиты, состоящие на 90 % из SiO_2 и химически модифицированные действием силанов (диметилдихлорсилана, триметилхлорсилана и др.) для уменьшения адсорбционной активности.

Неподвижная жидкая фаза в ГЖХ должна быть практически нелетучей при температуре колонки, термостойкой, химически инертной, хорошо растворять компоненты образца. При этом необходимо, чтобы значения коэффициента распределения компонентов смеси попадали в определенный интервал.

Для разделения неполярных компонентов применяют неполярные жидкости, например парафины.

Для разделения полярных компонентов, например спиртов и аминов, используют полярную неподвижную фазу (этиленгликоль).

Разделение компонентов с близкой полярностью, значения температур кипения которых заметно различаются, не представляет особых затруднений.

Для разделения веществ с разной полярностью и близкими значениями температуры кипения подбирают неподвижную фазу, селективно удерживающую какие-либо компоненты благодаря дипольному взаимодействию, возникновению водородных связей, комплексообразованию и т. д.

При разделении компонентов смесей методом ГЖХ важное значение имеет толщина слоя неподвижной фазы. С увеличением толщины слоя увеличивается время удерживания. Слой жидкости, покрывающий диатомитовые носители, составляет обычно от 2 до 10 % от объема носителя.

Скорость перемещения различных компонентов по колонке зависит не только от природы фаз, но и от температуры колонки, которая имеет большое значение для эффективности разделения. Область рабочих температур составляет от -100 до 450 °С. Выбранная температура должна поддерживаться с точностью до $\pm 0,1$ °С.

Для хроматографического разделения выбирают температуру, несколько более высокую, чем средняя температура кипения образцов. При разделении компонентов с широким интервалом температур кипения температуру повышают (непрерывно или скачками).

На выходе из колонки компоненты смеси в порядке их элюирования поступают в детектор. В детекторе химические, физические или физико-химические параметры газового потока преобразуются в электрический сигнал. Чаще всего в газовой хроматографии используют детектор теплопроводности (катарометр) и пламенно-ионизационный детектор.

Метод газовой хроматографии не позволяет автоматически идентифицировать пики на хроматограмме. Качественный анализ компонентов проводят по характеристикам удерживания – t_R , V_R , V'_R , которые сравнивают с характеристиками удерживания эталонов. При анализе сложных смесей природных соединений и биологических материалов эталоны зачастую отсутствуют, а ряд компонентов может быть неизвестен. В этом случае компоненты выделяют на выходе из колонки и анализируют каким-либо методом. Чаще всего используют ИК-спектроскопию и масс-спектроскопию.

Количественный анализ в газовой хроматографии основан на том, что при строгом соблюдении ряда условий (постоянство скорости потока газа-носителя и температуры колонки, правильная методика ввода пробы и т. д.) площадь хроматографического пика S

или его высота h пропорциональны концентрации соответствующего компонента.

Газовая хроматография применяется для качественного и количественного определения жирных кислот, аминокислот, спиртов, сахаров, липидов, фосфолипидов пищевых продуктов, а также различных ароматических веществ, обуславливающих вкус, запах и аромат плодов и овощей. Кроме того, метод газовой хроматографии используют для анализа загрязнения питьевой воды и пищевых продуктов, в том числе для определения хлорсодержащих пестицидов.

К основным достоинствам метода относятся: сравнительная простота аппаратного оформления; высокая скорость выполнения анализа; возможность определения с большой точностью микроколичеств веществ, не определяемых другими методами; возможность автоматизации анализа, что позволяет использовать его для оперативного мониторинга производственных процессов.

Качественный и количественный анализ жирно-кислотного состава пищевых продуктов – наиболее простой метод качественной идентификации неизвестной смеси жирных кислот по относительной величине времени (объема) удерживания.

Метод газовой хроматографии позволяет с высокой точностью проводить количественный скрининг-анализ насыщенных и ненасыщенных жирных кислот; определять содержание летучих жирных кислот в сыре, сливочном масле, мясе, колбасных изделиях.

В настоящее время используются методики газохроматографического определения пестицидов (альдрин, гексахлоран, гептахлор, ДДТ, ДДД, ДДЭ и др.) в овощах, фруктах, молоке и молочных продуктах.

Метод газовой хроматографии позволяет анализировать содержание изомерных форм токоферола в растительных маслах, а также триацилглицеринов, аминокислот, углеводов (после их перевода в летучие производные) и ароматобразующих веществ в пищевых продуктах.

12.6. Жидкостная хроматография

Метод *жидкостной хроматографии* распространен довольно широко благодаря большому числу ее разновидностей. В настоящее время различают бумажную, тонкослойную, колоночную жидкожид-

костную и жидкотвердофазную (адсорбционную) хроматографию, а также хроматографию высокого давления, которая представляет собой наиболее прогрессивный метод разделения и является разновидностью адсорбционной хроматографии.

В *бумажной хроматографии* (БХ) разделение смесей проводят на специальной хроматографической бумаге, изготовленной из особо чистой целлюлозы. Для этого бумагу обрабатывают реагентом, дающим с разделяемыми компонентами окрашенные соединения, компоненты при этом проявляются в виде пятен.

Метод БХ применяют для идентификации и разделения очень малых количеств веществ. Для идентификации веществ используют фактор R_f , который равен отношению расстояния, пройденного веществом a , к расстоянию, пройденному растворителем b :

$$R_f = \frac{a}{b}.$$

Значение a зависит от природы вещества, значение R_f – от природы растворителя и может изменяться от 0,00 до 1,00. Высокая эффективность разделения соответствует значениям R_f от 0,1 до 0,7.

Для количественного анализа смесей методом бумажной хроматографии пятна компонентов вырезают вместе с участком бумаги, помещают в подходящий растворитель и полностью элюируют, затем колориметрируют или фотометрируют. Кроме обычной, одномерной, используют и двухмерную БХ. Этим методом разделяют смеси, разделить которые с помощью одного растворителя затруднительно.

Метод БХ используется для разделения всех классов органических соединений. При разделении сахаров, фенольных соединений, сложных смесей аминокислот, пептидов, алкалоидов, антибиотиков методом БХ можно достичь хороших результатов.

С помощью метода бумажной хроматографии определяют содержание фенола в копченых продуктах. Методом двухмерной БХ можно исследовать углеводный и аминокислотный состав растительного сырья.

Достоинства данного метода состоят в исключительной простоте выполнения анализа, возможности использования небольшого количества образцов (до нескольких микрограммов) и его высокой чувствительности. Однако он достаточно трудоемок и требует спе-

циальной подготовки проб, поэтому не может быть использован в качестве скрининг-метода.

С точки зрения методических особенностей эксперимента *тонкослойная хроматография* (ТСХ) является наиболее простым препаративным методом хроматографии, сочетающим в себе универсальность, высокую чувствительность, быстроту и простоту выполнения анализа. Благодаря простоте аппаратного оформления, наглядности и четкости разделения, а также надежности идентификации компонентов смесей метод ТСХ предоставляет широкие возможности для проведения экспресс-анализа пищевых продуктов.

Тонкослойную хроматографию можно рассматривать как разновидность бумажной хроматографии. Вместо свободно свисающих полос бумаги используют стеклянные пластинки, на которые тонким слоем наносят подходящий сорбент, или уже готовые подложки с закрепленным на них слоем сорбента.

На стартовую линию пластинки наносят анализируемую смесь, край пластинки погружают в систему растворителей ниже стартовой линии. По мере продвижения растворителя по пластинке происходит разделение компонентов смеси благодаря действию сил адсорбции, распределения, ионному обмену или совокупности всех перечисленных процессов.

Для разделения липофильных веществ в ТСХ применяют следующие сорбенты: силикагель, окись алюминия, ацелированную целлюлозу, полиамиды. Для разделения гидрофильных веществ используют целлюлозу, целлюлозные ионообменники, кизельгур, полиамиды.

Самый распространенный сорбент – силикагель обладает высокой адсорбционной способностью. При распределительном механизме разделения слой силикагеля пропитывается гидрофильной или гидрофобной фазой. Силикагель адсорбирует ненасыщенные, ароматические или полярные молекулы благодаря образованию водородных связей. Избирательность разделения компонентов смесей на силикагеле увеличивается при добавлении неорганических соединений, например NaNO_3 . Силикагель химически инертен, что обеспечивает его стабильность, имеет хорошую адгезию к стеклу, фольге, полимерам, что дает возможность получать тонкие, ровные, механически прочные слои на различных подложках.

Выбор растворителя, как правило, осуществляют эмпирически с учетом полярности разделяемых компонентов и полярности растворителей.

В адсорбционной хроматографии используют элюотропный ряд, в котором растворители расположены в порядке возрастания элюирующей способности:

гексан → гептан → циклогексан → CCl_4 → C_6H_6 → CHCl_3 →
→ диэтиловый эфир → этилацетат → пиридин → ацетон →
→ этанол → метанол → вода

Вещества с липофильным характером разделяют на полярном адсорбенте с малополярным растворителем, например петролевым эфиром, бензином или бензолом.

При выборе состава подвижной фазы в качестве основы чаще всего выбирают неполярный растворитель и добавляют к нему небольшое количество полярного растворителя. Растворитель элюирует органические соединения из сорбента в зависимости от строения вещества, а также от типа и числа функциональных групп.

При разделении смесей методом распределительной ТСХ неподвижной фазой обычно является вода, а подвижной – не смешивающийся с ней менее полярный органический растворитель, к которому добавляют воду или который насыщают водой.

При выборе растворителя в распределительной ТСХ также можно использовать элюотропный ряд, в котором растворители расположены относительно их способности к образованию водородных связей. В начале такого ряда расположены гидрофильные (полярные) соединения, в конце – гидрофобные (липофильные, или неполярные). Например, для анализа свободных аминокислот методом распределительной ТСХ используют растворители, содержащие воду, а также полярный органический растворитель, например метанол, этанол, ацетон и др.

Суспензию тонкоизмельченного адсорбента с добавкой связующего вещества специальным распылителем наносят на пластинку. После высушивания пластинка готова к употреблению.

Раствор образца наносят на пластинку микропипеткой в виде пятен на расстоянии 1,5–2 см от нижнего края пластинки. Конец пластинки помещают в элюирующий раствор таким образом, чтобы

он не касался пятен пробы. Компоненты образца поднимаются по пластинке с различной скоростью, что обуславливает их разделение. Эффективность разделения компонентов оценивают так же, как и в БХ, посредством измерения R_f .

При использовании метода разделения в тонком слое рекомендуют использовать эталонные вещества – «свидетели», которые наносят на пластинку рядом с анализируемой пробой.

Большинство хроматографируемых соединений бесцветны, поэтому для их детектирования применяют различные методы.

Флуоресцирующие соединения можно обнаружить с помощью УФ-излучения, но основной метод детектирования – обработка хроматограмм различными реагентами.

Существует ряд общих реагентов, к числу которых относятся следующие: 90 %-й раствор серной кислоты; смесь дихромата калия и серной кислоты; раствор йода в этаноле или хлороформе; родамин В; реагенты, применяемые для конкретных классов соединений, например нингидрин в этаноле – для аминокислот и аминов.

Чаще всего окраска проявляется сразу после опрыскивания, иногда – после нагревания.

Количественный анализ проводят двумя способами. Первый способ – это прямое определение, которое осуществляют непосредственно на пластинке. Измерение площади пятна и фиксация интенсивности окраски пригодны только для полуколичественных определений. Для количественных определений используют методы денситометрии, спектрофотометрии и флуориметрии.

Второй способ предусматривает экстракцию соединения с пластинки либо прямым элюированием, либо соскабливанием пятна с адсорбентом и последующим извлечением компонента. Для последующего определения компонента в растворе используют в основном спектрофотометрию.

С помощью метода ТСХ определяют фракционный состав липидов (фосфатиды, моно- и диглицериды, стеринны, свободные ЖК, триглицериды, углеводороды и др.). Фракционирование фосфолипидов осуществляют на силикагеле.

С помощью ТСХ проводят разделение и идентификацию каротиноидов в плодах и овощах и определение изомерных форм токоферолов в растительных маслах. Также ее используют для определения остаточного количества пестицидов (хлорофоса в ово-

щах, фруктах, зерне, молоке, мясе) и микотоксинов (афлатоксинов) в пищевых продуктах.

Разделение углеводов в пищевых продуктах осуществляют на целлюлозе и силикагеле.

Адсорбционная хроматография – старейший хроматографический метод, в основе которого лежит различие в равновесном распределении компонентов смеси между неподвижной фазой (адсорбентом) и подвижной жидкой фазой. Это распределение зависит от характера и прочности адсорбции каждого компонента, которые, в свою очередь, определяются природой адсорбента, адсорбируемого вещества и подвижной фазы.

Для выбора условий хроматографического разделения и анализа смесей большое значение имеет *изотерма адсорбции* каждого из компонентов.

Изотерма адсорбции Лэнгмюра выражает зависимость количества адсорбированного вещества от его концентрации в растворе при состоянии равновесия и при постоянной температуре.

На поверхности адсорбента находятся активные центры, способные фиксировать молекулы адсорбированного вещества. Каждый элементарный участок поверхности способен фиксировать только одну молекулу, в результате чего на поверхности адсорбента образуется мономолекулярный слой. Процесс адсорбции обратим. Между поверхностью адсорбента и средой устанавливается адсорбционное равновесие.

При выводе изотермы адсорбции предполагается, что адсорбируемые молекулы должны удариться о поверхность адсорбента и попасть на незанятые места. Поскольку сила ударов о поверхность адсорбента пропорционально концентрации компонента в растворе, то вероятность попадания его молекул на свободное место равна числу этих мест.

В качестве адсорбентов используют силикагель, оксид алюминия, сульфат магния, древесный уголь, полиамид. Размер частиц адсорбента составляет 0,05–0,5 мм; удельная площадь поверхности – 100–600 м²/г.

При адсорбции на адсорбентах полярного типа (оксидах, солях) главную роль играют дипольные взаимодействия. Адсорбция на адсорбентах неполярного типа (древесном угле) возможна благодаря дисперсионным взаимодействиям между твердой фазой и недиссоци-

ированными молекулами. Принципы выбора адсорбентов и элюирующих смесей те же, что и в методе ТСХ.

В настоящее время разработан и быстро развивается метод высокоскоростной хроматографии, или хроматографии высокого давления. Элюент пропускают через колонку со скоростью, превышающей в 100 раз его скорость при обычной, колоночной, хроматографии, для чего используют насос или газ, находящийся под высоким давлением. Для быстрого установления равновесия размер частиц твердого носителя должен быть очень мал (5–50 мкм).

С помощью метода высокоскоростной хроматографии достигается эффективное разделение микроколичеств смесей. Разрешающая способность колонки увеличивается в несколько раз, поэтому для разделения требуется всего несколько минут, а хроматограммы прекрасно воспроизводятся.

Описать все области применения адсорбционной хроматографии не представляется возможным. Особенно ценно использование этого метода для качественного и препаративного разделения и очистки компонентов при анализе пищевых продуктов. Метод адсорбционной хроматографии используют при определении каротиноидов, антоцианов, катехинов, стероидов, витаминов, а также для фракционирования липидов и фосфолипидов.

Кроме описанных выше основных типов хроматографии, следует кратко рассмотреть гель-хроматографию и аффинную хроматографию.

Гель-хроматография – это метод разделения веществ, основанный на различии в размерах молекул. Нерастворимую фазу образует гель, представляющий собой химически инертное пористое вещество, насыщенное жидкостью, обычно водой. Помимо гидрофильных могут использоваться гидрофобные гели, способные набухать в органических растворителях. Те же растворители в этом случае служат и подвижной фазой. В зависимости от типа геля имеет разный размер пор.

Раствор смеси компонентов, различающихся по размерам молекул, подают в колонку, заполненную гелем, а затем элюируют чистым растворителем. Молекулы отдельных компонентов стремятся диффундировать из раствора внутрь твердой фазы. Однако для этого они должны пройти через отверстия пор. Большие молекулы не могут проникнуть в поры геля и проходят по колонке вместе с раство-

рителем. Маленькие молекулы проникают внутрь пор и распределяются в обеих фазах, а молекулы среднего размера частично диффундируют внутрь геля, но в основном остаются в жидкой фазе. Молекулы, попавшие внутрь геля, элюируются медленнее всех и выходят из колонки последними.

Гель-хроматография получила широкое применение в синтетической органической химии, для фракционирования пептидов, ферментов, белков, для обессоливания растворов высокомолекулярных соединений, например при разделении гемоглобина и хлорида натрия.

Аффинная хроматография – особый метод, предназначенный для выделения из смесей биологически активных соединений и основанный на специфических взаимодействиях, присущих некоторым биологическим и биохимическим процессам. Например, фермент реагирует только со своим субстратом или с ингибитором; транспортная рибонуклеиновая кислота «выбирает» только ту аминокислоту, которую она может перенести внутрь рибосомы; гормон реагирует с соответствующим рецептором и т. п. Одно из соединений подобной пары, называемое аффинным лигандом, присоединяется обычной ковалентной связью к носителю, представляющему собой неподвижную фазу колонки. При пропускании через колонку раствора, содержащего второе соединение пары, это соединение избирательно связывается аффинным лигандом. Сорбированное вещество можно затем элюировать, используя либо растворимый аффинный лиганд, либо растворитель, вызывающий диссоциацию образующегося специфического комплекса.

Аффинная хроматография применяется для выделения ферментов, их ингибиторов, антител, нуклеиновых кислот, транспортных и репрессорных белков, гормонов, других соединений.

Контрольные вопросы

1. Что такое хроматография?
2. Дать характеристику принципов классификации хроматографических методов анализа.
3. Перечислить основные методы хроматографии.
4. Перечислить основные виды хроматографического анализа.

5. Какой процесс лежит в основе хроматографического разделения смесей?
6. Что такое коэффициент распределения?
7. Перечислить способы хроматографического разделения смесей.
8. Дать краткое описание теоретических основ хроматографии.
9. Параметры удерживания.
10. Модель теоретической тарелки.
11. Критерии разделения.
12. Газовая хроматография. Основные принципы и примеры применения для разделения и анализа пищевых смесей.
13. Абсорбционная хроматография. Основные принципы и примеры применения для разделения и анализа пищевых смесей.
14. Бумажная хроматография. Основные принципы и примеры применения для разделения и анализа пищевых смесей.
15. Тонкослойная хроматография. Основные принципы и примеры применения для разделения и анализа пищевых смесей.
16. Другие виды хроматографии и примеры их использования.

13. ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОШИБОК ПРИ АНАЛИЗЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И МЕТОДЫ ИХ УЧЕТА

При проведении анализа пищевых продуктов наблюдается разброс экспериментальных результатов, обусловленный точностью используемых приборов и оборудования, субъективным характером оценки и влиянием случайных факторов. Вследствие этого полученный результат является приближенным и отличается от истинного на некоторую величину, называемую погрешностью анализа.

Существует несколько способов классификации погрешностей анализа. По способу выражения погрешности подразделяют на абсолютные и относительные; по типу связи между погрешностью и измеряемой величиной – на постоянные и пропорциональные, значения которых пропорциональны измеряемой величине. Согласно источникам происхождения, погрешности классифицируют как инструментальные, реактивные, методические, погрешности пробоотбора и т. д. По характеру причин, вызывающих погрешности, их подразделяют на случайные, систематические и промахи.

13.1. Погрешности анализа и причины их возникновения

Систематические погрешности вызваны известными причинами. Напротив, случайные погрешности не имеют видимых причин. Общая случайная погрешность не является постоянной величиной, поэтому ее оценку проводят на основе теории математической статистики.

Явные огрехи анализа, допущенные из-за небрежности или заведомой некомпетентности, называют *промахами*.

Систематическая погрешность никогда не может быть оценена точно, поскольку неизвестно истинное значение определяемой величины. Существует три типа систематических погрешностей.

К первому типу относятся систематические погрешности известной природы, значения которых могут быть рассчитаны *apriori* и учтены путем введения поправки.

Ко второму типу относятся систематические погрешности известной природы, значения которых неизвестны, но могут быть определены при постановке специального эксперимента. К данному

типу относятся инструментальная, реактивная, методическая и эталонная ошибки, являющиеся наиболее распространенными.

К третьему типу относятся систематические погрешности, причины и значения которых неизвестны, поэтому их наиболее трудно выявить и исключить. Этот тип погрешностей обнаруживают лишь после устранения других систематических погрешностей по заметному отклонению определяемой величины от ожидаемого значения.

Отсутствие систематических погрешностей в эксперименте обеспечивает его *правильность*. Количественной мерой систематической погрешности (правильности) является разность между средним арифметическим результата многократного эксперимента и истинным значением определяемой величины:

$$\Delta x_c = \bar{x} - x_{\text{ист.}}$$

Степень близости результатов измерений к среднему значению характеризует их *воспроизводимость*.

Воспроизводимость является характеристикой случайной погрешности анализа. Оценка случайной погрешности не вызывает принципиальных затруднений.

Случайные погрешности рассматривают и учитывают в совокупности; систематические – вычлениют. Разница между истинным объемом и номиналом тем меньше, чем выше класс точности прибора, и обычно не превышает цены наименьшего значения на измерительной шкале. Чтобы оценить эту ошибку, следует провести калибровку прибора.

Для калибровки приборов используют стандартные образцы. Кроме того, градуируют и шкалу развертки интенсивного параметра, например шкалу длин волн или частот излучения в спектроскопии. Эта проверка сводит к минимуму систематическую составляющую инструментальной ошибки. Для устранения систематической ошибки используют приемы релятивизации и рандомизации.

Релятивизация – прием, при котором измерение проводят относительно некоторого другого объекта, результат определяют по разности, при этом систематические ошибки вычитают. Например:

$$m \text{ (сухого остатка)} = m \text{ (тигля + сухого остатка)} - m \text{ (тигля)}.$$

При использовании фотометрических или объемных измерительных методов для анализа стандартных и исследуемых образцов применяют один и тот же набор мерной посуды.

Рандомизация – прием, переводящий систематические погрешности в разряд случайных. Систематическая погрешность единичного явления (прибора, процесса, метода, исполнителя) при рассмотрении ее в более широком спектре однотипных явлений (серия приборов, группа методов, коллектив исполнителей) становится величиной переменной, т. е. случайной погрешностью (смена бюреток, пипеток для отбора проб и т. д.).

Особый интерес представляет многофакторная рандомизация, когда анализ выполняют различными методами на разных приборах разные исполнители. С помощью многофакторной рандомизации проводят аттестацию стандартных образцов.

Приборные ошибки инструментальных методов анализа, в том числе эмиссионной, атомно-абсорбционной и молекулярной абсорбционной спектроскопии, газовой хроматографии, могут достигать высоких значений. Причиной этого является тот факт, что при использовании приборов измеряемый сигнал многократно опосредован через ряд процессов, например выделение, усиление и преобразование сигнала. Реализация каждого из этих процессов требует стабильности работы узлов прибора и сопровождается различными помехами.

Реактивная ошибка связана с содержанием примесей в используемых реактивах. Маркировка содержания примесей в реактивах:

<i>Марка</i>	<i>Степень чистоты</i>
«ч»	Чистый
«ч.д.а.»	Чистый для анализа
«х.ч.»	Химически чистый
«ос.ч.»	Особо чистый

Особо чистые реактивы делят на подклассы: A_1 – A_2 , B_3 – B_6 , C_7 – C_{10} .

Реактивную ошибку учитывают с помощью параллельного определения целевого компонента в анализируемой пробе и «холостой» пробе, которая содержит все компоненты, кроме определяемого. Вычитание результата анализа холостой пробы из результата анализа исследуемого образца позволяет исключить реактивную ошибку.

Методическая ошибка – одна из наиболее трудно поддающихся учету систематических погрешностей. Селективность (избирательность) метода определяется возможностью проведения прямого анализа вещества в присутствии большого числа других компонентов (примесей).

Методические ошибки имеют специфический характер. К методическим ошибкам гравиметрического анализа относятся недоосаждение и отклонение определяемой формы от весовой, например, вследствие высокой гигроскопичности осадка.

К распространенным методическим ошибкам фотометрического анализа относится нелинейность закона Бугера–Ламберта–Бера, причиной которой может быть полимеризация окрашенных частиц, способствующая увеличению концентрации определенного компонента.

Хорошие методики не должны содержать ощутимых методических ошибок.

13.2. Учет и оценка погрешностей анализа

Методы математической статистики применимы к учету и оценке случайных погрешностей. Статистической обработке поддаются только случайные ошибки.

Случайная величина x – переменная величина, принимающая различные значения. Она определяется областью измерения, вероятностью, с которой ее значения попадают в тот или иной интервал из области ее изменения:

$$a \leq x \leq b.$$

Выборочное *стандартное отклонение* S имеет ту же размерность, что и сама случайная величина, и является объективной мерой отклонения результатов измерения от среднего значения. Оно связано с числом параллельных определений n , поэтому используют относительно стандартное отклонение $S_{\bar{x}}$:

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}. \quad (13.1)$$

Чем больше объем выборки (число параллельных определений n), тем ближе \bar{x} к математическому ожиданию:

$$M(x) = \sum_{i=1}^n p_i x_i, \quad (13.2)$$

где n – число возможных значений случайной величины; p_i – вероятность случайных величин; x_i – сама случайная величина.

Для равномерно распределенной случайной величины, имеющей n возможных значений,

$$M(x) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \bar{x}. \quad (13.3)$$

Информация о систематической погрешности может быть получена лишь на фоне случайных погрешностей, точность ее оценки не превышает точности оценок воспроизводимости анализа. Следовательно, уменьшение систематических погрешностей имеет смысл только в том случае, если их значение больше или соизмеримо со значением случайной погрешности.

Одновременно с этим улучшение воспроизводимости за счет увеличения числа параллельных определений n позволяет обнаружить систематические погрешности, ранее недоступные для определения.

Косвенными принято называть такие измерения, результаты которых получают не в процессе проведения прямых измерений, а путем расчета с помощью конкретных функциональных зависимостей. Результаты большинства аналитических определений – это итоги косвенных измерений.

Итак, в случае прямых измерений алгоритм нахождения погрешности следующий:

1. Проводят n наблюдений измеряемой величины:

$$x_1, x_2, \dots, x_n.$$

2. Определяют среднее арифметическое значение измеряемой величины x :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i. \quad (13.4)$$

3. Определяют оценку среднего квадратического отклонения результата измерения:

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}. \quad (13.5)$$

4. Определяют доверительный интервал случайной погрешности результата измерения:

$$\Delta_{\bar{x}} = \pm t_{\alpha, n} S_{\bar{x}}, \quad (13.6)$$

где $t_{\alpha, n}$ – критерий Стьюдента для доверительной вероятности $\alpha = 0,95$ и числа измерений n .

5. Если инструментальная погрешность окажется соизмеримой со случайной погрешностью, то суммируют случайную и систематическую погрешности:

$$\Delta_x = \sqrt{\Delta_{\bar{x}}^2 + \left(\frac{2}{3} \Delta_{\bar{x}_m}\right)^2}. \quad (13.7)$$

6. Округляют значение абсолютной погрешности $\Delta_{\bar{x}}$ и результат измерения \bar{x} и записывают окончательный результат:

$$x = \bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}; \quad (13.8)$$

$$\varepsilon_{\bar{x}} = \frac{\Delta_{\bar{x}}}{x}.$$

Рассмотрим алгоритм расчета погрешности косвенных измерений.

1. Проводят требуемое число измерений:

$$x_1, x_2, \dots, x_m;$$

в частном случае некоторые величины могут измеряться однократно.

2. Исходя из применяемых средств измерений определяют инструментальные погрешности измеряемых величин – по условным обозначениям класса точности на шкалах приборов. При отсутствии таких сведений инструментальную погрешностью принимают равной 0,5 цены наименьшего деления шкалы прибора.

3. Если измерения проводились в воспроизводимых условиях, находят средние значения всех измеряемых величин ($\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_m$) и их абсолютные погрешности ($\Delta_{\bar{x}_1}, \Delta_{\bar{x}_2}, \dots, \Delta_{\bar{x}_m}$) для доверительной вероятности $\alpha = 0,95$.

4. Вычисляют результат косвенного измерения путем подстановки средних значений $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_m$ измеряемых величин в расчетную формулу.

5. Выводят формулу для абсолютной или относительной погрешности косвенного измерения, в полученную формулу подставляют значения погрешностей измеряемых величин ($\Delta_{\bar{x}_1}, \Delta_{\bar{x}_2}, \dots, \Delta_{\bar{x}_m}$) и вычисляют абсолютную и относительную погрешности Δ_z и ε_z .

6. Округляют величины погрешностей и результаты измерений и записывают окончательный результат в виде

$$Z = Z \pm \Delta_z; \quad \varepsilon_z = \frac{\Delta_z}{z}. \quad (13.9)$$

7. Если многократные измерения проводились в невоспроизводимых условиях, то значения функции вычисляют для каждого отдельного измерения (по одному наблюдению для каждой измеряемой величины), а полученные значения искомой величины (z_1, z_2, \dots, z_n) обрабатывают как прямые многократные наблюдения.

13.3. Статистический критерий выбраковки результатов измерений и их точность

Суть одного из сравнительно простых и удобных критериев выбраковки результатов измерений состоит в следующем:

1. Определяют разность между наибольшим и наименьшим результатами измерения с учетом сомнительного. Ее обозначают R_1 .

2. Определяют разность результатов без учета сомнительного, обозначаемую R_2 .

3. Вычисляют отношение R_1/R_2 и сравнивают с соответствующими критическими значениями P (табл. 13.1).

Если $R_1/R_2 > P$, то результат выбраковывают; если $R_1/R_2 < P$, его учитывают вместе с остальными.

Критические значения P для отношения R_1/R_2 приведены в табл. 13.1.

Таблица 13.1

Критические значения P для отношения R_1/R_2

n	Статистическая вероятность	
	95 %	99 %
3	16,9	83,3
4	4,3	9,0
5	2,8	4,6
10	1,7	2,1

Например, для серии из пяти определений получены следующие результаты:

38,14; 38,23; 38,06; 38,19; 38,81 %.

Последний результат (38,81 %) сомнителен;

$$R_1 = 38,81 - 38,06 = 0,75;$$

$$R_2 = 38,23 - 38,06 = 0,15;$$

$$R_1/R_2 = 0,75 / 0,15 = 5,0;$$

так как $5,0 > 4,6$, последний результат (5,0) необходимо отвергнуть.

Для правильного представления результата измерения его значение необходимо представить таким образом, чтобы оно отражало точность измерения. Например, если при взвешивании образца получено значение 1,2456 г, это означает, что взвешивание проведено с точностью до десятитысячных долей грамма; возможная ошибка относится к последней цифре написанного числа. Результат нельзя представить как 1,24 и 1,24560, так как это не отражает действительной точности определения.

Значащие цифры – минимальное число цифр, с помощью которых можно представить результат измерения в соответствии с его точностью.

Пример 1. Представить в правильном виде число 86 370 000, если точность определения – сотни единиц.

Ответ: $8,63700 \cdot 10^{-5}$. Два последних нуля не являются значащими.

Пример 2. Представить в правильном виде число 0,046700, если оно измерено с точностью до десятитысячных долей единицы.

Ответ: $4,67 \cdot 10^{-2}$. Первые два нуля не являются значащими, два последних в этом случае также не будут значащими.

При сложении нескольких численных значений их сумма должна быть представлена с точностью величины, измеренной с наименьшей точностью; то же самое необходимо соблюдать при умножении и делении.

По точности, с которой нужно получить определенный результат, можно предварительно прикинуть, с какой точностью надо проводить необходимые определения. *Например:* если при определении достаточно установить содержание ингредиента с относительной ошибкой в 10 %, это означает, что исходный образец порядка 0,2 г нужно взвесить с точностью не более 0,01 г.

В фотометрии значение абсорбции определяется тремя значащими цифрами (например, $D = 0,456$). Следовательно, массу исходной навески можно представить не более чем тремя значащими цифрами (1,34 или 0,526); взвешивание с большей точностью в этом случае бессмысленно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – М.: Колос, 2001. – 376 с.

Аналитическая химия и физико-химические методы анализа: Учеб. пособие / М.А. Иванова, М.В. Белоглазкина, И.В. Богомоллова и др. – М.: Изд-во РИОР, 2006. – 289 с.

Безопасность и качество рыбо- и морепродуктов / Под ред. Г.А. Бремнер; Пер. с англ. под науч. ред. Ю.Г. Базарновой. – СПб.: Профессия, 2006. – 450 с.

Биохимические основы переработки и хранения сырья животного происхождения: Учеб. пособие / Ю.Г. Базарнова, Т.Е. Бурова и др. – СПб.: Проспект Науки, 2011. – 192 с.

Василинец И.М., Колодязная В.С. Методы исследования свойств сырья и пищевых продуктов: Учеб. пособие. – СПб.: СПбГУНиПТ, 2001. – 165 с.

Журавская Н.К., Алехина Л.Т., Отряшенкова Л.М. Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 296 с.

Журавская Н.К., Гутник Б.Е., Журавская Н.А. Технохимический контроль производства мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 1999. – 174 с.

Кириллов В.В., Нечипоренко А.П. Современные спектральные методы анализа, используемые в пищевой промышленности: Учеб. пособие для вузов. – СПб.: СПбГУНиПТ, 2006. – 98 с.

Крусъ Г.Н., Шалдыгина А.М., Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов / Под общ. ред. Шалдыгиной А.М. – М.: КолосС, 2002. – 368 с.

Крылова Н.Н., Лясковская Ю.Н. Физико-химические методы исследования продуктов животного происхождения. – М.: Пищепромиздат, 1961. – 233 с.

Николаенко О.Н., Шокина Ю.В., Волченко В.И. Методы исследования рыбы и рыбных продуктов: Учеб. пособие. – СПб.: ГИОРД, 2011. – 176 с.

Родина Т.Г. Сенсорный анализ продовольственных товаров. – М.: Академия, 2004. – 208 с.

Срок годности пищевых продуктов: расчет и испытание / Под ред. Р. Стеле; Пер. с англ. под науч. ред. Ю.Г. Базарновой. – СПб.: Профессия, 2006. – 480 с.

Структура и текстура пищевых продуктов. Продукты эмульсионной природы / Под ред Б.М. Мак Кенна; Пер. с англ. под науч. ред. Ю.Г. Базарновой. – СПб.: Профессия, 2007. – 462 с.

Стрингер М., Денис К. Охлажденные и замороженные продукты / Пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2003. – 496 с.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	5
2. КАЧЕСТВО ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ: ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И ТЕРМИНЫ.....	9
3. КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	13
4. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ПОДГОТОВКИ И ОТБОРА ПРОБ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	18
4.1. Общие принципы подготовки проб	18
4.2. Правила отбора проб пищевых продуктов для анализа	19
5. ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	22
6. МЕТОДЫ АНАЛИЗА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	27
6.1. Определение содержания влаги	27
6.2. Определение содержания минеральных веществ (золы).....	30
6.3. Определение содержания жира	32
6.4. Определение содержания белковых веществ	35
6.5. Определение содержания углеводов	38
6.6. Определение содержания витаминов	41
6.7. Определение титруемой кислотности	44
7. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	47
7.1. Теория и практика рефрактометрии	47
7.2. Основы поляриметрии.....	51
8. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	53
8.1. Основные понятия реологии	53
8.2. Основы реологии жидких и твердых пищевых продуктов	55
8.3. Измерительные системы	59

9. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	66
9.1. Теоретические основы люминесценции.....	66
9.2. Применение люминесцентных методов для определения доброкачественности пищевых продуктов	69
10. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	74
11. СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	81
11.1. Атомная спектроскопия	83
11.2. Молекулярная абсорбционная спектроскопия	87
11.3. Молекулярный абсорбционный анализ в ИК-области спектра	91
12. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	96
12.1. Теоретические основы экстракции	99
12.2. Способы хроматографического разделения.....	101
12.3. Теоретические основы хроматографического разделения.....	105
12.4. Модель теоретической тарелки. Критерии разделения	107
12.5. Газовая хроматография.....	109
12.6. Жидкостная хроматография.....	112
13. ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОШИБОК ПРИ АНАЛИЗЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И МЕТОДЫ ИХ УЧЕТА.....	121
13.1. Погрешности анализа и причины их возникновения.....	121
13.2. Учет и оценка погрешностей анализа.....	124
13.3. Статистический критерий выбраковки результатов измерений и их точность	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	130

Базарнова Юлия Генриховна

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

Учебное пособие

Ответственный редактор
Т.Г. Смирнова

Редактор
Е.О. Трусова

Компьютерная верстка
Н.В. Гуральник

Дизайн обложки
Н.А. Потехина

Подписано в печать 10.06.2014. Формат 60×84 1/16
Усл. печ. л. 7,91. Печ. л. 8,5. Уч.-изд. л. 8,25
Тираж 50 экз. Заказ № С 23

НИУ ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49
ИИК ИХиБТ. 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9