



Уральский
федеральный
университет

имени первого Президента
России Б.Н.Ельцина

Институт
естественных наук

**Н. В. ЛАКИЗА
Л. К. НЕУДАЧИНА**

АНАЛИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Учебное пособие

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ПЕРВОГО ПРЕЗИДЕНТА РОССИИ Б. Н. ЕЛЬЦИНА

Н. В. Лакиза
Л. К. Неудачина

АНАЛИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Рекомендовано методическим советом УрФУ
в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся
по программам бакалавриата и магистратуры
по направлению подготовки 04.03.01 «Химия»,
по специальности 04.05.01 «Фундаментальная и прикладная химия»

Екатеринбург
Издательство Уральского университета
2015

УДК 664(075.8)

Л19

Рецензенты:

кафедра физики и химии

Уральского государственного экономического университета

(заведующий кафедрой доктор химических наук,

профессор Н. Ю. Стожко);

Н. В. Печищева, кандидат химических наук,

старший научный сотрудник

(Институт металлургии УрО РАН)

Лакиза, Н. В.

Л19 Анализ пищевых продуктов : [учеб. пособие] / Н. В. Лакиза, Л. К. Неудачина ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. — Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2015. — 188 с.

ISBN 978-5-7996-1568-0

В учебном пособии рассмотрены методы определения основных химических компонентов пищевых продуктов (белков, жиров, углеводов, витаминов, минеральных веществ), а также вредных веществ (радионуклидов, токсичных металлов, азотсодержащих соединений, полициклических ароматических соединений, ветеринарных препаратов, пестицидов, микотоксинов).

Для студентов химических специальностей, изучающих дисциплины «Аналитическая химия», «Анализ пищевых продуктов», «Безопасность продуктов питания».

УДК 664(075.8)

ISBN 978-5-7996-1568-0

© Уральский федеральный университет, 2015

ПРЕДИСЛОВИЕ

Питание является одним из основных условий существования человека. Количество, качество, ассортимент потребляемых пищевых продуктов, своевременность и регулярность приема пищи решающим образом влияют на человеческую жизнь во всех ее проявлениях.

Правильное питание — важнейший фактор здоровья, оно положительно сказывается на работоспособности человека и его жизнедеятельности и в значительной мере определяет длительность жизни, задерживая наступление старости.

Среди условий внешней среды, постоянно воздействующих на человеческий организм, питанию, несомненно, принадлежит наибольший удельный вес. Однако пища имеет принципиальное отличие от всех других факторов внешней среды — в процессе питания она превращается из внешнего во внутренний фактор, и более того, ее элементы трансформируются в энергию физиологических функций и структурные элементы органов и тканей человека. Именно поэтому питание является основным фактором в обеспечении нормального роста и развития человеческого организма, его трудоспособности, адаптации к воздействию различных агентов внешней среды, и в конечном итоге можно считать, что фактор питания оказывает определяющее влияние на длительность жизни и активную деятельность человека.

В учебном пособии приведен материал по химии как нутриентов, так и веществ, загрязняющих пищевые продукты и продовольственное сырье. Кроме этого изложены методы исследования, позволяющие контролировать качество и безопасность получаемых продуктов питания.

ВВЕДЕНИЕ

Основные термины и определения

В соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы», *пищевые продукты* — это продукты в натуральном или переработанном виде, употребляемые человеком в пищу (в том числе продукты детского питания, продукты диетического питания), бутилированная питьевая вода, алкогольная продукция (в том числе пиво), безалкогольные напитки, жевательная резинка, а также продовольственное сырье, пищевые добавки и биологически активные вещества.

В настоящих Санитарных правилах используются следующие основные термины и определения:

- *продукты детского питания* — предназначенные для питания детей в возрасте до 14 лет и отвечающие физиологическим потребностям детского организма пищевые продукты;
- *продукты диетического питания* — предназначенные для лечебного и профилактического питания пищевые продукты;
- *продовольственное сырье* — сырье растительного, животного, микробиологического, минерального и искусственного происхождения и вода, используемые для изготовления пищевых продуктов;
- *пищевые добавки* — природные или искусственные вещества и их соединения, специально вводимые в пищевые продукты в процессе их изготовления в целях придания пищевым продуктам определенных свойств и/или сохранения качества пищевых продуктов;

- *биологически активные добавки* — природные (идентичные природным) биологически активные вещества, предназначенные для употребления одновременно с пищей или введения в состав пищевых продуктов.

Пища — это совокупность пищевых продуктов (натуральных или подвергнутых промышленной или кулинарной обработке), пригодных для непосредственного употребления. Среднее потребление пищи в сутки составляет около 800 г (без воды), воды — около 2000 г. Все, кроме кислорода, человек получает для своей жизнедеятельности из пищи и воды.

Продукты питания, используемые современным человеком, являются не только носителем пластических и энергетических материалов, но и источником компонентов неалиментарного (непищевого) характера, среди которых немало компонентов природного или антропогенного происхождения. Другими словами, пища является источником необходимых организму пищевых и биологически активных веществ, но наряду с этим и источником различных ксенобиотиков (чужеродных веществ) — радионуклидов, ядохимикатов (пестицидов), нитратов, нитритов, микотоксинов, разного рода биологических загрязнителей (микроорганизмов, вирусов, гельминтов) и др.

Химический состав продуктов питания как в традиционном его понимании (содержание пищевых и биологически активных веществ — белков, жиров, углеводов, витаминов, минеральных микро- и макрокомпонентов, воды), так и с учетом неалиментарных компонентов оказывает регулирующее влияние практически на все системы живого организма, ответственные за транспорт, метаболизм, обезвреживание и элиминацию (выведение) ксенобиотиков.

Пищевые продукты должны удовлетворять физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии, соответствовать установленным нормативными документами требованиям к допустимому содержанию химических, радиоактивных, биологически активных веществ и их соединений, микроорганизмов и других биологических организмов, представляющих

опасность для здоровья нынешних и будущих поколений, и отвечать обычно предъявляемым к пищевым продуктам требованиям в части органолептических и физико-химических показателей.

В течение долгого времени продукты питания не были серьезным объектом массового химического анализа. Разумеется, их химический состав изучали на предмет оценки пищевой ценности, т. е. определяли содержание белков (в том числе наличие разных аминокислот), жиров, различных типов углеводов, разных витаминов, ряда химических элементов.

Контроль пищевых продуктов на стадиях их изготовления, хранения, распространения и тем более потребления если проводился, то эпизодически и на небольшое число показателей. Подробное изучение некоторых пищевых продуктов началось сравнительно недавно. Лишь во второй половине XX в., ближе к его концу, анализ и контроль пищи приобрели большое значение. Основными причинами того, что продукты питания вошли в число объектов, наиболее важных не только для аналитической химии, являются:

- 1) расширение ассортимента продуктов;
- 2) рост объемов производства новых товаров и изделий;
- 3) изменение сырьевых источников;
- 4) углубление знаний о влиянии тех или иных ингредиентов пищи на здоровье человека;
- 5) фальсификация продуктов, подделки;
- 6) совершенствование, в том числе и ускорение, методов анализа.

Если на начальных этапах анализа пищевых продуктов оценивали, прежде всего, пищевую ценность, то впоследствии стали оценивать и их безопасность.

Под *безопасностью пищевых продуктов* понимается состояние обоснованной уверенности в том, что пищевые продукты при обычных условиях их использования не являются вредными и не представляют опасности для здоровья нынешнего и будущих поколений.

Правовое регулирование в сфере обеспечения безопасности пищевых продуктов осуществляют, в первую очередь, законы Российской Федерации. Далее следуют нормативные акты (документы), такие как постановления Правительства РФ, министерств и ведомств.

Нормативные документы — документы (государственные стандарты, санитарные и ветеринарные правила и нормы), устанавливающие требования к качеству и безопасности пищевых продуктов, материалов и изделий, контролю за их качеством и безопасностью, условиям их изготовления, хранения, перевозок, реализации и использования, утилизации или уничтожения некачественных, опасных пищевых продуктов, материалов и изделий.

Основой нормативно-правового обеспечения государственной политики в сфере здорового питания населения, добросовестной деятельности хозяйствующих субъектов в области производства и оборота пищевых продуктов, обеспечения защиты прав потребителя и охраны здоровья граждан от некачественных и опасных пищевых продуктов является Федеральный закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 2 января 2000 г. № 29-ФЗ (с изм. на 31 марта 2006 г.).

Документы, в соответствии с которыми осуществляются изготовление, хранение, перевозки и реализация пищевых продуктов, материалов и изделий (технические условия, технологические инструкции, рецептуры и др.), называются *техническими документами*.

Нормативно-технические документы — это документы, которые содержат конкретные требования к продуктам, способам их производства, методам определения их безопасности. К ним относятся:

- санитарные правила и нормы (СанПиН), определяющие санитарно-гигиенические показатели продукции;
- методические указания (МУ), регламентирующие способы определения качества продуктов, их безопасности и т. п.;
- стандарты, которые подразделяют на государственные (ГОСТ), отраслевые (ОСТ), предприятий (СТП);

- технические условия (ТУ), устанавливающие требования к конкретным типам и маркам продукции. Они разрабатываются обычно на продукцию, выпускаемую небольшими партиями, либо на продукцию, осваиваемую в производстве.

Следует отметить, что ТУ, как правило, разрабатываются производителями самостоятельно, а документы, необходимые для утверждения ТУ в Санэпиднадзоре или Институте питания РАН, не являются достаточно строгими. Поэтому ТУ позволяют на легальной основе жертвовать качеством продуктов ради удешевления производства, что нередко используют недобросовестные производители. Заметим, что продукт, выпущенный по ТУ, не является опасным для здоровья. Можно лишь говорить о том, что качество такого продукта обычно уступает качеству продукта, произведенного по ГОСТу.

Под *качеством* пищевых продуктов понимают совокупность их характеристик, способных удовлетворять потребности человека в пище при обычных условиях использования этих продуктов.

Сертификация и декларирование

Одним из важных этапов контроля качества товара является сертификация, представляющая собой процедуру подтверждения качества и соответствия продукции стандартам качества. При сертификации оценку товара производит третья сторона (орган сертификации), не зависящая ни от поставщика, ни от потребителя продукции. В России главной организацией по сертификации является Ростехрегулирование (Госстандарт). Следует отметить, что сертификация продукции в России необходима не только для реализации той или иной продукции, но и для целей таможенного оформления.

В России действуют различные виды сертификации. Наиболее востребованным видом является система сертификации ГОСТ Р, включающая в себя систему обязательной и добровольной сертификации. По результатам проведения испытаний и процедуры сертификации выдается соответствующий сертификат соответствия.

Обязательная сертификация — это система сертификации продукции, подтверждение безопасности которой является обязательным требованием законодательства в области технического регулирования. Обязательная сертификация продукции применяется для подтверждения качества и безопасности как импортных, так и отечественных товаров, которые так или иначе могут повлиять на безопасность людей, их имущество и окружающую среду.

Обязательный сертификат соответствия — документ, который подтверждает соответствие продукции утвержденным ГОСТам в обязательном порядке. Необходимость оформления сертификата зафиксирована в Законе о техническом регулировании и постановлениях Правительства РФ. Список продукции, которая должна пройти обязательную сертификацию, утверждается постановлением Правительства РФ. Это бланк желтого цвета, строгой отчетности, со своим учетным номером.

Добровольная сертификация — это официально установленная система, которая применяется для тех товаров, услуг или оборудования, подтверждение качества которых не является обязательным требованием законодательства. Система добровольной сертификации регулируется законодательством наравне с остальными действующими системами. Данная форма подтверждения соответствия обычно проводится по желанию производителя, продавца товаров или по требованию заказчика. Система добровольной оценки соответствия практически не отличается от обязательной, так как в том и другом случае требуется идентичный пакет документов.

Добровольный сертификат соответствия — это документ, который подтверждает определенные показатели качества продукции, которые производитель/поставщик продукции заявляет самостоятельно, на свое усмотрение, в добровольном порядке. Для проведения добровольной сертификации продукции производитель (или поставщик) предоставляет технические условия, регламенты производства или ГОСТы, на соответствие которым может проверить свою продукцию.

Сертификат выдается на голубом бланке, также установленного образца, в левом верхнем углу обязательно имеется надпись «Добровольная сертификация».

Прохождение добровольной сертификации продукции повышает ее конкурентоспособность.

В соответствии с правилами сертификации и Законом о техническом регулировании на товары, существует Перечень товаров, подлежащих обязательному подтверждению соответствия. Поэтому если продукция не включена в Перечень товаров, то для нее проводится добровольная сертификация и оформляется добровольный сертификат соответствия.

Нужно отметить и другие виды сертификации продукции, например, сертификацию пожарной безопасности и государственную регистрацию в Роспотребнадзоре. Ранее действовал такой вид сертификации продукции, как гигиеническая, или санитарно-эпидемиологическая. На многие товары народного потребления требовались так называемые гигиенические сертификаты, но с 1 июля 2010 г. выдача данных документов больше не производится.

В начале 2010 г. сертификация пищевых продуктов претерпела ряд изменений. До этого времени все пищевые продукты подлежали обязательной сертификации. Истоки этой законодательной нормы уходят своими корнями в тяжелые 90-е гг., когда на территорию нашей страны хлынул поток импортных продуктов питания, многие из которых были низкокачественными. Для защиты потребителей и была введена обязательная сертификация продуктов питания в России.

В соответствии с постановлением Правительства РФ от 1 декабря 2009 г. № 982, вступившим в силу 15 февраля 2010 г., была изменена номенклатура товаров, подлежащих обязательному подтверждению соответствия. Обязательная сертификация продуктов питания была заменена обязательной процедурой декларирования соответствия.

Декларирование соответствия, как и сертификация, является формой подтверждения соответствия продукции или услуг установленным стандартам качества.

Декларация соответствия — это документ, в котором изгото-витель/поставщик продукции удостоверяет, что производимая/поставляемая им продукция соответствует требованиям технических регламентов или соответствующих нормативных документов (ГОСТов).

Основным отличием декларации и сертификатов соответствия является более упрощенная процедура оформления. Декларация соответствия, в отличие от сертификата, не имеет утвержденного бланка и заполняется на обычном листе формата А4.

Декларированию подлежит продукция, включенная в Перечень продукции, соответствие которой может быть подтверждено декларацией соответствия. Декларацию о соответствии вправе принимать юридические и физические лица, являющиеся продавцами или изготовителями, либо официальное представительство зарубежной компании, зарегистрированное в налоговом органе РФ.

Данная декларация принимается на основании собственной доказательной базы, как правило, подтвержденной независимой экспертизой, а орган по сертификации выступает только лишь регистратором данной декларации.

Подписывая декларацию, производитель подтверждает тем самым качество своей продукции и ее соответствие действующим нормам и стандартам и берет на себя ответственность, так как декларация является юридическим документом, обладающим на территории Российской Федерации такой же силой, как и сертификат.

Сертификация продуктов питания или декларирование соответствия проводится для того, чтобы создать благоприятные условия для профессиональной деятельности фирм и компаний, которые занимаются производством и продажей продуктов питания, а также чтобы эти компании могли участвовать в международной жизни и торговле. Также сертификация проводится для того, чтобы уберечь граждан от некачественных продуктов, которые могут негативно повлиять на здоровье и жизнь человека.

Маркировка пищевых продуктов

На упакованные пищевые продукты, реализуемые без дальнейшей переработки на территории Российской Федерации потребителям или поставляемые предприятиям общественного питания, распространяется Федеральный закон «О маркировке пищевых продуктов», устанавливающий общие требования к маркировке пищевых продуктов. *Маркировка пищевого продукта* — это любые сведения, обозначения, рисунки или знаки, которые относятся к пищевому продукту и присутствуют на этикетке или другом виде носителя, сопровождающем упакованный пищевой продукт.

Элементы маркировки пищевого продукта, о которых речь будет идти ниже, в соответствии с Федеральным законом должны указываться непосредственно на упаковке, и/или этикетке (контрэтикетке, кольеретке), и/или ярлыке, и/или листе-вкладыше, прилагаемом к каждой единице индивидуальной потребительской упаковки. Эта информация должна быть представлена на русском языке. Обязательные для нанесения элементы маркировки должны быть легко читаемы и понимаемы и не вводить в заблуждение потребителей. Пищевые продукты, не имеющие маркировки, не могут находиться в обороте и подлежать реализации.

Маркировка пищевого продукта должна содержать следующие обязательные сведения, представляемые на русском языке:

1. Наименование продукта. Наименование продукта должно достоверно описывать продукт и позволять покупателю отличать данный вид пищевого продукта от других видов пищевых продуктов. Оно может быть дополнено товарным знаком, фантастичным названием, местом происхождения.

Информация об отличительных свойствах и специальных методах обработки (молотый, копченый, маринованный, сублимированный, восстановленный и др.) должна включаться в наименование пищевого продукта или располагаться в непосредственной близости от него.

При включении в состав продуктов ароматизаторов, имитирующих наличие в них каких-либо пищевых ингредиентов, в их

наименовании указывают, что эти продукты являются продуктами со вкусом и/или ароматом. Для продуктов с ароматизаторами, имеющими аромат, не присущий конкретному пищевому продукту, указывают, что они являются ароматизированными (без указания конкретного аромата).

Наименование не должно вводить в заблуждение о месте происхождения товара.

2. Состав продукта. Состав указывают для продуктов, состоящих более чем из одного ингредиента. В составе пищевого продукта указывают все его ингредиенты в порядке уменьшения их массовой доли на момент изготовления пищевого продукта. При содержании ингредиентов с массой долей менее 2 % допускается перечислять их в произвольном порядке в конце списка ингредиентов. Перед списком ингредиентов должен быть заголовок «Состав».

При наличии в составе ароматизаторов должен быть указан тип ароматизатора (натуральный, идентичный натуральному, искусственный).

Используемые в качестве ингредиентов вещества или продукты, которые могут способствовать возникновению аллергических реакций или противопоказаны при отдельных видах заболеваний, приводятся в составе пищевого продукта независимо от их количества.

Указание состава пищевого продукта **не требуется** для: 1) свежих фруктов, ягод и овощей (включая картофель), которые не очищены от кожуры, не нарезаны или не обработаны аналогичным способом; 2) уксуса, полученного из единственного вида сырья без использования других ингредиентов; 3) продуктов, состоящих из одного ингредиента, в случае если наименование продукта совпадает с наименованием ингредиента либо если наименование продукта позволяет однозначно определить этот ингредиент.

3. Количество продукта. Количество пищевого продукта указывается в единицах объема, а именно литр, миллилитр, или в единицах массы нетто, а именно килограмм (кг), грамм (г).

4. Срок годности. Срок годности устанавливает изготовитель пищевых продуктов. В маркировке срок годности указывается одним из следующих способов:

- а) при сроке годности менее 72 часов:
 - «годен до... (час, день и месяц)»,
 - «годен... часов» с указанием часа и даты изготовления;
- б) при сроке годности от 72 часов до 3 месяцев:
 - «годен до... (день, месяц и год)»;
- в) при сроке годности от 3 месяцев и более:
 - «годен до конца... (месяц и год)» или «годен до... (день, месяц, год)».

Допускается указывать срок годности в виде «годен... (суток, месяцев или лет)» с указанием даты изготовления, от которой исчисляют срок годности. Дату изготовления наносят в виде чисел, обозначающих день, месяц и год.

Указание срока годности **не требуется** для: 1) свежих фруктов, ягод и овощей, которые не очищены от кожуры, не нарезаны или не обработаны аналогичным способом, за исключением зародышей семян и аналогичных продуктов (например, побегов бобовых); 2) алкогольной продукции, крепостью выше 10 %; 3) уксуса; 4) пищевой соли; 5) сахара в твердой форме; 6) кондитерских изделий, состоящих из ароматизированных и/или подкрашенных сахаров; 7) жевательной резинки; 8) меда натурального.

Пищевые продукты, для которых изготовитель установил неограниченный срок годности, маркируются в виде «Срок годности не ограничен».

5. Условия хранения, если они установлены изготовителем.

6. Наименование и место нахождения изготовителя. Наименование и место нахождения изготовителя продукции указывается во всех случаях, независимо от того, изготовлена продукция в Российской Федерации или за ее пределами. Место нахождения указывается в виде почтового адреса изготовителя.

Для изготовителей, расположенных вне территории Российской Федерации, место нахождения изготовителя допускается указывать латинскими буквами и арабскими цифрами или на языке

страны изготовителя при условии повторения наименования страны на русском языке.

Зарегистрированные на территории Российской Федерации организация либо индивидуальный предприниматель, уполномоченные изготовителем на принятие претензий от потребителей, должны быть указаны в случаях, когда наименование или место нахождения такой организации или индивидуального предпринимателя не совпадают с наименованием или местом нахождения изготовителя либо когда изготовитель расположен вне территории Российской Федерации.

7. Рекомендации по приготовлению или употреблению пищевых продуктов, в случае, если правильное их использование без такой информации затруднено, а неправильное их приготовление и/или использование может нанести вред здоровью потребителей, их имуществу, привести к порче или неэффективному использованию продукта.

8. Пищевая ценность продукта. Информация о пищевой ценности представляет собой количественные сведения, предназначенные для информирования потребителей о питательных свойствах продукта. Информация о пищевой ценности должна быть приведена в расчете на 100 г, или 100 см³, или на одну порцию продукта при обязательном указании величины порции.

Значения, приводимые при маркировке пищевой ценности, определяются изготовителем аналитическим или расчетным путем.

Сведения о пищевой ценности включают:

- информацию об энергетической ценности или калорийности (должна быть выражена в килокалориях);
- информацию о количестве белков, усвояемых углеводов, сахаров, клетчатки, жиров, насыщенных жирных кислот, натрия (должна быть выражена в граммах). Для расчета содержания углеводов учитывают все углеводы, которые подвергаются метаболизму в организме человека, а также полиолы. Для расчета содержания жиров учитывают липиды, в том числе фосфолипиды;

- информацию о витаминах и минеральных веществах (должна быть выражена в единицах системы СИ или международных единицах).

При указании количества β -каротина (провитамина А) используется следующий переводной коэффициент: 1 мкг ретинола (ретинолового эквивалента) соответствует 6 мкг β -каротина.

Сведения о содержании белков, жиров, углеводов, натрия и энергетической ценности (калорийности) обязательно приводятся в случае, если их количество в одноразовой порции или в 100 г (100 см³) пищевого продукта составляет не менее 2 %, а для минеральных веществ и витаминов не менее 5 % от рекомендуемого суточного потребления.

Для целей маркирования пищевой ценности продукта используют значения рекомендуемой суточной нормы энергетической ценности (калорийности) и потребления нутриентов средним взрослым человеком, приведенные в табл. 1, составленной с учетом «Норм физиологической потребности в пищевых веществах и энергии» (1991) и рекомендаций ФАО-ВОЗ.

Значения, приводимые при маркировке пищевой ценности, определяются изготовителем аналитическим или расчетным путем.

Обозначение пищевой ценности **не выполняется** для вкусовых продуктов (чай, кофе, уксус, специи, поваренная соль, жевательная резинка, пищевые добавки, ароматизаторы), сырых пищевых продуктов (мясо, птица, рыба, овощи, ягоды, фрукты, грибы), а также для нефасованных готовых кулинарных и выпеченных изделий и продукции общественного питания.

9. Содержание алкоголя в объемных долях для напитков с содержанием алкоголя свыше 1,5 % об.

10. Наличие в продукте ингредиентов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов или с их использованием.

Таблица 1

**Рекомендуемая суточная норма энергетической ценности
(калорийности) и потребления нутриентов
средним взрослым человеком**

Элементы пищевой ценности	Рекомендуемая суточная норма потребления
Энергетическая ценность (калорийность)	2500 ккал
Белки	75 г
Жиры	83 г
в том числе:	
полиненасыщенные жирные кислоты	11 г
насыщенные жирные кислоты, не более	25 г
холестерин, не более	300 мг
Усвояемые углеводы	365 г
в том числе сахар (сахароза)	65 г
Клетчатка (пищевые волокна)	30 г
Витамин А (на ретиноловый эквивалент)	1000 мкг
Витамин D	5 мкг
Витамин Е (на токофероловый эквивалент)	10 мг
Витамин С	70 мг
Тиамин	1,5 мг
Рибофлавин	1,8 мг
Ниацин (на ниациновый эквивалент)	20 мг
Витамин В ₆	2,0 мг
Фолиевая кислота	200 мкг
Витамин В ₁₂	3 мкг
Биотин	150 мкг
Пантотеновая кислота	6 мг
Кальций	1000 мг
Фосфор	1000 мг
Железо	14 мг
Магний	400 мг
Цинк	15 мг
Йод	0,15 мг
Селен	0,07 мг
Калий	3500 мг
Натрий, не более	2400 мг

Пищевые продукты, содержащие в своем составе ингредиенты, полученные с использованием генно-инженерно-модифицированных организмов, маркируются в соответствии с законодательством Российской Федерации в области изготовления, регистрации и оборота таких пищевых продуктов.

Кроме справочной информации на этикетках обычно размещается маркировочно-условная информация.

В первую очередь это товарный знак, или торговая марка. Товарный знак может присваиваться не только отдельному товару, но и их группе. Товарный знак, являющийся собственностью фирмы, сопровождается символом ©. Товарный знак, зарегистрированный в международном реестре, сопровождается символом ®.

В числе сведений, обязательных для обозначения на этикетках, есть информация о сертификации товара. Если продукт питания изготавливается серийно, для обозначения сертификации используют знак соответствия. Продукция, сертифицированная на соответствие стандартам России, маркируется знаком РСТ (рис. 1).



Рис. 1. Знаки соответствия:

а — знак соответствия при обязательной сертификации; *б* — знак соответствия при добровольной сертификации; *в* — знак соответствия при декларировании соответствия; *г* — знак соответствия техническому регламенту; *д* — знак обращения продукции на рынке Таможенного союза (знак ЕАС)

В том случае, если товар подлежит обязательной сертификации и на него был оформлен обязательный сертификат соответствия, то продукция маркируется знаком соответствия (РСТ) обязательной сертификации (рис. 1, *а*). В данном знаке отражена информация об органе сертификации, который выдал сертификат

соответствия. Буквенное и цифровое обозначение соответствует номеру органа по сертификации.

После проведения добровольной сертификации и получения заявителем или производителем сертификата соответствия продукция маркируется знаком соответствия добровольной сертификации (рис. 1, б). В данном знаке соответствия отражена информация «добровольная сертификация». Нанесение данного знака не является обязательным требованием законодательства. При маркировке товара знаком добровольной сертификации код органа по сертификации не отражается.

В том случае, если продукция или оборудование подлежат декларированию соответствия и предприятие зарегистрировало декларацию о соответствии, то продукция маркируется знаком соответствия без информационного кода органа сертификации (рис. 1, в). Нанесение данного знака является обязательным требованием при маркировке товаров, которые отражены в номенклатуре продукции и подлежат подтверждению качества в форме принятия декларации о соответствии.

Товар или определенное оборудование, подлежащее обязательной сертификации по техническому регламенту, маркируются знаком обращения на рынке. Знак соответствия техническому регламенту (рис. 1, г) наносится на те товары, в отношении которых уже действует технический регламент и был получен сертификат соответствия техническому регламенту (ТР).

Знаком соответствия ЕАС (рис. 1, д) маркируется продукция, которая подлежит обязательной сертификации или декларированию соответствия по требованиям технических регламентов Таможенного союза. Данный знак информирует потребителя о том, что на продукцию был оформлен сертификат или декларация Таможенного союза.

В странах Европейского экономического сообщества в качестве единого знака соответствия применяется знак «СЕ», подтверждающий соответствие продукции предписаниям европейских директив и нормативных документов. Маркировка этим знаком свидетельствует о высоком качестве продукции.

Приводится также и штрих-код (рис. 2), содержащий закодированную информацию о товаре и его производителе в виде, пригодном для автоматического считывания и нанесения.



Рис. 2. Штрих-код

Штрих-код состоит из двух частей — штриховой, которая предназначена для сканирования с помощью лазерного или светодиодного сканера, и цифровой. Наиболее часто встречается тринадцатизначный штриховой код. В этом коде первые две (а в ряде случаев три) цифры обозначают страну-изготовитель. Строго говоря, штриховой код не может служить свидетельством страны происхождения товара. По префиксу можно определить только в какой национальной организации — члене Международной организации GS1 (ранее — EAN international) зарегистрировано то или иное предприятие. Следующие четыре или пять цифр обозначают организацию-изготовитель, далее пять цифр — с восьмой по двенадцатую — содержат информацию о товаре. С помощью этих цифр кодируются наименование товара, сорт, масса и многие другие данные.

Последняя тринадцатая цифра является контрольной и может быть получена путем расчета из первых двенадцати цифр следующим образом:

- 1) сложить цифры, стоящие на четных местах штрих-кода ($6 + 7 + 0 + 9 + 0 + 8 = 30$);
- 2) полученную сумму умножить на 3 ($30 \cdot 3 = 90$);
- 3) сложить цифры, стоящие на нечетных местах, кроме последней тринадцатой цифры ($4 + 0 + 0 + 2 + 9 + 1 = 16$);
- 4) сложить числа, полученные в пунктах 2 и 3 ($90 + 16 = 106$);
- 5) отбросить десятки ($106 - 100 = 6$);
- 6) из числа 10 вычесть число, полученное в пункте 5 ($10 - 6 = 4$).

Идентификация пищевых продуктов

Идентификация является одной из процедур обязательной сертификации пищевых продуктов. *Идентификация* — это установление соответствия характеристик продукции, указанных на маркировке и/или в сопроводительных документах, предъявляемым требованиям нормативных и технических документов.

Критерии идентификации можно разделить на две группы: органолептические и физико-химические.

Органолептические методы — методы определения значений показателей качества с помощью органов чувств.

Согласно СанПиН 2.3.2.1078, органолептические свойства пищевых продуктов определяются показателями вкуса, цвета, запаха и консистенции, характерными для каждого вида продукции, и должны удовлетворять традиционно сложившимся вкусам и привычкам населения. Органолептические свойства пищевых продуктов не должны изменяться при их хранении, транспортировке и в процессе реализации. Кроме этого пищевые продукты не должны иметь посторонних запахов, привкусов, включений, отличаться по цвету и консистенции от присущих данному виду продукта.

Органолептические показатели качества (цвет, вкус, запах, консистенция, хруст и т. п.) имеют огромное значение для оценки качества пищевых продуктов и продовольственного сырья. Они дают первое представление об их свежести и доброкачественности, т. е. позволяют установить качество продукта.

Для некоторых продуктов (вины, чай) органолептическая оценка является пока единственным способом определения их качества и сорта.

Большинство методов, оценивающих органолептические показатели, являются субъективными. Для повышения объективности оценки свойств пищевых продуктов и исключения ошибок органолептическую оценку производят в специальных дегустационных лабораториях. Органолептическая оценка пищевых продуктов осуществляется комиссией экспертов-дегустаторов.

Дегустационную комиссию формируют из числа лиц, прошедших проверку на сенсорную чувствительность.

В органолептической оценке участвуют все пять органов чувств человека, в зависимости от которых и методы подразделяются на пять подгрупп: визуальный, осязательный, обонятельный, вкусовой и аудиометод.

Визуальный метод — это метод, основанный на восприятии внешнего вида и/или цвета объекта с помощью зрения. Внешний вид является комплексным показателем, который включает форму, цвет (окраску), состояние поверхности, целостность и определяется визуально. С помощью зрения человек получает наибольшую информацию (70–80 %).

Органолептическую оценку цвета возможно заменить более точными и объективными методами: фотоэлектроколориметрическим и спектрофотометрическим.

Осязательный метод — метод, основанный на восприятии консистенции или состояния поверхности с помощью тактильных ощущений.

Обонятельный метод применяется при оценке запаха всех пищевых продуктов, а также отдельных групп непродовольственных товаров (например, парфюмерно-косметических, стиральных порошков, других моющих средств и т. п.).

Вкусовой метод — общий и обязательный метод для оценки всех пищевых продуктов; для непродовольственных товаров неприменим. При оценке качества пищевых продуктов вкусовой метод почти всегда применяется в сочетании с обонятельным.

Аудиометод (акустический) имеет наибольшее значение для оценки отдельных групп непродовольственных товаров и реже применяется для продовольственных товаров. Особенno важен этот метод для таких групп товаров, как музыкальные инструменты, аудио- и видеотехника, посуда.

Для пищевых продуктов аудиометод имеет второстепенное значение и небольшую сферу применения, так как результаты оценки лишь косвенно и не всегда достоверно свидетельствуют о качестве этих продуктов. Они в ряде случаев лишь дополняют

ощущения. Так, у соленых огурцов, квашеной капусты, моченых и свежих яблок ценится упругая, хрустящая консистенция; хруст, возникающий при их пережевывании, воспринимается органами слуха и подчеркивает упругость и твердость консистенции этих продуктов.

К достоинствам органолептических методов относятся доступность и быстрота определений значений показателей качества, а также отсутствие дорогостоящего оборудования при измерениях.

Однако органолептическая система оценки качества не учитывает пищевой ценности продукта. Поэтому для выявления пищевого достоинства и безвредности продукта органолептическое исследование дополняется методами количественного анализа.

Современные **методы количественного анализа** классифицируют по измеряемым свойствам, таким как масса вещества, объем раствора реактива, интенсивность спектральных линий элементов, поглощение видимого инфракрасного (ИК) и ультрафиолетового (УФ) излучения, вращение плоскости поляризации, электродный потенциал и т. п.

Методы количественного анализа подразделяют на химические, инструментальные и биологические.

К химическим методам относятся гравиметрический и титриметрический анализы, самые старые, «классические» методы.

Химические методы анализа не всегда удовлетворяют современным требованиям. В настоящее время существуют тенденции к разработке не только высокочувствительных, но и так называемых «экспрессных», т. е. ускоренных, методов анализа, таких как физические и физико-химические методы анализа. Физические и физико-химические методы анализа условно называют *инструментальными*. Некоторые из физических и физико-химических методов отличаются высокой чувствительностью и быстротой выполнения. Сочетание различных инструментальных методов при анализе веществ ведет к возникновению новых современных «гибридных» методов.

Из физических методов для анализа пищевых продуктов широко используются такие методы, как рефрактометрия

(установление натуральности и чистоты масел и жиров по углу преломления луча света), поляриметрия (установление вида сахара и его концентрации в растворе).

Кроме того, существуют так называемые *методы разделения* смесей веществ (или ионов). К ним, помимо различных видов хроматографии, относят экстракцию органическими растворителями и ряд других методов.

Биологические методы анализа основаны на том, что для жизнедеятельности — роста, размножения и вообще нормального функционирования живых существ необходима среда строго определенного химического состава. При изменении этого состава, например, при исключении из среды какого-либо компонента или введении дополнительного (определенного) соединения организм через какое-то время, иногда практически сразу, подает соответствующий ответный сигнал. Установление связи характера или интенсивности ответного сигнала организма с количеством введенного в среду или исключенного из среды компонента служит для его обнаружения и определения.

Для исследования качества пищевых продуктов применяются микробиологические методы, с помощью которых устанавливаются общая бактериальная обсемененность, наличие болезнетворных, гнилостных и других микробов, вредных для организма человека и ускоряющих порчу продуктов при хранении.

Такие исследования проводятся пищевыми лабораториями санэпидемстанций, осуществляющих надзор за санитарным состоянием пищевых предприятий, предприятий торговли и общественного питания.

Схема химического анализа

Химический анализ — это совокупность действий, позволяющих установить качественный и количественный состав анализируемого объекта. Химический анализ — это сложный многостадийный процесс.

Стандартная схема процесса анализа начинается с превращения задачи в форме, поставленной потребителем, в собственно аналитическую задачу.

Зная цель и задачи, которые нужно решить, выбирают метод анализа, оценивают достоинства и недостатки доступных методов анализа. При выполнении рутинных анализов проб с примерно известным содержанием интересующих компонентов по отработанной методике вопрос о выборе метода анализа, естественно, не возникает. Однако при анализе оригинальных систем обоснование и выбор метода анализа становится весьма важным.

Аналитический цикл включает в себя следующие стадии: отбор пробы, ее обработка для подготовки к определению, собственно определение (получение аналитического сигнала) и обработка результатов (рис. 3).

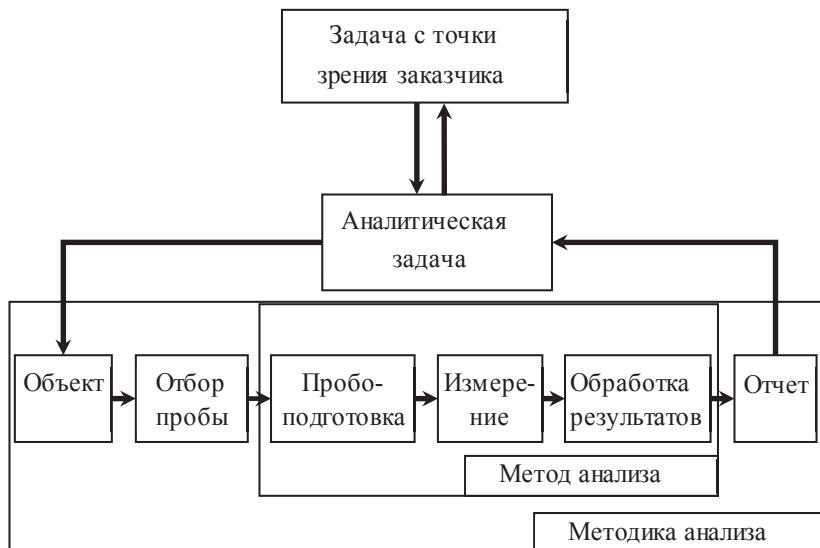


Рис. 3. Схема химического анализа

1. Отбор и усреднение пробы, взятие навески.

Успех химического анализа в решающей мере зависит от качества отбора пробы. Проба должна удовлетворять ряду требований.

Во-первых, она должна быть *представительной* по отношению к объекту анализа, т. е. состав пробы и всей партии объекта анализа должны быть идентичными. Необходимо так отобрать пробу, чтобы она по своему составу соответствовала составу всей партии материала.

Во-вторых, проба не должна содержать никаких загрязнений — ни из устройства пробоотбора, ни из материалов контейнера, ни из воздуха, ни из консервирующего реагента.

В-третьих, вплоть до выполнения анализа проба должна быть *устойчивой*. Для этого ее иногда приходится специально консервировать. Из нее не должны выделяться никакие вещества, и никакие вещества не должны проникать внутрь пробы. Следует также предотвращать протекание возможных химических (окисление, восстановление) или биохимических (с участием бактерий) реакций. Ход транспортировки и хранения пробы следует точно документировать.

В-четвертых, проба должна быть представлена в *количестве, достаточном для анализа*.

Методы отбора пробы, как и ее сокращение, в сильной мере зависят от анализируемого материала.

Отбор пробы — очень ответственная и важная подготовительная операция анализа. Неправильно отобранная проба может совершенно исказить результаты, в этом случае вообще бессмысленно выполнять дальнейшие операции анализа.

Отбор проб продовольственного сырья и пищевых продуктов для анализа проводят в соответствии с нормативной документацией, регламентирующей отбор проб конкретных видов продовольственного сырья и пищевых продуктов.

2. Подготовка пробы к анализу (пробоподготовка).

Данный этап процесса анализа состоит в подготовке пробы к измерению. При подготовке пробы к анализу можно выделить три основные стадии:

1) высушивание. Высушивание используют для удаления влаги из образца. Содержание определяемого компонента обычно рассчитывают, исходя из навески высушенного при определенных

условиях образца. Если нужно установить состав первоначально отобранного материала, то следует определить массу, потерянную при высушивании;

2) разложение (вскрытие) пробы (чаще с переведением пробы в раствор). Эти способы пробоподготовки применяют для перевода твердой пробы в раствор, который часто бывает необходим для последующих аналитических операций, а также для удаления из образца определенных компонентов.

Выбор способа разложения пробы и переведения ее компонентов в раствор зависит от природы основы (матрицы) объекта, химического состава образца, химических свойств определяемого компонента. Так, например, при определении одного и того же элемента (например, кобальта, цинка или железа) в крови, пищевых продуктах или сплавах и минералах выбор способа разложения образцов зависит от природы объекта.

Способы разложения издавна делят на «сухие» и «мокрые»: к первым относят термическое разложение, сплавление и спекание с различными веществами (соли, оксиды, щелочи и их смеси); ко вторым — растворение анализируемой пробы в различных растворителях. При выборе растворителя или реагента для разложения пробы необходимо учитывать мешающее действие вводимых веществ при последующем определении интересующего компонента (компонентов).

Нередко приходится применять комбинированные способы вскрытия пробы: сначала проводят кислотную обработку взятой пробы при нагревании, а затем нерастворившийся остаток сплавляют с подходящим плавнем;

3) устранение влияния мешающих компонентов. В анализируемой пробе, как правило, наряду с определяемым компонентом присутствуют посторонние или мешающие вещества, которые затрудняют непосредственное определение интересующего элемента.

Устранить мешающие компоненты можно двумя способами. Один из них — маскирование. Это перевод мешающих компонентов в такую форму, которая уже не оказывает мешающего влияния.

Определяемый компонент при этом комплекса не образует или его устойчивость крайне невелика. Операцию можно проводить непосредственно в анализируемой системе, причем мешающие компоненты остаются в той же системе, например в том же растворе.

Маскирование не всегда удается осуществить, особенно при анализе многокомпонентных смесей. В этом случае используют другой способ — разделение веществ (или концентрирование). Метод разделения выбирают в зависимости от физико-химических свойств определяемого соединения и мешающих элементов.

3. Количественное измерение.

При количественном измерении определяют интенсивность аналитического сигнала, т. е. числовое значение свойства, связанное с количеством или содержанием анализируемого компонента. По результатам количественного измерения с помощью уравнения связи рассчитывают содержание определяемого элемента в пробе.

4. Обработка результатов измерений.

Это заключительный этап анализа. Обработка измеренных величин сигналов и преобразование их в аналитическую информацию — касающуюся природы и количества вещества, его химической структуры или пространственного распределения в образце — является важной частью процесса анализа. Расчет результатов основывается на использовании несложных формул и принципиальных затруднений обычно не вызывает. Благодаря непосредственному сопряжению аналитической и вычислительной техники значительную часть этой работы теперь выполняет компьютер. Тем не менее этот этап требует серьезного внимания, поскольку ошибка в расчете ведет к неверному результату, т. е. необходимой становится проверка правильности результатов анализа и их оценка статистическими методами, выполняемая химиком-аналитиком.

Кроме расчета собственно результата анализа, необходимо рассчитать и привести погрешность полученной величины, так как любой результат измерения имеет действительную ценность лишь при условии, что известна его погрешность.

Все стадии анализа связаны между собой. Так, тщательно измеренный аналитический сигнал не дает правильной информации о содержании определяемого компонента, если неправильно проведен отбор или подготовка пробы к анализу. В большинстве случаев именно отбор пробы для химического анализа определяет надежность и качество получаемых результатов, а также трудоемкость и длительность аналитического цикла.

Классификация соединений, присутствующих в пищевых продуктах

Пищевые продукты, являясь многокомпонентными системами, представляют собой довольно сложный объект для исследования.

Все соединения, присутствующие в пищевых продуктах, можно разделить на три группы. Первая группа веществ представлена разнообразными классами органических и неорганических соединений биологического происхождения, участвующих в важнейших функциях организма. Эти вещества являются ценным компонентом пищи. Органические и неорганические вещества, входящие в состав пищевых продуктов и используемые организмом для обеспечения своей жизнедеятельности, называются *пищевыми веществами*, или *нутриентами*. К ним относятся макро- (белки, жиры, углеводы, минеральные соли) и микронутриенты (микроэлементы, водорастворимые витамины). Содержание в продуктах питания белков, жиров, углеводов, минеральных веществ, а также других биологически активных соединений определяет пищевую ценность пищевых продуктов.

Но не стоит забывать, что в пище всегда имеются загрязнители (контаминаты), представляющие вторую группу соединений. *Контаминаты* — это токсичные вещества, попадающие в пищу из окружающей среды вследствие нарушения технологии выращивания (кормления — для животных), производства или хранения продуктов или других причин. Иногда по отношению ко всем токсическим веществам используют термин «ксенобиотики». Собственно *ксенобиотиками* называются вещества, чужеродные

для человеческого организма (от греч. $\xi\acute{e}no\acute{s}$ — чуждый и $\beta\acute{e}io\acute{s}$ — жизнь) и не встречающиеся в нем в обычном состоянии. Эти вещества в относительно повышенных количествах способны вызвать неблагоприятный эффект. К ним относятся загрязнители биологической или химической (антропогенной) природы. Природными контаминантами биологического происхождения являются микроорганизмы, например, бактерии и их токсины, микотоксины, гельминты, вирусы и т. д. К загрязнителям, имеющим техногенное происхождение, относят токсичные металлы, радионуклиды, пестициды и их метаболиды, нитраты, нитриты и N-нитрозосоединения, полициклические ароматические соединения, фтористые соединения, стимуляторы роста сельскохозяйственных животных (гормоны, антибиотики), а также органические и неорганические соединения, мигрирующие в пищевые продукты из упаковочных материалов.

И, наконец, третью группу соединений составляет огромное количество пищевых добавок. *Пищевые добавки* — это вещества, специально вносимые в пищевые продукты для достижения определенных технологических эффектов.

ХИМИЯ И МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУТРИЕНТОВ

Белки

Белками, или *протеинами* (от греч. πρωτος — первый, важнейший), называют высокомолекулярные (молекулярная масса варьирует от 5–10 тыс. до 1 млн и более) природные полимеры, молекулы которых построены из остатков α -аминокислот. В белковой молекуле аминокислоты соединены между собой пептидными связями.

Белки являются наиболее ценным компонентом пищи. Они играют огромную роль в жизнедеятельности клеток и тканей, являются важнейшей составной частью всего живого. Белки — основной материал, из которого построена структура живой клетки. Основное же значение белков заключается в их незаменимости другими пищевыми веществами.

В состав белков входят (%): углерод (50,6–54,5), кислород (21,5–23,5), азот (15,0–17,6, в среднем 16), водород (6,5–7,3), сера (0,3–2,5), фосфор (0,5–0,6).

Классификация белков

Классификация и номенклатура белков разработаны далеко не полностью в связи с огромным их разнообразием, различием их физических, химических свойств и биологических функций. Делались попытки классифицировать белки по физико-химическим свойствам, биологическим свойствам, по химическим и структурным признакам. Однако они не увенчались успехом, поскольку такие односторонние подходы не могли дать исчерпывающую характеристику той или иной группы белков.

На сегодняшний день наиболее удачной следует считать классификацию по структурным признакам с определенным сочетанием характерных физико-химических свойств белков. На основании такого подхода все белковые вещества принято делить на простые (протеины) и сложные (протеиды).

К простым относятся белки, включающие в свой состав лишь полипептидные цепи, т. е. при их гидролизе образуются только аминокислоты. Протеины, в свою очередь, делятся на ряд подгрупп на основании их растворимости в специфических растворителях и некоторых химических признаков. Итак, к числу простых белков относят:

1) *альбумины* — белки с относительно небольшой молекулярной массой (15 000–70 000), хорошо растворимые в воде и в слабых солевых растворах, обладают кислотными свойствами из-за большого содержания глутаминовой кислоты. Они встречаются во всех животных и растительных объектах. Типичным представителем подгруппы альбуминов является белок куриного яйца — овальбумин;

2) *глобулины* — белки с большей, чем у альбуминов, молекулярной массой (свыше 100 000). В отличие от альбуминов, они не растворимы в дистиллированной воде, растворяются только в водных растворах солей. Глобулины — слабокислотные или нейтральные белки, в них аминокислот кислотного характера меньше, чем в альбуминах. Это очень распространенные белки, входят в состав мышечных волокон, крови, молока, они составляют большую часть семян бобовых и масличных культур. Представителем глобулинов животного происхождения является лактоглобулин молока. В растительных и животных клетках эти белки всегда встречаются вместе с альбуминами;

3) *проламины* — не растворяются в воде, а также в растворах солей, кислот и щелочей, растворяются в 60–80 %-ном растворе этилового спирта. Такая плохая растворимость проламинов связана с наличием в них большого количества неполярной аминокислоты пролина. Проламины — группа растительных белков, содержащихся в клейковине семян злаковых культур. Проламины

получили свое название по источнику их выделения: глиадин — из пшеницы и ржи, зеин — из кукурузы, авенин — из овса, горденин — из ячменя и т. д.;

4) *глютенины* — так же как и проламины являются запасными (резервными) белками, содержащимися исключительно в растениях, особенно в семенах злаковых. Они не растворимы в воде, растворах солей и этаноле, но хорошо растворимы в растворах щелочей. Наиболее изучены глютенин пшеницы, оризинин риса;

5) *протамины* — низкомолекулярные белки (относительная молекулярная масса 4000–12 000), обладающие ярко выраженным основными свойствами из-за большого содержания аргинина. Кроме аргинина протамины содержат небольшое количествоmonoаминокислот и пролина. В больших количествах протамины обнаружены в молоках и икре рыб. Наиболее подробно изучены клупеин сельди, сальмин лососевых рыб;

6) *гистоны* — тканевые белки животных организмов с несколько меньшей основностью и большей основительной молекулярной массой (11 000–24 000), чем у протаминов. Гистоны осаждают из растворов аммиаком. Гистоны находятся в ядрах соматических клеток, где они связаны с ДНК за счет электростатических сил. Много гистонов содержится в зобной железе, эритроцитах, также гистоны выделены из растительных тканей;

7) *протеноиды* — это подгруппа фибриллярных белков, содержащихся в опорных тканях животных. Протеноиды нерастворимы ни в воде, ни в солевых растворах, ни в разбавленных кислотах и щелочах. В силу специфической структурной организации они практически не поддаются гидролизу пищеварительными ферментами и поэтому не могут быть использованы в качестве продуктов питания. Наиболее известными, хорошо исследованными протеноидами являются коллаген соединительной ткани, кератин волос, шерсти, перьев, копыт, эластин сухожилий и связок, фибронин шелка.

Сложные белки — соединения, в которых, наряду с белковой молекулой, имеется также небелковая часть, так называемая

простетическая группа. Простетическая группа, как правило, связана с белковым фрагментом за счет специфических взаимодействий. Роль простетической группы могут выполнять как органические, так и неорганические соединения: нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды, пигменты, фосфорная кислота, металлы и др.

К сложным белкам относятся:

1) *гликопротеины* — сложные белки, простетическая группа которых представлена производными углеводов, которые при этом ковалентно связаны с аспарагиновым и треониновым остатками молекулы белка. Примером гликопротеина может служить запасной белок семян фасоли — вицилин;

2) *липопротеины* представляют собой соединение белка с липидами (нейтральными жирами, свободными жирными кислотами, фосфолипидами, холестерином и его производными). В липопротеинах связь между липидами и белком осуществляется за счет взаимодействий различной природы: адсорбционных, гидрофобных, ион-дипольных. Липопротеиды содержатся в большом количестве в составе пластид растительной клетки, а также в протоплазме;

3) *фосфопротеины* — сложные белки, в которых присутствует фосфорная кислота. Остатки фосфорной кислоты связаны с молекулой белка сложноэфирной связью. Представителями этой группы являются казеин молока, вителлин — белок, выделенный из желтков яиц, ихтулин — белок рыбьей икры;

4) *хромопротеины* — белки, небелковая часть которых представлена окрашенными соединениями. Типичными представителями являются гемоглобин крови, миоглобин мышечной ткани и хлорофилл растений;

5) *нуклеопротеины* — очень важная группа сложных белков, играющая первостепенную роль в жизнедеятельности организма. Они входят во все клетки организма и выполняют основные жизненные функции — являются носителем генетической информации и участвуют в биосинтезе белка. Белковую часть нуклеопротеинов представляют в основном протамины и гистоны,

небелковую — рибо- и дезоксирибонуклеиновая кислоты, соединенные между собой слабыми межмолекулярными или сильными ковалентными взаимодействиями.

Биологическая ценность белка

В организме человека белки пищи расщепляются до аминокислот, часть из них (заменимые, например, аланин, аспарагиновая кислота, глицин, глютаминовая кислота, пролин, серин, тирозин, цистин, цистеин) являются строительным материалом для создания новых аминокислот. Однако имеется восемь аминокислот (незаменимые, эссенциальные), которые не образуются в организме взрослого человека, они должны поступать с пищей (валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, лизин, фенилаланин, триптофан). Иногда в их число включают гистидин и аргинин, которые не синтезируются в организме ребенка. Если количество этих аминокислот в пище будет недостаточным, нормальное развитие и функционирование организма человека нарушается.

Пищевая ценность белков определяется качественным и количественным соотношением отдельных аминокислот, образующих белок.

Биологическая ценность белков определяется сбалансированностью аминокислотного состава и атакуемостью белков ферментами пищеварительного тракта, другими словами, усвояемостью. Биологическая ценность белка по аминокислотному составу может быть оценена при сравнении его с аминокислотным составом эталонного белка, аминокислотный состав которого сбалансирован и идеально соответствует потребностям человеческого организма в каждой незаменимой аминокислоте (НАК). Для взрослого человека в качестве «эталонного» белка применяют аминокислотную шкалу Комитета ВПО/ВОЗ (табл. 2).

В 1973 г. решением Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, или WFO) и Всемирной продовольственной организации (ВПО, или FAO) введен показатель биологической ценности пищевых белков — аминокислотный скор (АКС).

Таблица 2

Аминокислотная шкала

Аминокислота	Предлагаемый уровень, мг/г белка
Изолейцин (Иле)	40
Лейцин (Лей)	70
Лизин (Лиз)	55
Метионин + Цистин (Мет + Цис)	35
Фенилаланин + Тирозин (Фен + Тир)	60
Треонин (Тре)	40
Триптофан (Трп)	10
Валин (Вал)	50
Итого	360

Скор аминокислотный [от. англ. score — счет (очков в игре)] — показатель биологической ценности белка, представляющий собой процентное отношение доли определенной незаменимой аминокислоты в общем содержании таких аминокислот в исследуемом белке к стандартному (рекомендуемому) значению этой доли. АКС рассчитывается по формуле ($C_i, \%$):

$$C_i = \frac{A_i}{A_{i,0}} \cdot 100, \quad (1)$$

где A_i — содержание незаменимой i -й аминокислоты в 1 г исследуемого белка, мг/г; $A_{i,0}$ — содержание незаменимой i -й аминокислоты в 1 г «эталонного» белка, мг/г.

При расчете АКС содержание НАК в конкретном белке выражается в процентном соотношении к ее содержанию в эталоне. Аминокислота, АКС которой имеет самое низкое значение (менее 100 %), называется первой лимитирующей кислотой. Эта аминокислота будет определять степень использования данного белка.

В основу аналитического расчета биологической ценности белка положена гипотеза о доминирующем влиянии первой лимитирующей аминокислоты. Следует отметить, что белки могут иметь несколько лимитирующих аминокислот.

Избыточное количество незаменимых аминокислот, не используемых на пластические нужды, определяется коэффициентом различия аминокислотных скоров (КРАС, %):

$$\text{КРАС} = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - 100)}{n}, \quad (2)$$

где C_i — АКС i -й незаменимой аминокислоты, %; n — количество незаменимых аминокислот.

По величине КРАС оценивают биологическую ценность (БЦ, %) белоксодержащего продукта:

$$\text{БЦ} = 100 - \text{КРАС}. \quad (3)$$

Если в данном белке все незаменимые аминокислоты находятся в необходимых пропорциях, то биологическая ценность такого белка равна 100. Если белок характеризуется низкой биологической активностью (содержит неполный набор незаменимых аминокислот), то он должен присутствовать в рационе в большом количестве, чтобы обеспечить физиологические потребности в незаменимых аминокислотах, содержащихся в белке в минимальном количестве. При этом остальные аминокислоты будут поступать в организм в излишнем количестве, превышающем потребности. Лишние аминокислоты будут подвергаться в печени дезаминированию и превращаться в гликоген или жир.

Сбалансированность незаменимых аминокислот по отношению к физиологически необходимой норме (эталону) характеризуется коэффициентом рациональности аминокислотного состава (R_C , доли ед.). В случае $C_{\min} < 1$ коэффициент рациональности рассчитывается по формуле

$$R_C = \frac{\sum_{i=1}^k (A_i \cdot k_i)}{\sum_{i=1}^n A_i}, \quad (4)$$

где A_i — содержание незаменимой i -й аминокислоты в 1 г исследуемого белка, мг/г; k_i — коэффициент утилитарности i -й НАК к лимитирующей аминокислоте, доли ед.

Коэффициент утилитарности (утилизации) является численной характеристикой, отражающей сбалансированность НАК по отношению к эталону. Расчет ведут по формуле

$$k_i = \frac{C_{\min}}{C_i}, \quad (5)$$

где C_{\min} — минимальный скор НАК оцениваемого белка по отношению к эталонному белку, доли ед.; C_i — скор для i -й НАК оцениваемого белка по отношению к эталонному, доли ед.

Общее количество незаменимых аминокислот в белке оцениваемого продукта, которое из-за взаимонесбалансированности по отношению к эталону не может быть утилизировано организмом, служит для оценки сбалансированности состава незаменимых аминокислот по показателю «сопоставимой избыточности». Данный показатель характеризует суммарную массу незаменимых аминокислот, не используемых на анаболические нужды, в таком количестве оцениваемого продукта, которое эквивалентно по их потенциально утилизируемому содержанию 1 г белка эталона. Расчет показателя сопоставимой избыточности содержания НАК (σ , мг/г белка эталона) ведут по формуле

$$\sigma = \frac{\sum_{i=1}^n (A_i - C_{\min} A_{i,0})}{C_{\min}}, \quad (6)$$

где C_{\min} — минимальный скор НАК оцениваемого белка по отношению к эталонному белку, доли ед.; A_i — содержание незаменимой

i-й аминокислоты в 1 г исследуемого белка, мг/г; $A_{i,3}$ — содержание незаменимой *i*-й аминокислоты в 1 г «эталонного» белка, мг/г.

Расчет АКС для установления биологической ценности проведем на примере коровьего молока, содержание аминокислот в котором представлено в табл. 3.

Таблица 3

Содержание НАК в молоке коровьем

НАК	Содержание, мг/100 г
Иле	189
Лей	283
Лиз	261
Мет	83
Цис	26
Фен	175
Тир	184
Тре	153
Трп	50
Вал	191

По данным табл. 3, в 100 г коровьего молока (содержание белка — 3,2 г) присутствует 83 мг метионина, 26 мг цистеина, в сумме 109 мг метионина + цистеина. Тогда 1 г молочного белка содержит метионина и цистеина $109/3,2 = 34,06$ мг.

АКС каждой НАК в идеальном белке принимают за 100 %, а в природном белке определяют процент соответствия по формуле (1).

Итак, в 1 г эталонного белка содержится 35 мг метионина и цистеина, следовательно, АКС для данных НАК:

$$C_{\text{Мет+Цис}} = \frac{A_{\text{Мет+Цис}}}{A_{\text{Мет+Цис,3}}} \cdot 100 = \frac{34,06}{35} \cdot 100 = 97,3 \%$$

Аналогичные расчеты проводим для остальных кислот, результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

АКС и коэффициенты утилитарности НАК молока коровьего

НАК	Содержание, мг/г белка		АКС, %	k_i
	в эталонном белке	в исследуемом белке		
Иле	40	59,06	147,65	0,66
Лей	70	88,44	126,34	0,77
Лиз	55	81,56	148,29	0,66
Мет + Цис	35	34,06	97,31	1
Фен + Тир	60	112,19	186,98	0,52
Тре	40	47,82	119,55	0,81
Трп	10	15,62	156,2	0,62
Вал	50	59,69	119,38	0,82
Всего	360	498,44		

Таким образом, в белке коровьего молока лимитирующей аминокислотой являются метионин + цистин ($C_{\min} < 1$). Коэффициент утилитарности изолейцина будет равен:

$$k_{\text{Иле}} = \frac{C_{\min, \text{Мет + Цис}}}{C_{\text{Иле}}} = \frac{97,31}{147,65} = 0,66.$$

Аналогичные расчеты проводят для остальных кислот, рассчитанные коэффициенты утилитарности которых приведены в табл. 4.

Расчет коэффициентов различия аминокислотных скоров и рациональности аминокислотного состава, а также биологической ценности и показателя сопоставимой избыточности содержания незаменимых аминокислот проводят по формулам (2)–(4), (6). Значения приведены в табл. 5.

Таблица 5

Биологическая ценность молока коровьего

Показатель	Значение
КРАС, %	37,7
БЦ, %	62,3
R_C	0,70
σ , мг/г белка эталона	152,2

Другой метод определения биологической ценности белков заключается в определении индекса незаменимых кислот (ИНАК):

$$\text{ИНАК} = \sqrt[n]{\frac{\text{Лиз}_\text{И}}{\text{Лиз}_\text{Э}} \cdot \frac{\text{Три}_\text{И}}{\text{Три}_\text{Э}} \cdot \dots}, \quad (7)$$

где n — число аминокислот; И, Э — содержание аминокислоты в исследуемом белке и эталоне соответственно.

Наиболее ценными по содержанию и составу незаменимых аминокислот являются белки животного происхождения, в частности белок молока — лактоальбумин и лактоглобулин и мяса — актин и миозин. Наилучшим образом сбалансированность аминокислот представлена в белке яйца. В соответствии с АКС наименьшей биологической ценностью обладают белки растительного происхождения, т. е. они содержат недостаточное количество незаменимых кислот. Более того, лизин, входящий в состав белков, при термообработке теряется, подвергается реакции меланоидирования. Белки кукурузы содержат мало лизина, но достаточно триптофана, тогда как белки бобовых богаты лизином, но содержат мало триптофана. Смесь бобов и кукурузы содержит достаточно НАК. Для того чтобы обеспечить организм нужным количеством аминокислот, необходимо сочетать в рационе питания белки как животного, так и растительного происхождения. Примером такого удачного сочетания служит хлеб и молоко, рис с соевым соусом, кукурузные хлопья с молоком.

Животные и растительные белки усваиваются организмом неодинаково. Если белки молока, молочных продуктов, яиц усваиваются на 96 %, мяса и рыбы — на 93–95, то белки хлеба — на 62–86, овощей — на 80, картофеля и некоторых бобовых — на 70 %.

На степень усвоения организмом белков оказывает влияние технология получения пищевых продуктов и их кулинарная обработка. Анализируя воздействие различных видов обработки пищевого сырья и продуктов на усвояемость содержащихся в них белков, следует отметить, что в большинстве пищевых производств при соблюдении технологий не происходит деструкции аминокислот. При умеренном нагревании пищевых продуктов, особенно

растительного происхождения, усвояемость белков несколько возрастает, так как частичная денатурация белков облегчает доступ протеаз к пептидным связям. При интенсивной тепловой обработке усвояемость снижается. Такое же влияние оказывает наличие в продуктах редуцирующих сахаров и продуктов окисления липидов за счет их взаимодействия с белковыми компонентами пищи.

Методы определения содержания белка и аминокислот

Определение массовой доли белка в продуктах питания

Проблема определения концентрации белка насчитывает уже более 70 лет. Окончательно она не решена до сих пор. Очевидно, что создание «идеального метода» неосуществимо в силу уникальности структуры каждого белка.

Методы количественного определения белков разнообразны. Из физических методов простейшим является взвешивание чистого белка. Однако белки очень гигроскопичны, и полностью удалить из их состава воду столь трудно, что этот способ количественного определения белков применяют редко. Кроме того, выделить весь белок из исследуемого объекта практически невозможно.

Наиболее простым химическим методом является количественное определение общего, или белкового (после осаждения белка и отделения его от растворимых азотсодержащих веществ), азота, поскольку его содержание в различных белках колеблется в довольно ограниченных пределах, что дает возможность судить по количеству азота о количестве белка в биологическом объекте.

При анализе пищевых продуктов для определения общего азота широкое применение находит *метод Кье́льдаля*, основанный на минерализации белоксодержащей пробы серной кислотой в присутствии катализатора. В результате минерализации органический продукт разлагается до углекислого газа и воды; азот превращается в аммиак и связывается с серной кислотой. Образовавшийся в реакционной среде сульфат аммония разрушают

концентрированным раствором щелочи. Выделившийся при этом аммиак отгоняют с водяным паром и количественно поглощают раствором серной или борной кислоты. Содержание аммиака после отгонки в раствор серной кислоты определяют обратным кислотно-основным титрованием раствором гидроксида натрия. Метод прямого ацидиметрического титрования используют для количественного определения аммиака, образующегося в результате минерализации анализируемой пробы и поглощенного раствором борной кислоты. Установление точки эквивалентности проводят визуально, используя метиловый красный, бромкрезоловый зеленый или смешанный кислотно-основной индикатор Таширо (смесь метилового красного и метиленового голубого), а также используя физико-химические методы. По результатам титрования рассчитывают массовую долю азота в испытуемой пробе. Количество белкового азота пересчитывают на содержание белка, используя коэффициенты. Универсальный белковый коэффициент 6,25 принят на основании того, что среднее содержание азота в большинстве белков составляет 16 %. Уточненные белковые коэффициенты для некоторых объектов, с учетом фактического содержания белка в них, следующие: 5,7 — пшеница, овес, семена подсолнечника; 6,0 — рис; 6,25 — кукуруза, семена бобовых культур, пивоваренный ячмень; 6,38 — молоко и молочные продукты.

Более удобными в применении и оперативными являются спектрофотометрические методы, получившие в последнее время широкое распространение при выполнении массовых анализов и проведении оперативного контроля качества сырья и готовой продукции на содержание белка.

Для экспрессной оценки содержания белка используют *метод Вартбурга и Христиане*, основанный на способности ароматических радикалов таких аминокислот, как тирозин, триптофан, фенилаланин, к светопоглощению при 280 нм. Однако при данной длине волны поглощают и нуклеиновые кислоты, вклад которых в значение оптической плотности при 280 нм можно учесть, измерив поглощение исследуемого раствора белка при 260 нм. При 260 нм

поглощающими веществами в растворе являются только нуклеиновые кислоты. Рассматриваемый метод не применим к объектам, в которых содержание нуклеиновых кислот более 20 %, так как дает ориентировочные результаты.

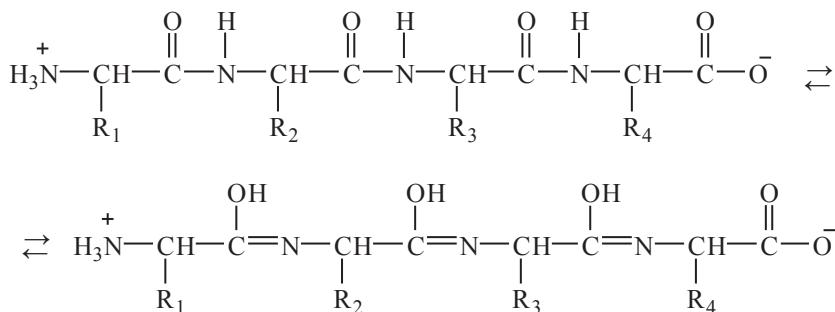
Общим достоинством методов определения содержания белков с помощью УФ-спектрофотометрии являются простота и скорость. Однако сложность химического состава пищевых продуктов, возможность влияния небелковых компонентов на результаты определения ограничивают применение этой группы методов.

Определение белков в видимой области спектра основано на качественных реакциях на белки и их структурные компоненты.

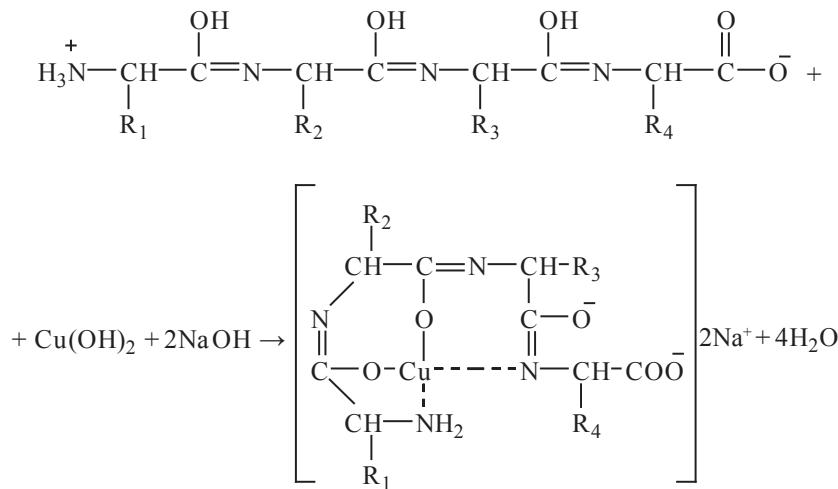
Одним из спектрофотометрических методов количественного определения белков в растворе является разработанный в 1949 г. **биуретовый метод**.

Метод основан на определении интенсивности окраски исследуемого образца, возникающей в результате взаимодействия белков и полипептидов с ионами меди (II) в щелочной среде. Реакция обусловлена присутствием в белке пептидных связей, которые с ионами меди образуют окрашенные солеобразные комплексные соединения.

Белок существует в кето- и енольной форме, между которыми устанавливается равновесие:



Катионы меди (II) реагируют с енольной формой полипептида, замещая водород оксигрупп и образуя координационную связь с азотом:



Интенсивность окраски образующегося биуретового комплекса зависит от длины цепи пептида и варьирует от сине-фиолетовой до красно-фиолетовой и красной. Длина волны, отвечающая максимальной чувствительности определения, находится в интервале 540–640 нм. К достоинствам метода стоит отнести его низкую чувствительность к посторонним веществам (не дает побочной реакции с небелковыми веществами), невысокую погрешность. Чувствительность метода составляет 2–10 мг/см³. Данный метод мало используется в биохимической лабораторной практике (за исключением медицинских анализов на белок), так как является менее чувствительным, чем метод Лоури, предложенный в 1951 г.

Определение белка по *методу Лоури* основано на измерении интенсивности окраски раствора белка, в котором осуществляются две цветные реакции: биуретовая реакция (образование окрашенного комплекса ионов меди (II) с амидными связями) и реакция

взаимодействия реагента Фолина — Чиокальтеу с ароматическими аминокислотами. Использование реагента Фолина — Чиокальтеу повышает чувствительность метода Лоури почти в 100 раз по сравнению с биуретовым методом.

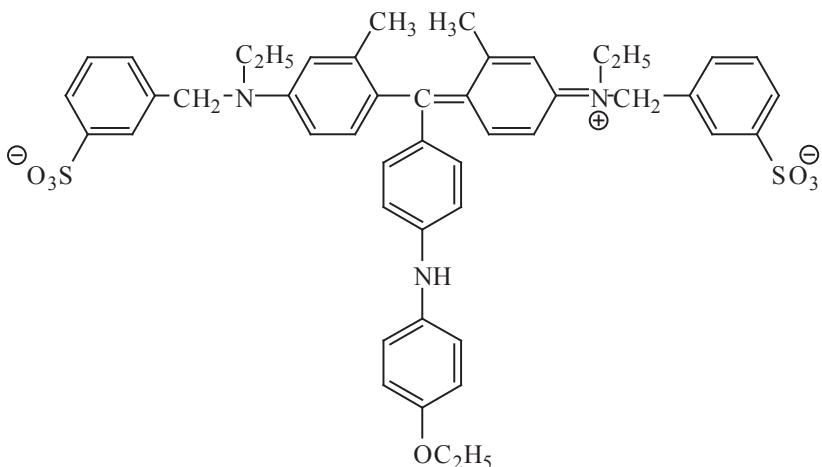
Реактив Фолина — Чиокальтеу представляет смесь растворов вольфрамата и молибдата натрия, к которой добавляют последовательно фосфорную, хлороводородную кислоты и, после кипячения, сульфат лития, а также несколько капель бромной воды.

В результате реакции происходит восстановление фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот с образованием комплексного соединения синего цвета с максимумом поглощения при 750 нм. Реакция инициируется комплексными соединениями меди, возникающими при взаимодействии белка со щелочным раствором сульфата меди (II). Интенсивность окраски зависит главным образом от содержания в исследуемом образце тирозина и триптофана.

Данным методом можно определить абсолютное содержание белка в исследуемом растворе только в том случае, если градуировочный график построен для того же белка, определение концентрации которого проводят. Чувствительность метода к белку составляет 10–100 мкг/см³.

Несмотря на то, что метод обладает высокой чувствительностью (для анализа используются сильно разбавленные растворы), он имеет ряд недостатков. Используемый по методике реагент Фолина — Чиокальтеу дает положительную реакцию и на другие вещества, например, фенольной природы, что осложняет анализ, особенно объектов растительного происхождения.

Метод Бредфорда, предложенный в 1976 г., основан на связывании белками кислотного красителя кумасси синего (Coomassie Brilliant Blue G-250, I) за счет электростатического взаимодействия сульфонильных групп красителя с аминокислотными остатками преимущественно аргинина и в меньшей степени с остатками гистидина, тирозина, триптофана и фенилаланина.



Краситель Coomassie Brilliant Blue G-250 (I)¹

Связанная форма имеет голубую окраску с максимумом поглощения при 595 нм, в то время как исходный кислый раствор красителя — 465 нм.

Основное достоинство данного метода — чувствительность; метод позволяет надежно определять от 10 до 100 мкг/см³ белка. В целом чувствительность метода зависит от соотношения концентраций определяемого белка и красителя: чем больше красителя, тем чувствительней метод. Рассматриваемый метод менее «капризный» по сравнению с методом Лоури.

Поскольку белки различаются по своей способности связывать красители, желательно для построения градуировочного графика использовать в качестве стандартного белка белок, концентрацию которого в дальнейшем предполагается определять.

Реагенты, используемые в методе Бредфорда, обладают большим сродством к альбуминам, в методе Лоури — к глобулином.

¹ Здесь и далее римская цифра обозначает структурную формулу вещества, указанного в тексте.

Биуретовый метод одинаково выявляет белки различной структуры, но обладает недостаточной аналитической чувствительностью.

Определение аминокислотного состава пищевых продуктов

В биохимической практике для установления аминокислотного состава белков используют цветные реакции — качественные реакции, обусловленные наличием специфических групп в молекулах белков (табл. 6). Некоторые из таких реакций широко используются для количественного определения белков.

Аминокислотный состав пищевых продуктов чаще всего определяется методом распределительной хроматографии на бумаге.

Пробоподготовка заключается в выделении связанных аминокислот из белков либо гидролизом белка, либо нагреванием препарата с кислотами (20 %-ный раствор хлороводородной кислоты, 30 %-ный раствор серной кислоты) или основаниями (5 моль/дм³ раствор гидроксида натрия, 14 %-ный раствор гидроксида бария).

Метод распределительной бумажной хроматографии основан на различной растворимости аминокислот в двух частично смешивающихся жидкостях: воде и органическом растворителе. Чем больше растворимость аминокислот в воде и меньше в органическом растворителе, тем медленнее движется аминокислота на бумаге. Показателем скорости движения аминокислоты является величина R_f , являющаяся характерной для каждой аминокислоты и постоянной при данных условиях опыта (растворитель, температура, сорт бумаги и др.).

Неподвижной фазой является вода, носителем неподвижной фазы чаще всего служат силикагель и целлюлоза. Для разделения смеси аминокислот используется растворитель, состоящий из смеси *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды. При работе с растворителем, содержащим бутиловый спирт и ледяную уксусную кислоту, необходимо соблюдать правила техники безопасности. Растворитель обладает резким неприятным запахом, пары его могут вызвать ожоги слизистых.

Положение аминокислот на бумаге определяют с помощью нингидриновой реакции: в присутствии нингидрина отдельные

Таблица 6

Цветные реакции белков

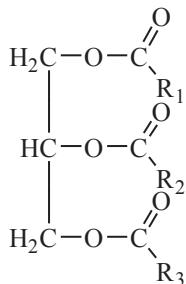
Цветная реакция	Спеццифическая группа	Реагент	Аналитический эффект
Биуретовая реакция	Пептидные связи	Щелочь, CuSO_4	Сине-фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание
Нингидриновая реакция	Аминогруппа в α -положении	Нингидрин	Фиолетовое окрашивание
Реакция Сакагучи	Аргинин	Щелочь, α -нафтоол, NaBrO	Красное окрашивание
Реакция Фолля	Цистеин и цистин	Щелочь, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$	Осадок черного или бурого цвета
Ксантофлавиновая реакция	Ароматические аминокислоты	HNO_3 (конц.)	Желтое окрашивание
Реакция Ваузена	Триптофан	NaNO_2 и HCHO	Сине-фиолетовое окрашивание
Реакция Пауди	Гистидин и тирозин	Сульфаниловая кислота, NaNO_2 (KNO_2)	Вишнево-красное окрашивание

аминокислоты выявляются в виде окрашенных пятен. Качественный состав аминокислот в исследуемом белке определяют, сопоставляя положение пятен веществ-свидетелей с положением пятен анализируемых веществ.

Жиры

Жиры — это наиболее распространенная в живой природе группа простых липидов — природных органических соединений, не растворимых в воде, но растворимых в органических растворителях (бензин, петролейный эфир, серный эфир, ацетон, хлороформ, сероуглерод, метиловый и этиловый спирты и т. п.), являющихся производными высших жирных кислот и способных утилизироваться живыми организмами.

По химическому строению жиры (или триацилглицерины) представляют собой сложные эфиры глицерина и высших жирных монокарбоновых кислот (ВЖК):



Обычно считают, что жиры в организме человека выполняют роль поставщиков энергии. Но это не совсем правильно. Конечно, значительная часть жиров расходуется в качестве энергетического материала, являясь важным поставщиком энергии для совершения живыми организмами как внутренней, так и внешней работы. В результате биологического распада 1 г жира до CO_2 и H_2O выделяется 38,9 кДж энергии, тогда как при распаде 1 г углеводов или белков — всего 16,1 кДж, т. е. примерно вдвое меньше. Однако

в определенной степени жиры в составе молекулярных комплексов с белками — липопротеидов — являются пластическим материалом, входящим в состав клеточных компонентов, особенно мембран (оболочек), т. е. так же, как и белки, являются незаменимым фактором питания. Жировая ткань задействована и в процессах терморегуляции организма, т. е. защищает его в холод и в жару, она же предохраняет жизненно важные органы (почки, сердце, кишечник и др.) от случайных сотрясений при падениях, у daraх, ушибах и т. д.

Жиры исключительно широко распространены в природе: они входят в состав организма человека, животных, растений, микробов и даже некоторых вирусов. Содержание их в некоторых биологических объектах, тканях и органах достигает 90 %.

Классификация жиров

Классификация пищевых жиров производится по нескольким признакам. В зависимости от исходного сырья их делят на животные, растительные и переработанные (мargarиновая продукция), по консистенции они подразделяются на твердые и жидкые.

Различие в физико-химических свойствах животных и растительных жиров обусловлено строением остатков высших жирных кислот, входящих в их состав. Природные жирные кислоты, как правило, содержат четное число атомов углерода, имеют неразветвленное строение и подразделяются на насыщенные и ненасыщенные. Из насыщенных жирных кислот часто встречаются пальмитиновая, стеариновая и арахиновая кислоты. Ненасыщенные жирные кислоты различаются по степени «ненасыщенности»: моно- (олеиновая кислота) и полиненасыщенные (линолевая, линоленовая и арахидоновая кислоты). Ненасыщенные природные жирные кислоты имеют *цис*-конфигурацию.

Для обозначения жирных кислот в биохимии принято использовать упрощенные числовые символы, которые задают параметры химического строения кислоты, а именно: первая цифра — это число атомов углерода в ее молекуле, цифра после двоеточия — это число двойных связей, а цифры в скобках указывают на атомы

углерода, при которых располагается двойная связь. Например, числовой код молекулы олеиновой кислоты — 18 : 1 (9) означает, что в ее состав входит 18 атомов углерода и имеется одна двойная связь, расположенная между 9-м и 10-м атомами углерода.

В растительных жирах, называемых маслами, содержание ненасыщенных жирных кислот выше, чем насыщенных. В отличие от насыщенных, ненасыщенные жирные кислоты имеют более низкую температуру плавления. Поэтому содержащие их жиры остаются жидкими даже при температуре ниже 5 °С. За счет высокого содержания насыщенных жирных кислот животные жиры при комнатной температуре имеют твердую консистенцию.

В связи с тем, что природные жиры представляют собой смеси сложных триацилглицеридов (табл. 7), они плавятся в определенном температурном интервале.

Таблица 7

Характеристика животных и растительных жиров

Жир	Содержание ВЖК, %		$t_{пл}$, °С
	насыщенные	ненасыщенные	
Говяжий жир	24–29 ¹ 27–30 ² 2–3 ⁵	41–42 ³ 37–44 ⁴ 3–3,5 ⁵	42–52
Свиной жир	27–30 ¹ 13–18 ² 0,8–1 ⁵	37–44 ³ 8–9 ⁴ 1,5–2 ⁵	22–48
Сливочное масло	24–29 ¹ 9–13 ² 8–17 ⁵	19–34 ³ 2–5 ⁴ 4 ⁵	28–36
Подсолнечное масло	6–9 ¹ 1,6–4,6 ² 2 ⁵	24–40 ³ 46–72 ⁴ 1 ⁵	(–16)–(–19)

П р и м е ч а н и е. ¹ — пальмитиновая, ² — стеариновая, ³ — олеиновая, ⁴ — линолевая, ⁵ — другие.

Таким образом, свойства жиров определяются качественным составом ВЖК и их количественным соотношением.

Биологическая ценность жиров

Жиры являются обязательным компонентом пищи, энергетическим и структурно-пластическим материалом для человека, поставщиком ряда необходимых для него веществ, т. е. являются незаменимым фактором питания, определяющим его биологическую эффективность. Рекомендуемое содержание жиров в рационе человека (по калорийности) составляет 30–35 %, а в массовых единицах — в среднем 90–100 г в сутки. Длительное ограничение жиров в питании или систематическое использование жиров с пониженным содержанием необходимых компонентов приводит к отклонениям в физиологическом состоянии организма: нарушается деятельность центральной нервной системы, снижается иммунитет, т. е. снижается устойчивость к инфекциям, сокращается продолжительность жизни. Но и избыточное потребление жиров нежелательно, оно способствует развитию атеросклероза, приводит к ожирению, сердечно-сосудистым заболеваниям и другим нежелательным явлениям.

В состав пищевых продуктов входят так называемые «невидимые» (жир в мясе и мясопродуктах, рыбе, молоке и молочных продуктах, крупе, хлебобулочных и кондитерских изделиях) и «видимые» жиры — специально добавляемые в пищу растительные масла и животные жиры, сливочное масло, маргарин, кулинарный жир. Это, конечно, условное деление, но оно широко применяется.

К наиболее важным источникам жиров в питании относятся растительные масла (в рафинированных маслах 99,7–99,8 % жира), сливочное масло (61,5–72,5 %), маргарин (до 82,0 %), кулинарные жиры (99 %), молочные продукты (3,5–30 %), шоколад (35–40 %), отдельные сорта конфет (до 35 %), орехи (53–65 %), крупы — гречневая (3,3 %), овсяная (6,1 %), пшено (3,3 %), печенье (10–11 %), сыры (25–30 %), сметана (30 %), продукты из свинины, колбасные изделия (10–23 %) и т. д. Часть из этих продуктов является источником растительных масел (растительные масла, крупы), другие — животных жиров.

В питании имеет значение не только количество, но и химический состав жиров.

Насыщенные жирные кислоты (пальмитиновая, стеариновая и др.) используются организмом в целом как энергетический материал. Наибольшее количество насыщенных жирных кислот содержится в животных жирах: например, в говяжьем и свином жире — 25 % пальмитиновой, соответственно 20 % и 13 % стеариновой кислот, в масле сливочном — 7 % стеариновой, 25 % пальмитиновой и 8 % миристиновой кислот. Они могут частично синтезироваться в организме из углеводов (и даже из белков). Избыток насыщенных жирных кислот в питании часто приводит к нарушению обмена жиров, повышению уровня холестерина в крови.

К числу наиболее распространенных мононенасыщенных жирных кислот относится олеиновая кислота (18 : 1 (9)), которой много в оливковом масле (65 %), маргаринах (43–47 %), свином жире (43 %), говяжьем жире (37 %), сливочном масле (23 %). Среди полиненасыщенных жирных кислот особенное значение имеют линоленовая (18 : 3), линоловая (18 : 2 (9, 12)) и арахидоновая (20 : 4 (5, 8, 11, 14)), которые входят в состав клеточных мембран и других структурных элементов тканей и выполняют в организме ряд важных функций. Линоловая и линоленовая кислоты не синтезируются в организме человека, арахидоновая — синтезируется из линоловой кислоты. Поэтому они получили название «незаменимых», или «эссенциальных», кислот.

Биологическая эффективность жира определяется количеством этих эссенциальных жирных кислот. Однако их биологическая активность неодинакова. Наибольшей биологической активностью обладает арахидоновая кислота, высокой — линоловая, активность линоленовой кислоты значительно ниже линоловой.

Среди продуктов питания наиболее богаты полиненасыщенными кислотами растительные масла, содержание в них линоловой кислоты достигает 50–60 %, значительно меньше ее в маргарине — до 20 %, крайне мало в животных жирах (в говяжьем жире — 0,6 %). Арахидоновая кислота в продуктах питания содержится в незначительном количестве, а в растительных маслах ее практически нет. В небольшом количестве арахидоновая

кислота содержится в яйцах — 0,5 %, субпродуктах — 0,2–0,3 %, мозгах — 0,5 %.

Полиненасыщенные жирные кислоты, в отличие от насыщенных, способствуют удалению холестерина из организма.

Основным процессом, снижающим пищевую ценность жиров, является окисление.

Методы определения жиров

Определение массовой доли жира в продуктах питания

В связи с необходимостью сбалансированного питания важно определять в готовых продуктах массовую долю жира.

Методы количественного определения жира в сырье и пищевых продуктах разнообразны и по способам анализа делятся на две группы: 1) методы определения массовой доли жира непосредственно в объекте и 2) методы, связанные с предварительным извлечением жира.

Количественное определение жиров без выделения последних из пищевого материала осуществляется с помощью таких методов, как метод ядерного магнитного резонанса, ИК-спектроскопия, турбидиметрия, ультразвук и др.

В основу второй многочисленной группы методов определения содержания жира в биологическом материале положена способность липидов растворяться в органических растворителях. В данную группу входят методы, посредством которых липиды или жир сначала переводят в органическую фазу, а затем определяют их количество в экстракте гравиметрическим или другим способом.

Жиры в продуктах питания находятся в свободном состоянии и в виде комплексов с белками и углеводами различной прочности. Свободные жиры экстрагируют при помощи неполярных растворителей. Для экстракции связанных жиров используются системы двух-трех растворителей, в которые обычно включен спирт. Суммарные жиры чаще всего извлекают смесью этанола и диэтилового эфира или хлороформа и метанола. Применение метанола

обеспечивает более полное извлечение жира из продукта. Однако в связи с токсичностью метанола используют смесь хлороформа с этанолом. При выделении прочносвязанных жиров экстракции обычно предшествует обработка материала щелочами или кислотами.

Гравиметрическое определение жира основано на многократной экстракции жира органическим растворителем из подсущенной навески продукта с последующим удалением растворителя и взвешиванием. Экстракцию проводят в аппарате Сокслета, состоящем из экстрактора, в который помещают бумажную гильзу с исследуемым материалом, холодильника и экстракционной колбы. В качестве растворителя используют петролейный или серный эфир, а также дихлорэтан.

В процессе проведения экстракции растворитель вместе с растворенным в нем жиром стекает в экстракционную колбу. Жир остается в колбе, а пары растворителя вновь поднимаются и экстрагируют новую порцию. Таким образом, исследуемый объект, подвергаясь многократной экстракции, полностью обезжиривается. Ориентировочная продолжительность экстракции 6–8 ч.

По окончании экстрагирования гильзу вынимают из экстрактора, высушивают и взвешивают. Количество жира определяют по разности между массой гильзы с материалом до экстракции и после нее по формуле

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

где ω — содержание жира, %; m_1 — масса гильзы с материалом до экстрагирования, г; m_2 — масса гильзы с материалом после экстрагирования, г; m_0 — масса навески, г.

Количество жира можно также определить, взвесив экстракционную колбу с извлеченным жиром, из которого предварительно был удален растворитель. В этом случае массовую долю жира в продукте вычисляют по аналогичной формуле, где m_1 — масса колбы с жиром, г; m_2 — масса пустой колбы, г.

При определении массовой доли жира в жидким продуктах, например в молоке, масса навески рассчитывается по формуле

$$m_0 = V \cdot \rho,$$

где V — объем пробы, взятой для анализа, см^3 ; ρ — плотность, $\text{г}/\text{см}^3$.

При экстрагировании органическими растворителями в раствор переходят не только жиры, но также свободные жирные кислоты, фосфолипиды, стерины, эфирные масла, пигменты (например, хлорофилл) и ряд других веществ. Поэтому продукт, получаемый в результате анализа, называют «сырым жиром» или «суммой липидов». Для практических целей этот показатель обычно является достаточным, в случае же необходимости более точного определения «истинного жира» приходится в отдельных пробах материала исследовать содержание фосфолипидов (по фосфору), эфирных масел (перегонкой с водяным паром), свободных жирных кислот (титриметрическим методом) и т. д. и вносить соответствующие поправки в результаты анализа.

Определение жирокислотного состава пищевых продуктов

Определение жирокислотного состава пищевых продуктов проводят методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ), обладающим высокой чувствительностью и разделительной способностью, экспрессностью, универсальностью и позволяющим идентифицировать и количественно определять индивидуальные соединения многокомпонентных смесей.

Для определения используют жир, извлеченный из растительного сырья по ГОСТ 29033.

Жирные кислоты обладают высокими значениями времени удерживания, поэтому для ускорения разделения из них получают метиловые эфиры, у которых значительно выше летучесть, а следовательно, и эффективный коэффициент распределения. Принципиальной особенностью метода получения метиловых эфиров жирных кислот является осуществление переэтерификации триглицеридов минимальным количеством метанола в среде неполярного углеводородного растворителя. Для этого навеску масла или расплавленного жира растворяют в гексане или диэтиловом эфире и к полученному

раствору добавляют раствор метилата натрия в метаноле. После перемешивания реакционную смесь фильтруют через бумажный фильтр для удаления глицерина. Полученный фильтрат непосредственно используют для хроматографического анализа.

Условия хроматографирования: твердый носитель — хроматон N-AW (или инвертон), представляющий собой обработанный хлороводородной кислотой диатомит; неподвижная жидккая фаза — полиэтиленгликольсукинат; подвижная фаза — азот; рабочая температура колонки — 170 °C; пламенно-ионизационный детектор.

Идентификацию веществ проводят по относительному времени удерживания $t_{\text{отн}}$ (табл. 8), т. е. по отношению удерживаемого объема определяемого компонента к удерживаемому объему вещества, принятого за стандарт, в качестве которого используют олеиновую кислоту (18 : 1).

Таблица 8

Относительное время удерживания метиловых эфиров жирных кислот при 170 °C

Обозначение кислоты	Название кислоты	$t_{\text{отн}}$
12 : 0	Лауриновая	0,12
13 : 0	Тридециловая	0,17
14 : 0	Миристиновая	0,23
14 : 1 (9)	Миристоолеиновая	0,29
15 : 0	Пентадециловая	0,32
16 : 0	Пальмитиновая	0,45
16 : 1 (9)	Пальмитоолеиновая	0,55
16 : 2 (6, 9)	Гексадекадиеновая	0,66
16 : 3 (6, 9, 12)	Гексадекатриеновая	0,88
17 : 0	Маргариновая	0,62
18 : 0	Стеариновая	0,86
18 : 2 (9, 12)	Линолевая	1,27
18 : 3 (6, 9, 12)	γ -Линоленовая	1,51
18 : 3 (9, 12, 15)	α -Линоленовая	1,73
18 : 4 (6, 9, 12, 15)	Стиоридовая	2,06
19 : 0	Нонадециловая	1,18
20 : 0	Арахиновая	1,63

Процентное содержание жирных кислот в фильтрате определяют методом нормировки.

Пищевая порча жиров

Жиры нестойки при хранении, поскольку под влиянием кислорода воздуха, влаги и солнечного света при участии органических катализаторов — ферментов происходит их порча, прогоркание. Нестойкость жиров — следствие особенностей их строения. Они также являются наиболее лабильными компонентами пищевого сырья и готовых пищевых продуктов.

Важным свойством жиров является их окисляемость. При этом окисляемость сильно зависит от состава жирных кислот. Растворимые масла, богатые непредельными кислотами, окисляются быстрее, чем твердые жиры. При длительном хранении продуктов появляется неприятный прогорклый запах, изменяется и цвет продуктов, например, при длительном хранении сливочное масло темнеет, шпиг и сало — желтеют. Окисление жиров сопровождается ухудшением их органолептических свойств и образованием различных продуктов окисления — сначала пероксидов, а затем различных полимерных соединений, обладающих токсичным действием. Предельное содержание их в жирах, по данным Института питания РАМН, не должно превышать 1 %. Процесс прогоркания предотвращают добавлением антиоксидантов, наиболее активным и нетоксичным из которых является витамин Е.

Для характеристики химического состава, а также качества жиров и масел используют следующие физико-химические показатели: кислотное число, число омыления, эфирное число, йодное число и перекисное число.

В соответствии с СанПиН 2.3.2.1078 в жировых продуктах контролируются такие показатели окислительной порчи, как кислотное число и перекисное число.

Следует отметить, что йодное число и число омыления характеризуют жирнокислотный состав масла, который при выделении и обработке существенно не изменяется. Однако по этим физико-химическим показателям растительные масла одного и того же

товарного наименования, но выделенные из семян растений, выращенных в разных районах, отличаются. Различия в жирнокислотном составе масел обусловлены тем, что процесс маслообразования в растениях в значительной степени зависит от климатических условий. Особенно резко это проявляется в соотношении содержания предельных и непредельных жирных кислот, а также в разной степени непредельности ненасыщенных жирных кислот.

Масличные растения, выращенные в средних и северных широтах России, содержат больше масла, чем на юге и юго-востоке. Растения, культивируемые на севере, производят масла с большим йодным числом (выше процент непредельности жирных кислот).

Определение кислотного числа жиров

Кислотное число (КЧ) характеризует присутствие свободных жирных кислот в жире и измеряется количеством миллиграммов гидроксида калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот и других нейтрализуемых щелочью сопутствующих триглицеридам веществ, содержащихся в 1 г жира. Определение кислотного числа проводится в соответствии с ГОСТ 5476.

КЧ наряду с другими физико-химическими показателями характеризует качество масла. При хранении масла наблюдается гидролитический распад глицеридов, который приводит к накоплению свободных жирных кислот, т. е. к возрастанию кислотности. Повышенная кислотность масла указывает на снижение его качества.

КЧ нормируется ГОСТом и техническими условиями. В табл. 9 приведены кислотные числа для подсолнечного масла. Кислотное число нерафинированных масел больше, чем рафинированных.

Кислотное число соевого рафинированного масла — 0,13–1,50 мг КОН/г. Для свежего жира значение кислотного числа не превышает 0,02–0,5. Увеличение кислотного числа снижает сортность жира, и при кислотном числе больше 3,5 жир направляется на технические цели.

Таблица 9

Кислотные числа для подсолнечного масла

Подсолнечное масло	КЧ, мг КОН/г жира
Рафинированное	0,40
Рафинированное гидратированное	1,25
Гидратированное 1-го сорта	2,25
Гидратированное 2-го сорта	6,00
Нерафинированное высшего сорта	1,50
Нерафинированное 1-го сорта	2,25
Нерафинированное 2-го сорта	6,00

Кислотное число определяют методом кислотно-основного титрования с визуальной или потенциометрической индикацией конечной точки титрования. Метод основан на взаимодействии свободных жирных кислот, имеющихся в масле, с раствором гидроксида калия. В качестве титранта невозможно использование гидроксида натрия, так как образующиеся натриевые мыла хуже растворимы в условиях проведения определения.

Навеску жира помещают в коническую колбу и добавляют смесь растворителей. В качестве растворителей используют спиртоэфирную и спиртохлороформную смесь. При использовании спиртоэфирной смеси титрование проводят водным или спиртовым раствором титранта, при использовании спиртохлороформной смеси — спиртовым раствором гидроксида калия.

При определении кислотного числа светлых и рафинированных масел, в том числе полученного из нерафинированного хлопкового масла, в качестве индикатора используют фенолфталеин, темных масел (нерафинированного хлопкового и других) — тимолфталеин.

КЧ вычисляют по формуле:

$$КЧ = \frac{V_{\text{кон}} \cdot T_{\text{кон}}}{m},$$

где $V_{\text{кон}}$ — объем раствора гидроксида калия, израсходованный на титрование взятой навески жира, см³; $T_{\text{кон}}$ — титр раствора гидроксида калия, мг/см³; m — навеска жира, г.

По кислотному числу можно рассчитать примерное содержание свободных жирных кислот в жире ($\omega_{\text{жк}}$), также характеризующих кислотность жиров и масел. Расчет обычно ведут по олеиновой кислоте, как наиболее распространенной свободной жирной кислоте в подсолнечном, соевом маслах и кондитерском жире, по формуле

$$\omega_{\text{жк}} = КЧ \cdot \frac{M_{\text{OK}} \cdot 100}{M_{\text{кон}} \cdot 1000} = 0,5034 \cdot КЧ,$$

где M_{OK} — молярная масса олеиновой кислоты, 282,47 г/моль; $M_{\text{кон}}$ — молярная масса гидроксида калия, 56,11 г/моль; 100 — коэффициент пересчета в проценты; 1000 — коэффициент пересчета в граммы; 0,5034 — коэффициент пересчета на олеиновую кислоту.

Определение числа омыления жиров

Число омыления (ЧО) характеризует число свободных и связанных жирных кислот в жире.

ЧО — это количество миллиграмм гидроксида калия, необходимое для нейтрализации как свободных, так и связанных (в форме глицеридов) жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

Определение числа омыления проводится по ГОСТ 5478.

В табл. 10 приведены значения чисел омыления масел.

Таблица 10

Число омыления растительных масел

Масло	ЧО, мг КОН/г жира
Подсолнечное масло	189,9–190,6
Пальмовое масло	196,0–210
Соевое масло	191,6–192,1
Сливочное масло	220–230

Определение ЧО проводят методом обратного кислотно-основного титрования. К исследуемому образцу добавляют избыточное количество спиртового раствора гидроксида калия, проводят омыление, по окончании которого добавляют фенолфталеин (тимолфталеин) и титруют раствором хлороводородной кислоты.

Число омыления рассчитывают по формуле

$$\text{ЧО} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T_{\text{HCl/KOH}}}{m},$$

где V_1 и V_2 — объемы раствора хлороводородной кислоты, израсходованные на титрование холостого и исследуемого раствора соответственно, см³; $T_{\text{HCl/KOH}}$ — титр раствора гидроксида калия по хлороводородной кислоте, мг/см³; m — навеска жира, г.

Определение эфирного числа

Эфирное число (ЭЧ) характеризует содержание связанных в виде эфиров жирных кислот и определяется количеством миллиграмм гидроксида калия, необходимого для нейтрализации жирных кислот, связанных в виде эфиров в 1 г жира. Экспериментально ЭЧ определяется по разнице между ЧО и КЧ:

$$\text{ЭЧ} = \text{ЧО} - \text{КЧ}.$$

Для жиров, не содержащих свободных жирных кислот, значения ЭЧ и ЧО совпадают. При хранении жиров, сопровождающемся процессами гидролиза и омыления, ЭЧ снижается. Таким образом, эфирное число совместно с кислотным числом является показателем степени окислительной порчи жира, сопровождающейся накоплением низкомолекулярных кислот.

На основании ЭЧ рассчитывают содержание триацилглицерина (ω_{TAG} , %) и глицерина (ω_{Γ} , %) в жире по формулам

$$\omega_{\text{TAG}} = \frac{M_{\text{TAG}} \cdot \text{ЭЧ}}{3 \cdot M_{\text{КОН}} \cdot 1000} \cdot 100,$$

$$\omega_{\Gamma} = \frac{M_{\Gamma} \cdot \text{ЭЧ}}{3 \cdot M_{\text{КОН}} \cdot 1000} \cdot 100 = 0,0547 \cdot \text{ЭЧ},$$

где M_{TAG} и $M_{\text{КОН}}$ — молярная масса триацилглицерида и гидроксида калия соответственно, г/моль; 3 — основность глицерина.

Определение йодного числа

Йодное число (ИЧ), или так называемый коэффициент непредельности, характеризует степень ненасыщенности жира. Чем выше в жире содержание ненасыщенных жирных кислот, тем выше ИЧ (табл. 11).

Таблица 11

Йодное число некоторых животных и растительных жиров

Жир	ИЧ, г $I_2/100$ г жира
Говяжий жир	32–47
Свиной жир	24–66
Сливочное масло	25–42
Подсолнечное масло	119–145

ИЧ показывает количество граммов йода, которое присоединяется к 100 г жира. ИЧ является одним из наиболее важных химических показателей для масел (жиров). Оно свидетельствует о количественном содержании непредельных кислот в жире, что позволяет судить о его устойчивости к окислению, к «высыханию», прогорканию и другим изменениям, происходящим при хранении и переработке пищевых и технических масел. Йодное число является показателем, характерным для любого вида свежего жира.

С двойными связями, кроме йода, реагируют также и другие галогены — Cl_2 и Br_2 . Однако они не только присоединяются к атомам углерода, соединенными двойными связями, но и замещают атомы водорода в радикале. Йод же в определенных условиях преимущественно присоединяется к атомам углерода, связанным двойными связями.

Для определения йодного числа навеску жира растворяют в этиловом спирте, добавляют спиртовой раствор йода, оставляют в темном месте и спустя 5–10 мин оттитровывают раствором тиосульфата натрия.

ИЧ вычисляют по формуле

$$\text{ИЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{I}_2} \cdot 100}{m},$$

где V_1 и V_2 — объемы раствора тиосульфата натрия, израсходованные на титрование холостого и исследуемого раствора соответственно, см^3 ; $T_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{I}_2}$ — титр раствора тиосульфата натрия по йоду, $\text{г}/\text{см}^3$; m — навеска жира, г.

Определение йодного числа проводят и с бромистым йодом (по Гансу), образующимся при взаимодействии йода с бромом в уксуснокислой среде. Бромистый йод количественно присоединяется к непредельным жирным кислотам по месту разрыва двойных связей. Избыток бромистого йода, не пошедший на реакцию, реагирует с бромистым калием по уравнению



Выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия.

Определение перекисного числа

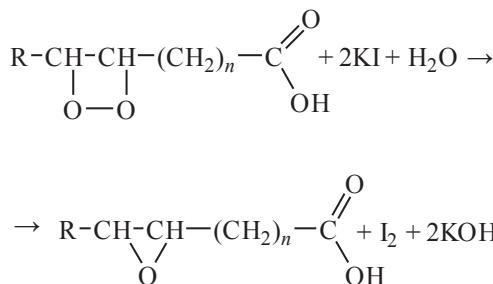
Непредельные жирные кислоты, входящие в состав жиров и масел, под воздействием кислорода воздуха, влаги, света, в присутствии фермента липоксигеназы (липооксидазы) легко подвержены окислению. Скорость, глубина и направление окисления зависят от состава жиров и масел: с увеличением степени непредельности жирных кислот, входящих в состав глицеридов, скорость окисления возрастает. Окислительные процессы в жирах катализируются присутствием влаги, следов металлов, кислорода воздуха. Первичными продуктами окисления жиров являются пероксиды. Пероксиды — неустойчивые соединения, легко распадающиеся с образованием оксидов и освобождением атомарного кислорода, который, в свою очередь, служит источником образования озона и пероксида водорода. В дальнейшем пероксиды и оксиды превращаются в оксикислоты. Выделившийся озон окисляет новые молекулы непредельных кислот. Образуются нестабильные соединения, озониды, которые гидролитически расщепляются,

превращаясь в альдегиды и т. д. Таким образом в результате превращений пероксидов образуются вторичные продукты окисления: спирты, альдегиды, кетоны, кислоты с углеродной цепью различной длины, а также их полимеры. Поэтому определение содержания пероксидов и альдегидов может оказать большую помощь при суждении о качестве масла. Кроме того, концентрацию пероксидных соединений в жирах следует контролировать, поскольку они являются токсичными и способны разрушить жирорастворимые витамины и полиненасыщенные жирные кислоты.

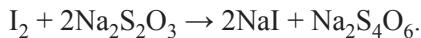
О содержании перекисных соединений в жире судят по перекисному числу, которое позволяет выявить окислительные процессы и появление продуктов порчи значительно раньше, чем это может быть установлено органолептически.

Перекисное число (ПЧ) — это количество грамм йода, выделенного из йодида калия перекисными соединениями, содержащимися в 100 г жира. Определение перекисного числа выполняется в соответствии с ГОСТ 26593.

Перекисное число определяется йодометрическим методом, основанным на окислении в уксуснокислой среде йодида калия пероксидами и гидропероксидами жира, предварительно растворенного в хлороформе:



и титровании выделившегося йода раствором тиосульфата натрия:



Перекисное число рассчитывают по формуле

$$\text{ПЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{I}_2} \cdot 100}{m},$$

где V_1 и V_2 — объемы раствора тиосульфата натрия, израсходованные на титрование исследуемого и холостого раствора соответственно, см^3 ; $T_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{I}_2}$ — титр раствора тиосульфата натрия по йоду, $\text{г}/\text{см}^3$; m — навеска жира, г.

Из табл. 12 видно, что перекисное число свежего жира должно быть не более 0,03 %, испорченного жира — свыше 0,1 %.

Таблица 12

**Зависимость степени окисленности жира
от перекисного числа**

ПЧ, г $\text{I}_2/100$ г жира	Степень порчи жира
< 0,03	Свежий
0,03–0,06	Свежий, но не подлежит хранению
0,06–0,1	Сомнительной свежести
> 0,1	Испорченный

Углеводы

Углеводы относятся к классу основных макронутриентов пищевых продуктов и являются важными энергетическими компонентами пищи (при окислении 1 г углеводов выделяется 16,74 кДж энергии). Однако роль углеводов в питании не ограничивается их значением только как источника энергии, поскольку они выполняют и ряд других важных функций: углеводы и их производные входят в состав разнообразных соединительных тканей и жидкостей организма, тонизируют центральную нервную систему, регулируют накопление кетоновых тел при окислении жиров, способствуют выведению токсичных элементов из организма человека, стимулируют моторную функцию желудочно-кишечного тракта

и выполняют некоторые специализированные функции, например, предотвращают свертывание крови.

Углеводы — полигидроксиальдегиды и полигидроксикетоны — наиболее распространенный на Земле класс органических соединений, входящих в состав всех живых организмов. В клетках животных их содержится в количестве около 2 % сухой массы, в клетках растений — 80 % и более.

Классификация углеводов

Углеводы — обширный класс природных органических соединений, которые в зависимости от способности к гидролизу подразделяются на простые и сложные углеводы. *Простыми углеводами* — моносахаридами или монозами — называют углеводы, которые не способны гидролизоваться с образованием более простых соединений. К простым сахарам относят, например, глюкозу, фруктозу, ксилозу, арабинозу и т. д. Большинство этих веществ имеет состав, соответствующий общей формуле $C_nH_{2n}O_n$. *Сложные углеводы* — это углеводы, способные гидролизоваться с образованием простых углеводов. Их делят на две группы: 1) низкомолекулярные (сахароподобные, или олигосахариды) полисахариды и 2) высокомолекулярные (несахароподобные) полисахариды.

Олигосахариды — это полисахариды, молекулы которых состоят из 2–10 остатков моносахаридов. Из сахароподобных полисахаридов особое значение имеют дисахариды (сахароза, мальтоза и лактоза), молекулы которых построены из двух одинаковых или разных остатков моноз. По своему строению олигосахариды могут быть восстанавливющими и невосстанавливющими. Если в образовании молекулы дисахарида монозы участвуют своими полуацетальными (гликозидными) гидроксилами, образуется невосстанавливющийся дисахарид (например, сахароза), если одна из молекул моноз участвует в построении молекулы дисахарида своим полуацетальным гидроксилом, другая — одним из спиртовых гидроксилов, образуется восстанавливющийся дисахарид (например, мальтоза, лактоза). Это одна из главных характеристик дисахаридов.

Высокомолекулярные несахароподобные полисахариды построены из большого числа (до 6–10 тыс.) остатков моноз. Они делятся на гомополисахариды, построенные из молекул моносахаридов только одного вида (крахмал, гликоген, клетчатка), и гетерополисахариды, состоящие из остатков различных моносахаридов. К полисахаридам относят гемицеллюлозы, крахмал, инулин, гликоген, целлюлозу, пектиновые вещества, камеди, декстрыны и декстрины.

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

С точки зрения пищевой ценности углеводы подразделяют на усвояемые и неусвояемые. Усвояемость углеводов зависит от наличия определенных ферментов в желудочно-кишечном тракте человека.

К усвояемым относятся моносахариды (глюкоза, фруктоза, галактоза), некоторые дисахариды (сахароза, лактоза, мальтоза, рафиноза) и полисахариды (инулин, крахмал, декстрины). Дисахариды и усвояемые полисахариды в пищеварительном тракте гидролизуются пищеварительными ферментами до моноз, среди которых главную роль играет глюкоза.

Легче всего усваивается фруктоза, глюкоза, сахароза, а также мальтоза и лактоза; несколько медленнее — крахмал и декстрины, так как они должны предварительно расщепиться до простых сахаров.

Из усвояемых сахаров первостепенное значение принадлежит сахарозе, которая широко используется в производстве разнообразной пищевой продукции. Смесь глюкозы и фруктозы содержится в меде (75 %), винограде (15 %). Из усвояемых полисахаридов основное значение в питании имеет крахмал, на долю которого приходится до 80 % потребляемых углеводов. Крахмал состоит из двух фракций — амилозы и амилопектина, которые в желудочно-кишечном тракте человека гидролизуются через ряд

промежуточных продуктов (декстрины) до мальтозы, непосредственно используемой организмом. Больше всего крахмала содержится в крупах и макаронах (55–70 %), бобовых (40–45 %), хлебе (30–40 %), картофеле (15 %). В животных продуктах также содержится небольшое количество другого полисахарида — гликогена (в печени — 2–10 %, в мышечной ткани — 0,3–1 %).

К *неусвояемым* углеводам относятся пищевые волокна (или балластные вещества) такие, как целлюлоза (клетчатка), гемицеллюлозы, лигнин (эти три группы иногда объединяют под названием «грубые пищевые волокна»), пектиновые вещества, камеди и декстраны (в свою очередь, эти три группы углеводов иногда называют «мягкие пищевые волокна»).

Человек не усваивает пищевые волокна, так как он не производит ферментов, необходимых для их расщепления. Однако частичное расщепление этих веществ (целлюлозы — 30–40 %, гемицеллюлоз — 60–80 %, пектиновых веществ — до 95 %) может происходить под действием микроорганизмов в толстой кишке. Единственным нерасщепляемым и неусвояемым компонентом растительных продуктов является лигнин.

Оптимальное содержание пищевых волокон (грубых и мягких) в ежедневном рационе взрослого человека должно составлять 20–25 г, в том числе непосредственно клетчатки и пектина — 10–15 г. Эта потребность легко обеспечивается хлебом грубого помола (клетчатка и гемицеллюлозы), овощами и фруктами (пектинны, камеди, частично клетчатка). Много клетчатки содержится в сушеных овощах (от 2,9 % в сухом картофеле) и фруктах (1,6–6,1 %), в большинстве свежих ягод, в которых не отделяют мякоть от семян (от 2 % в крыжовнике и клюкве до 4–5 % в землянике и малине), и в некоторых свежих овощах (в капусте — 1 %, моркови — 1,2 %, редьке и брюкве — 1,5 %).

Больше всего пектина содержится в свекле и черной смородине (1,1 %), яблоках (1 %) и свежей сливе (0,9 %).

Углеводы при хранении сырья и в процессе его переработки могут подвергнуться различным изменениям (брожение,

карамелизация, меланоидинообразование), что может или повысить, или понизить качество готового продукта.

Пищевая и биологическая ценность углеводов

Углеводы не содержат эссенциальных факторов питания, они необходимы преимущественно как легкоусвояемые поставщики энергии.

Источниками углеводов в питании служат главным образом продукты растительного происхождения — хлеб, крупы, картофель, овощи, фрукты, ягоды. Из продуктов животного происхождения только в молоке имеются углеводы — молочный сахар (лактоза).

Усвояемые углеводы являются основным поставщиком энергии. Их энергетический коэффициент меньше, чем у жиров, но человек потребляет большое количество углеводов и получает с ними 50–60 % требуемых калорий. Хотя усвояемые углеводы как поставщики энергии могут в значительной мере заменяться белками и жирами, полностью исключить их из питания нельзя. В противном случае в крови появятся продукты неполного окисления жиров, так называемые «кетоновые тела», произойдет нарушение функции центральной нервной системы и мышц, ослабление умственной и физической деятельности, сократится продолжительность жизни.

Считается, что взрослый человек при умеренных физических нагрузках должен потреблять 365–400 г (в среднем 382 г) усвояемых углеводов в день, в том числе 50–100 г (не более) простых сахаров.

Систематический избыток усвояемых углеводов в питании может способствовать возникновению ряда болезней. Одна из них — ожирение, которое, в свою очередь, способствует возникновению диабета и атеросклероза. Большую роль играет при этом чрезмерное потребление углеводов.

Неусвояемые углеводы ранее считали бесполезными, в связи с чем они получили название балластных веществ. Несмотря на

то, что пищевые волокна не усваиваются организмом, их роль для жизнедеятельности велика.

Балластные вещества влияют на перистальтику кишечника, создавая необходимые условия для продвижения пищи по желудочно-кишечному тракту. Они способствуют выведению из организма холестерина, препятствуют всасыванию ядовитых веществ (особенно клетчатка совместно с пектином, который содержится в овощах и фруктах). Клетчатка нормализует деятельность полезной кишечной микрофлоры, в некоторой степени снижает аппетит, создает чувство насыщения. В то же время чрезмерное употребление клетчатки приводит к снижению усвояемости основных пищевых веществ — белков, жиров, витаминов и особенно минеральных веществ — на 5–15 %. Например, железо из растительных продуктов усваивается в 2–3 раза меньше, чем из животных продуктов. Снижение усвояемости может вызвать нарушения в деятельности желудочно-кишечного тракта.

Пектин и другие компоненты «мягких пищевых волокон», как уже говорилось, тоже не усваиваются человеком. Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие о благоприятной роли пектина, например, при отравлениях токсичными металлами, в подавлении деятельности гнилостных микроорганизмов. Пектин более эффективно, чем клетчатка, способствует снижению холестерина в крови и удалению желчных кислот.

Методы определения углеводов

Метод количественного определения углеводов выбирают в зависимости от принадлежности углеводов к одной из трех основных групп: простейшим сахарам (моно-, ди- и трисахариды), усвояемым полисахаридам (крахмал, декстрины, гликоген), неусвояемым полисахаридам (пектиновые вещества, гемицеллюлозы, клетчатка). Методы определения этих групп сильно различаются.

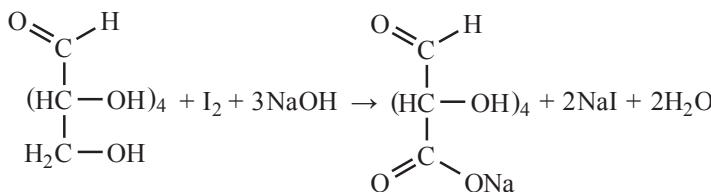
В основе многих химических методов количественного определения углеводов в пищевых продуктах лежат редуцирующие свойства сахаров. Поэтому нередуцирующие полисахариды

предварительно подвергают гидролизу, дальнейший анализ основан на определении количества редуцирующих сахаров (например, глюкозы, фруктозы или мальтозы) любым титриметрическим или спектрофотометрическим методом.

Простейшие сахара

Сахара извлекают из пищевых продуктов 80 %-ным этиловым спиртом при температуре 75–80 °С на водяной бане. При анализе сильнокислотных продуктов (виноград, яблоки, томаты, лимоны и т. д.) во избежание гидролиза полисахаридов спирт, используемый для экстракции, нейтрализуют мелом. Спиртовые экстракты объединяют, спирт упаривают под вакуумом при температуре не выше 40 °С, разбавляют горячей водой и фильтруют. При анализе продуктов, относительно богатых белками и фенольными веществами (виноград, лук, листовые овощи, свекла), фильтрат дополнительно обрабатывают нейтральным раствором ацетата свинца, избыток которого удаляют сульфатом натрия, оксалатом натрия или фосфатом натрия. Выпавший осадок отфильтровывают и в фильтрате определяют редуцирующие сахара одним из химических методов. Наиболее распространенными являются такие методы, как йодометрический, феррицианидный, глюкозооксидазный и др.

Йодометрический метод — это титриметрический метод, основанный на способности йода в щелочной среде окислять альдосахара в соответствующие уроновые кислоты:



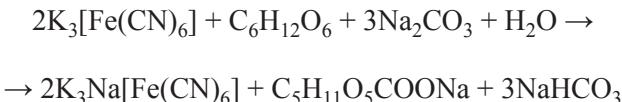
Избыток йода оттитровывают раствором тиосульфата натрия, предварительно нейтрализовав щелочь раствором кислоты.

Содержание альдосахара (Х) вычисляют по формуле

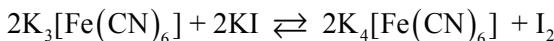
$$m_X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N_{Na_2S_2O_3} \cdot M_{экв(X)}}{1000} \cdot \frac{V_O}{V_{al}},$$

где V_1 и V_2 — объемы раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование холостого и исследуемого раствора соответственно, cm^3 ; $N_{Na_2S_2O_3}$ — нормальная концентрация раствора тиосульфата натрия, н; $M_{экв(X)}$ — эквивалентная молярная масса определяемого углевода; V_O/V_{al} — коэффициент, учитывающий разбавление.

Феррицианидный метод основан на реакции окисления глюкозы (и других углеводов) гексацианоферратом (III) калия в слабощелочной среде при определенных условиях, которые должны каждый раз точно соблюдаться для получения воспроизводимых результатов:



Глюкоза окисляется до глюконовой кислоты, гексацианоферрат (III) калия восстанавливается до гексацианоферрата (II). Избыток добавленного гексацианоферрата (III) калия определяют йодометрически в кислой среде:



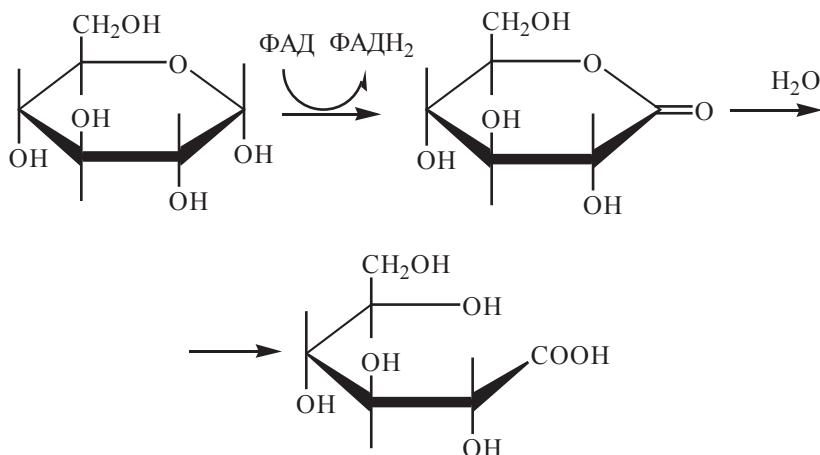
Вследствие обратимости этой реакции гексацианоферрат (II) калия переводят в нерастворимую соль $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$ действием сульфата цинка.

Образовавшийся в результате реакции свободный йод оттитровывают тиосульфатом натрия. Содержание альдосахара вычисляют по формуле, приведенной в йодометрическом методе.

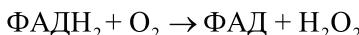
Глюкозооксидазный метод — это спектрофотометрический метод, основанный на способности фермента глюкозооксидазы окислять β -D-глюкозу до глюконовой кислоты. Ферментный пре-

парат глюкозооксидазы представляет собой флавопротеин, обладающий высокой специфичностью по отношению к β -D-глюкозе.

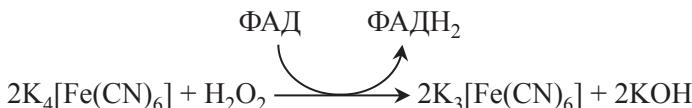
Ферментативная реакция протекает с образованием лактона глюконовой кислоты и восстановлением простетической группы флавинадениндинуклеотида (ФАД). Образовавшийся лактон spontанно гидролизуется до глюконовой кислоты:



Далее восстановленная форма флавинадениндинуклеотида — ФАДН₂ передает протоны на кислород с образованием пероксида водорода в количестве, эквимолярном количеству окисленной глюкозы:



Присутствующая в ферментном препарате пероксидаза катализирует окисление гексацианоферрата (II) пероксидом водорода с образованием окрашенного соединения гексацианоферрата (III):



В результате реакции раствор приобретает лимонно-желтый цвет. Интенсивность его окраски пропорциональна количеству

образовавшейся глюкозы. Поглощение раствора определяют при длине волны 510 нм. Окраска раствора устойчива в течение 1 часа после окончания инкубации.

Содержание глюкозы (m , г) определяют методом стандартов и рассчитывают по формуле

$$m = \frac{c_{\text{ст}} \cdot A_X \cdot V}{A_{\text{ст}}} \cdot \frac{V_0}{V_{\text{ал}}},$$

где A_X и $A_{\text{ст}}$ — оптические плотности исследуемой пробы и стандарта соответственно; $c_{\text{ст}}$ — содержание глюкозы в калибровочной пробе, мг/см³; V — объем анализируемого гидролизата, см³; $V_0/V_{\text{ал}}$ — коэффициент, учитывающий разбавление гидролизата.

Усвояемые полисахариды

Основным усвояемым полисахаридом является *крахмал* ($C_6H_{10}O_5)_n$ — резервный полисахарид, главный компонент зерна, картофеля и многих видов пищевого сырья. Крахмал — смесь полимеров двух типов, построенных из остатков глюкозы: амилозы и амилопектина. *Амилоза* — линейный полимер, построенный из остатков глюкозы, связь 1–4, имеет спиралевидное строение. *Амилопектин* — полимер, содержащий остатки α -D-глюкозы и имеющий разветвленную структуру за счет образования связей 1–4, 1–6, 1–3. Амилоза растворяется в горячей воде, а амилопектин образует в ней клейстер. Амилоза дает с йодом синее окрашивание, амилопектин — красно-фиолетовое.

Стандартного метода определения крахмала не существует. Однако все методы предусматривают предварительное освобождение образцов от простых сахаров экстракцией 80 %-ным этиловым спиртом. Извлечение крахмала из продукта осуществляют растворением сначала в холодной, затем в горячей воде или в солевом или щелочном растворе, или в растворе хлорной кислоты. Очистку раствора крахмала от белков и осветление раствора проводят, используя белковые осадители, например, фосфорно-вольфрамовую кислоту, ацетат цинка, желтую кровянную соль, уранилацетат и др.

Гравиметрическое определение крахмала основано на его осаждении 90 %-ным этиловым спиртом с последующей промывкой 70 %-ным спиртом.

Крахмал восстанавливющими свойствами не обладает, они проявляются лишь у декстринов. Под действием кислот или фермента амилазы крахмал расщепляется, давая в конечном итоге α -D-глюкозу:



Промежуточными продуктами гидролиза являются декстрины. При кислотном гидролизе крахмала процесс идет до образования глюкозы, при ферментативном расщеплении конечным продуктом является дисахарид мальтоза, которая при участии фермента α -глюкозидазы (мальтазы) гидролитически распадается с освобождением двух молекул глюкозы.

Ферментативный гидролиз более трудоемок, но зато позволяет определять крахмал в присутствии других полисахаридов.

Поскольку конечным продуктом кислотного или ферментативного гидролиза является глюкоза, то существующие химические методы количественного определения крахмала основываются на использовании различных ее свойств (редуцирующей способности, оптической активности и др.).

Наибольшее распространение получили поляриметрические методы определения крахмала.

В некоторых случаях в пищевых продуктах (например, в хлебе) определяют *декстрины*, являющиеся промежуточным продуктом частичного гидролиза крахмала. Декстрины извлекают обычно теплой водой и осаждают 96 %-ным этанолом. После гидролиза осадка 2 %-ным раствором хлороводородной кислоты на водяной бане определяют редуцирующие вещества.

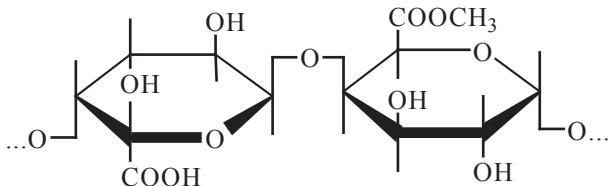
Однако поскольку с точки зрения пищевых свойств они усваиваются так же, как и крахмал, то иногда отдельного определения их не производят и декстрины определяют вместе с крахмалом.

Неусвояемые углеводы

Из неусвояемых углеводов отдельно определяют пектин, гемицеллюлозу и клетчатку.

Пектиновые вещества (пектин) являются важным углеводным компонентом клеточной стенки и межклеточного пространства растений. В растительных клетках находятся две основные формы пектиновых веществ: пектин растворимый (*гидропектин*) и пектин нерастворимый (*протопектин*).

Основной остав молекулы гидропектина построен из остатков *D*-галактуроновой кислоты, связанных между собой α (1–4)-гликозидными связями, частично метоксилированных по шестому углеродному атому и нейтрализованных ионами кальция (Ca^{2+}). Степень этерификации пектинов составляет 37–90 %.



Гидропектин (II)

Протопектин — условное название соединений, характеризующихся в основном нерастворимостью в воде и способностью при осторожном гидролизе образовывать пектиновые кислоты. Состоит из сети пектиновых цепей, образованных в результате соединения ионов многовалентных металлов с неэтифицированными карбоксильными группами с помощью эфирных мостиков с фосфорной кислотой.

Наибольшее количество пектиновых веществ находится в плодах и корнеплодах. Чаще всего в пищевых продуктах встречается так называемый растворимый пектин. Однако в некоторых овощах и фруктах, особенно сырых, обнаруживаются заметные количества труднорастворимого пектина.

Стандартного метода определения пектина нет. Результаты, полученные различными методами, могут значительно отличаться. Наиболее воспроизводимые результаты получаются при использовании методики, включающей приведенные ниже этапы.

Предварительное освобождение образцов от простых сахаров проводят трехкратной экстракцией 80 %-ным этиловым спиртом. Растворимые пектины извлекают экстракция водой при 45 °C в течение 30 мин, горячей водой, горячим раствором оксалата аммония или раствором трилона Б. При необходимости извлечь протопектин остаток после извлечения растворимого пектина дополнительно кипятят сначала с раствором хлороводородной кислоты, затем с раствором цитрата натрия. При действии разбавленных кислот протопектин гидролизуется до растворимого пектина.

Определить содержание пектинов в продукте можно гравиметрически, взвесив высушенный осадок. В качестве осадителя используют хлорид кальция. Исходя из массы полученного пектата кальция рассчитывают содержание пектина, гравиметрический фактор — 0,9235.

Вместо взвешивания можно определить в осадке кальций комплексонометрически и по его содержанию вычислить содержание пектинов.

Гемицеллюлозы — это группа высокомолекулярных полисахаридов, образующих совместно с целлюлозой клеточные стенки растительных тканей. В состав гемицеллюлоз входят пентозаны, образующие при гидролизе пентозы (арабинозу, ксилозу), гексозаны, гидролизующиеся до гексоз (манноза, галактоза, глюкоза, фруктоза) и группа смешанных полисахаридов, гидролизующихся до пентоз, гексоз и уроновых кислот. Гемицеллюлозы обычно имеют разветвленное строение; порядок расположения моноз внутри полимерной цепи неодинаков. Связь их друг с другом осуществляется с участием полуацетального гидроксила и гидроксильных групп у 2, 3, 4, 6-го углеродных атомов.

По химическим свойствам гемицеллюлозы весьма близки к пектинам. В их состав также входят пентозы и галактуроновая кислота, однако гидролизуются они труднее.

Методы количественного определения гемицеллюлоз основаны на редуцирующих свойствах веществ, образующихся в результате гидролиза. Пробоподготовка заключается в удалении сахаров экстракцией 80 %-ным этанолом и удалении пектинов теплой водой. Гидролиз гемицеллюлоз осуществляют раствором хлороводородной кислоты или гидроксида натрия с последующей нейтрализацией полученного гидролизата.

Под пищевой или сырой *клетчаткой* понимают целлюлозу с небольшой примесью лигнина и гемицеллюлоз. Целлюлоза — самый распространенный высокомолекулярный полимер $(C_6H_{10}O_5)_n$. Молекула целлюлозы имеет линейное строение и состоит из остатков β -D-глюкопиранозы, связь 1–4. Целлюлоза нерастворима в воде и при обычных условиях не гидролизуется кислотами.

Для определения суммарных компонентов (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин) наиболее пригоден метод «сырой» клетчатки по Геннесбергу и Штоману. «Сырую» клетчатку получают в результате последовательной обработки навески кислотой, щелочью и спиртоэфирной смесью.

Под действием кислот (смесь уксусной и азотной кислоты или серной кислотой) из пробы удаляются легкорастворимые углеводы — простые и сложные сахарины, а также некоторые азотистые соединения. Для ускорения гидролиза добавляют небольшое количество хлорной кислоты. Щелочь омыляет жиры и растворяет белки, спиртоэфирная смесь способствует удалению жира.

Остаток фильтруют через предварительно взвешенный асбестовый фильтр, промывают, высушивают (100–150 °C) и взвешивают. По разнице массы осадка с фильтром и самого фильтра находят вес «сырой» клетчатки и рассчитывают ее процентное содержание в пробе.

Минеральные вещества

Минеральные вещества в отличие от белков, жиров и углеводов не обладают энергетической ценностью. Однако они являются незаменимым микронутриентом питания и должны ежедневно потребляться с пищей, поскольку не синтезируются в организме человека. Роль минеральных веществ в организме человека чрезвычайно разнообразна. Они участвуют в водно-солевом и кислотно-щелочном обмене — важнейших обменных процессах организма. Многие ферментативные процессы в организме невозможны без участия тех или иных минеральных веществ. Главной ролью их является участие в построении костной ткани, где преобладают такие элементы, как фосфор и кальций, а также важнейших функциональных белков животных, например гемоглобина и миоглобина. Вместе с тем при избыточном количестве минеральные вещества могут проявлять и токсические свойства. В связи с этим содержание некоторых неорганических соединений строго регламентируется органами здравоохранения РФ.

Классификация минеральных веществ

В зависимости от содержания в организме человека и продуктах питания минеральные вещества подразделяют на макроэлементы, содержание которых на 100 г живой ткани или пищевого продукта составляет от нескольких сотен до нескольких десятков миллиграммов, и микроэлементы, концентрация которых выражается десятыми, сотыми и тысячными долями миллиграмма. К макроэлементам относят калий, натрий, кальций, магний, фосфор, хлор и серу. К наиболее значимым микроэлементам можно отнести железо, йод, фтор, селен и др. Некоторые микроэлементы, например цинк, медь, железо и др., относятся к токсичным элементам и в концентрациях, превышающих предельно допустимые (ПДК), могут вызвать тяжелые отравления и заболевания.

Содержание минеральных веществ в пищевых продуктах зависит от природы исходного сырья и технологии их получения.

Данные о содержании важнейших минеральных веществ в основных группах продуктов приведены в табл. 13.

Таблица 13

**Примерное содержание минеральных веществ
в основных продуктах питания**

Элемент	Рыба	Мясо	Молоко	Хлебные изделия	Картофель	Овощи	Фрукты и ягоды	Содержание в суточной диете
Макроэлементы, мг/100 г								
Ca	40	10	120	30	10	35	29	1150 мг
P	250	180	90	200	60	40	20	2400 мг
Mg	30	25	13	80	23	20	15	540 мг
Na	80	70	50	400	30	20	25	4000–6000 мг ¹ 760 мг ²
K	300	350	150	200	570	200	250	5500 мг
Cl	160	60	110	615	60	40	2	700–10000 мг ¹ 1500 мг ²
S	200	220	30	70	30	20	6	1100 мг
Микроэлементы, мкг/100 г								
Fe	1000	3000	70	4000	900	700	600	27000 мкг
Zn	1000	2500	400	1500	360	400	150	16200 мкг
I	50	10	4	5	10	10	5	210 мкг
F	500	40	18	40	17	20	10	860 мкг

П р и м е ч а н и е. ¹ — с добавлением пищевой соли; ² — без добавления пищевой соли.

В среднем в съедобной части продуктов питания содержится около 1 % минеральных веществ.

При переработке пищевого сырья происходит снижение содержания минеральных веществ. В растительных продуктах они теряются с отходами при приготовлении круп и муки. При очистке

овощей теряется до 10–30 % минеральных веществ. Мясные продукты, рыба и птица теряют такие элементы, как фосфор и кальций, при отделении костей. При кулинарной обработке теряется в зависимости от технологии 5–30 %. Исключением является только добавление пищевой соли, приводящее к увеличению содержания минеральных веществ до 1,5–3,0 %.

Недостаток или избыток минеральных веществ всегда приводит к возникновению тех или иных патологических состояний и даже развитию специфических заболеваний, называемых микроэлементозами (кариес, флюороз и др.)

Определение минеральных веществ

Для определения содержания минеральных веществ используют химические и физико-химические методы анализа. Все эти методы требуют особой подготовки проб для анализа, заключающейся в предварительной минерализации объекта исследования, которую можно проводить двумя способами — «сухим» и «мокрым» (см.: «Определение содержания токсичных металлов», с. 122).

Количественное представление о содержании минеральных веществ дает массовая доля образующейся при сжигании продукта золы. Для многих продуктов зольность — нормируемый показатель.

Зола — это остаток, получаемый после сжигания и прокаливания природных материалов. При сжигании вещества биологического происхождения на воздухе углерод, водород и частично кислород переходят в углекислый газ и пары воды, которые улетучиваются. Удаляется также и азот. В виде золы остаются нелетучие оксиды химических элементов: кальций, магний, кремний, алюминий, железо, фосфор, калий, натрий и др. Для обеспечения свободного доступа воздуха сжигание проводят медленно, причем часто добавляют разрыхляющие навеску вещества (ацетат кальция или карбонат магния, смесь равных частей спирта и глицерина и т. п.). При прокаливании материала часть соединений фосфора, серы, галогенов и щелочных металлов улетучивается. Поэтому

для количественного определения этих элементов применяют так называемое мокрое сжигание, т. е. сжигание в серной или азотной кислоте, а иногда в их смеси.

Суммарное количество золы в составе биологических объектов после сжигания определяют гравиметрическим методом.

Для определения зольности анализируемый продукт высушивают в сушильном шкафу и осторожно обугливают на электрической плитке, после чего обугленный продукт прокаливают в муфельной печи при 450 °C.

Массовую долю золы определяют по формуле

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

где m_1 — масса тигля с исследуемым продуктом, г; m_2 — масса тигля с золой, г; m_0 — масса тигля, г.

Витамины

Витамины — это низкомолекулярные органические соединения различной химической природы, необходимые для осуществления механизмов ферментативного катализа, нормального течения обмена веществ, поддержания гомеостаза, биохимического обеспечения всех жизненных функций организма.

Витамины — важнейшие незаменимые пищевые вещества, не синтезируемые организмом человека. В отличие от других нутриентов, витамины не являются пластическим материалом или источником энергии, а участвуют в обмене веществ как катализаторы и регуляторы отдельных биохимических и физиологических процессов. Отсутствие или недостаток в организме витаминов вызывает гиповитаминозы (болезни в результате длительного недостатка витаминов) и авитаминозы (болезни в результате отсутствия витаминов). При приеме витаминов в количествах, значительно превышающих физиологические нормы, могут развиваться гипервитаминозы.

В настоящее время известно 13 витаминов, жизненно необходимых человеку. Для нормальной жизнедеятельности человека витамины необходимы в небольших количествах — от нескольких микрограммов до нескольких десятков миллиграммов.

Название «витамины» предложил польский биохимик К. Функ (от лат. *vita* — жизнь). Классификацию витаминов нельзя признать совершенной. Первоначально была введена буквенная классификация (A, B, C, D и т. д.), и несмотря на то, что она не отражает ни биологической, ни физической сущности витаминов, ею широко пользуются. Для удобства изучения витамины классифицируют по способности к растворению: а) жирорастворимые (A, D, E, K) и б) водорастворимые (группа В и С).

Различают собственно витамины и витаминоподобные соединения. К последним относятся вещества животного и растительного происхождения, напоминающие по своему физиологическому действию витамины, но не являющиеся таковыми. «Псевдовитамины» являются биофлавоноиды, холин, карнитин, липолевая, оротовая и *n*-аминобензойная кислоты.

В отдельных продуктах содержатся провитамины — соединения, способные в организме превращаться в витамины. Например, β -каротин переходит в витамин A, эргостеролы под действием ультрафиолетовых лучей в организме человека превращаются в витамин D. В то же время имеется группа соединений, часто близких к витаминам по строению, которые, конкурируя с ними, могут занять место витаминов в ферментных системах, но не в состоянии выполнять их функции. Они получили название антивитаминов.

Для количественного определения витаминов в пищевых продуктах используют химические, физико-химические, биологические и микробиологические методы.

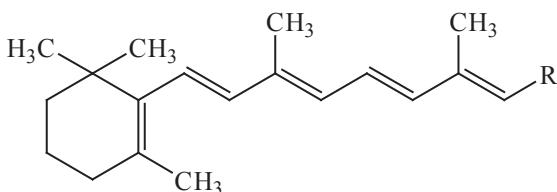
Жирорастворимые витамины

Эта группа витаминов хорошо растворяется в жирах. В отличие от водорастворимых, жирорастворимые витамины сохраняются в организме долго, их избыток накапливается в печени и жировых депо и при необходимости высвобождаются из них.

К этой группе относятся витамины А, Д, Е. Кроме перечисленных витаминов существуют другие органические вещества, поступающие с пищей в незначительных количествах и обладающие специфическим биологическим действием. К числу таких веществ относятся нафтохиононы (так называемый витамин К), биофлавоноиды (витамин Р), незаменимые (полиненасыщенные) жирные кислоты, холин и еще некоторые вещества. В настоящее время их принято называть витаминоподобными веществами.

Витамин А

Витамин А — группа природных соединений. Витамерами (III) витамина А являются ретинол (витамин А₁), ретиналь (витамин А₁-альдегид) и ретиноевая кислота (витамин А₂).



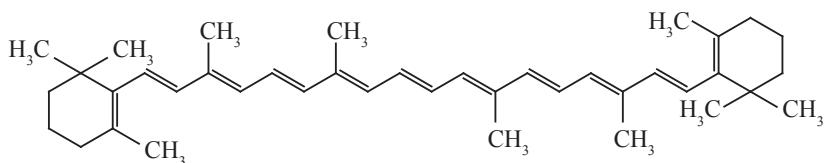
Витамеры витамина А (III): ретинол (R = CH₂OH), ретиналь (R = CHO), ретиноевая кислота (R = COOH)

Соединения группы витамина А обладают различной биологической активностью. Так, ретинол необходим для роста, дифференциации и сохранения функций эпителиальных и костных тканей; ретиналь играет важную роль в механизме зрения, образуя с белком опсином зрительный пигмент родопсин (основное светочувствительное вещество клетчатки (ретины) глаза, отсюда и название — ретинол); ретиноевая кислота в 10 раз активнее ретинола в дифференциации, но менее активна в процессах размножения.

Витамин А устойчив в щелочной среде, очень быстро разрушается на свету, при действии кислорода воздуха. Эти свойства витамина используются при производстве пищевых продуктов, где он играет роль природного антиоксиданта.

Витамин А содержится исключительно в продуктах животного происхождения. Больше всего витамина А содержится в рыбьем жире (19 мг на 100 г), говяжьей печени (8 мг на 100 г), печени трески и свиной печени (4 мг на 100 г), также он содержится в молочных продуктах, яичном желтке.

В растениях же широко распространены провитамины А — каротиноиды. Их содержат морковь, шиповник, тыква, томаты, листовая зелень, абрикосы, апельсины. В результате окислительного расщепления молекула β -каротина (IV) распадается с образованием двух молекул витамина А₁.



β -каротин (IV)

Суточная потребность взрослого человека в витамине А (в пересчете на ретинол) — 0,5–2,5 мг, причем не менее 1/3 от всего количества должно поступать в организм в виде β -каротина.

При количественном определении витамина А в пищевых продуктах используют различные методы. Выбор метода определяется наличием той или иной аппаратуры, целью исследования, свойствами анализируемого материала, предполагаемым содержанием витамина А и характером сопутствующих примесей.

Определению витамина А предшествует подготовительная стадия, включающая щелочной гидролиз жироподобных веществ в присутствии пирогаллола и экстракцию неомыляемого остатка органическим растворителем. Многие пищевые продукты содержат вещества, которые, подобно каротиноидам, вместе с витамином А переходят в неомыляемую фракцию и мешают определению. В таких случаях проводят хроматографическое отделение витамина А от сопутствующих соединений, используя колонки с оксидом алюминия, оксидом магния и др.

Для количественного определения веществ, обладающих А-витаминной активностью, может быть использован метод прямой спектрофотометрии, основанный на способности этих соединений к избирательному светопоглощению в ультрафиолетовой области спектра (табл. 14).

Таблица 14

Условия селективного спектрофотометрического определения веществ, обладающих А-витаминной активностью

Соединение	λ_{\max} (этанол), нм
Ретинол	324–325
Ретиналь	375
Ретиноевая кислота	347
Ретинолацетат	326
Ретинолпальмиат	325–328

Метод прямой спектрофотометрии наиболее простой, быстрый, достаточно специфичный. Он дает надежные результаты при определении витамина А в объектах, не содержащих примесей, обладающих поглощением в той же области спектра.

Спектрофотометрически витамин А может быть определен после проведения реакции образования светопоглощающего соединения с реагентом Карра — Прайса (хлороформный раствор хлорида сурьмы (III)). Экстракцию неомыляемой фракции в данном случае проводят петролейным иди диэтиловым эфиром. Сухой остаток после отгонки эфира растворяют в хлороформе и определяют оптическую плотность раствора с реагентом. Эта реакция для витамина А не специфична, аналогичное окрашивание с хлоридом сурьмы (III) дают каротиноиды, но хроматографическое разделение этих соединений позволяет устраниТЬ их мешающее влияние. Существенным недостатком метода является неустойчивость развивающейся окраски, которая затрудняет оценку величины оптической плотности растворов.

Широкое применение при определении витаминов находит метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), который позволяет разделить жирорастворимые витамины (A, D, E), обычно присутствующие одновременно в пищевых продуктах. Кроме этого ВЭЖХ облегчает возможность определения различных форм витаминов (ретинол, его изомеры, эфиры ретинола и родственные соединения), что особенно необходимо при контроле за внесением витаминов в пищевые продукты. При определении методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (неподвижная фаза — октадецилсиликагель, подвижная фаза — смесь пропилового спирта, дистиллированной воды и ацетонитрила, спектрофотометрический детектор) витамин А экстрагируют смесью изопропилового спирта и воды и полученный экстракт хроматографируют в указанных выше условиях. Определение проводят методом внешнего стандарта. Нормально-фазовый вариант ВЭЖХ определения витамина А предусматривает экстрагирование его гексаном и последующее хроматографирование на колонке, заполненной силикагелем, элюентом является гексан с небольшим добавлением этанола, детектирование осуществляют спектрофотометрически.

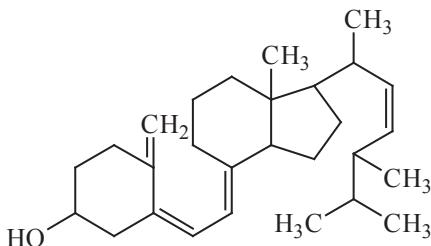
Большинство применяемых в настоящее время физико-химических методов определения β -каротина в пищевых продуктах основано на измерении интенсивности светопоглощения его растворов. Как соединения с сопряженными двойными связями, каротиноиды имеют характерные спектры поглощения в УФ и видимой области.

Наиболее эффективными растворителями для экстракции каротина являются петролейный эфир, гексан, ацетон и их смеси; они разрывают белково-каротиновый комплекс и извлекают каротин. Для объектов, богатых каротином, лучшим экстрагеном служит смесь гексана и ацетона. При экстракции тканей, бедных каротином, желательно увеличение доли ацетона в смеси. Хорошие результаты дает применение смеси петролейного эфира и ацетона. Для предохранения фотохимического распада β -каротина экстракцию проводят по возможности быстро с добавлением антиоксиданта (аскорбиновой кислоты). Очистку полученного экстракта от

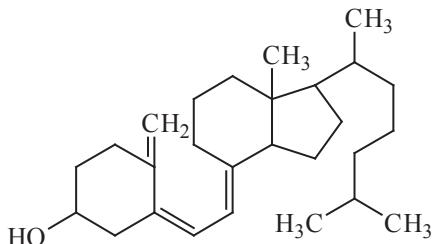
сопутствующих пигментов проводят, пропуская через хроматографическую колонку, заполненную оксидом алюминия или магния. В элюате спектрофотометрически определяют содержание каротиноидов. Положение полосы поглощения каротиноидов зависит от числа сопряженных связей в их молекуле. Увеличение их числа влечет за собой значительное возрастание максимума поглощения, который зависит также и от используемого растворителя. Так, максимальное поглощение β -каротина наблюдается в бензоле при длинах волн 464–465 нм, в циклогексане — при 454–455 нм, в петролейном эфире и гексане — при 450–451 нм. Для контроля чистоты отделения β -каротина от других каротиноидов снимают спектр поглощения β -каротина в гексане или петролейном эфире в диапазоне от 430 до 480 нм. Получение четких максимумов при длинах волн 450 и 475 нм и минимума при 465 нм свидетельствует о хорошем отделении β -каротина от других каротиноидов. Содержание β -каротина определяют методом градуировочного графика.

Витамин D

Витамин D — группа природных соединений, обладающих антирахитическим действием. Витамин D, как и витамин A, существует в виде нескольких витамеров. Наиболее распространены витамеры D₂ (эрекальциферол, V) и D₃ (холекальциферол, VI), близкие по химической структуре и обладающие способностью регулировать фосфорно-кальциевый обмен.



Эргокальциферол (V)



Холекальциферол (VI)

Провитаминами D₂ и D₃ являются соответственно эргостерол и холестерол, которые переходят в активную форму под действием УФ-лучей. В больших количествах эргостерол содержится в дрожжах, холестерол — в коже человека, т. е. витамин D₃ может синтезироваться в организме, и его поступление с пищей не обязательно.

Основная функция витамина D — поддержание в организме постоянной концентрации кальция и фосфора. Витамин D способствует повышению сопротивляемости организма, участвует в активизации кальция в тонком кишечнике и минерализации костей. При отсутствии в рационе витамина D у детей развивается рахит, у взрослых — разрежение костей (остеопороз). В дозах, существенно превышающих физиологическую потребность, D₂ и D₃ высокотоксичны.

Источниками витамина D для человека являются продукты животного происхождения, больше всего его содержится в некоторых рыбных продуктах: рыбьем жире, печени трески, сельди атлантической.

Суточная потребность в витамине D взрослых людей удовлетворяется за счет образования его в коже человека под влиянием ультрафиолетовых лучей из провитамина 7-дигидрохолистерина и частично за счет поступления его с пищей. Кроме того, печень взрослого человека способна накапливать заметное количество витамина, достаточное для обеспечения его потребности в течение 1 года. Суточная потребность для взрослого — 2,5–10 мкг.

Количественное определение витамина в пищевых продуктах представляет собой чрезвычайно сложную задачу ввиду его низкого содержания, отсутствия чувствительных специфических реакций на витамин D и трудностей отделения от сопутствующих веществ. В связи с этим для многих продуктов с низким содержанием витамина D до недавнего времени единственно приемлемыми методами анализа являлись биологические исследования на крысах или цыплятах.

Биологические методы основаны на установлении минимального количества исследуемого продукта, излечивающего или предотвращающего ракит у крыс (цыплят), находящихся на ракитовой диете. Биологические методы обладают высокой специфичностью и чувствительностью, они позволяют определять витамин в концентрации 0,01–0,2 мкг в 100 г продукта.

Быстрым, надежным и точным методом определения является метод ВЭЖХ, который успешно используется при анализе детских и диетических продуктов, обогащенных витамином D.

Отбор проб проводят по ГОСТ 13496.0, ГОСТ 26809, ГОСТ Р 52062, ГОСТ Р 52179. Для предотвращения разрушения витамина D₃ анализ испытуемой пробы осуществляют в присутствии антиоксиданта (аскорбиновой кислоты, гидрохинона, пирогаллола), предохраняя пробы от попадания на них прямого солнечного света. Пробоподготовка заключается в предварительном проведении омыления анализируемой пробы спиртовым раствором щелочи. Витамин D₃ экстрагируют *n*-гексаном, петролейным или диэтиловым эфиром. Из полученного экстракта выделяют фракцию, содержащую витамин D₃, используя нормально-фазовую ВЭЖХ (подвижная фаза — смесь *n*-гексана и изопропанола, неподвижная фаза — немодифицированный силикагель или силикагель, модифицированный CN- или NH₂-группами). Анализ выделенной фракции осуществляют обращенно-фазовой ВЭЖХ (подвижная фаза — смесь ацетонитрила и метилового спирта, неподвижная фаза — октадецилсиликагель, детектор спектрофотометрический (длина волны детектирования — 265 нм) или диодно-матричный). Определение витамина D₃ проводят методом

внутреннего стандарта, которым является витамин D₂, добавляемый к анализируемой пробе перед проведением омыления.

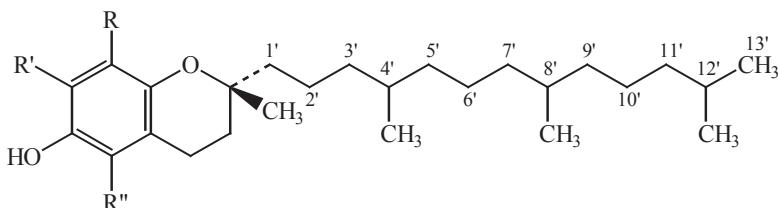
При исследовании пищевых продуктов с содержанием витамина D свыше 1 мкг в 100 г продукта может быть использован спектрофотометрический метод, основанный на получении светопоглощающего соединения при взаимодействии витамина D с хлоридом сурьмы (III) (реагент Карра — Прайса) с максимумом светопоглощения при 500 нм. Метод позволяет определять как холекальциферол (витамин D₃), так и эргокальциферол (витамин D₂). При наличии обеих форм витамина D, что может иметь место в витаминизованных пищевых продуктах, определяется их сумма.

После омыления анализируемой пробы спиртовым раствором щелочи экстракцию витамина D проводят этиловым эфиром. Полученный экстракт выпаривают и сухой остаток перерастворяют в хлороформе, после чего проводят реакцию с реагентом Карра — Прайса.

Метод пригоден для определения содержания витамина D в рыбьем жире, натуральной печени трески, яйцах, сливочном масле, икре рыб, пищевых продуктах, обогащенных витамином.

Витамин E

Витамин E — группа природных соединений (VII). Важнейшие соединения группы витамина E: α -, β -, γ -, δ -токоферолы (от греч. $\tau\omega\kappaος$ — потомство, $\phi\acute{e}rειν$ — несу) и токотриенолы. Последние значительно менее активны, чем токоферолы, и отличаются от них тремя двойными связями в положениях 3', 7' и 11'.



Токоферол (VII): α -токоферол ($R = R' = R'' = CH_3$),
 β -токоферол ($R' = H$, $R = R'' = CH_3$), γ -токоферол ($R = R' = CH_3$, $R'' = H$),
 δ -токоферол ($R' = R'' = H$, $R = CH_3$)

Токоферолы хорошо растворимы в растительных маслах, спирте, серном и петролейном эфирах, хлороформе, гексане. Химически они весьма устойчивы, стабильны при нагревании в отсутствии кислорода воздуха, разрушаются под действием УФ-излучения. Растворы токоферолов в органических растворителях интенсивно флуоресцируют (максимум возбуждения при длине волны 295 нм).

Биологическая активность витамина Е проявляется в способности предотвращать окисление ненасыщенных липидов и предохранять биологические мембранны от разрушения. Обладая антиоксидантными свойствами, он нашел широкое применение в качестве пищевой добавки. При авитаминозе нарушаются функции размножения, функции сосудистой и нервной системы. Суточная потребность в витамине Е взрослого человека в пересчете на α -токоферол — 10 мг.

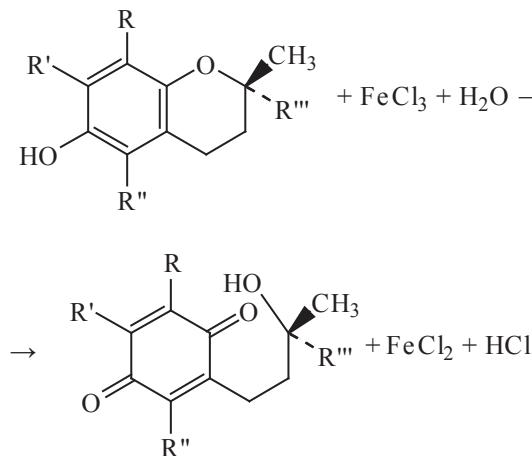
Токоферолы распространены в основном в растительных продуктах. Наиболее богаты ими растительные масла: кукурузное (40–80 мг/100 г), подсолнечное (40–70 мг/100 г), хлопковое (50–100 мг/100 г). Токоферолы содержатся практически во всех продуктах питания: в хлебе в зависимости от сорта — 2–4 мг/100 г, крупах — 2–9 мг/100 г.

При определении витамина Е в продуктах питания основная трудность состоит в том, что во многих случаях приходится рассматривать группу соединений, имеющих большое химическое сходство, но одновременно различающихся по биологической активности, оценить которую можно только биологическим методом. Однако в силу длительности биологических исследований, их большой трудоемкости и высокой стоимости они почти вытеснены физико-химическими методами.

Токоферолы весьма чувствительны к окислению в щелочной среде, поэтому омыление и экстракцию неомыляемого остатка проводят в атмосфере азота и присутствии антиоксиданта (аскорбиновой кислоты). Эти условия являются достаточными для насыщенных токоферолов, но не всегда обеспечивают необходимую сохранность ненасыщенных форм, которые более подвержены разрушению.

Пробоподготовка применяемых в настоящее время методик определения витамина Е в пищевых продуктах заключается в омылении анализируемой пробы спиртовым раствором щелочи и экстрагировании витамина Е диэтиловым или петролейным эфиром. Сухой остаток после отгонки экстрагента перерастворяют с этиловым спиртом. В полученном растворе определяют массовую концентрацию витамина Е.

Большинство физико-химических методов определения витамина Е основано на использовании окислительно-восстановительных свойств токоферолов. Для определения суммы токоферолов в пищевых продуктах наиболее часто используют реакцию восстановления железа (III) в железо (II) токоферолами:



$\text{R}^{\prime\prime\prime}$ — радикал изогексадекана

Количество железа (II) определяют спектрофотометрически, используя *o*-фенантролин, батофенантролин или α,α -дипиридин. Образующееся комплексное соединение имеет максимум светопоглощения при 490 нм.

К сожалению, данная реакция не является строго специфичной для токоферолов, окрашенные комплексы с указанными реактивами могут давать каротины, стеролы, витамин А и некоторые

другие соединения. Поэтому для повышения точности анализа токоферолы предварительно отделяют от соединений, мешающих определению. Для этой цели используют колоночную хроматографию, хроматографию в тонком слое адсорбента, газожидкостную хроматографию и ВЭЖХ.

Для отделения токоферолов от веществ, мешающих при спектрофотометрическом определении (каротиноиды, витамин А), в основном используется колоночная хроматография на оксиде алюминия. Элюируют токоферолы различными системами растворителей: ацетон — гексан, этиловый спирт — циклогексан и др.

Для определения индивидуальных токоферолов несомненный интерес представляет метод ВЭЖХ, обеспечивающий в одном процессе как разделение, так и количественный анализ. Его высокая чувствительность и точность дают возможность получить надежные результаты в тех случаях, когда другие методы малопригодны. Метод ВЭЖХ позволяет проводить раздельное определение токоферолов и токотриенолов, эфиров токоферола, а также витаминов А и Д. Детектирование различных соединений проводят как по поглощению, так и по флуоресценции.

Определение витамина Е в экстракте, полученном из анализируемой пробы, проводят методом нормально-фазовой или обращенно-фазовой ВЭЖХ. В первом варианте сухой остаток после выпаривания экстрагента перерастворяют в этиловом спирте, во втором — в *n*-гексане. Условия хроматографического определения аналогичны определению витамина D₃. Детектирование флуориметрическим детектором проводят при длине волны возбуждения 295 нм и длине волны излучения 330 нм, спектрофотометрическим — при 292 нм. Количественное содержание определяют методом внешнего стандарта.

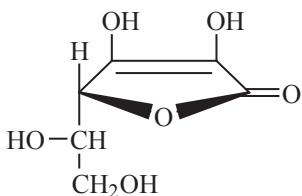
Водорастворимые витамины

Водорастворимые витамины в составе коферментов участвуют в обмене веществ, являясь катализаторами биохимических реакций. К водорастворимым витаминам относятся витамин С и все витамины группы В.

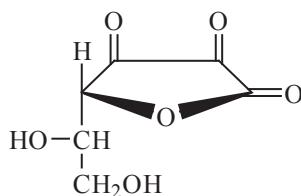
Витамины данной группы хорошо растворяются в воде, не накапливаются в тканях и достаточно быстро выводятся из организма. Такие свойства, с одной стороны, позволяют избежать избытка витаминов в организме, с другой — их постоянно образующийся дефицит приходится восполнять. Поэтому в ежедневное меню стоит включить продукты, богатые водорастворимыми витаминами.

Витамин С

Витамин С — это группа соединений, обладающих противовирусной активностью. Витамерами витамина С являются *L*-аскорбиновая кислота (VIII) и дегидроаскорбиновая кислота (IX).



L-аскорбиновая
кислота (VIII)



Дегидроаскорбиновая
кислота (IX)

Дегидроаскорбиновая кислота является окисленной формой аскорбиновой кислоты. Продукты дальнейшего окисления дегидроаскорбиновой кислоты витаминной активностью не обладают, поэтому вместо термина «витамин С» используют другое название этого витамина — аскорбиновая кислота. В пищевых продуктах она играет роль антиоксиданта.

Человек, в отличие от подавляющего большинства животных, не способен синтезировать витамин С и все необходимое количество его получает с пищей. Источниками витамина С для человека служат самые разнообразные продукты растительного происхождения. Особенно богаты аскорбиновой кислотой шиповник, черная

смородина, черноплодная рябина, красный перец, петрушка, цитру-
совые, белокочанная капуста.

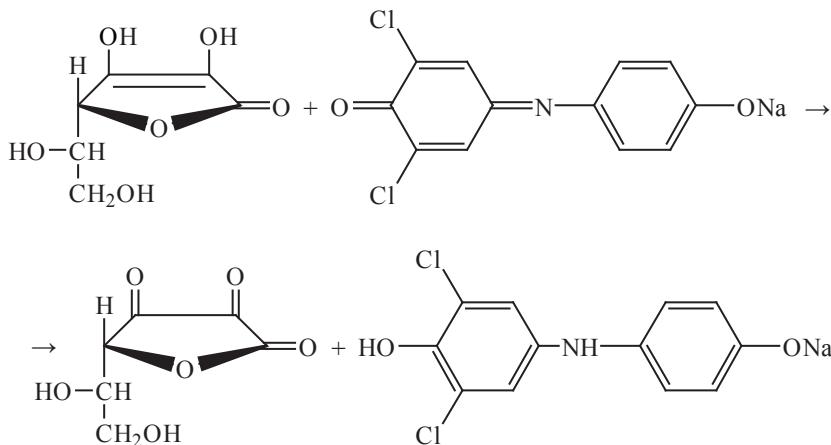
Аскорбиновая кислота устойчива в сухом виде в темноте. В водных растворах, особенно в щелочной среде, быстро окисляется обратимо до дегидроаскорбиновой кислоты. Витамин С — самый лабильный из всех известных витаминов, легко разрушается на свету кислородом воздуха, а также в присутствии следов железа и меди. В силу нестойкости витамина его содержание в овощах и плодах при хранении, при варке пищи быстро снижается (кроме свежей и квашеной капусты).

При определении витамина С в пищевых продуктах используют спектрофотометрические, флуориметрические, а также титриметрические методы, основанные на окислительно-восстановительных свойствах аскорбиновой кислоты.

Наилучшим экстрагентом является раствор метафосфорной кислоты, обладающий способностью осаждать белки и инактивировать оксидазу аскорбиновой кислоты. В случае отсутствия метафосфорной кислоты ее заменяют раствором хлороводородной кислоты. При извлечении аскорбиновой кислоты из объектов, содержащих ионы металлов (консервированные продукты, хранимые в нелакированной таре), хорошие результаты получаются при добавлении в экстрагирующий раствор ЭДТА.

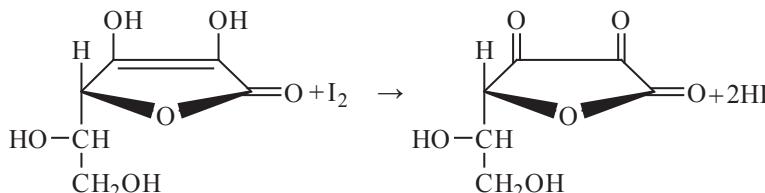
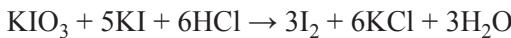
Из методов, основанных на окислительных свойствах аскорбиновой кислоты, наибольшее распространение находит метод титрования раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, являющийся арбитражным. Он прост в выполнении, а в сочетании с определенными приемами обработки обеспечивает получение достаточно точных результатов и может быть использован при анализе всех видов пищевых продуктов.

При действии на аскорбиновую кислоту раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (окрашенного в синий цвет) последний восстанавливается, превращаясь в бесцветное лейкооснование.



При определении аскорбиновой кислоты в свежих овощах и фруктах, не содержащих естественных пигментов, в картофеле, молоке и некоторых других объектах идентификацию точки эквивалентности проводят визуально.

При анализе продуктов, содержащих естественные красители, определение проводят методом потенциометрического титрования раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия или иодатометрически. В последнем случае титрантом является раствор иодата калия и титрование ведут в присутствии йодида калия и хлороводородной кислоты до стойкого синего окрашивания:

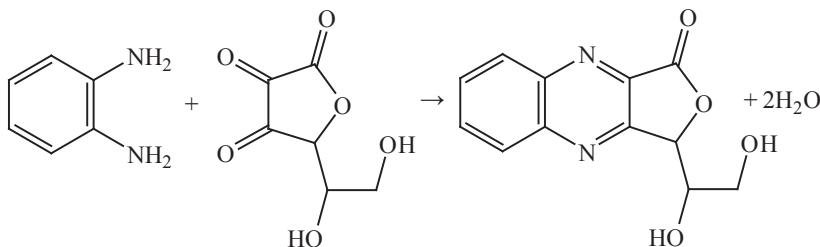


При анализе консервированных пищевых продуктов титрование проводят после восстановления дегидроаскорбиновой кислоты

в аскорбиновую цистеином. Для устранения влияния восстановителей экстракт обрабатывают формальдегидом.

Реакция взаимодействия аскорбиновой кислоты с 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия может быть использована и для спектрофотометрического определения витамина С. В результате реакции уменьшается интенсивность синей окраски реагента, так как продукт взаимодействия — бесцветный. Возможно также и экстрагирование избытка реагента амилацетатом, бутилацетатом или толуолом с последующим его фотометрированием при длине волны, отвечающей максимальной чувствительности определения.

Для определения общего содержания витамина С (суммы аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот) используют весьма чувствительный и точный флуориметрический метод. Дегидроаскорбиновая кислота, являясь 1,2-дикарбонильным соединением, конденсируется с *o*-фенилендиамином, образуя флуоресцирующее гетероциклическое соединение — производное хиноксалина, обладающее максимальной флуоресценцией при длине волны возбуждающего света 350 нм. Флуоресценция излучаемого света находится в области 430 нм. Для количественного определения аскорбиновой кислоты ее предварительно окисляют в дегидроаскорбиновую.



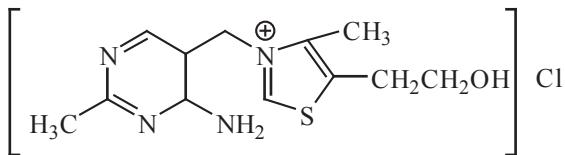
Для определения витамина С во всех пищевых продуктах может быть использован высокочувствительный и специфичный метод ВЭЖХ. Метод основан на экстракции витамина С из пробы раствором метафосфорной кислоты, последующем восстановлении дегидроаскорбиновой кислоты цистеином до аскорбиновой

и определении общего содержания последней обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием. Разделение осуществляют на силикагеле с привитыми октильными или октадецильными группами, используя в качестве подвижной фазы смесь дигидрофосфата калия и цетримида в метаноле. Обработку результатов проводят по методу внешнего стандарта.

Витамин B_1

Витамин B_1 — водорастворимый витамин группы В, содержащий в молекуле, помимо аминогруппы, атом серы, поэтому ему было дано химическое название — тиамин (от греч. θείο — сера).

Тиамин является производным пиримидина и тиазола, устойчив в форме катиона, чаще всего в виде хлорида (Х).



Витамин B_1 (Х)

Соли тиамина хорошо растворимы в воде. Свет, влажность, действие кислорода воздуха, нагревание снижают устойчивость витамина. Он довольно стабилен в кислой среде, легко разрушается в нейтральных и щелочных средах. Именно аминогруппа, содержащаяся в пиримидиновом кольце, явилась причиной того, что тиамин был назван витамином, т. е. «амином жизни».

Витамин B_1 участвует в регулировании углеродного обмена. Недостаток вызывает нарушение в работе нервной (бессонница, раздражительность), сердечно-сосудистой и пищеварительной систем.

Суточная потребность в витамине B_1 для взрослого человека составляет около 1,7 мг. Однако на потребность в тиамине влияет состав рациона. Так, пища, богатая углеводами, и алкоголь повышают потребность в витамине B_1 . С другой стороны, потребность

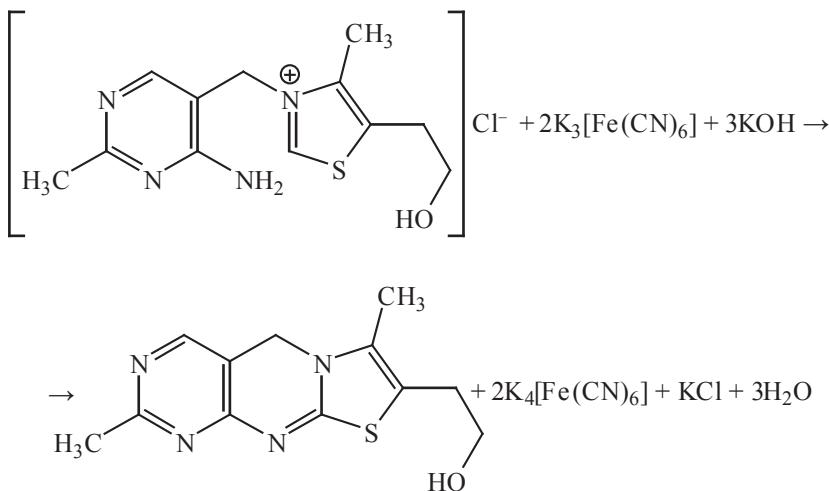
в нем несколько снижается при увеличении в рационе жира и белков.

Для восполнения недостаточности витамина В₁ необходимо включить в рацион питания в относительно больших количествах бобовые, крупы и хлеб из муки грубого помола. Молоко и молочные продукты так же, как и большинство овощей и фруктов, бедны тиамином. Для профилактики в некоторых районах нашей страны (на Крайнем Севере и др.) проводится витаминация муки высших сортов.

В большинстве природных источников тиамин встречается в виде дифосфорного эфира — кокарбоксилазы. Являясь активной группой ряда ферментов углеводного обмена, кокарбоксилаза находится в связанном состоянии с белком. Для количественного определения тиамина необходимо разрушить комплексы и выделить исследуемый витамин в свободном виде, доступном для физико-химического анализа. Освобождение тиамина из связанного состояния обычно осуществляют с помощью кислотного и ферментного гидролиза. Для осуществления последнего используют фосфатазные ферменты, например амилоризин. При значении pH 4,5 под действием амилаз, содержащихся в ферментных препаратах, одновременно происходит и расщепление крахмала, который, адсорбируя на себе витамины, мешает их количественному определению. Объекты, богатые белком, предварительно подвергают обработке протеолитическими ферментами, например пепсином. При анализе продуктов, содержащих большое количество пектиновых веществ (фруктовые и ягодные консервы), используют пектолитические ферментные препараты, например пектаваморин и пектофоэтидин. Объекты с высоким содержанием жира (жирное мясо, свинина, колбасные изделия, мясные консервы, сыры, молочные продукты с высоким содержанием жира и др.) для его удаления обрабатывают эфиром. Поскольку тиамин в эфире практически не растворим, потеря его при этом не происходит.

Для определения тиамина в пищевых продуктах используют, как правило, флуориметрический метод, основанный на окислении тиамина в щелочной среде гексацианоферратом (III) калия

с образованием сильно флуоресцирующего в УФ-свете соединения — тиохрома (длина волны возбуждения — 360 нм, длина волны флуоресценции — 420 нм):



После окисления тиамина тиохром экстрагируют изобутиловым спиртом. Интенсивность синей флуоресценции экстракта прямо пропорциональна содержанию тиамина.

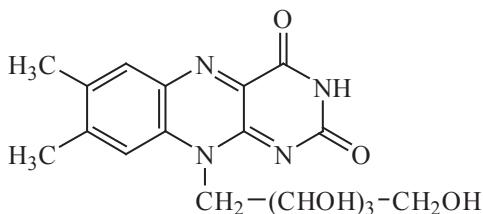
Флуориметрическое определение тиамина часто затрудняется присутствием в ряде объектов соединений, также обладающих флуоресценцией. Эти примеси, маскируя флуоресценцию тиохрома, искажают результаты анализа и делают невозможным проведение определений без специальных обработок проб. Мешающие вещества удаляют очисткой на колонках с ионообменными смолами (катиониты СДВ-3, КУ-2, сильнокислотные сульфосмолы марки КРС-1п, КРС-3пТ40 и КРС-8п). Многие объекты (молоко, мясо, картофель, некоторые овощи, пшеничный хлеб и др.) содержат незначительное количество флуоресцирующих примесей, поэтому при их анализе нет необходимости употреблять адсорбционные колонки. В этом случае флуоресцирующие соединения удаляются из гидролизата экстракцией изобутиловым или бутиловым спиртом.

Для определения тиамина и рибофлавина (витамина В₂) в основном применяется метод ВЭЖХ. Он имеет много преимуществ по сравнению с другими общепринятыми методами и позволяет одновременно разделять, идентифицировать и количественно определять витамины группы В при значительном сокращении времени, затрачиваемого на анализ.

Пробоподготовка заключается в экстракции витаминов В₁ (тиамина) и В₂ (рибофлавина) раствором хлороводородной кислоты. Хроматографирование гидролизата осуществляют, используя обращенную фазу — октадецилсиликагель. Подвижной фазой является смесь ацетонитрила и воды с добавлением триэтиламина. Детектирование осуществляют спектрофотометрически.

Витамин В₂

Витамин В₂, или рибовлавин (XI), — один из наиболее важных водорастворимых витаминов, состоящий из флавинового краящего вещества люмихрома и спирта рибитола.



Витамин В₂ (XI)

Рибофлавин растворим в воде, устойчив в кислой среде, но легко разрушается в нейтральной и щелочной, а также под действием видимого и УФ-облучения. Под действием света в щелочной среде расщепляется с образованием люмифлавина, в нейтральной — с образованием люмихрома. Рибофлавин устойчив к окислителям и нагреванию. Это отличает его от других витаминов группы В.

Суточная потребность взрослого человека в витамине В₂ около 2 мг, что удовлетворяется за счет молочных продуктов. Наиболее

важными источниками рибофлавина являются цельное молоко, простокваша, кефир, сыр, а также печень, почки, яичный желток, пекарские и пивные дрожжи; витамин устойчив при кулинарной обработке продуктов.

Витамин В₂ входит в состав ферментов, играющих существенную роль в реакциях окисления во всех тканях человека, а также регулирующих обмен углеводов, белков и жиров. При недостатке рибофлавина возникают заболевания кожи, воспаление слизистой оболочки ротовой полости, развиваются заболевания кроветворной системы и желудочно-кишечного тракта.

В пищевых продуктах рибофлавин присутствует главным образом в виде фосфорных эфиров флавинмононуклеотида (ФМН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД). Оба соединения связаны с белками и не могут быть определены без предварительного протолитического расщепления. Свободный рибофлавин в значительном количестве содержится в молоке.

Для освобождения связанного с белком рибофлавина и превращения ФМН и ФАД в свободный рибофлавин используют кислотный и ферментный гидролиз, как и при подготовке образца для определения витамина В₁.

Для определения общего количества рибофлавина в естественном материале чаще всего применяются микробиологические методы и флуориметрический метод. Микробиологический метод с использованием тест-организма обладает достаточной специфичностью, высокой чувствительностью и точностью и применим практически ко всем объектам. В то же время длителен и требует специальных условий.

Флуориметрический метод применяется в двух вариантах, которые отличаются способом оценки количества флуоресцирующих веществ.

Вариант прямой флуориметрии — рибофлавиновый метод — основан на способности водных растворов рибофлавина давать интенсивную желто-зеленую флуоресценцию.

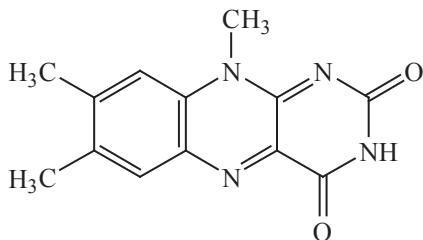
На флуоресценцию рибофлавина влияет целый ряд факторов. Линейная зависимость между концентрацией рибофлавина и его

флуоресценцией сохраняется при концентрации рибофлавина ниже 1 мкг/см³. При более высоких концентрациях происходит самогашение флуоресценции и линейная зависимость нарушается. Флуоресценция может меняться от присутствия различных пигментов и анионов, таких как цианиды, тиоцианиды, сульфиты и нитриты. Кроме того, на нее влияют другие флуоресцирующие вещества, которые часто присутствуют в экстрактах естественных материалов.

Для удаления мешающих пигментов обычно используют быстрое окисление перманганатом калия, избыток которого разрушает добавлением пероксида водорода. Для повышения специфичности метода прямой флуориметрии используют свойство рибофлавина восстанавливаться в нефлуоресцирующее соединение под действием гидросульфита натрия, в то время как мешающие пигменты и посторонние флуоресцирующие вещества им не восстанавливаются.

Метод прямой флуориметрии неприменим к объектам с очень низким содержанием рибофлавина (некоторые овощи, плоды, ягоды) с высоким содержанием железа, катализирующего окисление рибофлавина пероксидом водорода. При исследовании зерновых продуктов (круп, муки, зерна, хлеба и т. д.) более предпочтительным является люмифлавиновый метод.

Люмифлавиновый вариант использует свойство рибофлавина при облучении в щелочной среде переходить в люмифлавин (XII), который благодаря изоаллоксазиновой группировке имеет окрашивание и флуоресценцию, аналогичные рибофлавину, но отличается от него тем, что растворяется в хлороформе.



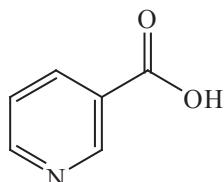
Люмифлавин (XII)

Реакция образования люмофлавина из рибофлавина протекает количественно при облучении в щелочной среде. При проведении анализа необходимо соблюдать постоянные условия облучения, одинаковые для испытуемого и стандартного раствора. В этом случае предпочтительнее использовать способ введения внутреннего стандарта.

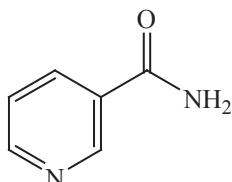
Предварительная (до фотолиза) обработка испытуемого экстракта хлороформом позволяет удалить из раствора посторонние флуоресцирующие вещества, растворимые в хлороформе, и тем самым повысить специфичность метода.

Витамин PP

Под витамином PP (ниацин, витамин B₅) понимают два вещества, обладающих витаминной активностью: никотиновую кислоту (XIII) и ее амид (XIV) — никотинамид.



Никотиновая кислота (XIII)



Амид никотиновой кислоты (XIV)

Витамин PP устойчив в водных растворах к действию кислорода воздуха, света, к повышенной температуре. Он устойчив при консервировании и сушке пищевых продуктов. Биологическая активность обеих форм витамина PP одинакова.

Ниацин входит в состав ферментов, участвующих в клеточном дыхании, обмене белков, регулирующих высшую нервную деятельность и функции органов пищеварения. При недостатке в организме витамина PP наблюдается вялость, быстрая утомляемость, бессонница, пониженная сопротивляемость инфекционным заболеваниям. При значительном недостатке развивается пеллагра (от ит. *pellagra* — шершавая кожа) — тяжелое заболевание, приводящее к расстройству слизистой полости рта и желудка,

появляются пятна на коже, нарушаются функции нервной и сердечно-сосудистой систем, психики.

Потребность взрослого человека в ниацине составляет около 19 мг/день, для ее удовлетворения существенное значение имеют мясо, печень, почки, из растений — арахис, грибы; также богаты ниацином пивные и пекарские дрожжи.

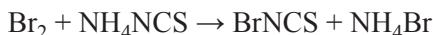
В пищевых продуктах никотиновая кислота и ее амид находятся как в свободной, так и в связанной форме. Существующие методы количественного определения ниацина предполагают наиболее полное выделение и превращение его связанных форм, входящих в состав сложного органического вещества клетки, в свободную никотиновую кислоту. Свободные формы ниацина получают воздействием кислот (хлороводородной или серной) или гидроксида кальция при нагревании.

Проведение гидролиза исследуемого продукта реакции серной кислотой приводит к полному освобождению связанных форм ниацина и превращению никотинамида в свободную никотиновую кислоту. Этот способ обработки дает менее окрашенные гидролизаты и может быть использован при анализе мясных и рыбных продуктов.

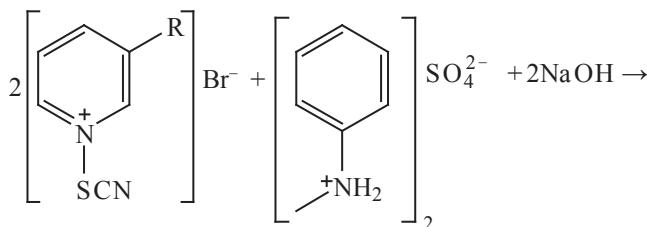
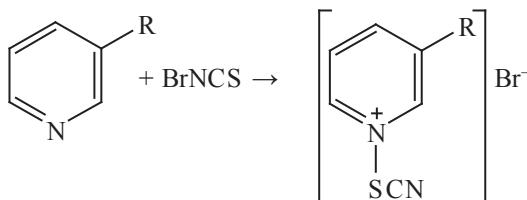
Гидролиз с $\text{Ca}(\text{OH})_2$ более предпочтителен при определении ниацина в муке, крупах, хлебобулочных изделиях, сырах, сухих молочных продуктах, пищевых концентратах, овощах, ягодах и фруктах. Гидроксид кальция образует с сахарами и полисахаридами, пептидами и гликопептидами соединения, почти полностью нерастворимые в охлажденных растворах. В результате экстракт, полученный при обработке $\text{Ca}(\text{OH})_2$, содержит меньше веществ, мешающих химическому определению, чем кислотный гидролизат. Тем не менее и при этом способе гидролиза в фильтрате всегда присутствуют в большем или меньшем количестве посторонние окрашенные вещества, мешающие спектрофотометрическому анализу, а также соединения, способные вступать во взаимодействия с реактивами с образованием окрашенных продуктов. Чтобы уменьшить влияние этих веществ, используют обработку гидролизата концентрированным раствором сульфата цинка. При

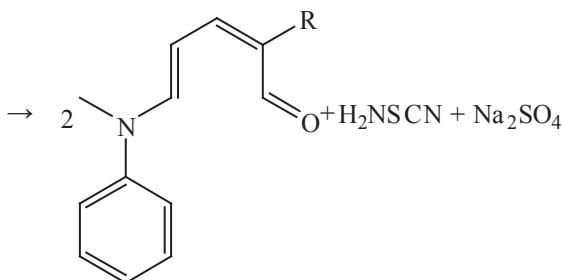
добавлении к смеси раствора гидроксида натрия образуется студенистый осадок гидроксида цинка, который удаляет из раствора многие типы веществ (белки, сахара, дубильные вещества и др.).

В основе метода определения ниацина лежит реакция Кёнига, протекающая в две стадии. Первая стадия — реакция взаимодействия пиридинового кольца никотиновой кислоты с бромроданом (тиоцианат брома), вторая — образование окрашенного производного глутаконового альдегида в результате взаимодействия с ароматическими аминами. Тиоцианат брома получают при добавлении к бромной воде тиоцианата аммония до обесцвечивания:



В присутствии указанных реагентов при нагревании в щелочной среде происходит размыкание пиридиниевого цикла, при последующем добавлении ароматических аминов (например, метола) происходит их конденсация с образовавшимся производным глутаконового альдегида и получается соединение, окрашенное в красный цвет:





Содержание витамина PP рассчитывают, используя метод градуировочного графика.

Для количественного определения ниацина широко используют также микробиологический метод с тест-организмом. Метод простой, специфичный, но более длительный, чем химический. Микробиологический метод позволяет определять содержание ниацина в объектах в тех случаях, когда химическим путем это сделать невозможно, например, продукты с высоким содержанием сахаров и с низким уровнем ниацина.

ХИМИЯ И МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

Радиоактивное загрязнение продовольственного сырья и пищевых продуктов

Радионуклиды, встречающиеся в природе, могут иметь естественное или техногенное происхождение. Природные радионуклиды, как правило, не представляют серьезной опасности для человека.

Среди техногенных радионуклидов некоторые подвержены быстрому распаду (их называют короткоживущими), а некоторые могут существовать в природе в течение десятков и сотен лет. Эти радионуклиды представляют наибольшую опасность, поскольку могут переходить из почвы в продукты питания.

К искусственным источникам радионуклидов относят следующие: испытание ядерного оружия, аварии на атомных станциях, горнодобывающую промышленность и учреждения, работающие с радиоактивными веществами (научные, медицинские и др.).

Попадание радионуклидов с пищей особенно опасно для человека, так как при этом происходит внутреннее облучение организма. Внутреннее облучение является более опасным, чем внешнее, поскольку затрагивает непосредственно жизненно важные органы. Наиболее радиочувствительными клетками являются клетки постоянно обновляющихся тканей и органов, такие как костный мозг, половые железы, селезенка и др. Следствием этого облучения могут являться угнетение механизмов иммунитета и повышение чувствительности к возбудителям инфекционных заболеваний.

В настоящее время наиболее опасными для организма человека долгоживущими радионуклидами техногенного происхождения являются цезий-137 и стронций-90, период полураспада которых составляет около 30 лет. Это означает, что через 30 лет после аварии на Чернобыльской АЭС, т. е. к 2016 г., распадется только половина ядер атомов этих элементов, а к 2190 г. останется только 1 % нераспавшихся ядер атомов. Именно эти два изотопа подлежат обязательной проверке в пищевых продуктах согласно СанПиН 2.3.2.1078-01.

Необходимо отметить, что наибольший уровень содержания радиоактивных веществ характерен для грибов. Особенно сильно накапливают радиацию свинушки, масленок осенний, польский гриб. Эти грибы составляют группу так называемых «аккумуляторов» радиации. Несколько меньше накапливают радионуклиды груздь черный, сыройки, волнушка розовая. Также существенные количества радионуклидов накапливают лесные ягоды, в особенности клюква.

Пищевые продукты должны соответствовать установленным нормативными документами требованиям к допустимому содержанию радиоактивных веществ (табл. 15), представляющих опасность для нынешнего и будущего поколений. Допустимые нормы содержания радионуклидов вырабатывают с учетом среднего потребления данного вида продуктов и ряда других факторов.

Снижению концентрации радионуклидов в пищевых продуктах способствует кулинарная обработка. Так, с картофеля и свеклы при чистке удаляется 60–80 % радионуклидов, во время варки — 60 %, а при отваривании с 2–3-кратной сменой воды количество радионуклидов уменьшается в 2–3 раза.

Отваривание очень эффективно и для грибов — при варке в течение 30–60 мин с 2-кратной сменой воды содержание радионуклидов уменьшается в 2–10 раз, в наибольшей степени это характерно для пластинчатых видов грибов.

Таблица 15

**Допустимые уровни содержания радионуклидов
в различных продуктах***

Пищевой продукт	Допустимые уровни содержания изотопа, Бк/кг продукта	
	цезий-137	стронций-90
Мясо, мясопродукты	160–320	50–200
Молоко, молочные продукты	100	25
Молочные консервы	300	100
Рыба и рыбопродукты	130	100
Зерно, мука	50–70	30–60
Хлеб, булочные изделия	40	20
Кондитерские изделия	160	100
Картофель, овощи	120	40

* В соответствии с действующими санитарными нормами СанПиН 2.3.2.1078.

К продуктам, выводящим радионуклиды из организма, относятся все продукты, богатые грубой клетчаткой, в особенности пектинами. Пектини содержатся в цитрусовых, крыжовнике, белой смородине, рябине, во многих фруктах и ягодах. Аскорбиновая, щавелевая и лимонная кислоты способны ускорить выведение радионуклидов из организма.

**Проведение радиационного контроля
пищевых продуктов**

Радиационная безопасность продуктов питания определяется допустимым уровнем *удельной* (объемной) *активности радионуклида* — это отношение активности радионуклида в радиоактивном образце к массе (объему) образца. В системе СИ единицей измерения активности радионуклида служит *беккерель* (Бк) — активность вещества, в котором за 1 с происходит 1 распад.

Контроль за *удельной* активностью пищевых продуктов и гигиеническая оценка проводится в соответствии с действующими

методическими указаниями по отбору проб, анализу и гигиенической оценке при радиационном контроле стронция-90 и цезия-137 в пищевых продуктах (МУК 2.6.1.1194 «Ионизирующее излучение, радиационная безопасность. Радиационный контроль. Стронций-90 и цезий-137. Пищевые продукты. Отбор проб, анализ и гигиеническая оценка»).

Настоящие методические указания распространяются на проведение гигиенического контроля для оценки радиационной безопасности пищевых продуктов и радиационного контроля пищевых продуктов для оценки соответствия их установленным гигиеническим нормативам на допустимые уровни содержания цезия-137 и стронция-90 в конкретных видах продуктов.

Отбор проб из партии пищевых продуктов

Порядок отбора и количество проб, обеспечивающие представительность пробы контролируемого вида пищевых продуктов, для определения содержания стронция-90 и цезия-137 осуществляется в соответствии с МУК 2.6.1.1194.

Перед отбором проб из партии пищевых продуктов для испытания на содержание стронция-90 и цезия-137 целесообразно выполнить дозиметрический контроль по мощности дозы гамма-излучения с помощью поискового радиометра (СРП-68, СРП-88 и др.). После обнаружения превышения фонового уровня мощности дозы партии поисковыми приборами необходимо уточнить их показания более точными дозиметрами типа ДРГ-01-Т.

Если в результате предварительного дозиметрического контроля партии установлено превышение фонового уровня мощности дозы гамма-излучения, то этот факт должен быть отмечен в акте отбора проб и перед началом исследования необходимо оценить источник излучения.

Подготовка проб к измерениям

Первичная подготовка проб к измерениям заключается в обычной обработке, которой подвергаются пищевые продукты на первом этапе приготовления пищи (мытье, удаление несъедобных

частей), и измельчении их с целью лучшего усреднения пробы и увеличения массы пробы, которую можно разместить в измерительной кювете. Вязкие продукты (сгущенное молоко, мед, джемы и т. п.) при необходимости можно разбавлять до нужной консистенции дистиллированной водой, определив и зафиксировав исходную массу продукта и объем приготовленной смеси.

Приготовление счетных образцов

Счетный образец — это определенное количество вещества, полученное из точечной или объединенной (средней) пробы согласно установленной методике и предназначено для измерений его радиационных параметров на радиометрической установке в соответствии с регламентированной методикой выполнения измерений.

Приготовление счетного образца для измерения цезия-137 и стронция-90 зависит от используемого метода измерения и чувствительности используемой радиометрической установки.

При необходимости увеличения чувствительности применяемых при исследовании методов измерения возможно использование аттестованных и утвержденных в установленном порядке методов термического концентрирования или частичного либо полного радиохимического выделения определяемого радионуклида.

Измерение активности стронция-90 и цезия-137 в счетных образцах

Для определения содержания радионуклидов в пищевых продуктах и продовольственном сырье используют спектрометрический и радиохимический методы.

1. Спектрометрический метод

Для измерения активности стронция-90 и цезия-137 в счетных образцах в пищевых продуктах используют бета-спектрометры и сцинтилляционные и полупроводниковые гамма-спектрометры с блоками детектирования в свинцовой защите соответственно.

Бета-спектрометры или бета-радиометры характеризуются значением минимальной измеряемой активности 0,1–1,0 Бк, гамма-спектрометры –3–10 Бк.

В тех случаях, когда чувствительности спектрометров (радиометра) не хватает для получения достоверного результата содержания радионуклидов в нативных пробах, производят термическое концентрирование, т. е. сухую минерализацию проб (выпаривание, высушивание, обугливание или озоление), с последующим измерением полученного концентратра или при помощи специальных радиохимических методик.

Радиохимические методики концентрирования используются также для продуктов, термическое концентрирование которых затруднительно и трудоемко, например, молочные продукты, сгущенное молоко, жиры и т. п. В основу таких методик положены методы химического разложения (денатурирование белка, омыление жиров и т. д.) с последующим соосаждением стронция-90 с оксалатом кальция или другими неизотопными носителями. Получаемые осадки служат счетными образцами при бета-спектрометрических измерениях.

2. Радиохимический метод

Радиохимический метод анализа применяется в том случае, когда необходимо получить наиболее достоверную и точную информацию о содержании в пробах пищевых продуктов радионуклидов цезия-137 и стронция-90 или отсутствуют спектрометрические установки для определения стронция-90 и цезия-137 в пищевых продуктах.

Используются также радиохимические методики, которые рекомендованы СанПиН 2.3.2.1078 (МУ 5778, МУ 5779, МУК 2.6.2.717 и др.), а также другие методики, прошедшие метрологическую аттестацию и утвержденные в установленном порядке.

Расчет результатов измерений и погрешности исследований

Для определения соответствия пищевых продуктов критериям радиационной безопасности используют показатель соответствия B и погрешность его определения ΔB , значения которых рассчитывают по результатам измерения удельной активности ^{90}Sr и ^{137}Cs в пробе:

$$B = \left(\frac{A_{\text{уд}}}{H} \right)_{^{90}\text{Sr}} + \left(\frac{A_{\text{уд}}}{H} \right)_{^{137}\text{Cs}},$$

$$\Delta B = \sqrt{\left(\frac{\Delta A}{H} \right)_{\text{Sr}}^2 + \left(\frac{\Delta A}{H} \right)_{\text{Cs}}^2},$$

где $A_{\text{уд}}$ — измеренное значение удельной активности радионуклида ^{90}Sr или ^{137}Cs в пищевом продукте, Бк/кг; H — допустимый уровень удельной активности для ^{90}Sr и ^{137}Cs в том же продукте, Бк/кг; ΔA — абсолютная погрешность измерения удельной активности при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Гигиеническая оценка пищевых продуктов по критериям радиационной безопасности

Пищевые продукты можно признать безусловно соответствующими критерию радиационной безопасности, если

$$B + \Delta B \leq 1. \quad (8)$$

Пищевые продукты должны признаваться безусловно несоответствующими критерию радиационной безопасности, если

$$B - \Delta B > 1. \quad (9)$$

Пищевые продукты нельзя признать соответствующими критерию радиационной безопасности при

$$B + \Delta B > 1. \quad (10)$$

Однако если при этом

$$B - \Delta B \leq 1, \quad (11)$$

то следует иметь в виду, что при проведении более точных измерений (т. е. при уменьшении значения ΔB) существует вероятность получить вместо соотношения (10) условие (8). Тогда может оказаться, что по результатам более точных измерений данные

пищевые продукты могут быть признаны соответствующими критерию безопасности.

Если величина $(B + \Delta B) > 1$, а $(B - \Delta B) < 1$, то прежде чем принять решение по продукту в подобной ситуации рекомендуется:

- произвести повторные исследования образца с увеличением времени измерения и массы пробы;
- изменить метод исследования продукта, в случае необходимости произвести термическое или радиохимическое концентрирование пробы или использовать радиохимический метод анализа;
- в отдельных спорных случаях произвести повторный отбор проб.

Загрязнение токсичными элементами

Металлы и металлоорганические соединения (самая токсичная форма существования металлов) относятся к приоритетным загрязнениям природной среды, в том числе биосред и пищевых продуктов, куда они попадают из воды, почвы и растительности, а также в виде аэрозолей металлов, находящихся в воздухе. Токсичные элементы в опасных для человека концентрациях могут попасть в пищевые продукты не только из сырья, но и в процессе технологической обработки — при нарушении соответствующих технологических инструкций.

Объединенная комиссия ФАО и ВОЗ по пищевому кодексу включила ртуть, свинец, кадмий, мышьяк, медь, олово, цинк и железо в число компонентов, содержание которых контролируется при международной торговле продуктами питания. Наибольшую опасность из них представляют первые три. Ионы этих металлов являются хорошими комплексообразователями, поэтому способны образовывать прочные связи с биологически активными центрами. При этом они вытесняют естественные ионы и ингибируют металлоферменты. В результате в организме возникают многочисленные нарушения — изменяется проницаемость клеточных мембран, замедляется синтез белков, нарушаются процессы

энергообмена. Другие токсичные металлы играют двоякую роль в живых организмах. В малых количествах они входят в состав биологически активных веществ, регулирующих нормальный ход процессов жизнедеятельности, однако в высоких дозах они оказывают токсическое действие.

Ртуть — весьма токсичный яд кумулятивного действия, поэтому в молодых животных его меньше, чем в старых, а в хищниках больше, чем в тех объектах, которыми они питаются. Особенно этим отличаются хищные рыбы, такие как тунец, где ртуть может накапливаться до 0,7 мг/кг и более. Поэтому хищной рыбой лучше не злоупотреблять в питании. Из других животных продуктов «накопителем» ртути являются почки животных — до 0,2 мг/кг. Это, конечно, относится к сырому продукту. Поскольку почки при кулинарной обработке предварительно многократно вымачиваются по 2–3 ч со сменой воды и дважды вывариваются, то в оставшемся продукте содержание ртути уменьшается почти в 2 раза.

Из растительных продуктов ртуть больше всего содержится в орехах, в какао-бобах и шоколаде (до 0,1 мг/кг). В большинстве остальных продуктов содержание ртути не превышает 0,01–0,03 мг/кг.

Свинец является одним из сильных токсикантов для живых организмов. Установлено, что неорганические соединения свинца нарушают обмен веществ и выступают ингибиторами ферментов. Свинец имеет сходство с кальцием в процессах отложения и ремобилизации его из скелетов организмов. Поступление свинца в организм человека происходит главным образом через дыхательные пути.

В большинстве растительных и животных продуктов естественное его содержание не превышает 0,5–1,0 мг/кг. Больше его обнаруживают в хищных рыbach (в тунце до 2,0 мг/кг), моллюсках и ракообразных (до 10 мг/кг).

В основном повышенное содержания свинца наблюдается в консервах, помещенных в так называемую сборную жестяную тару, детали которой соединяются с помощью припоя, содержащего

определенное количество свинца. К сожалению, пайка иногда бывает некачественная.

Кадмий относится к числу редких рассеянных элементов. По своим свойствам он близок к цинку. Кадмий способен замещать цинк во многих жизненно важных энзиматических реакциях, приводя к их разрыву или торможению. Соединения кадмия, независимо от их агрегатного состояния, очень ядовиты. По своей токсичности кадмий аналогичен ртути и мышьяку. Менее растворимые его соединения действуют в первую очередь на дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт, а более растворимые — после всасывания в кровь — поражают центральную нервную систему (сильное отравление), вызывают дегенеративные изменения во внутренних органах (главным образом в печени и почках) и нарушают фосфорно-кальциевый обмен.

Кадмия естественного в пищевых продуктах содержится примерно в 5–10 раз меньше, чем свинца. Повышенные концентрации его наблюдаются в какао-порошке (до 0,5 мг/кг), почках животных (до 1,0 мг/кг) и рыбе (до 0,2 мг/кг). Содержание кадмия увеличивается в консервах, помещенных в сборную жестяную тару, так как кадмий, как и свинец, переходит в продукт из припоя, в котором содержится определенное количество кадмия.

Гигиенические требования к допустимому уровню содержания токсичных элементов предъявляются ко всем видам продовольственного сырья и пищевых продуктов. Органами санитарного надзора установлены жесткие нормы содержания токсичных элементов в пищевом сырье и готовых продуктах питания. Предельно допустимые уровни содержания тяжелых металлов в некоторых продуктах приведены в табл. 16.

В табл. 16 не приведено содержание предельно допустимых концентраций (ПДК) олова и железа. Олово контролируется только в консервах, помещенных в сборную жестяную тару, ПДК — 200 мг/кг (в детских — 100 мг/кг). ПДК хрома составляет 0,5 мг/кг. Железо нормируется только в напитках типа пива и вина (15 мг/кг), жирах и маслах (5 мг/кг). Для производства детских

и диетических продуктов по ряду токсичных элементов предъявляются более жесткие требования.

Таблица 16
Допустимые уровни содержания тяжелых металлов
в различных продуктах*

Продукт	Содержание металла, мг/кг продукта					
	Pb	As	Cd	Hg	Cu	Zn
Мясо, колбасы	0,5	0,1	0,05	0,03	5,0	20
Молоко и молочные продукты	0,1	0,05	0,03	0,01	1,0	5
Рыба и рыбопродукты	1,0	1,0–5,0	0,2	0,3–0,6	10	40
Зерно и мука	0,5	0,2	0,1	0,03	10	50
Овощи, фрукты, ягоды	0,04–0,5	0,2–0,5	0,03–0,1	0,02–0,1	5,0	10,0
Питьевая вода	0,03	0,05	0,001	0,0005		

* В соответствии с действующими санитарными нормами СанПиН 2.3.2.1078.

В России согласно действующим санитарным нормам СанПиН 2.3.2.1078 подлежат контролю шесть токсичных элементов: ртуть, свинец, кадмий, мышьяк, олово и хром. Последние два элемента определяют в консервах в сборной жестяной таре. Железо, медь и цинк в настоящее время не подлежат контролю в пищевых продуктах. В небольших количествах эти элементы полезны для организма. Так, содержание железа в гемоглобине крови составляет до 70 % от общего его содержания в организме. Медь входит в гемацианин, который связан с функцией кроветворения. Присутствие цинка, входящего в состав некоторых ферментов, необходимо для нормальной функции гормонов гипофиза, надпочечников и поджелудочной железы. В больших количествах эти элементы могут быть токсичны для человека и вызвать отравление. Однако в пищевых продуктах они, как правило, не содержатся в опасных количествах.

Определение содержания токсичных металлов

Отбор и подготовка проб

Отбор и подготовку проб продовольственного сырья и пищевых продуктов на анализ проводят в соответствии с ГОСТом или другими конкретными нормативными документами, регламентирующими отбор проб конкретных видов и типов продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Для определения в продуктах питания токсичных элементов прибегают к минерализации исследуемой пробы, проводимой по ГОСТ 26929 «Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения токсичных элементов». Настоящий стандарт распространяется на пищевое сырье и продукты и устанавливает способы сухой, мокрой минерализации и способ кислотной экстракции проб для последующего определения в них меди, свинца, кадмия, цинка, олова, железа, хрома, никеля, алюминия и мышьяка.

Способ сухой минерализации основан на полном разложении органических веществ путем сжигания пробы сырья или продуктов в электропечи при контролируемом температурном режиме и предназначен для всех видов сырья и продуктов, кроме животных, растительных жиров и масел (продуктов с содержанием жира 60 % и более).

Минерализация проб для определения содержания токсичных элементов, за исключением мышьяка, методом атомно-абсорбционной спектроскопии зависит от содержания влаги в продукте.

Озоление во всех случаях проводят 10–15 ч до получения белой или слегка окрашенной золы без обугленных частиц.

При минерализации проб для определения содержания мышьяка к навеске пробы добавляют 10 % от массы навески в расчете на сухое вещество оксида магния и такое же количество спиртового раствора нитрата магния. Пробу выпаривают досуха, после чего обугливают на электроплите, затем озоляют.

Способ мокрой минерализации основан на полном разрушении органических веществ пробы продукта при нагревании с азотной и серной концентрированными кислотами с добавлением хлорной кислоты или пероксида водорода или при нагревании только с пероксидом водорода и предназначен для всех видов сырья и продуктов, кроме сливочного масла и животных жиров. Не допускается изменять последовательность внесения кислот, хлорная кислота всегда добавляется последней. Минерализацию считают законченной, если раствор после охлаждения остается бесцветным или бледно-желтым. Избыток кислот удаляют добавлением воды и кипячением в течение 10 мин с момента выделения белых паров. Мокрую минерализацию проводят в колбе Кельдаля. Параллельно проводят минерализацию добавляемых реагентов для контроля их чистоты.

Способ кислотной экстракции (неполной минерализации) основан на экстракции токсичных элементов из пробы продукта кипячением с разбавленной хлороводородной или азотной кислотой и предназначен для растительного и сливочного масел, маргарина, пищевых жиров и сыров.

Приготовление растворов для определения конкретных токсичных металлов зависит от метода анализа. Количественный химический анализ проб пищевых продуктов и продовольственного сырья на содержание ионов токсичных элементов проводят методами атомно-абсорбционной спектроскопии, инверсионной вольтамперометрии и спектрофотометрии.

Метод атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) характеризуется высокой чувствительностью, воспроизводимостью и селективностью. Определение токсичных элементов этим методом осуществляется согласно ГОСТ 30178 «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов». Настоящий стандарт распространяется на пищевое сырье и продукты и устанавливает метод определения свинца, кадмия, меди, цинка и железа. Количественное определение токсичных элементов проводят методом градуировочного графика.

Для измерения абсорбции используют наиболее чувствительные линии поглощения элементов со следующими длинами волн: для свинца — 283,3 нм или 217 нм, для кадмия — 228,8, для меди — 324,8, для цинка — 213,9, для железа — 248,3 нм.

Для определения токсичных металлов широко используются вольтамперометрические методы из-за значительно более низкой стоимости оборудования по сравнению с оборудованием для атомно-абсорбционной спектрометрии. Вольтамперометрическое определение содержания токсичных элементов осуществляют согласно ГОСТ Р 51301 «Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамперометрические методы определения содержания токсичных элементов (кадмия, свинца, меди и цинка)». Настоящий стандарт распространяется на продукты пищевые и продовольственное сырье и устанавливает инверсионно-вольтамперометрические методы (ИВА) одновременного определения в них содержания токсичных элементов (кадмия, свинца, меди и цинка). В качестве индикаторного электрода в электролитической ячейке используют ртутно-пленочный на серебряной подложке, графитсодержащий, врачающийся дисковый стеклоуглеродный электрод или электрод из углеситала, электродом сравнения и вспомогательным электродом служат хлоридсеребряный электрод и стержень из углеситала соответственно. Предварительное электронакопление элементов из раствора проводят при потенциале накопления ($-1,4$) В, регистрацию вольтамперограммы осуществляют в диапазоне потенциалов от ($-1,2$) до ($+0,05$) В. Идентификацию каждого металла осуществляют по характеристическому значению потенциала полуволны, количественный анализ — по высоте волны. Концентрации элементов в испытуемой пробе определяют по методу добавок.

Диапазоны определяемых концентраций элементов, зависящие от вида пищевых продуктов и продовольственного сырья, приведены в табл. 17.

Таблица 17

Диапазоны определяемых концентраций элементов

Элемент	Диапазон определяемых концентраций, мкг/см ³	
	ААС	ИВА
Свинец	0,1–10,0	0,02–50
Кадмий	0,02–1,0	0,002–5,0
Медь	0,05–5,0	0,6–200
Цинк	0,1–10,0	1,0–400
Железо	0,1–10,0	—
Мышьяк	0,001–0,020	0,001–10,0

Загрязнение пищевых продуктов азотсодержащими соединениями

В соответствии с СанПиН 2.3.2.1078 в отдельных пищевых продуктах должно контролироваться содержание азотсодержащих соединений: нитратов — в плодовоовощной продукции; N-нитрозаминов — в рыбе и рыбопродуктах, мясных продуктах и пивоваренном солоде; гистамина — в рыбе семейств лососевых и скумбриевых (в том числе группа тунцовых).

Нитраты

Проблема нитратов активно обсуждается общественностью. Разберемся в этом вопросе.

Нитраты являются нормальным продуктом обмена азотистых веществ любого живого организма, растительного и животного. Поэтому «безнитратных» продуктов в природе не бывает. Даже в организме человека в сутки образуется и используется в обменных процессах более 100 мг нитратов. Из нитратов, ежедневно попадающих в организм взрослого человека, 70 % поступает с овощами, 20 % — с водой и 6 % — с мясом и консервированными продуктами.

Но почему же говорят об опасности нитратов? При потреблении их в повышенных количествах нитраты в пищеварительном тракте частично восстанавливаются до нитритов (более токсичных соединений). Кроме того, из нитритов в присутствии аминов могут образоваться N-нитрозамины, обладающие канцерогенной активностью. Механизм воздействия нитритов и нитрозаминов на организм связан с окислением Fe^{2+} , содержащегося в гемоглобине, в Fe^{3+} . При этом гемоглобин теряет способность переносить кислород, и он перестает поступать к тканям в необходимом количестве. В то же время у животных и человека высокие дозы нитратов могут вызвать отравление и даже привести к смерти.

Основные источники пищевых нитратов — это растительные продукты. Животные продукты (мясо, молоко) их содержат, как правило, в весьма незначительных количествах. Поскольку нитраты, как отмечалось выше, являются нормальным продуктом обмена азота в растениях, то они максимально накапливаются в период наибольшей активности их созревания. Поэтому недозрелые овощи, а также овощи раннего созревания могут содержать нитратов больше, чем достигшие нормальной уборочной зрелости. Кроме того, содержание нитратов в овощах может резко увеличиться при неправильном применении азотистых удобрений (не только минеральных, но и органических), например, внесение их незадолго до уборки.

К «накопителям» нитратов относятся зеленые листовые овощи: салат, ревень, петрушка, шпинат, щавель, которые могут накапливать до 200–300 мг нитратов в 100 г зелени. Свекла может накапливать до 140 мг нитратов (это предельно допустимая концентрация), а некоторые сорта и больше. Следует иметь в виду, что парниковые овощи обычно содержат более высокие концентрации нитратов, чем овощи, растущие в обычном грунте. Фрукты, ягоды, бахчевые содержат нитратов очень мало (меньше 10 мг в 100 г плода).

В растениях нитраты распределены неравномерно. В капусте, например, нитраты больше всего накапливаются в кочерышке,

в огурцах и редисе — в поверхностных слоях, в моркови — наоборот. В среднем при мойке и чистке овощей и картофеля теряется 10–15 % нитратов. Еще больше — при тепловой кулинарной обработке, особенно при варке, когда теряется от 40 % (свекла) до 70 % (капуста, морковь, брюква) или 80 % (картофель) нитратов. Нитраты химически довольно активные соединения, при хранении овощей их содержание уменьшается за несколько месяцев на 30–50 %.

Салаты и плодово-овощные соки желательно употреблять свежеприготовленными. Хранение их не очень длительное время даже в холодильнике способствует размножению в них микрофлоры, восстанавливающей NO_3^- -ионы до опасных для человека NO_2^- -ионов. Измельчение овощей создает хорошие условия для размножения микроорганизмов, восстанавливающих нитраты в нитриты.

Теперь, когда все известно о пищевых нитратах, попробуем представить их реальную опасность для здоровья.

По нормам ВОЗ, допустимой суточной дозой нитратов для человека считается 5 мг на каждый килограмм его веса. При среднем весе 70 кг это соответствует 350 мг нитратов в сутки. Исследования показали, что токическое действие нитратов в пищевых продуктах проявляется слабее, чем нитратов, содержащихся в питьевой воде. Как известно, в питьевой воде допускается присутствие нитратов до 45 мг/дм³. Рекомендуемое потребление продуктов питания, где используется питьевая вода (чай, первые и третьи блюда), примерно 1,0–1,5 дм³, максимум — 2,0 дм³ в день. Таким образом, с водой взрослый человек может употребить около 70 мг нитратов. Следовательно, на пищевые продукты остается 280 мг нитратов.

Рассмотрим основные источники нитратов. Начнем с зеленых овощей (салат, петрушка, укроп и т. д.), в которых содержание нитратов составляет 200–300 мг в 100 г продукта. Их потребление практически редко превышает 100 г в день, а чаще всего около 50 г, т. е. с одной порцией можно получить 100 мг нитратов, т. е. менее трети от безопасной суточной дозы. Свеклу, содержащую 140 мг

нитратов в 100 г продукта, потребляют только в отварном виде. Поскольку при варке и чистке теряется половина нитратов, а рекомендуемое суточное потребление отварной свеклы составляет 125 г, то со свеклой мы можем получить 90 мг нитратов. Картофель и капусту (содержание нитратов — 25 мг/100 г) в отварном виде потребляют 300 г в сутки. С учетом потерь при чистке и кулинарной обработке с одной порцией этих продуктов можно потребить около 40 мг нитратов.

Итак, суточное потребление нитратов для рассмотренного примера составляет 300 мг. Таким образом, при обычном рациональном потреблении овощей в свежем или кулинарно обработанном виде мы практически никогда не сможем превысить безопасную суточную дозу нитратов. Тем более что в соответствии с рекомендациями по рациональному питанию не следует постоянно питаться одними и теми же продуктами.

Если же нарушить принципы рационального питания, например, питаться одними овощами, да еще сырыми (как рекомендуют некоторые поклонники вегетарианства и сыроедения, съедать до 1,5 кг сырых овощей в день), то тут действительно можно превысить безопасную дозу нитратов почти в два раза (более 650 мг в сутки).

Для дополнительной безопасности нелишне вспомнить второй принцип рационального питания, предусматривающий необходимость разнообразия пищи. Поэтому не рекомендуется постоянно потреблять, да еще три раза в день, один и тот же овощ. Ограничивать же использование овощей и фруктов в питании из-за опасности нитратного отравления не стоит, это лишит нас необходимых витаминов.

Итак, бояться нитратов не следует, но и не нужно злоупотреблять чрезмерным потреблением сырых овощей.

За содержанием нитратов сейчас устанавливается строгий контроль в местах производства овощей и на торговых базах. Предельно допустимое содержание нитратов в различных овощах и фруктах приведено в табл. 18.

Таблица 18

**Допустимое содержание нитратов
в продуктах растениеводства***

Продукты	Допустимое содержание нитратов, мг/кг продукта
Картофель	250
Капуста белокочанная ранняя / поздняя	900 / 500
Морковь ранняя / поздняя	400 / 250
Томаты в открытом / защищенном грунте	150 / 300
Огурцы	150 / 400
Свекла столовая	1400
Лук репчатый	80
Лук-перо	600
Листовые овощи (салаты, петрушка, сельдерей, укроп и т. п.)	2000
Перец сладкий	200
Кабачки	400
Дыни	90
Арбузы, виноград, яблоки, груши	60

* В соответствии с действующими санитарными нормами СанПиН 2.3.2.1078.

Методы определения нитратов

Нитраты, согласно существующим нормативам, контролируются в овощах и фруктах, а также в продуктах их переработки, поскольку в других продуктах их концентрация, как правило, бывает значительно ниже предельно допустимой. В рассолах и посолочных смесях, а также в мясных продуктах всех видов, при изготовлении которых применяют нитриты натрия или калия как пищевые добавки, позволяющие придать мясу яркий цвет, кроме нитратов контролируются и нитриты.

Для определения нитратов и нитритов в продуктах питания широко используют спектрофотометрический и потенциометрический методы анализа.

Отбор и подготовка проб

Отбор и подготовку проб продовольственного сырья и пищевых продуктов на анализ проводят в соответствии с ГОСТом или другими конкретными нормативными документами, регламентирующими отбор проб конкретных видов и типов продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Отбор проб продуктов переработки овощей и плодов осуществляют по ГОСТ 26313, ГОСТ 27853, ГОСТ 28741, ГОСТ 13341, ГОСТ 1750 и нормативной документации на быстрозамороженную продукцию. Пробы колбасных изделий, продуктов из свинины, говядины, баранины, мяса птицы отбирают по ГОСТ 9792, пробы консервов — по ГОСТ 8756.0.

Подготовка проб консервированных и быстрозамороженных продуктов, солений и квашений осуществляется по ГОСТ 26671, продуктов питания из картофеля — по ГОСТ 28741, сушеных овощей — по ГОСТ 13341, сушеных фруктов — по ГОСТ 1750.

Пробы мясных продуктов готовят следующим образом. С колбасных изделий снимают оболочку, с фаршированных колбас и языков в шпике — поверхностный слой шпика и оболочки, с окорочек, лопаток, рулетов, корейки и грудинки — поверхностный слой шпика; затем пробы дважды пропускают через мясорубку.

Для определения нитрата и нитрита проводят осаждение белков последовательным добавлением к подготовленной пробе раствора буры, растворов Кэррэза 1 (железистосинеродистый калий) и Кэррэза 2 (ацетат цинка). Затем фильтруют и в полученном фильтрате определяют массовую долю нитрита (X_1) и массовую долю нитрата (X_2).

Проведение анализа

Определение нитратов и нитритов проводят в соответствии с ГОСТ 29270-95, ГОСТ 8558.1 и ГОСТ 8558.2.

Определение нитрита основано на фотометрировании раствора азосоединения, образующегося при взаимодействии нитритов с ароматическими аминами. Для получения светопоглощающих соединений используют сульфаниламид

и N-(1-нафтил)этилендиамин дигидрохлорид или реактив Грисса (сульфаниловая кислота и 1-нафтиламин гидрохлорид). Оптическую плотность раствора измеряют при длине волны 538 нм или 522 нм соответственно. Содержание нитрита определяют методом градуировочного графика.

Определение нитратов основано на предварительном восстановлении до нитрита с помощью кадмиеевой колонки, фотометрическом измерении интенсивности окраски, образующейся при взаимодействии нитрита с сульфаниламидом и N-(1-нафтил)этилендиамин дигидрохлоридом или реактивом Грисса, определении количества последнего и пересчете его на нитрат за вычетом нитрита, содержащегося в продукте.

Содержание нитратов в продукте X , мг/кг (в расчете на нитрат-ион) вычисляют по формуле

$$X = 1,348 \cdot (X_2 - X_1),$$

где 1,348 — коэффициент пересчета нитритов в нитраты, равный отношению молярной массы нитрат-иона к молярной массе нитрит-иона; X_1 — содержание нитритов в продукте, мг/кг; X_2 — содержание нитритов в продукте после восстановления нитратов до нитритов, мг/кг.

Также наиболее распространенным для анализа воды и водных экстрактов пищевых продуктов является потенциометрический метод определения нитратов. Метод применяется для продуктов, в которых содержание хлоридов не превышает содержание нитратов более чем в 50 раз.

Подготовка проб заключается в экстракции нитратов раствором алюмокалиевых квасцов.

Электрохимическая ячейка состоит из нитратселективного индикаторного электрода (рис. 4) и хлоридсеребряного электрода сравнения.

Нитратселективный электрод имеет линейную функцию в диапазоне $pC_{\text{NO}_3^-}$ от 1 до 4 с наклоном (56 ± 3) мВ на единицу $pC_{\text{NO}_3^-}$. Содержание нитратов в продукте определяют методом градуировочного графика.

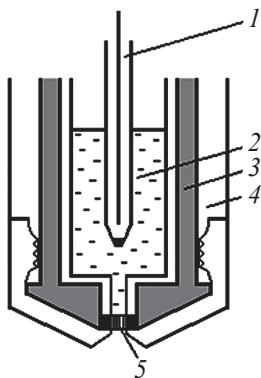


Рис. 4. Нитратселективный электрод:

1 — внутренний электрод сравнения; 2 — внутренний 0,1 моль/дм³ раствор KNO_3 , содержащий $1 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³ KCl ; 3 — ионообменный раствор; 4 — корпус устройства; 5 — жидкая мембрана (стеклянный фильтр или синтетическая пористая пластина, пропитанная ионообменным раствором)

Согласно существующим нормативам, нитраты контролируются только в овощах и фруктах, поскольку в других продуктах их концентрация, как правило, лежит значительно ниже предельно допустимой.

Нитрозамины

Выше уже упоминалось о том, что нитраты при некоторых условиях могут восстанавливаться в нитриты. В кислой среде нитриты дают азотистую кислоту, а она, взаимодействуя со вторичными и третичными аминами (а их довольно много в природе), образует канцерогенные нитрозамины:



В зависимости от природы радикала могут образовываться весьма разнообразные нитрозамины, из них канцерогенным действием обладают более 100 соединений. Наиболее часто в пищевых продуктах обнаруживают 2 представителя этого класса

соединений — нитрозодиметиламин (НДМА) и нитрозодиэтиламин (НДЭА). Наиболее токсичным является нитрозодиметиламин.

Нитрозамины контролируются в колбасных изделиях, рыбе и рыбных консервах, поскольку в них в качестве пищевой добавки используются нитриты натрия и калия, позволяющие придать мясу яркий розовый цвет.

Больше всего нитрозаминов встречается в копченых мясных изделиях, колбасах, приготовленных с добавлением нитритов, — до 80 мкг/кг, в соленой и копченой рыбе — до 110 мкг/кг. Следует отметить, что в свежем мясе и рыбе нитрозамины не обнаруживаются или находятся в следовых количествах — менее 1 мкг/кг. Из молочных продуктов нитрозамины обнаруживаются главным образом в сырах, прошедших фазу ферментации (до 10 мкг/кг); из растительных продуктов — в основном в солено-маринованных изделиях, а из напитков — в пиве, где суммарное содержание их может достигать 12 мкг/дм³.

Методы определения нитрозаминов

Основными требованиями, предъявляемыми к методам определения нитрозаминов, являются высокая чувствительность, селективность и достоверность полученных результатов. Определение нитрозаминов в объектах окружающей среды, пищевых продуктах, продовольственном сырье обычно включает в себя следующие стадии: выделение, концентрирование, очистку концентрата, получение производных, их хроматографическое разделение, идентификацию и количественное определение.

Отбор проб

Отбор и подготовку проб продовольственного сырья и пищевых продуктов на анализ проводят в соответствии с ГОСТом или другими действующими нормативными документами (НТД), регламентирующими отбор проб конкретных видов и типов продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Пробоподготовка

Пробоподготовка продовольственного сырья и пищевых продуктов для последующего определения N-нитрозаминов заключается в выделении летучих N-нитрозаминов путем перегонки с паром или в вакууме в присутствии гексанового раствора нитрозодипропиламина (НДПА). Далее нитрозамины экстрагируют хлористым метиленом и концентрируют экстракт до объема 1–2 см³, упаривая экстрагент. Для разделения нитрозаминов используют тонкослойную и газожидкостную хроматографию.

Проведение анализа

Флуориметрический и хемилюминесцентный методы определения летучих N-нитрозаминов устанавливаются методическими указаниями 4.4.1.011 «Определение летучих N-нитрозаминов в продовольственном сырье и пищевых продуктах».

Хемилюминесцентный метод является арбитражным методом анализа и основан на разделении смеси, полученной в результате описанной выше пробоподготовки, методом газожидкостной хроматографии.

Газохроматографический анализ проводят, используя в качестве неподвижной жидкой фазы полиэтиленгликоль (Carbowax), нанесенный на Chromaton (диатомит, обработанный хлороводородной кислотой и силанизированный диметилдихлорсиланом), в качестве газа-носителя применяется азот или аргон.

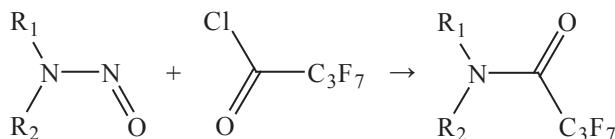
Количественное определение немодифицированных нитрозаминов проводят с помощью высокоселективного и высокочувствительного хемилюминесцентного (термоэнергетического, анализатора термической энергии) детектора. Термоэнергетический детектор (ТЭД) был создан специально для определения нитрозаминов в 1975 г. Его действие основано на каталитическом пиролизе нитрозаминов при температуре > 450 °C. Образующийся при этом радикал NO[•] взаимодействует с озоном, в результате реакции образуется возбужденная молекула NO₂^{*}, которая, переходя в основное состояние, испускает характерное излучение в ИК-области спектра. ТЭД используется в сочетании с газовыми

и жидкостными хроматографами. В интервале концентраций $1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-13}$ моль/мл³ аналитический сигнал прямо пропорционален количеству введенного в хроматограф нитрозамина.

Идентификацию нитрозаминов в пробе осуществляют по временам удерживания стандартных нитрозаминов. Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки с систематическим контролем калибровочного коэффициента. Оценивается также полнота извлечения нитрозаминов из продовольственного сырья, пищевых продуктов и кормов по внутреннему стандарту — НДПА, вносимому в продукт перед выделением нитрозаминов.

Нижний предел определения — 0,1 мкг/кг продукта.

Для наиболее токсичных НДМА и НДЭА характерно слабое удерживание, что является существенным ограничением метода газожидкостной хроматографии при их определении без дериватизации. Это обстоятельство обусловило широкое распространение методов определения нитрозаминов после их превращения в более гидрофобные дериваты с большей молекулярной массой. Нитрозамины определяют после их окисления в соответствующие нитроамины. Эффективным оказалось прямое превращение нитрозаминов в галогенсодержащие производные посредством гептафторбутирилхлорида или гептафтормасляного ангидрида:



Однако наибольшее распространение в аналитической химии нитрозаминов нашел подход, заключающийся в их предварительном денитрозировании с последующим определением образовавшихся вторичных аминов с использованием богатого арсенала дериватизирующих реагентов, известных для определения аминов, например, дансиликлорида, 7-хлор-4-нитробенз-2-окси-1,3-диазола, 4-нитрофенилдиазония и др.

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) также применяется для определения нитрозаминов. Подход, основанный на облучении УФ-светом и обнаружении нитрозаминов по образующимся $\text{NO} (\text{NO}_2^-)$ - или $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}$ -фрагментам в виде окрашенных соединений, оказался недостаточно чувствительным и избирательным. Значительно лучшими характеристиками обладают методы, основанные на денитрозировании нитрозаминов с последующим получением флуоресцирующих производных вторичных аминов.

В основу *флуориметрического метода* положено авторское свидетельство «Способ определения N-нитрозаминов в пищевых продуктах» (№ 1157449-1985). Нижний предел определения нитрозаминов — 1 мкг/кг продукта.

Непосредственно после выделения нитрозаминов хлористым метиленом и концентрировании экстракта, перед хроматографированием проводят денитрозирование нитрозаминов бромистым водородом в уксусной кислоте, а затем алкилирование образовавшихся аминов 8-метокси-5-хинолинсульфонилазидином (КАЗ).

Полученные флуоресцирующие 8-метокси-5-[N-(2-N-диэтиламино)]хинолинсульфонамидные производные (КАЭ-производные) аминов, содержание которых эквивалентно количеству нитрозаминов в пробе, анализируют методом ТСХ.

Разделение и количественное определение образовавшихся КАЭ-производных проводят в тонком слое силикагеля (пластинки для ТСХ «Силуфоль» (Чехословакия) или «Сорб菲尔», ПКБ «Пластмаш» (без флуоресцентного индикатора)). В качестве подвижной фазы используют две системы: 1) ацетонитрил — аммиак, 2) бензол — этилацетат — уксусная кислота. Хроматографирование в системе 2 осуществляют в том же направлении, что и в системе 1, после чего пластинки сушат и рассматривают в УФ-свете.

Идентификацию нитрозаминов осуществляют, сравнивая подвижность в тонком слое силикагеля флуоресцирующих производных, которые обнаружены в образце, с подвижностью соответствующих КАЭ-производных стандартов диметиламина — КАЭ-ДМА, диэтиламина — КАЭ-ДЭА, дипропиламина — КАЭ-ДПА (табл. 19).

Таблица 19

Значения R_f КАЭ-производных

Соединения	R_f
КАЭ-ДЭА	0,21
КАЭ-ДМА	0,25
КАЭ-ДПА	0,62

В основе полуколичественного определения нитрозаминов лежит визуальное сравнение интенсивности флуоресценции пятен КАЭ-производных образца с интенсивностью флуоресценции пятен стандартных соединений. Содержание нитрозаминов в пробе продукта рассчитывают, учитывая степень их извлечения из образца. Для этого сравнивают интенсивность флуоресценции внутреннего стандарта — НДПА, вносимого в продукт, с интенсивностью стандарта НДПА.

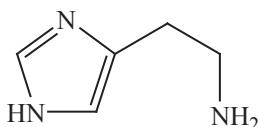
При необходимости возможно также количественное определение путем измерения величины флуоресценции КАЭ-производных на флуориметре. Для этого проводят разделение КАЭ-производных всего анализируемого раствора, полученного в результате пробоподготовки. Параллельно проводят хроматографирование растворов стандартов с концентрацией, которая обнаружена в пробе. Хроматографируют, как описано выше. Пластиинки высушивают на воздухе, рассматривают в УФ-свете, отмечают иглой или карандашом флуоресцирующие зоны исследуемого раствора и стандартов, разрезают на мелкие кусочки и элюируют раствором хлороводородной кислоты в течение 30 мин при комнатной температуре. Аналогично поступают с каждой флуоресцирующей зоной образца, стандартов и «холостого опыта».

Величину флуоресценции полученных растворов измеряют на спектрофлуориметре при длине волны возбуждения 340 нм и длине волны флуоресценции 480 нм. При расчете содержания нитрозаминов также учитывают степень их извлечения.

Гистамин

Массовая доля гистамина относится к специфическим показателям безопасности для рыб семейств лососевых, сельдевых, тунцовых и скумбриевых.

Гистамин (β -имидазолэтиламин, или 2-аминоэтилимида-зол, XV) является широко распространенным биогенным амином, повышенное накопление которого в некоторых продуктах питания при определенных условиях может служить причиной пищевых отравлений.



Гистамин (XV)

Гистамин является естественной составной частью продуктов питания, так как в процессе жизнедеятельности он образуется в различных тканях животных. Естественное содержание гистамина невелико и не оказывает неблагоприятного воздействия на организм. Гистамин способен накапливаться в продуктах в результате декарбоксилирования гистидина при участии ферментов микрофлоры, развивающейся при нарушении условий хранения. Ферменты декарбоксилазы действуют на свободный гистидин и другие аминокислоты мяса рыбы, формируя гистамин и прочие биогенные амины, например кадаверин и путресцин. Массовая доля гистидина варьируется в зависимости от вида рыбы, возраста и других факторов. По мере роста рыбы указанных семейств происходит увеличение количества гистидина. Степень накопления гистамина в рыбных продуктах зависит от количества гистидина в тканях рыбы, наличия фермента гистидин-декарбоксилазы и условий хранения.

Повышение массовой доли гистамина до опасных уровней может не вызывать изменений сенсорных свойств рыбы.

В отдельных случаях, когда содержание гистамина в десятки раз превышает предельно допустимый уровень, рыба может приобрести острый вкус. Гистамин, потребленный в составе рыбных продуктов, оказывает более сильное токсическое действие, чем такое же его количество, принятое в водном растворе. Признаки отравления гистамином схожи с симптомами аллергии на рыбные продукты. Скрытый период отравления рыбой с повышенным содержанием гистамина обычно составляет менее одного часа, но может колебаться в зависимости от индивидуальных особенностей от 5 мин до 5 ч. Симптомы гистаминовой интоксикации весьма характерны. Пострадавшие отмечают резкий или горький (перечный) вкус пищи, наблюдаются покраснение лица и шеи с чувством жара и общего дискомфорта, сильные головные боли, слезотечение, боли в глазах, отек слизистой оболочки носа. Иногда отмечаются нарушения сердечного ритма, жжение в полости рта и глотки, затруднение глотания. Появляются сыпь на лице и шее, зуд кожи. У части пострадавших отмечаются желудочно-кишечные расстройства, боли в животе, тошнота, понос. В тяжелых случаях наблюдаются шок, бронхоспазмы, удушье и расстройства дыхания. Отравления гистамином могут иметь летальный исход.

Фактором риска по гистамину могут служить соленая и копченая продукция, а также некоторые виды рыбных консервов и пресервов. При сертификационных испытаниях имели место случаи обнаружения повышенного содержания гистамина в копченой и консервированной скумбрии, в консервах «Шпроты в масле».

Предельно допустимая массовая доля гистамина, согласно СанПиН 2.3.2.1078, составляет 100 мг/кг. В США и Канаде допускается до 50 мг/кг, в Австралии — до 100 мг/кг, в Швеции — до 100 мг/кг в свежей рыбе и не более 200 мг/кг в соленой рыбе.

В случае обнаружения в рыбе гистамина, содержание которого превышает предельно допустимую концентрацию, ее следует направлять на рыбообрабатывающие предприятия, где по технологии изготовления рыбопродукции предусматривается разбавление

(фаршевые изделия) или подсортировка с другими видами рыб (консервы).

Массовую долю гистамина определяют флуориметрическим методом по СанПиН 42-123-4083.

Отбор проб

В отечественной практике лабораторного анализа массовую долю гистамина определяют в средней пробе, отобранный из партии согласно ГОСТ 7631.

Пробоподготовка

Рыбу, отобранные для исследования, размораживают, очищают от механических загрязнений и чешуи, но не подвергают обмыванию. Далее измельчают на мясорубке, перемешивают и отбирают пробу.

При исследовании консервов из рыб или морских животных отделяют составные части, удаляют специи, твердую часть консервов измельчают на мясорубке, смешивают с жидким тестом и растирают до состояния однородной массы. Из подготовленной таким образом пробы отбирают навески для последующих определений.

Экстракцию гистамина осуществляют метанолом. Очистку экстракта проводят методом ионообменной хроматографии. Метанольный экстракт пропускают через хроматографическую колонку, заполненную ионообменной смолой поликонденсационного типа на основе дивинилбензола «Анионит АРА-12п». Элюируют гистамин дистиллированной водой.

Проведение анализа

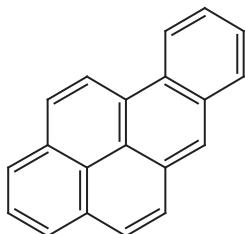
Определение гистамина в полученном элюате основано на измерении флуоресценции производного, полученного при взаимодействии определяемого компонента с *o*-фталиевым альдегидом, при длине волны возбуждения 365 нм и длине волны регистрации (эмиссии) 465 нм. Расчет содержания проводят по методу градуировочного графика.

Загрязнение пищевых продуктов полициклическими ароматическими углеводородами

Полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) называют большую группу органических соединений, содержащих два и более бензольных кольца.

ПАУ обладают мутагенной и канцерогенной активностью, поэтому они нормируются в окружающей среде. Образование и поступление ПАУ в окружающую среду связано с микробиологическими и высокотемпературными процессами, протекающими в природе (лесные пожары, вулканическая деятельность), и антропогенными факторами (работа промышленности, сжигание топлива, транспортные выхлопы и т. п.).

Загрязнение пищевых продуктов представителями этой группы происходит из воздуха, воды и/или в результате термической переработки пищевых продуктов. Следы ПАУ могут быть найдены в большом перечне пищевых продуктов, таких как оливковое масло, фрукты, морепродукты, копченое и вяленое мясо, рыба и кофе. Например, бенз(а)пирен (XVI), считающийся наиболее опасным среди ПАУ, образуется при жарке зерен кофе — до 0,5 мкг/кг, в подгоревшей корке хлеба — до 0,5, при сушке зерна дыром из бурого угля или мазута — до 4, в копченом домашним способом мясе и рыбе — до 1,5, но встречаются и более высокие концентрации — 50 мкг/кг. В соответствии с СанПиН 2.3.2.560, допустимый уровень содержания бенз(а)пирена в пищевых продуктах составляет 0,001 мг/кг. Не допускается присутствие бенз(а)пирена в продуктах детского и диетического питания.



Бенз(а)пирен (XVI)

Содержание ПАУ в растениях зависит в основном от их способности сорбироваться листьями при осаждении из воздуха и накапливаться в них. При этом через корни растений проникает меньшая часть ПАУ. Так, в капусте содержание бенз(а)пирена заметно выше, чем в помидорах, — 15,6 мкг/кг и 0,22 мкг/кг соответственно. В зернах пшеницы бен(а)пирен обнаружен на уровне 0,68–1,44 мкг/кг, в сушеных фруктах и черносливе — 16–23,9 мкг/кг.

Доза поступления бенз(а)пирена с продуктами растительного происхождения в организм человека за 70 лет жизни составляет только 3–4 мг.

Бенз(а)пирен контролируется в зерне, в копченых мясных и рыбных продуктах.

Методы определения ПАУ

Наиболее часто для определения ПАУ в пищевых продуктах проводят жидкостно-жидкостную экстракцию гексаном, циклогексаном или изооктаном с последующей очисткой экстракта на колонке, заполненной оксидом алюминия или силикагелем. Основной недостаток жидкостно-жидкостной экстракции — это расход большого количества дорогостоящих чистых растворителей и серьезные временные затраты. Для идентификации и количественного определения полициклических углеводородов используют ВЭЖХ с флуориметрическим и фотометрическим детектированием или спектрофлуориметрию с предварительным разделением на пластинке со слоем ацетилированной целлюлозы.

Альтернативой является газовая хроматография с пламенно-ионизационным или масс-спектрометрическим детектированием. Но и газовая хроматография имеет ряд недостатков: необходимость тщательной очистки пробы и высокая стоимость оборудования.

Методы определения массовой доли бенз(а)пирена устанавливает ГОСТ Р 51650 «Продукты пищевые. Методы определения массовой доли бенз(а)пирена», который распространяется на продовольственное сырье, пищевые продукты, пищевые и вкусовые добавки.

Отбор проб

Отбор и подготовку лабораторной пробы к испытаниям проводят в соответствии с нормативным документом на испытуемый вид продукции. Из объединенной лабораторной пробы для испытания отбирают две параллельные навески. Перед отбором навески пробы гомогенизируют.

Пробоподготовка

Углеводороды, в том числе бенз(а)пирен, экстрагируют *н*-гексаном из продукта, предварительно обработанного спиртовым раствором гидроксида калия. Необходимость проведения щелочного гидролиза обусловлена тем, что ПАУ, обладая липофильными свойствами, накапливаются в основном в жировой ткани продуктов питания. В связи с тем, что *н*-гексаном экстрагируется и неомыляемая часть липидов, далее проводят выделение бенз(а)пирена из полученного экстракта.

Разделение экстракта при дальнейшем определении бенз(а)пирена методом низкотемпературной флуориметрии проводят хроматографически в тонком слое оксида алюминия. На пластинку наносят равномерной сплошной полосой полученный экстракт, а также раствор-«свидетель», которым является раствор бенз(а)пирена в петролейном эфире. Пластинку помещают в хроматографическую камеру, заполненную петролейным эфиром, под небольшим углом (20–25 °). После того как фронт растворителя дойдет до верхнего края пластины, ее, не высушивая, облучают УФ-светом и по светящейся полосе «свидетеля» определяют место нахождения бенз(а)пирена в исследуемой пробе. Отмечают границы полосы бенз(а)пирена на хроматограмме исследуемой пробы. Пластины высушивают на воздухе в вытяжном шкафу. Отмеченную на хроматограмме исследуемой пробы полоску оксида алюминия снимают с пластины и элюируют бенз(а)пирен с Al_2O_3 бензолом. Бензол упаривают досуха и остаток растворяют в *н*-октане.

При определении методом ВЭЖХ или спектрофлуориметрией при комнатной температуре проводят реэкстракцию полученного экстракта смесью *N,N*-диметилформамид — вода с последующим

экстрагированием *n*-гексаном, который упаривают, а остаток растворяют в этиловом спирте. Полученный раствор пропускают через колонку, заполненную сефадексом LH-20 (декстрановый эпоксимиодифицированный адсорбент, обладающий липофильно-гирофильными свойствами). Элюирование из колонки полициклических ароматических соединений, в том числе бенз(а)пирена, проводят этиловым спиртом.

Дополнительную очистку пробы в тонком слое ацетилированной целлюлозы проводят при определении бенз(а)пирена методом спектрофлуориметрии. Хроматографирование полученной фракции осуществляют, используя в качестве подвижной фазы смесь этилового спирта, ацетона и воды. После хроматографического разделения и высушивания зону бенз(а)пирена, проявленную УФ-облучением, удаляют с пластины и элюируют бенз(а)пирен бензолом с последующим упариванием растворителя.

Определение и обработка результатов

1. Метод низкотемпературной флуориметрии

В полученном растворе (экстракте) определяют содержание бенз(а)пирена методом низкотемпературной спектрофлуориметрии. Аналитическая линия флуоресценции бенз(а)пирена равна 403 нм при длине волны возбуждающего света 367 нм. Измерения осуществляют при температуре жидкого азота (-196°C). Определение содержания проводят методом внутреннего стандарта, заключающегося в том, что к анализируемому и стандартным растворам бенз(а)пирена добавляют раствор внутреннего стандарта — 1,12-бензперилена в таком количестве, чтобы в спектре пробы интенсивность 1,12-бензперилена была в 3–5 раз больше интенсивности линии бенз(а)пирена. Измеряя высоты пиков в максимумах характеристических линий этих соединений, рассчитывают коэффициент отношения (K) интенсивности линии бенз(а)пирена (H_1) к интенсивности линии 1,12-бензперилена (H_2), $K = H_1/H_2$. Далее определяют этот коэффициент для стандартных растворов бенз(а)пирена ($K_{\text{ст}}$).

Массовую концентрацию бенз(а)пирена в анализируемом растворе (c , мкг/см³) вычисляют по формуле

$$c = c_{\text{ст}} \cdot \frac{K}{K_{\text{ст}}},$$

где $c_{\text{ст}}$ — концентрация бенз(а)пирена в стандартном растворе, мкг/см³; K — коэффициент отношения, найденный по спектрограмме анализируемого раствора с добавкой 1,12-бензперилена; $K_{\text{ст}}$ — коэффициент, найденный по спектрограмме стандартного раствора бенз(а)пирена с добавкой 1,12-бензперилена.

2. Метод высокоеффективной жидкостной хроматографии

Фракцию, содержащую бенз(а)пирен, анализируют с помощью ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием при длине волны излучения 418 нм и длине волны возбуждающего света 300 нм. Неподвижной фазой является сорбент с привитой обращенной фазой (например, supelcosil LC-PAN, хромосил C18), подвижной — смесь ацетонитрила и воды.

Определение содержания бенз(а)пирена проводят методом добавок или методом внутреннего стандарта. Внутренний стандарт — бенз(в)хризен. Время удерживания бенз(а)пирена — 5 мин, бенз(в)хризена — 13 мин.

Метод ВЭЖХ является одним из лучших для определения ПАУ, но применение одного детектора — флуориметрического недостаточно для полной уверенности в надежной идентификации целевого соединения. В этом случае лучше использовать tandem детекторов для ВЭЖХ (флуориметрический и УФ детекторы) или амперометрический детектор, хотя достоверная идентификация возможна лишь при применении спектральных детекторов — масс-спектрометрического или ИК-Фурье-спектрометра.

3. Спектрофлуориметрия при комнатной температуре

Количественное определение содержания бенз(а)пирена в продуктах питания проводят методом стандартов. Флуоресценцию пробы продукта и пробы контрольного опыта с добавкой бенз(а)пирена измеряют при длине волны флуоресценции 406 нм и длине волны возбуждения 386 нм.

Загрязнение продовольственного сырья ветеринарными препаратами

Современное интенсивное разведение домашнего скота требует постоянной борьбы с заболеваниями, вызванными вирусами, бактериями, протозойными и/или грибковыми микроорганизмами. В настоящее время для предупреждения болезни скота животноводством потребляется половина производимых в мире антибиотиков. Около 90 % кур, 80 % телят и свиней, 60 % крупного рогатого скота, выращиваемого на убой, обычно получают антибиотики, которые подмешиваются в корм.

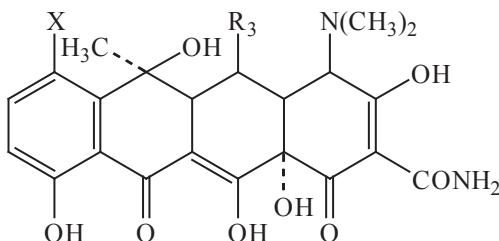
Имеется целый ряд химиотерапевтических средств, используемых и для профилактики борьбы с заболеваниями домашнего скота. После лечения остаточные количества этих средств могут обнаруживаться в пищевых продуктах животного происхождения (таких как молоко, яйца и мясо). На большинство ветеринарных препаратов, содержащихся в продуктах животного происхождения, не влияют ни горячая, ни холодная обработка. В отличие от бактерий, разрушающихся при приготовлении пищи, эти химикаты остаются в мясных продуктах независимо от упаковки, хранения или обработки.

Следует отметить, что 65–99 % крупного рогатого скота, идущего на мясо, получают гормоны для ускорения роста и повышения постности мяса. Животноводы могут свободно купить любое количество антибиотиков или гормонов в местном магазине кормов и давать животным в том объеме, какой сочтут нужным.

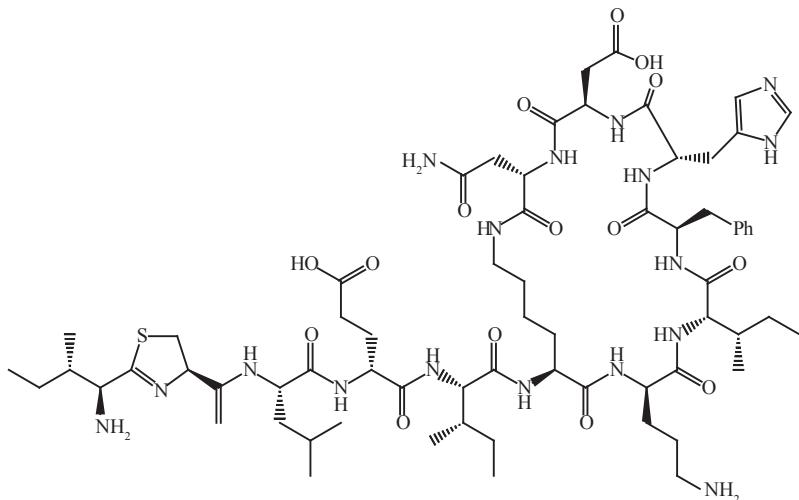
Итак, вместе с мясом, птицей, яйцами или молоком мы потребляем массу скрытых ингредиентов: антибиотиков, половых гормонов, стероидов, пестицидов, консервантов и добавок. Такие средства могут вызвать устойчивость бактерий. Из-за токсичности химиотерапевтических лекарственных препаратов официальные органы многих стран ввели ограничения на остаточные количества этих веществ.

При изготовлении продовольственного сырья животного происхождения не допускается использование кормовых добавок, стимуляторов роста животных, лекарственных средств, препаратов для обработки животных и птицы, а также препаратов для обработки помещений для их содержания, не прошедших санитарно-эпидемиологическую экспертизу и государственную регистрацию в установленном порядке.

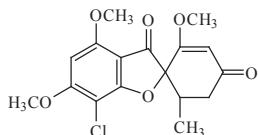
Согласно СанПиН 2.3.2.1078, в продуктах животного происхождения контролируются остаточные количества стимуляторов роста животных (в том числе гормональных препаратов), лекарственных средств (в том числе антибиотиков), применяемых в животноводстве для целей откорма, лечения и профилактики заболеваний скота и птицы. В мясе, мясопродуктах, субпродуктах убойного скота и птицы контролируются как допущенные к применению в сельском хозяйстве лечебные антибиотики (наиболее часто используемые в ветеринарии антибиотики тетрациклической группы (XVII), левомицетин), так и кормовые антибиотики — бацитрацин (XVIII), гризин (XIX). В молоке и молочных продуктах контролируются левомицетин (XX), пенициллин (XXI, R = COCH₂C₆H₅), стрептомицин (XXII), антибиотики тетрациклической группы; в яйцах и яйцепродуктах — бацитрацин, антибиотики тетрациклической группы, левомицетин, стрептомицин.



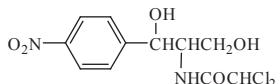
Антибиотики тетрациклической группы (XVII)



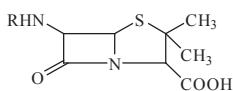
Бацитрацин (XVIII)



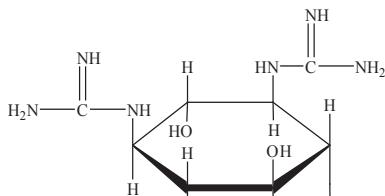
Гризин (XIX)



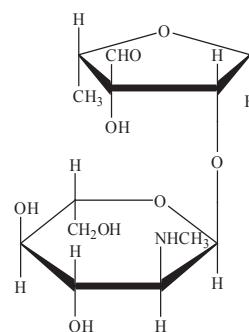
Левомицетин (хлоромицетин, хлорамфеникол) (XX)



Антибиотики пенициллиновой группы (XXI)



Стрептомицин (XXII)



Контроль содержания стимуляторов роста животных (в том числе гормональных препаратов), лекарственных средств (в том числе антибиотиков), применяемых в животноводстве для целей откорма, лечения и профилактики заболеваний скота и птицы, а также других препаратов, не указанных в предыдущем абзаце, основывается на информации, представляемой изготовителем (поставщиком) продукции об использованных при ее изготовлении и хранении стимуляторах роста животных и лекарственных препаратов.

Определение ветеринарных препаратов

Ускоренный метод качественного и количественного обнаружения антибиотиков в пищевых продуктах и других субстратах описан в методических указаниях 4.2.026 «Экспресс-метод определения антибиотиков в пищевых продуктах». Метод основан на подавлении антибиотиком дегидрогеназной активности тест-культур в жидкой питательной среде.

Дегидрогеназы-ферменты активируют процессы дыхания в живой клетке. Повреждение дегидрогеназ приводит к нарушению окислительно-восстановительных процессов и гибели клетки. Высокая чувствительность этих ферментов к неблагоприятным воздействиям использована для выявления повреждающего действия антибиотика на различные тест-культуры.

В методе используется способность клеток тест-культур восстанавливать метиленовый синий в анаэробных условиях. Если антибиотик оказывает цитотоксическое действие, клетки тест-культур лишаются такой возможности и метиленовый синий не восстанавливается. Метиленовый синий играет в этой системе одновременно роль акцептора водорода и индикатора, позволяющего судить о повреждающем действии антибиотиков на клеточные дегидрогеназы за определенный отрезок времени.

Преимущество экспресс-метода заключается в возможности получения ответа через 4–5 ч, относительной простоте и значительной экономии питательной среды.

Доза биологически активного вещества или лекарственного средства, вызывающая определенный, объективно регистрируемый физиологический или, соответственно, терапевтический эффект и принятая в качестве меры при дозировании, называется единицей действия (ЕД). Так, допустимое содержание антибиотиков в продуктах не должно превышать для тетрациклинов 0,01 ЕД, для пенициллина — 0,01 ЕД, для стрептомицина — 0,5 ЕД на 1 г (см³) продукта.

Отбор проб

Отбор проб молока и молочных продуктов производится по ГОСТ 13928 и 9225, мяса и мясных продуктов — по ГОСТ 7269, яйца отбираются в пределах 0,5–1 % в зависимости от объема партии.

Пробоподготовка

Пробоподготовку осуществляют согласно МУК 4.2.026. Перед проведением исследования проводят термическую обработку проб пищевых продуктов на водяной бане при 60 °С. При анализе мяса и субпродуктов перед термической обработкой проводят их измельчение. Антибиотики экстрагируют, обрабатывая пробу соответствующим буферным раствором: при определении тетрациклина — цитратным (рН 5,8–6,0), стрептомицина — фосфатным (рН 7,8–8,0), пенициллина — фосфатным (рН 6,8–7,0).

Определение «рабочей дозы» тест-культур

Тест-культурами служат вегетативные формы спорообразующих и неспорообразующих культур, обладающих высокой чувствительностью к антибиотикам.

При определении пенициллина и стрептомицина предпочтительно использовать спорообразующие тест-культуры *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides* и *Micrococcus luteum*; для тетрациклина — *Bac. subtilis*.

«Рабочая доза» тест-культуры — это наибольшее разведение суспензии, вызывающее обесцвечивание метиленового синего в определенное время в термостате при температуре 37 °С.

Следует учитывать, что время обесцвечивания метиленового синего обратно пропорционально количеству клеток в смыве.

Предварительное определение «рабочей дозы» тест-культур необходимо потому, что количество жизнеспособных клеток тест-культуры от смыва к смыву варьирует.

Определение концентрации антибиотика и степени его активности

При определении концентрации антибиотика в пищевых продуктах параллельно осуществляют контрольный ряд проб с известным содержанием антибиотика в пробирках. После этого вносят взвесь, содержащую «рабочую дозу» тест-культуры, вызывающую обесцвечивание метиленового синего через 1 ч. Пробирки встряхивают и помещают в термостат при температуре 37 °С на 3-часовую экспозицию тест-культуры с антибиотиком. Затем в каждую пробирку добавляют метиленовый синий и глюкозу. Содержимое пробирок вновь смешивают и инкубируют.

Если в исследуемом объекте содержится антибиотик, то он блокирует дыхательные ферменты бактериальных клеток тест-культур и вызывает их гибель. В этих пробирках метиленовый синий не обесцвечивается.

О степени активности антибиотика судят по его минимальной концентрации, которая вызывает полное подавление дегидрогеназ клеток тест-культур через 1 ч или 2 ч инкубации в термостате при температуре (37 ± 1) °С по сравнению с контрольной системой.

Определение концентрации антибиотиков в испытуемом растворе проводят аналогично определению концентрации антибиотиков в стандартных образцах.

Определение остаточных количеств ветеринарных препаратов биологическими методами описано и в других нормативных документах, например ГОСТ Р 52842, МУ 3049 и др.

ГОСТ Р ИСО 13493 «Мясо и мясные продукты. Метод определения содержания хлорамфеникола (левомицетина) с помощью жидкостной хроматографии» описывает определение хлорамфеникола методом жидкостной хроматографии в мышечной ткани мяса,

включая мясо птицы, где содержание хлорамфеникола составляет не менее 6,5 мкг/кг. Данный метод неприменим к испорченным образцам.

Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, изложенного в настоящем стандарте, рекомендуемый метод отбора образцов приведен в ИСО 3100–1.

Пробоподготовка

Пробоподготовка заключается в удалении жировой ткани, несъедобных частей образца и измельчении. В случае определения лекарственных препаратов тетрациклического ряда после гомогенизации добавляют минеральные кислоты для отщепления тетрациклических соединений от белков. Хлорамфеникол экстрагируют из пробы водой. Очистку фильтрата экстракта от липофильных компонентов проводят методом твердофазной экстракции, используя патрон с диатомитовой землей. Элюируют хлорамфеникол дихлорметаном, элюат концентрируют выпариванием растворителя.

Определение и обработка результатов

Хлорамфеникол определяют методом обращенно-фазовой хроматографии с детектированием в УФ области спектра при 285 нм. Подвижной фазой является смесь ацетонитрила и ацетатного буферного раствора, неподвижной фазой — обращенная фаза C₈ или C₁₈.

Количественное содержание хлорамфеникола определяют методом внешнего стандарта.

Загрязнение продуктов питания пестицидами

Пестициды (от лат. *pestis* — зараза и *caedo* — убиваю) — это химические препараты, к которым относятся гербициды (для борьбы с сорняками), инсектициды (для борьбы с вредителями),

fungициды и бактерициды (для борьбы с болезнями сельскохозяйственных растений) и др.

Мировой рынок пестицидов оценивается в сумму около 30 млрд долл. ежегодно. Используется более миллиона тонн пестицидов, причем 60 % из них — в сельском хозяйстве.

Пестициды используются для удобрения почвы, борьбы с сорняками, насекомыми и грызунами, для защиты урожая от плесени и грибков. С их помощью повышают урожайность, увеличивают срок хранения растений, улучшают внешний вид фруктов, овощей и зерна. Сегодня предлагается до 5000 видов пестицидов и 700 химических ингредиентов. По сравнению с началом 40-х гг. XX в., когда были впервые использованы пестициды, их потребление в сельском хозяйстве возросло в десятки раз.

Большинство пестицидов — синтетические органические вещества, имеющие высокую термическую стабильность и плохую растворимость в воде, но хорошую растворимость в органических растворителях и жирах.

По своим химическим свойствам хлорсодержащие пестициды (ХП) в обычных условиях довольно инертны и практически не разлагаются в воде под действием кислот и щелочей. Попадая в различные объекты окружающей среды, пестициды накапливаются в них либо включаются в различные миграционные цепи. Наиболее распространенные механизмы разрушения ХП в окружающей среде — фотохимические реакции и процессы метаболизма с участием микроорганизмов. Метаболизм ХП под действием микроорганизмов осуществляется путем использования ими органического углерода в качестве пищи и катализируется ферментами. Многие пестициды способны длительно сохраняться в среде обитания людей, попадая из одного объекта среды в другой и превращаясь в более токсичные соединения, чем их предшественники. Период распада в почве для большинства из них превышает 1,5 года, а для ДДТ и дильдрина — 15–20 лет.

Пестициды — это «мина замедленного действия». За десятки лет использования эти химикаты скопились в почве. Они попадают в растения, а также в источники воды и, соответственно, в рыбу.

Страдает и животноводство: скот питается обработанными химикатами растениями и к тому же получает инъекции гормонов роста и антибиотиков. В итоге вся «химия» встраивается в ткани животных. Вызывает тревогу, что многие из этих химикатов являются биологическими ядами, рассчитанными на уничтожение, и в организме человека они медленно, прогрессирующее разрушают клетки и органы.

В 1990 г. М. А. Эванс, профессор Медицинского колледжа университета в Чикаго, утверждал, что по его оценкам от 70 до 90 % случаев рака у человека возникают под воздействием факторов окружающей среды. Сюда входят химикаты, синтетические пищевые добавки, сельскохозяйственные химикалии и другие факторы, в том числе солнечный свет и пищевые компоненты. При этом Эванс отмечает, что большинство перечисленных факторов могут не являться канцерогенами сами по себе, однако, действуя в комбинации с другими факторами, могут оказывать канцерогенный эффект. Другими словами, они начинают работать друг с другом синергетически.

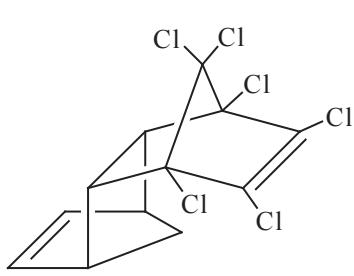
Исследование, проведенное еще в 1976 г., некоторым образом подтверждает это предположение. Группа ученых испытывала три химиката на группе крыс. Индивидуально химикаты не оказали никакого влияния на подопытных животных. На следующем этапе крысам давали комбинации двух веществ; было отмечено ухудшение состояния животных. После одновременного приема трех химикатов за две недели крысы погибли.

Каждый день в мире около 3 тыс. человек отравляются пестицидами. Это более миллиона отравлений в год химическими веществами, загрязняющими воздух, почвы, воду и продукты. Отдельно по Европе эти цифры не менее шокирующие. Только в 2005 г. страны ЕС начали пытаться вводить единые стандарты в оценке опасности химических веществ, попадающих в продукты питания, и единую маркировку для продуктов питания. Известно, что многие пестициды опасны для здоровья и обладают канцерогенными свойствами. Так, по данным ученых, 60 % всех гербицидов, 90 %

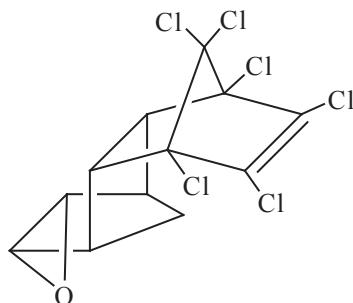
fungицидов и 30 % инсектицидов вызывают опухоли у животных. Большинство из этих веществ помимо высокой токсичности имеют ярко выраженные кумулятивные свойства, последствия которых проявляются в изменении иммунологического статуса живых организмов, мутагенных и тератогенных эффектах. Кроме того, все пестициды являются сильно токсичными для человека веществами. Одним из наиболее опасных эффектов воздействия пестицидов является их репродуктивная токсичность для млекопитающих, в том числе для человека. Однако до сих пор покупатель не может по этикетке определить, насколько же насыщен покупаемый продукт этими неполезными веществами. В развитых странах у потребителя в принципе существует выбор — покупать «органическую» (выращенную без химикатов) продукцию или обычную. Разница в цене весьма существенна, и выбор «органических» продуктов не столь велик, как обычных. Ассортимент «обычных» продуктов в супермаркетах — это, по мнению ведущих экологов, «стратегический запас токсического оружия с огромным сроком хранения».

Организация по защите окружающей среды допускает, что из 320 пестицидов, разрешенных к применению в агрономии, по меньшей мере, 66 — предполагаемые канцерогены. Многие из этих пестицидов смешиваются с 1200 нейтральными ингредиентами, состав которых производители не обязаны разглашать, ссылаясь на «коммерческую тайну». Для 800 из них до сих пор не установлены уровни токсичности, они предположительно являются канцерогенами. В связи с большой опасностью применение многих пестицидов (например, ДДТ) в настоящее время строго запрещено.

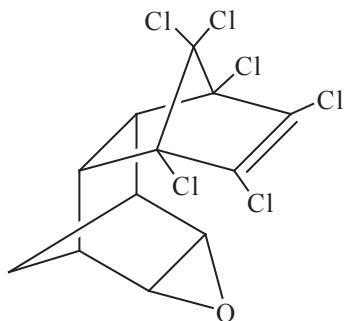
Приоритетными химическими загрязнителями группы пестицидов являются **альдрин**, хлордан, **ДДТ**, **дильдрин**, эндрин, гептахлор, **мирекс**, хлордекон, эндосульфан, токсафен, **гексахлорциклогексан**, линдан, гептахлорэпоксид, **атразин**. Черным шрифтом выделены вещества, входящие в число стойких органических соединений (СОЗ).



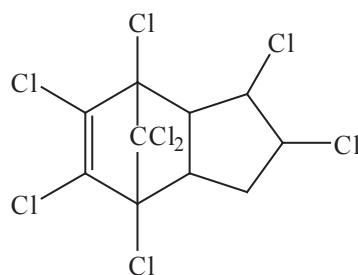
Альдрин (XXIII)



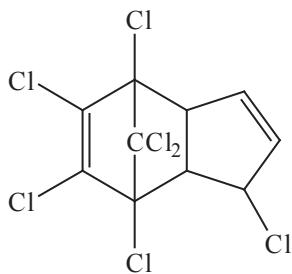
Дильдрин (XXIV)



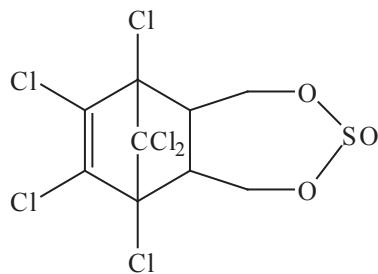
Эндрин (XXV)



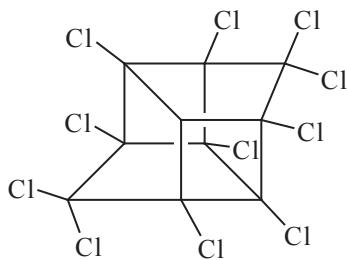
Хлордан (XXVI)



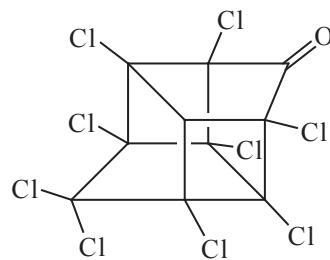
Гептахлор (XXVII)



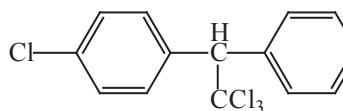
Эндосульфан (тодан) (XXVIII)



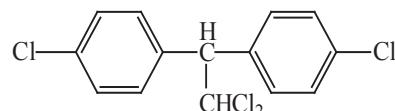
Мирекс (XXIX)



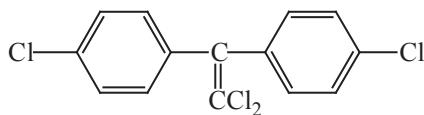
Хлордекон (кепон) (XXX)



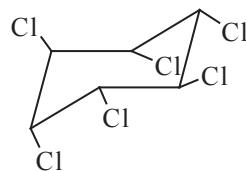
ДДТ (XXXI)



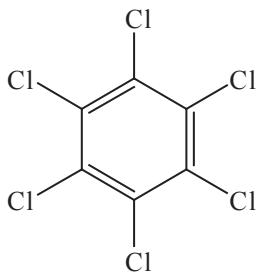
ДДД (XXXII)



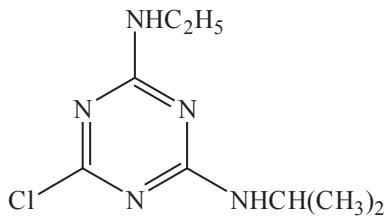
ДДЭ (XXXIII)



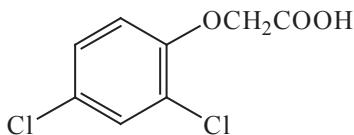
Линдан (γ -ГХЦГ) (XXXIV)



Гексахлорбензол (XXXV)



Атразин (XXXVI)



2,4-Д кислота (XXXVII)

Альдрин (XXIII) — хлорорганическое соединение, пестицид, применявшийся для борьбы с саранчовыми и почвенными вредителями, не поддается биохимическому разложению, поэтому считается одним из самых опасных пестицидов. На территории России запрещен к применению в 1972 г., поэтому его присутствие в пищевых продуктах не допускается. Этот пестицид запрещен в большинстве стран Европы. Его использование ограничено в США, Аргентине, Канаде, Чили и других странах Южной и Северной Америки. По нормативам, принятым в США, допустимое содержание препарата в продуктах питания составляет от 0 до 0,1 мг/кг.

Дильдрин (XXIV) — высокоэффективный инсектицид, разработанный в качестве альтернативы ДДТ. По нормам, принятым в США, допустимое содержание препарата в пищевых продуктах составляет от 0 до 0,1 мг/кг. В России применение дильдрина запрещено.

Эндрин (XXV) — хлорорганическое соединение, стереоизомер дильдрина, один из чрезвычайно токсичных и стойких к воздействию внешней среды пестицидов. Более токсичен для человека, чем другие хлорорганические пестициды, а также превосходит их по эффективности действия. Используется для защиты зерновых культур от почвенных клещей. Основным источником его поступления в организм человека являются продукты питания. Эндрин запрещен во многих странах. В России его не применяли.

Хлордан (XXVI) — инсектицид, использовавшийся в сельском хозяйстве для защиты овощей, зерновых и масленичных культур от грызущих насекомых. В настоящее время его применение запрещено полностью или частично в большинстве стран мира,

в том числе и в России. По принятым в США нормам содержание хлордана в продуктах питания не должно превышать 0,3 мг/кг. В России его присутствие не допускается.

Гептахлор (XXVII) применяли для борьбы с насекомыми в почве, а также в качестве инсектицидной добавки к протравителям семян. В США его разрешено использовать только для борьбы с муравьями в силовых трансформаторах. В России запрещен с 1986 г. По нормативам, действующим в России, наличие остаточных количеств гептахлора в пищевых продуктах и кормах сельскохозяйственных животных не допускается.

Эндосульфан (XXVIII) — эффективный инсектицид для борьбы с насекомыми и клещами на ягодных культурах и хлопчатнике. Крупнейшим мировым производителем и экспортёром является Индия. По нормам, принятым в России, содержание эндосульфана в сельскохозяйственных культурах не должно превышать 0,05–2 мг/кг, в мясе и молоке — 0,2 мг/кг, в воздухе — 0,1 мг/м³.

Мирекс (XXIX) использовали в качестве средства борьбы с муравьями. В 1976 г., когда выяснилось, что мирекс является канцерогеном и сердечным токсикантом, его запретили в США. В России мирекс не применяли.

Хлордекон (XXX) — главный продукт превращения мирекса в почве. Обладает инсектицидными свойствами против муравьев, тараканов и личинок мух, а также фунгицидным действием по отношению к мучнистой росе и парши яблони. В России не применялся.

ДДТ (дихлордифенилтрихлорметилметан, XXXI) — инсектицид из класса хлорорганических соединений, ранее применяемый для борьбы с различными насекомыми и вредителями запасов, а также для борьбы с насекомыми — переносчиками заболеваний человека. В почве в обычных условиях ДДТ может сохраняться до 12 лет, в анаэробных условиях может разлагаться некоторыми видами микроорганизмов почвы за 2–4 недели. В 1970 г. ДДТ исключен из списка пестицидов, разрешенных к применению на территории СССР. Однако и после этого его производство не прекратилось. До конца 80-х гг. его применяли во многих областях

СССР для предотвращения распространения малярии и клещевого энцефалита.

Метаболитами ДДТ являются ДДД (дихлордифенилдихлорэтан, XXXII) и ДДЭ (дихлордифенилдихлорэтилен, XXXIII).

Линдан (γ -гексахлорциклогексан, γ -ГХЦГ, XXXIV) — инсектицид, широко применяемый в сельском хозяйстве для борьбы с паразитами животных. Как лекарственное средство линдан доступен в США. В настоящее время ГХЦГ используется в странах с аграрной экономикой.

Гексахлорбензол (ГХБ, XXXV) — хлорорганическое соединение, использовавшееся в качестве инсектицида и фунгицида. Его применяли в России до 1991 г. как проправитель семян. В настоящее время его используют в оборонной промышленности для производства пиротехнических средств, а также при получении химических средств.

Атразин (XXXVI) — гербицид, производное триазинов. По принятым в России нормам содержание атразина в растительных продуктах не должно превышать 0,1–15 мг/кг, в мясе и молоке — 0,02 мг/кг, в воде — 0,5 мг/дм³.

2,4-Д кислота (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, XXXVII) применяется в посевах зерновых, используется для борьбы с двудольными сорными растениями, в малых дозах является стимулятором роста растений. Сама кислота, плохо растворимая в воде, не так широко используется в сельском хозяйстве, как ее соли и эфиры.

Несмотря на то, что многие из ХП запрещены к применению, в хранилищах остались неизрасходованные запасы, а почва загрязнена ими. Так, концентрации ДДТ и ПХБ во взвесях российских рек достигают соответственно 26,6 мкг/г и 2,75 мкг/г сухой массы. В результате выпадения ХП с атмосферными осадками и выноса их речными водами они накапливаются в донных осадках и морских водах, перемещаются по водным и наземным трофическим цепям и аккумулируются в водной фауне, травоядных, рыбоядных и хищных птицах и животных. ХП обнаруживают и в продуктах питания.

В табл. 20 приведены допустимые суточные дозы (ДСД) потребления человеком СОЗ.

Таблица 20

Допустимые суточные дозы потребления человеком стойких органических загрязнителей (по данным ВОЗ)

СОЗ	ДСД, мкг/кг массы тела	СОЗ	ДСД, мкг/кг массы тела
ДДТ	5	ПХБ	1
Линдан	12,5	Гептахлор	0,5
Альдрин	0,1	Хлордан	0,05
Дильдрин	0,1	Мирекс	0,07
Эндрин	0,1	ГХБ	0,6

Для защиты рынка от поступления загрязненных продуктов разработаны нормативы (стандарты), ограничивающие допустимую концентрацию пестицидов. Во всех видах продовольственного сырья и пищевых продуктов контролируются пестициды: гексахлорциклогексан (α , β , γ -изомеры), ДДТ и его метаболиты. В зерне и продуктах переработки контролируются также ртуть-органические пестициды, 2,4-Д кислота, ее соли и эфиры. В рыбе и продуктах переработки контролируется также 2,4-Д кислота, ее соли и эфиры. Согласно гигиеническим нормативам, в пищевых продуктах не допускается присутствие альдрина и гептахлора.

Санитарно-эпидемиологическая экспертиза продовольственного сырья и пищевых продуктов, содержащих пестициды, осуществляется в соответствии с действующими гигиеническими нормативами содержания пестицидов в объектах окружающей среды.

Контроль продовольственного сырья и пищевых продуктов по содержанию в них остаточных количеств пестицидов и агрохимикатов, в том числе фумигантов, основывается на информации, представляемой изготовителем (поставщиком) продукции, об использованных при ее производстве и хранении пестицидах и агрохимикатах.

Для продовольственного сырья растительного происхождения обязательна информация о пестицидах, использованных при возделывании сельскохозяйственных культур, фумигации помещений и тары для их хранения, борьбы с вредителями продовольственных запасов, а также о дате последней обработки ими.

Для продовольственного сырья животного происхождения обязательна информация об использовании (или отсутствии такого-всего) пестицидов для борьбы с эктопаразитами или заболеваниями животных и птицы, для обработки животноводческих и птицеводческих помещений, прудовых хозяйств и водоемов для воспроизводства рыбы, также с указанием наименования пестицида и конечной даты его использования.

Ввоз, использование и оборот продовольственного сырья растительного и животного происхождения, не имеющего информации о применении пестицидов при его производстве, не допускается.

Методы определения остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Важностью контроля за содержанием остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье, биосредах и объектах природной среды обитания обусловлена разработка новых современных унифицированных методик на основе газовой хроматографии и ВЭЖХ. Использовать ВЭЖХ рекомендуется в случае веществ, характеризующихся малой летучестью или не обладающих стойкостью к нагреву. В последние годы, особенно в связи с ростом закупок больших партий зарубежных пестицидов для применения их на полях России, разработан целый ряд методик их определения в различных матрицах.

Методы определения хлорорганических пестицидов в пищевых продуктах и продовольственном сырье устанавливаются: МУ № 2142 «Методические указания по определению хлорорганических пестицидов в воде, продуктах питания, кормах и табачных

изделиях методом хроматографии в тонком слое»; ГОСТ 23452 «Молоко и молочные продукты. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов»; ГОСТ 30349 «Плоды, овощи и продукты их переработки. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов».

Отбор проб

Отбор проб и подготовка их к анализу осуществляются в соответствии с нормативной документацией на конкретный вид пищевого продукта или продовольственного сырья и с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденными Минздравом СССР (№ 2051).

Пробоподготовка

Основным способом пробоподготовки при определении пестицидов в сельскохозяйственном сырье, пищевых продуктах и растительном сырье является сочетание жидкостной экстракции с последующей очисткой экстракта методом твердофазной экстракции на силикагеле или флорисиле, что позволяет получить целевые компоненты в относительно «чистом» виде.

Экстракцию пестицидов из проб пищевых продуктов проводят *n*-гексаном, петролейным эфиром, диэтиловым эфиром или этилацетатом.

Очистку экстрактов, содержащих жир, проводят на хроматографической колонке, заполненной активированным силикагелем АСК. Элюирование пестицидов осуществляют смесью бензола и *n*-гексана. В остальных случаях экстракт очищают серной кислотой, насыщенной безводным сульфатом натрия, в делительной воронке.

Концентрирование экстрактов проводят или на вакуумно-ротационном испарителе, или в приборе для отгонки растворителей, или на водяной бане.

Определение

Для хроматографирования очищенного экстракта (элюата) используют различные методы: ВЭЖХ/УФ-детектор, ГХ/селективные детекторы (детектор электронного захвата — ДЭЗ, термоионный детектор — ТИД, пламенно-фотометрический детектор — ПФД) или ТСХ. В первом случае надежность идентификации пестицидов на фоне примесей других органических соединений определяется степенью очистки экстракта пестицидов, поскольку УФ-детектор не является селективным. Во втором — вероятность правильной идентификации существенно возрастает, так как после очистки экстракта и хроматографического разделения его компонентов целевые соединения (пестициды) фиксируются с помощью селективных (ТИД и ПФД) и специфических (ДЭЗ) детекторов.

Пестициды часто идентифицируют и количественно определяют с помощью методов масс-спектрометрии, в частности, при использовании комплексов ГХ/масс-спектрометрический детектор (МСД) и ЖХ/МСД.

Хроматографирование хлорсодержащих пестицидов проводят в тонком слое оксида алюминия, силикагеля, пластиночка «Силуфол» или пластиночка «Сорб菲尔» в различных системах подвижных растворителей, основным компонентом которых является *n*-гексан. Для проявления пятен используют смесь нитрата серебра, аммиака и пероксида водорода в ацетоне. При наличии хлорорганических пестицидов на пластиночке появляются пятна серо-черного цвета. При использовании для анализа пластиночка «Силуфол», импрегнированных *o*-толидином, их непосредственно после хроматографирования подвергают УФ-облучению в течение нескольких минут. При наличии хлорорганических пестицидов в этом случае появляются пятна сине-голубого цвета.

Идентификацию пестицидов в смеси проводят по относительной скорости перемещения. Количественное определение осуществляют сравнением площадей пятен пробы и стандартных растворов.

Метод газожидкостной хроматографии предназначен для количественного определения хлорорганических пестицидов

и применяется при разногласиях в оценке качества пищевых продуктов.

Сущность метода заключается в выделении хлорорганических пестицидов, очистке их и определении на газожидкостном хроматографе, снабженном детектором по захвату электронов, с использованием неполярной силиконовой фазы и газа-носителя — азота, аргона.

Идентификацию пиков, полученных из очищенных экстрактов, проводят сравнением времен удерживания с временами удерживания пиков, полученных из стандартного раствора пестицидов. Качественный состав пробы рассчитывают по площадям пиков методом внешнего стандарта или абсолютной калибровки.

Загрязнение продуктов питания микотоксинами

Микотоксины (от греч. μύκης — гриб и τοξικόν — яд) — токсичные продукты жизнедеятельности некоторых видов плесневых (микроскопических) грибов. Известно более 250 видов грибов, продуцирующих несколько сотен микотоксинов, многие из которых обладают мутагенными (в том числе канцерогенными) свойствами.

Микотоксины могут загрязнять пищевые продукты и продовольственное сырье, если условия хранения благоприятны для роста грибов (слегка повышенная температура (около 30 °C) и повышенная влажность (около 85 %)). Эти токсины характеризуются относительно высокой молекулярной массой и содержат одно или несколько оксигенированных алициклических колец.

Грибами, образующими микотоксины, поражаются в основном растительные продукты: зерновые культуры, кукуруза и другие растения, употребляемые в пищу человеком, а также используемые для подкормки домашних животных. В животных продуктах микотоксины обнаружаются, пожалуй, только в молоке в случае, когда коровы съедают плесневелые корма. В домашних условиях микотоксины могут появиться в заплесневевших продуктах

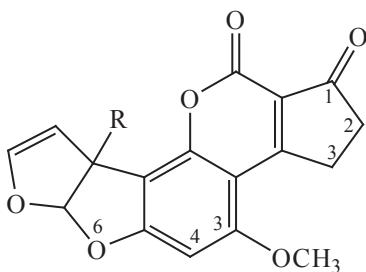
(сырье). Хотя плесень развивается на поверхности, вырабатывающие ею токсины диффундируют в глубь продукта весьма интенсивно, а поскольку они бесцветны, то определить на глаз степень проникновения невозможно. Заплесневелые или вызывающие подозрение по другим причинам продукты не следует использовать ни в коем случае.

Высокая опасность микотоксинов выражается в том, что они обладают токсичным эффектом в чрезвычайно малых количествах и способны весьма интенсивно диффундировать в глубь продукта.

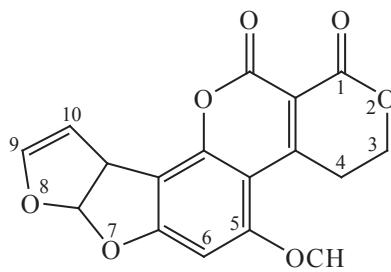
Контроль за содержанием микотоксинов является обязательным при проведении сертификации продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Согласно СанПиН 2.3.2.1078, в продовольственном сырье и пищевых продуктах растительного происхождения контролируется содержание афлатоксина B_1 , дезоксиваленола (вомитоксина, или ДОН), зеараленона, Т-2 токсина, патулина. При употреблении животными кормов, загрязненных афлатоксином B_1 , с молоком выделяется высокотоксичный афлатоксин M_1 , содержание которого контролируется в молоке и молочных продуктах. Приоритетным загрязнителем для зерновых продуктов является дезоксиваленол; для орехов и семян масличных — афлатоксин B_1 ; для продуктов переработки фруктов и овощей — патулин. В продуктах детского и диетического питания присутствие микотоксинов не допускается.

Афлатоксины (XXXVIII) — это основные загрязнители пищевых продуктов. Афлатоксины являются одними из наиболее опасных микотоксинов, обладающих сильным канцерогенным действием. В эту группу входят более 15 микотоксинов, но наиболее изучены несколько основных представителей, которые обозначают буквами латинского алфавита. Высокой токсичностью обладают четыре основных представителя — афлатоксины B_1 , B_2 , G_1 и G_2 (для афлатоксина B_1 LD_{50} — 7,8 мг/кг, макаки, перорально). Остальные соединения являются производными или метаболидами основной группы (M_1 , M_2 , B_{2a} , G_{2a} , GM_1 , P_1 , Q_1 и др.).



a



б

Афлатоксины (XXXVIII):

- a* — афлатоксин B₁ (R = H), афлатоксин B₂ (R = H, положения 8 и 9 гидрированы), афлатоксин M₁ (R = OH);
б — афлатоксин G₁, афлатоксин G₂ (положения 9 и 10 гидрированы)

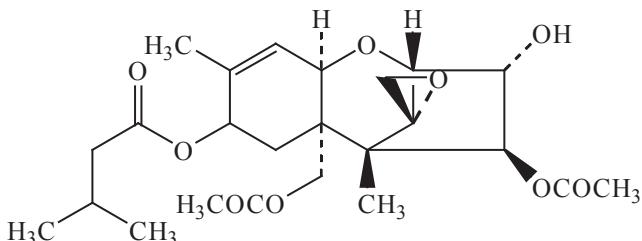
В природных условиях чаще и в наибольших количествах афлатоксины обнаружаются в арахисе, кукурузе, семенах хлопчатника. Кроме того, в значительных количествах они могут накапливаться в различных орехах, семенах масличных культур, пшенице, ячмене, зернах какао и кофе, а также в кормах для сельскохозяйственных животных. Следует отметить, что токсигенные грибы могут поражать растительные субстраты не только во время хранения, но и в процессе их роста, сбора урожая, транспортирования и переработки.

Следует отметить возможность появления афлатоксинов в продуктах животного происхождения: в молоке, тканях и органах животных, получавших корм, загрязненный афлатоксинами в высоких концентрациях.

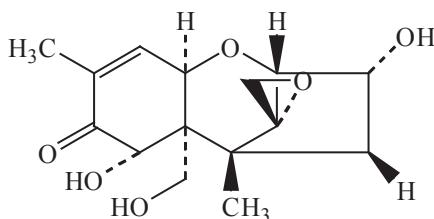
В ряде стран Африки и Азии, где наблюдаются острые афлатоксикозы у людей, выявлена прямая корреляция между частотой заболевания населения раком печени и содержанием афлатоксинов в пищевых продуктах. Афлатоксины слабо растворимы в воде, нерастворимы в неполярных растворителях, но легко растворимы в растворителях средней полярности, таких как хлороформ, метанол и диметилсульфоксид. Они достаточно нестабильны в химически чистом виде и чувствительны к воздействию воздуха и света.

Афлатоксины практически не разрушаются при обычной кулинарной обработке контаминированных пищевых продуктов. Снизить содержание афлатоксинов до безопасного уровня позволяет химическая детоксикация кормов аммиаком при повышенном давлении и температуре (США, Франция) или пероксидом водорода (Индия). При этом, однако, теряется часть питательной ценности корма. Перспективна биологическая детоксикация афлатоксинов и других микотоксинов некоторыми видами микроорганизмов.

Т-2 токсин и дезоксиваленол (ДОН, или вомитоксин) относятся к группе трихотеценовых микотоксинов, подразделяющихся на 4 типа — А, В, С и D. Токсин Т-2 (XXXIX) является представителем группы А, ДОН (XL) — группы В. LD_{50} для этих микотоксинов (мыши, перорально) варьирует от 6,7 мг/кг (токсин Т-2) до 46 мг/кг (дезоксиваленол). ДОН подавляет синтез белка, снижает концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке крови, может подавлять репродуктивную систему. Особенно опасным является загрязнение кормов для сельскохозяйственных животных. Т-2 токсин распространен менее широко, но более токсичен, чем ДОН.



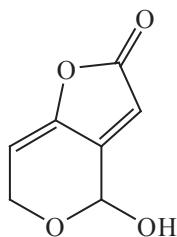
Т-2 токсин (XXXIX)



Дезоксиваленол (XL)

Эти микотоксины отличаются повсеместным распространением, особенно в странах с умеренным континентальным климатом. Чаще всего они обнаруживаются в зерне кукурузы, пшеницы и ячменя.

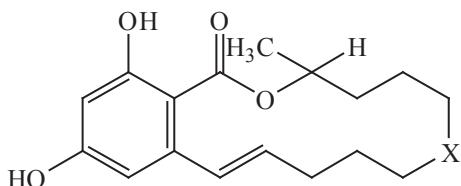
Патулин (XLI) — второй часто встречающийся микотоксин, обладающий выраженным канцерогенными и мутагенными свойствами. Впервые выделен в 1943 г. как антибиотик. LD_{50} составляет 17–36 мг/кг (мыши, перорально). Продуценты патулина поражают в основном фрукты и некоторые овощи, вызывая гниение. Патулин (XLI) обнаружен в яблоках, груше, абрикосах, персиках, вишне, винограде, бананах, клубнике, голубике, бруснике, облепихе, айве, томатах. Наиболее часто патулином поражаются яблоки, где содержание токсина может достигать до 17,5 мг/кг. Следует отметить, что патулин обнаруживают не только в подгнившей части фруктов и овощей, но и в нормальной. Например, в томатах патулин равномерно распределяется по всей ткани. В высоких концентрациях патулин обнаруживается и в продуктах переработки фруктов и овощей: соках, компотах, пюре и джемах. В большинстве развитых стран регламентировано его содержание в яблочном соке.



Патулин (XLI)

К группе зеараленона (XLII) и его производных относят 15 микотоксинов. В качестве природных загрязнителей встречаются только зеараленон и зеараленол. Для зеараленона LD_{50} — 10 000 мг/кг (крысы, перорально). ПДК зеараленона в пищевых

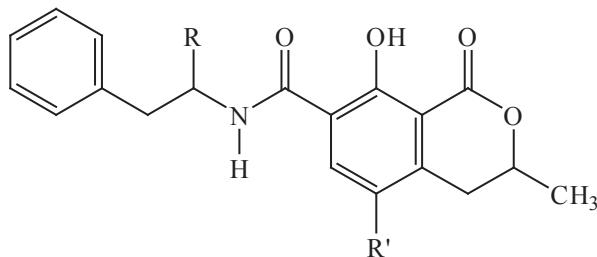
продуктах составляет 1 мг/кг. Зеараленон — опасный микотоксин, основным природным субстратом, в котором наиболее часто он обнаруживается, является кукуруза. Грибы рода *Fusarium graminearum*, производящие зеараленон, часто поражают кукурузу в поле на корню и являются причиной гнили початков и стеблей. Контаминация кукурузы зеараленоном может происходить и при хранении. Высока частота обнаружения зеараленона в комбикормах, а также в пшенице, ячмене и овсе. Среди пищевых продуктов этот токсин был обнаружен в кукурузной муке, хлопьях и кукурузном пиве.



Циклические лактоны β -резоциловой кислоты (XLII):
 зеараленон ($X = C=O$) и α -зеараленол ($X = CHOH$)

Зеараленон обладает выраженным эстрогенным и тератогенным действием и представляет серьезную проблему для животноводства во многих странах, а способность накапливаться в тканях сельскохозяйственных животных делает его потенциально опасным для здоровья человека. Несмотря на это, некоторые производные зеараленона до последнего времени использовались в качестве стимуляторов роста животных и достаточно широко производились промышленностью.

В группу охратоксинов (XLIII) входят охратоксины А, В и С. Наиболее токсичен охратоксин А (LD_{50} — 3,4 мг/кг, однодневные цыплята, перорально). Другие микотоксины этой группы на порядок менее токсичны. Наиболее часто пищевые продукты загрязняются охратоксином А.



Охратоксины (XLIII): охратоксин А ($R = COOH$, $R' = Cl$),
 охратоксин В ($R = COOH$, $R' = H$),
 охратоксин С ($R = C(O)OC_2H_5$, $R' = Cl$)

Существуют и другие микотоксины, но они встречаются в растительных продуктах значительно реже.

В России приняты санитарно-гигиенические нормативы по содержанию микотоксинов в продуктах питания (табл. 21).

Таблица 21

**Допустимые уровни содержания микотоксинов
в отдельных группах пищевых продуктов**

Микотоксин	Группа продуктов	ПДК, мг/кг
Афлатоксин B_1	Мясо и мясные продукты, яйца и яйцепродукты. Зерновые, масличные и бобовые культуры	0,005
Афлатоксин M_1	Молоко и молочные продукты	0,0005
Т-2 токсин		0,1
ДОН	Грубые корма, богатые клетчаткой	0,7–1,0*
Зеараленон		0,2–1,0*
Патулин	Плодово-овощная продукция	0,05

* В зависимости от вида продукта.

Большое внимание уделяется изысканию способов деконтаминации и детоксикации сырья и пищевых продуктов, загрязненных микотоксинами. С этой целью используют следующие методы:

- 1) механические — отделение загрязненного материала вручную или с помощью электронно-калориметрических сортировщиков;
- 2) физические — термическая обработка, облучение ультрафиолетовой радиацией;
- 3) химические — обработка растворами окислителей, сильных оснований и кислот.

Однако применение механических и физических методов очистки не дает высокого эффекта, химические методы приводят в разрушению не только микотоксинов, но и полезных нутриентов, а также к нарушению их всасывания.

Методы определения микотоксинов

Анализ индивидуальных микотоксинов и их метаболитов сложен, поскольку известны более ста таких веществ и вероятно, что лишь один токсин присутствует в крайне малом количестве в образце, характеризующемся весьма сложной органической матрицей.

Содержание большинства микотоксинов исследуется с помощью тонкослойной хроматографии. Однако более высокая разделятельная способность и меньшие затраты на анализ, типичные для высокоэффективной жидкостной хроматографии, делают именно этот метод более популярным. Необходимые уровни обнаружения составляют несколько мкг/кг и могут быть достигнуты благодаря использованию подходящего метода концентрирования образца и чувствительности детектора.

В 1999 г. опубликована первая российская стандартная методика МУК 4.1.787 «Определение массовой концентрации микотоксинов в продовольственном сырье и продуктах питания. Подготовка проб методом твердофазной экстракции», основанная на

комбинации твердофазной экстракции и ВЭЖХ, утвержденная Минздравом России.

Пробоподготовка

Процесс пробоподготовки, как правило, является наиболее трудоемкой и сложной стадией анализа реальных образцов для большинства химико-аналитических лабораторий. Неудачный выбор методов подготовки и очистки пробы может привести к неверным результатам.

Последовательность действий при подготовке пробы для определения микотоксинов следующая: 1) проведение экстракции образцов; 2) отделение исследуемого компонента от мешающих примесей; 3) концентрирование образца.

Экстракция объекта исследования, предусматривающая получение единого экстракта, содержащего все микотоксины, осуществляется смесью воды : ацетонитрил (16 : 84).

Отделение интересующего компонента от примесей проводят методом твердофазной хроматографии, включающим предварительную очистку, концентрирование и окончательную очистку на концентрирующих патронах Диапак.

Метод твердофазной экстракции (ТФЭ) — простой и эффективный метод, основанный на выделении интересующих компонентов (или мешающих его определению компонентов матрицы) путем сорбции их на твердом носителе (сорбенте), находящемся в небольшом патроне. Метод твердофазной экстракции подобен колончной хроматографии.

Различают два основных способа твердофазной экстракции: удерживающая и неудерживающая ТФЭ. При проведении удерживающей ТФЭ целевой компонент и некоторые мешающие компоненты образца удерживаются на сорбенте при прохождении образца через колонку (картридж, патрон для ТФЭ). Примеси, взаимодействующие с сорбентом, удаляются при пропускании через картридж слабого элюента. Затем с помощью сильного элюента, добавляемого малыми порциями, исследуемое вещество также элюируется с сорбента. Очищенное, сконцентрированное

вещество теперь готово для проведения количественного анализа методом ВЭЖХ или другим аналитическим методом. При неудерживающей ТФЭ на сорбенте сразу оседают мешающие примеси, а целевой компонент проходит через колонку, не удерживаясь. Таким образом, достигается его очистка от мешающих примесей. Полученный элюат затем можно сконцентрировать при помощи упаривания или отдувки растворителя и исследовать любыми доступными аналитическими методами.

Характерная особенность ТФЭ по сравнению с жидкостной экстракцией состоит в том, что первый метод обладает более широкими возможностями, позволяющими варьировать природу и силу взаимодействия образца с сорбентом и элюентом. Благодаря расширению диапазона специфических взаимодействий, повышающих селективность разделения, ТФЭ в большей степени обеспечивает количественное выделение, тонкую чистку, концентрирование и выделение каждого из определяемых соединений или их отделение от мешающих компонентов.

В тех случаях, когда матрица представляет собой многокомпонентную систему, требующую более детального исследования, ТФЭ позволяет проводить фракционирование пробы. На последовательно соединенных патронах можно одновременно разделять и выделять различные классы соединений: органические и неорганические, высоко- и низкомолекулярные, неполярные, ионогенные и т. д. Значительное сокращение числа операций, объема растворителей и количества вспомогательного оборудования уменьшает продолжительность пробоподготовки, снижает ее стоимость и приходящиеся на нее трудозатраты, а также повышает точность последующего анализа.

Конструкция концентрирующих патронов Диапак представлена на рис. 5. Корпуса патронов изготовлены из полипропилена и выпускаются в двух конструктивных модификациях: Тип-1 и Тип-2. Патроны герметично закрыты крышкой сверху и заглушкой снизу.

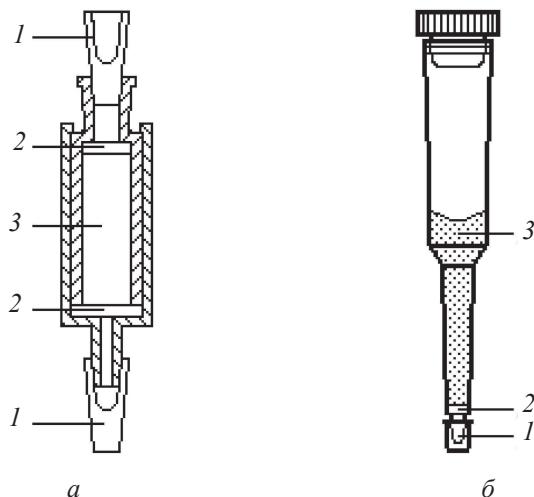


Рис. 5. Устройство патронов Диапак: *а* — Тип-1; *б* — Тип-2;
1 — заглушка, *2* — фильтр, *3* — сорбент

Патроны Диапак модификации Тип-1 представляют собой разъемные капсулы из химически стойкого полимера. Фиксация сорбента в патроне осуществляется с помощью двух фильтрующих дисков из пористого полимера. Масса сорбента в патроне объемом 1 см³ составляет 0,6 г.

Концентрирующие патроны этого типа имеют две взаимозаменяемые заглушки, которые предотвращают попадание в патрон загрязнений и предохраняют сконцентрированный образец от внешних воздействий. Цвет заглушек служит для маркировки патронов. Входной и выходной патрубки патрона соответствуют разъемам типа «Луер», что позволяет последовательно соединять несколько патронов. Нанесение пробы на патрон и ее элюирование может осуществляться либо с помощью шприца с разъемом типа «Луер», либо под действием гидростатического перепада (самотеком), а иногда — с помощью перистальтического или вакуумного насоса.

Патроны Диапак модификации Тип-2 представляют собой неразъемный пластиковый корпус переменного сечения, узкая часть которого служит для размещения сорбента, а широкая, объемом около 10 см³, предназначена для размещения как сорбента (при необходимости), так и элюента. В нижней части пластикового корпуса, под сорбентом, помещен малый пористый фильтр; над столбом сорбента может быть плотно укреплен (благодаря незначительной конусности корпуса патрона) большой пористый фильтр. Патрон модификации Тип-2 герметично закрывается верхней крышкой, а также нижней заглушкой от патрона Тип-1. Верхняя крышка предохраняет патрон от пыли и позволяет перемешивать суспензию сорбента в растворителе. Прокачивание пробы и элюента через патрон достигается с помощью водоструйного насоса. К числу примечательных особенностей патронов данного типа относятся больший объем сорбента (3–6 см³), легкость нанесения пробы и введения элюента, а также удобство подсоединения выходного патрубка к вакуумному устройству посредством резиновой пробки с отверстием (рис. 5).

В большинстве случаев для заполнения патронов используются сорбенты на основе силикагеля с химически привитыми функциональными группами. Вместе с тем по-прежнему находят широкое применение полярные адсорбенты — силикагель и оксид алюминия.

Одним из важнейших достоинств сорбентов на основе силикагеля является высокая интенсивность сорбции и десорбции, позволяющая работать при достаточно высоких скоростях нанесения анализируемой пробы на патрон и ее элюирования с патрона, что существенно ускоряет процедуру пробоподготовки. Другим преимуществом указанных сорбентов является постоянство их объема при контакте с органическими и водно-солевыми растворами. Сорбенты на основе силикагеля не требуют длительного предварительного набухания и после проведения кратковременной активации, кондиционирования или регенерации пригодны к работе.

Третья особенность привитых сорбентов — их достаточно высокая химическая стабильность, хотя по этому показателю они все же уступают полимерным сорбентам. Эта стабильность обусловлена относительной кратковременностью контакта растворителей, используемых для концентрирования и очистки, с поверхностью сорбента, что напрямую связано с дискретным характером протекания ТФЭ по схеме «посадка — смыв». Например, гидролитическая стабильность обращенно-фазовых сорбентов, применяемых в ТФЭ, гарантируется в диапазоне pH 1–10, т. е. значительно более широком, чем это принято для ВЭЖХ-сорбентов с той же химической природой поверхности. Для одноразовых (нерегенерируемых) патронов этот диапазон еще шире.

Необходимо помнить, что сорбционная емкость сорбентов на основе химически модифицированных силикагелей заметно ниже, чем у их аналогов на основе органических полимеров. Для стандартного патрона объемом 1 см³ сорбционная емкость по большинству органических и неорганических веществ обычно находится в пределах 5–20 мг/патрон. Такая емкость вполне достаточна для концентрирования микропримесей. Чтобы с большей точностью установить нагрузку, необходимо предварительно определить емкость патрона «до проскока» интересующего компонента. При этом следует учитывать и возможность перегрузки патрона, причина которой может быть обусловлена перегрузкой не столько по целевому компоненту, сколько по матричным примесям, из-за чего нередко механизм разделения меняется с элюентного проявления на фронтальное вытеснение.

В ТФЭ используются три основных режима разделения: обращенно-фазовый (ОФ), нормально-фазовый (НФ), ионный обмен (ИО).

В табл. 22 представлен перечень патронов Диапак с краткой характеристикой сорбентов и указанием основных областей применения.

Таблица 22

**Характеристика сорбентов,
используемых в патронах Диапак**

Название патрона	Краткая характеристика сорбента	Основные области применения
Диапак Силикагель (С)	Гидрофильный слабокислотный сорбент (С — с постоянной активностью)	Адсорбционная ТФЭ органических соединений
Диапак А (AY)	Гидрофильный слабощелочной сорбент на основе Al_2O_3 (AY — с добавлением 10 % активированного угля)	Адсорбционная ТФЭ органических соединений
Диапак С1 Диапак С1 Plus Диапак С8 Диапак С8 Plus Диапак С16 (C16M) Диапак С16 Plus	Гидрофобные сорбенты с привитыми метильными (С1), октильными (С8) и гексадецильными (С16) группами с увеличивающейся гидрофобностью (Plus — меньший размер частиц и диаметр пор)	ОФ ТФЭ органических соединений
Диапак Фенил Диапак Фенил Plus	Гидрофобный сорбент с привитыми фенильными группами	ОФ ТФЭ органических соединений
Диапак Нитрил (Н) Диапак Нитрил Plus	Слабогидрофобный сорбент с привитыми нитрильными группами	ОФ и НФ ТФЭ органических соединений
Диапак Диол Диапак Диол Plus	Гидрофильный нейтральный сорбент с привитыми диольными группами	НФ ТФЭ органических соединений и эксклюзационная ТФЭ высокомолекулярных соединений
Диапак Амин Диапак Амин-М Диапак Амин Plus	Слабоосновный анионообменник с привитыми аминогруппами (М — с меньшим диаметром пор)	НФ и анионо-обменная ТФЭ органических соединений
Диапак ДАЕД	Слабоосновный анионообменник с привитыми третичными аминогруппами	Анионообменная ТФЭ органических соединений

Окончание табл. 22

Название патрона	Краткая характеристика сорбента	Основные области применения
Диапак ТА	Сильноосновный анионообменник с привитыми четвертичными аммониевыми группами	Анионообменная ТФЭ органических и неорганических соединений
Диапак Карбокси	Слабокислотный карбоксильный катионообменник	Катионообменная ТФЭ органических соединений
Диапак Сульфо	Сильнокислотный катионообменник с привитыми сульфогруппами	Катионообменная ТФЭ органических соединений и ионов металлов
Диапак ИДК	Комплексообразующий сорбент с привитой иминодиуксусной кислотой	ИО ТФЭ ионов тяжелых металлов на основе комплексообразования
Диапак П (П-3)	Гидрофобный сорбент на основе сверхсшитого полистирола	ОФ ТФЭ органических соединений

Разработка методики очистки (концентрирования) образцов и выбор соответствующего патрона в значительной степени связаны со свойствами определяемого вещества, свойствами раствора матрицы и методом последующего анализа. В общем случае очистка экстракта протекает по одному из трех вариантов:

- 1) определяемые компоненты не сорбируются, а мешающие компоненты удерживаются в патроне;
- 2) определяемые компоненты сорбируются и концентрируются, а вещества, загрязняющие пробу, проходят через патрон;
- 3) определяемые и мешающие компоненты удерживаются и концентрируются в патроне, но могут быть фракциониро-

ваны путем ступенчатого или непрерывного градиентного элюирования (градиент рН, ионной силы или элюирующей силы растворителя).

Как указывалось выше, ТФЭ имеет много общего с колоночной и тонкослойной хроматографией, поэтому основные закономерности, характерные для хроматографических методов разделения, полностью применимы и к ТФЭ.

В общем случае при использовании патронов для ТФЭ выполняются следующие операции:

1. Активация — приведение патрона в рабочее состояние. Подготовка патронов проводится непосредственно перед анализом и занимает не более 3 мин. Для НФ ТФЭ патроны промывают неполярным растворителем или смесью растворителей, как правило, хорошо обезвоженных; для ОФ ТФЭ промывка патронов осуществляется смесью полярных или малополярных (в отдельных случаях неполярных) растворителей; для ИО ТФЭ — буферными растворами или растворами электролитов, переводящими патроны в ту или иную ионную форму.
2. Кондиционирование (уравновешивание) — промывка патрона растворителем (или смесью растворителей), который использовался для растворения матрицы. При этом также происходит удаление избытка активирующих агентов.
3. Нанесение образца — загрузка подлежащего очистке или концентрированию образца на патрон.
4. Продувка (обычно сухим азотом) или промывка слабым растворителем для удаления остатков раствора матрицы или предварительной очистки сконцентрированного образца.
5. Элюирование — смыв сконцентрированной или очищенной пробы с патрона.

Афлатоксин M_1 извлекают из пробы жидкого молока пропусканием ее через патрон Диапак С16М. Затем фракцию, содержащую афлатоксин M_1 , элюируют хлороформом с патрона и, после высушивания и упаривания, проводят окончательную очистку на патроне Диапак С. Афлатоксин M_1 элюируют с патрона смесью

ацетон — хлороформ или метанол — хлороформ. Элюат выпаривают досуха и перерастворяют сухой остаток в смеси вода — ацетонитрил. Проба готова к хроматографическому анализу.

Афлатоксин M_1 из кисломолочных напитков и сметаны экстрагируют хлороформом в присутствии хлорида натрия и лимонной кислоты и, после высушивания и упаривания, проводят окончательную очистку на патроне Диапак С.

Микотоксин патулин извлекают из осветленных соков и напитков пропусканием через патрон Диапак П-3. Затем патулин элюируют этилацетатом с патрона и после обработки раствором карбоната натрия, высушивания, упаривания и перерастворения проводят окончательную очистку на патроне Диапак С. Патулин элюируют с патрона раствором этилацетата в бензоле. После упаривания сухой остаток перерастворяют в хлороформе для дальнейшего определения микотоксина методом ТСХ или в бидистиллированной воде при определении методом ВЭЖХ.

Соки и напитки с мякотью и консистентные продукты разводят водой, осветляют растворами Кэрреза (I — $K_4[Fe(CN)_6]$; II — $(CH_3COO)_2Zn$) в соответствии с ГОСТ 28038 «Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения микотоксина патулина», фильтруют и экстрагируют патулин пропусканием фильтрата через патрон Диапак П-3. Затем патулин элюируют этилацетатом с патрона и после обработки раствором Na_2CO_3 , высушивания, упаривания и перерастворения проводят окончательную очистку на патроне Диапак С. Пробы готовы к хроматографическому анализу.

При определении афлатоксина B_1 и зеараленона проводят очистку водно-ацетонитрильного экстракта на патроне Диапак А-3, из элюата концентрируют микотоксины на патроне Диапак П-3, целевую фракцию элюируют последовательно ацетонитрилом и бензолом в ацетонитриле, высушивают от остатков воды и после упаривания и перерастворения в бензоле проводят окончательную очистку на патроне Диапак Н (Диапак С — в случае анализа кукурузы и продуктов из нее). Зеараленон элюируют с патрона Диапак Н уксусной кислотой в бензоле, упаривают досуха и сухой остаток

перерастворяют в растворителе, соответствующем конечному хроматографическому определению. Затем элюируют афлатоксин B_1 ацетонитрилом в бензоле с патрона, упаривают досуха и сухой остаток также растворяют в растворителе, соответствующем конечному хроматографическому определению. Таким образом, фракционным элюированием получают две фракции, содержащие афлатоксин B_1 и зеараленон, готовые к хроматографическому анализу.

При определении дезоксиваленола и Т-2 токсина проводят предварительную очистку водно-ацетонитрильного экстракта на патроне Диапак АУ-3 и элюат концентрируют упариванием досуха. После перерастворения в хлороформе проводят окончательную очистку на патроне Диапак Н. Для хроматографического анализа две фракции, содержащие дезоксиваленол и Т-2 токсин, получают фракционным элюированием. Т-2 токсин не удерживается на данном патроне, поэтому фракцию, содержащую микотоксин, собирают, упаривают досуха и перерастворяют в растворителе, соответствующем конечному хроматографическому определению Т-2 токсина. Дезоксиваленол элюируют с патрона ацетоном в хлороформе, элюат выпаривают досуха и также растворяют в подходящем растворителе.

Определение

Метод ВЭЖХ пригоден для анализа содержания микотоксинов в орехах, пряностях, корме для животных, муке, инжире и продуктах из яблок. Разделение производится на колонке с обращенной фазой, а для регистрации используются детектор с диодной матрицей, флуориметрический детектор, а также амперометрический детектор. Идентификация проводится по времени удерживания и по спектральным данным.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Гамаюрова В. С. Пищевая химия : лабораторный практикум / В. С. Гамаюрова, Л. Э. Ржечицкая. СПб. : ГИОРД, 2006.

Другов Ю. С. Анализ загрязненных биосред и пищевых продуктов / Ю. С. Другов, А. А. Родин. М. : Бином. Лаборатория знаний, 2007.

Другов Ю. С. Контроль безопасности продуктов питания и товаров детского ассортимента / Ю. С. Другов, А. А. Родин. М. : Бином. Лаборатория знаний, 2012.

Коренман Я. И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов / Я. И. Коренман, Р. П. Лисицкая. Воронеж : Воронеж. гос. технол. акад., 2002.

Пищевая химия / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова и др. ; под ред. А. П. Нечаева. СПб. : ГИОРД, 2006.

Рогов И. А. Безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов / И. А. Рогов, Н. И. Дунченко, В. М. Позняковский и др. Новосибирск : Сиб. унив. изд-во, 2007.

Рогов И. А. Химия пищи / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко. М. : КолосС, 2007.

Скурихин И. М. Все о пище с точки зрения химика / И. М. Скурихин, А. П. Нечаев. М. : Высш. шк., 1991.

Химический состав пищевых продуктов : в 2 кн. Кн. 2 / по ред. И. М. Скурихина, М. Н. Волгарева. М. : Агропромиздат, 1987.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
Основные термины и определения	4
Сертификация и декларирование	8
Маркировка пищевых продуктов	12
Идентификация пищевых продуктов	21
Схема химического анализа	24
Классификация соединений, присутствующих в пищевых продуктах	29
ХИМИЯ И МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУТРИЕНТОВ	31
Белки	31
Классификация белков	31
Биологическая ценность белка	35
Методы определения содержания белка и аминокислот	42
Жиры	50
Классификация жиров	51
Биологическая ценность жиров	53
Методы определения жиров	55
Пищевая порча жиров	59
Углеводы	67
Классификация углеводов	68
Пищевая и биологическая ценность углеводов	71
Методы определения углеводов	72
Минеральные вещества	81
Классификация минеральных веществ	81
Определение минеральных веществ	83
Витамины	84
Жирорастворимые витамины	85
Водорастворимые витамины	96

ХИМИЯ И МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КСЕНОБИОТИКОВ	111
Радиоактивное загрязнение продовольственного сырья и пищевых продуктов.....	111
Проведение радиационного контроля пищевых продуктов.....	113
Загрязнение токсичными элементами	118
Определение содержания токсичных металлов	122
Загрязнение пищевых продуктов азотсодержащими соединениями.....	125
Нитраты.....	125
Нитрозамины	132
Гистамин	138
Загрязнение пищевых продуктов полициклическими ароматическими углеводородами	141
Методы определения ПАУ	142
Загрязнение продовольственного сырья ветеринарными препаратами	146
Загрязнение продуктов питания пестицидами	152
Методы определения остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах и продовольственном сырье.....	162
Загрязнение продуктов питания микотоксинами	165
Методы определения микотоксинов.....	172
СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	183

Учебное издание

Лакиза Наталья Владимировна
Неудачина Людмила Константиновна

АНАЛИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Учебное пособие

Зав. редакцией *M. A. Овечкина*
Редактор *H. B. Чапаева*
Корректор *H. B. Чапаева*
Компьютерная верстка *H. Ю. Михайлов*

План выпуска 2015 г. Подписано в печать 29.09.2015.
Формат 60 × 84 1/16. Бумага офсетная. Гарнитура Times.
Уч.-изд. л. 9,4. Усл. печ. л. 10,9. Тираж 50 экз. Заказ № 362.

Издательство Уральского университета
620000, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4

Отпечатано в Издательско-полиграфическом центре УрФУ.
620000, г. Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.
Тел.: +7 (343) 350-56-64, 350-90-13.
Факс: +7 (343) 358-93-06.
E-mail: press-urfu@mail.ru

Для заметок

Page 10 of 10