

	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет»	Приложение к ОПОП ВО
		Методические указания к выполнению практических занятий

Б1.В.02 СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ И ПРАКТИКА АНАЛИЗА КАЧЕСТВА ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКЦИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ к выполнению практических занятий

Направление подготовки
19.04.02 Продукты питания из растительного сырья

Профиль подготовки
Инновационные технологии проектирования персонализированных и специализированных пищевых продуктов

Квалификация (степень) выпускника
магистр

Уфа 2024

Составитель: Л.И.Пусенкова, к.с.-х.н., доцент кафедры ТОП и ПРС
Рецензент: Ф.А. Гафаров, к.с.-х.н., доцент кафедры ТММ и химии

Методические указания рассмотрены и одобрены на заседании методической комиссии факультета пищевых технологий 21.03.2024 г. (протокол №8).

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
Практическое занятие № 1	4
Изучение возможностей использования БИК-спектро스코пии для проведения анализа сырья и продуктов питания	
Практическое занятие № 2	11
Экспресс-методы определения белка в сырье и готовой продукции	
Практическое занятие № 3	14
Сравнительное изучение различных методов пробоподготовки	

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИК-СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ АНАЛИЗА СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Цель занятия: изучить приборы БИК-спектроскопии и освоить методы измерения состава сырья и продуктов

Задание 1. Изучить суть методов спектроскопии ближней инфракрасной области и теоретические основы методов их определения в продуктах питания

Спектроскопия ближней инфракрасной области (БИК-спектроскопия) представляет собой современный инструментальный метод количественного и качественного анализа разных объектов, основанный на сочетании спектроскопии и статистических методов исследования многофакторных зависимостей. Это молекулярная спектроскопия, применимая для определения состава объекта без его разложения, что обычно составляет суть химического анализа. В БИК-спектроскопии анализ можно проводить по спектрам пропускания ($8000...12500\text{ см}^{-1}$) или отражения ($4000...9000\text{ см}^{-1}$). Основную часть исследований сложных объектов биологического происхождения проводили с помощью спектроскопии диффузного отражения. Применение спектров пропускания позволяет не измельчать и не высушивать анализируемые образцы, что значительно упрощает пробоподготовку и уменьшает время анализа

В настоящее время в России инфракрасные анализаторы используют в основном для решения проблемы контроля качества кормов, комбикормового сырья и комбикормов. Они применяются также и для анализа почв, продукции растениеводства, яиц и яичного порошка, жидкого и порошкового молока, мясных изделий и ряда других продуктов питания. Метод довольно широко применяется для анализа не только сельскохозяйственной и пищевой продукции, а также полимеров, нефтей и битумов, с его помощью определяют ряд показателей, косвенно связанных с химическим составом (температура вспышки, вязкость).

Основные преимущества по сравнению с другими аналитическими методиками:

Более короткое время, требуемое на получение результатов: позволяет сократить сроки принятия решений

Неразрушающий метод контроля: позволяет в дальнейшем использовать материал, выделенный для испытаний, на другие нужды

Простота применения: позволяет проводить испытания и оценку в более короткие сроки

Не требует подготовки образцов: не требуется контакт образцов с персоналом, безопасность обработки для лаборанта

В основе анализа лежит связь инфракрасного спектра поглощения и состава образца. Местоположение полос в спектре поглощения несет

информацию о качественном составе образцов, а интенсивность полос – о концентрации соответствующего компонента.

Для количественного анализа образца необходимо знать зависимость между интенсивностью поглощения и концентрацией компонента или свойством образца.

Предварительное определение зависимости между показателем поглощения (пропускания) и концентрацией компонента или свойством образца называется *градуировкой*. Под проведением градуировки понимают регистрацию спектров партии образцов с известными концентрациями компонентов или известными свойствами. По этим данным рассчитывается градуировочная модель, которая связывает содержание определяемого компонента с результатом спектрального анализа и позволяет по спектру поглощения количественно определить интересующий компонент.

Для проведения градуировки отбирается набор образцов, представительный к тем образцам, которые будут в дальнейшем анализироваться. Градуировочный набор включает образцы, свойства которых охватывают весь диапазон возможных значений определяемых компонентов и свойств анализируемых образцов. Градуировочные образцы анализируются стандартными химическими (референтными) методами для определения в них концентраций компонентов или свойств.

Производится регистрация спектров образцов градуировочного набора и рассчитывается градуировочная модель, связывающая спектральные данные со свойствами образца. Для расчета модели используются методы мультивариантной математики, например, метод регрессии по основным компонентам, метод дробных наименьших квадратов, множественная линейная регрессия.

Определенная градуировочная модель применяется для анализа образцов, свойства которых укладываются в диапазон значений концентраций и свойств обучающего набора. Если рассчитанные значения определяемых параметров попадают в диапазон значений концентраций и свойств градуировочного набора, то эти значения получены интерполяцией калибровочной модели. Если значения определяемых компонентов лежат вне диапазона значений концентрации свойств градуировочного набора, необходимо либо провести доградуировку, либо провести анализ методом экстраполяции, что приводит к увеличению погрешности анализа. Погрешность анализа зависит от погрешности спектрального анализа и погрешности, связанной с построением градуировочной модели.

Задание 2. Изучение видов и характеристик инфракрасных спектрометров и анализаторов

Анализатор инфракрасный «ИнфраЛЮМ® ФТ-10»



Инфракрасный анализатор «ИнфраЛЮМ® ФТ-10» - стационарный лабораторный прибор, который может быстро определить состав и качество таких продуктов, как пшеница, ячмень, рожь, овес, пшеничная и ржаная мука, кукуруза, соя, соевая мука, соевый шрот, подсолнечный жмых и шрот, мясокостная мука, рыбная мука, кормовые дрожжи, комбикорма, сухое молоко, молоко, йогурты, творога, сыры, сырные массы, мясные фарши и др.

Большинство типов проб анализируются без подготовки. Некоторые твердые несыпучие пробы (подсолнечный жмых, соевый шрот) или пробы в сильнопоглощающих оболочках (семена подсолнечника) необходимо предварительно измельчить. «ИнфраЛЮМ ФТ-10» сконструирован так, чтобы максимально упростить подготовку пробы и увеличить точность анализа.

«ИнфраЛЮМ ФТ-10» основан на регистрации спектров поглощения с использованием эффективного метода фурье-преобразования. «ИнфраЛЮМ ФТ-10» измеряет спектр на нескольких сотнях длин волн. Это значительно улучшает точность анализа за счет большего объема и высокой точности обрабатываемой информации.

Отличительные особенности прибора:

- одновременное определение нормируемых показателей за минуты;
- высокая точность и простота анализа;
- анализ проводится без реактивов, для большинства типов - без пробоподготовки;
- надежные градуировки (градуировочные модели), возможность их обновления;
- возможность переноса градуировочных моделей с одного прибора на другой;
- русскоязычная программа;
- аттестованные методики анализа.

Особенности программного обеспечения:

Программа «СпектралЮМ/Про®» позволяет пользователю изменять градуировки и разрабатывать собственные градуировочные модели.

При разработке градуировок используются самые современные математические модели - метод частных наименьших квадратов (PLS), метод регрессии по главным компонентам (PCR).

Процедура работы

Процесс анализа выглядит так: оператор устанавливает кювету с пробой в автосамплер прибора, с помощью компьютера выбирает из меню программу анализа и запускает процесс измерения. Дальнейшие действия происходят автоматически. Результаты анализа выводятся на монитор компьютера. Оператор может распечатать протокол или сохранить результаты в базе данных. Продолжительность анализа - 1,5 минуты.

Области применения

- хлебозаготовка: экспресс-определение сорта и качества зерна и муки;
- птицеводство и животноводство: контроль состава и качества кормового сырья и кормов;
- пищевая промышленность: контроль сырья, продукции и отходов, контроль технологических процессов;
- ветеринарный контроль: контроль состава и качества кормов;
- санитарный контроль: контроль состава, идентификация и определение подлинности продукции;
- химия и нефтехимия: определение подлинности и идентификация сырья и продукции;
- фармацевтика: экспресс-идентификация фармпрепаратов;
- научные исследования.

Области наибольшей эффективности работы прибора:

- анализ в условиях ограниченного времени;
- анализ большого количества компонент или проб при ограниченных ресурсах.

Рекомендуемый комплект поставки

- БИК-анализатор «ИнфраЛЮМ ФТ-10»;
- программный комплекс «СпектраЛЮМ/Про»;
- набор кювет и градуировочных баз данных (в соответствии с перечнем анализируемых объектов);
- персональный компьютер (с установленной ОС Windows®-2000/XP).

Условия установки

- обязательная пусконаладка;
- наличие персонального компьютера (минимальные требования: процессор не хуже Pentium-III, ОС Windows®-2000/XP, 128 Мб оперативной памяти или более, более 100 Мб свободного места на жестком диске, CD-ROM).

Технические характеристики:

Время измерения 1,5 мин

Объем пробы в кювете	50 мл
Рабочий спектральный диапазон	13200-8700 см ⁻¹ (760-1150 нм)
Разрешение	8, 16, 32, 64 см ⁻¹
Габариты	580x540x310 мм
Масса	37 кг
Потребляемая мощность	110 Вт
Питание	220 В, 50 Гц
Периодичность проверки	1 раз в год
Анализатор инфракрасный «ИнфраЛЮМ® ФТ-40»	



Прибор предназначен для проведения количественного экспресс-анализа цельного зерна различных культур без предварительной пробоподготовки, а также идентификации зерна на принадлежность (не принадлежность) его к характерной группе продукции. За одно измерение, в течение полутора минут, можно определить комплекс таких показателей, как содержание белка, жира, крахмала, клетчатки, клейковины, влажность, стекловидность и др. Благодаря скорости и точности анализа достигается значимый экономический эффект на всех стадиях производства, транспортировки и хранения зерна, при составлении мукомольных партий и кормовых смесей. Прибор окупает себя в кратчайшие сроки.

Анализ зерна производится путем измерения спектров пропускания в ближней инфракрасной (БИК) области и их обработки с использованием методов множественного регрессионного анализа.

Анализатор «ИнфраЛЮМ ФТ-40» может работать в лабораторных и производственных условиях.

Отличительные особенности прибора:

- одновременное определение нормируемых показателей за 1,5 минуты;
- высокая точность и простота анализа;
- анализ проводится без реактивов, без пробоподготовки;
- надежные градуировки (градуировочные модели), возможность их обновления.

Особенности программного обеспечения:

- Программа «СпектрАЛЮМ/Про®» позволяет пользователю изменять калибровки и разрабатывать собственные калибровки. При разработке калибровок используются самые современные математические модели - метод частных наименьших квадратов (PLS), метод регрессии по главным компонентам (PCR).

Прибор реализует метод Фурье-спектроскопии. Принцип работы прибора основан на регистрации спектров пропускания зерна в ближней инфракрасной области. Эти спектры представляют собой отношение двух энергетических спектров: спектра образца к фоновому спектру. Под фоновым спектром в анализаторе «ИнфраАЛЮМ ФТ- 40» понимается энергетический спектр встроенного в прибор стандарта. В анализаторе «ИнфраАЛЮМ ФТ- 40» реализована однолучевая схема измерения, в которой сначала регистрируется фоновый спектр, затем спектр образца, потом автоматически рассчитывается спектр пропускания образца.

Для нахождения связи между полученным спектром и концентрациями компонентов исследуемого образца анализатор «ИнфраАЛЮМ ФТ- 40», как и любой аналитический прибор, предварительно градуируется. Для проведения градуировки используется набор образцов, представительный к тем образцам, которые будут в дальнейшем анализироваться, то есть включает образцы, свойства которых охватывают весь диапазон возможных значений определяемых показателей и свойств анализируемых образцов.

Градуировочные образцы анализируются стандартными химическими (референтными) методами для определения в них значений показателей, затем производится регистрация их спектров и рассчитывается градуировочная модель, связывающая спектральные данные со свойствами образца. Для расчета модели используются методы мультивариантной математики - метод регрессии по основным компонентам или метод дробных наименьших квадратов.

Процедура работы

Процесс анализа выглядит так: образец засыпают в загрузочную воронку прибора, используя ковш для засыпки зерна, входящий в комплект поставки; затем с помощью компьютера выбирают в меню программу анализа и запускают процесс измерения. Дальнейшие действия происходят автоматически. Результаты анализа выводятся на монитор компьютера. Результаты анализа сохраняются в журнале измерений. Информация в журнал добавляется автоматически при вычислении результата анализа неизвестного образца, есть возможность просмотра и печати протокола одного или нескольких измерений.

Области применения

- хлебозаготовка: экспресс-определение сорта и качества зерна;
- пищевая промышленность, птицеводство и животноводство: контроль состава и качества зернового кормового сырья.

Области наибольшей эффективности работы прибора:

- анализ в условиях ограниченного времени;
- анализ большого количества компонент или проб при ограниченных ресурсах.

Рекомендуемый комплект поставки

- БИК-анализатор «ИнфраЛЮМ ФТ-40»;
- программный комплекс «СпектраЛЮМ/Про»;
- компьютер с сенсорным монитором, комплект (CD с руководством по эксплуатации и ПО для компьютера, сетевой кабель, блок питания, предустановленная ОС Windows XP).

Технические характеристики:

Время измерения	1,5 мин
Объем пробы в кювете	500 мл
Длина измерительной кюветы	6-35 мм
Рабочий спектральный диапазон	13200-8700 ⁻¹ (760-1150 нм)
Разрешение	8, 16, 32, 64 см ⁻¹
Габаритные размеры	640x310x490 мм
Масса	31 кг
Потребляемая мощность	110 Вт
Питание	220 В, 50 Гц
Периодичность проверки	1 раз в год

Задание 3. Провести определение качественных характеристик зерна на БИК-анализаторе.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2 ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКА В СЫРЬЕ И ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ

Цель работы: изучить теоретически и практически методы определения белка.

Одним из важнейших показателей качества продукции, определяющим ее пищевую ценность, является содержания белка. Классическим способом определения белка является метод, разработанный в 1883 году датским химиком Иоганном Кьельдалем. Метод Кьельдаля, несмотря на его сложность, до сих пор остается единственным общепризнанным арбитражным методом определения белка. По этой причине аппараты для определения белка по методу Кьельдаля есть практически в каждой лаборатории по анализу

пищевой продукции, а альтернативные методики применяются только как вспомогательные при очень большом количестве ежедневных анализов.

Метод включает в себя несколько основных этапов: отбор и подготовку проб, мокрое озоление, отгонку с паром и определение концентрации аммония

Задание 1. Ознакомиться с конструкцией прибора BÜCHI Kjeldahl Line и провести определение содержания белка на данном приборе

По методу Кьельдаля необходимо провести "сжигание" пробы с серной кислотой. Для ускорения процедуры обычно используют катализаторы (соли меди и селена).

Стандартная процедура для пробоподготовки

- Берется точная навеска в диапазоне 0.5 - 2 г сухого органического вещества (на аналитических весах)
- готовится 3 холостых опыта - дозируются только реагенты в пустую колбу для дистилляции
- добавляется 10 г (две таблетки) смеси катализатора (без Se и Hg)
- добавляется 15 - 25 мл конц. серной кислоты $w = 0.98$ (98 %)
- смесь в колбе аккуратно перемешивается
- производится предварительный прогрев Диджестера в течение 15 мин на мощности 10
- "сжигание" начинается при мощности нагрева 10
- время "сжигания" 60 - 90 мин
- образцы дают остыть до комнатной температуры

Дистилляция по Кьельдалю проводится при помощи системы Kjeldahl-System K-370. Для получения точных результатов для поглощения аммиака используется раствор борной кислоты $w = 0.02$ (2 %), который впоследствии титруется серной ($c = 0.25$ М) или соляной кислотой ($c = 0.5$ М). Сначала определяется содержание в 3-х холостых опытах. Затем производится определение в неизвестной пробе и вычитается среднее значение холостой пробы для получения конечного результата содержания общего азота.

Титрование

- по индикатору Шера. Несколько капель индикатора добавляют в приемную колбу. Титрование осуществляют дозированием титранта до изменения окраски индикатора до синего (предварительная точка). Затем титрование продолжают до серо-коричневого цвета (конечная точка).

- потенциометрическое титрование: без добавления индикатора. Однако, добавление индикатора позволяет визуально проверять наступление фазы окончания титрования.

Расчеты

Результат рассчитывается как общее содержание азота. Для получения содержания белка содержание общего азота умножается на коэффициент, зависящий от природы анализируемого образца. Для расчета результатов используется нижеследующие уравнения (1), (2) и (3):

$$w(N) = \frac{[V(1) - V(BI)] \cdot F \cdot c \cdot f \cdot M(N)}{m \cdot 1000} \quad (1)$$

$$\% N = w(N) \cdot 100 \% \quad (2)$$

$$\% P = w(N) \cdot PF \cdot 100 \% \quad (3)$$

$w(N)$: содержание азота (вес)
 $V(1)$: объем титранта, [мл]
 $V(BI)$: тоже для холостого опыта, [мл]
 F : коэфф. (для $H_2SO_4=2$)
 c : концентрация титранта, [моль/л]
 f : титр титранта
 $M(N)$: азота [г/моль]
 m : навеска пробы [г]
 1000 : коэфф.преобразования
 PF : коэфф. пересчета в белок
 $\%N$: содержание азота (%вес.)
 $\%P$: содержание белка (%вес.)

Коэффициенты пересчета содержания азота в белок для различных веществ даны в таблице.

Образец	коэфф.
Миндаль	5.18
Ячмень, овес, рожь	5.83
Отруби	6.31
Шоколад	6.25
Зерно	6.25
Яйца и полуфабрикаты из них	6.25
Рыба	6.25
Рыбные полуфабрикаты и морепродукты	6.25
Фрукты и продукты из них	6.25
Желатин	5.55
Глутамат	13.40
Детское питание (на основе молока)	6.38
Мясо	6.25
Молочные продукты	6.38
Орехи (кроме миндаля и арахиса)	5.30
Масло семян (кроме арахиса)	5.30
Паста	5.70
Кондитерские Изделия	6.25
Арахис	5.46
Рис	5.95
Соя и продукты из нее	5.71
Овощи и продукты из них (кроме сои)	6.25
Пшеница	5.70
Продукты из цельного зерна	5.83
Общий фактор для других образцов	6.25

Задание 2. Ознакомиться с конструкцией инфракрасного анализатора ИК-4250 и провести определение содержания белка на данном приборе

ИК-спектроскопия относится к так называемым вторичным аналитическим методам. Это означает, что прежде чем проводить анализ по этому методу необходимо рассчитать коэффициенты, связывающие состав и свойства образца с его спектром. Процедуру определения таких коэффициентов и набор полученных значений называют калибровкой ИК-анализатора. Для калибровки необходимо иметь спектры и данные о составе представительного количества образцов (калибровочных образцов). Поскольку независимые данные о составе можно получить только путем химического анализа, калибровка ИК-анализатора представляет собой

сложную и трудоемкую процедуру. Следовательно, точность анализа напрямую связана с характеристиками самого прибора и проведенной калибровкой.

ИК-анализаторы позволяют на основе точного измерения спектра образца рассчитывать содержание протеина, влаги, жира, клетчатки, золы и других химических веществ одновременно.

Инфракрасные анализаторы включают следующие основные блоки:

- * источник излучения
- * спектральный селектор (набор светофильтров, монохроматор или интерферометр)
- * кювету для образца
- * приемник излучения (фотоприемник)
- * усилитель первичного сигнала
- * аналого-цифровой преобразователь
- * встроенный микропроцессор
- * дисплей, печатающее устройство для выдачи результатов анализа.

Проведение измерения. Пробу исследуемого материала измельчить, заполнить кюветы, установить ее в измерительную камеру прибора и получить результаты в окончательном цифровом виде в требуемых единицах измерения. При этом одновременно может быть установлено содержание целого ряда компонентов или свойств исследуемого объекта, на определение которых предварительно отградуирован прибор.

Контрольные вопросы:

1. Назовите основные этапы метода определения белка по Кьельдалю.
2. Назовите принцип работы ИК-сканера.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4

ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ПРОБОПОДГОТОВКИ

Цель работы: изучить теоретически и практически правила отбора проб и основные методы пробоподготовки пищевых продуктов, ознакомиться с принципами работы приборов и оборудования для их проведения.

Аппаратура и реактивы:

- муфельная печь ШОЛ 6/11;
- тигли фарфоровые ;
- тигельные щипцы.
- микроволновая система MARS 5
- весы лабораторные;
- шкаф сушильный лабораторный

Отбор пробы к анализу. Под пробой понимают определенное количество нештучной продукции, отобранное для анализа. Приемы и порядок отбора пробы и ее подготовка предписываются государственным стандартом (ГОСТ) на каждый пищевой продукт. Для анализа отбирают среднюю пробу. *Средняя (представительная) проба* – это небольшая часть анализируемого объекта, средний состав и свойства которой идентичны во всех отношениях среднему составу и свойствам исследуемого образца.

При подготовке образца необходимо сохранить нативные свойства продукта, не допустить потерь (например, влаги), разрушения или изменения соединений, входящих в состав продукта, а также попадания посторонних компонентов. Материал проб должен быть однородным. Для этого тщательно перемешивают среднюю пробу жидких и пастообразных продуктов или измельчают и перемешивают твердые и сухие продукты. Чем тоньше измельчение, тем выше однородность и точнее результаты анализа.

Среднюю пробу образца готовят непосредственно перед исследованием. Все операции проводят быстро во избежание потерь влаги за счет испарения. Если продукт не относится к скоропортящимся, измельченный материал можно сохранить в течение некоторого времени в стеклянной или другой посуде, предохраняющей его от потерь влаги. Стандартом предусмотрено взятие точечной и объединенной пробы.

Точечная проба – проба, взятая одновременно из определенной части нештучной продукции, например, при анализе молочных продуктов – из цистерны, фляги, от монолита масла и т.п. Точечные пробы творога, творожных изделий, домашнего сыра и сыров для плавления в транспортной таре отбирают щупом, опуская его до дна тары; в потребительской таре – освобождают продукцию от тары и тщательно перемешивают. Точечные пробы полутвердых, твердых и сыпучих продуктов отбирают шпателями, ножами или специальными щупами. Точечные пробы жидких, вязких и сгущенных продуктов отбирают кружкой или черпаком, вместимостью 0,1; 0,25; 0,5 дм³ с жесткой ручкой длиной от 50 до 100 см, металлической или пластмассовой трубкой с внутренним диаметром $9 \pm 1,0$ мм по всей длине и с отверстиями по концам. Точечные пробы сливочного и топленого масла в транспортной таре отбирают щупом (если температура масла ниже 10⁰С щуп нагревают в воде с температурой 38 ± 2^0 С), а в потребительской таре – ножом от каждого брикета.

Объединенная проба – проба, составленная из серии точечных проб, помещенных в одну емкость. При составлении объединенной пробы число точечных проб от каждой единицы тары с продукцией, включенной в выборку, должно быть одинаковым. Объединенную пробу масла помещают в водяную баню температурой 32 ± 2 ⁰С. При постоянном перемешивании пробу нагревают до размягчения массы и выделяют пробу, предназначенную для анализа.

Подготовка пробы к анализу. При подготовке пробы к анализу можно выделить три основные стадии: высушивание, разложение, устранение

мешающих примесей. Длительность и температура высушивания образца зависят от его природы. Чаще всего анализируемый образец высушивают в сушильных шкафах при температуре (105 – 120) °С. Иногда при сушке сложных продуктов (пищевые продукты, растения и т.п.) используют вакуумную сушку или микроволновое излучение, что значительно сокращает время сушки.

Выбор операций пробоподготовки зависит от метода определения, природы и концентрации определяемого элемента, природы матрицы. Перед исследованием большинство продуктов (кроме некоторых напитков) минерализуют – освобождают от органических соединений сухим или мокрым озолением. *Сухое озоление*, в отличие от мокрого, не требует реактивов, позволяет использовать относительно большое количество образца (5 – 10 г), что важно при низком содержании определяемого элемента или низкой чувствительности метода, не требует постоянного наблюдения сотрудника. Однако, возможны потери летучих элементов. *Мокрое озоление*, как правило, дает меньше потерь элементов, но требует чистых реактивов, большего внимания оператора и ограничено массой образца от 2 до 5 г.

Выбор метода озоления зависит также от вида продукта, например, продукты с высоким содержанием жира или сахара рекомендуется сжигать сухим методом, а продукты, содержащие хлориды, – мокрым методом.

Задание 1. Изучить метод сухой минерализации пробы. Провести озоление образцов в лабораторной муфельной печи СНОЛ 6/11.

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. Единственным реагентом при сухом озолении является кислород воздуха, при помощи которого происходит окисление органической матрицы.

Техника определения. Влажный материал перед озолением высушивают в сушильном шкафу, летучие растворители удаляют выпариванием на водяной бане. Чашку с пробой помещают в муфельную печь и постепенно нагревают до нужной температуры. Сухое озоление пищевых продуктов проводят при температуре 450-550°С в течение 4-16 часов. При более низких температурах озоление затягивается, а в условиях повышенных температур возможно улетучивание некоторых элементов, например, железа. После сухого озоления золу переводят в раствор, обрабатывая ее небольшим количеством соляной кислоты.

Задание 2. Изучить метод мокрой минерализации пробы. Провести озоление образцов по данному методу.

Мокрая минерализация – это окислительное разложение проб сильными неорганическими кислотами-окислителями в разных соотношениях и комбинациях с последующей термообработкой. Используется в тех случаях, когда основой является биоматрица. «Мокрые» способы не требуют высоких

температур, поэтому не сопряжены с большими потерями летучих веществ; это их преимущество. Недостатки связаны с большими временными затратами и необходимостью введения большого количества реагента-окислителя, что может быть источником загрязнений пробы.

Используют различные **способы мокрого озоления**:

- ☐ ☐ обработка азотной кислотой (способ Кариуса),
- ☐ ☐ обработка серной кислотой (способ Кьельдаля),
- ☐ ☐ обработка смесью серной и азотной кислот (способ Дениже);
- ☐ ☐ окисление пероксидом водорода или перманганатом калия,
- ☐ ☐ обработка другими окислителями.

Техника определения. Минерализация осуществляется в две стадии. Сначала образец минерализуют разбавленной кислотой при $t = 90^\circ\text{C}$, затем испаряют воду до тех пор, пока концентрация окислителя не станет достаточной для его действия, при необходимости добавляют органический окислитель. В зависимости от природы матрицы и определяемых компонентов мокрую минерализацию выполняют в открытых системах, открытых системах с дефлегматором, закрытых системах.

Для интенсификации процесса мокрой минерализации помимо автоклавов используют воздействие ультразвука и микроволновое облучение.

Задание 3. Изучить способ микроволнового разложения пробы. Провести подготовку пробы по данному методу с использованием микроволновой системы MARS-5.

При микроволновом способе разложения пробы минерализуются под давлением 10-100 атм в течение 10-20 мин минимальным количеством азотной кислоты (иногда в смеси с водой, плавиковой кислотой и пероксидом водорода). Прямое поглощение энергии микроволнового излучения жидкостями, содержащими молекулы с отличным от нуля дипольным моментом, приводит к ускорению проходящих в растворах процессов массопереноса, диффузии, а также химических взаимодействий с участием растворителя: гидролиза, комплексообразования в растворе и на твердой поверхности, окислительно-восстановительных реакций.

В случае МВ - пробоподготовки образец растворяется за счет трех факторов: температуры, давления, МВ-облучения. Разработана методика МВ-разложения пищевых продуктов (пшеница, капуста, картофель, молочные смеси, сухое молоко) с последующим определением 24 элементов в макро - и микроконцентрациях методами атомно-абсорбционного и атомно-эмиссионного спектрального анализа. МВ-разложение применяли для определения в растительных объектах Cd, Ni, Co, Cr и Pb атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией.

Процесс минерализации проходит следующим образом: разлагаемая проба и окислительные реагенты помещаются в специальный сосуд из радиопрозрачного химически инертного материала (стекло, кварц, фторопласт), сосуд при необходимости герметично закрывается, переносится в микроволновую систему и реакционная смесь нагревается в СВЧ поле. При

этом суммарное время пробоподготовки сокращается в десятки и сотни раз.

Достоинства метода СВЧ-минерализации:

- повышение экспрессности пробоподготовки;
- улучшение воспроизводимости;
- отсутствие потерь пробы;
- сокращение расхода реагентов (и дополнительного загрязнения пробы);
- легкость в управлении и автоматизации;
- отсутствие непосредственного контакта оператора при пробоподготовке с горячими сильными кислотами и, как следствие, безопасность в работе

Техника проведения мокрой минерализации (ГОСТ 26929-94)

Отбирают две навески продукта по 1,00 г с точностью до 0,01г. Навески помещают в лайнер, приливают 5 см³ концентрированной азотной кислоты, помещают лайнер в микроволновую печь и разлагают по соответствующей программе. Программа зависит от вида исследуемого продукта и приведена в инструкции к прибору. Пример программы для микроволновой печи MARS 5 приведен в таблице .

Таблица Пример программы нагрева для микроволновой печи MARS

Тип образца:	Органический
Температура	210° С
Время набора температуры	15 мин
Время выдержки	15 мин
Мощность	800 Вт

Полученный минерализат количественно переносят в колбу и доводят до метки водой для лабораторного анализа.

Задание 4. Изучить методы подготовки пробы для хроматографического анализа.

Пробоподготовка биоматериала для высокоэффективной жидкостной хроматографии проводится методом прямого кислотного гидролиза.

Техника проведения. В коническую колбу вместимостью 250 см³, снабжённую обратным холодильником, помещают точную навеску анализируемого образца. Добавляют антиоксидант (~ 100 мг гидрохинона) и 40 см³ 10%-ного водно-спиртового раствора гидроксида калия. Полученную смесь подвергают омылению (гидролизу) в течение 30 мин на водяной бане при температуре 70 – 75° С.

По окончании гидролиза содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры под струёй холодной воды, добавляют 20 см³ дистиллированной воды и 50 см³ гексана. Содержимое колбы тщательно встряхивают и дают отстояться. Полученную взвесь переносят в делительную воронку вместимостью 500 см³, следя за тем, чтобы как можно меньше осадка анализируемого объекта попадало в делительную воронку. Содержимое воронки ещё раз тщательно встряхивают. После расслаивания нижний водно-спиртовой слой сливают в ту же коническую колбу, а гексановый оставляют в воронке.

Экстракцию гексаном повторяют ещё два раза порциями по 50 см³, каждый раз оставляя гексановый слой в делительной воронке.

Объединённые гексановые вытяжки промывают в делительной воронке дистиллированной водой порциями по 25 – 30 см³ до нейтральной реакции промывных вод (проверка по индикаторной бумаге). Промытый экстракт сливают в чистую коническую колбу на 250 см³ и сушат над небольшим количеством (~ 5-7 г) безводного сульфата натрия. Далее высушенный экстракт переносят в колбу ротационного испарителя.

Делительную воронку и коническую колбу с сульфатом натрия промывают свежими порциями гексана (~ 10 см³). Все гексановые растворы объединяют и помещают в колбу ротационного испарителя.

Гексан упаривают до минимального объёма (примерно до 1 см³) на ротационном испарителе при температуре водяной бани 70⁰С. Для удаления остатков гексана содержимое колбы обдувают струёй азота. Сухой остаток растворяют в 5 см³ изопропилового спирта, тщательно оmyвая стенки колбы.

Полученный раствор фильтруют через мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм и переносят в вials из тёмного стекла. Растворы, приготовленные из навесок анализируемого объекта, готовы к вводу в хроматограф.

Контрольные вопросы:

1. Назовите основные методы пробоподготовки пищевых продуктов.
2. Назовите преимущества и недостатки метода сухого озоления пробы.
3. Назовите преимущества и недостатки метода мокрого озоления пробы.
4. Какие приемы используют для интенсификации процесса разложения?