



*Филиал федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Астраханский государственный технический университет» в
Ташкентской области Республики Узбекистан*

Факультет высшего образования

Кафедра ВБиТ

**ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ
ПРИКЛАДНЫХ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Методические указания по лабораторным работам
для студентов очной формы обучения
по направлению 19.04.03 Продукты питания животного
происхождения**

Ташкентская область, Кибрайский район – 2025

Составитель: Бредихина О.В., д.т.н., проф. кафедры ВБиТ.

Рецензент: Цибизова М.Е., д.т.н., проф. кафедры ВБиТ

Методические указания «Приоритетные направления прикладных научных исследований» по лабораторным работам для студентов очной формы обучения по направлению 19.04.03 Продукты питания животного происхождения.

В методических указаниях по лабораторным работам приводятся приоритетные направления научных исследований сырья животного происхождения и гидробионтов, рекомендации по выбору объектов исследований и методам их выполнения.

Методические указания рассмотрены и одобрены кафедрой ВБиТ от «21» февраля 2025 г., протокол № 7..

Содержание	Стр.
Введение	4
Порядок допуска к лабораторным занятиям	5
Порядок проведения эксперимента	6
Требования к оформлению лабораторных работ	6
Лабораторная работа № 1. Исследование аминокислотного состава белков животного происхождения	9
Лабораторная работа № 2. Извлечение липидов из сырья животного происхождения. Установление качественных показателей образца жира	14
Лабораторная работа № 3. Определение цвета жира, извлеченного из сырья животного и водного происхождения фотоэлектроколориметрическим методом	21
Лабораторная работа № 4. Исследование жирнокислотного состава липидов, извлеченных из мышечной ткани сырья животного происхождения (продуктов из него)	24
Лабораторная работа № 5. Определение содержания кальция и фосфора объемными методами в продуктах пищевого и кормового назначений	26
Список рекомендуемой литературы	32

Введение

Одной из важнейших проблем пищевых перерабатывающих производств является разработка и развитие комплексных инновационных научно-обоснованных технологий переработки сырья животного происхождения и водных биоресурсов, позволяющих рационально использовать имеющиеся природные ресурсы и получать широкий ассортимент пищевой продукции.

Цель преподавания дисциплины состоит в подготовке специалистов по приоритетным направлениям прикладных научных исследований, методам их совершенствования и направлениям разработки новых научно-обоснованных ресурсосберегающих технологий.

Дисциплина ориентирует студентов выявлять закономерности протекания физических, химических, гистологических явлений в процессе движения сырья по технологическим операциям к конечному готовому продукту и на основании этого управлять производством.

Задачей курса является привитие будущим специалистам-технологам творческого подхода при разработке и постановке в производства продуктов из традиционных и новых видов сырья.

Представленный сборник описаний лабораторных занятий является методическим пособием для студентов направления 19.04.03 Продукты питания животного происхождения, используемым при выполнении заданий, выданных преподавателем во время учебного процесса в сетке часов. Учебный процесс проводится в форме учебно-исследовательской работы студентов (УИРС), что способствует повышению усвояемости теоретических знаний, получению опыта по использованию их при решении практических задач для ориентации будущих специалистов к приобретению познавательного-профессионального опыта, необходимого в их практической деятельности.

В процессе подготовки к лабораторным занятиям предусматривается самостоятельная работа студентов над литературными источниками (учебные пособия, научные статьи) с привлечением материала соответствующих источников при анализе и обобщении полученных результатов проведённых исследований.

В результате выполнения лабораторных занятий в форме исследования студенты должны знать:

- методологию научных исследований в технологии продуктов питания, инновационные технологии продукции из рыбы и морепродуктов, методы экспериментальной работы;
 - современные методы представления результатов исследования;
 - современную методологию проведения научных исследований;
- современные технологии поиска, обработки и хранения информации; требования, предъявляемых к качеству, полноте и достоверности источников

информации, используемой в научных исследованиях; ключевые нормативно-правовые требования к оформлению результатов научных исследований; правила разработки и утверждения технической документации

Иметь навыки по:

- применению и использованию ранее накопленный теоретический и практический опыт в научных исследованиях; выбору рациональных параметров технологической обработки в зависимости от требований к качеству продукции и издержек производства; составлению программно-целевые модели исследования для модификации или разработки новой продукции;
- сбору, обработке и представления информации для анализа и улучшения качества, формирования документации по системам качества в соответствии с требованиями национальных стандартов; проведения исследовательских и экспериментальных работ с целью модификации или разработки новой продукции, внесения предложений о патентовании разработанных продуктов;
- представлению результатов исследования в формах отчетов, рефератов, публикаций и публичных обсуждений;
- представлению результатов исследования в формах отчетов, рефератов, публикаций и публичных обсуждений;
- выявлению и формулированию актуальных проблем в исследуемой области, ставить цели, определять предмет и задачи научного исследования; проводить анализ эволюции взглядов, подходов, концепций в исследуемой области; формировать программу научных исследований; проводить поиск, сбор и обработку информации для осуществления научных исследований; использовать современные методы проведения научных исследований; проводить эмпирические исследования, в том числе в формах анкетирования интервью и опросов; проводить анализ официальных документов по теме научного исследования; проводить анализ конкретных прикладных задач в рамках темы своего научного исследования на различных уровнях теоретического осмысления; формулировать авторский подход к решению поставленных в исследовании задач; аргументировать результаты самостоятельных научных исследований и делать обоснованные выводы;
- разработке программ научного эксперимента или иного эмпирического исследования; применения техники критического мышления; подбора, анализа, обработки и систематизации данных, профессиональной работы с электронными документами

Порядок допуска к лабораторным занятиям

К лабораторным занятиям допускаются студенты, подготовленные по

соответствующим теоретическим материалам в соответствии с методическими указаниями настоящего сборника.

При подготовке к занятиям необходимо:

- – изучить теоретические вопросы по теме предстоящих занятий по литературным источникам, приведённым в сборнике и по лекциям;
- изучить методику выполнения лабораторных занятий, сущность основных методов определения химических показателей;
- ознакомиться с основными методами и способами переработки сырья в продукты;
- – освоить методы выполнения необходимых расчетов, относящихся к обработке полученных результатов;
- - составить план выполнения работы, с выделением основных этапов постановки эксперимента.

Степень подготовки студентов к выполнению очередных лабораторных занятий контролируется преподавателем в форме краткого собеседования. В случае недостаточной подготовленности студент не может быть допущен к занятиям. При этом студент не уходит из лаборатории, а использует время занятий, предназначенное для выполнения очередной темы, на теоретическую подготовку к не допущенной работе.

Порядок постановки эксперимента

Лабораторные занятия студенты выполняют в виде учебно–исследовательской работы (УИРС) группой по 2 человека.

Перед началом постановки эксперимента студент подготавливает рабочее место, отведённое в лаборатории, проверяет наличие необходимого оборудования, аппаратуры и химической посуды с реактивами, а также знакомится с устройством приборов и порядком измерений.

После каждого этапа лабораторной работы, предусмотренного в методических указаниях, полученные данные студент фиксирует в журнале исследований по рекомендованной форме. Результаты анализирует и обсуждает с преподавателем.

Лабораторное занятие считается выполненным при предъявлении студентом преподавателю полученных результатов и приведении рабочего места в надлежащий порядок.

Требования к оформлению лабораторных занятий

Лабораторная работа оформляется в форме отчёта, состоящего из:

- номера и наименования темы лабораторной работы;
- цели и задач проведения работы;
- объекта исследований;
- методов исследования;

- методики постановки эксперимента;
- результатов исследований
- выводов.

Перед началом лабораторного занятия преподавателем излагаются общие понятия, цель и задачи и краткие теоретические сведения по изучаемой теме, распределяются объекты исследования по группам студентов. В ходе проведения лабораторных занятий преподаватель проверяет правильность постановки эксперимента, отвечает на возникшие вопросы и оказывает помощь в обсуждении полученных результатов.

В пункте «объект исследования» приводится наименование образца, взятого для исследования.

В пункте «методика постановки эксперимента» последовательно описывается порядок проведения всех научных исследований по разработке технологии изготовления белковой продукции из гидробионта с указанием основных этапов, выбранного способа обработки сырья, параметров проведения экспериментов.

В пункте «методы исследования» приводится описание основных методов исследования, которые были использованы в работе. Описание методов исследований, которые осуществляются в соответствии с требованиями стандартов (ГОСТ), приводится в краткой форме.

В пункте «результаты исследований» приводятся полученные результаты, которые оформляются в табличной и графической форме, сопровождаемые выводами. Выводы должны содержать критический анализ качества сырья, влияния выбранных технологических параметров основных процессов на изменения его свойств, которые протекают при переработке, а также качества готовой продукции и её энергетической ценности. При этом следует полученные результаты сравнивать с действующими нормами отходов и потерь при переработке сырья водного происхождения, требованиями соответствующей технической документации на сырьё и готовую пищевую продукцию, проводить анализ возможных расхождений между стандартными данными и полученными опытным путём.

На основании полученных результатов выполняются необходимые расчеты. Применяемые формулы расшифровываются с указанием характеристик используемых коэффициентов и показателей. Приводится разработанная модель технологической схемы изготовления опытного образца пищевой продукции.

В пункте «выводы» приводятся выводы по всей работе. Выводы должны содержать конкретно сформулированные основные результаты, полученные в ходе проведения работы. При написании выводов используют следующие формулировки: установлено, определено, выявлено, исследовано, изучено и т.д.

Определение органолептических и физико-химических показателей проводят с использованием стандартных методов исследований,

приведенных в соответствующей технической документации или по методикам, разработанным и применяемым в исследованиях. Перед определением качества студенту необходимо ознакомиться с соответствующей ТД для выяснения перечня показателей, включенных в данный стандарт. Определяемые показатели качества вносят в таблицу, установленные значения которых сравнивают с требованиями соответствующего стандарта и на основании сравнения делают заключение о качестве исследуемого образца.

При проведении анализов образца с применением химических соединений студенту необходимо использовать реактивы со степенью чистоты и отвечающие требованиям соответствующих стандартов, указанных в каждой лабораторной работы. В зависимости от степени чистоты и области применения химические вещества маркируют согласно требованиям стандартов и технических условий в следующем порядке (по повышению чистоты реактива):

- чистый (ч.);
- чистый для анализа (ч.д.а.);
- химически чистый (х.ч.);
- особой чистоты (ос.ч.).

Отчет по лабораторной работе оформляется на листах формата А4 в печатном варианте. При этом необходимо применять шрифт Times New Roman 14 пт, в таблицах — шрифт 12 пт, интервал одинарный, абзацный отступ 1 см.

Лабораторная работа №1 «Исследование аминокислотного состава белков животного происхождения»

Цель работы: исследовать аминокислотного состава белков животного происхождения.

Задачи:

1. Ознакомиться с методами исследования аминокислотного состава белков животного происхождения;
2. Изучить существующие методики проведения анализа аминокислотного состава белков;
3. Подобрать и приготовить необходимые реактивы для проведения гидролиза белков животного сырья (мясного и рыбного);
4. Осуществить кислотный гидролиз опытного образца белка

Объекты исследования: мышечная ткань животного происхождения и гидробионтов

Методы исследования:

Определение аминокислотного состава белков может быть осуществлено различными методами: химическим, хроматографическим, микробиологическим и изотопным. Чаще используются хроматографические методы.

Бумажная хроматография. Бумажная хроматография используется для идентификации компонентов смеси аминокислот с ди- и три-пептидами, получаемой при частичном гидролизе белков и полипептидов.

Гидролиз может быть осуществлен кислотным, щелочным или ферментативным методом. Кислотный метод используется чаще (6 н. HCl, 8 н. H₂SO₄). Гидролиз проводят при нагревании, иногда при повышенном давлении. Показателями окончания гидролиза могут служить: прекращение нарастания карбоксильных или аминных групп в гидролизате, либо отрицательная биуретовая реакция. Избыток гидролизующего реагента удаляют: серную кислоту осаждают Ca(OH)₂, соляную кислоту отгоняют в вакууме, а остаток кислоты осаждают нитратом серебра.

Компоненты гидролизата распределяются между водой, адсорбированной на целлюлозе и являющейся неподвижной фазой, и органическим растворителем, подвижной фазой, которая движется вдоль листа вверх или вниз. В качестве подвижной фазы используется смесь бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5). Более липофильные аминокислоты сильнее увлекаются органическим растворителем, более гидрофильные — проявляют большую тенденцию связываться с неподвижной фазой. Гомологические соединения, отличающиеся даже на одно метиленовое

звено, движутся с различной скоростью и легко могут быть разделены. По окончании хроматографии бумагу высушивают и обрабатывают проявителем (0,5% раствор нингидрина в смеси ацетон-ледяная уксусная кислота-вода) и нагревают в течение нескольких минут. Аминокислоты проявляются в виде окрашенных пятен. Подвижность – постоянная величина, характерная для каждого соединения возрастает с увеличением молекулярной массы. Для аминокислот с неразветвленной цепью величина подвижности несколько больше, чем для соответствующих изомеров. Введение в молекулу полярных групп снижает подвижность соединения. Аминокислоты с объемными неполярными боковыми цепями (лейцин, изолейцин, фенилаланин, триптофан и др.) перемещаются быстрее, чем аминокислоты с более короткими неполярными боковыми цепями (пролин, аланин, глицин) или с полярными боковыми цепями (треонин, аргинин, цистеин, гистидин, лизин). Это обусловлено большей растворимостью полярных молекул в гидрофильной стационарной фазе и неполярных – в органических растворителях.

Бумажная хроматография может быть использована для количественной оценки содержания аминокислот. Каждое пятно вырезают и элюируют подходящим растворителем; затем проводят количественный колориметрический (нингидриновый) анализ. В другом варианте бумагу опрыскивают нингидрином и измеряют с помощью фотометра интенсивность окрашивания пятна в отраженном или проходящем свете. При полуколичественной оценке содержание аминокислот оценивают по площади пятен на хроматограмме, которые пропорциональны концентрациям аминокислот в разделяемой смеси. В современных условиях указанный метод не используется из-за продолжительности.

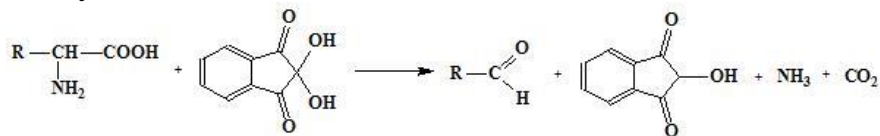
Тонкослойная хроматография. Для разделения и определения аминокислот может быть также использована тонкослойная хроматография (ТСХ), которая, как известно, существует в двух вариантах. Распределительная ТСХ (РТХС) сходна с распределительной на бумаге и адсорбционная ТСХ (АТХС), основана совершенно на других принципах.

При проведении РТСХ на порошке целлюлозы или других относительно инертных носителях можно использовать такие же системы растворителей и такие же проявляющие реагенты, как и при хроматографии на бумаге.

Разделение с помощью АТСХ определяется способностью растворителя (этот растворитель не обязательно является бинарной или более сложной смесью) элюировать компоненты образца с места его адсорбции на активированном сорбенте. Например, на нагретом силикагеле. АТСХ применима для разделения таких неполярных соединений, как липиды, но не для разделения аминокислот и большинства пептидов. Для разделения аминокислот используют РТСХ, которая позволяет достаточно быстро разделять и определять 22 аминокислоты белковых гидролизатов.

Аминокислоты в белковом гидролизате могут быть определены также методом газовой хроматографии, но перед хроматографическим анализом аминокислоты как правило переводят в летучие соединения.

Взаимодействие с нингидрином, при этом образуются соответствующие альдегиды:



Таким образом, образуется смесь альдегидов и анализируют ее. Это простейший случай, пригоден лишь для некоторых аминокислот.

Переводят аминокислоты в летучие эфиры (алкильные эфиры, метильные эфиры оксикислот, метиловые эфиры хлорзамещенных кислот и др.).

Выбор производных зависит от исследуемой смеси аминокислот.

Ионообменная хроматография. В настоящее время аминокислотный состав пищевых продуктов определяется исключительно с помощью автоматической ионообменной хроматографии.

Ионообменная хроматография основана на обратимом стехиометрическом обмене ионов, находящихся в растворе, на ионы, входящие в состав ионообменника (катионита, анионита) и на различной способности разделяемых ионов к ионному обмену с фиксированными ионами сорбента, образующимися в результате диссоциации ионогенных групп.

Для органических ионов на электростатическое взаимодействие с фиксированными зарядами ионита накладывается гидрофобное взаимодействие органической части иона с матрицей ионита. Чтобы уменьшить его вклад в удерживание органических ионов и добиться оптимальной селективности их разделения, к водному элюенту добавляют органический компонент (1–25% метанола, изопропанола, ацетонитрила).

По методу Мура и Штейна используют короткую и длинную колонки, заполненные смолой из сульфонированного полистирола в Na^+ – форме. Когда кислотный гидролизат при $pH = 2$ наносят на колонку, аминокислоты связываются в результате катионного обмена с ионами натрия. Далее колонку элюируют раствором цитрата натрия при заранее запрограммированных значениях pH и температуры. Короткую колонку элюируют одним буфером, длинную – двумя. Элюат обрабатывают нингидрином, измеряя интенсивность окраски с помощью проточного колориметра. Данные автоматически регистрируются на ленте самописца и могут передаваться в компьютер для вычисления площади под пиком.

Существуют и другие методы хроматографического исследования аминокислот.

Порядок выполнения работы:

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска разделочная;
- нож разделочный;
- мясорубка бытовая по ГОСТ 4025;
- фильтровальная бумага по ГОСТ 12026;
- весы аналитические класса 4 с пределом измерения от 0 до 100 г по ТУ 25-06-1131-75;
- весы технические лабораторные класса 1 с пределом измерения от 0 до 1000 г;
- установка для минерализации органических веществ;
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204, 6 н раствор;
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204, 0,02 н раствор;
- вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- ацетон по ГОСТ 2603;
- серный эфир по ГОСТ 22300;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

2. Проведение анализа по определению содержания аминокислот в белке животного происхождения

Навеску массой 10 г обезживают 25 мл ацетона, путем внесения химического реактива в колбу с навеской, хорошо перемешивают, затем ацетон сливают. Процесс обезживания повторяют 2-3 раза. Далее обезжиривают путем внесения 25 мл серного эфира в колбу с обезвоженной пробой, операцию повторяют 2-3 раза. Обезжиренную и обезвоженную пробу растирают, просеивают и только после этого берут навеску для гидролиза.

В стеклянную ампулу берут навеску образца для гидролиза из расчета того, чтобы содержание белка в навеске составило 10-12 мг. Для этого фактическое количество белка (мг) в навеске необходимо умножить на его необходимый уровень (10-12 мг) в навеске

Пример расчета: при уровне содержания белка в 100 гр исследуемого сырья 17,5 гр, содержание белка в 10 гр навески составит 0,0175 мг. Необходимое количество навески составит: $0,0175 \cdot 12 = 0,21$ мг

В ампулу с навеской добавляют 10 мл 6н раствора соляной кислоты.

Ампулу запаивают и помещают в сушильный шкаф на сутки при температуре 105°C для проведения процесса гидролиза. По завершению гидролиза ампулу вскрывают и выливают содержимое в фарфоровую чашечку для выпаривания. Затем сухой остаток вымывают 6 раз, поочередно, дистиллированной водой и снова сливают в емкость для выпаривания.

Емкость ставят для выпаривания с целью удаления соляной кислоты. В течении процесса выпаривания постоянно добавляют дистиллированную воду в емкость с рабочим раствором. По окончании процесса выпаривания (почти досуха), емкость снимают с водяной бани. Содержимое чашечки растворяют в 10 мл 0,02н раствора соляной кислоты. Раствор фильтруют и анализируют на автоаминоанализаторе.

Аминокислотный состав полученного гидролизата определяется на автоаминоанализаторе фирмы «Хитачи» с компьютерной обработкой данных по программе «Мульт хром» для Windows, для определения реакции среды применяют комплексную установку фирмы Radiometer Copenha. Результатом обработки пробы на аминокислотном анализаторе является хроматограмма (рис.1)

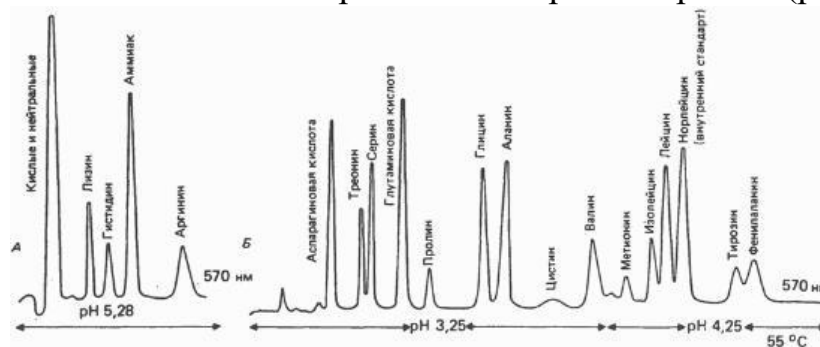


Рис. 1. – Пики аминокислот, полученные методом хроматографии

Данная методика также позволяет установить содержание 8 незаменимых аминокислот: валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин.

Уровень содержания аминокислот представляют в виде таблицы 1.

Таблица 1

Уровень содержания аминокислот в белке животного происхождения

Наименование аминокислоты	Уровень содержания, мг/100 гр

Оформить работу в виде научного отчета. Сделать заключение по выполненной работе.

3. Вопросы для самоконтроля

3.1. Какова цель определения аминокислотного состава белкового сырья и продуктов из него?

3.2. Порядок подготовки проб для определения аминокислотного состава белков, содержащихся в сырье и продукте из него?

3.3. Устройство, виды и техническая характеристика современных аминокислотных анализаторов?

3.4 Какие существуют хроматографические методы исследования аминокислот?

3.5. Как определить уровни содержания аминокислот в анализируемом белке при наличии хроматограммы?

3.6. Что понимается под терминами заменимые и незаменимые аминокислоты, содержащиеся в белке?

3.7. Биологическое значение незаменимых аминокислот, поступающих в организм с пищей?

3.8. Что понимается под термином «аминокислотный скор»? Что понимается под термином «идеальный белок»?

Лабораторная работа № 2 «Извлечение липидов из сырья животного происхождения. Установление качественных показателей образца жира»

Цель работы: выделить липиды из сырья животного происхождения и установить его качественные показатели

Задачи:

1. Установить уровень содержания липидов в исследуемом сырье;
2. Извлечь липиды из сырья животного происхождения способом, заданным преподавателем (тепловой, карбамидно-тепловой, гидромеханический и т.д.);
3. Установить органолептические показатели полученного образца жира, согласно действующей ТД;
4. Изучить качественные показатели жира (кислотное, йодное, пероксидные числа);
5. Определить категорию жира (медицинский, пищевой, ветеринарный, технический) на основании проведенных исследований.

Объекты исследования: жиросодержащее сырье животного происхождения и гидробионтов, образец жира

Методы исследования:

Определение органолептических показателей качества сырья, проводятся в соответствии с требованиями ГОСТ 7631, ГОСТ 21784, ГОСТ 9959, ГОСТ 25011.

Качественные показатели (физико-химические) выделенных образцов рыбных жиров: кислотное, йодное и пероксидное числа, были установлены стандартными методами, приведенным в ГОСТ 7636 [16]. Пересчет значений пероксидного числа на ммоль O_2 /кг осуществлять по ГОСТ 26593.

Органолептические показатели образцов жира устанавливать сенсорным методом в соответствии с ГОСТ 7631.

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска разделочная;
- нож разделочный;
- мясорубка бытовая по гост 4025-78;
- ножницы;
- шкаф сушильный по гост 13474-79;
- весы аналитические класса 4 с пределом измерения от 0 до 100 г по ту 25-06-1131-75;
- весы технические лабораторные класса 1 с пределом измерения от 0 до 1000 г;
- секундомер механический.
- баня водяная.
- колбы конические с притертой пробкой по гост 25336-82, вместимостью 250 см³
- колба коническая с боковой отводной трубкой
- цилиндр мерный по гост 1770-74, вместимостью 50 см³
- холодильник стеклянный лабораторный (обратный) по гост 25336-82
- бюретки по гост 29251-91, вместимостью 25 и 50 см³
- фенолфталеин (1%-ный)
- калия гидроксид по гост 24363-80, раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 н)
- или натрия гидроксид по гост 4328-77, раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 н)
- эфир медицинский по госфармакопее ссср.
- спирт этиловый ректификованный по гост 5962-67.
- тимолфталеин, спиртовой раствор 10 г/дм³ (1%-ный).
- кислота соляная по гост 3118-77, раствор 0,5 моль/дм³ (0,5 н).
- спирт этиловый ректификованный по гост 5962-67.
- калия гидроксид по гост 24363-80, спиртовой раствор 0,5 моль/дм³ (0,5 н)
- крахмал растворимый по гост 10163-76, раствор 10 г/дм³ (1%-ный), к которому прибавляют кристалл для стойкости при хранении.
- карбамид (синтетическая мочевины);
- дистиллированная вода с разными показателями pH среды (кислая, нейтральная, щелочная);
- pH-метр;
- вода дистиллированная по гост 6709-72

2. Извлечение липидов из образцов мясного и рыбного видов сырья разными способами

Осуществляется выбор рационального способа выделения жира из

жиросодержащего сырья. С этой целью апробируют разные способы извлечения жира: 1) тепловой с щадящим температурным режимом 75°C; 2) карбамидно-тепловой; 3) комбинированный карбамидно-тепловой с понижением температуры; 4) гидромеханический.

Тепловой способ с щадящим температурным режимом заключался в нарезании не до конца размороженных плавников сома на кусочки размерами частиц 2-3 см, с последующим измельчением на промышленном волчке с диаметром частиц 2-3 мм, и тепловым нагревом (вытапливанием) при $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ продолжительностью 60 мин, отделении полуфабриката жира.

Карбамидно-тепловой способ получения жира осуществляется с различными концентрациями карбамида внесенного в сырье, с целью установления рациональной дозы внесения его, как гидротропного вещества. Извлечение жира осуществляется нарезанием сырья на кусочки размерами частиц 2-3 см, с последующим измельчением на промышленном волчке с диаметром частиц 2-3 мм, и тепловым нагревом (вытапливанием) при температуре 70 °C продолжительностью 60 мин при дозе карбамида 1,5, 3,0 и 5,0% к массе сырья в виде 30-% раствора, отделении полуфабриката жира с последующим центрифугированием подготовленной массы при частоте оборотов 3000 в минуту, продолжительностью 30 мин для отделения плотной части. После отстаивания жидкой фазы в течение 10 минут при температуре окружающей среды, отделялся посредством центрифугирования при 4000 об/мин продолжительностью 15 минут.

Комбинированный карбамидно-тепловой с понижением температуры способ заключается в нарезании сырья на кусочки размерами частиц 2-3 см, с последующим измельчением на волчке диаметром частиц 2-3 мм, с внесением различных доз карбамида (1,5, 3,0 и 5,0%) к массе сырья в виде 30%-го раствора и дальнейшем замораживанием. Через 1 сутки, подготовленная масса подвергается нагреву при температуре 70 °C с выдерживанием при этой температуре в течение 60 мин. Отделение полуфабриката жира осуществляется центрифугированием при частоте оборотов 3000 об/мин, продолжительностью 30 мин.

Гидромеханический способ получения жира заключается в нарезании сырья на кусочки размерами частиц 2-3 см, измельчением на промышленном волчке до диаметра частиц 2-3 мм, и добавлением 200 % воды к массе сырья с различными рН (11,61; 7,1; 2,95), с последующим нагревом массы до температуры 70 °C и выдерживании при этой температуре в центре массы в течение 60 мин, отделении полуфабриката жира и отстаивании жидкой части при температуре 25 °C в течение 30 минут, дальнейшим сбором полуфабриката жира после разделения фаз и центрифугированием плотной части и п/ф при частоте оборотов 3000 об/мин, продолжительностью 30 мин.

Результаты, полученные в ходе эксперимента заносят в таблицу 1.

Выход жира, выделенного из сырья, разными способами

Объект исследования	Содержание жира в исходном сырье, %	Выход жира, %	
		к исходной массе сырья	к массе жира содержащегося в сырье

Выделенные образцы рыбного жира исследовать по органолептическим (цвет, запах) и физико-химическим показателям качества (кислотное, пероксидное и йодное числа).

3. Органолептические показатели жиров

Органолептические показатели жиров полученных разными способами представляют в форме таблицы 2.

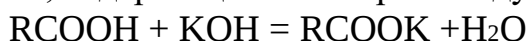
Сравнительная характеристика органолептических показателей жира

Наименование показателя	Объект исследования	Требования технической документации

4. Установление качественных показателей жира, выделенного из жиросодержащего сырья различными способами

Определение кислотного числа жира

Количественное определение кислотного числа основано на нейтрализации свободных жирных кислот. Кислотное число условно выражают в мг щелочи, пошедшей на нейтрализацию свободных жирных кислот, содержащихся в 1 гр исследуемого жира.



Проведение испытания: в колбу отбирают такое количество мисцеллы, чтобы в ней содержалось не менее 1-2 гр жира.

Растворитель (хлороформ) удаляют под вакуумом, затем приливают 30-50 см³ нейтрализованной по фенолфталеину смеси спирта с этиловым эфиром (1:2) и перемешивают взбалтыванием. Содержимое колбы титруют 0,1 н (0,1 моль/дм³) водным раствором едкого натрия по фенолфталеину.

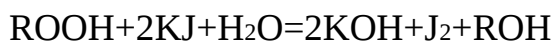
Кислотное число (X), выраженное в мг едкого калия вычисляют по формуле 1:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot 5,61}{M} \quad (1)$$

где: V – количество 0,1 н (0,1 моль/дм³) раствора щелочи, израсходованное при титровании, см³;
 k - поправочный коэффициент титрованного раствора едкого калия 0,1 н (0,1 моль/дм³);
 5,61 - количество едкого калия, соответствующее 1 см³ 0,1 моль/дм³ раствора едкой щелочи, мг;
 m - масса жира, гр.

Определение пероксидов в жире

Количественное определение перекисей в жире основано на реакции перекисей с йодистым калием в кислой среде, в результате которой выделяется свободный йод. Выделившийся йод титруют гипосульфитом натрия.



Перекисное число условно выражают количеством граммов йода, выделяемого перекисями из 100 гр жира.

Проведение испытания: в коническую колбу с притертой пробкой помещают 1 гр жира, навеску растворяют в 30 мл смеси (12 мл хлороформа и 18 мл ледяной уксусной кислоты), к р-ру приливают 1 мл насыщенного на холоде KI и перемешивают в течение 2-х минут.

Затем прибавляют в колбу 100 см³ свежeproкипяченной дистиллированной воды, охлажденной до комнатной температуры и 1 см³ 1%-ного (10 гр/дм³) раствора крахмала и немедленно титруют 0,01 н (0,01 моль/дм³) раствором тиосульфата натрия до исчезновения синего окрашивания.

Одновременно проводят контроль.

Перекисное число (П.Ч.) исследуемого жира вычисляют по формуле 2:

$$x = \frac{(V_1 - V_2) \cdot K \cdot B \cdot 100}{m} \quad (2)$$

где: V_1 - количество 0,01 н (0,01 моль/дм³) раствора тиосульфата, пошедшее на титрование йода в исследуемой пробе, см³;

V_2 - количество 0,01 н (0,01 моль/дм³) раствора тиосульфата, израсходованного на титрование при контрольном опыте, см³;

k - поправочный коэффициент рабочего раствора 0,01 н (0,01 моль/дм³) тиосульфита;

m - количество жира, гр ;

$$B = \frac{E_{100}}{100} = \frac{126,9 \cdot 0,01}{1000} = 0,001269, \text{ гр.}$$

Применяемые реактивы должны быть химически чистыми. а величина V_2 при этих условиях не должна превышать 0,1 см³.

Определение йодного числа

Метод основан на взаимодействии йода с непредельными жирными кислотами.

В колбу с притертой пробкой приливают 0,08-0,12 гр жира. В колбу доливают 3 мл петролейного эфира и 25 мл 0,2м солянокислого раствора хлористого йода. Колбу плотно закрывают, перемешивают и настаивают 5-10 мин. Затем вносят 10 мл KI 10%, 50 мл дист.воды и выделившийся йод титруют раствором 0,1 н тиосульфата натрия до светло-желтого окрашивания. После в колбу приливают 1 мл р-ра крахмала, 2-3 мл хлороформа и продолжают титровать до исчезновения синего окраса. Параллельно проводят контрольный опыт.

Измеряется I₂ гр/100 гр жира или I₂ %, по формуле 3:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot K \cdot 0,01269 \cdot 100}{m} \quad (3)$$

V₁ - количество 0,01 н (0,01 моль/дм³) раствора тиосульфата, пошедшее на титрование йода в исследуемой пробе, см³;

V₂ - количество 0,01 н (0,01 моль/дм³) раствора тиосульфата, израсходованного на титрование при контрольном опыте, см³;

k - поправочный коэффициент рабочего раствора 0,01 н (0,01 моль/дм³) тиосульфита;

m - количество жира, гр ;

Качественные показатели жира представляют по форме таблицы 3.

Таблица 3

Качественные показатели жира

Наименование показателя	Объект исследования	Требования технической документации
Кислотное число		
Пероксидное число		
Йодное число		

Оформить работу в виде научного отчета. Сделать заключение по выполненной работе.

5. Вопросы для самоконтроля:

5.1. Что такое кислотное число? Как оно определяется и каково его практическое применение?

5.2. Что характеризует и каково применение: пероксидного и йодного чисел?

5.3. Приведите причины быстрой окисляемости рыбных жиров и возможность использования их после длительного срока хранения?

5.4. Какие факторы влияют на развитие процесса окисления липидов сырья и продуктов из него?

5.5. Как предотвратить процесс окисления липидов сырья и продукта из него?

5.6. Какова возможность использования экстракта продуктов окисления жира длительного хранения?

Лабораторная работа № 3. «Исследование жирнокислотного состава липидов, извлеченных из мышечной ткани сырья животного происхождения (продуктов из него)»

Цель работы: изучение методики исследования жирнокислотного состава липидов, извлеченных из мышечной ткани сырья животного происхождения и гидробионтов

Задачи:

1. Изучить способ метилирования образца жира;
1. Подготовить пробу эфиров жирных кислот, выделенного образца жира;
2. Исследовать жирнокислотный состав липидов

Объекты исследования: образцы жира, выделенные из разных видов сырья

Методы исследования:

Метилирование образцов жира осуществлять по ТУ 9281-036-72108157-07. Определение жирнокислотного состава осуществлять методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Shimadzu».

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- наполнитель для колонок:spb-1.1;
- устройство интегрирующее c-r4a «shimadzu»;
- микрошприц мш-10, вместимостью 10 мм;
- цилиндр 1-25 по ГОСТ 1770;
- колба 2-25 по ГОСТ 1770;
- воронка лабораторная 13-25-38 хс или 13-36-50;
- колба круглодонная к-1-150 по ГОСТ 25336;
- холодильник хiii-i-400-29/32хс по ГОСТ 25336;
- роторный испаритель;
- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026;
- водород технической марки а по ГОСТ 3022;
- воздух по ГОСТ 17433;
- газ носитель: азот газообразный по ГОСТ 9293;
- гексан по ТУ 6-09-45-21-74;
- метанол по ГОСТ 6995;
- хлороформ по ГОСТ 20015;

- хлористый ацетил по ГОСТ 5829;
- натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166;
- эфир медицинский по госфармокопее;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- пипетки по ГОСТ 29169;
- посуда стеклянная лабораторная по ГОСТ 25336

2. Метилирование образцов жира

Для метилирования берут навеску липидов 15-60 мг в колбу. Туда же добавляют 2,5 мл 2,5 %-го раствора HCl в абсолютном метаноле. Смесь кипятят 2 ч на песочной бане в колбе с обратным водяным холодильником. Перед кипячением в колбу помещают кипелку. После кипячения смесь охлаждают.

К охлажденной смеси добавляют пятикратный объем воды и двукратный объем гексана или серного диэтилового эфира. Содержимое колбы энергично встряхивают и помещают в делительную воронку для расслоения. После разделения отбирают верхнюю гексановую фракцию. Для количественного определения экстракцию гексаном следует проводить троекратно.

Затем гексановые фракции объединяются и упариваются на ротормном испарителе под вакуумом до одной капли. пробу отбирают при помощи микрошприца и вводят в хроматограф.

Приготовление 2,5 %-го раствора HCl в метаноле осуществляется следующим образом: при охлаждении, осторожно, по каплям к 100 мл абсолютного безводного метилового спирта прибавляют 7 мл перегнанного хлористого ацетила CH_3COCl .

3. Определение жирнокислотного состава липидов

Метод основан на превращении триглицеридов в метиловые эфиры жирных кислот и газохроматографическом анализе последних.

Приготовление метиловых эфиров жирных кислот. К навеске массой 0,3 г добавляют 25 мл безводного метанола и осторожно по каплям во избежании взрыва вводят 2,5 мл перегнанного хлористого ацетила. Затем смесь обрабатывают на водяной бане в течение 2-2,5 часов с обратным холодильником.

Поле окончания реакции метилирования метанол отгоняют на ротормном испарителе. к остатку добавляют 5 мл дистиллированной воды и 10 мл эфира диэтилового и хорошо встряхивают. Полученную массу количественно с помощью эфира переводят в небольшую делительную воронку для отделения воднометанолового слоя. Для полного извлечения метиловых эфиров воднометаноловый слой экстрагируют 2 раза диэтиловым эфиром по 10 мл, экстракты присоединяют к основному.

Собранные экстракты сушат сульфатом натрия в течение 20 минут, фильтруют для освобождения от последнего, ополаскивая затем колбу с сульфатом натрия и фильтр несколькими порциями; эфир удаляют на ротонном испарителе при температуре от 30 °С до 40 °С.

Метилловые эфиры растворяют в чистом перегнанном гексане из расчета 1000 мг эфиров в 1 мл растворителя. Раствор готов для хроматографического анализа.

Готовый раствор хранят не более 2 суток в холодильнике при температуре 5 °С

Проведение испытаний на хроматографе

На хроматографе устанавливают следующие условия анализа:

- температура термостата колонок от 150 до 280 °С (5 °С/ min А)
- температура печи детектора 300 °С
- скорость потока газа-носителя 0,5 мл/min

Величина пробы около 1 мл раствора метилловых эфиров жирных кислот в гексане.

Для идентификации компонентов жирных кислот, полученных хроматографом, применяют стандарты MEFA.

Идентификация компонентов по составленной библиотеке стандартов проводится по относительному времени выхода компонента (основной пик 16:0). Результаты получаются в виде хроматограмм и концентрации компонента в процентах.

4. Вопросы для самоконтроля:

4.1 Какова необходимость превращения липидов сырья и продукта из него в эфиры?

4.2 Как подготовить метилловые (этиловые эфиры) жирных кислот?

4.3 Назвать тип современного прибора, использование которого позволяет установить количество заменимых и незаменимых жирных кислот в образце продукта?

Лабораторная работа № 4. «Определение цвета жира, извлеченного из сырья животного и водного происхождения фотоэлектроденситометрическим методом»

Цель работы: определить цвет жира фотоэлектроденситометрическим методом

Задачи:

1. Установить цвет анализируемого жира фотоэлектроденситометрическим методом;
2. Сравнить полученные результаты с требованиями технической документации, приведенными на пищевые и ветеринарные жиры

Объекты исследования: образцы жира

Методы исследования:

Цвет анализируемого жира устанавливается фотоэлектроденситометрическим методом по ГОСТ 7636.

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- фотоэлектроденситометр или спектрофотометр с пределами измерений оптической плотности от 0 до 1,3;
- спирт этиловый ректификованный по гост 5962-67;
- эфир медицинский по госфармакопее;
- бумага фильтровальная лабораторная по гост 12026-76;
- колба плоскодонная по гост 25336-82, вместимостью 100 см³;
- воронка стеклянная по гост 25336-82;
- термометр стеклянный технический по гост 28498-90 с пределом измерений температуры от 0 до 150 °С.

2. Проведение анализа

Метод основан на определении величины оптической плотности жира.

Пробу анализируемого жира при необходимости нагревают до температуры, при которой предусмотрено определение его прозрачности, и фильтруют через бумажный фильтр. Профильтрованный жир наливают в кювету с рабочей длиной 3-10 мм (в зависимости от цвета жира) и определяют оптическую плотность при длине волны 440 нм по сравнению с пустой кюветой. Если после фильтрации жир остается непрозрачным, его нагревают до 40 °С.

Перед заполнением кюветы новой порцией жира и после окончания

измерения его оптической плотности кювету промывают спирто-эфирной смесью (1:2) и высушивают.

3. Обработка результатов

Оптическую плотность (E_1) в относительных единицах, характеризующую цвет жира, вычисляют по формуле 1:

$$E = \frac{E_1}{l}, \quad (1)$$

где: E - оптическая плотность исследуемого жира; l - рабочая длина кюветы, мм.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,015 относительных единиц.

Вычисление проводят до третьего десятичного знака.

Цвет жира, соответствующий полученному значению оптической плотности, устанавливают по табл.1.

Таблица 1

Цвет жира, соответствующий полученному значению оптической плотности

Цвет жира	Величина оптической плотности (E_1)
Светло-желтый	До 0,6
Желтый	Св. 0,6 - 0,8
Темно-желтый (или светло-коричневый)	0,8 - 2,0
Коричневый	2,0 - 3,0
Темный	$\geq 3,0$

Полученные результаты сравнения с требованиями технической документации, предъявленные на пищевые и ветеринарные жиры оформляют в виде таблицы 2.

Таблица 2

Сравнение полученных результатов цвета жира с требованиями технической документации

Цвет жира	Требования технической документации

Сформулировать вывод о соответствии цвета исследуемого жира требованиям действующей технической документации

4. Вопросы для самоконтроля:

4.1. Какие факторы влияют на цвет жира?

4.2. Какие методы определения цвета жира существуют?

4.3. Сущность фотоэлектроколориметрического метода исследования цвета жира?

Лабораторная работа № 5. «Определение содержания кальция и фосфора объемными методами в продуктах пищевого и кормового назначений»

Цель работы: определить содержание кальция и фосфора объемными методами в продуктах пищевого и кормового назначения.

Задачи:

1. Изучить методики определения содержания кальция и фосфора в пищевых продуктах;

1. Определить содержание фосфора в образце;
2. . Определить содержание кальция в образце
3. Установить соотношение Са и Р в исследуемом образце.

Объекты исследования: образцы продуктов пищевого и кормового назначения

Методы исследования:

Определение кальция и фосфора объемными методами в пищевых продуктах и

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

– весы лабораторные с пределом допускаемой абсолютной погрешности взвешивания не более $\pm 0,01$ г по ГОСТ OIML.R 76-1-2011 или по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт;

- электропечь сопротивления лабораторная;
- баня водяная;
- колбы конические по ГОСТ 25336-82;
- тигли фарфоровые по ГОСТ 9147-80;
- колбы мерные по ГОСТ 1770-74, вместимостью 100, 1000 см³;
- воронки по ГОСТ 25336-82, диаметром 50-70 мм;
- пипетки по ГОСТ 29227-91, вместимостью 1, 5, 10, 25 см³;
- эксикатор по ГОСТ 25336-82;
- бюретка по ГОСТ 29251-91, вместимостью 25 см³;
- палочки стеклянные;
- цилиндры мерные по ГОСТ 1770-74, вместимостью 10, 25 см³;

- бумага универсальная индикаторная;
- фильтры обеззоленные с белой лентой диаметром 70-100 мм;
- кислота соляная по ГОСТ 3118-77, раствор 200 г/дм³ (20%-ный);
- аммиак водный по ГОСТ 3760-79, раствор 100 г/дм³ (10%-ный) и 10 г/дм³ (1%-ный);
- кислота серная по ГОСТ 4204-77, раствор 50 г/дм (5%-ный) и разведенная 1:8;
- кальций хлористый, раствор 100 г/дм³ (10%-ный);
- термометр стеклянный технический по ГОСТ 28498-90 с пределом измерений температуры от 0 до 500 °С;
- аммоний щавелевокислый по ГОСТ 5712-78, насыщенный раствор;
- метиловый красный, раствор 2 г/дм³ (0,2%-ный) спиртовой раствор;
- калий марганцовокислый по ГОСТ 20490-75, х.ч., раствор 0,02 моль/дм³ (0,1 н.) (3,165 г марганцовокислого калия растворяют в 1000 см³ дистиллированной воды);
- кислота щавелевая, х.ч., по ГОСТ 22180-76;
- фотоэлектроколориметр или спектрофотометр с пределами измерения оптической плотности от 0 до 1,3;
- термостат;
- колбонагреватель или электроплитка бытовая по ГОСТ 14919-83;
- бумага масштабнo-координатная по ГОСТ 334-73;
- колбы для сжигания по ГОСТ 25336-82, вместимостью 50-100 см³;
- Натрий сернистокислый 7-водный;
- аммоний молибденовокислый по ГОСТ 3765-78, х.ч., раствор 25 г/дм³ (2,5%-ный);
- водорода пероксид по ГОСТ 10929-76;
- натрий бисульфит технический водный раствор по ГОСТ 902-76;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198-75;
- эйконоген (1-амино-2-нафтол-4-сульфоновая кислота).

2. Методика определения кальция

Метод основан на осаждении кальция щавелевокислым аммонием, растворении осадка в серной кислоте и количественном определении выделившейся при этом щавелевой кислоты титрованием.

Проведение анализа

Навеску муки массой 1,0-1,5 г (3,0-4,0 сырья) взвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,001 г в предварительно прокаленном до постоянной массы фарфоровом тигле и обугливают в муфельной печи при 200-300 °С, затем повышают температуру до 550 °С и озоляют. По окончании озоления тигель охлаждают 25-30 мин в эксикаторе и взвешивают. Прокаливание проводят до постоянной массы.

К полученной золе добавляют 2-3 капли воды, 2 см³ раствора соляной кислоты 200 г/дм³, подогревают до полного растворения золы и переносят раствор в мерную колбу вместимостью 100 см³, тщательно смывая воронку и тигель. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой.

25 см³ солянокислой вытяжки помещают в колбу вместимостью 250 см³, добавляют 10 см³ насыщенного раствора щавелевокислого аммония, затем, добавляя по каплям раствор аммиака 100 г/дм³, нейтрализуют соляную кислоту по метилроту до перехода розового окрашивания в желтое и появления слабого запаха аммиака. Колбу помещают на плитку, нагревают и оставляют для осаждения на 2-3 ч. Осадок отфильтровывают через бумажный фильтр, колбу и осадок на фильтре промывают раствором аммиака 10 г/дм³ до полного удаления щавелевокислого аммония (полноту удаления проверяют добавлением нескольких капель раствора хлористого кальция 100 г/дм³ к последней порции промывной жидкости). В случае появления мути промывку осадка продолжают.

Фильтр с осадком переносят в колбу, в которой проводили осаждение, добавляют 50 см³ раствора серной кислоты 50 г/дм³, нагревают до температуры 90 °С для растворения осадка. Горячую смесь титруют раствором марганцовокислого калия 0,02 моль/дм³ до слабого розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Параллельно титруют контрольную пробу - 50 см³ серной кислоты 50 г/дм³ с фильтром, нагретую до 90 °С.

Массовую долю кальция (%) в процентах вычисляют по формуле 1:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot K \cdot 0,002 \cdot 100 \cdot 100}{V_2 \cdot m} \quad (1),$$

где V- объем раствора марганцовокислого калия 0,02 моль/дм³, израсходованный на титрование рабочей пробы, см³;

V₁- объем раствора марганцовокислого калия 0,02 моль/дм³, израсходованный на титрование контрольной пробы, см³;

К- коэффициент пересчета на точный раствор 0,02 моль/дм³
марганцовокислого калия;
0,002 - количество кальция, соответствующее 1 см³ раствора 0,02
моль/дм³ марганцовокислого калия, г;
V₂- объем солянокислой вытяжки, взятый для определения кальция,
см³;
m- навеска исследуемого образца, г;
100' - объем солянокислой вытяжки, см³.

3. Методы определения фосфора

Метод основан на способности фосфатов давать с молибденовокислым аммонием комплексные соединения, которые восстанавливаются до окрашенного в голубой цвет молибденового окисла, называемого молибденовой синью.

Проведение анализа

Навеску образца массой (0,35-0,45 г - для рыбной и китовой граксовой муки; 0,8-1,0 г - для китовой сальной, мясной и муки из водорослей; 1,0-1,5 г - для рыбного и китового сырья), взвешенную с абсолютной погрешностью не более 0,0001 г, помещают в колбу для сжигания, приливают 10 см концентрированной серной кислоты. Колбу нагревают сначала осторожно, во избежание сильного вспенивания. Через 1,5-2,0 ч, дав колбе остыть, приливают несколько капель пероксидом водорода (непосредственно в жидкость, а не по стенкам колбы) и продолжают нагревание на сильном огне. Эту операцию повторяют через 20-30 мин до полного обесцвечивания раствора и после 5-10 мин кипения дают колбе остыть.

Параллельно проводят контрольный анализ с пероксидом водорода.

Содержимое остывшей колбы переносят многократным смыванием небольшими порциями дистиллированной воды в мерную колбу вместимостью 100 см³, после охлаждения объем жидкости доводят до метки и тщательно перемешивают.

Для проведения цветной реакции пипеткой отбирают из колбы в две мерные пробирки вместимостью 10 см³ определенное количество анализируемого и контрольного растворов: при массовой доле фосфора в образце от 1 до 2% - 2 см³, от 2% и более - 0,5-1,0 см³ и добавляют соответствующее количество раствора серной кислоты 2,5 моль/дм³, указанное в табл.1.

Таблица 1

Соответствующее количество раствора серной кислоты

Анализируемый раствор, см ³	2,5 моль/дм ³ раствор серной кислоты, см ³
0,5	1,25
1,0	1,00
2,0	0,50

После этого в пробирки приливают по 1,25 см³ молибденовокислого аммония и 0,5 см³ раствора эйконогена, объем смеси доводят дистиллированной водой до метки, энергично встряхивают пробирку и помещают ее в термостат на 25 мин при 37 °С.

Оптическую плотность определяют фотоэлектроколориметром в кюветах с рабочей длиной 3 мм при длине волны 690 нм против контроля. Содержание фосфора, соответствующее определенной оптической плотности, рассчитывают по градуировочному графику.

Построение градуировочного графика

В мерные пробирки вместимостью 10 см³ вносят из микробюретки стандартный раствор однозамещенного фосфорнокислого калия в количествах, указанных в табл.2.

Таблица 2

Количество вносимого стандартного раствора однозамещенного фосфорнокислого калия

Номер пробирки	Количество стандартного раствора однозамещенного фосфорнокислого калия, см ³	Массовая доля фосфора, мг
1	0,5	0,04
2	1,0	0,08
3	1,5	0,12
4	2,0	0,16
5	2,5	0,20

В каждую пробирку приливают по 1,25 см³ раствора серной кислоты 2,5 моль/дм³, 1,25 см³ молибденовокислого аммония и 0,5 см³ раствора эйконогена, объем смеси доводят дистиллированной водой до метки и далее поступают так же, как с пробой.

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс - массовую долю фосфора, соответствующую определенному разведению, по оси ординат - оптические плотности.

Массовую долю фосфора (%) в процентах вычисляют по формуле 2:

$$X = \frac{m_1 \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot m} \quad (2)$$

где: m- навеска исследуемого образца, г;

m₁- количество фосфора, найденное по градуировочному графику,

мг; V- объем, до которого доводят минерализованную пробу, см³;

V₁- объем исследуемого раствора, взятый для проведения цветной реакции, см³.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2%.

Вычисления проводят до первого десятичного знака.

Установить соотношение Са и Р в исследуемом образце. Оформить работу в виде научного отчета. Сделать заключение по выполненной работе.

4. Вопросы для самоконтроля:

4.1 В каком продукте и почему из рыбного сырья принято определять содержание кальция и фосфора по требованию стандарта?

4.2 Имеется ли связь между уровнями содержания кальция и фосфора и какое их допустимое соотношение должно быть в продукте?

4.3 Каким приборным методом можно определить содержание элементов кальция и фосфора в отходах водного сырья и направляемых на изготовление кормовой продукции и в готовом продукте?

Рекомендуемые источники представлены в РПД.