

ФГБОУ ВПО СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

*ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ПИЩЕВОЙ ХИМИИ*

Ставрополь

2014

УДК 63:54

ББК 40.4

Л12

Авторский коллектив:

О.Ю. Лобанкова - кандидат биологических наук, доцент;
В.В. Агеев доктор - сельскохозяйственных наук, профессор;
А.Н. Есаулко - доктор сельскохозяйственных наук, профессор;
Ю.И. Гречишкина кандидат сельскохозяйственных наук, доцент;
А.А. Беловолова кандидат сельскохозяйственных наук, доцент;
С.А. Коростылёв кандидат сельскохозяйственных наук, доцент;
М.С. Сигида - кандидат сельскохозяйственных наук, доцент;
Е.В. Голосной кандидат сельскохозяйственных наук;
Е.А. Саленко кандидат сельскохозяйственных наук

Рецензенты:

В.Г. Гребенников доктор сельскохозяйственных наук, профессор;
Т.Л. Веревкина кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Лабораторный практикум по пищевой химии / О.Ю. Лобанкова, В.В. Агеев, А.Н. Есаулко и др.: учебное пособие. – Ставрополь, 2014. - 113 с.

Материал, содержащийся в учебном пособии, призван помочь студентам освоить методы анализа компонентов пищевых систем, разобраться в сложных вопросах, связанных с ролью основных пищевых веществ в пищевой технологии и питании человека, в проблемах, касающихся превращения макро- и микронутриентов в технологическом потоке, строением и ролью пищевых и биологически активных добавок, а также токсических веществ.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	5
Лабораторные работы	7
Подготовка растительных образцов к анализу	
Определение сухого вещества и гигроскопической влаги в анализируемом материале	14
<i>Определение общей кислотности в плодах и овощах</i>	15
Мокрое озоление растительного материала по Гинзбург и определение азота, фосфора, калия из одной навески	
<i>Методы определения различных форм азота в растительном материале</i>	
Определение содержания общего азота по Кьельдалю	
Определение белкового азота	
Метод Плешкова для определения белкового азота с трихлоруксусной кислотой (ТХУ)	
Определение содержания нитратов в растительной продукции	
Ионометрический метод определения нитратов	
Определение содержания нитратов в тканях, мезге и соке растительной продукции с помощью нитратного ионоселективного датчика (модификация ЦИНАО)	
Определение содержания нитратов с помощью нитратомера НМ-002	
<i>Определение углеводов в растениях</i>	
Определение углеводов по методу Бертрана	
Определение моносахаридов	
Определение суммы сахаров растворимых углеводов	
Определение небелкового азота и углеводов из одной навески	
Поляриметрическое определение сахара в сахарной свекле	
Определение крахмала в зерне на поляриметре по Эверсу	

Определение клетчатки весовым методом

Определение пектиновых веществ

Определение витаминов в растениях

Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) по Мурри

Определение каротина по Сапожникову

Определение жиров в растительном материале

Определение общего содержания жира

Определение жира по массе обезжиренного остатка по
Рушковскому

Определение кислотного числа

Определение числа омыления

Определение показателя преломления масла

Определение йодного числа по Ганусу

Определение йодного числа на рефрактометре по Ермакову

Определение перекисного числа

Определение содержания микроэлементов в растениях

*Определение содержания хлоридов в растениях методом
ионометрического титрования*

Словарь терминов

Первая помощь при несчастных случаях в химических лабораториях

Список использованной литературы

ВВЕДЕНИЕ

Одной из самых актуальных проблем, стоящих в настоящее время перед человеческим обществом, является обеспечение населения земного шара продуктами питания.

Являясь одним из важнейших факторов окружающей среды, питание с момента рождения до самого последнего дня жизни человека влияет на его организм. Ингредиенты пищевых веществ, поступая в организм человека с пищей и преобразуясь в ходе метаболизма в результате сложных биохимических превращений в структурные элементы клеток, обеспечивают наш организм пластическим материалом и энергией, создают необходимую физиологическую и умственную работоспособность, определяют здоровье, активность и продолжительность жизни человека, его способность к воспроизводству. Состояние питания, поэтому, является одним из важнейших факторов, определяющих здоровье нации

Государственная политика в области здорового питания - комплекс мероприятий, направленный на создание условий, обеспечивающих удовлетворение потребностей населения в рациональном здоровом питании с учетом его традиций, привычек, экономического положения, в соответствии с требованиями медицинской науки. Потребление некачественных, фальсифицированных и опасных для здоровья человека продуктов оказывает негативное влияние. На устранение этих недостатков направлен закон РФ № 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (2 января 2000 г.).

Организация здорового питания населения - многофакторный процесс, который можно реализовать опираясь на глубокие знания, стройную научную концепцию и продуманную научно-техническую политику.

Пищевая химия - один из разделов химической науки, значение которой, учитывая роль питания в жизни общества, крайне велико. Это наука о химическом составе пищевых систем (сырье, полупродукты, готовые

пищевые продукты), его изменениях в ходе технологического потока под влиянием различных факторов (физических, химических, биохимических и т. д.), общих закономерностях этих превращений. Она включает изучение взаимосвязи структуры и свойств пищевых веществ - и ее влияние на свойства и пищевую ценность продуктов питания.

Разработка методов анализа и исследования пищевых систем, их компонентов, пищевых и биологически активных добавок, вредных веществ - один из очень важных разделов пищевой химии, в котором она тесно взаимодействует с аналитической, физической химией и другими областями знаний. По существу, развитие этого направления пищевой химии во многом определяет безопасность продуктов питания.

Пищевая химия - дисциплина, значение которой все возрастает. Значение основ пищевой химии даст возможность технологам решить один из важнейших вопросов современности - обеспечение населения планеты качественными продуктами питания. В связи с этим и сегодня не потеряла своей актуальности мысль И.П. Павлова, сформулированная им в 1904 г. при вручении ему Нобелевской премии: «...над всеми явлениями человеческой жизни господствует забота о насущном хлебе».

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

В процессах жизнедеятельности растений в их органах создаются и накапливаются органические вещества - белки, жиры, углеводы, органические кислоты. В зависимости от культуры и условий ее выращивания содержание этих веществ в урожаях подвержено значительным колебаниям. К питательной ценности растительной продукции, ее пищевым и кормовым достоинствам и качеству предъявляются определенные требования. В связи с этим, для качественной оценки урожаев, возникает необходимость в проведении их анализа на содержание белков, сырого протеина, жира, крахмала, сухих веществ и других показателей.

Анализ растений необходим также для изучения их питания,

диагностики потребности в удобрениях, выполняя анализы растений, можно более углубленно изучить взаимодействие между растением, почвой и удобрением, тем самым более продуктивно использовать туки.

Подготовка растительных образцов к анализу

Анализ растений начинается с отбора образцов. Они должны быть типичными и отражать поле, делянку, партию. Для этого пробы берут в нескольких местах, смешивают, а затем отбирают средний образец. В лабораториях образцы сразу анализируют или высушивают, мелко измельчают и хранят в стеклянных банках.

Анализ растений позволяет решить следующие задачи:

1. Исследовать трансформацию макро- и микроэлементов в системе почва - растение - удобрения при различных режимах выращивания растений.

2. Определить содержание основных биоконпонентов в растительных объектах и кормах: белков, жиров, углеводов, витаминов, алкалоидов и соответствие их содержания принятым нормам и стандартам.

3. Оценить меру пригодности растений для потребителя (нитраты, тяжёлые металлы, алкалоиды, токсиканты).

4. Произвести диагностику обеспеченности растений питательными веществами.

5. По признакам обеспеченности производить подкормки.

Отбор растительной пробы

Отбор растительной пробы - ответственный этап работы, требует определённых навыков и опыта. Ошибки при отборе пробы и подготовке к анализу не компенсируются качественной аналитической обработкой собранного материала.

При отборе проб растений в агро- и биоценозе основная цель - *средняя проба* растений, которая должна наиболее полно отражать

биологическое состояние растений, т.е. *быть репрезентативной* для поля, опытной делянки, выбранной площадки, вегетационного сосуда. Чтобы средняя проба отражала статус всей совокупности растений, учитывают макро- и микрорельеф, гидротермические условия, равномерность и густоту стояния растений, их биологические особенности.

Растительные пробы отбираются в сухую погоду, в утренние часы, после высыхания росы. При изучении процессов обмена веществ в растениях в динамике эти часы соблюдаются в течение всего вегетационного периода.

Для культур сплошного сева (пшеница, овёс, ячмень, злаковые травы и др.) на опытном участке выделяются равномерно 5-6 площадок размером 0,25-1,00 м², растения с площадки скашиваются на высоте 3 - 5 см. Общий объём взятого материала составляет *объединенную пробу*. После тщательного усреднения этой пробы отбирают *средний образец массой 1 кг*. Проводят взвешивание средней пробы, а затем разбор по ботаническому составу, учёт сорняков, больных растений, которые исключают из состава пробы. Проводят также разделение растений на органы с весовым учётом в пробе листьев стеблей, початков, цветов, колосьев. Молодые растения от всходов до кущения обычно не дифференцируют по органам и фиксируют целиком.

В вегетационных сосудах пробы этих растений отбираются следующим образом: из каждого сосуда берётся равное количество растений или из 2-3 сосудов каждого варианта растения срезаются полностью, первый приём используют чаще.

Для культур пропашных (картофель, кукуруза, свекла и т.п.), особенно высокостебельных, таких как кукуруза, подсолнечник и т.д. объединенную пробу составляют из 10-20 растений средней величины, взятых по диагонали делянки или поочередно в несмежных рядах.

При отборе корнеплодов выкапывают 10-20 растений средней величины, очищают от почвы, подсушивают, взвешивают, отделяют

надземные органы и взвешивают корнеплоды. По состоянию этих компонентов определяют структуру урожая. Корнеплоды, клубни и сочные плоды разрезают пополам или на четыре части. В пробу отбирают лишь долю клубня, корнеплода или плода. Лабораторная проба тщательно измельчается и перемешивается, чтобы получить равномерный состав ее.

Свежий растительный материал измельчают ножницами, терками и другими приспособлениями.

Среднюю пробу составляют с учётом размера клубней, початков, корзинок и т.п. Для этого материал сортируют визуально на большие, средние, малые и соответственно долевого участию фракции составляют средний образец. У высокостебельных культур проба может усредниться за счёт продольного расчленения всего растения от верхушки до основания.

В производственных условиях пробы зерна, муки, гранулированных кормов, силоса, сенажа, соломы, овощных, плодовых и ягодных культур отбирают из больших объёмов пробоотборниками в соответствии с инструкциями отраслевых стандартов (см. специальную литературу) или ГОСТ.

Критерием оценки правильного отбора пробы является *сходимость результатов химического анализа* при параллельных определениях.

Скорость химических реакций в растительных образцах, взятых в период активной вегетации, намного выше, чем во многих других анализируемых объектах (например, зерно, солома, семена). За счёт работы ферментов продолжают биохимические процессы, в результате которых происходит разложение таких веществ, как крахмал, белки, органические кислоты и особенно витамины.

Задачи исследователя - сократить до минимума срок от взятия пробы до проведения анализа или фиксации растительного материала. Снижения скорости реакций можно добиваться работой со свежими растениями на холоде в климатокамере (+4°C), а также кратким

хранением в бытовом холодильнике на нижней полке.

В свежем растительном материале при естественной влажности проводят определение витаминов, водорастворимых форм белков, углеводов, ферментов, калия, фосфора, определяют содержание нитратов и нитритов. С небольшой погрешностью эти определения можно выполнять в образцах растений после лиофильной сушки.

В фиксированных воздушно-сухих образцах определяют все макроэлементы, то есть зольный состав растений, общее содержание белков, углеводов, жиров, клетчатки, пектиновых веществ. Высушивание растительных образцов до абсолютно сухого веса для проведения анализа недопустимо, так как нарушаются растворимость и физико-химические свойства многих органических соединений, происходит необратимая денатурация белков.

При анализе технологических свойств любых объектов, в том числе зерна, соломы льна, допускается сушка при температуре не более 30°C. Повышенные температуры изменяют свойства белково-углеводных комплексов в растениях и искажают результаты определения.

Фиксация растительного материала

Необходимость консервирования образца возникает тогда, когда невозможно быстро сделать анализы из растительного материала в свежем состоянии.

Сохранение органических и зольных веществ в растительных пробах в количествах, близких к их естественному состоянию, осуществляется за счёт фиксации. В настоящее время применяется температурная фиксация и лиофильная сушка, при которой растительные ферменты сохраняются в активном состоянии, а белки не денатурируют, иногда - обработка водяным паром под давлением или формалином, спиртом и другими антисептиками.

Температурная фиксация растительного материала проводится в сушильном шкафу, лучше с принудительной вентиляцией. Растительный материал помещают в пакеты из плотной бумаги типа «крафт» и загружают в сушильный шкаф, предварительно нагретый до 105-110°C. После загрузки выдерживают температуру 90-95°C в течение 10-20 минут в зависимости от свойств растительного материала. При такой температурной обработке за счёт паров воды происходит инактивация растительных ферментов.

Окончание фиксации проверяют следующим образом: вынимают из шкафа образцы, разворачивают - растительный материал должен быть влажным и вялым, при этом он должен сохранить свою окраску, т.е. не пожелтеть. Дальнейшее высушивание пробы проводят при доступе воздуха в открытых пакетах при температуре 50-60°C в течение 3-4 часов. Превышать указанные интервалы температуры и времени не следует. Длительное нагревание при высокой температуре приводит к термическому разложению многих азотсодержащих веществ и карамелизации углеводов растительной массы.

Растительные образцы с большим содержанием воды - корнеплоды, фрукты, ягоды и т.п. - разделяют на сегменты так, чтобы в анализ попали периферийные и центральная части плода. Набор сегментов для пробы составляют из сегментов больших, средних и маленьких плодов или клубней в соответствующем соотношении их в урожае. Сегменты средней пробы измельчают и фиксируют в эмалированных кюветах.

Если образцы объёмны, то надземную часть растений: листья, стебли, цветы, черешки, корзинки и т.д. - непосредственно перед фиксацией измельчают ножом или ножницами и быстро закрывают пакеты.

Если в образцах предполагается определение только набора химических элементов, их можно не фиксировать, а высушить при комнатной температуре. Однако высушивание растительного материала

лучше провести в термостате при температуре 40-60°C так как при комнатной температуре возможно загнивание массы и загрязнение пылевыми частицами из атмосферы.

Не подвергают температурной фиксации образцы зерна и семян, но высушивают их при температуре не выше 30°C.

Лиофилизация растительного материала (высушивание путём возгонки) основана на испарении льда, минуя жидкую фазу. Высушивание материала при лиофилизации проводится следующим образом: отобранный растительный материал замораживают до твёрдого состояния, заливая образец жидким азотом. Затем образец помещают в лиофилизатор, где при низкой температуре и в условиях вакуума происходит высушивание. При этом влага поглощается специальным осушителем (реактивом), в качестве которого используется силикагель, хлористый кальций и т.д. Лиофильная сушка подавляет ферментативные процессы, но сами ферменты сохраняются.

Размол растительных образцов и их хранение

Размол растений проводят в воздушно-сухом состоянии. Скорость размола увеличивается, если образцы предварительно подсушиваются в термостате. Отсутствие в них гигроскопической влаги определяется визуально: хрупкие, легко разламывающиеся в руках стебли и листья - наиболее пригодный материал для размола. Образцы для размола можно предварительно измельчить ножницами. Для размола объёмных образцов, весом более 30 г используют лабораторные мельницы ПРП-1, для размола небольших проб используют бытовые кофемолки типа «Пируэт». При очень малых количествах растительные пробы можно измельчить в фарфоровой ступке с последующим пропусканием материала через сито.

Измельчённый материал просеивается через сито. Диаметр отверстий зависит от специфики анализа: от 1 мм до 0,25 мм. Если в анализе не оговаривается особо тонина помола материала, берут сито 1 мм. Часть

материала, не прошедшая через сито, повторно измельчается на мельнице или в ступке. «Отброс» растительного материала не допускается, так как это изменяет состав средней пробы. Например, при размолу зерна на сите остаются отруби, которые с трудом измельчаются и не проходят через сито с первого просеивания. «Отброс» отрубей приводит к грубым ошибкам при анализе, в результате анализируется мука грубого помола (в основном эндосперм), а не целое зерно.

После размолу каждого образца рабочие органы мельницы и рабочую ёмкость тщательно очищают ёршиком и сухой хлопчатобумажной тканью. Только после этого приступают к размолу следующего образца.

При большом объёме размолотых образцов можно снизить объём, перейдя от средней лабораторной пробы к средней аналитической. *Вес аналитической пробы* составляет 10-50 г, а для зерна не менее 100 г. Отбор производится методом квартования. Лабораторная проба равномерно распределяется на бумаге или стекле в виде круга или квадрата. Шпателем делится на мелкие квадратики (2-3 см) или сегменты. Материал из несмежных квадратиков отбирается в аналитическую пробу.

Определение сухого вещества и гигроскопической влаги в анализируемом материале

Анализируемый материал, находящийся в соприкосновении с воздухом, поглощает некоторое количество воды, содержащейся в нем в виде пара. Эта поглощенная из воздуха вода называется *гигроскопической влагой*. При определении «сырого» протеина, крахмала и других веществ надо вычислить процентное содержание их в абсолютно сухом веществе. Для этого определяют содержание гигроскопической воды в измельченной средней пробе, которое зависит от вида ягод, семян, корнеплодов, клубней и другого растительного сырья, условий произрастания и других причин.

Ход анализа.

Чистые бюксы необходимо предварительно просушить в сушильном шкафу, охладить в эксикаторе и взвесить. Из подготовленной пробы, после тщательного перемешивания, отвешивают в бюксы навески размолотого материала по 5-10 г. Затем бюксы вместе со снятыми с них крышками помещают в сушильный шкаф, нагретый до 140°C, а после загрузки шкафа температуру снижают до 130°C. Бюксы выдерживают при температуре 130°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) в течение 40 минут, после чего закрывают их крышками, охлаждают 20-30 минут в эксикаторе над сухим хлористым кальцием и взвешивают.

Содержание воды рассчитывают по формуле:

$$\% \text{ гигроскопической влаги} = (a_1 - a_2) \cdot 100 : (a_1 - a)$$

где a - вес бюкса (г);

a_1 - вес бюкса с навеской до высушивания (г);

a_2 - вес бюкса с навеской после высушивания (г).

Процент сухого вещества вычисляют, вычитая из 100 полученный процент гигроскопической воды.

Определение общей кислотности в плодах и овощах

Значение анализа. Содержание органических кислот в свежих плодах и овощах имеет большое значение при их непосредственном использовании. Наличие кислот обычно бывает полезным явлением (щавель, лимон и др.). Иногда они ухудшают качество продукции. Избыток их в силосе снижает качество корма, в винограде - качество ягод и приготовляемого из него сока, вина и т.д.

Принцип метода. Основан на извлечении органических кислот из измельченной навески путем 30-минутного нагревания ее в дистиллированной воде на водяной бане при 80°C. Затем в фильтрате путем титрования 0,1 н. раствором NaOH устанавливается общее количество кислот. Найденная величина пересчитывается на яблочную кислоту путем умножения на коэффициент 0,0067.

Ход анализа.

Среднюю пробу измельчают на кухонной терке и после тщательного перемешивания отвешивают на технических весах в фарфоровой ступке 10 г. Затем смывают дистиллированной водой в мерную колбу на 200 мл.

Объем жидкости в колбе доводят примерно до 150 мл. Далее ее содержимое выдерживают до 0,5 часа на водяной бане при 80°C через каждые 5 минут колбу взбалтывают для лучшего взаимодействия навески с жидкостью.

После охлаждения объем жидкости доводят до 200 мл водой, взбалтывают и переносят на фильтр из ваты. Пробу фильтрата 50 мл переносят в стакан, добавляют 2-3 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором щелочи (NaOH).

Вычисление результатов производят по формуле:

$$X = a - T \cdot 40 \cdot 0,0067$$

где X - содержание растворимых кислот в пересчете на яблочную, %;

a - количество израсходованной щелочи на титрование, мл;

T - поправка к титру щелочи;

40 - поправка для перехода к 100 г исследуемого вещества;

0,0067 - коэффициент пересчета на яблочную кислоту.

Примерное содержание растворимых кислот в плодах и овощах
(в % к сырому весу в пересчете на яблочную кислоту)

Культура	%	Культура	%
Капуста белокочанная	0,09-0,33	Слива	0,39-1,72
Лук	0,05-0,14	Абрикос	0,75-2,50
Томаты	0,28-0,49	Черешня	0,31-0,84
Арбуз	0,04-0,07	Вишня	1,46-2,16
Тыква	0,03-0,10	Виноград	0,31-1,36
Дыня	0,05-0,09	Апельсин	0,42-2,55
Яблоня	0,19-1,64	Клюква	2,45-2,55
Груша	0,10-0,79	Лимон	5,74-8,33

Мокрое озоление растительного материала по Гинзбург

Принцип метода. В основу метода положены реакции гидролиза и окисления органических веществ растений смесью серной и хлорной кислот в соотношении 10:1 при нагревании. Основным окислителем является хлорная кислота (HClO_4).

Безазотистые органические вещества окисляются до воды и углекислоты, высвобождая зольные элементы в виде оксидов. Азотсодержащие органические соединения гидролизуются и, в конечном счёте, окисляются до воды и углекислоты, освобождают азот в виде аммиака, который немедленно связывается серной кислотой.

Таким образом, в растворе находятся зольные элементы в виде оксидов и азот в форме сернокислого аммония и аммонийной соли хлорной кислоты.

Метод мокрого озоления исключает потери азота, фосфора и калия в виде их оксидов, так как растительное вещество озоляется при температуре 332°C . Это температура кипения серной кислоты, у хлорной кислоты значительно меньшая температура кипения (121°C).

Необходимо помнить, что при добавлении избытка хлорной кислоты в процессе озоления происходят значительные потери азота (до 50%).

Ход анализа.

Навеску размолотого воздушно-сухого растительного материала 0,2-0,5 г, взятую на аналитических весах с точностью до $\pm 0,0001$ г, помещают в колбу Кьельдаля.

Навески в колбах Кьельдаля заливают смесью серной и хлорной кислот в объёме 5,0-10,0 cm^3 (соотношение 10:1) и тщательно перемешивают круговым вращением колбы, осторожно встряхивая и не допуская оседания навески на стенках колбы.

Оставляют колбы в лотке на 1,5-2 часа (можно на ночь) для первичного озоления растительного материала при комнатной температуре.

После этого колбы устанавливают на нагревательные приборы для

дальнейшего озоления и нагревают на слабом огне до образования однородной коричнево-бурой массы.

Температуру озоления повышают до слабого кипения раствора и продолжают озоление до полного его обесцвечивания.

Если раствор продолжает оставаться окрашенным в жёлтый или тёмно-бурый цвет, колбы охлаждают, добавляют 2-3 капли хлорной кислоты и продолжают нагревание. Количество хлорной кислоты, добавленное сверх указанной нормы, ускоряет процесс озоления, но приводит к существенным потерям азота в пробе.

Параллельно проводят контрольное озоление исходных реактивов без растительной пробы в аналогичном режиме.

После окончания озоления колбы Кьельдаля охлаждают на воздухе, затем в них приливают 10 см^3 дистиллированной воды и после перемешивания содержимого вновь охлаждают, доливают около 60 см^3 горячей дистиллированной воды.

Раствор из колбы Кьельдаля количественно переносят в мерную колбу на 100 см^3 . При этом колбу Кьельдаля многократно промывают небольшими (около 5 см^3) порциями горячей дистиллированной воды, сливая промывные воды в мерную колбу. После охлаждения объём в мерной колбе доводят до метки дистиллированной водой и после этого, закрыв пробкой, перемешивают.

В растворе определяют общий азот, фосфор и калий по соответствующим методикам.

Реактивы:

1. Серная кислота концентрированная ($d = 1,89$).
2. Хлорная кислота концентрированная.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ АЗОТА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

Определение содержания общего азота по Кьельдалю

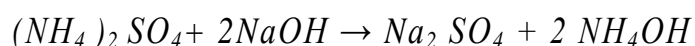
Азот, поглощённый растением в процессе вегетации, распределяется по органам растений неравномерно. Более высокое содержание азота наблюдается в генеративных органах, особенно в зерне, и меньше его концентрация в листьях, стеблях, корнях, корнеплодах, очень мало в соломе. Общий азот в растении представлен двумя формами: азотом белковым и азотом небелковых соединений. К последним относится азот, входящий в состав амидов, свободных аминокислот, нитратов и аммиака.

Содержание белка в растениях определяют исходя из количества белкового азота. Содержание белкового азота (в %) умножают на **коэффициент 6,25** при анализе вегетативных органов и корнеплодов и на **5,7** при анализе зерна.

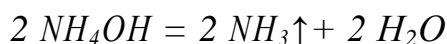
На долю небелковых форм азота приходится в вегетативных органах 10-30% от общего азота, а в зерне - не более 10%.

Содержание небелкового азота к концу вегетации снижается, поэтому в производственных условиях, особенно при анализе кормов, долей небелкового азота пренебрегают. Определяют в этом случае общий азот (в процентах) и его содержание пересчитывают на белок. Этот показатель называется «*Сырой белок*».

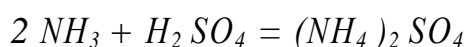
Принцип метода. Навеску растительного материала озоляют в колбе Кьельдаля концентрированной серной кислотой в присутствии одного из катализаторов: металлического селена, перекиси водорода и т.п. Температура озоления 332°C. В процессе гидролиза органической массы азот в колбе сохраняется в растворе в виде сульфата аммония. Для освобождения аммиака используют 40%-ный раствор щёлочи:



Отгон аммиака ведут в аппарате Кьельдаля при нагревании и кипении раствора. В кислой среде нет гидролитической диссоциации сульфата аммония, парциальное давление аммиака равно нулю. В щелочной среде происходит смещение равновесия, и в растворе образуется аммиак, который при нагревании легко улетучивается:



Аммиак не теряется, а переходит по холодильнику вначале в виде газа, а затем, конденсируясь, каплями попадает в приёмник с титрованной серной кислотой и связывается ею, вновь образуя сернокислый аммоний:



Избыток кислоты, не связанный с аммиаком, оттитровывается щелочью точно установленной нормальности по комбинированному индикатору или по метилроту.

Ход анализа.

На аналитических весах взять навеску растительного материала 0,3-0,5 ± 0,0001 г с помощью пробирки (по разности между весом пробирки с навеской и весом пробирки с остатками материала) и, надев на конец пробирки резиновую трубку длиной 12-15 см, осторожно опустить навеску на дно колбы Кьельдаля. Прилить в колбу небольшим цилиндром 10-12 см³ концентрированной серной кислоты (d = 1,84). Равномерное озоление растительного материала начинается уже при комнатной температуре, поэтому залитые кислотой навески лучше оставить на ночь.

Поставить колбы на электроплитку или специальную установку и проводить постепенное сжигание, вначале на слабом огне (положить асбест), затем на сильном, периодически осторожно взбалтывая колбы. Когда раствор станет однородным, прибавить катализатор (несколько кристаллов селена или несколько капель перекиси водорода) и продолжить сжигание до полного обесцвечивания раствора.

Катализаторы. Повышению температуры кипения серной кислоты

и ускорению озоления способствует применение катализаторов. В различных модификациях метода Кьельдаля используют металлические ртуть и селен, сернокислый калий, сернокислую медь, перекись водорода. Использовать для сжигания в качестве катализатора хлорную кислоту отдельно или в смеси с серной кислотой не рекомендуется. Скорость окисления материала обеспечивается в этом случае не за счёт повышения температуры, а за счёт быстрого выделения кислорода, что сопровождается потерями азота при озолении.

Отгон аммиака. После окончания сжигания колбу Кьельдаля охлаждают и в неё осторожно приливают по стенкам дистиллированную воду, перемешивают содержимое и ополаскивают горлышко колбы. Первую порцию воды наливают до горлышка и количественно переносят в круглодонную колбу ёмкостью 1 дм³. Колбу Кьельдаля ещё 5-6 раз промывают небольшими порциями горячей дистиллированной воды, сливая каждый раз промывные воды в отгонную колбу. Наполняют отгонную колбу промывными водами до 2/3 её объёма и добавляют 2-3 капли фенолфталеина. Малое количество воды затрудняет парообразование при отгоне, а большое может вызвать переброс кипящей воды в холодильник.

В коническую колбу или химический стакан ёмкостью 300-400 см³ (приёмник) наливают из бюретки 25-30 см³ 0,1 н. H₂SO₄ (с точно установленным титром), добавляют 2-3 капли индикатора метилрота или реактива Гроака (лиловая окраска). Кончик трубки холодильника погружают в кислоту. Отгонную колбу ставят на нагреватель и подсоединяют к холодильнику, проверяя герметичность соединения. Для разрушения сернокислого аммония и отгона аммиака используют 40%-ный раствор щёлочи, взятый в таком объёме, который в четыре раза превосходит объём концентрированной серной кислоты, взятой при сжигании пробы (при 10 см³ кислоты берут 40 см³ щёлочи).

Отгонную колбу прямо на нагревателе открывают, наклоняют, в левой руке удерживают колбу и пробку холодильника. В колбу по стенке

приливают отмеренное количество щёлочи так, чтобы она опустилась вся на дно колбы, и пробку холодильника быстро закрывают. Это вызвано тем, что реакция взаимодействия щёлочи и сульфата аммония начинается и без нагревания, что приводит к потерям аммиака. Горлышко колбы нельзя по всей поверхности заливать щёлочью, так как пробка холодильника выскочит при кипячении.

Закрытую колбу осторожно и тщательно взбалтывают круговыми движениями, при этом в стакан-приёмник проскакивают первоначально пузырьки воздуха. Раствор в колбе сначала становится красного цвета, а затем темнеет, и при нагревании появляется объёмный осадок. Включают нагреватель и холодильник и приступают к отгону аммиака. Через 20-25 минут после начала отгона опускают стакан-приёмник так, чтобы раствор аммиака из холодильника стекал по стенке стакана. Кипение в отгонной колбе должно быть равномерным и достаточно интенсивным, иначе кислота из стакана будет засасываться в холодильник за счёт перепада внутреннего и наружного давления газов. Если засасывание началось, надо усилить нагрев отгонной колбы и вынуть конец трубки холодильника из раствора кислоты, для этого опустить стакан-приёмник.

Отгон считать законченным, когда содержимое отгонной колбы испарится до $1/3$ первоначального объёма. Полноту отгона аммиака проверяют универсальным индикатором, лакмусом или реактивом Несслера, для чего берут несколько капель из холодильника на индикаторную бумагу или в пробирку, куда добавлен реактив Несслера. Он даёт с аммиаком жёлтое окрашивание.

Если в процессе отгона жидкость в приёмнике изменит окраску, необходимо добавить точно фиксированное количество $0,1$ н. H_2SO_4 (20 см³), так как первоначального объёма кислоты не хватило для связывания аммиака.

По окончании отгона носик холодильника споласкивают дистиллированной водой из промывалки в приёмник.

Содержимое приёмника титруют 0,1 н. раствором едкого кали, перемешивая осторожно стеклянной палочкой, до перехода окраски метилового красного в бесцветную, а по реактиву Гроака - от лиловой в светло-зелёную. Здесь интенсивность окраски зависит от количества индикатора.

Количество аммиака находят по разности между количеством кислоты в приёмнике, первоначально прилитой, и количеством кислоты, которая не связалась с аммиаком и оттитрована впоследствии щёлочью.

Расчёт:

$$\text{Содержание общего азота: } N(\%) = \frac{(a_{н.к} - b_{н.щ}) \cdot 14 \cdot 100}{H \cdot 1000}$$

где: a - объём H_2SO_4 в приёмнике, $см^3$;

$н.к$ - нормальность H_2SO_4 , мг·экв;

b - объём щёлочи, израсходованный на титрование, $см^3$;

$н.щ$ - нормальность щёлочи, мг·экв;

14 - атомная масса азота;

H - навеска, г;

1000 - коэффициент пересчёта мг в г.

Форма записи

№ образца	Навеска (Н), г	Кислота		Щелочь		Масса азота, г	N, %
		a , $см^3$	$н.к$	b , $см^3$	$н.щ$		
1	0,5043	25	0,1205	19,6	0,1124	14	1,97

Реактивы:

1. Серная кислота концентрированная ($d= 1,84$).
2. 40%-ный раствор щёлочи.
3. Селен металлический порошок.
4. 0,1 н. раствор H_2SO_4 , готовится из фиксаля.

5. 0,1 н. раствор NaOH или KOH, готовится из фиксанала.

6. Индикатор Гроака комбинированный, при pH 5,5 - чёткое изменение фиолетового цвета в зелёный.

Определение белкового азота

В растительных тканях содержание белков обычно ниже, чем содержание углеводов, тем не менее, по значимости белки являются главным компонентом растительных клеток, так же как клеток бактерий и животных.

Молекула белка состоит из одной или нескольких полипептидных цепочек, каждая из которых содержит не менее ста аминокислотных остатков ковалентно связанных между собой пептидными связями. Белковые молекулы взаимодействуют с водой, с органическими и неорганическими веществами, а также с такими биополимерами, как нуклеиновые кислоты, которые выполняют в растениях множество различных функций: регуляторные, транспортные, защитные. Высокой активностью, специфичностью и лабильностью отличаются ферменты, то есть белки, которые выполняют функции биологических катализаторов. Запасные белки отличаются большей стабильностью, их энергия в основном реализуется в процессах прорастания семян.

Содержание и свойства белков в различных растительных объектах подчиняются ряду общих закономерностей: так, известно, что содержание белка в зерне увеличивается с повышением температуры и снижением относительной влажности воздуха, то есть в районах юго-востока содержание белка всегда выше, чем в аналогичных видах и сортах растений, выращенных в условиях северо-западных регионов. Содержание белка обычно отрицательно коррелирует с продуктивностью растений за счет явления «ростового разбавления», если дополнительно в почву не вносят азотные удобрения. Такие агротехнические приемы, как орошение, связанное с интенсивным синтезом биомассы, приводят к некоторому снижению

содержания белка в зерне.

Увеличение содержания белка связано в основном с применением определенных доз азотных удобрений в сочетании с фосфорными и калийными, а для зернобобовых культур - с внесением молибдена и известкованием почвы. Фосфорные удобрения положительно влияют на синтез белка в вегетативных органах. Влияние агротехнических приемов на синтез белка часто превышает разницу в содержании белка, которая проявляется за счет видовых и сортовых различий.

На долю белкового азота приходится основная часть азота растений. Методы определения содержания белкового азота широко используются для расчета количества белков и оценки качества растительной продукции в пищевой промышленности, зоотехнике для составления рационов, в медицине для разработки лечебных диет, в селекции, агрохимии для оценки влияния удобрений и других агротехнических факторов на качество получаемой продукции.

Принцип метода. Методы определения белкового азота включают выделение белка из общей растительной массы. Для этого белок переводят в осадок, а небелковые азотистые соединения, хорошо растворимые в водных растворах, отмывают водой или слабым раствором осадителя.

Отмытый и подсушенный белок сжигают в концентрированной серной кислоте, при этом получают следующие продукты окисления: H_2O , CO_2 , SO_4^{2-} - из сульфгидрильных групп белка, а NH_2 превращается в NH_4^+ , образуя растворимую соль, которая сохраняется в колбе. Полученный азот в виде аммиака отгоняют в аппарате Кьельдаля и результаты пересчитывают на белок.

Осаждение белка из раствора проводят одним из следующих реактивов: уксуснокислым свинцом $(CH_3COO)_2Pb$, медным купоросом $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, натрием сульфосалициловым, трихлоруксусной кислотой, фосфорновольфрамовой кислотой и другими.

В зависимости от осадителя различают и методы анализа.

Метод Барнштейна основан на осаждении белков медным купоросом в щелочной среде. Этот метод применяется как основной при экспертной оценке. Практика показывает, что по этому методу получаются несколько завышенные результаты, так как осаждаются не только белки, но и азот нуклеиновых кислот, азотистых оснований, алкалоидов. При массовых определениях используется менее трудоёмкий **метод Плешкова**, где осаждение белков проводят трихлоруксусной кислотой (ТХУ).

Определение белкового азота можно проводить в сыром и воздушно-сухом растительном материале. Для анализа семян берут навеску 0,2-0,3 г, а для вегетативных органов в воздушно-сухом состоянии - около 0,5 г. При анализе растений в свежем состоянии клубни, корни, листья, стебли предварительно измельчают и берут на аналитических весах 5-7 г материала. Навески свежего материала берут на часовом стекле и смывают содержимое в стакан с дистиллированной водой. Одновременно в бюкс берут навеску материала 3-5 г для определения влажности.

Метод Плешкова для определения белкового азота с трихлоруксусной кислотой (ТХУ)

Процесс осаждения белкового азота можно ускорить, используя в качестве осадителя 50%-ную трихлоруксусную кислоту (CCl_3COOH), при этом сильно снижается объём осадка. Метод широко применяется при массовых анализах.

Ход анализа.

Навеску измельчённого растительного материала 3-5 г свежего или 0,3-0,5 г фиксированного материала переносят в стакан ёмкостью 150 см³, добавляют 25 см³ дистиллированной воды, помешивая стеклянной палочкой с резиновым наконечником, нагревают до кипения и, не охлаждая раствора, прибавляют 5 см³ 50%-ной трихлоруксусной кислоты, тщательно перемешивают. Растительный материал с высоким содержанием крахмала нагревают на водяной бане при 40-50°C в течение 10 минут.

Осаждённый белок оставляют на 0,5-1 час, затем фильтруют через беззольный рыхлый фильтр методом декантации, промывая осадок в стакане и на фильтре небольшими порциями 2%-ной трихлоруксусной кислоты. Общий объём промывного раствора 200 см³. Осадок полностью переносят на фильтр.

Отмытый белок на фильтре прямо с воронкой подсушивают в термостате при температуре 50-60°C примерно 1 час. Когда фильтр начнёт отставать от воронки, его осторожно сворачивают в трубочку и опускают на дно колбы Кьельдаля. Приливают, в зависимости от размера навески и величины фильтра, 10-20 см³ H₂SO₄ (конц.) цилиндром или автоматической пипеткой. Горло колбы закрывают стеклянной круглой пробкой, которая предохраняет кислоту от выкипания. При этом за счёт процесса дегидратации под влиянием концентрированной серной кислоты происходит «обугливание» фильтра и белкового остатка. Чёрная пористая масса в колбе постепенно разжижается при нагревании. Если этого не происходит, в колбу следует добавить ещё 5-7 см³ концентрированной серной кислоты.

Первоначально озоление ведут при комнатной температуре до полного разрушения фильтра, слегка подогревая колбу на электроплитке, пока её содержимое не приобретёт однородную густо-масляную консистенцию коричнево-бурого цвета. Для равномерного озоления, колбу, залитую кислотой, лучше оставить на ночь.

Колбу помещают на электроплитку или в специальный электронагреватель. Вначале процесс озоления ведут на слабом огне, используя регулировку печи реостатом или подкладывая под колбу асбест. Нельзя допускать, чтобы вспенивающаяся масса поднималась вверх по горлу колбы. Если на горле колбы оказались углистые частицы или возникло небольшое вспенивание, колбу охлаждают и смывают их осторожно каплями серной кислоты из пипетки. В колбу добавляют один из катализаторов после того, как раствор в колбе станет однородным. Озоление следует проводить при равномерном, но не бурном кипении серной кислоты, чтобы избежать потерь

азота, периодически осторожно взбалтывая колбу.

Сжигание ведут до тех пор, пока раствор в колбе совершенно не обесцветится. Обычно озоление органического вещества происходит за 3-8 часов в зависимости от вида материала, навески и интенсивности нагревания. Содержимое колбы Кьельдаля после окончания сжигания переносят количественно в отгонную колбу аппарата Кьельдаля и проводят отгон аммиака.

Расчёт:

$$\text{Содержание белкового азота: } N(\%) = \frac{(a_{н.к} - b_{н.щ}) \cdot 14 \cdot 100}{H \cdot 1000}$$

где: a - объём H_2SO_4 в приёмнике, $см^3$;

$n_{.к}$ - нормальность H_2SO_4 , мг·экв;

b - объём щёлочи, израсходованный на титрование, $см^3$;

$n_{.щ}$ - нормальность щёлочи, мг·экв;

14 - атомная масса азота;

H - навеска, г;

1000 - коэффициент пересчёта мг в г.

Реактивы:

1. 50%-ный раствор трихлоруксусной кислоты, 2%-ный раствор ТХУ.
2. Реактив Гроака, смешанный индикатор, при рН 5,5 - чёткое изменение фиолетового цвета в зелёный.
3. Катализаторы:
 - а) металлический порошок селена - 0,05 г;
 - б) сернокислый калий, сернокислая медь и др.

Определение содержания нитратов в растительной продукции

Применение азотных удобрений, особенно в повышенных дозах, способствует изменению не только выноса азота растениями, но и накоплению и изменению состава образующихся в тканях растений

азотистых веществ, в том числе небелковых - нитратов и нитритов.

Повышенное накопление нитратов в растениях может быть не только при высоких дозах минеральных азотных удобрений, но и при внесении высоких доз органических удобрений, а также на высоко гумусированных почвах, если создаются благоприятные условия для минерализации органического вещества и мобилизации почвенного азота.

Нитраты и нитриты являются естественными компонентами растений, начальным звеном в биосинтезе белка. Использование нитратного азота в метаболизме органических веществ возможно лишь после восстановления нитратов до аммония. Первым промежуточным продуктом восстановления нитратов являются нитриты. Растения, накапливая нитраты и нитриты в больших количествах, не страдают от их избытка, но эти соединения весьма токсичны для человека и животных, особенно опасны нитриты, токсичность которых в 10 раз выше, чем нитратов. Нитриты в организме человека и животных переводят двухвалентное железо гемоглобина в трехвалентное. Образующийся при этом *метагемоглобин* не способен переносить кислород. Нитриты могут вступать в необратимую реакцию с гемоглобином, образуя *нитрозогемоглобин*, который тоже не способен переносить кислород, в результате чего наблюдается кислородное голодание тканей живого организма. Кроме того, нитриты в кислой среде реагируют с вторичными аминами, образуя *нитрозоамины*. Эти соединения наиболее опасны для человека и животных, так как обладают канцерогенными, мутагенными и эмбриотропными действиями на организм. На восстановление нитратов в растениях влияют не столько дозы азота, сколько освещение, агротехника, соотношение питательных веществ, погодные условия. Преобладание азота над фосфором и калием в почве, дождливая погода способствует накоплению нитратов в растениях.

Уровень накопления нитратов и нитритов в растениях также зависит от форм применяемых удобрений (азотных), биологических особенностей и фазы развития растений. В процессе вегетации содержание нитратов в

растениях, как правило, снижается, поэтому убирать их, особенно овощные культуры, необходимо в оптимальные сроки.

Снижению содержания нитратов способствует также оптимальный световой режим, выбор доз, форм, сроков и способов применения удобрений, а также сбалансированное минеральное питание растений. Так, калий, магний, молибден, сера, марганец, бор и железо в значительной мере способствуют усиленному использованию нитратов в азотном обмене и снижают их количество в растениях.

Повышенное содержание нитратов в овощах и кормах препятствует их использованию в пищу человеку и животным. Поэтому необходим строгий контроль содержания нитратов и нитритов в растениеводческой продукции.

Для нитратов и нитритов установлены **предельно допустимые концентрации (ПДК)** в растениях - в плодах, овощах и кормах.

Для определения содержания нитратов в растениях разработан ряд методов. Наибольшее распространение получил в настоящее время и принят стандартным ионометрический экспресс-метод.

Ионометрический метод определения нитратов

Ионометрический метод определения нитратов позволяет проводить экспресс-анализ ягод, овощей, зеленых кормов, сена, силоса, сенажа, витаминной муки, корнеплодов и т.д.

Принцип метода. Нитраты извлекают раствором алюмокалиевых квасцов с последующим измерением концентрации нитратов в растворе с помощью ион-селективного электрода. Данный метод не пригоден при содержании в анализируемом материале хлоридов в концентрации, в 50 раз превышающей концентрацию нитратов. Чувствительность метода 6 мг/дм³. Предел определения нитратов в сухом образце 300 см³, в сыром 24-30 см³. Ошибка метода ±12%.

Ход анализа.

Сухой растительный материал предварительно размолоть на лабо-

раторной мельнице до полного прохождения через сито с диаметром отверстий 1 мм. Навеску материала массой $1 \pm 0,01$ г помещают в колбу 100-200 см³, приливают 50 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов и взбалтывают на ротаторе в течение 3 минут. В полученной суспензии определяют концентрацию нитрат-ионов.

При анализе сырого материала образец предварительно измельчают до размера частиц не более 1 см. Навеску материала 10 г с точностью 0,1 г помещают в стакан гомогенизатора, приливают 50 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов (соотношение 1:5) и гомогенизируют в течение 1 минуты при 6000 об./мин. При отсутствии гомогенизатора сырой материал, содержащий твердые ткани, растирают в ступке с прокаленным песком или с битым стеклом до однородной массы и переносят с помощью 50 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов в коническую колбу на 100-200 см³ и встряхивают на ротаторе в течение 3 минут.

В полученной суспензии определяют содержание нитратов.

При определении нитратов в растениях семейства крестоцветных при $pC_{NO_3^-}$ в суспензиях менее 2,5 ед. необходимо разведение в 20 раз, а при $pC_{NO_3^-}$ от 2,5 до 3,0 - в 10 раз. Для этого суспензию фильтруют через бумажный фильтр, берут 2 см³ фильтрата и добавляют 38 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов при двадцатикратном разбавлении и соответственно 4 и 36 см³ при десятикратном. В разбавленном фильтрате измеряют концентрацию нитратов.

Измерение концентрации нитрат-иона проводится в единицах $pC_{NO_3^-}$ ($pC_{NO_3^-} = -\log(C_{NO_3^-})$) по шкале иономера, предварительно отградуированной по растворам сравнения или в милливольтках с последующим определением величины $pC_{NO_3^-}$ по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС электронной пары в растворах сравнения. Перед измерением нитратный ионселективный электрод тщательно ополаскивают дистиллированной водой и выдерживают в ней 10 минут.

Измерение концентрации иона нитрата в единицах $pC_{NO_3^-}$ по шкале прибора.

При непосредственном измерении $pC_{NO_3^-}$ прибор ежедневно настраивают в режиме «рХ» по растворам сравнения с $pC_{NO_3^-}$, равным 2 и 4, используя соответствующие ручки прибора. Раствор с $pC_{NO_3^-} = 3$ используют для контроля настройки. Отклонение значений $pC_{NO_3^-}$ от указанных не должно превышать 0,02 единицы. После градуировки прибора электроды тщательно ополаскивают дистиллированной водой, осушают фильтровальной бумагой и погружают в испытуемый раствор. Показания прибора считывают через 1 минуту после прекращения заметного дрейфа стрелки прибора. При переходе от одной пробы к другой электроды ополаскивают дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой.

Температура анализируемых растворов и растворов сравнения должна быть одинаковой. Настройку прибора проверяют по растворам сравнения не менее 3 раз в течение рабочего дня, используя каждый раз свежие порции растворов.

Измерение концентрации иона нитрата в милливольтгах.

При измерении в милливольтгах тумблер «Род работы» ставят в положение «мВ» и проводят измерение ЭДС в растворах сравнения, начиная с низшей концентрации. Электрод имеет линейную функцию в диапазоне от 1,0 до 4,0 ед. $pC_{NO_3^-}$ с наклоном (56 ± 3) мВ на ед. $pC_{NO_3^-}$. Если характеристика электрода отличается от заданной, электрод не пригоден для работы.

Величину $pC_{NO_3^-}$ в анализируемых пробах рассчитывают по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС в растворах сравнения с $pC_{NO_3^-}$, равным 1, 2, 3, и 4.

Обработка результатов.

Массовую долю нитратов в мг/кг продукции находят по величине $pC_{NO_3^-}$ с помощью вспомогательных таблиц 1-3 для анализа *сухого материала*, для анализа *материала, содержащего 80–90% воды* (огурцы, томаты, арбузы, дыни, капуста, лук на перо) и для анализа *материала, содержащего 70–80% воды* (картофель, морковь, столовая свекла, лук-

репка).

Реактивы:

1. 1%-ный раствор алюмокалиевых квасцов (экстрагирующий раствор). 10,0 ± 0,01 г алюмокалиевых квасцов (ГОСТ 4329, «ч.д.а.») помещают в колбу на 1 дм³, растворяют и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор можно хранить в банке с притертой пробкой не более 1 года. При появлении осадка или мути раствор заменяют новым.

2. Основной раствор концентрации 0,1 моль/л (раствор 1). 10,11 + 0,001 г KNO₃ (ГОСТ 4217, «х.ч.»). высушенного при температуре 100-105°C до постоянной массы, растворяют в растворе алюмокалиевых квасцов в мерной колбе на 1 дм³ и доводят до метки. Хранят в склянке с плотно притертой пробкой не более 1 года.

3. Растворы сравнения. Готовят из основного раствора KNO₃ в день проведения анализа, используя для разбавления 1%-ный раствор алюмокалиевых квасцов.

Раствор с концентрацией $C(\text{NO}_3^-) = 0,01$ моль/литр ($pC_{\text{NO}_3^-} = 2$) готовят десятикратным разбавлением основного раствора (1).

Раствор с концентрацией $C(\text{NO}_3^-) = 0,001$ моль/литр ($pC_{\text{NO}_3^-} = 3$) готовят десятикратным разбавлением раствора (2).

Раствор с концентрацией $C(\text{NO}_3^-) = 0,0001$ моль/литр ($pC_{\text{NO}_3^-} = 4$) готовят десятикратным разбавлением раствора (3).

Полученные растворы используют для градуировки иономера, проверки электродов и построения градуировочного графика.

4. Калий хлористый (ГОСТ 4234, «х.ч»).

5. Дистиллированная вода.

Таблица 1 - *Перевод величин $pC_{\text{NO}_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе сухого материала (соотношение массы пробы и объема экстрагирующего раствора – 1 : 50)*

$pC_{\text{NO}_3^-}$	<u>Сотые доли $pC_{\text{NO}_3^-}$</u> массовая доля нитрата, мг/кг
----------------------	---

	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
2,0	30900	30200	29510	28840	28180	27540	26920	26300	25700	25220
2,1	24550	23990	23440	22910	22390	21880	21380	20890	20420	19950
2,2	19500	19050	18620	18200	17780	17380	16980	16600	16220	15850
2,3	15490	15140	14790	14450	14130	13800	13490	13180	12880	12590
2,4	12300	12020	11750	11480	11220	10960	10720	10470	10230	10000
2,5	9772	9550	9333	9120	8913	8820	8511	8318	8128	7943
2,6	7762	7586	7413	7244	7079	6918	6761	6607	6457	6310
2,7	6166	6026	5888	5754	5623	5495	5370	5248	5129	5012
2,8	4898	4786	4677	4571	4467	4365	4266	4169	4074	3984
2,9	3980	3802	3715	3631	3548	3467	3388	3311	3236	3182
3,0	3090	3020	2951	2884	2818	2754	2692	2630	2570	2512
3,1	2455	2399	2344	2291	2239	2188	2138	2089	2042	1995
3,2	1950	1905	1862	1820	1778	1739	1698	1660	1622	1585
3,3	1549	1514	1479	1445	1413	1380	1349	1318	1288	1259
3,4	1230	1202	1175	1148	1122	1095	1072	1047	1023	1000
3,5	977	955	933	912	891	871	851	832	813	794
3,6	775	759	741	724	708	692	676	661	646	631
3,7	617	603	589	575	562	549	537	525	513	501
3,8	490	479	468	457	447	437	427	417	407	398
3,9	389	380	317	363	355	347	339	331	324	316
4,0	309									

Таблица 2 - Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе материала с содержанием воды 80-90%

$pC_{NO_3^-}$	<u>Сотые доли $pC_{NO_3^-}$</u> массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,6	9188	8979	8575	8375	8383	8189	8003	7821	7643	7469
1,7	7299	7133	6970	6812	6656	6505	6357	6212	6071	5933

1,8	5798	5666	5537	5411	5287	5267	5049	4935	4822	4712
1,9	6405	4500	4398	4298	4200	4104	4011	3920	3830	3743
2,0	3658	3575	3493	3414	3336	3260	3186	3113	3043	2973
2,1	2906	2840	2775	2712	2650	2590	2531	2474	2417	2362
2,2	2308	2256	2204	2154	2105	2057	2010	1964	1920	1876
2,3	1833	1792	1751	1711	1672	1634	1597	1560	1525	1490
2,4	1456	1423	1391	1359	1328	1298	1268	1239	1211	1184
2,5	1157	1130	1105	1080	1055	1031	1007	985	962	940
2,6	919	898	877	858	838	819	800	782	764	747
2,7	730	713	697	681	666	650	636	621	607	593
2,8	580	567	544	541	529	517	505	493	482	471
2,9	461	450	440	430	420	410	401	392	383	374
3,0	366	387	349	341	334	326	319	311	304	297
3,1	291	284	277	271	265	259	253	247	242	236
3,2	231	226	220	215	210	206	201	196	192	188
3,3	183	179	170	171	167	163	160	156	152	149
3,4	146	142	139	136	137	130	127	124	121	118
3,5	116	113	ПО	108	105	103	101	98,0	96,6	94
3,6	91,9	89,8	87,7	85,8	83,3	81,9	80,0	78,2	76,4	74,7
3,7	73	71	69,7	68,1	66,6	65,0	63,6	61,1	60,7	59,3
3,8	58	56,7	55,4	54,1	52,9	51,7	50,5	49,3	48,2	47,1
3,9	46,1	45,0	44,0	43,0	42,0	41,0	40,1	39,3	38,3	37,4
4,0	36,1	35,7	34,9	34,1	33,4	32,6	30,9	31,1	30,4	29,7

Таблица 3 - Перевод величин pC_{NO_3} в массовую долю нитрата при анализе материала с содержанием воды 70-80%

pC_{NO_3}	Сотые доли pC_{NO_3} - массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,6	9033	8827	8626	8430	8238	8003	7867	7688	7513	7342

1,7	7175	7012	6852	6696	6544	6357	6249	6107	5968	5832
1,8	5699	5570	5443	5319	5198	5079	4964	4851	4740	4633
1,9	4527	4424	4323	4225	4129	4035	3943	3853	3665	3680
2,0	3596	3514	3434	3356	3280	3205	3132	3061	2991	2923
2,1	2856	2791	2728	2666	2605	2546	2488	2431	2376	2322
2,2	2269	2217	2167	2117	2069	2022	1976	1931	1887	1844
2,3	1802	1761	1721	1682	1644	1606	1570	1534	1499	1465
2,4	1432	1399	1367	1366	1306	1276	1247	1218	1191	1164
2,5	1137	1111	1086	1061	1037	1013	990	968	946	924
2,6	903	883	863	843	824	805	787	769	751	734
2,7	717	701	685	670	654	639	625	611	597	583
2,8	570	557	544	532	520	508	495	485	474	463
2,9	453	442	432	422	413	403	394	385	377	368
3,0	360	351	343	336	328	320	313	306	299	292
3,1	286	279	273	267	261	255	249	243	238	232
3,2	227	222	217	212	207	202	198	193	189	184
3,3	180	176	172	168	164	161	157	153	150	146
3,4	143	140	137	134	131	128	125	122	119	116
3,5	114	111	109	106	104	101	99	97	95	92
3,6	90,3	88,7	86,3	84,3	82,4	80,5	78,7	76,9	75,1	74,4
3,7	71,7	70,1	68,5	67,0	65,4	63,9	62,5	61,1	59,7	58,3
3,8	57,0	55,7	54,4	53,2	52,0	50,8	49,6	48,5	47,4	46,3
3,9	45,3	44,2	43,2	42,2	41,3	40,3	39,4	38,5	37,7	36,8
4,0	36,0	35,1	34,3	33,6	32,8	32,0	31,3	30,6	29,9	29,2

Оборудование:

1. Весы лабораторные (до 500 г).
2. Колбы мерные на 50 и 100 см³.
3. Гомогенизатор (6000 об./мин.).
4. Скальпель.
5. Ротатор.

6. Терка.
7. Мезгообразователь.
8. Фарфоровая ступка.

Допустимое содержание нитратов в растениях (ПДК)
(содержание NO_3^- мг на 1 кг сырой продукции)

Продукт	Допустимое содержание мг NO_3^- /кг	
	открытый грунт	защищенный грунт
Картофель	250	
Капуста белокочанная, ранняя (до 1 сентября)	900	
Капуста белокочанная поздняя	500	
Морковь ранняя (до 1 сентября)	400	
Морковь поздняя	250	
Томаты	150	300
Огурцы	150	400
Тыква	200	
Листовые овощи (салат, укроп, петрушка, кинза, шпинат и др.)	2000	3000
Свекла столовая	1400	
Лук репчатый	80	800
Лук перо	600	
Дыни	90	
Арбузы	60	
Перец сладкий	200	400
Кабачки	400	400
Виноград столовых сортов	60	
Яблоки	60	
Груши	60	

- Подготовка мембранного ионселективного нитратного электрода и вспомогательного электрода к работе. Мембранный электрод ЭМ- NO_3^- -01*
1. Внутреннюю полость электрода дважды промыть дистиллированной водой, затем дважды промыть приэлектродным раствором с концентрацией 0,1 и 0,005 моль/дм³ KCl.
 2. Снять чехол и установить мембрану, предварительно залив в корпус 1,5

см³ свежеприготовленного раствора 0,1 моль/дм³ KNO₃.

3. Вымочить мембрану в корпусе электрода в течение суток в растворе с концентрацией 0,1 моль/дм³ KNO₃.

4. В перерывах между работой нитратный электрод хранить в растворе KNO₃ с концентрацией 0,1 моль/дм³.

Вспомогательный электрод. Залить внутрь электрода насыщенный при 20°C раствор KCl и выдержать его в этом растворе в течение суток.

Определение содержания нитратов с помощью нитратомера НМ-002

Нитратомер НМ-002 предназначен для экспресс-анализа азота нитратов в водных растворах проб почвы, воды и растительной продукции методом прямой потенциометрии с помощью электродной системы, включающей ионселективный и вспомогательный электроды.

Подготовка к анализу материалов, реактивов и электродов та же, что и при определении нитратов описанным выше методом.

Нитратомер может работать в режиме измерения концентрации азота нитратов от 1,5 до 1999 мг/кг, а также в режиме определения абсолютного значения ЭДС от 0 до 1000 мВ, либо приращения ЭДС электродной системы от -199 до +199 мВ.

Измерительный преобразователь нитратомера НМ-002 преобразует ЭДС электродной системы в измеряемой пробе в значение концентрации азота нитратов в соответствии со статистической функцией:

$$C = K \cdot 10 \cdot (E - E_1) / S,$$

где C - концентрация азота, мг/кг;

K - коэффициент пропорциональности, устанавливаемый методикой подготовки пробы и учитываемый при калибровке прибора, $K = 1,0-15$ мг/кг;

E_1 - ЭДС электродной системы в калибровочном растворе, соответствующем известной концентрации азота нитратов C_1 , $E_1 = (0 \pm 1000)$ мВ;

S - крутизна характеристики электродной системы, $S = \pm (5,6 \pm 6)$ мВ при

20°C;

E_1 - характеристика электродной системы,

$$E = E_0 + pC_{\text{NO}_3^-},$$

где E_0 - ЭДС электродной системы при $pC_{\text{NO}_3^-} = 0$ - величина, зависящая от данного измерительного и вспомогательного электродов, $E_0 = (0 \pm 1000)$ мВ.

При анализе почвы, пересчет величины $pC_{\text{NO}_3^-}$ в массовую долю азота нитратов используют $K = 3,5$ мг/кг (по ГОСТ).

При анализе растений устанавливается пересчетный коэффициент:

$K = 3,6$ мг/кг при анализе продукции с содержанием воды 70-80%,

$K = 3,66$ мг/кг при анализе продукции с содержанием воды 80-90%.

Для расчета концентрации нитратов в пробе растений результат измерения следует умножить на 10.

Калибровка прибора.

1. Калибровку прибора начинают с раствора с наименьшей концентрацией $pC_{\text{NO}_3^-} = 4$.
2. Промытые дистиллированной водой и протертые фильтровальной бумагой электроды поместить в раствор с $pC_{\text{NO}_3^-} = 4$.
3. Через 1-2 минуты при нажатой кнопке «>0<» установить на жидкокристаллическом индикаторе (ЖКИ) «0,00 мВ», отжать кнопку «>()<».
4. Регулировкой «К1» установить на ЖКИ «03,6» при анализе растительной пробы или «03,5» при анализе почвы.
5. Вынуть электроды из раствора, промыть дистиллированной водой, протереть и поместить в раствор с $pC_{\text{NO}_3^-} = 2$. Нажать кнопку «>0<».
6. Через 1-2 минуты записать приращение ЭДС электродной системы в растворе с $pC_{\text{NO}_3^-} = 2$.
7. Отжать кнопку «>0<».
8. Регулировкой «К2» установить на ЖКИ 360 или 366 при анализе

растительной пробы, в зависимости от характера исследуемого материала, или 350 – при анализе почвы. Вынуть электроды из раствора, поместить в дистиллированную воду, объемом не менее 50 см³ и промыть в ней до показаний иономера менее «01,0». При необходимости сменить воду и повторить промывку. Электроды протереть и поместить в раствор с $pC_{NO_3^-} = 3$. Нажать кнопку «>0<».

9. Через 1,5-2 минуты записать приращение ЭДС системы в растворе с $pC_{NO_3^-} = 3$. Нажать кнопку «>0<». Записать показания иономера.

10. В контрольном растворе с $pC_{NO_3^-} = 3$ после калибровки прибора на ЖКИ должно высветиться «36,0 ± 4,2» или «36,6 + 4,2» при анализе растений, или «35,0 + 4,2» при анализе почвы.

Приращение ЭДС при переходе от раствора с $pC_{NO_3^-} = 4$ к раствору с $pC_{NO_3^-} = 3$ или от раствора с $pC_{NO_3^-} = 3$ к раствору с $pC_{NO_3^-} = 2$ должно составлять не менее 53 мВ при 25°C.

После калибровки прибора электроды ополаскивают в дистиллированной воде и промокают фильтровальной бумагой. Затем проводят определение в исследуемых растворах.

При перерывах в работе более 1 ч электроды хранят в 0,0001 н. растворе KNO₃.

Аппаратура:

Иономер типа ЭВ-74, pH-милливольтметр pH-340, pH-121, pH-150 или аналогичные приборы с погрешностью измерения 5 мВ/0,06 $pC_{NO_3^-}$.

Электроды: ионселективные типа ELIT 021 (и аналогичные) и электрод сравнения - хлорсеребряный, насыщенный образцовый 2-го разряда по ГОСТ 17792.

***Определение содержания нитратов в тканях, мезге и соке растительной продукции с помощью нитратного ионоселективного датчика
(модификация ЦИНАО)***

Метод основан на определении концентрации нитратов в продукции растениеводства при непосредственном их измерении в тканях растений и плодах или в мезге (измельченной массе) с помощью нитратного ионоселективного датчика. Нижний предел обнаружения нитратов 6 мг на 1 дм³ анализируемого раствора. Предел надежного определения нитратов в анализируемой пробе 12 млн. ⋅¹ (мг/кг).

Подготовка электродов к анализу.

Мембранный ионоселективный нитратный электрод и хлор-серебряный электрод сравнения готовят к работе в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к ним.

В промежутках между измерениями нитратный ионоселективный электрод погружают в раствор с $p_{\text{CNO}_3} = 4$. Если перерывы в работе составляют сутки и более, электрод хранят в растворе азотнокислого калия с концентрацией $C(\text{NO}_3^-) = 0,001$ моль/дм³. При длительных перерывах в работе (более 5 дней), электрод хранят на воздухе, а перед началом работ вымачивают электрод в растворе азотнокислого калия с концентрацией $C(\text{NO}_3^-) = 0,1$ моль/дм³. В обоих случаях перед началом измерений электрод промывают в дистиллированной воде не менее трех раз.

Хлорсеребряный электрод сравнения в перерывах между исследованиями погружают в стакан с дистиллированной водой или хранят в соответствии с инструкцией к датчику.

Подготовка проб к анализу.

Для анализа берется представительная проба. Рекомендуется от реализуемой партии 5-50 кг брать из одной точки пробу арбуза, дыни, капусты, кабачков (I группа) до 3 кг; свеклы, моркови, картофеля, баклажана, перца, огурца, яблока (II группа) до 1 кг; редиса, петрушки, салата, лука, укропа до 0,25 кг; ягод до 0,050 кг (III группа).

Если реализуемая партия продукции составляет 50-500 кг, то соответственно берут пробу для I группы из трех точек - 3-5 кг, для II группы

из 5-8 точек - 7 кг, для III группы из 20 точек - 0,5 кг, а ягод - до 0,100 кг и т.д.

Картофель, корнеплоды, плоды и овощи, отобранные для анализа, должны быть отмыты от земли, обсушены фильтровальной бумагой или сухой мягкой тканью.

Для непосредственного измерения нитратов в продукции растениеводства пробы для анализа готовятся в зависимости от вида растений, их консистенции и распределения нитратов в различных частях растений и плодов.

Для ряда культур непосредственное измерение нитратов в измельченной массе не представляется возможным в связи с завышением результатов при данном способе определения. К таким культурам относятся слива, вишня, персики, груши, яблоки и крыжовник. Для этих культур с невысоким содержанием нитратов с целью повышения точности измерений предлагается проводить определение в суспензии с алюмокалиевыми квасцами при отношении пробы к экстрагенту 1 : 1.

Подготовка проб для непосредственного измерения нитратов в тканях или мезге.

В культурах с мягкой консистенцией округлой формы, где нитраты распределены равномерно по всей ткани, измерение их следует проводить следующим образом:

В томатах на продольном разрезе в перемешанную мякоть погружают нитратный датчик (ионоселективный электрод) и проводят измерение в единицах, предусмотренных инструкцией к прибору.

В ягодных культурах (земляника, виноград, красная смородина) следует раздавить ягоды, перемешать и сделать замеры в мезге с помощью нитратного датчика.

В плодах семейства тыквенных (тыква, огурцы, дыни, арбузы, кабачки, патиссоны) и баклажанах содержание нитратов распределено послойно,

повышаясь от центра к периферии, достигая максимума около кожуры и в самой кожуре. Неравномерное распределение нитратов наблюдается и по продольной оси, снижаясь от места прикрепления плода к противоположному концу. Поэтому измерение нитратов следует проводить в продольном разрезе.

Продольный разрез арбуза делается с учетом того, чтобы для анализа использовалась, как затемненная, так и бывшая на солнце сторона арбуза. Теркой или ножом делается соскоб по всей поверхности съедобной части арбуза (без корки), масса разминается, перемешивается и в мезгу помещается нитратный датчик для измерения.

У дыни и тыквы удаляются внутренняя семенная часть и несъедобная корка, и делается соскоб вдоль всей длины 1/4 части продольного разреза.

У огурцов, кабачков, баклажанов и патиссонов соскоб теркой или ножом делается со всей поверхности продольного разреза по центру. В полученной от соскоба мезге, предварительно перемешанной, проводят измерение нитратов.

В корнеплодах (морковь, свекла) нитраты распределены неравномерно. Наибольшее содержание нитратов наблюдается в тканях проводящей системы, т.е. в сердцевине корнеплода, а максимум приходится на кончик корнеплода с постепенным снижением к верхушке (к листовой розетке), максимум также наблюдается в нижней части черешков листьев.

Для измерения нитратов используется мезга, полученная при равномерном соскобе теркой на продольном разрезе корнеплода по центру. Полученная мезга перемешивается, и нитраты измеряют, используя нитратный датчик.

В клубнеплодах (картофель) содержание нитратов распределено равномерно по ткани клубня с некоторым повышением в шкурке. Делается соскоб теркой или ножом по всей поверхности продольного разреза по центру. В перемешанную мезгу помещают нитратный датчик для измерения нитратов.

В культурах семейства капустных (редис, редька, репа и капуста разных видов) определение непосредственно в тканях или мезге не рекомендуется, так как определению мешают тиогликозиды.

В зеленых культурах (салат, укроп, петрушка, сельдерей, кинза) максимум содержания нитратов приходится на основание листа (черешок). Поскольку измельчать зеленные - это трудоемкий процесс, следует из черешков выдавить сок и измерить в нем содержание нитратов нитратным датчиком. Положительную оценку качества продукции можно делать в случае, если содержание нитратов не превышает ПДК.

Для предварительной оценки качества продукции на содержание нитратов в вышеперечисленных культурах можно пользоваться индикаторными точками, где сосредоточено максимальное содержание нитратов.

Индикаторные точки:

» для огурца, дыни, патиссона, арбуза, кабачка, баклажана - части плода у места прикрепления к растению,

» для томатов, картофеля, ягод, яблок, груш и косточковых плодов - около кожуры;

» для корнеплодов - на кончике корнеплода и у основания розетки листьев;

» для зеленных культур - нижняя часть основания черешка;

» для капусты - в кочерыжке и у основания жилки верхних листьев.

В индикаторных точках с помощью ножа или терки делают соскоб и в полученной измельченной массе измеряют нитраты с помощью ионоселективного датчика.

Если в индикаторных точках содержание нитратов не превышает ПДК, то эти результаты можно использовать для положительной оценки качества продукции.

При анализе культур с низким содержанием нитратов (яблоки, сливы,

персики, крыжовник, груши, вишни и др.), если в измельченной массе полученные результаты содержания нитратов превышают ПДК, берется навеска измельченной массы 20 г и заливается 20 см³ алюмокалиевых квасцов (концентрации 0,01 моль/дм³). Суспензия перемешивается в течение трех минут на мешалке или гомогенизируется 1 минуту. В полученном растворе измеряют концентрацию нитратов.

Ход анализа.

В приготовленных для анализа пробах проводят измерение концентрации нитрат-ионов непосредственно в логарифмических единицах $pC_{NO_3^-}$ ($pC_{NO_3^-} = -\log(C_{NO_3^-})$) по шкале иономера, предварительно отградуированного по растворам сравнения или в милливольтгах с последующим определением величины $pC_{NO_3^-}$ по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС электродной пары в растворах сравнения или в единицах концентрации в соответствии с инструкцией к прибору.

Перед измерениями и после градуировки прибора электроды тщательно ополаскивают дистиллированной водой, промокают фильтровальной бумагой и погружают в испытуемые пробы. Показания прибора считывают не менее чем через 1 минуту после прекращения заметного дрейфа показаний прибора. При переходе от одной пробы к другой электроды ополаскивают дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой. Температура анализируемых проб и растворов сравнения должна быть одинаковой. Настройку прибора проверяют по растворам сравнения не менее 3 раз в течение рабочего дня, используя каждый раз свежие порции раствора сравнения. Перед каждой проверкой настройки иономера нитратный ионоселективный электрод выдерживают в растворе сравнения концентрации $pC_{NO_3^-} - 0,0001$ моль/дм³ в течение 3-4 минут.

При непосредственном измерении концентрации нитрат-ионов в единицах $pC_{NO_3^-}$ прибор ежедневно настраивают в режиме «рХ» по

растворам сравнения с концентрацией $C(\text{NO}_3^-) = 0,0001$ моль/дм³ ($pC_{\text{NO}_3^-} = 4$) и $C(\text{NO}_3^-) = 0,01$ моль/дм³ ($pC_{\text{NO}_3^-} = 2$), используя раствор $C(\text{NO}_3^-) = 0,001$ моль/дм³ для контроля. Отклонения значений $pC_{\text{NO}_3^-}$ от номинального значения не должны превышать 0,02 единицы $pC_{\text{NO}_3^-}$.

При измерении концентрации иона нитрата в режиме «мВ» определение проводят, используя калибровочный график и снимая показания ЭДС в милливольтгах.

Содержание нитратов в пробах находят, используя калибровочный график, построенный на миллиметровой бумаге. По оси абсцисс откладывают величины $c(\text{NO}_3^-)$, соответствующие растворам сравнения азотно-кислого калия в молях:

с концентрацией $c(\text{NO}_3^-) = 0,1$ моль/дм³ ($pC_{\text{NO}_3^-} = 1$);

с концентрацией $c(\text{NO}_3^-) = 0,01$ моль/дм³ ($pC_{\text{NO}_3^-} = 2$);

с концентрацией $c(\text{NO}_3^-) = 0,001$ моль/дм³ ($pC_{\text{NO}_3^-} = 3$);

с концентрацией $c(\text{NO}_3^-) = 0,0001$ моль/дм³ ($pC_{\text{NO}_3^-} = 4$).

По оси ординат откладывают величины ЭДС, мВ. По калибровочному графику находят значения величины $c(\text{NO}_3^-)$ и с помощью уравнений (I или II) определяют содержание нитрат-ионов (мг/кг) в исследуемом объекте.

При работе с приборами, имеющими преобразователи величины $c(\text{NO}_3^-)$ или моль/дм³ в значения концентрации иона нитрата в исследуемой продукции, настройку проводят непосредственно в единицах массовой доли нитрата в миллионных долях (мг/кг) по растворам сравнения, предусмотренным в инструкции к прибору.

Таблица 4 - Перевод величин $pC_{\text{NO}_3^-}$ в массовую долю нитрата при непосредственном анализе мезги, сока, тканей

$pC_{\text{NO}_3^-}$	<u>Сотые доли $pC_{\text{NO}_3^-}$</u> массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,0	4960	4847	4737	4629	4524	4421	4320	4222	4126	4032
1,1	3940	3850	3763	3677	3593	3511	3431	3353	3277	3202

1,2	3130	3058	2969	2921	2854	2789	2726	2664	2603	2544
1,3	2486	2429	2374	2320	2267	2216	2165	2116	2068	2021
1,4	1975	1930	1886	1843	1801	1760	1720	1681	Г642	1605
1,5	1568	1533	1498	1464	1430	1398	1366	1335	1305	1275
1,6	1246	1218	1190	1163	1136	1110	1085	1060	1036	1013
1,7	990	967	945	924	903	882	862	842	823	804
1,8	786	768	751	734	717	685	685	669	654	639
1,9	684	610	596	583	569	587	544	531	519	508
2,0	496	485	474	463	452	448	432	422	413	403
2,1	394	385	376	368	359	351	343	335	328	320
2,2	313	306	299	292	285	279	273	266	260	254
2,3	249	243	237	232	227	222	217	212	207	202
2,4	197	193	189	184	180	176	172	168	164	161
2,5	157	153	150	146	143	140	137	134	130	127
2,6	125	122	119	116	114	111	109	106	104	101
2,7	99,0	96,7	94,5	92,4	90,3	88,2	86,2	84,2	82,3	80,4
2,8	78,6	76,8	76,1	73,4	71,7	70,1	68,6	66,9	65,4	63,9
2,9	62,4	61,0	59,4	58,3	56,9	55,7	54,4	53,1	51,9	50,8
3,0	49,6	48,5	47,4	46,3	45,2	44,2	43,8	42,2	41,3	40,3
3,1	39,4	38,6	39,6	36,8	35,9	35,1	34,3	33,5	32,8	32,0
3,2	31,3	30,6	29,9	29,2	28,5	27,9	27,3	26,6	26,0	25,4
3,3	24,9	24,3	23,7	23,2	22,7	22,2	21,7	21,2	20,7	20,2
3,4	19,7	19,3	18,9	18,4	18,0	17,6	17,2	16,8	16,4	16,1
3,5	15,7	15,3	15,6	14,6	14,3	14,0	13,7	13,4	13,0	12,7
3,6	12,5	12,2	11,9	11,6	11,4	11,1	10,9	10,6	10,4	10,1
3,7	9,9	9,7	9,5	9,2	9,0	8,8	8,6	8,4	8,2	8,0
3,8	7,9	7,7	7,5	7,3	7,2	7,0	6,8	6,7	6,5	6,4
3,9	6,2	6,1	6,0	5,8	5,7	5,6	5,4	5,3	5,2	5,1
4,0	5,0	4,8	4,7	4,6	4,5	4,4	4,3	4,2	4,1	4,0

Таблица 5 - Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе винограда, земляники, смородины, косточковых: сливы, вишни, черешни (анализ вытяжки при отношении пробы к раствору 1: 1)

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$ массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,1	9357	9144	8936	8733	8534	8340	8150	7964	7783	7606
1,2	7433	7263	7098	6937	6779	6624	6474	6326	6182	6042
1,3	5904	5770	5638	5510	5384	5262	5142	5025	4911	4799

1,4	4690	4583	4479	4377	4277	4180	4085	3982	3901	3812
1,5	3725	3640	3558	3477	3397	3320	3244	3171	3098	3028
1,6	2959	2892	2826	2762	2699	2637	2577	2519	2461	2405
1,7	2350	2297	2245	2194^	2144	2095	2047	2001	1955	1910
1,8	1867	182	1783	1742	1703	1664	1626	1588	1553	1518
1,9	1483	1449	1416	1384	1353	1322	1292	1262	1234	1205
2,0	1178	1151	1125	1099	1074	1050	1026	1003	980	958
2,1	936	914	894	873	853	834	815	796	778	761
2,2	743	726	710	694	678	662	647	633	618	604
2,3	590	577	564	551	538	526	514	503	491	480
2,4	469	458	448	438	428	418	408	399	390	381
2,5	373	364	356	348	340	332	324	317	310	303
2,6	296	289	283	276	270	264	258	252	246	241
2,7	235	230	224	219	214	209	205	200	195	191
2,8	187	182	178	174	170	166	163	159	155	152
2,9	148	145	142	138	135	132	129	126	123	121
3,0	118	115	112	110	107	105	103	100	98	96
3,1	93,6	91,4	89,4	87,3	85,3	83,4	81,5	79,6	77,8	76,1
3,2	74,3	72,6	70,0	69,4	67,8	66,2	64,7	63,3	61,8	60,4
3,3	59,0	57,7	56,4	55,1	53,8	52,6	51,4	50,3	49,1	48,0
3,4	46,9	45,8	44,8	43,8	42,8	41,8	40,8	39,9	39,0	38,1
3,5	37,3	36,4	35,6	34,8	34,0	33,2	32,4	31,7	31,0	30,3
3,6	29,6	28,9	28,3	27,6	27,0	26,4	25,8	25,2	24,6	24,1
3,7	23,5	23,0	22,4	21,9	21,4	20,9	20,5	20,0	19,5	19,1
3,8	18,7	18,2	17,8	17,4	17,0	16,6	16,3	15,9	15,5	15,2
3,9	14,8	14,5	14,2	13,8	13,5	13,2	12,9	12,6	12,3	12,1
4,0	11,8	11,5	11,2	11,0	10,7	10,5	10,3	10,0	9,8	9,6

Обработка результатов.

Если при анализе использовалась навеска измельченной пробы, то массовую долю нитратов в испытываемом материале (X) в миллионных долях (млн. $\cdot 10^{-1}$, мг/кг) рассчитывают по формуле (I):

$$X = \frac{(V + W \cdot n / (100 \cdot 1)) \cdot 10^{-pCNO_3^-} \cdot 62 \cdot 10^6}{100 \cdot n} \quad (I)$$

При непосредственном измерении нитратов в тканях растительной

продукции (мезге) массовую долю нитратов рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{10^{-p\text{CNO}_3^-} \cdot 62 \cdot 10^6}{1000} \quad (II)$$

где 62 - молярная масса иона нитрата, г;

n - масса анализируемой пробы, г;

V - объем экстрагирующего раствора, см³;

10^{-pCNO_3^-} - концентрация нитрата в вытяжке, моль/дм³;

1000 - коэффициент перевода дм³ в см³;

W - массовая доля воды в пробе, %;

100 - коэффициент перевода % в доли единиц;

I - плотность воды, г/см³;

10^6 - коэффициент перевода долей единицы в миллионные доли (млн⁻¹, мг/кг).

Расчеты по приведенным уравнениям можно исключить, используя таблицы 4, 5 для перевода величин в массовую долю нитрата в анализируемой пробе. Данные таблиц представлены с учетом среднего содержания влаги в различных культурах растениеводческой продукции.

Оценку качества продукции проводят в соответствии с допустимыми уровнями содержания нитратов в растительных продуктах. Допустимые отклонения от ПДК при содержании нитратов до 100 мг/кг - 20%, а свыше 100 мг/кг - 24%.

Реактивы:

1. Основной раствор и растворы сравнения, используемые для определения нитратов непосредственно в тканях и мезге растений, готовят на дистиллированной воде аналогично растворам, описание приготовления которых изложено в ионометрическом методе определения нитратов, без алюмокалиевых квасцов.

Приборы и материалы:

1. Электрод ионоселективный нитратный твердоконтактный или другие датчики для измерения нитратов с линейной функцией в диапазоне 1-4,5 единиц pC_{NO_3} .
2. Электрод сравнения хлорсеребряный типа ЭВМ-1М или твердоконтактный.
3. Электрод комбинированный для измерения нитратов. Нитратомеры различных типов с погрешностью не более 5 мВ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ В РАСТЕНИЯХ

Углеводы являются основным продуктом фотосинтеза, на их основе в процессе обмена веществ в растительном организме формируются белки, жиры, нуклеиновые кислоты и другие соединения. Углеводы - основной источник для аэробного и анаэробного дыхания клеток; источник энергии для возобновления вегетации. Обычно растение содержит большой набор разнообразных углеводов. В процессе вегетации соотношение растворимых и нерастворимых форм изменяется. В молодых растениях преобладают моно- и дисахариды, в период созревания увеличивается содержание крахмала, целлюлозы, т.е. нерастворимых форм.

Содержание углеводов и их разнообразие определяются видом растения, фазой развития и абиотическими факторами среды и изменяются в широких пределах. Например, зерно пшеницы содержит 3% растворимых углеводов и 70% крахмала, в свекле 20% растворимых углеводов (сахарозы), в картофеле 20% крахмала, а волокно хлопчатника на 90% состоит из целлюлозы.

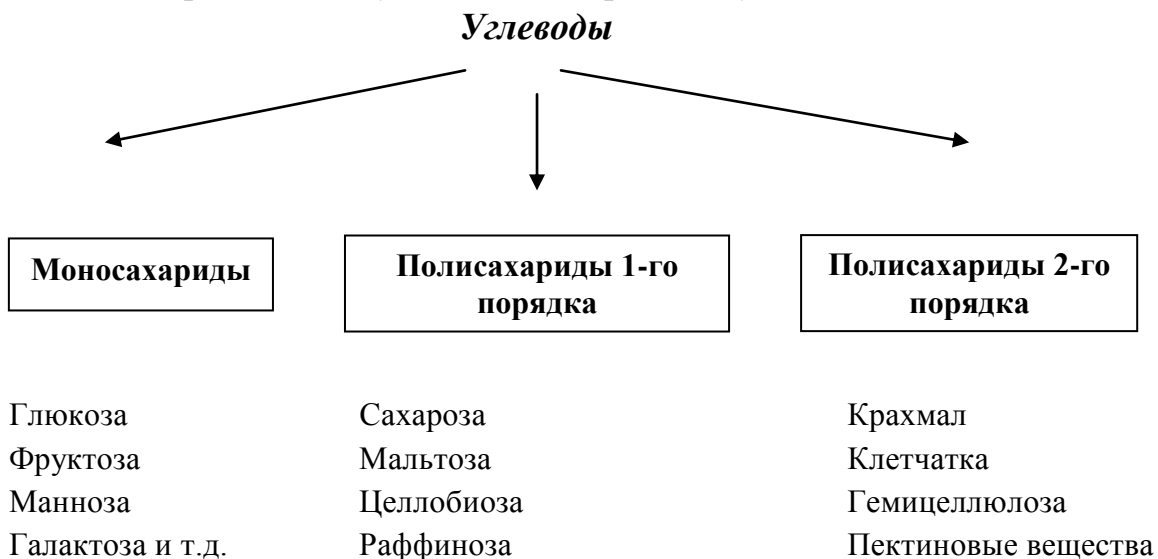
Определение углеводов в растительной продукции позволяет:

- а) установить закономерности обмена этих веществ при формировании урожая, при созревании и хранении продукции;

б) оценить качество плодов, овощей, зеленой массы и возможность их технической переработки, например у сахарной свеклы, картофеля и др.;

в) в здравоохранении составить энергетический баланс, в зоотехнии рассчитать пищевой рацион.

Принята следующая классификация углеводов:



Моносахариды состоят из одной молекулы углевода, хорошо растворимы в воде.

Полисахариды 1-го порядка состоят из двух, а раффиноза из трех молекул моносахаридов, соединенных между собой «кислородным мостиком» (связь -O-), хорошо растворимы в воде.

Полисахариды 2-го порядка состоят из нескольких тысяч молекул моносахаридов, в основном глюкозы, соединенных между собой кислородными мостиками. Упаковка молекул осуществляется в виде циклических цепей, например инулин, в виде ветвистой структуры - крахмал, мицеллярных нитей - клетчатка. Клетчатка нерастворима в воде, крахмал дает коллоидные растворы. Эти углеводы обеспечивают механическую прочность клеточных стенок и многих органов растений, формируют покровные ткани, обеспечивают стабильность биохимического состава при обмене веществ в растениях и хранении продукции.

Существуют количественные методы определения моносахаридов:

химические, поляриметрические. Определение полисахаридов в растениях осуществляется теми же методами, но прежде кислородная связь (-O-) этих соединений разрушается в процессе кислотного гидролиза, а в почве этот процесс идет медленно за счет гидролитических ферментов почвы или почвенной биоты.

Определение углеводов по методу Бертрана

Принцип метода. Растворимые углеводы извлекаются из растительного материала горячей дистиллированной водой. В одной части фильтрата определяют моносахариды, в другой - после гидролиза соляной кислотой ди- и трисахариды, которые распадаются при этом до глюкозы. Полученная в растворе смесь простых углеводов называется «инвертированным сахаром». Метод определения основан на способности моносахаридов, содержащих альдегидную или кетонную группу, восстанавливать феллингову жидкость.

Последняя представляет собой смесь 1 : 1 щелочного раствора сегнетовой соли (калий, натрий виннокислый) и сернокислой меди. При этом моносахариды окисляются до соответствующих кислот, а окись меди восстанавливается до закиси меди, которая выпадает в осадок красно-бурого цвета. Количество осадка эквивалентно количеству углеводов.

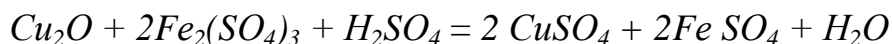
Полисахариды не имеют альдегидных или кетонных группировок, поэтому их количественное определение возможно только после кислотного гидролиза до моносахаридов. Сахароза после гидролиза образует молекулу глюкозы и фруктозы, а крахмал распадается на несколько сотен молекул глюкозы.

Одним из продуктов реакций при смешивании раствора сернокислой меди и щелочного раствора сегнетовой соли является медный алкоголь сегнетовой соли.

Таким образом, комплексное соединение окиси меди находится в

растворе. Если в этот раствор добавить испытуемый раствор моносахаридов, окись меди $[CuO]$ восстанавливается до закиси меди Cu_2O , которая выпадает в осадок красно-бурого цвета.

Осадок закисной меди учитывается объемным методом. На асбестовом фильтре в трубке Аллена осадок растворяют сернокислым раствором железоммиачных квасцов:



Железо из трехвалентного переходит в двухвалентное, которое затем оттитровывают раствором $KMnO_4$ точно известной нормальности.

Количество перманганата эквивалентно количеству меди, которая выпала в осадок. Рассчитывают осадок меди в мг, а затем по специальным таблицам Бертрана находят соответствующее количество глюкозы в мг.

Ход анализа.

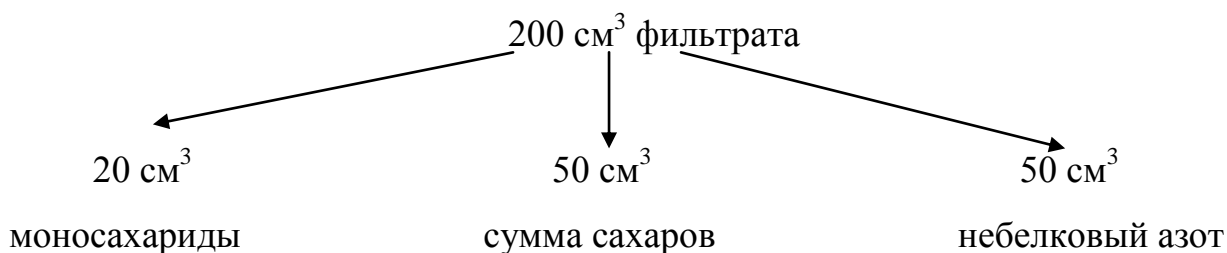
На аналитических весах берут навеску воздушно-сухого растительного материала массой $1 \pm 0,001$ г в химический стакан на $150-200$ см³. Приливают цилиндром 125 см³ горячей дистиллированной воды и ставят на водяную баню, предварительно нагретую до $80^\circ C$. Одновременно ставят контрольный стакан с водой, в него погружают термометр.

Экстрагируют углеводы в течении 30 минут при температуре $75-80^\circ C$, периодически перемешивая стеклянной палочкой с резиновым наконечником. Палочка всегда находится в стакане. Охлаждают суспензию до комнатной температуры и осаждают белки. Для этого в надосадочную жидкость по каплям приливают раствор уксуснокислого свинца. Каждую каплю энергично размешивают. На осаждение белков расходуется около $0,5$ см³ осадителя в зависимости от качества анализируемого материала. Учитывают общее количество осадителя в каплях или в см³. Нельзя допустить недостаток или избыток свинца. Полное осаждение или созревание осадка белка проходит в течение 4 часов, лучше осадок оставить на ночь.

Возможный избыток уксуснокислого свинца осадить 10%-ным раствором Na_2SO_4 , прибавив его в тройном количестве по отношению к израсходованному раствору свинца. Тщательно перемешать суспензию в стакане. Оставить для созревания осадка.

Фильтруют суспензию через бумажный складчатый рыхлый фильтр и стеклянную воронку диаметром 8-10 см в мерную колбу на 200 см^3 . Осадок полностью переносят на фильтр, промывают содержимое стакана и осадок на фильтре малыми порциями горячей дистиллированной воды. Охлаждают раствор, перемешивают, доводят до метки и снова тщательно перемешивают. Фильтрат прозрачный, окраска от слабо желтой до соломенно-желтой за счет растительных пигментов.

Для следующих определений используются объемы:



Определение моносахаридов

Ход анализа.

В коническую колбу Эрленмейера на 100 см^3 с узким горлом вносят пипеткой 20 см^3 раствора CuSO_4 , добавляют 20 см^3 раствора сегнетовой соли, хорошо перемешивают. Добавляют в колбу 20 см^3 испытуемого раствора углеводов, перемешивают.

- *Последовательность внесения растворов и их соотношение не меняют!*

Ставят на горелку с асбестовой сеткой или электроплитку, нагревают смесь, кипятят при слабом кипении 3 минуты по песочным часам. На дне колбы образуется красно-бурый осадок закиси меди.

Фильтруют раствор в горячем состоянии через асбестовый фильтр,

помещенный в трубку Аллена, в большую колбу Бунзена с помощью водоструйного или вакуумного насоса.

Промывают осадок закисной меди 7-8 раз малыми порциями горячей дистиллированной воды и количественно переносят его на фильтр.

- *Осадок на фильтре должен быть покрыт водой, на воздухе не оставляют!*

Осадок, промытый, с трубкой Аллена переносят на малую, приблизительно 250 см³, чистую колбу Бунзена. Растворяют осадок в трубке при выключенном насосе железоаммиачными квасцами (около 10-15 см³, приливая их в коническую колбу, так как там могут быть следы закиси меди), а затем выливают в трубку. Осторожно растворяют осадок с помощью малой стеклянной палочки. Содержимое трубки промывают 5-6 раз малыми порциями горячей воды при включенном насосе.

Раствор и промывные воды в малой колбе Бунзена, не охлаждая, осторожно, при слабом перемешивании титруют раствором перманганата 0,02 или 0,05 н. до слабо розовой окраски.

Расчет:

1 см³ 0,1 н. $KMnO_4$ соответствует 6,36 мг Cu

a см³ · N_x $KMnO_4$ соответствует X мг Cu

где a - объем перманганата (см³), пошедшего на титрование;

X - количество меди в осадке (мг).

По таблицам Бертрона находим:

X Cu соответствует a (мг) глюкозы, а далее:

$$\text{Содержание моносахаров [\%]} = \frac{a \cdot P \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где: a - мг глюкозы по таблицам Бертрона;

P - разведение 200/20;

H - навеска воздушно-сухого вещества, г;

1000 - пересчет мг в г.

Таблицы Бертрона для расчета растворимых углеводов

(редуцирующий сахар в миллиграммах)

Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы
1,1	0,50	5,0	2,27	8,9	4,20	12,8	6,15
1,2	0,54	5,1	2,31	9,0	4,25	12,9	6,20
1,3	0,59	5,2	2,36	9,1	4,30	13,0	6,25
1,4	0,63	5,3	2,40	9,2	4,35	13,1	6,30
1,5	0,68	5,4	2,45	9,3	4,40	13,2	6,35
1,6	0,72	5,5	2,50	9,4	4,45	13,3	6,40
1,7	0,77	5,6	2,55	9,5	4,50	13,4	6,45
1,8	0,81	5,7	2,60	9,6	4,55	13,5	6,50
1,9	0,83	5,8	2,65	9,7	4,60	13,6	6,55
2,0	0,90	5,9	2,70	9,8	4,65	13,7	6,60
2,1	0,95	6,0	2,75	9,9	4,70	13,8	6,65
2,2	1,00	6,1	2,80	10,0	4,75	13,9	6,70
2,3	1,04	6,2	2,85	10,1	4,80	14,0	6,75
2,4	1,09	6,3	2,90	10,2	4,85	14,1	6,80
2,5	1,13	6,4	2,95	10,3	4,90	14,2	6,85
2,6	1,18	6,5	3,00	10,4	4,95	14,3	6,90
2,7	1,22	6,6	3,05	10,5	5,00	14,4	6,95
2,8	1,27	6,7	3,10	10,6	5,05	14,5	7,00
2,9	1,31	6,8	3,15	10,7	5,10	14,6	7,05
3,0	1,36	6,9	3,20	10,8	5,15	14,7	7,10
3,1	1,40	7,0	3,25	10,9	5,20	14,8	7,15
3,2	1,45	7,1	3,30	11,0	5,25	14,9	7,20
3,3	1,50	7,2	3,35	11,1	5,30	15,0	7,25
3,4	1,54	7,3	3,40	11,2	5,35	15,1	7,30
3,5	1,59	7,4	3,45	11,3	5,40	15,2	7,35
3,6	1,63	7,5	3,50	11,4	5,45	15,3	7,40
3,7	1,68	7,6	3,55	11,5	5,50	15,4	7,45
3,8	1,72	7,7	3,60	11,6	5,55	15,5	7,50
3,9	1,77	7,8	3,65	11,7	5,60	15,6	7,55
4,0	1,81	7,9	3,70	11,8	5,65	15,7	7,60
4,1	1,83	8,0	3,75	11,9	5,70	15,8	7,65
4,2	1,90	8,1	3,80	12,0	5,75	15,9	7,70
4,3	1,95	8,2	3,85	12,1	5,80	16,0	7,75
4,4	2,00	8,3	3,90	12,2	5,85	16,1	7,80
4,5	2,04	8,4	3,95	12,3	5,90	16,2	7,85
4,6	2,09	8,5	4,00	12,4	5,95	16,3	7,90
4,7	2,13	8,6	4,05	12,5	6,00	16,4	7,95
4,8	2,18	8,7	4,10	12,6	6,05	16,5	8,00
4,9	2,22	8,8	4,15	12,7	6,10	16,6	8,05
16,7	8,10	20,8	10,15	24,9	12,30	29,0	14,36
16,8	8,15	20,9	10,20	25,0	12,35	29,1	14,42
16,9	8,20	21,0	10,25	25,1	12,40	29,2	14,47
17,0	8,25	21,1	10,30	25,2	12,45	29,3	14,52
17,1	8,30	21,2	10,35	25,3	12,50	29,4	14,57
17,2	8,35	21,3	10,40	25,4	12,55	29,5	14,63
17,3	8,40	21,4	10,45	25,5	12,60	29,6	14,68
17,4	8,45	21,5	10,50	25,6	12,65	29,7	14,73
17,5	8,50	21,6	10,55	25,7	12,70	29,8	14,78

17,6	8,55	21,7	10,60	25,8	12,75	29,9	14,84
17,7	8,60	21,8	10,65	25,9	12,80	30,0	14,89
17,8	8,65	21,9	10,70	26,0	12,85	30,1	14,94
17,9	8,70	22,0	10,75	26,1	12,90	30,2	15,00
18,0	8,75	22,1	10,80	26,2	12,95	30,3	15,05
18,1	8,80	22,2	10,85	26,3	13,00	30,4	15,10
18,2	8,85	22,3	10,90	26,4	13,05	30,5	15,15
18,3	8,90	22,4	10,95	26,5	13,10	30,6	15,20
18,4	8,95	22,5	11,00	26,6	13,15	30,7	15,25
18,5	9,00	22,6	11,05	26,7	13,20	30,8	15,30
18,6	9,05	22,7	11,10	26,8	13,25	30,9	15,35
18,7	9,10	22,8	11,15	26,9	13,30	31,0	15,40
18,8	9,15	22,9	11,20	27,0	13,35	31,1	15,45
18,9	9,20	23,0	11,25	27,1	13,40	31,2	15,50
19,0	9,25	23,1	11,30	27,2	13,45	31,3	15,55
19,1	9,30	23,2	11,35	27,3	13,50	31,4	15,60
19,2	9,35	23,3	11,40	27,4	13,55	31,5	15,65
19,3	9,40	23,4	11,45	27,5	13,60	31,6	15,70
19,4	9,45	23,5	11,50	27,6	13,65	31,7	15,75
19,5	9,50	23,6	11,55	27,7	13,70	31,8	15,80
19,6	9,55	23,7	11,68	27,8	13,75	31,9	15,85
19,7	9,60	23,8	11,73	27,9	13,80	32,0	15,90
19,8	9,65	23,9	11,78	28,0	13,85	32,1	15,95
19,9	9,70	24,0	11,84	28,1	13,90	32,2	16,00
20,0	9,75	24,1	11,89	28,2	13,95	32,3	16,05
20,1	9,80	24,2	11,94	28,3	14,00	32,4	16,10
20,2	9,85	24,3	12,00	28,4	14,05	32,5	16,15
20,3	9,90	24,4	12,05	28,5	14,10	32,6	16,Ю20
20,4	9,95	24,5	12,10	28,6	14,15	32,7	16,25
20,5	10,00	24,6	12,15	28,7	14,21	32,8	16,30
20,6	10,05	24,7	12,20	28,8	14,26	32,9	16,35
20,7	10,10	24,8	12,25	28,9	14,31	33,0	16,40
33,1	16,45	34,3	17,05	35,5	17,65	36,7	18,26
33,2	16,50	34,4	17,10	35,6	17,70	36,8	18,31
33,3	16,55	34,5	17,15	35,7	17,75	36,9	18,36
33,4	16,60	34,6	17,20	35,8	17,80	37,0	18,42
33,5	16,65	34,7	17,25	35,9	17,85	37,1	18,47
33,6	16,70	34,8	17,30	36,0	17,90	37,2	18,52
33,7	16,75	34,9	17,35	36,1	17,95	37,3	18,57
33,8	16,80	35,0	17,40	36,2	18,00	37,4	18,63
33,9	16,85	35,1	17,45	36,3	18,05		
34,0	16,90	35,2	17,50	36,4	18,10		
34,1	16,95	35,3	17,55	36,5	18,15		
34,2	17,00	35,4	17,60	36,6	18,21		

Количество мальтозы (мг), эквивалентное количеству меди (мг)

(для расчетов по Бертрану)

Сахар	Медь	Сахар	Медь	Сахар	Медь	Сахар	Медь
1,0	1,120	3,7	4,144	6,1	6,832	8,5	9,520
1,1	1,232	3,8	4,256	6,2	6,944	8,6	9,632
1,2	1,344	3,9	4,368	6,3	7,056	8,7	9,744
1,3	1,456	4,0	4,480	6,4	7,168	8,8	9,856
1,4	1,568	4,1	4,592	6,5	7,280	8,9	9,968
1,5	1,680	4,2	4,704	6,6	7,392	9,0	10,080
1,9	2,128	4,3	4,816	6,7	7,404	9,1	10,192
2,0	2,240	4,4	4,928	6,8	7,512	9,2	10,304
2,1	2,352	4,5	5,040	6,9	7,634	9,3	10,416
2,2	2,469	4,6	5,152	7,0	7,840	9,4	10,528
2,3	2,576	4,7	5,264	7,1	7,952	9,5	10,640
2,4	2,688	4,8	5,376	7,2	8,064	9,6	10,752
2,5	2,800	4,9	5,488	7,3	8,176	9,7	10,864
2,6	2,912	5,0	5,600	7,4	8,288	9,8	10,978
2,7	3,024	5,1	5,712	7,5	8,400	9,9	11,090
2,8	3,136	5,2	5,824	7,6	8,512	10,0	11,200
2,9	3,248	5,3	5,936	7,7	8,624	11,0	12,320
3,0	3,160	5,4	6,048	7,8	8,736	12,0	13,440
3,1	3,472	5,5	6,616	7,9	8,848	13,0	14,560
3,2	3,584	5,6	6,272	8,0	8,960	14,0	15,680
3,3	3,692	5,7	6,384	8,1	9,072	15,0	16,800
3,4							

Определение суммы сахаров растворимых углеводов

Ход анализа.

Берут 50 см³ фильтрата в мерную колбу на 100 см³, приливают цилиндром 5 см³ концентрированной HCl и ставят на водяную баню, предварительно нагретую до 80°C.

В контрольную колбу наливают 50 см³ воды и 5 см³ кислоты, опускают термометр, ставят на баню.

Гидролиз сахаров проводят в бане при постоянном помешивании при температуре 68-70°C в течение 5 минут по песочным часам.

Охлаждают раствор, добавляют 2-3 капли фенолфталеина, далее нейтрализуют его малыми порциями сухой соды, используя объем 100 мг на кончике скальпеля (до слабо розовой окраски). Каждую порцию соды тщательно перемешивают круговым движением колбы не отрывая ее доньшко от стола. Не допускать бурного вспенивания раствора. Доводят раствор до метки водой, тщательно перемешивают.

Используют раствор для определения суммы сахаров. Так как в растворе после гидролиза находятся только моносахариды, определение ведут по методике, изложенной выше.

$$\frac{B \cdot P \cdot 100}{H}$$

$$\text{Содержание суммы сахаров \%} = \frac{B \cdot P \cdot 100}{H}$$

где B - мг глюкозы по таблице Бертрана;

P - разведение $P = (200 \cdot 100)/(50 \cdot 20)$;

H - навеска воздушно-сухого материала, г.

Далее можно рассчитать содержание непосредственно дисахаридов:

$$\% \text{ дисахаридов} = (\% \text{ суммы сахаров} - \% \text{ моносахаридов}) \cdot 0,95$$

(0,95 - поправочный коэффициент, так как одна молекула сахарозы дает при гидролизе 0,95 молекулы глюкозы).

Определение небелкового азота и углеводов из одной навески

Суммарное количество небелкового азота в растительном материале удобно определять из одной навески с углеводами. При таком ходе анализа обеспечивается достаточно высокая точность определения.

Ход анализа.

50 см³ фильтрата помещают в колбу Кьельдаля с широким горлом, упаривают до 5-7 см³ на электроплитке, охлаждают. Приливают в колбу Кьельдаля 7 см³ концентрированной серной кислоты и озоляют раствор до бесцветного состояния. Обычно катализатор не добавляют.

Содержимое колбы Кьельдаля количественно переносят в отгонный аппарат и проводят определение на микрокьельдале или переносят в соответствующую мерную колбу и проводят колориметрическое определение аммиачного азота с реактивом Несслера.

Реактивы:

1. 4%-ный раствор $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$.
2. 10%-ный раствор Na_2SO_4 .
3. HCl концентрированная ($d = 1,12$).
4. Натрий углекислый (сода) $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$.
5. Фенолфталеин.
6. 4%-ный раствор CuSO_4 .
7. Щелочной раствор сегнетовой соли $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$:
200 г «х.ч.» соли переносят в мерную колбу на 1 дм³, приливают ~ 300 см³ воды, добавляют 150 см³ «х.ч.» КОН или NaOH, доводят до метки. Отфильтровывают раствор через трубку Алена или стеклянный тигель-фильтр № 3 или № 4.
8. Раствор железоаммиачных квасцов, подкисленный серной кислотой $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$:
81 г квасцов переносят в мерную колбу на 1 дм³, растворяют в ~ 500 см³ воды, осторожно добавляют 108,7 см³ концентрированной серной кислоты,

доводят до метки. Или вместо квасцов берут 50 г $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Раствор KMnO_4 0,02 н. готовят из фиксанала.

Поляриметрическое определение сахара в сахарной свекле

Метод может быть использован для растительной продукции с высоким содержанием сахара.

Ход анализа.

Из измельченной репрезентативной пробы корнеплодов сахарной свеклы (мезги) берут навеску (25-30 г) в фарфоровую или специальную металлическую чашку.

При помощи стеклянной палочки навеску без потерь переносят в мерную колбу объемом 200 см³ или специальную колбу Штифта. Фарфоровую чашку и стеклянную палочку многократно обмывают в ту же колбу, заполняя ее объем до 3/4.

Для осаждения белковых веществ в колбу добавляют 7 см³ 10%-ного раствора уксуснокислого свинца. Затем колбу с раствором помещают на 30 минут на водяную баню при 80°C, периодически перемешивая содержимое колбы. После этого осаждают пену добавлением нескольких капель эфира, доводят объем раствора до метки горячей дистиллированной водой и вновь помещают колбу в водяную баню еще на 15 минут.

Содержимое колбы охлаждают до 20°C в емкости с водопроводной водой, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Полученный раствор сахарозы фильтруют через плотный складчатый фильтр в чистый сухой стакан, отбрасывая первые мутные порции фильтрата. Раствор заливают в поляриметрическую кювету и проводят измерения угла вращения.

Содержание сахарозы находят по формуле:

$$\% \text{ сахарозы} = \underline{a \cdot p \cdot 0,75 \cdot 09925 \cdot 100}$$

n

где *a* - отсчет в градусах по шкале;

0,75 - количество сахара, соответствующее 1° шкалы прибора, г;

0,9925 - поправка на объем, если работа велась в мерных колбах, а не в колбах Штифта;

p - разведение из расчета 200/100;

n - навеска мезги, г.

Аппаратура, реактивы и материалы:

1. Поляриметр «POLAMAT» или любой другой модели.
2. Водяная баня.
3. Термометр лабораторный (до 100°C).
4. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками (ГОСТ 24104).
5. Колбы мерные объемом 200 см³ (ГОСТ 1770).
6. Фарфоровые чашки.
7. Стеклянные палочки.
8. Воронки лабораторные (ГОСТ 25336).
9. Фильтры - синяя лента.
10. Эфир медицинский.
11. Вода дистиллированная.
12. Свинец уксуснокислый, раствор в дистиллированной воде с массовой долей 10%.

Определение крахмала в зерне на поляриметре по Эверсу

Крахмал - углевод, входящий в группу полисахаридов второго порядка, представляет собой вещество с большим молекулярным весом, нерастворим в воде, но дает коллоидные растворы.

Крахмал, который образуется в вегетативных органах растений в процессе фотосинтеза, называется *ассимиляционным*, количество его измеряется несколькими процентами, основная же масса крахмала

откладывается в запас в некоторых органах: в семенах, клубнях, корнеклубнеплодах - и называется *запасной*. Особенно богаты крахмалом семена злаков (50-70% сухого веса) и некоторые корнеплоды (10-30% сырого веса).

Крахмал не является химически индивидуальным веществом, кроме полисахаридов в состав его входят минеральные вещества, в основном фосфор и жирные кислоты. Примерный состав крахмала:

Полисахариды	96%
Минеральные вещества	0,2-0,7%
Жирные кислоты	1%

Для определения крахмала используют методы кислотного гидролиза, которые основаны на разложении крахмала до декстринов, а затем до глюкозы. Полученная глюкоза впоследствии количественно учитывается химическим методом Бертрана или определяется на поляриметре. Первый метод пригоден для определения крахмала в листьях, стеблях и корнях, т.е. в экстрактах, окрашенных растительными пигментами, а на поляриметре определяют глюкозу в бесцветных вытяжках, полученных при анализе зерна или слабопигментированных корнеплодов. Этот метод является наиболее быстрым из многих, предлагавшихся ранее, и широко применяется в настоящее время.

Принцип метода состоит в гидролизе крахмала слабой кислотой и в определении угла вращения гидролизата на поляриметре. Удельное вращение гидролизатов $[\alpha]_D$ из семян различных культур в среднем принимают равным 181. Для очень точных расчетов этот показатель уточняют по специальным руководствам для определенной культуры: пшеницы, ржи, риса, проса и т.д. Зерно размалывают на мельнице и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм. Отруби тщательно растирают в ступке и смешивают с мукой, если определение крахмала ведется в эндосперме.

Ход анализа.

На аналитических весах берут навеску размолотого зерна или муки (2,5 ± 0,001 г) на кальке и пересыпают через сухую воронку в сухую мерную

колбу на 100 см³. В колбу приливают 25 см³ 1%-ной соляной кислоты, всю навеску смачивают кислотой. Если окажется, что часть муки прочно пристала к стенкам колбы и не смачивается, навеску необходимо взять снова. Добавляют еще 25 см³ раствора кислоты и ставят на водяную баню. Гидролиз проводят в течение 15 минут на бурно кипящей бане, периодически перемешивая содержимое колб. Сначала масса в колбе густеет из-за клейстеризации крахмала, а затем разжижается.

Колбы охлаждают на водяной бане до комнатной температуры. Доливают в них 30 см³ дистиллированной воды, перемешивают и проводят осаждение белков в растворе. Для этого в колбы приливают 5 см³ 10%-ной фосфорно-вольфрамовой кислоты и после перемешивания доводят раствор до метки соляной кислотой. Осаждение белков проходит достаточно быстро, в течение 1 часа. При массовых анализах растворы можно оставить на ночь.

Гидролизат профильтровать через рыхлый фильтр в сухой химический стакан с оттянутым носиком, из него удобнее наполнять поляризационную трубку.

Провести определение угла вращения на поляриметре.

Реактивы:

1. 1%-ный раствор HCl:

22,6 см³ конц. HCl ($d = 1,19$) вливают в мерную колбу емкостью 1 дм³, предварительно налив туда 500 см³ воды, доводят до метки дистиллированной водой.

2. 10%-ный раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты.

Правила работы на поляриметре.

Углеводы являются оптически активными веществами, их прозрачные растворы отклоняют плоскость поляризованного луча, угол отклонения пропорционален концентрации определенного углевода, что позволяет рассчитать его содержание в растворе.

Для каждого углевода есть показатель $[\alpha]_D^{20}$ - *удельное вращение* - это

угол отклонения поляризованного луча света при его прохождении через слой жидкости в 1 дм^3 с содержанием 1 г оптически активного вещества в 1 см^3 раствора, измеренный при температуре 20°C .

Для определения используют полутеневой поляриметр с полем зрения в виде диска, разделенного на три части разного цвета и границами раздела. Как источник света используют электрическую натриевую лампу.

Источник света и призмы прибора должны располагаться в одной плоскости, поэтому при установке прибора перед источником света помещают иглу, а перед диафрагмой анализатора - лист белой бумаги.

После этого источнику света придают такое положение, чтобы на бумаге получалось резкое изображение иглы, если этого нет, можно добиться лучшей чувствительности, поворачивая вправо или влево диск поляризатора.

1. Диск анализатора несколько раз устанавливают в положение «полутень» при пустом и закрытом ложе прибора, каждый раз несколько сбивая освещение и устанавливая «полутень». Положение «полутень» в нормально работающем приборе фиксируется при $\pm 1^\circ$. Наибольшая отчетливость изображения полей достигается горизонтальным движением окуляра.

2. В начале определения в стеклянную трубку (2 дм) наливают дистиллированную воду, помещают ее в ложе прибора и устанавливают положение нулевой точки слабым вращением диска поляризатора. Берут отсчет по шкале. Среднее из 5 определений принимают за «ноль» отсчета, вносимый затем при расчетах со знаком (\pm).

3. В поляризационную трубку, закрытую с одного конца стеклом и металлическим кольцом, наливают из стакана исследуемый раствор, формируя выпуклый мениск жидкости. Затем на него сбоку надвигают покровное стекло, укладывая резиновый уплотнитель, и осторожно, но плотно завинчивают металлическое кольцо. Избыточное натяжение колец не допускается, так как стекла пришлифованы. Они должны оставаться чистыми и прозрачными. Если образуются малые пузырьки воздуха, их

Определение клетчатки весовым методом

Клетчатка - органическое вещество, на долю которого приходится 90% всей биомассы на нашей планете. Она составляет основную массу пожнивных остатков, растительного опада, лесной подстилки. Клетчатка необходима для нормальной работы желудочно-кишечного тракта человека и животных, она - труднодоступный, но основной источник углерода для почвенной биоты, трансформация клетчатки - важный процесс для формирования гумуса почвы и обмена биогенных элементов в ней.

Чистая клетчатка или целлюлоза - полисахарид, нерастворимый в воде, но набухает в ней, нерастворима в слабых кислотах.

Принцип метода. Основан на обработке аналитической пробы смесью концентрированной азотной и уксусной кислот. При этом уксусная кислота растворяет масла и гидролизует белковые вещества, а азотная окисляет и нитрует ряд других органических соединений, сопровождающих клетчатку.

Ход анализа.

Навеску воздушно-сухого материала, грубого размола предварительно пропущенного через сито с диаметром отверстий 2 мм берут на аналитических весах ($1 \pm 0,0001$ г), 5 г - при определении клетчатки в грубых кормах и силосе. Помещают в сухую коническую колбу на 300 см^3 , в колбу приливают 30 см^3 смеси концентрированной азотной (удельный вес 1,4) и 80%-ной уксусной кислот (1:20), плотно закрывают резиновой пробкой с обратным холодильником. Предварительно пробки покрывают фольгой или целлофаном, так как резина в этих условиях разрушается.

Колбу помещают на кипящую водяную баню, и периодически перемешивают содержимое. Через 45-60 минут (для бобовых культур 1,5-2 часа), когда растительный материал побелеет, гидролиз заканчивают. Надосадочная жидкость в процессе выщелачивания и окисления органики приобретает красно-бурую окраску, а навеска осветляется.

Рыхлый бумажный фильтр подбирают по диаметру воронки Бюхнера и вырезают так, чтобы диаметр фильтра был больше нее на 2 см. Фильтры доводят до постоянного веса при 105°C, взвешивают с точностью до 0,0002 г и помещают в эксикатор.

Готовят воронку Бюхнера для горячего фильтрования. Бумажный фильтр осторожно укладывают на дно воронки, формируя «блюдце» с загнутыми краями. Воронку вставляют в колбу Бунзена.

Для плотного прилегания к воронке фильтр слегка смачивают горячей водой. Пропускают сначала кипящую воду, чтобы нагрелась воронка. Затем фильтруют горячую суспензию из конической колбы. Для отсасывания надосадочной жидкости подключают водоструйный насос.

Осадок клетчатки количественно переносят на фильтр и на фильтре 4-5 раз промывают горячей дистиллированной водой. Воду тщательно отсасывают. Затем отключают насос и клетчатку промывают два раза, используя по 10 см³ раствора горячей 0,2 М спиртовой щелочи, которая извлекает смолы, дубильные вещества, остатки жира, воска, частично белок.

Осадок после этого еще 4-5 раз промывают горячей дистиллированной водой, тщательно отсасывают воду, подключая насос. Чистую клетчатку обрабатывают после этого 10 см³ этилового спирта и два раза таким же количеством серного эфира для обезвоживания.

Фильтр с осадком осторожно вынимают из воронки, помещают на часовое стекло, высушивают в шкафу при 105°C до постоянного веса, помещают в эксикатор и взвешивают. Обычно проводят два-три взвешивания.

Расчет:

$$\text{Содержание клетчатки [\%]} = \frac{(a - b) \cdot 100}{H},$$

где a - масса фильтра с осадком, г;

b - масса фильтра, г;

H - масса навески, г.

Форма записи

№ образца	Навеска, г	Масса фильтра, г	Масса фильтра с сухой клетчаткой, г			Масса сухой клетчатки, г	% клетчатки
			1	2	3		

Для перерасчета на сухое вещество в отдельной пробе определяют влажность.

Примерное содержание клетчатки в воздушно-сухом веществе, в %

Кукурузный силос	22,67
Ячмень (фаза, колошения)	22,52
Луговое сено	23,8-29,6
Сено с поймы	31,25
Сено (люцерна)	17,0-35,0

Реактивы:

1. Смесь кислот по объему:

конц. азотной ($d = 1,4$) 1 часть и уксусной кислоты 80%-ной 20 частей, готовится непосредственно перед работой.

2. 0,2 М раствор спиртовой щелочи:

4 г щелочи растворить предварительно в небольшом объеме воды, добавить спирт до объема 500 см³.

Определение пектиновых веществ

Пектины - полисахариды, содержащиеся в плодах, корнеплодах, растительных волокнах. В определенных соотношениях с органической кислотой и сахаром, пектины образуют желе и студни, что широко используется в кондитерской промышленности. Максимальное содержание пектиновых веществ находится в белой части кожуры цитрусовых - до 30% на сухое вещество. В основе строения пектиновых веществ лежит полимерная цепочка остатков галактуроновой кислоты, соединенных кислородными мостиками, связь (1-4), в отличие от крахмала и клетчатки,

где гликозидная связь устанавливается между остатками глюкозы.

Пектиновая кислота. Если часть ионов водорода в карбоксильной группе замещаются в кислоте на метильную группу - получают пектины, при замещении на ионы кальция, магния - пектаны, т.е. соли пектовой кислоты, в растительных объектах пектовая кислота связана с крахмалом, целлюлозой и другими полисахаридами, такие соединения называют *протопектинами*. Пектиновые вещества в виде нерастворимого в воде протопектина находятся в стенках растительных клеток. Жесткость незрелых плодов в значительной степени обусловлена присутствием протопектинов в большом количестве. При созревании эти соединения разрушаются и переходят в растворимое состояние. В клеточном соке в основном содержатся пектины и пектаны.

Примерное содержание пектиновых веществ в процентах от сухого вещества: томаты - 2,9; картофель - 2,0; морковь - 10,0; репа - 12,0; редис - 26,9. Существуют объемные, весовые и колориметрические методы их определения.

Принцип метода. Пектиновые вещества переводят в раствор в виде пектиновой кислоты. Затем проводят осаждение кислоты раствором хлористого кальция. Полученный осадок промывают, высушивают, определяют вес пектата кальция и рассчитывают содержание пектиновой кислоты.

Ход анализа.

Навеску $25 \pm 0,2$ г свежего растительного материала растирают в фарфоровой ступке до однородной массы. Затем извлекают растворимые углеводы трехкратной обработкой этиловым спиртом. Первый раз используют 95%-ный этанол, затем 80%-ный. После этого навеску обрабатывают ацетатом и подсушивают на воздухе.

Осадок переносят в коническую колбу, приливают 100 см^3 дистиллированной воды при $t = 45^\circ\text{C}$, и выдерживают при этой температуре на водяной бане 30 минут. Содержимое колбы переносят в центрифужную

пробирку и центрифугируют.

Надосадочную жидкость сливают через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу на 250 см³. Извлечение повторяют, добавляя 70 см³ и 70 см³ воды. Полученные экстракты объединяют в мерной колбе, доводят до метки. Этот раствор пригоден для определения водорастворимых пектинов - *раствор 1*.

Осадок из центрифужной пробирки переносят в коническую колбу, используя 50 см³ 0,3 н. раствора соляной кислоты.

Экстрагируют пектиновые вещества. Для этого колбу закрывают пробкой с обратным прямым холодильником и выдерживают 30 минут на кипящей водяной бане.

После этого жидкость фильтруют в мерную колбу на 500 см³, осадок промывают на фильтре горячей водой, промывные воды собирают в ту же колбу.

Промытый осадок вместе с фильтром снова помещают в коническую колбу, приливают 50-70 см³ 1%-ного раствора лимоннокислого аммония, экстрагируют на водяной бане 30 минут.

Фильтруют в ту же мерную колбу. Осадок на фильтре промывают горячей дистиллированной водой. Доводят общий объем жидкости до 500 см³. Полученный раствор содержит протопектин и пектиновую кислоту. 100 см³ этого раствора берут пипеткой в коническую колбу на 500 см³ и доливают к нему 100 см³ 0,4%-ного NaOH для омыления пектина, перемешивают, оставляют на ночь.

Подкисляют раствор после омыления, добавляя 50 см³ 1,0 н. уксусной кислоты и на холоде осаждают пектиновую кислоту, добавляя 50 см³ 2,0 н. раствора CaCl₂.

Через час раствор кипятят на плитке или горелке 5 минут. Осадок пектата кальция отфильтровывают через высушенный (до постоянного веса) и взвешенный с точностью до ± 0,0001 г фильтр. Осадок на фильтре многократно промывают сначала 0,5%-ным раствором CaCl₂, затем холодной

водой, отмывая хлор, до исчезновения реакции хлора с AgNO_3 , затем горячей водой для удаления солей.

Фильтр с осадком высушивают в бюксе при $t = 100-105^\circ\text{C}$ примерно в течение 12 часов. Находят вес образовавшегося осадка (г) в виде пектата кальция. Если вес осадка больше 0,03 г, анализ нужно повторить, взяв только 50 мл вытяжки.

Вычисление результатов анализа.

Пример. Навеска сырой массы 25 г. Вес осадка пектата кальция 0,028 г. С учетом разведения в навеске содержится 0,1405 г пектата кальция или 0,56% на сырую навеску. При содержании сухого вещества $\sim 12\%$, содержание пектата кальция будет 4,98%. Для перевода в пектиновую кислоту результат умножают на 0,92.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ В РАСТЕНИЯХ

Общие свойства и классификация витаминов

Витамины представляют группу низкомолекулярных органических соединений, среди них имеются углеводы, спирты, кислоты. Разнообразные по химическому составу, они объединяются по принципу их строгой необходимости для жизни человека и животных. Их отсутствие в пищевом рационе вызывает ряд специфических заболеваний, связанных с обменом веществ (витамин С) и с поражением нервной системы (витамин В₁). В растениях витамины играют роль биокатализаторов.

Некоторые растения или их отдельные органы являются естественными резервуарами витаминов для человека; например, все листовые овощи - лук, петрушка, укроп - накапливают значительные количества аскорбиновой кислоты и каротина, для животных таким резервуаром являются луговые травы и силосные культуры. Богатым источником витаминов группы В являются отруби и зародыши зерна злаковых культур.

Содержание витаминов в растениях определяется условиями

выращивания и фазой развития растений, зависит от особенностей сорта и географической широты местности. Значительные различия в содержании витаминов отмечены по отдельным органам и тканям растений.

Обычно шиповник и другие плодово-ягодные культуры, выращенные в условиях северных областей, более богаты витамином С, чем их южные аналоги. Большие различия в содержании каротина по сортам отмечены у моркови, тыквы, красного перца. Накопление каротина тесно коррелирует с использованием азотных удобрений, а борные, цинковые и марганцевые удобрения способствуют накоплению витаминов группы В в зерновых культурах.

Витамины принадлежат к очень лабильным соединениям (кроме витаминов группы В), быстро разрушаются кислородом воздуха, поэтому при анализе особое внимание следует обратить на отбор средней пробы и на скорость подготовки материала к анализу.

К витаминам относят несколько десятков различных химических соединений, некоторые из них обладают аналогичной витаминной активностью, и поэтому их объединяют в родственные группы, иногда обозначаемые как один витамин. Классифицируют витамины обычно на основании их растворимости в воде или в жирах, хотя можно использовать и их химическую классификацию. В основу названия витаминов положена их химическая структура, однако для некоторых витаминов сохраняются и их буквенные обозначения.

Все витамины обладают значительной термостабильностью, за исключением аскорбиновой кислоты, которая при нагревании в присутствии кислорода разрушается.

Витамины растворимые в жирах

Ретинол (витамин группы А)
Кальциферол (витамин группы Д)
Токоферол (витамины группы Е)
Комплекс ненасыщенных жирных кислот

Витамины, растворимые в воде

Тиамин (витамин В₁)
Рибофлавин (витамин В₂)
Пиридоксин (витамин В₆)
Цианокобаламин (витамин В₁₂)
Пангамовая кислота (витамин В₁₅)
Никотиновая кислота (витамин РР)
Аскорбиновая кислота (витамин С)

(витамины группы F)

Цитрин (витамин P)
Фолиевая кислота
S-метилметионин (витамин V)

Подготовка растений к анализу.

Среднюю пробу плодов, кочанов, клубней, листовых овощей доставляют с поля в лабораторию, обмывают водой, просушивают фильтровальной бумагой или марлей. Поскольку средняя проба составляется примерно из 10-20 экземпляров, измельчение всего материала представляет значительные трудности, поэтому корни и клубнеплоды делят предварительно на сегменты. Например, клубень картофеля по вертикали делят на 6-8 частей и для анализа от каждого клубня берут одну из таких частей. При этом необходимо учитывать, чтобы отношение сердцевины корнеплода или клубня к его периферийной части оставалось бы примерно таким, как в целом корнеплоде или клубне.

Мелкие плоды и ягоды измельчают целиком. У листовых овощей в анализ берут половину листа от каждого растения, разделяя лист по средней жилке.

Полученный растительный материал измельчают на кафельной или пластмассовой пластинке ножом из нержавеющей стали или пластмассовой теркой. Для сочных плодов можно применить гомогенизатор тканей. Недопустимо применение железных и медных предметов, поскольку железо и медь катализируют разрушение аскорбиновой кислоты. Две параллельные навески из одного образца берут на часовом стекле на технических весах.

Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) по Мурри

Аскорбиновая кислота в растениях образуется из углеводов. Прорастание семян сопровождается интенсивным накоплением и в темноте, и на свету аскорбиновой кислоты. Так, при прорастании семян ячменя в темноте содержание ее через день составляло 0,6 мг на 100 г сухой массы,

через три дня - 1,7, через пять дней - 5,8, а через восемь - 8,8 мг. Количество витамина С в листьях растений достигает максимума в фазе цветения, а затем резко снижается.

Накопление аскорбиновой кислоты в растениях в сильной степени зависит от условий их выращивания. В листьях, стеблях, плодах растений, выращенных в северных районах, витамина С значительно больше, чем в растениях, возделываемых на юге. В растительной продукции, выращенной в теплицах (защищенном фунте), витамина С значительно меньше, чем в продукции открытого грунта.

Растения на легких почвах содержат больше аскорбиновой кислоты по сравнению с теми же сортами растений, выращенными на тяжелых почвах.

Условия питания растений также оказывают значительное влияние на содержание в растениях аскорбиновой кислоты. Фосфорно-калийные удобрения обычно повышают содержание витамина С в растениях, а азотные удобрения, наоборот, понижают.

Больше всего витамина С в зеленых растениях, свежих овощах и фруктах. При хранении плодов и овощей содержание аскорбиновой кислоты понижается, значительная часть ее разрушается также при варке пищи.

Содержание витамина С в некоторых плодах и овощах
(в мг на 100 г сырого веса)

Картофель	10-20	Яблоки	5-30
Белокочанная капуста	10-40	Вишня	5-15
Капуста цветная	50-150	Виноград	0-5
Морковь	5-10	Чёрная смородина	100-400
Томаты	20-40	Лимон	40-60
Лук репчатый	5-20	Шиповник	1000-4000
Лук зелёный	40-60	Зерно злаков	0

Аскорбиновая кислота $\text{H}_8\text{C}_6\text{O}_6$, $M = 176$, обладает сильными восстановительными свойствами. В растительном организме легко осуществляется переход аскорбиновой кислоты в дегидроаскорбиновую и обратная реакция, поскольку в молекуле имеются 2 энольные группы.

Принцип метода. Водные экстракты растений, содержащие аскорбиновую кислоту, восстанавливают раствор синей краски 2,6-дихлорфенол-индофенол в бесцветное соединение. Эта реакция и составляет основу метода определения аскорбиновой кислоты.

Ход анализа.

Навеску измельченного материала, 1-3 г зеленых листьев или 5-10 г корнеплодов, берут на технических весах и помещают в фарфоровую ступку.

На кончике скальпеля добавляют кварцевый песок и приливают из цилиндра 20 см³ 1%-ной соляной кислоты, раствор кислоты прибавляют порциями по 5 см³ в процессе растирания.

Содержимое ступки растирают пестиком до гомогенной массы, растирание длится не более 10 минут. Носик ступки с наружной стороны смазать вазелином. В ступку приливают 5-10 см³ 2%-ного раствора метафосфорной кислоты для фиксации извлеченной аскорбиновой кислоты.

Гомогенат из ступки количественно переносят в мерную колбу на 100 см³, пользуясь воронкой без фильтра и стеклянной палочкой. Ступку, пестик и палочку многократно споласкивают 2%-ным раствором метафосфорной кислоты, сливая промывную жидкость в ту же колбу, перемешивая содержимое колбы, и метафосфорной кислотой доводят до метки.

Содержимое колбы оставляют на 10-15 минут для лучшей экстракции аскорбиновой кислоты и осаждения белков. Гомогенат фильтруют через рыхлый бумажный фильтр в сухую коническую колбочку или стакан на 100 см³.

Из фильтрата берут пипеткой две параллельные пробы по 10-20 см³ и переносят в малые фарфоровые чашечки, диаметром 6-8 см, их содержимое титруют из микробюретки объемом 2-5 см³ синей краской 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления ясно розовой окраски, не исчезающей 1 минуту. Каждую каплю краски размешивают стеклянной палочкой. Если фильтрат окрашен, то титрование проводят следующим образом: 5-10 см³ фильтрата помещают в пробирку и прибавляют 2 см³ дихлорэтана. Титруют в

пробирке, слегка встряхивая, до окрашивания капли дихлорэтана на дне пробирки.

Учитывая, что смесь соляной и метафосфорной кислот может также обладать восстановительными свойствами по отношению к синей краске, вводят поправку в результат опытного титрования. Для этого в контрольную колбу на 100 см³ помещают 20 см³ 1%-ной HCl, доливают до метки метафосфорной кислотой, перемешивают. Берут две параллельные пробы раствора, равные по объему опытному, помещают в чистые фарфоровые чашечки. Титруют контрольные растворы синей краской из микробюретки. Полученный результат (поправку) вычитают из данных титрования опытных растворов.

Примечание. Соляная кислота извлекает из растительных тканей аскорбиновую кислоту и способствует инактивации ферментов.

Метафосфорная кислота используется для осаждения белков и повышения устойчивости аскорбиновой кислоты в экстрактах. В связи с этим, при массовых анализах титрование можно отложить на 2 ч, а при хранении в холодильнике даже на сутки.

Расчёт:

Содержание аскорбиновой кислоты выражают в мг витамина на 100 г сырого веса (мг %):

$$\text{Содержание витамина } C = \frac{X \cdot A \cdot V \cdot 100}{d \cdot H}$$

где X - поправочный коэффициент (показывает количество аскорбиновой кислоты (мг), соответствующее 1 см³ приготовленной краски);

A - объем краски, пошедшей на титрование, см³;

V - общий объем растительного экстракта, см³;

d - объем экстракта, взятого на титрование, см³;

H - навеска, г.

Определение поправочного коэффициента X для краски.

Приготовить раствор краски точно указанной нормальности невозможно, так как это соединение лабильное, поэтому используют следующий прием.

Готовят раствор аскорбиновой кислоты слабой концентрации, для этого 1,5 мг (несколько кристалликов) кислоты растворяют в мерной колбе на 50 см³ в 2%-ной соляной кислоте, и доводят до метки. Берут две параллельные пробы приготовленного раствора по 10-15 см³ в фарфоровые чашечки, первую из них титруют раствором синей краски, а вторую - раствором точно известной нормальности йодата калия, но в эту чашечку перед титрованием добавляют 5-10 мг KI на кончике скальпеля и 5 капель 1%-ного растворимого крахмала. Известно, что 1 см³ точно 0,001 н. раствора краски соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты, поэтому рассчитывают поправочный коэффициент (*X*) так:

$$X = \frac{0,088 \cdot a}{b},$$

где *a* - количество йодата калия 0,001 н., пошедшее на титрование, см³;

b - количество краски, пошедшей на титрование приготовленного раствора аскорбиновой кислоты, см³.

Реактивы:

1. 0,001 н. раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола (синяя краска):

60 мг вещества количественно переносят в мерную колбу на 200 см³, доливают приблизительно 150 см³ дистиллированной теплой воды и 3-4 капли 0,01 н. NaOH. Растворяют краску, доводят раствор до метки, перемешивают и фильтруют раствор через рыхлый фильтр. Раствор сохраняется в холодильнике около недели. Краску перед взятием навески не высушивают, при нагревании она теряет свои свойства.

2. 0,001 н. раствор йодата калия KIO₃. Берут точную навеску 0,2568 г вещества, предварительно высушенного при температуре 102°C в течение двух часов. Растворяют в мерной колбе на 1 дм³, доводят до метки. Этот стандартный раствор 0,01 н. разбавляют в 10 раз, для этого 100 см³ раствора

при помощи пипетки помещают в мерную колбу на 1 дм³, доводят до метки дистиллированной водой и получают 0,001 н. раствор йодата калия.

3. 1%-ная соляная кислота: 22,6 см³ конц. HCl в 1 дм³ раствора.

4. 2%-ная метафосфорная кислота.

5. Аскорбиновая кислота кристаллическая.

6. Йодистый калий кристаллический.

7. Крахмал воднорастворимый, 1%-ный раствор.

8. 0,01 н. раствор NaOH готовят из фиксанала.

Определение каротина по Сапожникову

Растительные пигменты, окрашенные в желтый или оранжевый цвет, нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях типа бензина, ацетона, петролейного эфира, составляют группу *каротиноидов*. Наиболее известным представителем ее является каротин-пигмент, придающий специфическую окраску корням моркови, зернам кукурузы, наряду с хлорофиллом он окрашивает зеленые части растений. Формула каротина - C₄₀H₅₆. Обычно растительные пигменты представляют собой смесь двух-трех изомеров, характерной особенностью каротиноидов является наличие в них значительного числа сопряженных двойных связей (около 15), образующих их хромофорные группы, от которых зависит окраска. Предполагают, что каротиноиды, как переносчики активного кислорода у растений, играют важную роль в процессах фотосинтеза, дыхания, роста.

Их значение в питании человека и животных связано с тем, что при ферментативном разложении одной молекулы каротина в животном организме образуются две молекулы витамина А. Отсутствие или недостаток витамина А приводит к нарушению роста, снижению иммунитета к болезням, ослаблению зрения, называемому куриной слепотой. Наиболее важным источником витамина А в пище человека являются листовые овощи

(салат, шпинат, зеленый лук), морковь, томаты, а также жиры из печени морских рыб (рыбий жир), для животных - это окрашенные корнеплоды и луговые травы.

Определение каротина необходимо для оценки качества растительной продукции в зависимости от ряда агротехнических факторов и приемов; в зоотехнике для составления рационов кормления и в здравоохранении для разработки лечебного питания.

В основе всех методов определения каротина присутствует метод хроматографического анализа, разработанный русским ученым М.Е. Цветом. *Принцип метода* состоит в том, что сложная смесь различно окрашенных веществ экстрагируется из листьев или корнеплодов каким-либо органическим растворителем или их смесью, например спиртом, ацетоном. Экстракт пропускают через стеклянную трубку, заполненную адсорбентом. Как адсорбенты используются тонко размолотые тальк, крахмал, углекислый кальций или окись алюминия и другие. В связи с тем, что каждый из пигментов обладает различной скоростью движения по адсорбционной колонке с фронтом растворителя и специфической адсорбционной способностью, происходит концентрация данного пигмента в определенном слое адсорбента. Слой адсорбента, содержащий тот или иной пигмент, вынимают из трубки или колонки. Пигмент выделяют из адсорбента с помощью какого-либо другого растворителя и количественно определяют, измеряя интенсивность окраски на спектрофотометре или колориметре.

Ход анализа.

Пробу свежих листьев или корнеплодов предварительно измельчают скальпелем на кафельной плитке или пластмассовой терке (приблизительно 20-30 г). Две параллельные навески по 1-5 г из пробы берут на часовом стекле на технических весах и помещают в фарфоровую ступку.

В ступку добавляют 0,5 г соды (Na_2CO_3) для нейтрализации органических кислот (поскольку в кислой среде каротин разрушается), и безводный натрий сернокислый из расчета 3 г на 1 г сырой навески для

обезвоживания материала, перемешивают массу скальпелем.

В ступку добавляют 5 г адсорбента Al_2O_3 и 0,5 г кварцевого песка, перемешивают и тщательно пестиком растирают содержимое ступки до образования сухой гомогенной массы, которую затем ставят в темное место на 20 минут для полноты адсорбции пигментов.

Готовят адсорбционную воронку. Для этого в нижнюю часть стеклянной воронки закладывают ватный тампон средней плотности, затем небольшими порциями насыпают окись алюминия, уплотняя его слегка стеклянной палочкой. Высота адсорбционного слоя должна быть примерно 2,5 см.

Поверхность адсорбента, выровненную скальпелем, слегка смачивают по всей воронке каплями дистиллированной воды (примерно 15 капель) и воронку вставляют в приемник, обычно используют мерную колбу на 100 см³.

Гомогенную массу из ступки количественно с помощью скальпеля переносят на поверхность адсорбционной воронки, распределяя равномерно.

В ступку наливают 20 см³ бензина, тщательно споласкивают пестик и стенки ступки, вычищая остатки адсорбента скальпелем, содержимое выливают в воронку, операцию повторяют до тех пор, пока в ступке не останется следов пигментов.

Бензин медленно приливают из стакана на воронку, вся поверхность навески должна быть покрыта тонким слоем бензина, так как на воздухе каротин может окисляться. Экстракцию каротина проводят до тех пор, пока желтые пигменты на ватном тампоне не перейдут в раствор приемника каротина, а капли бензина, поступающие в приемник, не будут бесцветными.

Содержимое колб после экстракции доводят до метки чистым бензином и колориметрируют. Можно измерить цилиндром объем полученного раствора каротина, записать в журнал и колориметрировать с синим светофильтром (длина волны 420 нм), кюветы 0,5 см. В контрольную кювету наливают бензин.

Расчет:

$$\text{Содержание каротина [мг \%]} = \frac{A \cdot V \cdot 100}{H}$$

где A - каротин по графику, мг;

V - объем полученного экстракта, см³;

H - навеска растительного материала, г.

Форма записи

Вариант, образец	Навеска, г	Экстракт, см ³	Показания ФЭКа	Каротин по графику, мг	Каротин, мг%

Реактивы:

1. Окись алюминия (Al₂O₃), высушенная при 105°C в сушильном шкафу, увлажненная затем до 4%-ной влаги, сохраняется в склянке с притертой пробкой.
 2. Натрий сернокислый безводный, Na₂SO₄, порошок.
 3. Сода, Na₂CO₃, порошок.
 4. Бензин, очищенный на активированном угле.
 5. Основной стандартный раствор двуххромовокислого калия K₂Cr₂O₇ для построения графика на каротин (720 мг K₂Cr₂O₇ «х.ч.» растворяют в 1 см³ дистиллированной воды. 1 см³ этого раствора соответствует 0,00416 мг каротина). Разведения готовят в колбах на 100 см³, доводя раствор до метки водой. Исходный раствор двуххромового калия долго сохраняется в темноте.
- *Работу по извлечению каротина проводят под тягой, при этом недопустима работа любых нагревательных приборов в помещении и курение!*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

Жиры и липиды (жироподобные вещества), содержащиеся в растениях,

выполняют ряд важнейших функций. Различают запасные и цитоплазматические жиры. Из липидов и липопротеидов построены мембранные слои на поверхности клеток и клеточных структур: митохондрий, пластид, ядер. Цитоплазматические липиды, таким образом, регулируют проницаемость клеточных мембран для различных веществ. Содержание их в растениях невелико: 0,1-0,5% от веса сырой растительной ткани. Запасные жиры содержатся в основном в семенах. Известно, что многие виды растений накапливают как основной продукт жизнедеятельности семян жиры, а не углеводы, поскольку при окислении жиров в процессе прорастания семян накапливается в два раза больше энергии, чем при окислении крахмала. Меньше содержится жиров в семенах зерновых культур: 2-3% у ржи, ячменя, пшеницы, 6% у кукурузы. Масличные культуры содержат значительно больше жиров: подсолнечник 30-50%, соя 20-30%, клещевина 50-60%. Растительные жиры - ценный продукт питания человека и животных, значительная часть жиров используется в лакокрасочной промышленности.

Пигменты, содержащиеся в жирах, обуславливают их окраску: желтоватый цвет связан с наличием каротина, зеленоватый - хлорофилла.

В зависимости от условий выращивания растений изменяется количество жиров и состав жирных кислот в масле. Содержание жиров у одного вида растений заметно выше при выращивании в условиях северных широт, внесение азотных удобрений связано с интенсивным синтезом белка и снижением процента жиров.

Процесс маслообразования стимулируется использованием фосфорных, калийных удобрений и применением орошения.

Качество жиров изменяется и в процессе хранения: под действием кислорода воздуха и ряда ферментов, особенно на свету, жиры портятся, прогоркают. Свободные жирные кислоты, которые выделяются при этом, объясняют неприятный вкус и запах. Кислотное число жиров при этом повышается. Для оценки качества жиров используют следующие показатели: кислотное число, йодное число, число омыления, перекисное число,

показатель преломления или рефракции.

Определение общего содержания жира

Для ускорения процесса экстракции жира из растительной пробы необходимо измельчение материала, но не очень тонкое. Обычно материал с низким содержанием жиров (до 10%) зерновые и вегетативные органы - размалывают на мельнице «Пируэт» и пропускают через сито в 1 мм без остатка. Измельчение семян с высоким содержанием жиров производить таким образом нельзя из-за больших потерь масла при размоле. Поэтому такие пробы тщательно растираются в фарфоровой ступке. Предварительно растирают небольшое количество исследуемого материала, при этом происходит насыщение поверхности ступки и пестика маслом, а материал выбрасывают.

Рекомендуется брать навеску материала в воздушно-сухом состоянии и в отдельной пробе определять абсолютно сухой вес.

Высушивание материала при повышенной температуре допускается только в вакууме или токе индифферентного газа (углекислом газе и водороде), чтобы исключить окисление на воздухе маслянистых веществ и изменение их растворимости.

Избыточное присутствие влаги в анализируемом материале увеличивает извлечение примесей и затрудняет извлечение самого жира.

Для технических целей допускается выполнять анализы с предварительным подсушиванием взятой навески в обычном сушильном шкафу при температуре 100-105°C в течение 3 часов. После этого бюкс с навеской охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах.

Этот способ сушки непригоден при анализе материалов с высоким процентом жиров и высоким содержанием непредельных жирных кислот. Экстракцию жира необходимо проводить сразу же после измельчения анализируемого материала, чтобы избежать процессов окисления жира.

Хранить растертые образцы можно только в токе инертного газа.

Сушить материал в термостате при доступе воздуха нельзя, особенно материал с высоким процентом жира. Ненасыщенные жирные кислоты, которые входят в состав растительных жиров, при нагревании на воздухе присоединяют кислород по месту двойной связи, в результате увеличивается вес извлекаемого масла и изменяется его качество. Навеску растительного материала помещают в предварительно подготовленный пакет или патрон из плотной фильтровальной бумаги размером 10 x 12 см.

Патрон готовят, наворачивая фильтровальную бумагу на соответствующую стеклянную пробирку. Основание патрона на 0,5 см перекрывает основание пробирки. Его стягивают и завязывают обезжиренной ниткой. Надежные результаты дает также использование стеклянных патронов с пористыми фарфоровыми пластинками.

Уплотнять навеску в патроне не следует, так достигается более равномерная и быстрая экстракция жира. Сверху навеска закрывается обезжиренной ватой. Таким путем устраняются потери материала при разбрызгивании и равномерное распределение эфира по поверхности навески.

Навеска растительного материала определяется его природой: для низкомасличных образцов с содержанием жира до 10% она составляет $10 \pm 0,005$ г, а для высокомасличных с содержанием жира более 40% - 1-3 г. Низкое содержание жира наблюдается в вегетативных органах, зерне зерновых и зернобобовых культур, исключая арахис и сою.

Патрон с навеской помещают в экстрактор аппарата Сокслета. Аппарат состоит из трех частей: круглодонной стеклянной колбы для растворителя, экстрактора с двумя стеклянными трубками и шарикового холодильника. По объему колбы и экстракторы соответствуют друг другу и имеют стандартный объем 100, 200, 400 см³. Все части прибора соединяются между собой шлифами. Аппараты монтируют в блок по 4-6 штук на один нагревательный прибор. Для подогрева растворителя используют водяные бани с

терморегулятором.

Перед определением круглодонные колбы доводят в термостате до постоянного веса, взвешивают на аналитических весах и хранят в большом эксикаторе. Для работы в колбу приливают $2/3$ - $3/4$ объема сухого чистого эфира.

Соединяют колбу с экстрактором и холодильником. Подготовленный аппарат ставят на водяную баню, включают подогрев и холодильник. Нагревание и кипение эфира регулируют так, чтобы каждое сливание эфира из экстрактора в колбу происходило примерно через 6 минут. Как слишком слабое, так и чрезмерно сильное кипение замедляет извлечение жира. Температуру в водяной бане поддерживают на уровне $45-50^{\circ}\text{C}$.

При кипении пары эфира поднимаются по узкой боковой трубочке, заполняют весь объем экстрактора и поднимаются по шарикам внутренней трубки холодильника. Там пары эфира конденсируются, стекают по трубке вниз, попадая в патрон с навеской или на пакет. Когда уровень эфира поднимается выше верхнего колена сифонной трубочки, эфир с извлеченным жиром стекает в круглодонную колбу. Регулировать температуру экстракции можно погружением колбы в водяную баню, снижением водяного охлаждения в воздушном холодильнике, покрытием колбы и сифонов асбестовой тканью.

Чтобы капли конденсированной влаги на поверхности холодильника не попадали на шлифы, экстракционную трубку обматывают несколько раз шпагатом, концы которого свободно свисают по стенкам трубки.

При нормальной работе прибора извлечение из образцов с малым содержанием жира обычно заканчивается за 4-6 часов, а с большим - за 5-8 часов. Не рекомендуется проводить экстракцию более 12 часов. Конец экстракции определяют следующим образом: отсоединяют колбу от трубки и на чистое часовое стекло берут несколько капель эфира, стекающего из экстрактора. После испарения эфира стекло должно остаться абсолютно чистым, если на стекле образуется налет - экстракция считается не

законченной. При очень длительной экстракции появление налета является результатом извлечения небольшого количества трудно растворимых в эфире веществ, а не жира.

После окончания экстракции колбу отсоединяют от экстрактора, соединяют с холодильником, и отгоняют основную массу эфира на водяной бане при температуре 50-60°C. Полное удаление эфира из колбы проводят в токе инертного газа: водорода, азота или углекислоты. До постоянного веса колбы сушат в термостате 1 час при температуре 70°C.

Количество жира рассчитывают по формуле:

$$\text{Содержание сырого жира [\%]} = \frac{a \cdot 100}{H \cdot (100 - y)}$$

где a - масса сырого жира, г;

H - навеска, г;

y - содержание влаги в образце, %.

Полученный препарат жира используется далее для более детальной химической характеристики: определения йодного и кислотного чисел, числа омыления и других.

Реактивы:

Обычно серный эфир, используемый для экстракции, содержит примеси: воду, спирт и ацетон. Для очистки от спирта и ацетона эфир промывают дистиллированной водой: в делительную воронку емкостью 0,5 дм³ берут 200 см³ эфира и 50 см³ воды, взбалтывают: пары эфира выпускают через стеклянную пробку, а воду сливают через кран, операцию повторяют 2-3 раза. Отмытый эфир сушат, добавляя в темную склянку с эфиром зернистый хлористый кальций до тех пор, пока часть гранул не перестанет растекаться и мазаться. Оставляют раствор на двое суток в склянке, закрытой корковой пробкой с хлоркальциевой трубкой, затем эфир осторожно отгоняют на водяной бане. При работе с эфиром следует соблюдать меры предосторожности. Очистку эфира производить в прохладном помещении и не нагревать воронку руками. Отгонку эфира производить при температуре

не более 60°C, избегая близости огня. Защищать эфир от действия света, так как возможен взрыв его паров.

Определение жира по массе обезжиренного остатка по Рушковскому

Этот метод находит широкое применение при массовых анализах в селекции и зоотехнии, достаточная точность метода сочетается с высокой производительностью.

Ход анализа.

Бумажные пакетики предварительно обезжиривают, доводят до постоянного веса, нумеруют простым карандашом. Навеску измельченных семян массой 1 г помещают в пакетик, сушат в термостате при температуре 105°C до постоянного веса, вес записывают в журнал. Пакеты с навесками по 10-12 штук помещают в рыхлый марлевый мешочек и опускают в широкогорлую банку с притертой пробкой из темного стекла емкостью 1-1,5 дм³. Заливают содержимое банки на 3/4 объема петролейным эфиром или авиабензином.

Периодически мешочек с навесками встряхивают, растворитель сливают и заменяют новой порцией, в течение двух суток операцию повторяют три раза. После этого пакетики с частично обезжиренными навесками помещают на 2-4 часа в аппарат Сокслета и остатки масла извлекают этиловым эфиром, как описано выше. Затем пакетики помещают в широкий кристаллизатор и под тягой дают испариться растворителю.

После этого каждый пакетик кладут в бюкс с притертой крышкой, доводят до постоянного веса при температуре 100-105°C в течение 2-3 часов. Преимущество метода состоит в том, что за одну экстракцию анализируется 15-20 образцов. Значительно упрощает работу последнее взвешивание обезжиренных и высушенных пакетиков на торсионных весах.

Массу сырого жира находят по разности масс пакетика с навеской до и после экстракции.

Содержание жира (в %) вычисляют по формуле :

$$\text{Содержание сырого жира} = \frac{a \cdot 100}{H} ,$$

где a - масса сырого жира, г;

H - навеска, г.

Определение кислотного числа

В жирах почти всегда содержится незначительное количество свободных жирных кислот. *Кислотное число* - количество (мг) едкого кали, необходимое для нейтрализации свободных кислот в 1 г масла. Кислотное число масла - величина непостоянная, обычно она снижается при созревании семян и увеличивается при прорастании семян за счет гидролиза жиров, а также при длительном хранении семян масличных культур. Растительные жиры содержат больше свободных кислот, чем животные жиры, содержание их зависит от внешних условий выращивания и хранения.

Принимая условно всю кислотность жира за олеиновую кислоту с молекулярной массой 282,3, можно выражать кислотность в процентах от свободной олеиновой кислоты.

Принцип метода. Навеску масла растворяют в смеси спирта и серного эфира, при комнатной температуре быстро титруют 0,1 н. водным раствором едкого кали по фенолфталеину, а жиры - по тимолфталеину.

Ход анализа.

Навеску масла 1-5 г (чем выше ожидаемое кислотное число, тем меньше навеска) берут на аналитических весах в чистую сухую колбу на 100 см³ и приливают 50 см³ нейтральной смеси серного эфира и спирта в соотношении 2 : 1.

Слегка взбалтывают и растворяют масло. Если оно при этом плохо растворяется, жидкость слегка нагревают на водяной бане при взбалтывании. Охлаждают до комнатной температуры, добавляют 5 капель фенолфталеина, а для темноокрашенных жиров, где трудно наблюдать

переход окраски, - несколько капель тимолфталеина и при постоянном помешивании быстро титруют 0,1 н. водным раствором едкого кали по фенолфталеину до ярко розовой окраски, а по тимолфталеину - до появления синей окраски.

Расчет результатов производится по формуле:

$$\text{Кислотное число} = \frac{a \cdot 56,11 \cdot 100}{H \cdot 100}$$

где a - объем 0,1 н. щелочи, израсходованный при титровании, см³;

H - навеска масла, г;

56,11 - эквивалент КОН.

Процент свободных жирных кислот равен кислотному числу, умноженному на 0,503 (пересчетный коэффициент, который включает отношение молекулярной массы олеиновой кислоты 282,3 к молекулярной массе едкого кали 56,11).

Реактивы:

1. Употребляемая для растворения смесь должна иметь нейтральную реакцию. На 2 объема серного эфира берут 1 объем 95%-ного этилового спирта, тщательно перемешивают. Прибавляют к смеси несколько капель индикатора и титруют той же 0,1 н. едкой щелочью до получения заметной окраски.
2. 1%-ный раствор фенолфталеина.

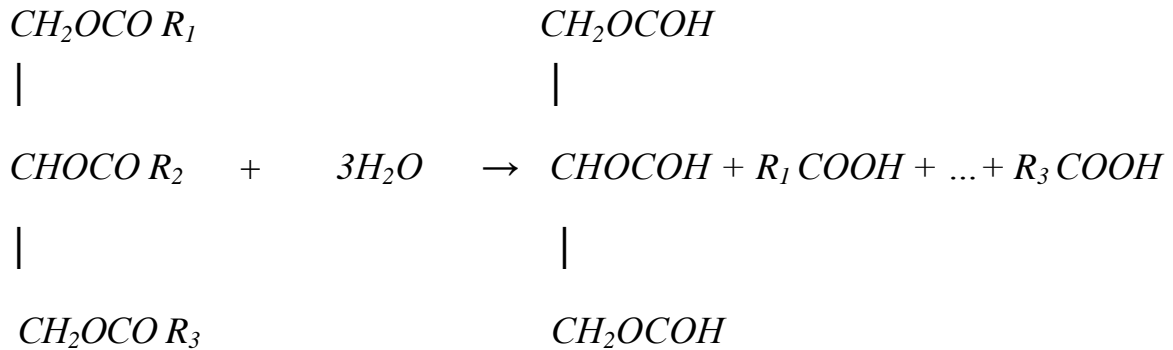
Определение числа омыления

Число омыления показывает, сколько миллиграммов едкого кали необходимо для нейтрализации свободных и связанных жирных кислот, которые содержатся в 1 г жира. Числом омыления учитывают общее количество кислот, входящих в состав масла, а также среднюю величину молекулярной массы этих кислот.

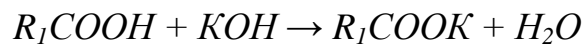
Число омыления изменяется в пределах от 160 до 270 ед. в

зависимости от вида культуры и технологии получения масла, более низким числом омыления обладают жиры из семян крестоцветных.

Принцип метода. Определенное количество жира растворяют в избытке титрованной щелочи при нагревании на водяной бане. Жир гидролизуется на глицерин и жирные кислоты:



Затем жирные кислоты нейтрализуются едкой щелочью:



Остаток щелочи, не связанный в реакции, оттитровывают соляной кислотой по фенолфталеину или другому индикатору.

Ход анализа.

Навеска масла (от 1 до 3,0 г) берется на аналитических весах в зависимости от ожидаемых результатов. Масло помещается в сухую чистую круглодонную колбу на 100 см³. При навеске 1-2 г приливают из бюретки точно 25 см³ 0,5 н. едкого кали в спиртовом растворе, а при навеске 2-3 г - 50 см³ щелочи. Закрывают колбу обратным холодильником. Кипятят на водяной бане, периодически взбалтывая раствор, до получения прозрачной жидкости в течение 0,5-1 часа.

Одновременно проводят контрольное определение: в такую же колбу приливают 2 см³ дистиллированной воды, 25 см³ щелочи и ставят на водяную баню.

При содержании в материале восков или смол добавляют в колбу такой же объем одного из растворителей (толуола, ксилола) для повышения температуры кипения, а время кипения увеличивают до 2 часов. Если в

материале содержится много неомыляемых веществ, то получить прозрачный раствор не удастся.

Неостывший раствор в колбе титруют 0,5 н. раствором соляной кислоты, используя в качестве индикатора фенолфталеин, а в случае окрашенной вытяжки - тимолфталеин. Одновременно титруют раствор в контрольной колбе.

Результаты рассчитываются по формуле:

$$X = \frac{(H_{щ} \cdot y - H_{к} \cdot a) \cdot 56,11}{H}$$

где X - число омыления, мг КОН;

$H_{щ}$ - нормальность щелочи;

$H_{к}$ - нормальность кислоты;

y - объем щелочи, прилитый в колбу, см³;

a - объем кислоты, определяемый по разности титрования растворов из контрольной и опытной колб, см³;

H - навеска масла, г;

56,11 - эквивалент КОН.

Реактивы:

Спиртовой раствор щелочи: 30 г чистого едкого калия растворяют в минимальном объеме дистиллированной воды (≈ 20 см³). После растворения навески добавляют к ней примерно 1 г гидроокиси бария в концентрированном растворе для осаждения карбонатов, доводят раствор чистым спиртом до объема 1 дм³. Оставляют раствор отстаиваться на одни сутки. В случае появления осадка, фильтруют и сохраняют в склянке из темного стекла, защищая от СО₂. Очистку спирта от альдегидов и сивушных масел проводят, добавляя небольшое по весу количество кристаллического КМnО₄, перемешивают, отстаивают одни сутки и отгоняют чистый спирт на водяной бане. Спиртовой раствор щелочи при длительном хранении буреет и становится непригодным к употреблению даже при очищенных реактивах.

Определение показателя преломления масла

Луч света при переходе из одной среды в другую отличной плотности изменяет направление, т.е. преломляется. *Показателем преломления* называется отношение синусов углов, образованных лучом, падающим и преломленным, с перпендикуляром к поверхности раздела двух сред. Различные масла имеют характерные для них коэффициенты преломления, что позволяет контролировать чистоту продукта и дает информацию о мере неопределенности жирных кислот. Известно, что чем богаче масло непредельными кислотами, тем выше коэффициент преломления.

Величина показателя преломления определяется свойствами преломляющей среды, длиной световой волны и температурой. Поэтому принято определять показатель преломления по отношению к световой волне определенной длины, чаще всего к спектральной линии D натриевого пламени, и обозначать n_D^{20} (число вверху - температура, при которой производилось определение).

Масло предварительно тщательно фильтруется от взвесей и осадков. Определение рефракции проводят при 20°C для жидких масел на рефрактометре ИРФ-20 и при 50°C для твердых жиров на буттер-рефрактометре. Показатели преломления измеряются в пределах от 1,30 до 1,70 с точностью до 10^{-4} . На каждый градус температуры ниже или выше заданного уровня вносится поправка для масла $4 \cdot 10^{-4}$.

Порядок работы на рефрактометре.

Проверку правильности работы на рефрактометре и установку «нуля» проводят с помощью стандартных пластинок с известным n_D . Для этого открывают верхнюю головку рефрактометра и на нижнюю призму наносят каплю α -монобромнафталина. Накладывают, равномерно и осторожно прижимая на эту каплю пластинку полированной стороной вниз. Появление интерференционных полос свидетельствует о неравномерном контакте пластинки и нижней призмы.

Прибор установлен правильно, если совпадают отсчет по прибору с

данными, указанными на пластинке.

Если эти величины не совпадают, то проводят корректировку прибора. Для этого пересечение нитей окуляра точно устанавливают на цифру, которая указана на пластинке, и ключом, приложенным к рефрактометру, вращают винт, расположенный за зрительной трубкой. Границу раздела поля доводят до точки пересечения нитей. В таком положении прибор пригоден к работе. На определение показателя преломления требуется мало времени и всего несколько капель масла. Удобно сочетать этот анализ с определением йодного числа по Ермакову, который не требует проведения дополнительных операций, а только других расчетов по формуле.

Ход анализа.

Сначала включают нагрев воды в ультратермостате, регулируют температуру и скорость прохождения воды через рефрактометр так, чтобы на выходе температура воды была $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Поднимают верхнюю головку рефрактометра и оплавленной пипеткой или стеклянной палочкой наносят 2-3 капли масла на полированную поверхность нижней головки. Закрывают верхнюю головку прибора так, чтобы жидкость заполнила зазор между призмами.

Осветительное зеркало устанавливают так, чтобы отраженный свет равномерно освещал поле зрения, и закрепляют его винтом.

Устанавливают окуляр зрительной трубы так, чтобы нити были резко видны. Амидазу прибора перемещают от малых значений к большим до тех пор, пока поле окуляра не разделится на две части: затемненную и освещенную. Амидазой устанавливают пересечение нитей точно на границу раздела полей - освещенного и затемненного. Берут отсчет по шкале с точностью до тысячного знака, а десятитысячные определяют визуально. Отсчет для одной пробы делают 3-4 раза, слегка сдвигая границу раздела вверх и вниз, а затем устанавливая ее точно на пересечении нитей. Для расчетов берут среднее арифметическое из полученных значений.

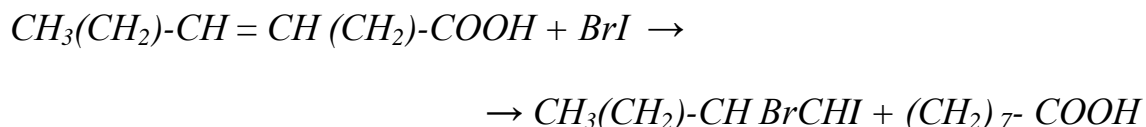
Определение йодного числа по Ганусу

Йодное число показывает количество граммов йода, которое может связать 100 г соответствующего жира или масла. Йодные числа в разных маслах изменяются в широких пределах от 30 до 170, самым низким йодным числом отличается кокосовое масло. Определение этого показателя основано на способности ненасыщенных кислот присоединять два атома йода по месту разрыва двойной связи.

Йодное число указывает на количественное содержание непредельных жирных кислот, не указывая на их состав. С повышением йодного числа увеличивается способность жиров к окислению, более жидкой становится консистенция, часть таких масел используется для приготовления лаков, красок и олифы. Пищевые масла отличаются более низким йодным числом. Этот показатель изменяется в зависимости не только от видовых особенностей культуры, но и от агротехнических и почвенно-климатических условий.

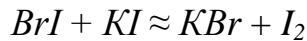
Принцип метода. Принято считать, что йод из раствора присоединяется по месту разрыва двойной связи в ненасыщенной жирной кислоте. Однако йод при обычной температуре реагирует с маслами крайне медленно, а при нагревании присоединение его идет неравномерно. Быстрее реагируют с жирами галоидопроизводные йода: Cl_2 - по методу Гюбля и BrI - по методу Гануса, в остальном эти два метода принципиальных различий не имеют.

Реакция с олеиновой кислотой:



В незначительных размерах может происходить замещение галогеном водорода насыщенных групп, и результат анализа получается выше теоретического, поэтому требуется точное соблюдение методики. Масло растворяют в хлороформе, добавляют BrI (раствор Гануса), реакция замещения протекает в темноте в течение часа. Остаток бромистого йода

обрабатывают раствором йодата калия, при этом происходит следующая реакция:



Избыток йода, не вступившего в реакцию замещения, примерно более половины от первоначального количества титруют раствором гипосульфита точно известной нормальности.

Ход анализа.

Навеску масла от 0,2 до 1,0 г берут в зависимости от ожидаемого йодного числа. При йодном числе 30-100 ед. навеска составляет 0,4-1,0 г; при 100-150 ед. - навеска 0,3 г, при йодном числе более 150 ед. - навеска 0,2 г берется на аналитических весах в малую стеклянную пробирку с плоским дном или бюкс.

При массовых анализах можно использовать микропипетки высокого класса на 0,2 см³ и, зная вес капли, брать навески объемным методом. Стеклянная пробирка с маслом длинным пинцетом помещается на дно чистой сухой конической колбы на 600 см³ с притертой пробкой. В навеску масла осторожно вливают 10 см³ хлороформа, опрокидывают вращательным движением пробирку и растворяют масло. Если масло не растворится и смесь будет непрозрачной, следует добавить новую порцию хлороформа. В колбу из бюретки приливают точно 25 см³ раствора Гануса. Пробки смачивают раствором KI, во избежание потерь йода, и плотно закрывают колбы; реакционную смесь тщательно перемешивают и оставляют стоять в темноте на 1 ч при температуре 26-30°C или на 2 часа при комнатной температуре. Одновременно проводится контрольное определение реакционной смеси. В контрольную колбу наливают 10 см³ хлороформа, 25 см³ раствора Гануса, перемешивают и также выдерживают в темноте.

По окончании реакции в опытную и контрольную колбы приливают 10 см³ 2%-ного раствора йодистого калия, смачивая этим раствором пробку и шлиф колбочки, затем по 50 см³ дистиллированной воды и титруют избыток

йода 0,1 н. раствором гипосульфита до желтой окраски. Затем прибавляют 1 см³ 1%-ного воднорастворимого крахмала и титруют медленно, перемешивая содержимое колбы, до исчезновения голубой окраски. Раствор йодистого калия и воду доливают непосредственно перед определением. Если хлороформ нечистый, йод переходит в раствор медленно, титрование затягивается, результаты неверны.

При массовых анализах следует при титровании соблюдать ту же последовательность образцов, что и при заливке раствором Гануса.

Расчет результатов на 100 г жира: в реакции йод и гипосульфит реагируют в эквивалентных количествах, поэтому:

$$X = \frac{(a - b) \cdot N_2 \cdot 126,9 \cdot 100}{H \cdot 1000}$$

где X - йодное число, г;

a - объем гипосульфита, пошедший на титрование опытной колбы, см³;

b - объем гипосульфита, пошедший на титрование контрольной колбы, см³;

N_2 - нормальность гипосульфита;

126,9 - атомная масса йода, г;

H - навеска, г.

Реактивы:

1. Раствор Гануса (бромистого йода): 13 г йода растворяют в 100 см³ ледяной уксусной кислоты, а затем прибавляют 8,2 г брома. Избыток брома не допускается, так как он усиливает реакцию замещения. Раствор доводят ледяной уксусной кислотой до 1 дм³ и хранят в темной склянке.

2. Хлороформ обычно загрязняется водой, спиртом, эфиром, ацетоном. Очищают его от примесей в делительной воронке, промывая неоднократно водой, затем хлороформ высушивают хлористым кальцием и отгоняют фракции, кипящие при температуре 60-61°C. Чистоту хлороформа проверяют, добавляя к нему раствор йодистого калия, при этом он не должен менять окраску и должен сохраняться прозрачным.

3. 0,1 н. раствор гипосульфита: титр гипосульфита устанавливают по двуххромовокислому калию дважды перекристаллизованному из воды и высушенному при температуре 130°C.

4. 1%-ный раствор крахмала готовится на насыщенном растворе натрия хлористого.

Определение йодного числа на рефрактометре по Ермакову

Йодное число определяется по показателю преломления масла на рефрактометре. Для расчета используется особая формула или шкала, предложенная автором метода. Метод пригоден для выполнения массовых анализов при малом весе растительной пробы. Широкое применение находит в селекционной и лабораторной практике при наличии 2-10 г семенного материала.

Ход анализа.

Несколько капель нативного масла получают, пользуясь стальным пресс-стаканом Ермакова или другим приспособлением на лабораторном масляном прессе. Для образцов с высоким содержанием жира создают давление 100 атм., а для образцов с содержанием жира не более 25% - 200 атм. Капли масла собираются специальной пипеткой, носик которой содержит плотно вставленный ватный тампон. Забор и фильтрование масла происходит под слабым вакуумом, который создает резиновая груша.

Для каждого образца получают две пробы масла. Показатель преломления определяют на рефрактометре ИРФ-22. Определения ведут при температуре 20-25°C. Для каждой пробы делают 3-5 отсчетов и берут среднее из этих значений, Установив нужную температуру в ультратермостате, открывают верхнюю часть головки прибора и наносят на поверхность измерительной призмы 2-3 капли масла. Осторожно закрывают головку и наблюдают полноту заполнения жидкостью зазора между призмами прибора. Определение на приборе проводят в белом свете. Измерение и отсчеты

проводят 3-4 раза, каждый раз передвигая линию раздела.

Расчет результатов:

$$X = \frac{n_D^{20} - 1,4595 \cdot 100}{0,0118}$$

где X - йодное число, г;

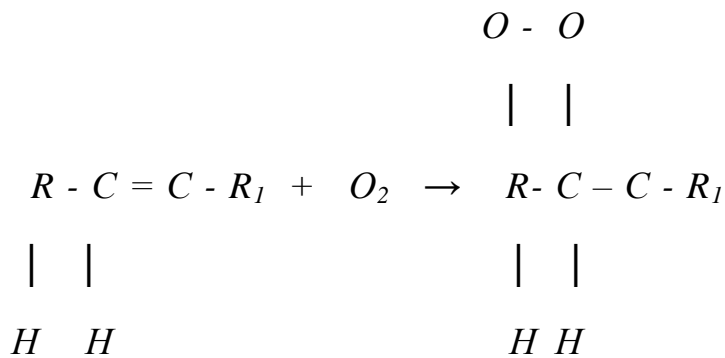
n_D^{20} - показатель преломления данного масла.

Для быстрого расчета составляют таблицу следующим образом:

Показатель преломления	1,478	1,479	1,480	1,481	1,482	
Йодное число	156,9	165,2	173,7	182,2	190,6	

Определение перекисного числа

Ненасыщенные жирные кислоты под действием кислорода воздуха способны частично окисляться. При этом кислород присоединяется по месту двойных связей, образуя перекиси:



Эта реакция - наиболее распространенный тип прогоркания жиров или содержащих жиры продуктов, круп, концентратов.

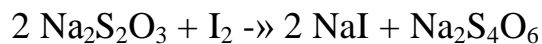
Процесс ускоряется в присутствии небольшого количества влаги, при повышенной температуре и наличии света. В отсутствие кислорода окисление не происходит, при хранении в вакууме жиры не прогоркают. В практике для предотвращения прогоркания жиров к ним в небольшом количестве добавляют антиокислители.

Иногда прогоркание жиров связано с деятельностью микроорганизмов,

при этом неприятный вкус и запах жира обусловлены появлением кетонов, образующихся при окислении отщепленных жирных кислот. Кетонное прогоркание наблюдается только у низкомолекулярных жирных кислот с числом углеродных атомов не более 12. Наиболее простой случай прогоркания, который часто наблюдается при хранении животных жиров, например, сливочного масла, связан с простым омылением жира и образованием при этом свободной масляной кислоты с очень неприятным запахом.

Следовательно, *перекисное число* служит показателем окислительного изменения жиров и выражается в граммах йода, которое может прореагировать с перекисями, находящимися в 100 г жира.

Принцип метода. Перекиси жира в кислой среде могут реагировать с йодистым калием, при этом в раствор выделяется свободный йод. Свободный йод оттитровывают раствором гипосульфита в присутствии крахмала:



Ход анализа.

Навеску жира от 1 до 3 г, в зависимости от интенсивности процесса прогоркания, берут на аналитических весах в маленькую стеклянную пробирку с плоским дном. Помещают ее в коническую колбу на 150 см³, доливают 10 см³ чистого хлороформа, наливая его прямо в пробирку, затем пробирку опрокидывают, перемешивая раствор круговым движением, и растворяют жир. Если жир не растворяется или раствор не осветляется, добавляют новую порцию хлороформа.

В контрольную колбу также приливают 10 см³ хлороформа, затем в обе колбы при перемешивании добавляют 20 см³ ледяной уксусной кислоты и 1 см³ свежеприготовленного раствора йодистого калия. Смесь тщательно перемешивают и оставляют на 3 минуты по песочным часам.

Титрование выделившегося йода проводят 0,01 н. раствором

гипосульфита. Сначала титруют раствор до появления желтой окраски, а затем добавляют 1 см³ 1%-ного раствора крахмала и титруют до исчезновения голубой окраски, равномерно и медленно перемешивая раствор.

Расчет результатов производится по формуле:

$$P = \frac{(a - b) \cdot n_{.2} \cdot 126,9 \cdot 100}{H \cdot 1000}$$

где P - перекисное число;

a - объем гипосульфита, пошедший на титрование раствора в опытной колбе, см³;

b - объем гипосульфита, пошедший на титрование раствора в контрольной колбе, см³;

$n_{.2}$ - нормальность раствора гипосульфита;

126,9 - атомная масса йода;

H - навеска, г.

Реактивы:

0,01 н. раствор гипосульфита.

Некоторые показатели различных растительных масел

Масло	Удельный вес	Рефракция при 40°C	Кислотное число	Йодное число	Число омыления
Кукурузное нерафинированное	0,918-0,927	56-62	6	130-131	186-198
Конопляное техническое	0,922-0,932	-	1	< 150	185-195
Хлопковое пищевое	0,920-0,930	56-69	0,3	101-116	191-198
Кокосовое пищевое	t плавления 23-29°C	33-36	0,65	8-12	254-266
Льняное техническое	0,928-0,936	-	5,0	< 170	184-195
Касторовое техническое	0,940-0,960	-	5,0	82-88	176-186

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ

Подготовка растительных проб для определения тяжелых металлов

Способ сухой минерализации основан на полном разложении органических веществ путем сжигания проб растений в муфельной печи при контролируемом температурном режиме.

Ход анализа.

В чашку или тигель берут измельченную навеску растительной пробы (при определении цинка, меди и марганца - 2 г; кадмия, свинца, никеля, хрома и кобальта - 10-15 г), взвешенную с точностью не более 0,01 г, добавляют 96%-ный этиловый спирт из расчета 5 см³ спирта на 1 г сухого вещества. Пробу накрывают часовым стеклом и оставляют на 24 часа.

Пробу высушивают и затем обугливают на электроплитке до прекращения выделения дыма, не допуская воспламенения. Затем тигли помещают в холодную муфельную печь и, повышая ее температуру на 50°C каждые полчаса, доводят температуру печи до 450°C и продолжают минерализацию в течение 10-15 часов до получения серой золы.

Охлажденную до комнатной температуры золу смачивают по каплям азотной кислотой (1 : 1), выпаривают на водяной бане, помещают в муфельную печь, доводят ее температуру до 300°C и выдерживают 30 минут. Этот цикл может быть повторен несколько раз до получения золы белого или слегка окрашенного цвета без обугленных частиц.

Одновременно с пробами в каждой серии анализа проводится холостой опыт: тигель (чашка), не содержащий навесок, но с добавлением того же количества реактивов, что и в пробы, участвует во всех операциях (обугливание, озоление, растворение, экстракция).

Аппаратура, реактивы, материалы:

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками (ГОСТ 24104).
2. Муфельная или электропечь сопротивления камерная лабораторная.
3. Электроплитка бытовая по ГОСТ 1419.

4. Баня водяная.
5. Тигли или чашки кварцевые (ГОСТ 19908).
6. Стекла часовые.
7. Цилиндры мерные объемом на 10 и 50 см³ (ГОСТ 1770).
8. Пипетка объемом 1 см³ по ГОСТ 20292.
9. Спирт этиловый ректифицированный (ГОСТ 18300).
10. Кислота азотная (ГОСТ 11125. «ос. ч.»), раствор в бидистиллированной воде (1 : 1) по объему.

Способ мокрой минерализации основан на полном разложении растительной пробы при нагревании в смеси концентрированных азотной и серной кислот и перекиси водорода.

Ход анализа.

Навеску измельченной растительной пробы (указана в способе сухой минерализации) переносят в колбу Кьельдаля, добавляют азотную кислоту из расчета 10 см³ на каждые 5 г пробы и выдерживают не менее 15 минут. В колбы вносят 2-3 стеклянных шарика, закрывают воронкой и нагревают на электроплитке вначале слабо, затем сильнее, упаривая содержимое колбы до объема около 5 см³. Колбу охлаждают, добавляют 10 см³ азотной кислоты, упаривают до 5 см³. Этот цикл повторяют несколько раз до прекращения выделения бурых паров.

В колбу вносят 10 см³ азотной кислоты, 2 см³ перекиси водорода на каждые 5 г пробы. Не допускается изменять последовательность добавления реагентов: перекись водорода всегда вносится последней. Содержимое колбы упаривают до 5 см³. Минерализацию считают законченной, если раствор после охлаждения остается бесцветным. При появлении желтой или коричневатой окраски в колбу добавляют 5 см³ азотной кислоты и 2 см³ перекиси водорода и нагревают до прекращения выделения бурых паров и полного обесцвечивания раствора. В охлажденную колбу вносят 10 см³ бидистиллированной воды и кипятят в течение 10- 15 минут.

Одновременно с пробами в каждой серии анализа проводится холостой опыт.

Аппаратура, реактивы и материалы:

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками по ГОСТ 24104.
2. Электроплитка с гнездами для колб Кьельдаля.
3. Колбы Кьельдаля объемом на 50 или 100 см³ по ГОСТ 25336.
4. Цилиндры мерные объемом на 10, 25 и 50 см³ по ГОСТ 1770.
5. Воронки лабораторные по ГОСТ 25336.
6. Шарики стеклянные.
7. Кислота азотная концентрированная по ГОСТ 11125. «ос. ч.».
8. Перекись водорода (пергидроль) по ГОСТ 10929. «х.ч.».
9. Вода бидистиллированная.

Приготовление растворов для анализа.

В тигель (колбу, чашку) с минерализованной любым из описанных способов растительной пробой добавляют 5-10 см³ азотной кислоты (1:1) и нагревают на водяной бане или электроплитке до образования влажных солей, растворяют в 10-15 см³ 1%-ной азотной кислоты, переносят в мерную колбу объемом 25 см³ и доводят до метки тем же раствором кислоты.

В полученных растворах определяют содержание тяжелых металлов методом пламенной атомной абсорбции. В некоторых случаях растворы разбавляют или концентрируют.

Валовое содержание микроэлементов

Методы пробоподготовки для определения валового содержания микроэлементов основаны на полном разложении пробы растений и переведении ее в раствор.

Для разложения растений применяют два метода: сухое озоление и

кислотное сжигание (мокрое озоление). Описанный способ сухого озоления используют для определения железа, марганца, цинка меди, кобальта, никеля, свинца, кадмия, хрома. После мокрого озоления кроме названных элементов возможно определение молибдена. При использовании фотометрических методов определения золу и остаток от мокрого сжигания проб обрабатывают 0,3 М раствором соляной кислоты. Зола в тигле осторожно смачивают 0,3 М соляной кислотой, затем приливают 5 см³ этого же раствора. Тигли помещают на водяную баню и нагревают в течение 30 минут. Полученный раствор переносят через воронку в градуированные пробирки объемом 20 см³. Тигель обмывают бидистиллированной водой и доводят его раствор до метки.

Способы подготовки растений для определения бора, ртути, селена и мышьяка, а также способ сухого озоления для молибдена описаны в методиках определения соответствующих элементов.

Аппаратура, реактивы, материалы:

1. Баня водяная лабораторная.
2. Цилиндр мерный объемом 5 см³ по ГОСТ 1770.
3. Пробирки с притертыми пробками объемом 20 см³ по ГОСТ 1770.
4. Кислота соляная по ГОСТ 14261 «ос. ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,3 М.

Максимально допустимые концентрации химических элементов в
поливных водах (рекомендации ФАО)

Элемент	Поливные воды, мг/л	Элемент	Поливные воды, мг/л
Алюминий	5,0	Молибден	0,01
Бериллий	0,1	Мышьяк	0,1
Железо	0,5	Никель	0,2
Кадмий	0,05	Селен	0,02
Кобальт	0,1	Свинец	5,0
Литий	2,5	Фтор	1,0
Марганец	0,2	Хром	0,1

Медь	0,2	Цинк	2,0
------	-----	------	-----

Предельно допустимые концентрации тяжелых металлов в некоторых видах продовольственного сырья и пищевых продуктов для России в мг/кг сырой массы (Медико-биологические требования № 5061-89)

Продукты	Pb	Cd	As	Hg	Cu	Zn
Зерновые	0,5	0,1	0,2	0,03	10,0	50,0
Бобовые	0,5	0,1	0,3	0,02	10,0	50,0
Овощи и картофель	0,5	0,03	0,2	0,02	5,0	10,0
Фрукты	0,4	0,03	0,2	0,02	5,0	10,0

Определение содержания хлоридов в растениях методом ионометрического титрования

Метод основан на разложении пробы растений, переведении ее в раствор и ионометрическом титровании хлоридов раствором азотнокислого серебра, в процессе которого ионы серебра связываются хлорид-ионами в труднорастворимое соединение. Для установления конечной точки титрования используют электродную пару, состоящую из индикаторного хлорид-селективного электрода и вспомогательного насыщенного хлорсеребряного электрода с электролитическим ключом, заполненным раствором азотнокислого калия.

Ход анализа.

Озоление проводят при температуре 450-500°C, а раствор перед выпариванием с уксуснокислым аммонием нейтрализуют 1 М раствором азотной кислоты.

Аликвоту подготовленной анализируемой пробы 5-20 см³ помещают в стакан объемом 50 см³ и добавляют 1 см³ 0,1 М раствора азотной кислоты. Бюретку заполняют 0,02 М раствором азотнокислого серебра. На блоке автоматического титрования (БАТ) устанавливают значение ЭДС конечной точки титрования, которую определяют предварительно.

Стакан с вытяжкой ставят на магнитную мешалку, погружают в раствор электродную пару и кончик дозирующей трубки, включают магнитную мешалку, затем блок автоматического титрования нажатием кнопок «Вкл.» и затем «Пуск» и титруют до заданного значения ЭДС. После того, как загорится сигнальная лампа «Конец», определяют расход раствора азотнокислого серебра. По окончании титрования БАТ выключают в обратном порядке - сначала кнопку «Пуск», затем - «Вкл.».

Содержание хлоридов (F) в мэкв/100 г пробы вычисляют по формуле:

$$F = \frac{(V - V_0) \cdot C \cdot 100 \cdot V_2}{V_1 \cdot m},$$

где V - объем 0,02 М раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование анализируемого раствора, см³;

V_0 - объем 0,02 М раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование холостой пробы, см³;

C - концентрация раствора азотнокислого серебра в ммоль/см³ (0,02 ммоль/см³);

100 - коэффициент пересчета на 100 г пробы;

V_1 - аликвота анализируемого раствора, см³;

V_2 - объем исходного раствора (разложенной и подготовленной пробы 50 см³);

m - навеска растительной пробы, г.

Массовую долю хлоридов в растениях (в %) вычисляют по формуле:

$$Cl = A \cdot Э/1000,$$

где A - содержание хлоридов в анализируемой пробе, мэкв/100 г;

Э - эквивалентная масса хлорид-иона (35,5);

1000 - коэффициент пересчета в граммы.

Аппаратура и материалы:

1. Электрическая муфельная печь.
2. Тигли никелевые по ГОСТ 492 или платиновые.
3. Чашки фарфоровые объемом 100 см по ГОСТ 9147.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. - М. : Наука. - 1975.
2. Бабко А.К., Пилипенко А. Т. Фотометрический анализ // Методы определения неметаллов. - М., 1974.
3. Бок Р. Методы разложения в аналитической химии. - М.: Химия, 1984. - 426 с.
4. Большой практикум по физиологии растений // Под ред. Б.А. Рубина. - М., 1978.
5. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов (СанПиН 2.3.2.1078-01). Приложение 7. – М.: Минздрав России, 2002. – 166 с.
6. Дмитриев М.Т., Казнина Н.И., Пинигина И.А. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде. - М.: Химия, 1989. - 366 с.
7. Донченко Л.В., Надыкта В.Д. Безопасность пищевой продукции. – М.: Пищепромиздат, 2001. – 525 с.
8. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. - М.: Высшая школа, 1991.
9. Идз Мэри Ден. Витамины и минеральные вещества: Полный медицинский справочник. – СПб.: Комплект, 1995. – 503 с.
10. Кретович В.Л., Казаков Е.Д. Биохимия зерна и продуктов его переработки. – М.: Агропромиздат, 1989. – 368 с.
11. Магницкий К.П., Шугаров Ю.А., Маяков В.К. Новые методы анализа растений и почв. - М., 1959.
12. Методы определения микроэлементов в почвах, растениях и водах / Под ред. И.Г. Важенина. - М.: Колос, 1974. - 286 с.
13. Позняковский В.М. Гигиенические основы питания и экспертизы продовольственных товаров. - Новосибирск: Издательство Новосибирского Университета, 1999. - 431с.

14. Попадич И.А., Маслова Л.Г., Тесслер Т.В. и др. Оптические методы анализа: Лабораторный практикум. – М.: МГАПП, 1992. – 131 с.
15. Практикум по агрохимии / Под ред. Б.А. Ягодина. - М., 1987.
16. Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минеева. - М.: Изд-во МГУ, 2001. - 689 с.
17. Практическая химия белка. / Пер. с англ. / Под ред. Дарбре А. - М.: Мир, 1989. - 623 с.
18. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / Под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. – М.: Брандес-Медицина, 1998. – 341 с.
19. Русин Г.Г. Физико-химические методы анализа в агрохимии. - М.: Агропромиздат, 1990. - 302 с.
20. Силаева Т.П., Кочеткова А.А., Колесное А.Ю. Трансгенные пищевые продукты: риск и перспектива / Пищевая промышленность. - 1999. - №10. - С. 14-15; № 11. - С. 11-12.
21. Справочник предельно допустимых концентраций средних веществ в пищевых продуктах и среде обитания. – М., 1993. – 142 с.
22. Стопский В.С., Ключник В.В., Андреев Н.В. Химия жиров и продуктов переработки жирового сырья. – М.6 Колос, 1992. – 286 с.
23. Траубенберг С.Е., Лысюк Ф.А., Остащенко Н.В. и др. Электрохимические методы анализа. – М.: ИК МГУПП, 1999. – 139 с.
24. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины. – М.: Медицина, 1985. – 307 с.
25. Тужилкин В.И., Кочеткова А.А., Колесное А.Ю. Пектины. Теория и практика применения // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 1995. - № 1-2. – С. 78-83.
26. Химический состав пищевых продуктов / Под ред. И.М. Скурихина, М.Н. Волгарева. - М.: Агропромиздат, 1987. - 360 с.

27. Шобингер У. Плодово-ягодные и овощные соки. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 472 с.
28. Щербаков В.Г., Лобанов В.Г., Прудникова Т.Н. и др. Биохимия растительного сырья / Под ред. Щербакова В.Г. – М.: Колос, 1999. – 376 с.
29. Эйхлер В. Яды в нашей пище / Пер. с нем. – М.: Мир, 1985. – 213 с.
30. Энергодисперсионный рентгенофлуоресцентный метод анализа растений. Методические рекомендации. ВАСХНИЛ. Почвенный институт им. В.В. Докучаева. - М.: Наука, 1983. - 54 с.
31. Юдин Ф.А. Методика агрохимических исследований. - М.: Колос. 1980. - 368 с.
32. Ягодин Б.А., Дерюгин И.П., Жуков Ю.П. и др. Практикум по агрохимии. Под ред. Б.А. Ягодина. - М.: Агропромиздат, 1987. - 511 с.