

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.ДВ.13.02 Лабораторные методы исследования качества продукции животноводства

Направление подготовки 36.03.02 «Зоотехния»

Профиль подготовки Технология производства продуктов животноводства

Квалификация выпускника бакалавр

Форма обучения заочная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	3
1.1 Лекция № 1 Спектральные методы исследования. Молекулярная спектроскопия. Определение массовой доли белка в молочно белковых концентратов методом Лоури	3
1.2 Лекция № 2 Измерение влажности и сухого вещества. Определение эффективности гомогенизации.....	5
1.3 Лекция № 3 Определение массовой доли белка. Определение индекса растворимости сухих молочных продуктов	6
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ	8
2.1 Лабораторная работа № ЛР-1 Изменения влажности содержания сухого вещества в молоке и молочных продуктах. Рефрометрия и поляриметрия. Определение содержания нитритов и нитратов.....	8
2.2 Лабораторная работа № ЛР-2 Хроматографические методы исследования. Определение титруемой кислотности молока и молочных продуктов с использованием потенциометрического анализатора	10
2.3 Лабораторная работа № ЛР-3 Измерение жирности. Определение эффективности пастеризации.....	13

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1. 1 Лекция № 1 (2 часа).

Тема: «Спектральные методы исследования. Молекулярная спектроскопия. Определение массовой доли белка в молочно белковых концентратов методом Лоури»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. Спектральные методы исследования. Сущность и классификация методов
2. Молекулярная спектроскопия
3. Метод Лоури

1.1.2 Краткое содержание вопросов:

1. Спектральные методы исследования. Сущность и классификация методов

Спектральные методы исследования основаны на использовании явлений поглощения (или испускания) электромагнитного излучения атомами или молекулами определённого вещества.

Поглощение или испускание квантов анализируемым веществом является сигналом, говорящим о качественном и количественном составе исследуемого вещества. Частота (длина волны) излучения определяется составом вещества. Интенсивность сигнала пропорциональна количеству частиц, вызвавших его появление, т.е. массе определяемого вещества или компонента смеси.

Спектральные методы дают широкие возможности для наблюдения и исследования сигналов в различных областях электромагнитного спектра – рентгеновское излучение, ультрафиолетовое (УФ) излучение, видимый свет, инфракрасное (ИК), а также микроволновое и радиоволновое излучение.

Под воздействием этих излучений происходят электронные переходы в молекулах вещества или свободных атомов (аналитический сигнал – поглощение или испускание), а также изменение ориентации спинов атомов (аналитический сигнал – ядерный магнитный резонанс) или электронов (аналитический сигнал – электронный парамагнитный резонанс). Аналитические сигналы измеряют различными методами.

По источнику и типу аналитического сигнала спектральные методы разделяют на молекулярно-абсорбционную спектрометрию (МАС) и молекулярно-люминисцентную (МЛС), или флуориметрию; на атомно-абсорбционную (ААС) и атомно-эмиссионную (АЭС), а также спектрометрию ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

2. Молекулярная спектроскопия

При изучении взаимодействия исследуемого вещества и электромагнитного излучения необходимо знать строение атомов и молекул.

При обычных условиях атомы находятся в основном энергетическом состоянии. При облучении потоком энергии внешние электроны атомов поглощают фотоны и возбуждаются. Возбуждённый электрон стремится вернуться в основное состояние. При возвращении в основное состояние происходит излучение. Спектр излучения атома является линейчатым (рисунок 1).

Молекулярно-абсорбционная спектрометрия. Любое вещество поглощает и отражает электромагнитное излучение. В молекулярно-абсорбционной спектрометрии исследуют излучение в области от 200 до 750 нм (УФ-излучение и видимый свет). Вещества, поглощающие излучение с длинами волн 400 - 750 нм (видимый свет), окрашены. Наряду с поглощением и отражением видимого света для анализа часто используют поглощение излучения в ультрафиолетовой (200 - 400 нм) и инфракрасной

(0,8 - 25 мкм) областях спектра. Характер и величина поглощения и отражения света зависят от природы вещества и его концентрации в растворе.

Наиболее широкое распространение получили методы: **фотометрия** (изучение поглощения в видимой области спектра от 400 - 750 нм) и **ИК-спектрометрия** (от 0,8 - 25 мкм).

Фотометрия

Фотометрический метод количественного анализа основан на способности определяемого вещества поглощать электромагнитное излучение оптического диапазона.

Способность к поглощению зависит от цветности исследуемого вещества. Цветность определяется электронным строением молекул. Она зависит от наличия в молекуле так называемых хромофорных групп, обуславливающих поглощение электромагнитного излучения веществом в видимой и УФ-областях спектра.

ИК-спектрометрия

Инфракрасная спектроскопия – это метод анализа химических соединений, при котором поглощается энергия в пределах инфракрасного излучения (тепловое излучение). ИК-спектроскопию применяют для идентификации практически любого соединения.

Использование спектрометрического ИК-метода – одно из перспективных направлений в контроле показателей состава молока и молочных продуктов (жир, белок, влага, лактоза и др.). При использовании этого метода практически отсутствует подготовка пробы продукта.

Молекулярно-люминесцентная спектрометрия (флуориметрия). Метод анализа, основанный на измерении интенсивности флуоресценции, называется флуориметрией. Флуоресценция (люминесценция - испускание света) обусловлена поглощением веществом света определённой длины волны. Поглощение ультрафиолетового света определёнными молекулами с легковозбуждаемыми электронами приводит к флуоресценции в видимой спектральной области. Этот процесс начинается с перехода электронов с основного энергетического уровня S_0 на более высокие энергетические уровни (S_1 и S_2) (рисунок 3).

Поглощённая электроном энергия излучается тогда не одним квантом, а серией квантов, каждая из которых имеет меньшую энергию, чем квант возбуждающего излучения. Многие органические и неорганические соединения при облучении ультрафиолетовым светом флуоресцируют в видимой части спектра на диаграмме энергетических уровней.

При нормальных температурах осуществляются абсорбционные переходы с низших колебательных уровней основного состояния S_0 на различные уровни возбуждённых состояний S_1 и S_2 . Эмиссионные переходы – это излучательные переходы с нулевого уровня состояния S_1 на любой колебательный уровень основного состояния S_0 . Переходы с уровня S_2 (или более высоких уровней) на нулевой уровень S_1 происходит без излучения.

Дезактивация без излучения, т.е. потеря энергии возбуждёнными молекулами без излучения света, происходит в результате межмолекулярных и внутримолекулярных взаимодействий.

3. Определение массовой доли белка в молочно-белковых концентратах методом Лоури

Метод распространяется на казеинат натрия, казеит, сухой гидролизат казеина с низкой степенью гидролиза, сухую казеиновую сыворотку.

Метод основан на спектрофотометрическом исследовании окрашенных продуктов, полученных при взаимодействии реактива Фолина со щелочными растворами белков. Интенсивность окрашивания в основном зависит от аминокислотного состава белка (от содержания в исследуемых белках тирозина и триптофана)

Приготовление 2%-ного раствора карбоната натрия в 0,1 M растворе гидроксида натрия. 20 г карбоната натрия растворяют в 1000 см³ 0,1 M раствора гидроксида натрия.

Приготовление 5%-ного раствора сульфата меди в 1%-ном растворе цитрата натрия. 5 г сульфата меди растворяют в 1 %-ном растворе цитрата натрия.

Приготовление вспомогательного реактива. Один объем 5%-го раствора сульфата меди смешивают с 50 объемами 2%-го раствора карбоната натрия. Этот раствор приготавливают непосредственно перед использованием.

Приготовление реактива Фолина. 100 г вольфрамата натрия ($N_2WO_4 \cdot 2H_2O$) и 25 г молибдата натрия ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) растворяют в 700 см³ дистиллированной воды. К смеси добавляют 50 см³ 85%-ного раствора фосфорной кислоты и 100 см³ концентрированной соляной кислоты. К колбе присоединяют обратный холодильник и осторожно кипятят смесь в течение 10 ч. После кипячения в колбу добавляют 150 г сульфата лития (Li_2SO_4), 50 см³ дистиллированной воды и несколько капель брома. Смесь кипятят под тягой без обратного холодильника в течение 15 мин для удаления избытка брома.

1. 2 Лекция № 2 (2 часа).

Тема: «Измерение влажности и сухого вещества. Определение эффективности гомогенизации»

1.2.1 Вопросы лекции:

1. Измерение влажности и сухого вещества
2. Определение эффективности гомогенизации

1.2.2 Краткое содержание вопросов:

1. Измерение влажности и сухого вещества

Для измерения влажности продуктов используют в основном термогравиметрический метод (ТГ-метод).

Для высушивания (выпаривания) используют различного типа устройства, в которых продукт сушат нагретым от электронагревателя воздухом в сушильных шкафах, непосредственно электронагревателем (контактная сушка), с помощью инфракрасного излучения (ИК-излучения) или СВЧ-энергии. Взвешивание и вычисление выполняют вручную или автоматически. Использование ИК- излучения и СВЧ-энергии наиболее предпочтительно для создания автоматических термогравиметрических (ТГ) влагомеров, обеспечивающих контроль процесса взвешивания и автоматизацию расчета массовой доли влаги.

Высушивание проб продукта с использованием сушильных электрических шкафов используют, как правило, когда возникают разногласия при оценке качества продукта. Для равномерного и быстрого прогревания и высушивания продукта применяют различные материалы: промытый речной песок, двойной слой марли, обезвоженное топленое масло, парафин. В лабораторной практике широко применяют контактную сушку (выпаривание) на электронагревателях (аппарат сушильный АПС-1, устройство ПИВИ-1.1, выпариватель влаги ВВМ-1 и т.д.).

2. Определение эффективности гомогенизации

Определение эффективности гомогенизации. Для установления эффективности диспергирования молочного жира при гомогенизации используют методы центрифугирования и оптический. Этими методами исследуют молоко, предназначенное для производства всех видов пастеризованного и стерилизованного молока, жидких молочных продуктов, сливок, различных видов заменителей цельного молока.

Степень дробления жировых шариков в клапанных гомогенизаторах зависит от давления и температуры, которые характеризуют режим гомогенизации. Их выбирают в зависимости от состава гомогенизируемой смеси. При производстве различных молочных продуктов обычно применяют давление гомогенизации 5–25 МПа и температуру 55–70 С.

В процессе гомогенизации возможно выделение свободного жира. В молоке, с повышением давления гомогенизации, количество свободного жира снижается, а в

сливках – увеличивается. Повышение количества свободного жира связывают с недостатком белка, необходимого для формирования оболочки вновь образовавшихся жировых шариков. Одно из условий образования защитной оболочки – отношение сухого обезжиренного молока к жиру; в гомогенизированном продукте оно не должно быть ниже 0,6–0,8. Эффективность гомогенизации определяют по отстаиванию жира, методом центрифугирования, по изменению оптической плотности и среднему размеру жировых шариков. В гомогенизированном молоке диаметр жировых шариков не должен превышать 2 мкм.

Повышение дисперсности молочного жира приводит к получению более однородной, гомогенной и устойчивой системы. Повышение устойчивости системы без отстоя сливок необходимо при производстве многих молочных продуктов. Кроме того, гомогенизация увеличивает вязкость молока, сливок и молочных смесей, что положительно влияет на консистенцию готовых продуктов и расширяет использование гомогенизации в молочном производстве.

Оптический метод. Оптический метод определения эффективности гомогенизации распространяется на молоко и сливки с массовой долей жира от 2 до 6 %.

Сущность метода заключается в измерении оптической плотности (мутности) образца при двух длинах волн – 400 и 1000 нм. Величина отношения оптических плотностей при различных длинах волн (D_{400}/D_{1000}) характеризует степень диспергирования жировой фазы молока или сливок.

Метод центрифугирования ВНИМИ. Эффективность гомогенизации центрифугированием определяют при определенном режиме центрифугирования молока в специальной пипетке.

Пипетку через нижний капиллярный конец заполняют образцом молока до отметки I. Верхний конец пипетки закрывают пальцем, а на нижний конец пипетки надевают резиновую пробку. Заполненные пипетки вставляют симметрично в патроны центрифуги, пробками к периферии. Центрифугирование производят в течение 30 мин. После центрифугирования пипетки вынимают и ставят вертикально на пробку. Затем из пипетки осторожно, не переворачивая и не встряхивая, сливают нижнюю часть продукта до отметки II в стакан, для чего закрывают пальцем левой руки верхнее отверстие пипетки, а правой снимают резиновую пробку с нижнего конца пипетки.

1. 3 Лекция № 3 (2 часа).

Тема: «Определение массовой доли белка. Определение индекса растворимости сухих молочных продуктов»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Определение массовой доли белка
2. Определение индекса растворимости сухих молочных продуктов

1.3.2 Краткое содержание вопросов:

1. Определение массовой доли белка

Содержание белка в молоке и молочных продуктах является фактором, обуславливающим пищевое достоинство. От количества белка в молоке зависит в значительной мере выход молочных продуктов, например творога, сыров. Поэтому содержание белка в молоке, полуфабрикатах его переработки и готовых молочных продуктах является важным показателем их качества. В настоящее время наиболее распространенными методами являются: метод формольного титрования и рефрактометрический. Для проведения государственных испытаний приборов, а также при разработке ускоренных методов определения белка используют метод Кельдаля.

Рефрактометрический метод определения белка в молоке. Он основан на установлении разности показателей преломления исследуемого молока и раствора, полученного после осаждения белков раствором хлористого кальция при кипячении.

Техника определения — отмеривают пипеткой 5 см³ молока в пробирку, добавляют 5—6 капель 4 % иного раствора хлорида кальция. Пробирку помещают в баню с кипящей водой на 10 мин. Затем содержимое пробирки фильтруют через складчатый фильтр. В прозрачном фильтрате, а также в исходном молоке определяют на рефрактометре ИРФ-22 показатель преломления при 20°C.

Этот метод может быть использован также для определения лактозы в исследуемом молоке. В этом случае по таблице находят процентное содержание лактозы в зависимости от величины показателя преломления фильтрата, полученного после осаждения белков раствором хлорида кальция.

Определение массовой доли белка методом формольного титрования.

Сущность метода заключается в том, что альдегидная группа формалина (взаимодействует с аминогруппой белка, которая теряет свои основные свойства, в результате чего кислые свойства белка усиливаются). Количество титруемых карбоксильных групп будет эквивалентно количеству связанных формальдегидом аминных групп.

Метод Кельдаля. Универсальным методом определения белка и других азотистых соединений в пищевых продуктах является метод Кельдаля, сущность которого заключается в переводе путем минерализации азота аминокислот в аммиак с последующим его количественным определением и пересчетом на белок.

Метод Кельдаля используют в качестве эталонного при разработке других методов определения белка, в том числе и инструментальных. Метод используют в качестве арбитражного при возникновении разногласий в оценке качества продукта.

2. Определение индекса растворимости сухих молочных продуктов

Метод определения индекса растворимости сухих молочных продуктов основан на установлении объема нерастворившегося осадка в восстановленной пробе анализируемого продукта. Выделение нерастворившегося осадка проводят в пробирке вместимостью 10 см³ на центрифуге с частотой вращения 1000 об/мин.

В цилиндр на 100 см³ взвешивают пробу исследуемого продукта с точностью до 0,01 г в количествах.

Пробу продукта растворяют порциями воды температурой 40±2°(тщательно растирая комочки стеклянной палочкой; доводят объем водой до 100 см³ и выдерживают в течение 15-20 мин при температуре 18-25°C.

Восстановленный продукт перемешивают, заполняют им центрифужные пробирки до метки «10 см³» и закрывают пробками. Пробирки обертывают фильтровальной бумагой и помещают в патроны центрифуги, располагая пробками к центру симметрично одна против другой. Пробирки центрифицируют в течение 5 мин.

По окончании центрифugирования, при отсутствии четкой границы, надосадочную жидкость сливают, оставляя над осадком ее слой высотой около 5 мм. Затем доливают в пробирки воду температурой 18-25°C до метки 10 см³, перемешивают содержимое пробирок палочкой, закрывают пробками и центрифицируют в течение 5 мин. Поочередно вынимают их с центрифуги и отсчитывают объем осадка до ближайшего наименьшего деления пробирки держа ее пробкой вниз в вертикальном положении так, чтобы верхний уровень находился на уровне глаз. При неравномерном размещении осадка отсчет проводят по средней линии между верхним и нижним положениями.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.1 Лабораторная работа № 1 (2 часа).

Тема: «Изменения влажности содержания сухого вещества в молоке и молочных продуктах. Рефрометрия и поляриметрия. Определение содержания нитритов и нитратов.»

2.1.1 Цель работы: освоить рефрактометрический метод определения массовой доли белка на приборе ИРФ-464.

2.1.2 Задачи работы:

Определить сухое вещество и влагу в пастеризованном, стерилизованном молоке, мороженом, молоко содержащих продуктах, кисломолочных продуктах, сыре и сырных продуктах, твороге и творожных изделиях и массовой концентрации общего экстракта в эмульсионной

2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

Прибор ИРФ-464, 4% раствор хлорида кальция. Для этого навеску 40,0 г хлорида кальция двухходового помещают в колбу вместимостью 1000 см³, приливают к ней 500 см³ воды и перемешивают до полного растворения соли. Содержимое колбы нагревают до температуры 20 ± 2 °C и доводят до метки.

2.1.4 Описание (ход) работы:

Изменения влажности содержания сухого вещества в молоке и молочных продуктах

Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества (с Изменениями N 1, 2, 3)

Определение сухого вещества и влаги в пастеризованном, стерилизованном молоке, мороженом, молоко содержащих продуктах, кисломолочных продуктах, сыре и сырных продуктах, твороге и творожных изделиях и массовой концентрации общего экстракта в эмульсионной

Подготовка к анализу

Песок просеивают через сито с отверстиями диаметром 1-1,5 мм и отмучивают питьевой водой.

Затем приливают соляной кислоты (1:1) столько, чтобы песок был полностью покрыт ею, помешивают толстой стеклянной палочкой, дают отстояться в течение 10 ч. Слив соляную кислоту, промывают песок питьевой водой до нейтральной реакции (по лакмусовой бумажке), затем дистиллированной водой, высушивают и прокаливают. Хранят песок в банке, плотно закрытой пробкой.

Проведение анализа

Стеклянную бюксу с 20-30 г хорошо промытого и прокаленного песка и стеклянной палочкой, не выступающей за края бюксы, помещают в сушильный шкаф и выдерживают при 102±2 °C в течение 30-40 мин. После этого бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе 40 мин и взвешивают с погрешностью не более 0,001 г. В эту же бюксу пипеткой вносят 10 см молока, эмульсионного ликера, или 5-10 г мороженого или 3-5 г сыра, творога, творожных изделий, взвешенных с погрешностью не более 0,001 г, закрывают крышкой и немедленно взвешивают.

Затем содержимое тщательно перемешивают стеклянной палочкой и открытую бюксу нагревают на водяной бане, при частом перемешивании содержимого до получения рассыпающейся массы. Затем открытую бюксу и крышку помещают в сушильный шкаф с температурой (102 ± 2) °С. По истечении 2 ч бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе 40 мин и взвешивают.

Последующие взвешивания производят после высушивания в течение 1 ч до тех пор, пока разность между двумя последовательными взвешиваниями будет равна или менее 0,001 г. Если при одном из взвешиваний после высушивания будет найдено увеличение массы, для расчетов принимают результаты предыдущего взвешивания.

Рефрактометрический метод определения массовой доли белка в молоке

Устройство и принцип действия рефрактометра ИРФ – 464

Рефрактометр ИРФ – 464 предназначен для измерения показателя преломления рассеивающих жидких сред. Его можно использовать для определения массовой доли белка в молоке по разности показаний для молока и сыворотки на шкале «Белок», а также других не жировых компонентов молока и жидких молочных продуктов. Анализ подлежит молоко коровье (сырое сборное или от отдельных животных, пастеризованное, обезжиренное) кислотностью не выше 28° Т. Условия эксплуатации рефрактометра: температура 10–35° С, влажность - 80% при температуре 25°С. Диапазон измерения показателя преломления от 1,325 до 1,360. Оптическая схема и конструкция рефрактометра ИРФ-464 показаны на рисунке 2.

Принцип действия рефрактометра ИРФ – 464 основан на явлении полного внутреннего отражения при прохождении лучом света границы раздела двух сред с разными показателями преломления. Все измерения проводят в белом свете (дневном или электрическом). Показатель преломления и значения по шкале «Белок» определяют в проходящем свете.

Определение массовой доли белка на рефрактометре ИРФ-464

Сущность метода. Метод основан на измерении показателей преломления молока и безбелковой молочной сыворотки, полученной из того же образца молока, разность между которыми прямо пропорциональна массовой доле белка в молоке. Массовую долю белка определяют по разности показателей преломления света в молоке и безбелковой сыворотке по шкале «Белок».

Приборы и реактивы. 4% раствор хлорида кальция. Для этого навеску 40,0 г хлорида кальция двухводного помещают в колбу вместимостью 1000 см³, приливают к ней 500 см³ воды и перемешивают до полного растворения соли. Содержимое колбы нагревают до температуры 20 ± 2 °С и доводят до метки.

Методика определения. Перед началом работы рефрактометр устанавливают на лабораторном столе перед окном или матовой электролампой и проверяют начало отсчета по прилагаемой контрольной призме или дистиллированной воде.

Для проверки по контрольной призме откладывают осветительную призму, тщательно протирают поверхности измерительной и контрольной призм. На поверхность контрольной призмы наносят каплю иммерсионной жидкости и накладывают контрольную призму на измерительную. Иммерсионная жидкость должна равномерно распределяться по всей поверхности, но не выступать по краям. Наблюдая в окуляр, прибор наводят на резкость, устанавливая границу светотени. Отсчет данных ведут по шкале показателей преломления.

Измерения повторяют пять раз. После этого необходимо снова наложить и протереть контрольную призму и снять три отсчета показателя преломления. Если результаты преломления окажутся в пределах первых пяти измерений, то притирка считается правильной. Подсчитывают среднеарифметическое этих трех отсчетов.

Поляриметрический метод определения массовой доли лактозы в сырье и молочной сыворотке

Описание схемы и конструкции сахариметра СУ-4

Оптическая схема и конструкция сахариметра показаны на рисунке 3 Световой поток, идущий от источника света через светофильтр 2 или диафрагму 3 и конденсатор 4, 5, проходит через призму-поляризатор 6, которая преобразует его в поляризованный поток света.

Поляриметрическую кювету перед наполнением ополаскивают два раза испытуемым раствором. С одной стороны ее закрывают отшлифованным стеклом, навинчивают головку и наполняют приготовленным прозрачным раствором температурой 20°C, приливая его по стенке кюветы доверху. Образуется выпуклая поверхность раствора. Надвигают сбоку на трубку стеклышко, удаляя лишнюю жидкость и следя, чтобы под стеклышком не оставалось пузырьков воздуха.

Уравнивание яркостей полей сравнения и отсчет по шкале и нониусу повторяют не менее шести раз, после чего определяют среднее арифметическое. Затем рассчитывают содержание сахара (г) в 100 см³ исследуемого раствора, а в зависимости от взятой навески — содержание сахара в продукте.

Определение массовой доли лактозы в молоке (по Г. Качераускене)

Сущность метода. Определение основано на поляриметрическом определении массовой доли лактозы в натуральном молоке с применением универсальных сахариметров СУ – 3 или СУ – 4. Растворы для поляриметрических исследований должны быть прозрачными, поэтому метод включает осаждение белков и жира ацетатом цинка и гексацианоферратом (II) калия и постоянную поправку на объем осадка (первый способ) и без предварительного определения поправки (второй способ).

Определение массовой доли лактозы в молочной сыворотке (по Г. Качераускене)

Сущность метода. Содержание лактозы определяют после осветления сыворотки растворами ацетата цинка и гексацианоферрата (II) калия на универсальных сахариметрах СУ - 3 или СУ - 4.

Методика определения. 33г молочной сыворотки взвешивают с погрешностью ±0,01 г в стакане вместимостью 100 см³. Сыворотку из стакана переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, смывают стакан несколько раз водой. С помощью пипеток прибавляют в колбу по 1-3 см³ растворов ацетата цинка (реактив 1) и гексацианоферрата (II) калия (реактив 2). После прибавления каждого раствора содержимое колбы осторожно перемешивают во избежание образования пузырьков. Доливают колбу до метки водой, тщательно перемешивают и спустя 5—10 мин фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухую колбу.

Заполняют кювету длиной 400 мм и измеряют угол вращения раствора на сахариметре. Кювету заполняют раствором дважды, и каждый раз делают по 5 отсчетов по шкале сахариметра. Находят среднее арифметическое показаний шкалы сахариметра.

2.2 Лабораторная работа №2 (2 часа).

Тема: «Хроматографические методы исследования. Определение титруемой кислотности молока и молочных продуктов с использованием потенциометрического анализатора»

2.2.1 Цель работы: изучить хроматографические методы исследования. Определение титруемой кислотности молока и молочных продуктов с использованием потенциометрического анализатора

2.2.2 Задачи работы:

1. Классификация методов хроматографии
2. Определение титруемой кислотности молока и молочных продуктов с использованием потенциометрического анализатора

2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

Титровальная установка, реактивы, пробирки, пипетки.

2.2.4 Описание (ход) работы:

Хроматографические методы исследования

Принцип хроматографического анализа был впервые предложен М.А.Цветом в 1903 -1905 гг. для разделения компонентов растительных пигментов, близких по своему строению. Поскольку при этом методе получаются раздельные полосы окрашенных веществ, он назвал этот метод хроматографией, что значит "цветопись". Применение этого термина не оправдано при анализе бесцветных веществ, однако, он прочно укоренился.

В современных методах исследований хроматографией называют процесс разделения веществ, основанный на разделении компонентов смеси между неподвижной (стационарной) и подвижной (мобильной) фазами. В зависимости от строения разделяемые вещества в различной степени удерживаются той или иной фазой и вследствие этого могут быть отделены друг от друга. Хроматографический метод используют для разделения и очистки смесей веществ.

Под действием диффузии молекулы разделяемых веществ пересекают поверхность раздела фаз, и в зависимости от свойств удерживаются той или иной фазой.

В простейшем варианте разделение происходит при прохождении потока анализируемой смеси через колонку, содержащую сорбент. Из-за различной сорбируемости компонентов смеси, их разделение по высоте сорбента достигается при повторяющихся циклах сорбции - десорбции.

Известно несколько подходов к классификации методов хроматографии с использованием различных признаков:

- по средам, в которых проводится разделение (жидкостная, газожидкостная, газовая);
- по механизму разделения (молекулярная или адсорбционная, ионообменная, осадочная, окислительно-восстановительная);
- по форме проведения процесса (колоночная, капиллярная, хроматография на бумаге и в тонком слое);
- по способу проведения процесса (фронтальная, вытеснительная, проявительная).

Жидкостная хроматография

Жидкостная хроматография (ЖХ) - это метод разделения и анализа сложных смесей, в котором подвижной фазой является жидкость. Метод ЖХ имеет более широкий круг анализируемых объектов, чем газовая хроматография, поскольку большинство веществ не обладает достаточной летучестью, многие неустойчивы при высоких температурах (особенно высокомолекулярные соединения) и разлагаются при переходе в газообразное состояние.

Газовая хроматография

Газовая хроматография (ГХ) - это метод разделения и определения летучих соединений: газов (при нормальной температуре) или паров (при повышенной температуре). Компонент анализируемой смеси распределяются между неподвижной фазой (твердое вещество или жидкость) и газом-носителем (подвижная фаза). Газ-носитель переносит разделяемые вещества через колонку.

Гель - хроматография

Гель - хроматография - метод разделения веществ, основанный на различной способности молекул разного размера проникать в поры нейтрального геля, который служит неподвижной фазой. Метод известен под на-званиями "гель - проникающая", "эксклюзионная" и "молекулярно - ситовая хроматография". Последнее название наиболее полно отражает сущность метода, однако, более распространён термин "гель - проникающая хроматография".

Ионообменная хроматография

Ионообменная хроматография основана на динамическом стехиометрическом обмене ионов между анализируемым раствором и ионообменником (ионитом). Ионит

(неподвижная фаза) представляет собой нерастворимую полимерную матрицу, несущую химически связанные ионые группы. Противоионы удерживаются на матрице за счёт сил электростатического взаимодействия и могут обмениваться на ионы разделяемой смеси, присутствующие в подвижной фазе.

Этот метод широко применяется при анализе, разделении и очистке органических и неорганических соединений, ионизирующих в водных и неводных растворителях.

Хроматография в тонком слое

Хроматография в тонком слое (ХТС) - один из простейших методов хроматографического анализа. Компоненты исследуемого раствора перемещаются в тонком слое сорбента, нанесённого на стеклянную пластину и покрытого жидкой фазой.

Пять стеклянных пластин ($20 \times 20\text{ см}$) толщиной не менее 4мм укладывают последовательно на поверхности стола без промежутков. Перед нанесением сорбента стеклянные пластины тщательно моют, обезжирают и сушат.

Метод хроматографического разделения на бумаге

Метод основан на различной растворимости разделяемых веществ в двух мало смешивающихся жидкостях, одна из которых удерживается бумагой, а другая неподвижна. Неподвижной фазой служат полосы фильтровальной бумаги, которые, будучи помещёнными во влажную камеру, удерживают до 20-22 % влаги, оставаясь внешне сухими. В качестве подвижной фазы обычно используют органический растворитель, насыщенный влагой. Чем больше растворимость аминокислот или пептидов в неподвижной фазе, тем медленнее они движутся при продвижении органического растворителя по бумаге и наоборот.

Афинная хроматография

Афинная хроматография основана на установлении обратимых молекулярных взаимодействий, присущих биологически активным веществам. Этой способностью обладают иммунные, ферментные и гормональные системы; белки, которые могут переносить различные малые молекулы (витамины, жирные кислоты и др.) после связывания этих молекул за счёт сходства, и нуклеиновые кислоты, способные соединяться между собой или с некоторыми белками.

В афинной хроматографии используют нерастворимый носитель, на котором прикрепляется соединение, называемое лигандом. Он особым образом связывает подлежащий очистке продукт, находящийся в подвижной обычной жидкой фазе. Лиганд удерживается за счёт ковалентных связей, иногда пользуются ионным обменом, адсорбицией и др.

Определение титруемой кислотности молока и молочных продуктов с использованием потенциометрического анализатора

ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Метод применяется при возникновении разногласий.

Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором гидроокиси натрия до заранее заданного значения $\text{pH}=8,9$ с помощью блока автоматического титрования и индикации точки эквивалентности при помощи потенциометрического анализатора.

Проведение измерений

Молоко, молокосодержащий продукт, молочный составной продукт, сливки, простокваша, ацидофилин, кефир, кумыс и другие кисломолочные продукты

В стакан вместимостью 50 см^3 отмеривают 20 см^3 дистиллированной воды и 10 см^3 анализируемого продукта. Смесь тщательно перемешивают.

При анализе сливок и кисломолочных продуктов переносят остатки продукта из пипетки в стакан путем промывания пипетки полученной смесью 3-4 раза.

В стакан помещают стержень магнитной мешалки и устанавливают стакан на магнитную мешалку. Включают двигатель мешалки и погружают электроды

потенциометрического анализатора и сливную трубку дозатора блока автоматического титрования в стакан с продуктом. Включают кнопку "Пуск" блока автоматического титрования, а спустя 2-3 с, кнопку "Выдержка". Раствор гидроокиси натрия при этом начинает поступать из дозатора блока в стакан с продуктом, нейтрализуя последний. По достижении точки эквивалентности ($\text{pH}=8,9$) и истечении времени выдержки (30 с) процесс нейтрализации автоматически прекращается, а на панели блока автоматического титрования зажигается сигнал "Конец". После этого отключают все кнопки. Проводят отсчет количества раствора гидроокиси натрия, затраченного на нейтрализацию.

2.3 Лабораторная работа № 3 (2 часа).

Тема: «Измерение жирности. Определение эффективности пастеризации»

2.3.1 Цель работы: Измерение жирности. Определение эффективности пастеризации

2.3.2 Задачи работы:

Определить качество сырого молока; изучить процесс его пастеризации и стерилизации; определить эффективность тепловой обработки; изучить влияние тепловой обработки на сычужное свертывание молока.

2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

Жиромеры молочные, центрифуга, водяная баня, реактивы.

2.3.4 Описание (ход) работы:

Определение средневзвешенной массовой доли жира в молоке.

Молоко на молочный завод поступает от различных поставщиков с различным составом. Оплата производится по массовой доле жира, причем за 100 % берется базисная жирность молока.

Учет и контроль сырья и молочных продуктов проводят в молочной промышленности не только по жиробалансу, но и с учетом нормативных расходов сырья и материалов. Ниже приводится форма рапорта мастера аппаратного цеха (таблица 3.1).

В графу 5 записывают поступившее на завод сырье (молоко, сливки) в фактической массе и в пересчете на молоко базисной жирности, в графе 6 – израсходованное молоко. Жирно продукцией аппаратного цеха могут быть сливки и нормализованное молоко или только сливки. Их массу записывают в графу 5. В графу 8 – норму расхода сырья (с учетом потерь при приемке и обработке в аппаратном цехе) в пересчете на молоко базисной жирности, а в графу 9 – на весь выработанный в цехе продукт (нормализованное молоко, сливки).

Заполнение рапорта по результатам выполненных студентами задач дает полное совпадение результатов 6 и 9 граф, так как расчет в них проводится с учетом нормативных показателей (нормативный расход, нормативные потери).

Определение эффективности пастеризации

Краткие теоретические сведения

Тепловая обработка – одна из основных и необходимых технологических операций переработки молока, проводимых с целью обеззараживания. Эффективность тепловой обработки связана с термоустойчивостью молока, обуславливаемой его белковым, солевым составом и кислотностью, которые, в свою очередь, зависят от времени года, периода лактации, физического состояния и породы животных, рационов кормления.

Тепловая обработка молока представляет собой комбинацию режимов воздействия температуры (нагрева или охлаждения) и продолжительности выдерживания при этой температуре. Причем продолжительность выдержки при заданной температуре должна быть такой, чтобы был получен необходимый эффект. В молочной отрасли тепловая обработка проводится при температуре до 100 и свыше 100 °C.

Пастеризация. Основная цель пастеризации – уничтожение вегетативных форм микроорганизмов, находящихся в молоке (возбудителей кишечных заболеваний, бруцеллеза, туберкулеза, ящура и др.), сохраняя при этом его биологическую, питательную ценность и качество.

Стерилизация. Тепловую обработку молока при температуре больше 100 °C с последующей его выдержкой при этой температуре называют стерилизацией. Зависимость температуры стерилизации и продолжительности ее воздействия имеет тот же характер, что и при пастеризации.

При стерилизации молока уничтожаются как вегетативные, так и споровые формы микроорганизмов. Кроме того, стерилизованные продукты приобретают определенную стойкость при хранении.

Методика выполнения работы

В сыром молоке определяют кислотность, термоустойчивость, делают пробу на кипячение, определяют обсемененность, группу чистоты, наличие ферментов.

Проводят тепловую обработку молока при различных режимах.

Пастеризация:

- температура 76 °C выдержка 15-20 с.
- температура 86 °C выдержка 5-10 мин.

Стерилизация (в автоклаве):

- температура 120 °C выдержка 5-10 мин.

Оценивают эффективность тепловой обработки. Для этого в пастеризованном и стерилизованном молоке определяют бактериальную обсемененность, наличие фосфотазы и пероксидазы.

Параллельно определяют эффективность пастеризации в контрольном (эталонном) образце по ГОСТ Р 52090-2003 «Молоко коровье пастеризованное».

Изучают влияние различных температурных режимов на способность молока к сычужному свертыванию. Для этого в молоко вносят сычужный фермент и определяют продолжительность свертывания и качество сгустка.