

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ В МЯСЕ И МЯСОПРОДУКТАХ

М. Солнцева, Р.И. Хламова, Г.П. Динариева, И.И. Афанасьева,
С. Олейникова

... является одним из распространенных и ценных для организма человека продуктов питания, содержащим полноценные животные белки, которые характеризуются наиболее оптимальным соотношением незаменимых аминокислот.

... повышение качества мясных продуктов требует постоянного изучения их химического состава, контроль качества мяса и мясных продуктов - проведения в производственных условиях необходимых анализов, особенно при разработке новых видов изделий.

... поскольку мясо в питании населения в первую очередь рассматривается как белковый продукт, очень важным является определение в нем содержания белков.

... контроль качества мяса и мясных изделий по содержанию белка в условиях производственных лабораторий требует наличия надежного, быстрого, нетрудоемкого и достаточно точного метода анализа.

... широко применяемый в исследовательских работах и доказавший свою надежность на протяжении многих десятилетий метод определения белков по Кьельдалю является длительным и трудоемким и не может быть использован для быстрого производственного контроля качества мясных изделий.

... одним из перспективных направлений является разработка колориметрических методов непосредственного определения аммиака в минерализованных образцах (1, 2).

... методом разработан колориметрический фенолгипохлоритный метод, в основе которого положена реакция взаимодействия между аммиаком, фенолом и гипохлоритом натрия в щелочной среде.

... метод отличается высокой точностью и быстротой.

... анализ литературных данных показал, что наибольшее внимание уделяется методам, основанным на индофенольной реакции Бертра (3,4,5,7), которая используется в автоматическом и автоматическом режиме для определения общего азота в мясе и мясных изделиях (6,8,9,10)

... для проведения анализа необходимо приготовить реактив 1, реактив 2.

... приготовление реактива 1. 10 г фенола и 0.05 г нитропруссид натрия растворяют в мерной колбе на 1000 см³ дистиллированной водой, объем колбы доводят до метки.

... приготовление реактива 2. 5 г гидроксида натрия растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 1000 см³, после охлаждения добавляют количество исходного раствора гипохлорита натрия из расчета его содержания 0.42 г/дм³ и доводят объем колбы дистиллированной водой до метки.

... приготовленные реактивы хранят в темной посуде в холодильнике не более 2 месяцев.

... приготовление исходного гипохлорита натрия проводят следующим образом: в стакане вместимостью 500 см³ перемешивают 150 г хлорной извести с 250 см³ дистиллированной воды. В другом стакане в 250 см³ дистиллированной воды растворяют 105 г углекислого натрия, затем добавляют оба раствора при постоянном перемешивании. Масса сначала густеет, затем разжижается. Полученную суспензию оставляют на 1-2 суток для отстаивания, затем надосадочную жидкость сливают и отфильтровывают.

... полученный реактив имеет концентрацию активного хлора около 6-10% и может храниться в темном стекле до 1 года. В полученном реактиве определяют концентрацию активного хлора. Для этого 1 см³ прозрачного фильтрата разбавляют в конической колбе вместимостью 100 см³ дистиллированной водой до 40-50 см³, прибавляют 2 г калия иодистого и 10 см³ азотной кислоты 1 моль/дм³. Образовавшийся иод оттитровывают 0.1 моль/дм³ раствором сернистой кислоты натрия, приготовленным из фиксанала, до исчезновения вишневой окраски (0.1 моль/дм³ раствора серноватистокислого натрия соответствует 0.00355 г хлора).

... определение количества гипохлорита натрия в исходном растворе.

... для приготовления реактива 2 необходимо определить содержание гипохлорита натрия в исходном растворе, учитывая неустойчивость его при хранении.

... количеству израсходованного на титрование тиосульфата натрия рассчитывают количество раствора гипохлорита натрия, необходимого для приготовления реактива 2.

... пример расчета:

... количество раствора тиосульфата натрия концентрации 0.1 моль/дм³, пошедшее на титрование исходного раствора гипохлорита натрия, составляет, например 12.09 см³.

... эквивалентная масса гипохлорита натрия равна половине молекулярной массы гипохлорита натрия и составляет $74.4 : 2 = 37.2$ г. Следовательно, количество гипохлорита натрия в исходном растворе гипохлорита натрия составляет $1.209 \times 37.2 = 44.97$ г.

... учитывая, что реактив 2 должен содержать 0.42 г гипохлорита натрия, из пропорции опреде-

$$\begin{array}{r} \text{в } 1000 \text{ см}^3 \text{ исходного раствора} - 44.97\text{г} \\ X \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad - 0.42\text{г} \\ X = \frac{1000 \cdot 0.42}{44.97} = 9.4 \text{ см}^3 \end{array}$$

Следовательно, для приготовления 1 дм³ реактива 2 требуется 9.4 см³ исходного раствора гипохлорита натрия.

Расчет содержания азота проводят по предварительно построенному калибровочному графику, на оси ординат которого наносят величину оптической плотности, на оси абсцисс — концентрацию азота в мкг.

Для построения калибровочного графика используется стандартный раствор сернокислого аммония.

Продолжительность анализа вместе с минерализацией не превышает 2–2.5 часов.

Проведение испытания.

Навеску продукта рассчитывают по разности, для чего часть измельченной средней пробы помещают в бюксу, закрывают крышкой и взвешивают с допустимой погрешностью 0.0002 г. Затем из бюксы скальпелем отбирают 0.4–0.5 г для мяса или мясных продуктов на листок беззольного фильтра и вместе с ним осторожно опускают в колбу Кьельдаля. Бюксу закрывают, взвешивают и рассчитывают точную массу продукта, взятого для анализа.

Такой же листок беззольного фильтра помещают в контрольную колбу Кьельдаля. Затем в обе колбы добавляют 10 см³ концентрированной серной кислоты, 1–2 г сернокислого калия и проводят минерализацию, периодически добавляя для интенсивности процесса в охлажденную пробу перекись водорода (5–7 см³ в течение всей минерализации). Допускается применение катализаторов, обеспечивающих точность определения.

После минерализации колбы охлаждают и содержимое количественно переносят в мерные колбы на 250 см³, после охлаждения объем доводят до метки и содержимое перемешивают.

5 см³ полученного минерализата переносят в мерную колбу на 100 см³ и доводят до метки дистиллированной водой, получая вторично разбавленный минерализат. Для проведения цветной реакции 1 см³ вторично разбавленного минерализата вносят в пробирку, затем последовательно добавляют 5 см³ реактива 1 и 5 см³ реактива 2, перемешивают содержимое пробирки. Через 30 мин. определяют оптическую плотность растворов на спектрофотометре при длине волны 625 нм или на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром. Измерение ведется против контроля.

Контрольный раствор готовят одновременно, используя для этой цели контрольный минерализат.

Стабильность окраски растворов сохраняется в течение одного часа.

Температура реактивов при проведении цветной реакции должна быть не ниже 20°С.

По полученной величине оптической плотности с помощью калибровочного графика находят концентрацию азота.

Обработка результатов.

Массовую долю белка (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot I \cdot 10^6} \cdot 100 \cdot 6.25$$

где:

C — концентрация азота, найденная по калибровочному графику в соответствии с полученной оптической плотностью, мкг/см³;

m — навеска пробы, г;

250 — объем минерализата после первого разведения, см³;

5 — объем разбавленного минерализата для вторичного разведения, см³;

100 — объем минерализата после вторичного разведения, см³;

I — объем раствора, взятый для проведения цветной реакции, см³;

10⁶ — множитель для перевода г в мкг;

100 — множитель для перевода в проценты;

6.25 — коэффициент пересчета на белок.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0.1% по содержанию азота для мяса и мясопродуктов.

Результаты исследований и обсуждение.

В качестве объекта исследований использовали два вида вареной колбасы, три вида полукопченой колбасы и один сорт сырокопченой колбасы. С целью подтверждения полученных данных фенолгипохлоритным методом в качестве стандартного метода использовали классический метод Кьельдаля. Результаты исследований приведены в табл. I.

Результаты по содержанию белка, полученные фенолгипохлоритным методом и методом Кьельдаля близки. Отклонения для колбас колеблется в пределах, близких к литературным для этих видов колбас (2,4,6).

Содержание белка в колбасных продуктах,
определенное фенолгипохлоритным методом

Таблица I.

Table 1

Protein content in sausages, determined with the phenol-hypochlorite method

| Наименование продукта Sausage | \bar{X} | S | ν | Отклонения по содержанию белка при сравнении с методом Кьельдаля Deviations in protein content as compared to Kjeldahl's procedure |
|----------------------------------|-----------|------|-------|---|
| Диабетическая вар. | 12.23 | 0.09 | 0.7 | - 0.19 |
| Diabetic, cooked | | | | |
| Молочная вар. | 11.73 | 0.09 | 0.8 | + 0.16 |
| Milk, cooked | | | | |
| Польская п/к | 20.42 | 0.51 | 2.5 | - 0.20 |
| Polish, semi-smoked | | | | |
| Украинская п/к | 14.40 | 0.30 | 2.1 | - 1.16 |
| Ukrainian, semi-smoked | | | | |
| Львовская п/к | 15.42 | 0.09 | 0.6 | + 0.32 |
| L'vov, semi-smoked | | | | |
| Полочная с/к | 21.17 | 0.46 | 2.2 | - 0.58 |
| Politchnaya, dry | | | | |

Проведенные исследования показали, что фенолгипохлоритный колориметрический метод отличается быстротой проведения анализа, точностью и воспроизводимостью результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеевский Е.В. и др. Количественный анализ. М. Л., Госхимиздат, 1948.
2. Балаховский С.Д. и др. Методы химического анализа крови. М., Медгиз, 1953.
3. Lange R., Friebe R., Linow F. Zur Anwendung der Methodenkombination Kjeldal-Nassaufschluss/Berthelot-Reaktion bei der Stickstoffbestimmung in biologischen Materialien. Nahrung, 1979, 23, N 3, 255-261, N 4, 431-439, N 5, 549-559.
4. Lásztity R., Törley D., Ürsi F. Contribution to the protein determination in meat products. Proc. XXI Europ. Conf. Meat Res. Workers, Kulmbach, Vol. 3, L1, 2-L1, 6.
5. Lorentz K. Mechanismus und Spezifität der Indophenolreaktion zur Ammoniakbestimmung. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem., 1967, 5, H. 6, 291-298.
6. McNeal J.E., Karasz A., George E. Automation of methods for meat and meat products. I. Determination of protein. J. Ass. Off. Anal. Chem., 1970, 53, N 5, 907-912.
7. Stegemann H., Loeschke V. Mikrobestimmung von Stickstoff als Indophenolblau nach Chloramin-T-Oxydation. Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem., 1962, 329, H. 3-6, 241-248.
8. Sylvester-Bradley R., Howitt S.G. An inexpensive procedure for the rapid determination of total nitrogen in multiple biological samples. J. Sci. Food Agric., 1977, 28, N 3, 312-316.
9. Fleck A. Automated analysis of nitrogenous compounds. Proc. Nutrit. Soc. 1970, 29, N 1, 81-85.
10. Cantenbein W.M., Schermerhord J.L., George E. Collaborative study of an automated method for the determination of nitrogen in meat products. J. Ass. Off. Anal. Chem., 1974, 57, N 4, 838-840.