

УДК 664:[543.64+543.68] (07)

ББК 36-1 я73

Е30

Рецензенты:

Машенцева Н.Г., д-р техн. наук., профессор, профессор РАН,
профессор кафедры биотехнологии и биоорганического синтеза ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ;

Митрофанов Р. Ю., канд. хим. наук, научный сотрудник лаборатории химического
синтеза ЗАО «Вектор-Бест».

Егорова Е. Ю.

Е30 Биохимия вкуса, цвета и аромата пищевого сырья и продуктов питания: учебно-методическое пособие для студентов направлений подготовки 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья», 19.03.01 и 19.04.01 «Биотехнология» всех форм обучения / Е. Ю. Егорова, Д. В. Минаков, С. Л. Тихонов, Е.Б. Сысуев, Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Уральский государственный лесотехнический университет, Уральский государственный аграрный университет, филиал ФГБУ «ВНИИИМТ» РосЗдравНадЗора в г. Екатеринбург – Екатеринбург: Издательский Дом «Ажур», 2026. 84 с.

ISBN 978-5-91256-792-6

В учебно-методическом пособии приведен основной теоретический материал, определены порядок и содержательная часть выполнения практических занятий и лабораторных работ по дисциплине «Химия вкуса, цвета и аромата» для студентов направлений подготовки 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья», 19.03.01 и 19.04.01 «Биотехнология».

В пособии рассмотрены психофизиологические основы восприятия человеком цвета, вкуса и запаха пищевого сырья и продуктов питания, обозначены основные классы растительных пигментов, вкусо- и ароматобразующих соединений, современные методы их качественного и количественного анализа. Вспомогательная часть издания включает методологию работы с источниками литературы и нормативными документами. Текст написан в формате технологий пищевых и перерабатывающих производств, с привлечением НТД, материалов современных периодических изданий, учебно-справочной и специальной литературы.

Пособие написано в соответствии с требованиями ФГОС ВО, согласно ГОСТ 2.105–95 «Общие требования к текстовым документам».

Елена Юрьевна ЕГОРОВА - доктор технических наук, доцент, заведующий кафедрой технологии хранения и переработки зерна ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова»

Денис Викторович МИНАКОВ - доктор технических наук, доцент, профессор кафедры органической химии, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет»

Сергей Леонидович ТИХОНОВ - доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой-руководитель высшей школы биотехнологии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный лесотехнический университет», профессор кафедры экологической и техноферной безопасности, ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет»

Евгений Борисович СЫСУЕВ – кандидат фармацевтических наук, доцент, руководитель Филиала ФГБУ «ВНИИИМТ» РосЗдравНадЗора в г. Екатеринбург

УДК 664:[543.64+543.68] (07)

ББК 36-1 я73

ISBN 978-5-91256-792-6

© Егорова Е. Ю., Минаков Д. В., Тихонов С.Л., Е.Б. Сысуев, 2026
© ФГБОУ ВО «Уральский государственный лесотехнический университет», 2026.

© ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», 2026
© Филиал ФГБУ «ВНИИИМТ» РосЗдравНадЗора в г. Екатеринбург, 2026

Содержание

ВВЕДЕНИЕ. Цели и задачи дисциплины	4
1 Психофизиологические основы восприятия	5
цвета, вкуса и запаха	5
1.1 Тема № 1 «Тестирование зрительной чувствительности и цветного зрения студентов»	17
1.2 Тема № 2 «Тестирование индивидуальной вкусовой чувствительности студентов»	21
1.3 Тема № 3 «Тестирование обонятельной чувствительности студентов»	26
2 Методы идентификации и анализа вкусо-, ароматобразующих соединений и пигментов	31
2.1 Тема № 4 «Пигменты. Хлорофиллы и каротиноиды. Определение цвета томатопродуктов»	31
2.2 Тема № 5 «Анализ беталаинов свеклы»	41
2.3 Тема № 6 «Определение полифенольных соединений в оценке подлинности напитков из растительного сырья»	45
2.3 Тема № 7 «Исследование веществ, отвечающих за формирование вкуса продуктов переработки растительного сырья»	62
2.4 Тема № 8 «Пищевые ароматизаторы. ТСХ ментола и ванилина в оценке качества пищевых добавок для кондитерского производства»	73
3 Материалы и оборудование	79
4 Рекомендуемая литература	83

ВВЕДЕНИЕ. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ

Основной целью представленного учебно-методического пособия является рассмотрение основ биохимии вкуса, цвета и аромата пищевого сырья и продуктов питания преимущественно растительного происхождения, с целью конструирования, органолептического и физико-химического анализа новых пищевых продуктов.

Для достижения поставленной цели при освоении теоретического и практического материала пособия решаются следующие задачи:

1) приобрести устойчивые знания о химизме и условиях образования соединений, определяющих вкус, цвет и аромат пищевых продуктов из растительного сырья;

2) усвоить влияние отдельных классов органических соединений на органолептические и физико-химические показатели качества пищевого сырья и продуктов питания, а также влияние этих классов соединений на изменение вкуса, цвета и запаха продуктов из растительного сырья в процессе хранения;

3) освоить методики идентификации, качественного и количественного анализа вкусо-, ароматобразующих соединений и пигментов (красителей) в составе растительного сырья и продуктов на его основе.

Знание данной дисциплины необходимо как для освоения других дисциплин магистерской программы, так и для выполнения выпускной квалификационной работы обучающихся (магистерской диссертации).

Практические занятия дисциплины направлены на формирование у студентов представлений:

- о современных принципах классификации цвето-, аромат- и вкусообразующих веществ;

- о механизмах восприятия цвета, вкуса и аромата пищевых продуктов и факторах, определяющих сенсорную впечатлительность;

- о порогах восприятия и распознавания цвето-, аромат- и вкусообразующих веществ;

- об основных технологических свойствах цвето-, аромат- и вкусообразующих веществ, включая природные соединения, их синтетические аналоги и синтезированные вещества;

- об эффектах взаимного влияния аромат- и вкусообразующих веществ, принципах усиления и модификации вкуса и аромата.

1 ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВОСПРИЯТИЯ ЦВЕТА, ВКУСА И ЗАПАХА

Восприятие (*perception*) – непосредственное отражение свойств объекта в сознании, способность воспринимать, различать и усваивать информацию об объекте при помощи органов чувств.

Человек воспринимает импульсы, идентифицируемые как цвет, вкус и запах объектов, посредством особых скоплений клеток – рецепторов. Эти клетки и сопровождающие их нервные образования придают сенсорным органам (в которых содержатся) избирательно-чувствительную способность к распознаванию строго определенных импульсов: ухо – звук, глаз – свет и т. д.

Такая способность к специфическому восприятию импульсов носит название «**впечатлительность**». В условиях, когда на определенный сенсорный орган воздействует фактор внешней среды, возникает так называемое **сенсорное впечатление**. Факторы, возбуждающие сенсорное впечатление, называются **сенсорными стимулами**, а способность запоминать и в последствии распознавать различные импульсы и сенсорные впечатления – **сенсорной памятью**.

Сенсорные органы (синонимы понятия: органы чувств, органы-анализаторы) располагаются в месте восприятия специфического стимула: зрительные рецепторы находятся в сетчатке глаз, вкусовые хеморецепторные клетки – на языке, обонятельные – на определенном участке слизистой носа.

Условно структуру сенсорных органов принято обозначать следующим образом:

- 1) приемный орган (глаза, нос, язык), отвечающий за преобразование внешнего воздействия – световых волн, запаха или вкуса – в нервный импульс;
- 2) нервные клетки, проводящие возникающие нервные импульсы к центральной нервной системе и в кору головного мозга;
- 3) группы нервных клеток коры головного мозга, в которых осуществляется анализ импульсов и их сопоставление с данными сенсорной памяти.

Факторы, определяющие сенсорную впечатлительность:

- вид импульса;
- сила импульса;
- одновременное воздействие различных импульсов;
- адаптация и физиологическая утомленность;
- степень внимания и осознания;
- наличие тренировки и условий жизни, условий труда, условий проведения органолептических испытаний (освещённость; температура объекта и др.).

Поступающий извне импульс приводит к возбуждению специфически ориентированных рецепторов, преобразующих этот импульс в сигнал, передаваемый от рецепторов к центральной нервной системе, а затем – в кору головного мозга. Одновременно обособленная группа нервных окончаний проводит импульсы в обратном направлении, но большинство нервов проводит импульсы одновременно в двух направлениях.

Восприятие цвета. Визуальный метод даёт общее впечатление о продукте, которое формируется на основе зрительного (визуального) ощущения.

Зрительное впечатление начинает формироваться после воздействия световых волн на светочувствительную часть сетчатки глаз (рисунок 1), состоящую из нескольких видов специализированных по выполняемым функциям клеток: фоторецепторов, нервных, пигментных и глиальных клеток*.

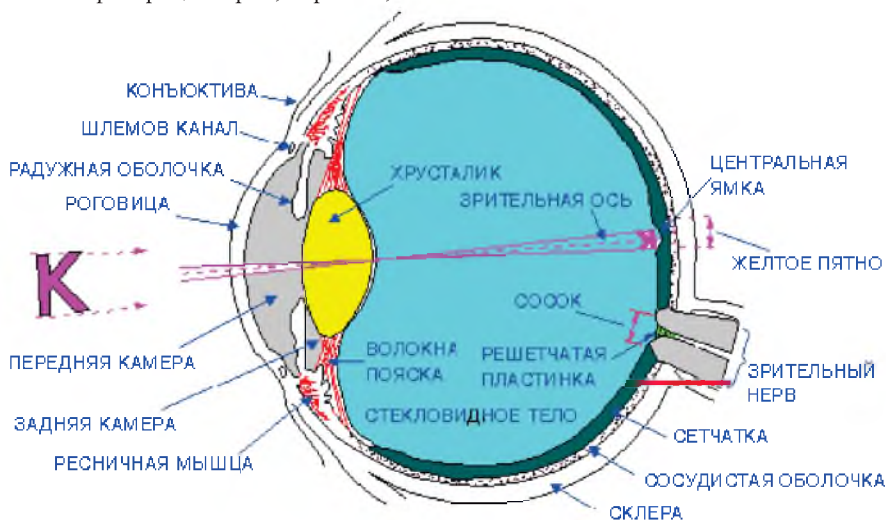


Рисунок 1 – Схема горизонтального разреза глазного яблока

Механизм зрительного восприятия основан на том, что рецепторные клетки глаза возбуждаются под воздействием электромагнитных волн видимой области спектра (380–760 нм); каждому цвету соответствует строго определенный участок этого диапазона (таблица 1). Фоторецепторные клетки преобразуют электрический импульс в нервный импульс и передают его зрительным нервным клеткам, от которых информация передается в зрительные центры головного мозга.

Таблица 1 – Восприятие цвета в зависимости от длины волны

Длина волны, нм	Цвет, воспринимаемый глазами человека
380–470	Фиолетовый и синий
480–500	Голубой, сине-зеленый
510–550	Зеленый
560–590	Желто-оранжевый
600–760	Красный, пурпурный

*Глиальные клетки – отростчатые клетки, у которых отсутствует аксон; окружают нервные клетки и выполняют при них вспомогательную роль.

С учетом морфологических особенностей клеток, в слое фоторецепторов сетчатки различают:

- **палочки** (110–130 млн. клеток, составляют ~70 % из всех $[6,4 \times 10^6]$ клеток сетчатки), обладающие повышенной чувствительностью и выполняющие зрительные функции даже при слабой освещенности. Этот тип фоторецепторных клеток не позволяет различать цвета и даёт не чёткое изображение, имеет максимум поглощения света в области 500 нм. Наружные сегменты палочек имеют «диски», мембрана которых содержит светочувствительный пигмент родопсин; внутренние сегменты отвечают за обеспечение клетки энергией и питательными веществами. *Родопсин* (зрительный пурпур) представляет собой соединение альдегидной формы витамина А с белком сетчатки опсином;

- **колбочки** (6–7 млн. клеток, ~2 % клеток сетчатки) имеют разную чувствительность к длине электромагнитных волн и обеспечивают цветное зрение, содержат пигмент *йодопсин*; им необходима высокая освещенность. Йодопсин и родопсин имеют подобную структуру, несколько различающуюся строением белка;

- **пигментсодержащие (меланопсин-содержащие) ганглиозные клетки** не дают четких зрительных образов, но реагируют на свет. Свои функции выполняют благодаря наличию пигмента *меланопсина*. Доля этих клеток составляет всего 2 % от общего количества ганглиозных клеток сетчатки глаза.

В рецепторном слое сетчатки глаз палочки и колбочки расположены перпендикулярно к направлению световых лучей (в виде столбиков), тыльной стороной к свету. Пигменты палочек и колбочек – светочувствительные, так как содержат в своей основе видоизмененный витамин А, при дефиците которого снижается производство зрительного пигмента и страдает зрительное восприятие. Кванты света, поглощаемые колбочками и палочками, выполняют функцию пусковых механизмов, вызывающих генерацию рецепторной клеткой нервного импульса и зрительное ощущение. В результате в клетках сетчатки глаз запускается одна и та же химическая реакция: переход ретинена из цис-формы в транс-форму. При этом родопсин трансформируется в люмиродопсин, содержащий ретинен в неустойчивой транс-форме; люмиродопсин переходит сначала в метародопсин и далее – в свободный ретинен и опсин.

В сетчатке глаза различают три типа колбочек, различающихся по сфере зрительного восприятия: реагирующих на синий или зеленый, или красный цвет (таблица 2).

Таблица 2 – Типы рецепторных клеток (колбочек) сетчатки глаза

Тип колбочек	Название	Диапазон	Максимум чувствительности
S – "трипан", "цианолаб", (синие)	β	Коротковолновые, 400–500 нм	420–440 нм
M – "дейтан", "хлоролаб", (зелёные)	γ	Средневолновые, 450–630 нм	534–545 нм
L – "протан", "эритролаб", (красные)	ρ	Длинноволновые, 500–760 нм	564–580 нм

Каждый тип колбочек реагирует на световые волны в достаточно широком участке светового диапазона. Например, "зеленые" колбочки воспринимают волны в пределах 450–675 нм, воспринимаемая синий, зеленый, желтый, оранжевый и красный цвет, но на зеленый их реакция наиболее выражена. Подобным образом работают и два других типа колбочек.

Промежуточные цвета (все, кроме синего, зеленого и красного) воспринимаются фоторецепторными клетками при одновременном раздражении колбочек двух либо всех трех типов. Для восприятия *белого* цвета необходима одинаковая интенсивность воздействия световых волн на все три типа колбочек одновременно.

Для характеристики цвета пищевого сырья и продуктов действующая НД в области организации, проведения и стандартизации результатов органолептической оценки предусматривает использование следующей терминологии.

Согласно определению действующих НТД, **цвет** – это качественная субъективная характеристика электромагнитного излучения оптического диапазона, определяемая на основании возникающего физиологического (зрительного) ощущения и зависящая от ряда физических, физиологических и психологических факторов [1].

Все цвета, которые может воспринимать и классифицировать человек, принято подразделять на две группы:

- окрашенные или хроматические – фиолетовый и синий 380–470 нм, сине-зеленый 480–500 нм, зеленый 510–550 нм, желто-оранжевый 560–590 нм, красный 600–760 нм;

- неокрашенные или ахроматические – это белый, черный и серый цвет, отсутствующий в видимом спектре и характеризующиеся только с учетом яркости.

Кроме понятия «цвет», для объективной характеристики цвета пищевого сырья и продуктов дополнительно могут быть использованы и другие стандартизированные термины:

- **цветовой тон** (оттенок) – длина волны в видимой части спектра;

- **насыщенность** (или чистота). Может описываться терминами слабый, тусклый, бледный, сильный, насыщенный и т. д.;

- **яркость** (светлость или густота цвета, не меняющая оттенок) – характеристика, зависящая от яркости освещения и фона, на котором рассматривается объект. Описывается словами: яркий, темный / светлый.

Для правильного описания внешнего вида оцениваемого сырья или продукта специалист должен владеть номенклатурой цветов. На сегодняшний день известно несколько вариантов систематики цветов («альбомы цветов» и «словари цветов»), при этом для описания цвета используются как стандартные хроматические понятия (белый, черный, красный и т. д.), так и термины, ассоциируемые с какими-либо определенными объектами (малиновый, персиковый, морковный, лимонный и т. д.). Наравне с этим, используется терминология иностранного происхождения: оранжевый (*orange* – апельсин), лиловый (*lilac* – сирень), фиолетовый (*viola* – фиалка) и т. д.

Цвета, получаемые смешиванием цветовых тонов, называют путем комбинирования соответствующих терминов: «жёлто-зелёный», «красно-коричневый»; для более точной характеристики оттенков могут использоваться комбинации названий цветовых тонов и знакомых объектов, например, «медово-желтый», «изумрудно-зеленый».

Восприятие вкуса

Вкус – один из видов хеморецепции, который можно определить как чувствительность рецепторов полости рта по отношению к химическим раздражителям; единица импульса вкуса принята за 1мМ.

По принятой классификации выделяют четыре основных вкуса и несколько второстепенных (таблица 3).

Таблица 3 – Классификация вкусов [2]

Вкусы	Источники вкуса (вкусообразующие вещества)
Основные:	алкалоиды (хинин, кофеин, теобромин, никотин, соланин), некоторые минеральные соли (сульфат магния)
- горький	сахара (фруктоза, глюкоза, сахароза, лактоза), многоатомные спирты (сорбит, маннит), сахарин
- сладкий	органические кислоты (лимонная, винная, молочная)
- кислый	некоторые минеральные соли (поваренная соль)
- солёный	сода питьевая, мыло
Второстепенные:	
- щелочной, мыльный	соли металлов (железа, меди)
- металлический	жирные кислоты, масло растительное
- жирный	глутаминовая кислота, L-глутамат, нуклеотиды
- умами (вкусный)	

Современная теория вкуса считает, что разные участки вкусочувствительных клеток, расположенных на языке, мягком нёбе, глотке, миндалинах и некоторых эпителиальных клетках верхних дыхательных путей, обладают избирательной чувствительностью к различным типам вкусовых стимулов, при этом одна хеморецепторная клетка одновременно может иметь несколько разных типов рецепторных участков.

Молекула вещества, вызывающего определенное вкусовое ощущение, может связаться только со своим рецептором. Если такого рецептора нет или он или сопряженные с ним биохимические каскады реакций не работают, то вещество и не вызовет вкусового ощущения.

Все вещества, отвечающие за взаимодействие с веществами с распознаванием вкусов, относятся к обширному семейству GPCR-рецепторов (G protein-coupled receptors), связанных с белками. Эти G-белки находятся внутри клетки, возбуждаются при взаимодействии с активными рецепторами и запускают все последующие реакции.

После попадания вещества в пору вкусовой почки (рисунок 2) формируется импульс, который передается на реснички хеморецепторной клетки и да-

лее – на окончание нерва и к соответствующему участку коры головного мозга. Помимо вкусовых веществ, рецепторы типа GPCR позволяют мозгу распознавать гормоны, нейромедиаторы и феромоны.

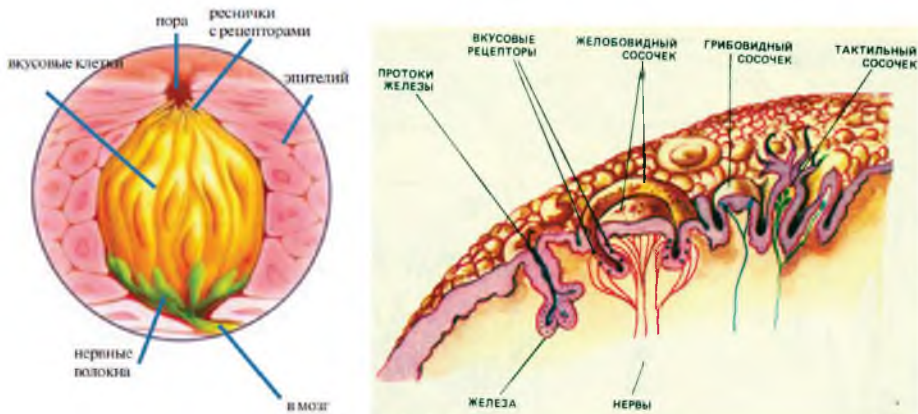


Рисунок 2 – Строение вкусовой почки и типы «участников» восприятия вкуса в ротовой полости

Рецептор сладких веществ – димер из двух рецепторных белков (T1R2 и T1R3), за вкус умами отвечает димер T1R1-T1R3 (у глутамата есть и другие рецепторы, некоторые из них расположены в желудке и иннервируются блуждающим нервом, вследствие чего обеспечивают нам удовольствие от пищи), за ощущение горечи отвечает около тридцати рецепторов группы T2R.

Некоторые молекулы – такие, как сахарин – способны активировать как пару сладких рецепторов T1R2-T1R3, так и горькие, типа T2R (в частности, hTAS2R43 у человека), поэтому сахарин на языке проявляет себя одновременно как сладкое и горькое вещество. Это позволяет человеку отличать сахарин от сахарозы, способной активировать только рецепторы T1R2-T1R3.

Принципиально иные механизмы лежат в основе формирования ощущений кислого и соленого. Химическое и физиологическое определения «кислого», по сути, совпадают: за него отвечает повышенная концентрация ионов H^+ в анализируемом растворе. Пищевая соль – это хлорид натрия. Когда происходит изменение концентрации этих ионов – носителей кислого и соленого вкусов, – тут же реагируют соответствующие ионные каналы, то есть трансмембранные белки, избирательно пропускающие ионы в клетку.

Рецепторы кислого – это фактически ионные каналы, проницаемые для катионов, которые активируются внеклеточными протонами. Рецепторы соленого – это натриевые каналы, поток ионов через которые возрастает при повышении концентрации солей натрия во вкусовой поре.

Температурные рецепторы тоже очень важны. Например, ментол активирует рецептор TRPM8. Это катионный канал, который начинает работать при

падении температуры ниже 37°C, то есть он отвечает за формирование ощущение холода. Ментол снижает температурный порог активации TRPM8, поэтому, когда он попадает в рот, и ощущение холода возникает при любой неменяющейся температуре окружающей среды.

Капсаицин (компонент жгучего перца) активирует рецепторы тепла TRPV1 – ионные каналы, близкие по структуре TRPM8. Но в отличие от холодных рецепторов, TRPV1 активируются при повышении температуры выше 37°C. Именно поэтому капсаицин вызывает ощущение жгучести.

Пикантные вкусы других пряностей – корицы, горчицы, тмина – также распознаются температурными рецепторами. Температура пищи имеет огромное значение – вкус выражен максимально, когда она равна или чуть выше температуры полости рта.

Зубы также участвуют в восприятии вкуса. О текстуре пищи нам сообщают датчики давления, расположенные вокруг корней зубов. В этом принимают участие и жевательные мускулы, которые «оценивают» твердость пищи. Доказано, что, когда во рту много зубов с удаленными нервами, ощущение вкуса меняется и частично утрачивается.

Вкус – это мультимодальное ощущение. Должна воедино свестись информация от химических избирательных вкусовых рецепторов, тепловых рецепторов, данные от механических датчиков зубов и жевательных мускулов, а также от обонятельных рецепторов, на которые действуют летучие компоненты пищи. Примерно за 150 миллисекунд первая информация о вкусовой стимуляции доходит до центральной коры головного мозга.

Доставку информации осуществляют четыре нерва:

- лицевой нерв передает сигналы, приходящие от вкусовых почек, которые расположены на передней части языка и на нёбе;
- тройничный нерв передает информацию о текстуре и температуре в той же зоне;
- языкоглоточный нерв переправляет вкусовую информацию с задней трети языка;
- блуждающий нерв передает информацию из горла и надгортанника.

После этого все нервные сигналы проходят через продолговатый мозг и оказываются в таламусе. Именно там вкусовые сигналы соединяются с обонятельными и вместе уходят во вкусовую зону коры головного мозга.

Принцип ощущения-распознавания вкуса веществ отличается от принципа работы обонятельной системы человека. Благодаря работе обонятельных структур человек способен отличать один сложный запах от другого, и это помогает ему сделать выбор наиболее предпочтительные и избежать употребления неприятных. Вкус продукта имеет для нас совсем иное значение, особенно в тех случаях, когда речь идет о горьком вкусе: практически каждый природный токсин имеет горький вкус, поэтому горечь ассоциируется с предупреждением нас от употребления в пищу токсичных веществ. В связи с приоритетной важностью своевременного ощущения горечи, активация любого гена, контролирующего способность выявлять горький вкус, практически моментально вы-

зывает цепную реакцию при контакте вкусовой клетки с любыми горькими веществами, поскольку организму человека не столь важно дифференцировать природу горечи и идентифицировать вещества, ее вызывающие.

Считается, что женщины более чувствительны к горькому вкусу по сравнению с мужчинами. Это объясняется более высокой плотностью специализированных вкусовых рецепторов (грибовидных сосочков) на языке у женщин.

Для ощущения вкуса важна слюна, поддерживающая рН полости рта и отвечающая за растворение и перенос вкусовых веществ к клеткам рецепторов. За сутки у взрослого человека выделяется до 2,5 л слюны (99–99,5% – вода, остальное – ферменты, электролиты (в качестве которых в слюне присутствуют микроколичества йода и соли калия, натрия, магния, кальция в форме фосфатов, бикарбонатов, хлоридов) и антимикробные агенты). У людей с пониженной выработкой слюны развивается дисгевзия – притупление способности ощущать и распознавать вкусы, либо постоянное ощущение металлического привкуса. Ещё одной аномалией восприятия вкусов является «Гипернатриемия слюнь» – повышенная концентрация в слюне ионов натрия, вследствие чего все продукты и вода кажутся солеными.

В стандартной классификации вкусов используется термин **дескриптор** (от лат. *descriptor* – описывающий) – слово, словосочетание или фраза, описывающее и позволяющее однозначно идентифицировать вкус и вид (название) вкуса.

Кроме этого термина, перед проведением оценки свойств пищевого продукта или сырья специалист должен усвоить определения следующих понятий.

Послевкусием называют обонятельное и/или вкусовое ощущение, проявляющееся после проглатывания или удаления продукта из полости рта и отличающееся от тех ощущений, которые воспринимались во время его нахождения в ротовой полости (измеряется в куадалях, 1 куадаль = 1 секунде).

Порог обнаружения, порог стимула (*detection threshold, stimulus threshold*) – это минимальная величина (интенсивность) стимула, необходимая для возникновения ощущения; этот стимул может быть не идентифицированным качественно.

Различение (*discrimination*) – количественное и/или качественное различие между двумя или несколькими стимулами.

Порогом распознавания (*recognition threshold*) называется минимальная величина (интенсивность) стимула, позволяющая качественно описать характер ощущения. В свою очередь, под **дифференциальным порогом** (*difference threshold*) следует понимать значение наименьшего воспринимаемого различия в физической интенсивности стимула.

Восприятие запахов

Обонятельной (ольфакторной) системой, или **обонятельным анализатором**, называется нейросистема, используемая организмом для распознавания летучих и водорастворимых химических веществ по конфигурации их молекул и создающая субъективные сенсорные образы в виде запахов. Это совокупность структур, ответственных за восприятие запахов:

- рецепторные клетки обонятельного эпителия;
- нервные волокна, отвечающие за передачу информации от рецепторов к коре головного мозга;
- определенные участки головного мозга, отвечающие за восприятие запаха и связанные с формированием сенсорной памяти (рисунок 3).

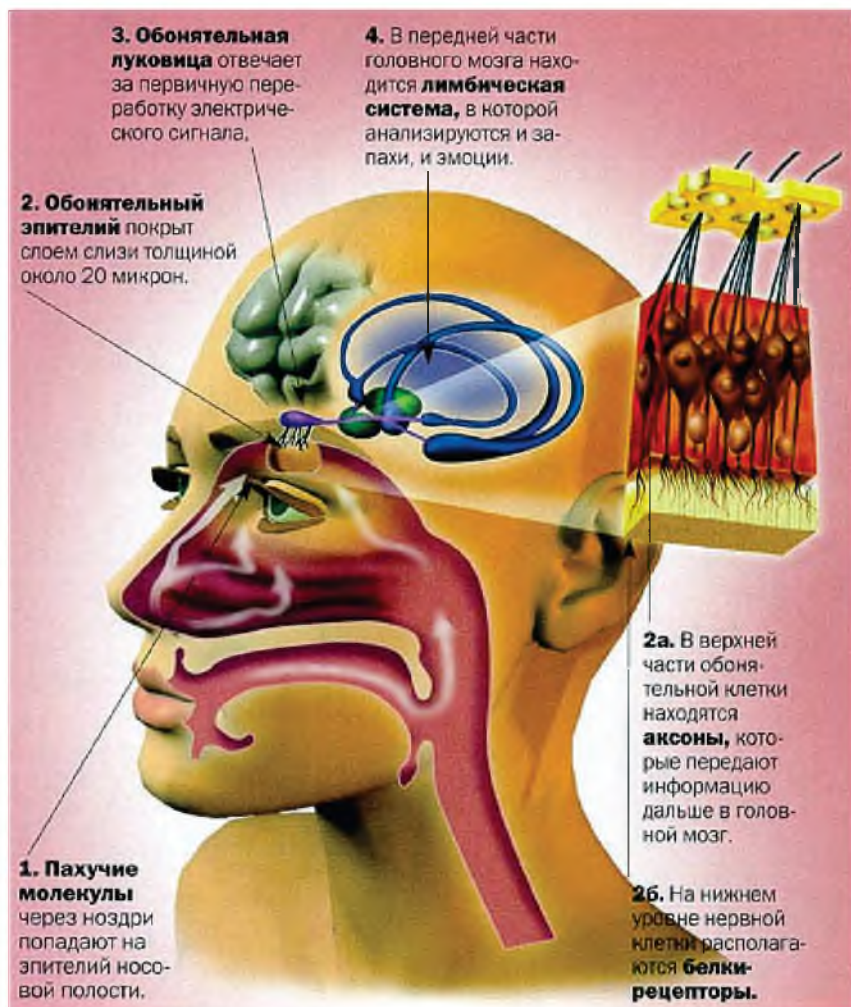


Рисунок 3 – Органы обоняния и схема движения воздушных потоков

Так же, как и вкусовая сенсорная система, обонятельная является системой преимущественно химической чувствительности.

В обонятельном процессе принимают участие следующие факторы:

1) на *рецепторном уровне* – качество носового дыхания, гормональный фон, наличие/отсутствие специфических anosmий, возрастные особенности;

2) *проводимость нервных пучков*;

3) *лимбическая система*;

4) на *психическом уровне*: психофизиологическое состояние (уровень возбуждения нервной системы) и индивидуальный опыт.

Обонятельный эпителий имеет толщину от 100 до 300 мкм, покрыт слоем слизи и содержит три типа клеток: основные – обонятельные – клетки (хеморецепторные клетки), опорные и базальные клетки. *Обонятельные клетки* – палочковидной формы, с веретенообразным утолщением на месте ядра (ядра в разных клетках располагаются на разных уровнях).

Рецепцию запахов осуществляют 3 типа обонятельных клеток-нейронов:

1) обонятельные рецепторные нейроны (ORNs) – в основном эпителии;

2) GC-D-нейроны – в основном эпителии;

3) вомероназальные нейроны (VNNs) – в вомероназальном эпителии (находится на пути вдыхаемого воздуха, сразу за обонятельным), отвечают за восприятие феромонов.

Опорные клетки в функционировании обонятельного эпителия выполняют механическую функцию. Опорные клетки, расположенные возле базальной мембраны, называют *базальными*, они расположены на границе эпителия с подслизистым слоем.

Помимо обонятельного эпителия, обонятельные рецепторные клетки находятся также в дыхательной области носа, в виде свободных нервных окончаний сенсорных афферентных волокон-отростков тройничного нерва, реагирующих на пахучие вещества.

Весь механизм восприятия человеком запаха заключается в том, что поступающие с потоком воздуха в носовую полость молекулы пахучих веществ растворяются в покрывающей обонятельный эпителий слизи и взаимодействуют с рецепторными белками, встроенными в мембрану обонятельных рецепторных клеток. Эта реакция меняет проницаемость мембраны обонятельных клеток для ионов растворенных в слизи пахучих веществ и приводит к возникновению электрического импульса, передающегося по аксону в обонятельный нерв (см. рисунок 3) и дальше, вплоть до коры головного мозга.

В определённых условиях наблюдается извращённое восприятие запахов, когда определённые, привычные вещества вдруг становятся крайне неприятными.

Величины порогов обнаружения (ощущения) и порогов распознавания вкусов и запахов различны для разных химических веществ (таблицы 4, 5) и зависят от степени восприимчивости и сенсорных способностей дегустатора, от условий проведения оценки. Сначала проявляется порог неопределённого обонятельного и/или вкусового ощущения – запах / вкус ощущается без качественной характеристики. Затем проявляется порог специфического обонятельного и/или вкусового ощущения, позволяющий дать качественную оценку запаху или вкусу.

Таблица 4 – Пороговые значения основных вкусовых стимулов

Вкус	Вещество	Порог, г/л		Вкусовой порог, %	Пороговое время, с
		обнаружения	распознавания		
Горький	хинин	0,000985	0,00197	0,1 %	0,219
Кислый	лимонная кислота	0,05	0,18–0,251	0,2 %	0,168
Солёный	поваренная соль	0,15	0,59	10 %	0,158
Сладкий	сахароза	0,86	3,42	20 %	0,164

Таблица 5 – Пороги ощущения некоторых запахов

Вещество	Порог ощущения, г/см ³ воздуха	Вещество	Порог ощущения, г/см ³ воздуха
Ванилин	$0,0002 \cdot 10^{-9}$	Меркаптан	$0,00002 \cdot 10^{-9}$
Камфора	$8 \cdot 10^{-9}$	Ионон	$0,00005 \cdot 10^{-9}$
Мускус	$0,001 \cdot 10^{-9}$	Ксилол	$0,8 \cdot 10^{-9}$
Винный лактон	$0,00000001 \cdot 10^{-9}$	Технический иприт	$0,0003 \cdot 10^{-9}$
Валериановая кислота	$0,01 \cdot 10^{-9}$	Иприт	$0,022 \cdot 10^{-9}$
Уксусная кислота	$5 \cdot 10^{-9}$	Дифосген	$0,4 \cdot 10^{-9}$
Масляная кислота	$3 \cdot 10^{-9}$	Хлорпикрин	$0,6 \cdot 10^{-9}$

Резкое повышение порогов, а иногда и полное исчезновение обоняния наблюдается при затруднении попадания в обонятельную область пахучих веществ, например, при насморке. Если, возникшие в полости рта патологические явления не в одинаковой степени влияют на чувствительность различных рецепторов, то, наряду со сдвигами порогов раздражения наблюдается изменение характера запаховых ощущений.

Сильный очаг коркового возбуждения может вызвать отрицательную индукцию и тем самым привести не к повышению, а к понижению возбудимости клеток обонятельного анализатора. К значительному снижению порога раздражения приводит повторное кратковременное действие слабо пахнущего вещества.

Пороги обнаружения и распознавания запахов зависят от среды, в которой находится пахучее вещество, отсутствия или наличия в этой среде других соединений, способных замаскировать или изменить ощущение запаха. В частности, на свету чувствительность к запахам выше, чем в темноте; присутствие в воздухе водяных паров ведет к снижению порогов ощущения запахов; чем чище воздух и меньше в нем содержится летучих соединений, тем также – ниже пороги чувствительности к запахам.

Многие ароматобразующие вещества синтезируются в растительном сырье в ходе каталитических преобразований органических и полиненасыщенных жирных кислот. Синтезируемые вещества являются низкомолекулярными (и поэтому воспринимаемыми обонятельными рецепторами человека) и пред-

ставлены как ароматическими (производные бензола и фенола), так и алифатическими соединениями предельного и непредельного ряда (терпены, короткоцепочечные и длинноцепочечные спирты, алканы, алкены, диены; гетероциклические соединения).

Например, основной причиной появления характерного грибного запаха является наличие органического соединения 1-октен-3-ола. В целом же, в разной степени за типичный запах грибов отвечает три соединения – 3-октанол, 2-октеналь, октан-3-он, 1-октен-3-ол, 1-октен-3-он, гексаналь и октаналь (при этом грибной запах обусловлен присутствием совсем других веществ!). За «фруктовый» запах плодовых тел гриба лисичка отвечают терпеноиды дигидроактинидиолид и лимонен, за цветочные ноты – бензальдегид (относится к основным компонентам в аромате миндаля, вишни и черемухи) и медово-розовый фенилацетальдегид.

Можно отметить и другие, очень специфичные, ароматические соединения:

- характерным компонентом в аромате мяса является 2-метил-3-фурантиол,

- вареная капуста и морские водоросли пахнут диметилсульфидом,

- индивидуальность запаха семян аниса запах обеспечивает наличие в них *p*-метоксифенилацетата, анисового кетона и метилхавикола,

- характерную остроту и терпкость запаху горького миндаля придает присутствие бензилового спирта и анетола,

- гнилостные запахи сырья связаны с присутствием индола, скатола, толуола, 2-фенилэтанола, диметилдисульфида и некоторых других соединений.

Некоторые раздражители, например, ванилин и гваякол, действуют только на обонятельные рецепторы. Другие летучие вещества одновременно раздражают и другие рецепторы. Так, бензол, нитробензол, хлороформ действуют на вкусовые рецепторы, вследствие чего их запах имеет сладковатый привкус. Хлор, бром, аммиак, формалин возбуждают болевые и тактильные рецепторы слизистой оболочки носа. Ментол, фенол, камфара раздражают холодовые рецепторы, этиловый спирт и уксусная кислота – вкусовые, тепловые и болевые, и т.д. Это свидетельствует о том, что анализ обонятельных раздражений начинается на периферии, а высший анализ и синтез запаховых раздражений – в коре больших полушарий.

Человек не способен различать отдельные компоненты, входящие в состав сложного запаха. Если смешать два или несколько различно пахнущих веществ, то запах смеси может оказаться либо сходным с запахом одного из них, либо резко отличным от запаха каждой ее составляющей части.

В некоторых случаях наблюдается следующее явление – вместо непрерывного ощущения одного и того же запаха смеси возникают чередующиеся ощущения запаха то одного, то другого. В пищевой промышленности возможность подавления одного запаха другим используется в целях дезодорации, то есть для нейтрализации запаха зловонных веществ.

Важно помнить, что скорость образования и состав летучих веществ в сырье и готовых продуктах зависят не только от их исходного химического состава, но и от температуры, pH, электромагнитных излучений, сопутствующих веществ и ряда других факторов.

1.1 Тема № 1 «Тестирование зрительной чувствительности и цветного зрения студентов»

Цель работы: протестировать цветное зрение и зрительную чувствительность студентов; усвоить терминологию, принятую для характеристики цвета и внешнего вида растительного сырья и пищевых продуктов на его основе.

Практическое занятие

Задание 1. Найдите и выпишите в тетрадь определения понятий, характеризующих зрительную чувствительность человека:

- аггравация;
- симуляция и диссимуляция;
- ахромазия;
- дальтонизм;
- гемихроматопсия.

Задание 2. Распознайте цифру / картинку на предоставленных цветных таблицах Е.Б. Рабкина, предназначенных для тестирования цветоощущения.

Проверка цветного зрения студентов в обучающих целях осуществляется с помощью полихроматических таблиц Е. Б. Рабкина, включающих две группы: основную группу (таблицы 1–27) и контрольную группу (таблицы 28–48).

Каждая таблица состоит из множества цветных кружочков и точек, различных по размеру, цвету и яркости. Основная группа таблиц предназначена для дифференциальной диагностики формы и степени расстройства цветного зрения. Контрольная группа таблиц используется для уточнения результатов в случаях выявления симуляции, диссимуляции и аггравации.

Испытание проводится в следующем порядке. Студент должен сесть спиной к естественному источнику освещения или лампе дневного света, так, чтобы освещалась таблица. Уровень освещённости должен составлять 500–1000 лк. Таблицы с 1 по 24 рассматривают с расстояния примерно 20 см, располагая их вертикально перед собой, на уровне глаз. Длительность просматривания каждой таблицы может составлять от 3 до 10 с. Если студент при чтении обычно использует очки, то тестирование цветовой чувствительности он выполняет также в очках.

Оценку результатам тестирования дают следующим образом.

1) Все таблицы из основной серии охарактеризованы правильно – у тестируемого студента нормальная трихромазия – термин, обозначающий нормальное цветное зрение: способность воспринимать три основных цвета – красный, зелёный и синий.

2) Неправильно названы таблицы в количестве от 1 до 12 – у тестируемого студента аномальная трихромазия – расстройство цветного зрения (чаще врождённое), характеризующееся ослаблением восприятия некоторых цветов.

3) Неправильно названо более 12 таблиц – у исследуемого студента дихромазия – врождённое нарушение цветного зрения, при котором отсутствует функция одного из трёх типов цветовоспринимающих колбочек сетчатки глаз.

Дальтоник будет воспринимать таблицы как однородные по цвету. Человек с правильным цветовосприятием увидит цифры и геометрические фигуры, состоящие из кружков одного определенного цвета.

По результатам тестирования студент определяет свою способность различать цвета и вид цветного зрения, сопоставляя собственные результаты с данными таблицы 6.

Таблица 6 – Виды цветного зрения

Вид цветного зрения	Способность различать цвета		
	красный	зелёный	синий
Трихромазия	+	+	+
Аномальная трихромазия	+	+	+
	при этом восприятие какого-либо цвета ослаблено		
Дихромазия	Нет восприятия одного из цветов		
Протанопия	–	+	+
Дейтеранопия	+	–	+
Тританопия	+	+	–
Монохромазия	Видит только один цвет		
Ахромазия	Видит чёрный и белый цвет		

По результатам выполнения задания 2 студент должен сделать заключение в виде вывода в тетради о своем цветовосприятии и перейти к выполнению лабораторной работы.

Лабораторная работа

Задание 1. Используя рассеянный солнечный свет или лампы дневного света, расположите предложенные окрашенные растворы пищевых красителей в порядке усиления насыщенности в пределах одного цветового тона.

Тестирование зрительной чувствительности заключается в исследовании способностей студентов – участников тестирования – правильно идентифицировать цвет и верно ранжировать окрашенные растворы с учетом возрастания или убывания интенсивности окраски, заданной им красителем.

Результаты самопроверки оформляются в виде анкеты (таблица 7).

Задание 2. Используя данные таблицы 8, рассчитайте концентрацию пищевого красителя в каждой цветовой линейке из 12 модельных тестовых растворов, при условии, что концентрация красителя в исходном растворе составляла 0,1 %.

Таблица 7 – Анкета на проверку зрительной чувствительности

Цветовой тон	Номера колб (заносятся в порядке возрастания интенсивности цвета)
Зелёный (зеленое яблоко)	
Красный (понсо)	
Фиолетовый (черный блестящий)	

Таблица 8 – Данные для расчета концентраций модельных растворов

Краситель	Разведение, мл исходного раствора /100 мл модельного раствора, для колбы №											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Красный (понсо)	0	0,1	0,15	0,2	0,5	1	2	5	7,5	10	15	25
Зелёный (зеленое яблоко)	0	0,02	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2,5	5	7,5	10	15
Фиолетовый (черный блестящий)	0	0,03	0,06	0,1	0,2	0,4	0,7	1	1,5	2	4	6

По результатам выполнения заданий 1–2 сделайте заключение (в виде вывода) об индивидуальных порогах обнаружения (восприятия) и распознавания (различения) красного, зеленого и синего (фиолетового) цвета.

Задание 3. Оценка объема терминологического словаря в области цвето-восприятия продуктов

Ознакомьтесь с ГОСТ ISO 5492–2014 [1] в части терминологии, используемой для характеристики цвета пищевого сырья и продуктов.

Охарактеризуйте визуально воспринимаемые ощущения цвета пищевого сырья и продуктов из предложенного преподавателем перечня.

Для передачи своих визуальных ощущений в качестве основных используйте специальные термины, принятые в действующей НТД, в качестве дополнительных (вспомогательных) – термины, ассоциирующиеся с цветом или оттенком определенных пищевых продуктов и/или непродовольственных товаров.

Результаты работы оформите в тетради по примеру таблицы 9.

Таблица 9 – Результаты оценки объема терминологического словаря в области восприятия цвета продуктов

Наименование продукта	Примеры терминов, характеризующих цвет пищевого объекта	
	<i>основные</i>	<i>дополнительные</i>
<i>Мука пшеничная в/с</i>	белый	светло-кремовый
<i>Масло сливочное</i>		
<i>Молоко топленое</i>		
<i>Шоколад молочный</i>		
<i>Пюре яблочное</i>		
<i>Латша яичная</i>		
<i>Масло подсолнечное нерафинированное</i>		
<i>Хлеб Бородинский (мякиш)</i>		
<i>Батон Горчичный (корка)</i>		
<i>Паста томатная</i>		

Продолжение таблицы 9

Наименование продукта	Примеры терминов, характеризующих цвет пищевого объекта	
	<i>основные</i>	<i>дополнительные</i>
<i>Горчица (соус)</i>		
<i>Сметана 20% жира</i>		
<i>Зеленый горошек</i>		
<i>Хлопья кукурузные</i>		
...		
...		
...		

По итогам выполненной работы сделайте обобщенное заключение-вывод.

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите приемные органы восприятия цвета.
2. Охарактеризовать импульс при восприятии цвета (природа импульса, способ его выражения).
3. Объясните механизм (общую схему) преобразования импульса в ощущения при оценке цвета. Какой участок коры головного мозга отвечает за восприятие цвета?
4. По какому принципу классифицируют зрительные клетки?
5. Где в организме человека находятся свето- и цветочувствительные клетки?
6. Какие функции выполняют палочки?
7. Какие функции выполняют колбочки?
8. Укажите диапазон электромагнитных волн, воспринимаемый глазом человека.
9. Каким образом витамин А связан с работой зрительных рецепторов?
10. Каким образом йод связан с работой зрительных рецепторов?
11. Назовите факторы, влияющие на восприятие цвета.
12. Что понимают под силой импульса при восприятии цвета объектов? Единица импульса света.
13. Что называется порогом распознавания цвета?
14. Что называется порогом различения (дифференциальным порогом) цвета?
15. Назовите основные виды цвета.
16. Какие цвета (цветовые тона) называются ахроматическими?
17. Какие условия необходимо обеспечить при проведении зрительных оценок?
18. Что значит «сумеречное зрение»? Какие аномалии восприятия цвета бывают?
19. Какие подходы используют при стандартизованном описании цвета объектов? Какие термины при этом допускается использовать?
20. В чем заключаются стандартные методики тестирования цветного зрения?

1.2 Тема № 2 «Тестирование индивидуальной вкусовой чувствительности студентов»

Цель работы: протестировать вкусовую чувствительность студентов, на примере модельных тестовых растворов определить их индивидуальную пороговую чувствительность к основным видам вкуса; усвоить терминологию, принятую для характеристики вкуса продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Практическое занятие

Задание 1. Ознакомьтесь с общепринятой классификацией вкусов. Запишите в тетрадь, какие вкусы считаются основными, какие – дополнительными или второстепенными, какие вещества приняты в действующей НД в качестве стандартов (стандартных веществ) для основных видов вкусов.

Задание 2. Найдите и выпишите в тетрадь определения понятий:

- синергизм и антагонизм;
- эффект контраста;
- эффект конвергенции;
- маскировка.

Лабораторная работа

Задание 1. Тестирование вкусовой чувствительности студентов

Вкусовую чувствительность испытывают в соответствии с методикой ГОСТ ISO 3972–2014 Органолептический анализ. Методология. Метод исследования вкусовой чувствительности [4].

Лабораторное исследование способности студентов определять основные виды вкусов проводят с использованием предварительно приготовленных тестовых растворов стандартов (стандартных веществ – дескрипторов), имеющих один из основных видов вкуса: сладкий (сахароза), соленый (соль пищевая поваренная), кислый (лимонная или винная кислота) и горький (кофеин, хинин или сульфат магния).

Индивидуальному тестированию студентов должна предшествовать настройка их вкусовых рецепторов, путем опробования растворов вкусовых веществ в таких же концентрациях, которые представлены в серии тестовых растворов. Все студенты обеспечиваются индивидуальными стаканчиками с водой питьевого качества для ополаскивания полости рта после оценивания вкуса растворов. Вода должна быть идентична воде, использованной для приготовления тестовых растворов.

Пороги обнаружения и пороги идентификации (распознавания) вкусов устанавливают по методике, заключающейся в определении минимальной концентрации вещества, при которой тестируемый может:

- 1) зафиксировать возникновение ощущения вкуса, без его качественной идентификации (порог обнаружения);
- 2) установить вид вкуса: сладкий, соленый, кислый или горький (порог распознавания).

Для каждого из основных видов вкуса в семь произвольно пронумерованных бутылей наливают тестовые растворы с возрастающими концентрациями веществ (таблица 10), приготовленные перед началом занятий из модельных растворов по ГОСТ ISO 3972–2014.

На каждое вещество готовится одна серия растворов на подгруппу; температура растворов должна соответствовать комнатной (20 ± 2 °С).

Таблица 10 – Серии разведений, соответствующих разным типам вкусов [4]

Код разведения (номер колбы)	Кислый		Горький		Соленый		Сладкий		"Умами"		Металлический	
	V, мл	ρ , г/л	V, мл	ρ , г/л	V, мл	ρ , г/л	V, мл	ρ , г/л	V, мл	ρ , г/л	V, мл	ρ , г/л
D ₁ (7)	500	0,60	500	0,27	500	2,00	500	12,00	500	1,00	500	0,0080
D ₂ (6)	400	0,48	400	0,22	350	1,40	300	7,20	350	0,70	350	0,0056
D ₃ (5)	320	0,38	320	0,17	245	0,98	180	4,32	245	0,49	245	0,0039
D ₄ (4)	256	0,31	256	0,14	172	0,69	108	2,59	172	0,34	172	0,0027
D ₅ (3)	205	0,25	205	0,11	120	0,48	65	1,56	120	0,24	120	0,0019
D ₆ (2)	164	0,20	164	0,09	84	0,34	39	0,94	84	0,17	84	0,0013
D ₇ (1)	131	0,16	131	0,07	59	0,24	23	0,55	59	0,12	59	0,0009

V – количество модельного раствора, взятого в мл для приготовления 1 л тестового раствора; ρ – концентрация разведения, г/л.

Тестовые растворы предлагаются студентам сериями, по видам вкусов. Между сериями должен соблюдаться временной интервал в 10–15 минут.

Задача тестируемого студента состоит в том, чтобы попробовать на вкус тестовые растворы в порядке, предложенном преподавателем, и записать в анкете (таблица 11) номер раствора, в котором:

1) ощущается присутствие вкусового вещества, но его не удается качественно идентифицировать (?);

2) вкус раствора идентифицирован (+).

Если в процессе оценки тестовый раствор воспринимается как чистая вода, в ячейке таблицы ставится прочерк.

Повторная оценка растворов допускается не ранее, чем через 30 мин.

Таблица 11 – Пример заполнения анкеты

Код разведения (номер колбы)	Кислый	Горький	Соленый	Сладкий	"Умами"	Металлический
35						
19	?					
...	+					
...		–				
64		?				

Для расчёта значений порогов обнаружения и распознавания вкусов используются данные таблиц 10 и 12. Полученные значения личных порогов обнаружения и распознавания вкусов следует оформить в лабораторной тетради по примеру таблицы 13.

Таблица 12 – Модельные растворы вкусовых веществ [4]

Вещество	Концентрация вещества, г/л
Лимонная кислота	0,43
Кофеин	0,195
Хлорид натрия	1,19
Сахароза	5,76
Глутамат натрия	0,595
Сульфат железа (II) семиводный	0,00475

Таблица 13 – Пороги индивидуальной вкусовой чувствительности

Вкус	Порог, г/л	
	обнаружения вкуса	распознавания вкуса
Сладкий		
Кислый		
Солёный		
Горький		
Умами		
Металлический		

Задание 2. Определение способности различать разницу во вкусе (дифференциальный порог)

Для определения дифференциальных порогов чувствительности дегустаторов применяют методы парного сравнения по ГОСТ Р 53161–2008 [5], метод «дуо-трио» [6] или метод треугольника по ГОСТ Р 53159–2008 [7]. Эти методы часто используются при разработке и утверждении новых рецептур, так как дают возможность установить наличие / отсутствие заметного органолептического различия между образцами двух или трех продуктов по интенсивности рассматриваемой характеристики, в данном случае – определенного вида вкуса. В основе всех трех методов лежит процедура принудительного выбора.

Перед проведением тестирования методами парного сравнения и «дуо-трио» для каждого из основных видов вкуса в 5–6 пар одинаковых прозрачных стеклянных стаканов наливают по 30 мл тестовых растворов (по 5–6 образцов для растворов «А» и «Б»). В методе треугольника отбор проб для испытаний проводится аналогично, но для каждой тройки берется два одинаковых образца и один отличающийся от них (третий) образец.

Каждому образцу присваивается индивидуальный код (предпочтительнее – двух- или трехзначный), известный только организаторам испытаний. Стаканы кодируют и комплектуют в произвольном порядке парами типа «АБ» или «БА». Температура тестовых растворов должна составлять 20 ± 2 °С.

В методе парного сравнения каждый тестируемый получает 5–6 пар растворов, приготовленных для одного вида вкуса. Задачей студента является определение в каждой паре образца с более высокой интенсивностью вкуса.

В методе «дуо-трио» тестируемый также получает 5–6 пар растворов, приготовленных для одного вида вкуса, и только один образец «С», соответ-

ствующий по интенсивности того же вкуса любому из представленных в паре тестовых растворов – раствору «А» или раствору «Б». Задачей студента в этом случае является определение в каждой паре образца, идентичного образцу «С».

В методе треугольника тестируемый получает 5–6 троек растворов, в каждой из которых он должен выявить два одинаковых раствора и один образец с более высокой или более низкой концентрацией вкусового вещества.

Достоверность полученных результатов рассчитывается по формуле:

$$Д = (Ч_{\text{верных ответов}} : Ч_{\text{образцов}}) \cdot 100 \% .$$

Повторная оценка растворов допускается не ранее, чем через 30 мин.

Задание 3. Проверка сенсорной чувствительности вкуса студентов как кандидатов в дегустаторы

При выполнении задания студентам необходимо придерживаться следующих правил:

- тестируемый анализирует каждый опытный раствор на вкус с интервалом времени 20–30 с;
- для оценки в рот набирается по 10–15 мл тестового раствора, чтобы оросить всю ротовую полость;
- образцы и дистиллированная вода для удаления остатков пробы из ротовой полости должны быть одинаковой температуры (20 ± 2 °С), эта температура должна поддерживаться в течение всего времени испытаний.

Для идентификации вкусов тестируемому студенту выдают свежеприготовленные «эталонные» растворы заданной концентрации:

- сладкий – 10 % раствор сахарозы;
- солёный – 0,4 % раствор пищевой соли;
- кислый – 0,4 % раствор лимонной кислоты или 0,05 % раствор винной кислоты;
- горький – 0,2 % раствор кофеина или 0,5 % раствор сульфата магния.

Студент набирает в рот тестовый раствор, объем глотка должен составлять 10–15 мл. После каждой пробы студент идентифицирует вид вкуса и оформляет свой ответ в форме анкеты (см. таблицу 12), используя символику отображения разницы интенсивности вкуса по ГОСТ ISO 3972–2014 (xx, xxx, xxxx и т. д.). К ранее опробованным растворам возвращаться не разрешается.

Задание 4. Оценка объема терминологического словаря в области вкусового восприятия продуктов

Ознакомьтесь с ГОСТ ISO 5492–2014 [1] в части терминологии, используемой для характеристики вкуса пищевого сырья и продуктов. Запишите термины, характеризующие вкус пищевых продуктов из предложенного преподавателем перечня, оформив их в тетради по примеру таблицы 9.

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите приемные органы (и их участки) восприятия вкуса.
2. Охарактеризовать импульс при восприятии вкуса (природа импульса, способ его выражения).

3. Объясните механизм (общую схему) преобразования импульса в ощущения при оценке вкуса. Какой участок коры головного мозга отвечает за восприятие вкуса?

4. По какому принципу классифицируют рецепторы, отвечающие за восприятие вкуса?

5. Где в организме человека находятся хеморецепторные клетки, отвечающие за восприятие вкуса?

6. Поясните (с рисунком) принцип работы вкусовой почки.

7. Что понимают под «картой языка»? Какие зоны вкусовой чувствительности при этом выделяют?

8. Что называют сенсорной усталостью и сенсорной адаптацией?

9. Какие аномалии возможны при восприятии вкуса объектов?

10. Назовите факторы, влияющие на восприятие вкуса.

11. Что понимают под силой импульса при восприятии вкуса продуктов? Единица импульса вкуса.

12. Что называется порогом распознавания вкуса?

13. Что называется порогом различения (дифференциальным порогом) вкуса?

14. Назовите основные и дополнительные виды вкуса.

15. Какие виды веществ используют в качестве дескрипторов (стандартов) основных видов вкусов?

16. Какие группы (классы) веществ могут быть носителями основных видов вкусов?

17. Какие условия необходимо обеспечить при проведении дегустационных оценок?

18. Какие подходы используют при стандартизированном описании вкуса объектов? Какие термины при этом допускается использовать?

19. В чем заключаются стандартные методики тестирования способности дегустаторов различать вкусы объектов?

20. В чем заключаются стандартные методики тестирования способности дегустаторов воспринимать разницу в концентрации вкусовых веществ?

1.3 Тема № 3 «Тестирование обонятельной чувствительности студентов»

Цель работы: ознакомиться с существующими классификациями запахов, протестировать обонятельную чувствительность студентов, на примере модельных тестовых растворов определить их индивидуальную пороговую чувствительность к основным запахам; усвоить термины, используемые для характеристики запаха продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Запах – это ощущение, обусловленное действием летучих пахучих веществ на рецепторы слизистой оболочки носовой полости.

Аромат – безусловно приятный запах.

Букет – ароматы (приятные запахи), сформировавшийся в процессе технологических операций, в том числе ферментативных процессов, в период выдержки или созревания пищевого продукта. Такой термин используется при описании характерных запахов вин, сыров, специй, чая.

Дескриптор запаха (от лат. *descriptor* – описывающий) – слово, словосочетание или фраза, описывающие и позволяющие однозначно идентифицировать запах; название запаха.

Практическое занятие

Задание 1. Ознакомьтесь с основными классификациями запахов:

- классификация Хендрика Цваардемакера;
- классификация Крокера-Хендерсона;
- классификация Эймура (стереохимическая модель Эймура);
- классификация Хеннинга (призма Хеннинга).

Запишите в тетрадь, какие вещества приняты в действующей НД в качестве стандартов (стандартных веществ) для основных типов запахов, какие вещества относят к ольфактивным и едким.

Задание 2. Найдите и выпишите в тетрадь определения понятий:

- эффект компромисса;
- эффект «маскировки»;
- чередование (борьба) запахов;
- образование качественно нового запаха.

Задание 3. Охарактеризовать основные ароматобразующие вещества органического происхождения, оформив их описание по примеру таблицы 14.

Таблица 14 – Характеристика основных ароматобразующих веществ

Название вещества	Структурная формула	Основные источники вещества; ассоциации	Примечания

Перечень веществ для заполнения таблицы: ванилин, бензальдегид, коричный альдегид, сиреневый альдегид, метиональ, цитраль, α -лимонен, тимол, анетол, гераниол, эвгенол, ментол, метилизоборнеол, камфора, изоамиловый спирт, β -кариофиллен, бензилацетат, этилфенилацетат, мирцен, α -пинен, изомаляновая кислота, каприловая кислота.

Лабораторная работа

Задание 1. Оценка обонятельной чувствительности студентов.

Тестирование обонятельной чувствительности проводят в соответствии с методикой ГОСТ ISO 5496–2014. Органолептический анализ. Методология. Обучение испытателей обнаружению и распознаванию запахов [8].

Кроме общих правил органолептического анализа, приведенных в ГОСТ ISO 5496–2014, студенты перед началом занятий не должны выполнять любые другие сенсорные исследования, связанные с определением запахов, вкусов и пахучих веществ в течение 20–30 минут до начала тестирования. Во избежание сенсорной усталости студента рекомендуется во время лабораторного занятия предоставлять ему не более десяти пахучих веществ.

Тестирование обонятельной чувствительности на лабораторной работе проводится прямыми методами:

- оценкой запахов в стеклянных колбах или другой инертной посуде;
- оценкой запахов с использованием полосок, пропитанных растворами пахучих веществ.

Метод оценки запахов в колбах. Студентам выдаются закодированные стеклянные колбы (или другая инертная посуда), содержащие растворы химически чистых пахучих веществ, рекомендованных ГОСТ ISO 5496–2014 для тестирования обонятельной чувствительности (ванилин, цитраль, эвгенол, тимол, лимонен, ментол и другие). Допускается использование колб с растворами, нанесенными на хлопчатобумажный носитель – вату или лоскут марли.

Растворы для тестирования готовят в строго установленных концентрациях (таблица 15), по 3–4 разведения для каждого вещества.

Колбы подготавливают не менее, чем за 30 минут до начала тестирования, чтобы при температуре лаборатории давление паров растворов пахучих веществ в колбах достигло равновесного.

Задачей тестируемого является распознавание запаха и, по возможности, идентификация ароматобразующего вещества. С этой целью во время испытаний студент должен работать с колбами поочередно, медленно или резко втягивая носом пары образца при закрытой ротовой полости.

Когда тестируемый приходит к определенному решению, он закрывает колбу пробкой и оформляет свой ответ по примеру таблицы 16. После этого можно приступить к определению запаха в следующей колбе.

Таблица 15 – Разведение ароматобразующих веществ (по [8])

Номер разведения	Приготовление разведений* (растворение рабочего и модельного растворов в 1 л дистиллированной воды)	Концентрация вещества, г/л
1	0,1 г рабочего раствора	10^{-5}
2	0,5 г рабочего раствора	$5 \cdot 10^{-5}$
3	1,0 г рабочего раствора	10^{-4}
4	5,0 г рабочего раствора	$5 \cdot 10^{-4}$
5	10,0 г рабочего раствора	10^{-3}
6	50,0 г рабочего раствора	$5 \cdot 10^{-3}$
7	1,0 г модельного раствора	10^{-2}
8	5,0 г модельного раствора	$5 \cdot 10^{-2}$

*Модельный раствор (МР) вещества готовят разведением 0,5 г химически чистого вещества в 50 г этилового спирта.
Рабочий раствор готовят растворением 0,5 г модельного раствора в 50 г этилового спирта.

Таблица 16 – Пример заполнения анкеты при определении запаха

Код сосуда с образцом запаха	Вы почувствовали запах?		Вы распознали запах?		Название запаха, описание запаха или ассоциация	Предполагаемое вещество
	Да	Нет	Да	Нет		
1						
5						
...						
14						

В процессе проведения испытаний разрешается нюхать каждый образец по несколько раз и возвращаться к уже исследованным колбам.

Метод оценки запахов с помощью полосок. На полоски из фильтровальной бумаги, нарезанные размерами 1,2–1,5×15,0 см, карандашом наносят линию «фронта» на расстоянии 1,0 см от одного края.

Одна из полосок быстро погружается в колбу с раствором пахучего вещества (до отметки), либо раствор наносится на полоску пипеткой (1–2 капли). Смоченная полоска выдерживается в течение нескольких секунд вдали от области вдыхания для испарения растворителя. После этого студент может приступить к тестированию путем вдыхания запаха полоски, спокойно размахиваемой вблизи носа; полоска при этом не должна касаться кожи лица. Следует учитывать, что вследствие испарения молекул растворенного вещества через определенный период времени запах может полностью исчезнуть.

Задача студента состоит в том, чтобы назвать или как можно более полно описать запах – систематическое либо тривиальное название ароматобразующего вещества или возникающую при вдыхании запаха ассоциацию (включая

соответствующее описательное выражение). В качестве примера можно использовать данные из таблицы 17.

Возможно проведение этого варианта тестирования ретроназальным способом: полоску с испарившимся растворителем помещают в рот таким образом, чтобы она не касалась слизистой оболочки. После этого студент спокойно дышит через нос: ощущение запаха должно появиться на втором-третьем выдохе через нос.

Таблица 17 – Примеры веществ, используемых для определения и распознавания запахов

Химическое название или аббревиатура	Дескриптор запаха / ассоциация	Номера разведения из таблицы 4	
		Колбы	Полоски
Ванилин	Ванильный	5	МР
Тимол	Острый, свежий, тмин, спаржа	4	МР
Цитраль	Свежесть, лимон	5	МР
Эвгенол	Гвоздика	4	МР
Коричный альдегид	Корица	6	МР
d-Лимонен	Лимон, апельсиновая цедра	6	МР
Бензальдегид	Горький миндаль	6	МР
Масляная кислота	Прогорклое масло, сырнй, кислое молоко	5	МР
2-Метилизобарниол	Заплесневелые продукты	4	МР
Метиональ	Картофельное пюре, жареный лук, жареное мясо	5	МР

Использованные полоски необходимо убрать в закрытый контейнер или пакет, чтобы эти запахи не смешивались с воздухом лаборатории и не стали помехой при проведении последующих оценок.

Задание 2. Оценка объема терминологического словаря в области обонятельного восприятия продуктов

Ознакомьтесь с ГОСТ ISO 5492–2014 [1] в части терминологии, используемой для характеристики запаха пищевого сырья и продуктов. Запишите термины, характеризующие запах пищевых продуктов из предложенного преподавателем перечня, оформив их в тетради по примеру таблицы 9.

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислить приемные органы (и их участки) восприятия запаха.
2. Охарактеризуйте импульс при восприятии запаха (каковы природа импульса и способ его выражения).
3. Объясните механизм (общую схему) преобразования импульса в ощущения при оценке запаха. Какой участок коры головного мозга отвечает за восприятие запаха?

4. Где именно в организме человека находятся хеморецепторные клетки, отвечающие за восприятие запахов?
5. Поясните (с рисунком) принцип работы обонятельного эпителия. При каком типе дыхания мы не понимаем запах объекта?
6. Перечислите основные особенности структур, отвечающих за восприятие запахов.
7. Охарактеризуйте последовательность (этапы) восприятия запахов.
8. Опишите принцип работы обонятельной системы.
9. Какие аномалии и отклонения возможны при восприятии запахов объектов?
10. Назовите факторы, влияющие на восприятие запахов.
11. Классификации запахов. Существующие принципы и подходы к классификации запахов.
12. Примеры веществ, используемых в качестве дескрипторов (стандартов) запахов.
13. Перечислите основные свойства запахообразующих веществ.
14. Что понимают под силой импульса при восприятии запаха продуктов? Единица импульса запаха.
15. Что называется порогом распознавания запаха?
16. Что называется порогом различения (дифференциальным порогом) запаха?
17. Какие группы (классы) веществ могут быть носителями основных видов запахов?
18. Приведите примеры ассоциаций между цветом и запахом.
19. В чем заключаются стандартные методы оценки-тестирования обонятельной чувствительности дегустаторов.
20. Охарактеризуйте эффекты взаимного влияния запахов.

2 МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ И АНАЛИЗА ВКУСО-, АРОМАТОБРАЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ И ПИГМЕНТОВ

2.1 Тема № 4 «Пигменты. Хлорофиллы и каротиноиды. Определение цвета томатопродуктов»

Цель: ознакомиться с классификацией и свойствами растительных пигментов групп «хлорофиллы» и «каротиноиды». Научиться работать на фотоколориметре и определять количественное содержание суммы каротиноидов в пищевом сырье и продуктах растительного происхождения.

Цвет пищевого сырья обусловлен присутствием природных пигментов – органических соединений – продуктов вторичного метаболизма в растительной клетке, имеющих в своём составе хромофорные группы.

К пигментам растительного происхождения относят хлорофиллы, каротиноиды, флавоноиды, антоцианы, бетацианины, антрахиноны и куркумины. Оптические свойства пигментов, включая избирательное поглощение ими световых волн, обусловлены наличием в их молекулах хромофорных групп (сопряженные двойные связи; хиноидные и металл-замещенные группировки; карбонильные ($=C=O$), азо- ($-N=N-$), нитро- ($-NO_2$) и нитрозо- ($-N=O$) группы), избирательно поглощающих волны определенных участков видимой части спектра [9].

Как правило, в составе растительного сырья пигменты находятся в специализированных структурных образованиях клетки, реже – в жидкостях растения в растворённом состоянии: хлорофилл локализован в хлоропластах, каротиноиды входят в состав хромо- и хлоропластов, флавоноиды находятся в клеточном соке. Часть пигментов входит в структуру биологических мембран растений – это пигменты, связанные с белками и липидами. У многих видов растений существуют специализированные пигментные клетки – хроматофоры.

Хлорофиллы (магний-замещенные производные порфирина, феофитины) – это группа пигментов, поглощающих свет в красной и сине-фиолетовой областях спектра и придающих типичную зеленую окраску многим овощам и плодам (салат, зеленый лук, зеленый перец, укроп и т. д.). Роль хлорофиллов в растительной клетке сводится к поглощению световой энергии и её преобразованию в химическую.

В природе хлорофилл существует в нескольких формах: хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, хлорофилл *c*, хлорофилл *d* и хлорофилл *e*. Наиболее распространенная форма – хлорофилл *a*, состоящий из порфиринового кольца с центральным ионом магния и присоединённым к кольцу углеводородным «хвостом» – фитолом. Эта разновидность хлорофилла способна флуоресцировать в процессе фотосинтеза (свойство широко используется учеными с целью изучения светозависимых реакций растений). Порфириновое кольцо отвечает за поглощение световой энергии и состоит из четырёх азотсодержащих групп, называемых пирролами, фитоловый «хвост» состоит из изопреноидных звеньев. Ион магния выступает в качестве акцептора электронов.

Хлорофилл *a* наиболее эффективно поглощает свет в красной и синей областях спектра, с пиками поглощения на длинах волн около 430 и 662 нм соответственно. Несмотря на то, что все хлорофиллы выполняют функцию светособирающих пигментов, только хлорофилл *a*, в зависимости от белковой среды, в которой он находится, функционирует либо как светособирающий пигмент, либо как окислительно-восстановительный элемент, участвующий в захвате электронного возбуждения (первичном разделении зарядов) и переносе электронов в реакционных центрах фотосистем живых клеток.

Хлорофиллы, суммарно извлекаемый из растительного сырья, состоит из смеси преимущественно сине-зеленого «хлорофилла *a*» и желто-зеленого «хлорофилла *b*» в соотношении примерно 3:1 (рисунок 4).

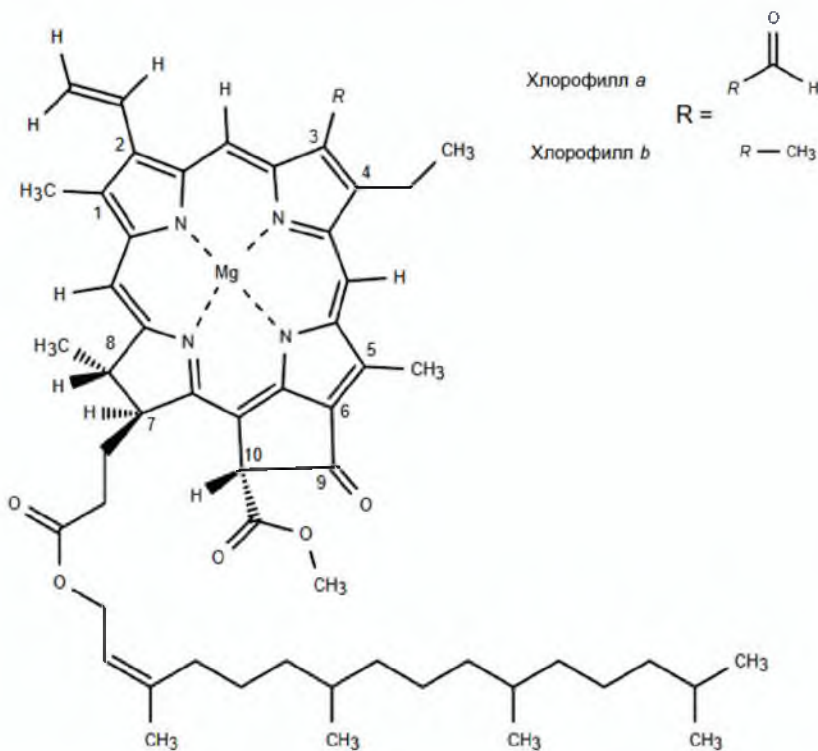


Рисунок 4 – Структура молекул хлорофилла *a* и хлорофилла *b*

Хлорофилл *b*, несколько отличающийся от хлорофилла *a* строением порфиринового кольца, также участвует в фотосинтезе, но его основная функция в растении – защищать хлорофилл *a* от избытка света. Специфика строения хлорофилла *b* определяет поглощение света в сине-зеленой области спектра с пиком поглощения около 453 нм.

Остальные формы хлорофиллов встречаются в растительном срье значительно реже (например, в водорослях) и их спектры поглощения смещены: хлорофилл с поглощает свет в сине-зелёной области спектра, хлорофилл d – в красной, хлорофилл e – в дальнем красном диапазоне спектра.

Кроме хлорофиллов, в природе существуют подобные им соединения – хлорофиллиды – пигменты, отличающиеся от хлорофилла расположением атомов. В их состав входит другой центральный атом, например цинк, железо или медь, поэтому и у них другие спектры поглощения. Хлорофиллиды есть у некоторых прокариотов (например, у цианобактерий) и они играют в фотосинтезе такую же роль, как и хлорофилл.

Кроме молекул чистых хлорофиллов и хлорофиллоподобных пигментов, в живых организмах встречаются их белковые комплексы – фикобилипротеины (фикоэритрин и фикоцианин цианобактерий и красных водорослей). Это водорастворимые пигменты, состоящие из белкового и пигментного компонентов. Они поглощают свет в других областях спектра, передают энергию хлорофиллу и играют важную роль в фотосинтезе тех организмов, в которых встречаются.

За последнее десятилетие опубликован много исследовательских работ, подтверждающих наличие у хлорофиллов антиоксидантного, антимутагенного, антигенотоксического, противоракового и антитуморогенного действия.

При деградации (например, в процессе тепловой обработки растительного сырья в кислой среде) хлорофилл распадается на феофитин – форму хлорофилла, в которой отсутствует ион магния, и феофорбид – форму хлорофилла, в которой отсутствует фитол.

В сырых продуктах хлорофилл нередко защищен белком (комплекс) и отделен от органических кислот и их солей, содержащихся в вакуолях, тонопластом. При нарушении целостности клеток паренхимной ткани в местах повреждения овощей появляются бурые пятна. При тепловой кулинарной обработке овощей и плодов белок, связанный с хлорофиллом, в результате денатурации отщепляется, мембраны пластид и тонопласт разрушаются, и органические кислоты вступают в реакцию с хлорофиллом. Именно поэтому при варке овощей, от природы имеющие зеленый цвет, постепенно становятся бурыми.

Степень изменения зеленой окраски овощей и плодов зависит от продолжительности тепловой обработки и концентрации органических кислот в продукте и варочной среде. Чем дольше варятся зеленые овощи и плоды, тем больше образуется феофитина и тем заметнее их побурение. Цвет овощей, переработанных в присутствии пищевых органических кислот, изменяется наиболее значительно (например, при мариновании огурцов).

Каротиноидами называют углеводороды изопреноидного ряда – каротины – и их кислородсодержащие производные – ксантофиллы. Отличительной особенностью всех каротиноидов является углеродный скелет, имеющий 40 атомов углерода и большое количество сопряженных двойных связей. Число этих связей определяет окраску каротиноидов – от бесцветной до желто-оранжевой, оранжево-красной или фиолетовой – и поглощение световых волн в

зеленой и сине-фиолетовой и ультрафиолетовой области спектра, в интервале от 280 до 550 нм.

Ежегодно в природе продуцируется около 100 млн. т. каротиноидов. Наибольшие количества – в форме фукоксантина в океанических водорослях, и в виде лутеина, виолоксантина и неоксантина – в зеленых листьях растений. Чем больше в структуре молекулы каротиноидов сопряженных связей, тем больше длина поглощаемых световых волн и интенсивнее окраска. Каротиноиды с 3–5 сопряженными двойными связями – бесцветные, поглощают свет только в УФ-области. ζ -каротин (предшественник ликопина), имеющий 7 сопряженных двойных связей, окрашен в желтый цвет, ликопин (11 сопряженных связей) – в оранжево-красный цвет [10].

Окраска многих каротиноидов является стабильной в достаточно широком диапазоне pH и температуры, что определяет возможность использования многих из них в качестве пищевых красителей в производстве жировых и эмульсионных продуктов (таблица 18).

Таблица 18 – Пищевые красители на основе каротиноидов

Наименование	Источник	Код
E160(ii) – экстракты натуральных каротиноидов		
<i>β-каротин</i>	облепиха, морковь, плоды шиповника,	E160a(i)
<i>аннато</i>	водный экстракт корней <i>Bixa orellana L.</i>	E160b
<i>ликопин</i>	томаты, биомасса гриба <i>Blakeslea trispora</i>	E160d
<i>маслосмолы наприки</i>	экстракты красного перца <i>Capsicum annuum L.</i>	E160c
<i>β-апокаротиновый альдегид</i>	синтетически	E160e
<i>эфир β-апо-8'-каротиновой кислоты</i>	синтетически	E160f
<i>флавоксантин</i>	–	E161a
<i>лутеин</i>	экстракт шафрана	E161b
<i>криптоксантин</i>	–	E161c
<i>рубиксантин</i>	–	E161d
<i>виолоксантин</i>	цветки календулы	E161e
<i>родоксантин</i>	–	E161f
<i>кантаксантин</i>	–	E161g

В молекуле многих каротиноидов на одном или обоих концах углеродного скелета есть циклические остатки (рисунки 5, 6). Изменение в их структуре при постоянстве числа углеродных атомов приводит к появлению разнообразных каротиноидов: например, при циклизации безкислородного каротина с двух сторон образуются α -каротин, β -каротин, ϵ -каротин (рисунок 5).

В отличие от *каротинов*, соответствующих эмпирической формуле $C_{40}H_{56}$, для структуры *ксантофиллов* ($C_{40}H_{56}O_2$) обязательно наличие кислоро-

комплексов-глобул, и выполняют в растении три основные биологические функции: светособирающую, фотозащитную и структурную [11].

В чистом виде каротиноиды устойчивы к изменению pH среды, к веществам, обладающим восстановительными свойствами, но при нагревании (выше 100°C) и под действием солнечного света легко окисляются. При простой тепловой обработке, в отличие от хлорофиллов, каротиноиды практически не разрушаются, количественный анализ может показать даже более высокое их содержание – например, в отваренной моркови по сравнению со свежими корнеплодами. Такое увеличение их содержания обусловлено происходящим в ходе тепловой обработки разрушением белково-каротиноидных комплексов и высвобождением каротиноидов.

К экспресс-методам выделения каротиноидов из смеси растительных пигментов, определения индивидуальных каротиноидов и полуколичественной оценки их соотношения в смеси относится ТСХ (см. с. 104–105 [12]). Для целей идентификации каротиноидов применяются спектральные методы анализа, при этом учитываются положения максимумов поглощения света (таблица 19), значения которых могут смещаться и зависят от длины полиенового фрагмента, числа концевых циклов, природы растворителя и некоторых других факторов.

Таблица 19 – Максимумы поглощения некоторых каротиноидов в 96 % этаноле [11, 13]

Каротиноид	λ_{\max} , нм		
Ликопин	446	472	503
α -каротин	423	444	473
β -каротин	425	450	478
γ -каротин	440	460	489
ζ -каротин	377	399	425
Виолаксантин	417	441	471
Антераксантин	422	446	474
Зеаксантин	424	451	479
Лютеин	422	446	475

Растворы каротиноидов в органических растворителях при спектрофотометрических исследованиях дают характеристические полосы поглощения в основном в видимой области спектра, а стереоизомеры показывают их также и в ультрафиолетовой области. Это один из наиболее точных показателей, используемых при идентификации этих веществ.

Для отдельных каротиноидов характерны некоторые специфические реакции, в том числе цветные. Характерной является также особенность каротиноидов избирательно абсорбироваться на минеральных и некоторых органических абсорбентах, что позволяет разделять их при помощи методов хроматографирования.

Не исключается также, что за максимумы поглощения вытяжки каротиноидов из растительного сырья может отвечать не один определенный каротиноид, а их сумма [13].

Стандартизованными методами количественного определения суммы каротиноидов и отдельных их представителей считаются методы ВЭЖХ и фотоколориметрии, при этом в практике оценки качества продуктов из растительного сырья более часто применяется метод фотоколориметрии [14–16].

Для окраски пищевых продуктов (маргарина, сливочного масла, майонеза, рыбных изделий, искусственной икры и некоторых других продуктов) применяют каротиноиды, выделенные из моркови (α -, β -, γ -каротины), плодов шиповника, цедры апельсинов, перца, шафрана (бархатцев), а также продукты, полученные микробиологическим или синтетическим путем.

Практическое занятие

Задание 1. Ознакомьтесь с принятым подразделением каротиноидов на каротины и ксантофиллы и запишите в свою тетрадь отличительные признаки структуры этих подклассов соединений. Запишите в тетрадь определение и отличительные признаки пигментов группы «хлорофиллы».

Задание 2. Ознакомьтесь с наиболее важными в производственной практике технолога свойствами представителей каротиноидов и хлорофиллов. Используя данные справочной литературы, заполните в тетради таблицу по примеру таблицы 20.

Таблица 20 – Основные свойства каротиноидов и хлорофиллов

Класс	Стабильность окраски			Растворимость (растворители)
	цвет	pH	температура	
Каротины				
Ксантофиллы				
Хлорофиллы				

Лабораторная работа

Метод фотоколориметрии основан на измерении оптической плотности водно-спиртовой вытяжки из каротин-содержащих продуктов переработки растительного сырья, на лабораторном фотоколориметре модели КФК-2 или КФК-3 (рисунок 7), предварительно градуированном по стандартизированной йодной шкале [16].



Рисунок 7 – Фотоколориметр лабораторный КФК-3

Задание 1. Ознакомиться с действующими НД, регламентирующими нормативное содержание каротиноидов в продуктах переработки растительного сырья и методики выполнения испытаний с использованием оптических методов исследований:

1) содержание ГОСТ 8756.8–85 [16] – методика фотоколориметрического определения цвета томатопродуктов, обусловленного каротиноидами;

2) содержание ГОСТ Р 54678–2011 [17], в части приложения А, требований к показателю «Цвет» концентрированных томатопродуктов (нормы показателя для разных категорий томатопродуктов).

Задание 2. Подготовить растворы йода для градуировки фотоколориметра (по п. 3.3.1–3.3.2 ГОСТ 8756.8–85). Шкалу стандартных растворов готовить в мерных колбах вместимостью 50 или 100 мл.

При работе на фотоколориметре необходимо использовать кюветы с толщиной оптического слоя 5 и 10 мм и синий светофильтр (таблица 21), обеспечивающий максимум пропускания в пределах от 400 до 420 нм. По результатам измерений построить калибровочный график зависимости оптической плотности растворов от концентрации йода, в мг/см³ (рисунок 8).

Задание 3. Подготовить по 2–3 независимые пробы для каждого анализируемого томатопродукта в соответствии с методикой п. 3.4.1 ГОСТ 8756.8-85.

Определить оптическую плотность фильтрата водно-спиртовой вытяжки томатопродуктов с использованием того же светофильтра и кювет на 5 мм или 10 мм, в зависимости от интенсивности окраски растворов. В качестве раствора сравнения во вторую кювету залить водно-спиртовую смесь в соотношении 1:1.

Таблица 21 – Таблица рабочих диапазонов измерений светофильтров фотоколориметров

Цвет светофильтра	Длина волны, нм	Наблюдаемый цвет раствора
Фиолетовый	380–420	Желто-зеленый
Фиолетово-синий	420–440	Желтый
Синий	440–470	
Зеленовато-синий	470–490	Оранжевый
Сине-зеленый	490–500	Красный
Зеленый	500–520	Красно-пурпурный
	520–540	Пурпурный
Желто-зеленый	540–550	Фиолетовый
Желтый	550–560	Фиолетово-синий
Желто-оранжевый	560–595	Синий
Оранжевый	595–605	Голубой, зеленовато-синий
Красный	605–680	Сине-зеленый
Пурпурный	680–760	Зеленый

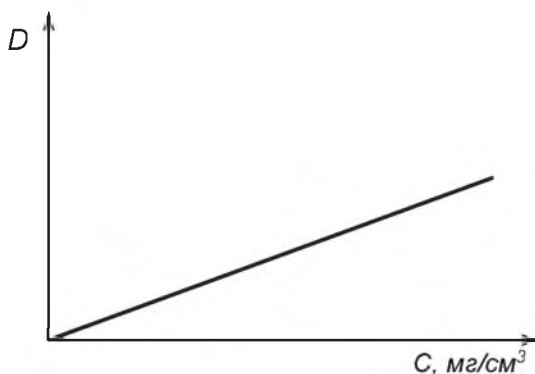


Рисунок 8 – Пример градуировочного графика

Обработать результаты измерений каждого из параллельных проб образцов томатопродуктов по калибровочному графику, выразив значение определяемого показателя в мг/см^3 .

За окончательный результат для каждого образца из перечня исследуемых томатопродуктов следует принимать среднее арифметическое значение, полученное расчетным путем по данным 2–3 параллельных определений.

Сопоставить результаты измерений с требованиями ГОСТ Р 54678–2011. Записать в тетрадь вывод-заключение о соответствии содержания суммы каротиноидов в анализируемых томатопродуктах установленным нормам.

Вопросы для самоконтроля:

1. Группы (классы) пигментов растительного происхождения.
2. Локализация пигментов в составе растительного сырья (органойды клетки и органы растения).
3. Растительное сырье (примеры) для получения промышленных красителей.
4. Что такое «хромофорные группировки»? Привести примеры хромофорных группировок.
5. Хлорофиллы: понятие, виды хлорофиллов. Примеры хлорофилл-содержащего сырья.
6. С какими хромофорными группировками связан цвет хлорофиллов?
7. Химические и технологические свойства хлорофиллов.
8. Каротины: понятие, примеры каротинов и каротин-содержащего сырья.
9. С чем связаны цветовой тон и интенсивность цвета каротинов?
10. Ксантофиллы: понятие, примеры ксантофиллов и ксантофилл-содержащего сырья.
11. С чем связаны цветовой тон и интенсивность цвета ксантофиллов?
12. (Экспресс-)методы качественного определения хлорофиллов и каротиноидов.

13. Стандартные методы количественного определения каротиноидов.
14. Вещества, используемые с целью лабораторной имитации каротиноидов. Стабильность этих веществ.
15. Химические и технологические свойства каротиноидов.
16. Методика определения цвета томатопродуктов.
17. Какие каротиноиды могут считаться провитамином А?
18. Функции каротиноидов и хлорофиллов в растении.
19. Функции каротиноидов и хлорофиллов в организме (питании) человека.
20. Стабильность каротиноидов в условиях воздействия излучений.

2.2 Тема № 5 «Анализ беталаинов свеклы»

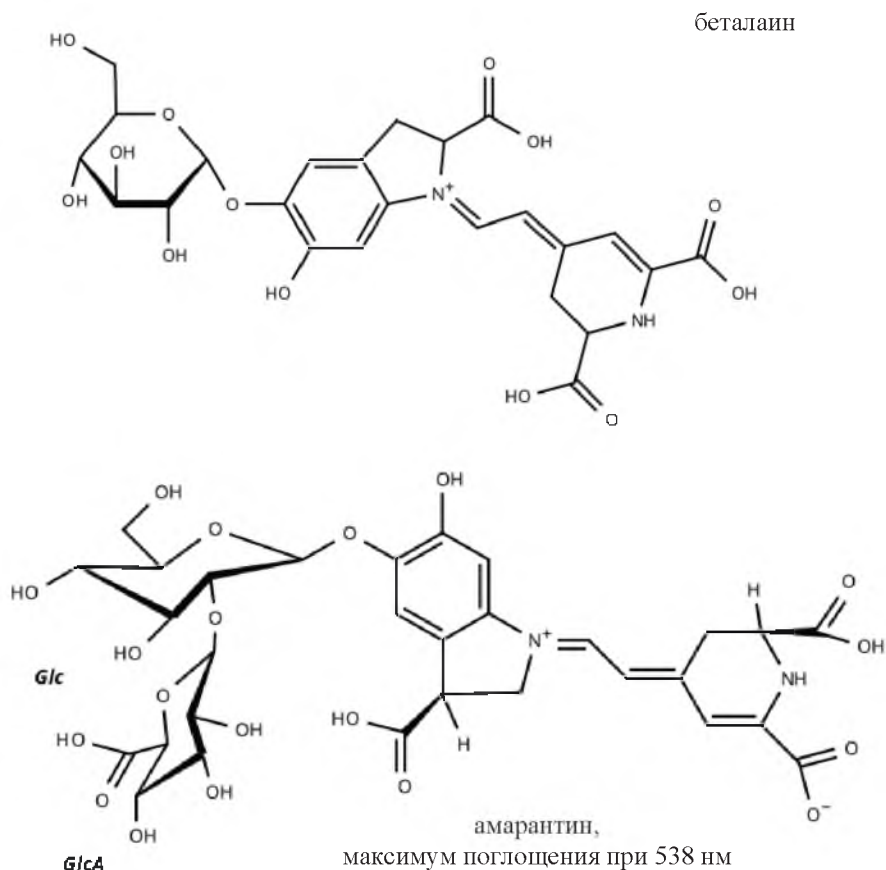
Цель: установить влияние влаготепловой обработки на сохранность пигментов столовой свеклы.

Беталаины – это водорастворимые гетероциклические пигменты, встречающиеся в клеточных вакуолях цветов, плодов и листьев синтезирующих их растений, преимущественно в покровных и подпокровных тканях [26].

Беталаины в значительном количестве накапливаются в корнеплодах и черешках листьев столовой свеклы (*Beta vulgaris*), в растительной массе амаранта (*Amaranthus tricolor*), плодах кактусов родов *Opuntia*, *Hylocereus* и *Shlumbergera*, и некоторых других растениях.

В составе клеточного сока столовой свеклы беталаины встречаются в двух формах:

- бетацианины – красно-фиолетового цвета,
- бетаксантины – желтые.



На сегодня известно не менее 40 представителей бетацианинов, центральная часть общей структуры молекулы которых содержит два N-гетероцикла – дигидроиндольный и дигидропиридиновый, связанные друг с другом через sp^2 -гибридизованные атомы углерода. Природная форма бетацианинов растительного сырья чаще всего представлена гликозидами, при этом моно- или дисахарид присоединён к ОН-группе дигидроиндольного кольца в положении С5 или С6.

В корнеплодах свеклы преобладающим классом пигментов являются бетацианины – их от 75% до 95% общего содержания беталаинов (в вызревших корнеплодах на уровне 100–260 мг/100 г). Основным бетацианином свеклы является бетанин, имеющий эмпирическую формулу $C_{25}H_{28-30}O_{13}N_2$ и представляющий собой моногликозид, агликоном которого является бетанидин или изобетанидин. Кроме бетанина, в небольшом количестве в соке свеклы содержатся его производные – изобетанин и пребетанин.

Бетаксантины свеклы представлены вульгаксантином I (до 95% от общего содержания желтых пигментов, и вульгаксантином II. Именно соотношением бетацианинов и бетаксантинов обусловлены различия в оттенках окраски корнеплодов свеклы разных сортов.

Максимумы спектров поглощения бетанина и его производных находятся в диапазоне 530...545 нм, бетаксантинов – на 480 нм.

Суммарное содержание красящих веществ в корнеплодах столовой свеклы зависит, прежде всего, от сортовых особенностей, а также от зрелости корнеплодов, их размеров, условий и длительности хранения. По мере роста корнеплодов общее содержание беталаиновых пигментов возрастает, но их качественный состав не меняется. Наблюдается увеличение содержания всех пигментов, несколько замедленное для бетанина – по сравнению с бетаксантином. Содержание пигментов выше в корнеплодах, которые растут медленнее. Чем крупнее корнеплод, тем меньше в нем содержание пигментов.

При длительном хранении корнеплодов свеклы содержание в них беталаиновых пигментов значительно уменьшается (до 1,4 раза от исходного). Вместе с тем, беталаины считаются более устойчивыми, например, по сравнению с антоцианами.

К технологическим факторам, влияющим на сохранность структуры и окраски бетанина и его производных, относятся исходная концентрация пигментов, температура нагревания, рН среды, контакт с кислородом воздуха, присутствие в пищевой массе ионов металлов и некоторые другие. В частности, интенсивность окраски свежего свекольного сока, выдержанного в течение 1 ч при температуре 50°C, уменьшается на 41 %, при 60°C – на 48 %, а при 70°C – на 69 % по сравнению с исходной интенсивностью окраски сока. В кислой среде сок сохраняет окраску длительное время, по мере роста величины рН красный цвет бледнеет, а при рН более 10,5 сок становится желтым.

Тепловая обработка свеклы вызывает изменения, в основном, в структуре бетанина: под действием воды и нагревания бетанин гидролизуеться по месту двойной связи у 11-го углеродного атома с образованием циклодиоксифенил-

аланина и бетааминовой кислоты. Термической гидратации подвергается более половины содержащегося в корнеплодах бетанина. В результате красно-фиолетовая окраска становится менее интенсивной или переходит в буроватую. Последующее охлаждение может привести к частичному возвращению природной окраски по причине восстановления исходной структуры бетанина.

Чем выше температура нагревания, тем быстрее разрушается пигмент. Чем выше исходная концентрация бетанина, тем лучше он сохраняется. При варке очищенных корнеплодов в отвар переходит больше бетанина, чем при варке в кожце, препятствующей диффузии пигмента. Наименьшее разрушение бетанина происходит при pH 5,8 (при изменении pH в меньшую или большую сторону разрушение более значительно). Подкисление продукта со свежколы пищевыми органическими кислотами (лимонной, уксусной) не исключает разрушения бетанина, но в этих условиях он приобретает более яркую окраску (в очень кислых средах, при pH меньше 2, агликон бетанидина он имеет фиолетовую окраску, а в растворах с более высокими значениями pH – красную).

Аэрация свекольного сока приводит к разрушению всех беталаинов и снижению интенсивности цвета на 20%. Свет также оказывает разрушающее воздействие на беталаины.

Отходы и потери бетанина и его производных при выработке свекольного сока с добавлением сахара без мякоти составляют 48 %, а с мякотью – 30 %. Для утилизации отходов разработана технология получения натуральных пищевых красителей – свекольного розового E162.

Лабораторная работа

Метод основан на измерении оптической плотности пигментов, извлеченных из корнеплодов свежколы путем экстракции, и последующем анализе – сравнении полученных значений с оптической плотностью стандартного раствора (1 % водный раствор) сернокислого кобальта.

Задание 1. Свежие корнеплоды свежколы очистить от сорных примесей и отмыть от земли, обсушить, очистить от кожцы, разрезать по вдоль. Одну из половинок корнеплода натереть на терке, тщательно перемешать продукт измельчения.

Задание 2. Вторую половинку корнеплода свежколы отварить в течение 20 минут в кипящей воде, охладить, натереть на терке, тщательно перемешать продукт измельчения.

Задание 3. В два стеклянных химически стойких стакана взвесить по одной навеске ($1 \pm 0,05$ г) натертой свежколы и отваренной свежколы. Из стаканов навески перенести в мерные колбы на 250 мл. Стаканчики ополоснуть небольшим количеством дистиллированной воды, слить воду в соответствующие мерные колбы.

Задание 4. В каждую мерную колбу прилить по 10 мл концентрированной соляной кислоты, довести объем содержимого колб до риски дистиллированной водой. Содержимое каждой колбы (экстракт) тщательно перемешать.

Отфильтровать полученные экстракты свежей и вареной свеклы через бумажные складчатые фильтры.

Задание 5. Измерить на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре оптическую плотность стандартного водного раствора (1%) сульфата кобальта и полученных экстрактов, используя кюветы с длиной оптического пути 10 мм, при длинах волн 480 нм (для бетаксантина) и 535-545 нм (для бетанина). Записать результаты измерений в тетрадь.

Концентрацию бетанина и бетаксантина рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,022 D_1}{4m D_2} \cdot 100,$$

где X – содержание бетанина (бетаксантина), г/100 г;

0,022 – масса красящих веществ, которые по окраске соответствуют 1 дм³ стандартного раствора, г;

D₁ – оптическая плотность исследуемого раствора, отн. ед.;

D₂ – оптическая плотность стандартного раствора, отн. ед.;

m – масса навески натертого корнеплода свеклы, г.

За окончательный результат для свежей и отваренной свеклы следует принимать среднее арифметическое значение, полученное расчетным путем по данным 2–3 параллельных определений.

Записать в тетрадь вывод-заключение о влиянии отваривания на содержания бетанина и бетаксантина в исследуемых образцах корнеплодов свеклы.

Вопросы для самоконтроля:

1. Охарактеризуйте особенности структуры беталаиновых пигментов.
2. Приведите примеры растительного сырья, богатого беталаинами.
3. С какими хромофорными группировками связан цвет бетанинов, бетаксантинов и их производных?
4. Охарактеризуйте химические и технологические свойства бетанинов и бетаксантинов.
5. Какие факторы могут оказать влияние на цветовой тон и интенсивность цвета бетанинов и бетаксантинов?
6. Экспресс-методы качественного определения бетанинов и бетаксантинов.
7. Вещества, используемые с целью лабораторной имитации бетанинов и бетаксантинов. Стабильность этих веществ.
8. Предполагаемые функции беталаинов в организме (питании) человека.
9. Стабильность беталаинов в условиях воздействия излучений, pH среды и термической обработки.
10. Методы количественного анализа бетанинов, бетаксантинов и их производных.

2.3 Тема № 6 «Определение полифенольных соединений в оценке подлинности напитков из растительного сырья»

Цель: ознакомиться с классификацией и свойствами растительных пигментов групп «флавоноиды» и «антоцианы». Научиться использовать качественные реакции на полифенолы для оценки подлинности напитков на растительной основе.

Многие безалкогольные напитки из плодово-ягодного сырья, некоторые другие напитки на растительной основе (вина, бальзамы, горькие настойки и другие) содержат характерные вещества фенольной природы – флавоноиды, антоцианы и дубильные вещества, присутствие которых в напитках выявляется по специфичным качественным реакциям, заложенным в основу НТД и ФСП.

Флавоноиды – производные бензо- γ -пирона (хромона), имеющие $C_6-C_3-C_6$ молекулярную группировку углеродного скелета. В настоящее время насчитывается более 8000 представителей этой группы пигментов, подразделяемых с учетом природы радикалов в ароматической части молекулы (кольцах А и В) и структуры пропанового фрагмента на 14 классов (таблица 21).

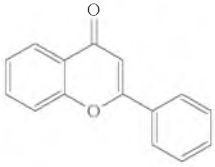
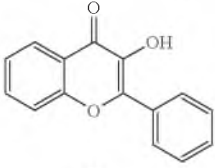
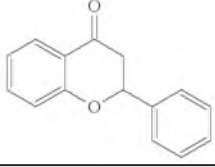
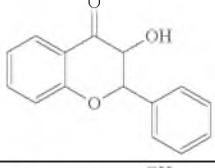
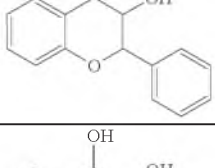
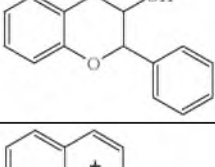
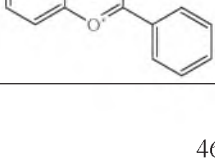
В чистом виде большинство флавоноидов представляют собой кристаллические вещества горького вкуса. Гликозиды флавоноидов растворимы в воде, этаноле, метаноле, бутаноле и растворах щелочей; их агликаны в воде растворяются плохо, но растворимы в ацетоне, этилацетате, хлороформе и других гидрофобных растворителях. Присутствие в структуре молекулы фенольных гидроксильных групп определяет кислые свойства флавоноидов, легкость окисления и способность образовывать феноляты в щелочной среде.

Флавоноидные гликозиды оптически активны и способны избирательно поглощать свет в УФ-области спектра в диапразоне 250–280 нм, что обусловлено наличием бензольных колец в молекуле. Одна из характерных особенностей флавоноидных гликозидов – способность к гидролизу; условия и скорость гидролиза специфичны для разных групп гликозидов: флавонол-3-гликозиды гидролизуются при нагреве в присутствии разбавленных (0,2–1 %) минеральных кислот, флавонол-7-гликозиды гидролизуются при нагреве в более жестких условиях (в 5–7 % растворах минеральных кислот), а флавоноидные С-гликозиды гидролизуются только в смеси концентрированных соляной и уксусной кислот (смесь *Килиани*).

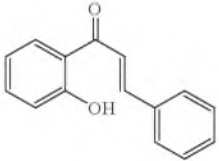
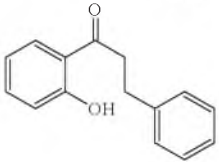
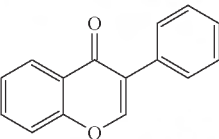
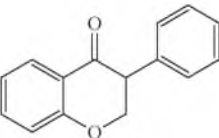
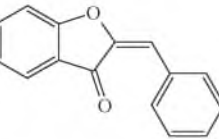
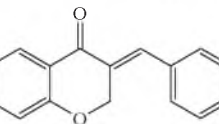
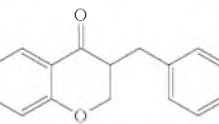
Окраска флавоноидов меняется в зависимости от структуры соединений и рН среды: флаваноны и изофлавоны – бесцветные, флавоны и флавонолы окрашены в желтый цвет, халконы и ауроны – в цвета от ярко-желтого до красно-оранжевого (более подробно – см. с. 34–40 [12], с. 60–69 [18] и §3.7 [19]). Чем ниже рН, тем стабильней структура флавоноидов и лучше сохраняется окраска. Минимальные изменения окраски наблюдается при рН 2.

Изменение окраски соков, в составе которых находятся значительные количества флавоноидов, может быть вызвано присутствием в них ионов некоторых металлов, поступающих из водопроводной воды при промывании сырья.

Таблица 21 – Классификация флавоноидных соединений по структуре пропанового фрагмента [19, §3.7]

Класс	Структура пропанового фрагмента	Основные представители	
		название	расположение оксигрупп в кольцах А и В
1	2	3	4
Флавоны		Апигенин Лютеолин	5, 7, 4'
Флаван-3-ол		Кемпферол Кверцетин Мирицетин	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4' 5, 7, 3', 4', 5'
Флаваноны (дигидрофлавоны)		Нарингенин Бутин Эриодиктоил	5, 7, 4' 7, 3', 4' 5, 7, 3', 4'
Флаванон-3-ол (флаванолы)		Фусцин Дигидрокемпферол Таксифолин	7, 3', 4' 5, 7, 4' 5, 7, 3', 4'
Флаван-3-ол (катехины)		Катехин Галлокатехин	5, 7, 3', 4' 5, 7, 3', 4', 5'
Флаван-3, 4-диол (лейкоцианидины)		Лейкоцианидин Лейкодельфинидин	5, 7, 3', 4' 5, 7, 3', 4'
Антоцианидины		Пеларгонидин Цианидин Дельфинидин	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4', 5' 5, 7, 3'

Продолжение таблицы 21

1	2	3	4
Халконы		Бутеин Изоликвиритигенин	4, 2, 4
Дигидрохалконы		Флоретин Гидрокси-флоретин	4, 2', 4', 6' 3, 4, 2', 4', 6'
Изофлавоны		Генистеин Оробол	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4'
Изофлаваноны		Подмаксетеин	5, 4'-диокси-7-метокси
Ауроны		Сульфуретин Ауреузидин	6, 3', 4' 4, 6, 3', 4'
Гомоизофлаваноны		Пунктатин	5, 7, 4'
3, 9-Дигидрогомозифлаваноны		Дигидро-пунктатин	5, 7, 4'

При варке ягод и плодов окраска их заметно меняется. При нагревании до 50°C активизируются окислительные ферменты, вызывающие разрушение флавоноидов. Дальнейшее повышение температуры приводит к термической деградации последних. Стабилизация окраски ягод и плодов происходит при 70°C, когда ферменты инактивированы, а термическая деградация флавоноидов еще не началась.

Антоцианы (от греч. синий, лазоревый; пищевые красители E 163i), в зависимости от pH среды, имеют окраску от красного до синего цвета. Это растительные моно- и дигликозиды, содержащие в качестве агликона антоцианидины – замещенные 2-фенилхромены. При гидролизе антоцианы расщепляются на углеводы (галактоза, глюкоза, рамноза и другие) и агликоны-антоцианидины (пеларгонидин, цианидин, дельфинидин и другие).

Цвет антоцианов взаимосвязан с положением и количеством гидроксильных групп. Если у 3-го и 5-го углеродных атомов находится гидроксильная группа (OH^-), то окраска растительного сырья будет фиолетовой. Если у 3-го и 5-го углеродных атомов находится ион водорода (H^+), то окраска – оранжевая (рисунок 9). Если у 3-го атома находится гидроксильная группа (OH^-), а у 5-го – ион водорода (H^+), то окраска красная. Если у 3-го углеродного атома гидроксильная группа (OH^-), а у 5-го – метильная группа ($-\text{OCH}_3$), то окраска будет сине-голубой. При наличии метильной группы у 3-го и 5-го углеродных атомов для растения будет естественной синяя окраска. Если у 3-го углеродного атома находится метильная группа, а у 5-го – ион водорода, то окраска становится красно-оранжевой.



цианидин



пеларгонии



дельфинидин

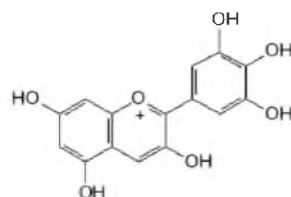
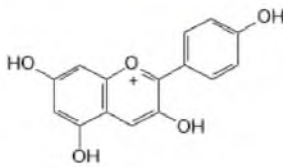
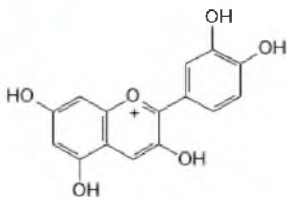


Рисунок 9 – Взаимосвязь окраски антоцианов с положением и количеством гидроксильных групп

Кроме положения функционально значимых групп и атомов, окраска антоцианов зависит от pH среды: при $\text{pH} < 7$ – красная, при $\text{pH} > 7$ – синяя, если $\text{pH} = 7$ – фиолетовая.

Окраска антоцианов меняется в результате взаимодействия с металлами, а также при окислении агликонов. Взаимодействие антоцианов клюквы с ионами железа дает синюю окраску, а с антоцианами клубники – коричневую.

Добавление пищевых органических кислот по-разному сказывается на насыщенности оттенка антоцианов. Винная и уксусная кислоты углубляют цвет, а лимонная, салициловая и бензойная – ослабляют.

Под действием света и кислорода воздуха антоцианы разрушаются.

При образовании комплексов с металлами окраска антоцианов меняется: соли магния и кальция с антоцианами имеют синий цвет, соли калия дают красно-пурпурное окрашивание. С увеличением числа метильных групп в молекуле окраска антоцианинов смещается к оттенкам красного.

Дубильные вещества – бесцветные.

С целью обнаружения полифенольных соединений в растительном сырье и продуктах его переработки часто применяются бумажная и тонкослойная хроматография (ТСХ) с анализом цвета пятен образующихся комплексов на хроматограммах в УФ-свете:

- пятна флавонов, флавонол-3-гликозидов, флаванонов и халконов в УФ-свете имеют темно-коричневый цвет;
- пятна свободных флавонолов и их 7-гликозидов дают желтую или зеленовато-желтую флюоресценцию;
- пятна антоцианов в видимой области спектра имеют розовый, красный и красно-фиолетовый цвет, в УФ-свете переходят в коричневый и черный цвета;
- пятна халконов и аурунов флюоресцируют желтым и оранжевым;
- катехины и лейкоантоцианидины при просматривании в УФ-свете не проявляются.

С целью проявления пятен комплексов полифенольных соединений на хроматограммах используют такие реактивы, как пары аммиака, 5 % спиртовой раствор хлористого алюминия (таблица 22), растворы щелочей, карбоната натрия, хлорного железа и некоторые другие.

Таблица 22 – Окраска пятен полифенольных соединений на ТСХ

Класс	Окраска пятен в УФ-свете		
	до проявления	с раствором $AlCl_3$	с раствором КОН
Флавонолы	Жёлтая	Ярко-жёлтая	Жёлтая
Флаваноны	Не окрашены	Слабо жёлтая	Жёлто-оранжевая
Флавоны	Коричневая	Жёлтая, жёлто-зелёная	Жёлтая, жёлто-зелёная
Халконы	Оттенки жёлтого	Жёлто-оранжевая	Оранжево-красная
Ауруны	Оттенки красного	Оранжево-красная	Оттенки красного
Катехины	Не окрашены	Не окрашены	Бесцветная с переходом в желтоватую

Кроме хроматографии, присутствие полифенольных соединений в продуктах переработки растительного сырья определяют также путем проведения специфичных качественных реакций. Однако следует помнить, что положительную пробу в тех же качественных реакциях могут давать и другие соединения, типичные для некоторых видов растительного сырья:

- осадок с окраской от сиреневой до темно-фиолетовой дает с солями железа арбутин – гликозид фенольного типа;
- в реакцию с гидроксидом натрия вступают кумарины и окисленные формы антраценпроизводных с образованием желто-окрашенных солей, антр-

агликозиды дают со щелочами вишнево-красные соли, антраценпроизводное ализарин дает с 10 % раствором щелочи фиолетовое окрашивание;

- алкалоид морфин содержит фенольный гидроксил, благодаря которому образует окрашенные феноляты со щелочами и дает синее окрашивание с хлоридом окисного железа;

- с реактивом Килиани синие и сине-зелёные комплексы образуют также дезоксисахара.

Качественные реакции можно проводить в двух вариантах исполнения: в пробирке и на предметном стекле, путем нанесения реактивов на сублимированную или выпаренную на предметном стекле пробу.

При необходимости анализа самого сырья гликозиды фенольных соединений предварительно извлекают из растительного материала дистиллированной водой или водными растворами этилового спирта, после чего извлечения освобождают от сопутствующих полифенолам веществ их осаждением ацетатом свинца. С очищенными растворами проводят качественные реакции.

Количественный анализ полифенольных соединений основан на титриметрических, спектральных и хроматографических методах исследования. Например, в основу спектрального количественного анализа катехинов в продуктах переработки растительного сырья положена реакция взаимодействия полифенолов с ванилином в модификации Вигорова, с калибровкой фотоколориметра по стандартному препарату рутина и последующим определением оптической плотности (интенсивности окрашивания) исследуемых проб. Применяются также методики, основанные на фотоколориметрическом измерении оптической плотности растворов, содержащих окрашенные продукты восстановления полифенольных соединений цинком или магнием в кислой среде или продукты реакций полифенолов с солями металлов (алюминия, циркония, железа, хрома, сурьмы) либо лимонно-борным реактивом.

К стандартным титриметрическим методам относят методики определения дубильных веществ: желатиновый метод титрования водных извлечений дубильных веществ 1 % раствором желатина (метод Якимова и Курницкой), перманганатометрический метод (метод Левенталья в модификации Курсанова) и методику осаждения танинов сульфатом цинка с последующим комплексометрическим титрованием раствором трилона Б в присутствии индикатора кисленолового оранжевого.

Практическое занятие

Задание 1. Используя данные научно-технической и справочной литературы, записать в тетрадь названия и структурные формулы представителей основных классов природных и синтетических веществ, используемых в промышленности в качестве пищевых красителей. Указать отличительные признаки в строении молекул этих веществ и хромофорные группы, обуславливающие их окраску.

Задание 2. Ознакомиться с классификацией полифенольных соединений и наиболее важными в производственной практике технолога свойствами ос-

новых представителей каждого класса полифенольных соединений. Используя данные научно-технической и справочной литературы, заполнить в тетради таблицу по примеру таблицы 23.

Таблица 23 – Основные технологические характеристики полифенольных соединений

Класс	Представитель		Стабильность окраски		
	название	формула	цвет	pH	температура
Флавонолы					
Флаваноны					
Изофлавоны					
Флавоны					
Ауроны					
Антоцианы					
Катехины					

Лабораторная работа

Качественный анализ. Определение флавоноидов и антоцианов

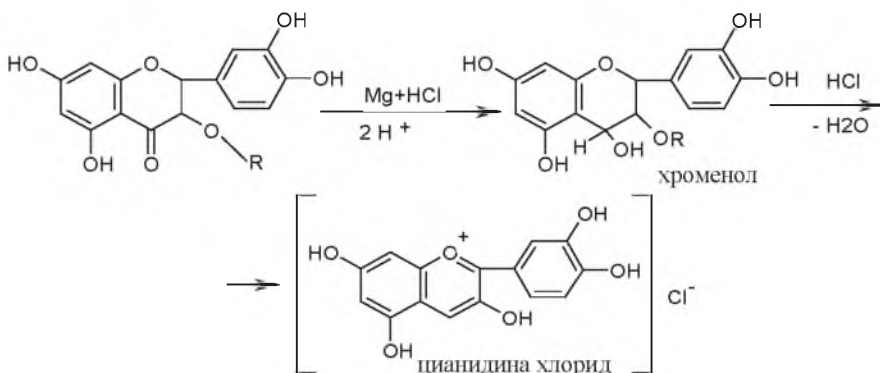
Для интенсивно окрашенных напитков готовят разбавление 1–2:10, для светлоокрашенных – 1:2. В стеклянную мерную колбу или стеклянный химический стакан с мерной градуировкой вместимостью 150–250 мл помещают соответствующий объем напитка и доводят дистиллированной водой до необходимого объема. Для проведения качественных реакций берут пробы по 1–2 мл.

Общей, специфичной для всех классов флавоноидов реакции, нет. Наиболее часто для их обнаружения используют *пробу Шинода*, основанную на восстановлении в кислой среде карбонила γ -пиронового кольца флавоноидов атомарным водородом до антоцианидинов, имеющих ярко-розовую окраску.

1) *Цианидиновая проба* (проба Шинода, Chinoda) идет с образованием антоцианидинов, имеющих в кислой среде цвет от оранжевого до ярко-розового или малиново-красного, в зависимости от числа и положения оксигрупп.

В пробирку к 1–2 мл пробы добавляют 5–6 капель концентрированной соляной кислоты и 20–30 мг порошка магния или цинка (цинковой пыли), нагревают в течение 3–5 минут. При наличии флавонов, флавонолов и флавононов отмечается изменение окраски (переход в оранжевый, ярко-розовый или малиново-красный).

С халконами, аурунами и антоцианами красное окрашивание наступает сразу при добавлении соляной кислоты (в кислой среде они могут образовывать окрашенные оксониевые соли), поэтому необходимо одновременное проведение контрольного опыта. При замене магния на цинк окраска может проявиться иначе, а реакция на флавононы даст отрицательный результат.

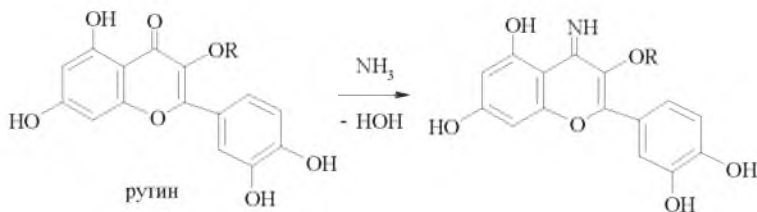


Проба Брианта (модификация цианидиновой реакции) используется для подтверждения агликоновой или гликозидной природы исследуемого вещества. Для этого к окрашенному раствору продукта цианидиновой реакции прибавляют равный объем *n*-октанола или бутанола, встряхивают и анализируют:

- окраска перешла в органический слой – в пробе присутствуют только растворимые в спирте агликоны;
- окрасилась водная фаза – в пробе присутствуют только гликозиды;
- окрасились оба слоя – флавоноиды находятся в пробе как в виде гликозидов, так и в виде агликонов.

2) При добавлении к пробе нескольких капель *10 % раствора щелочи, концентрированного раствора аммиака* флавоны, флаваноны и флавонолы дают желтое окрашивание (переходят в феноляты), при нагревании переходящее в оранжево-красное.

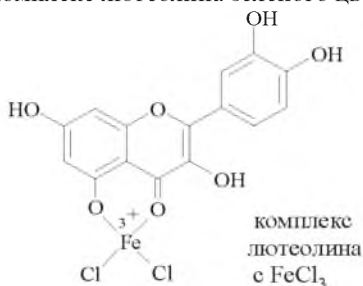
К разбавленной пробе напиток приливают равный объем *10 % раствора NaOH*. Реакцию дублируют с концентрированным раствором аммиака. В основе реакции лежит раскрытие нестойкого дегидро- γ -пиронового кольца в присутствии щелочи, флаваноны при этом переходят в халконы.



Халконы и ауроны в реакциях со щелочами и аммиаком сразу дают желто-оранжевое, оранжево-красное или пурпурное окрашивание. Чистые катехины окрашивания не дают, но присутствие в их составе продуктов окисления сопровождается желтым окрашиванием. Антоцианы и антоцианидины в аммиачной среде дают соли от синего или фиолетового до оливково-зеленого цвета.

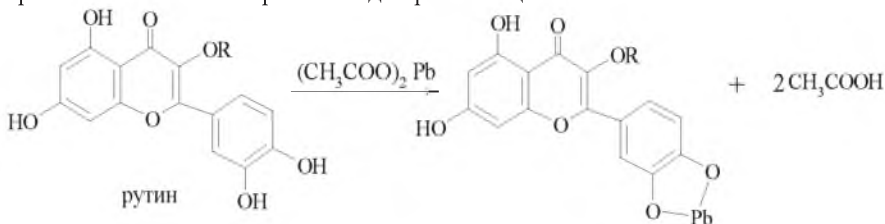
3) С 1 % спиртовым раствором хлорида железа (III) флавоноиды также образуют окрашенные комплексы: от черно-синего (триоксипроизводные флавоноидов) и зеленого (диоксипроизводные флавоноидов и флавонов) до коричневого (с флаванонами, халконами, аурунами) и красновато-бурого цвета (с флавонами). Для проведения реакции к пробе напитка вливают 5–6 капель 1 % спиртового раствора FeCl_3 .

Структура комплексов флавоноидов с металлами являются предметом дискуссий. Один из вероятных комплексов, обладающих минимальной энергией, представлен ниже (комплекс лютеолина зеленого цвета):



4) При проведении реакции с раствором *основного ацетата свинца** в спиртовой среде флавоны, халконы, ауруны, имеющие свободные орто-гидроксильные группы в кольце В, дают осадки ярко-желтой или красной окраски. Антоцианы дают аморфный осадок или взвесь оливкового цвета, антоцианидины – синий аморфный осадок; флавоны, халконы и ауруны – осадки ярко-желтого цвета.

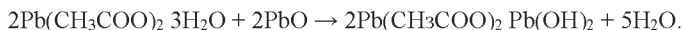
2 мл разбавленной в том же соотношении пробы напитка помещают в коническую колбу или стеклянный химический стакан, приливают несколько капель 10 % раствора основного ацетата свинца, при этом должен образовываться аморфный осадок или взвесь; далее к пробе приливают несколько капель конц. раствора соляной кислоты. При наличии антоцианов в пробе проявляется окрашивание от светло-розового до красного цвета.



*Приготовление раствора основного ацетата свинца.

3,0 г ацетата свинца и 1,0 г оксида свинца растирают в ступке с добавлением 10,0 мл дистиллированной воды.

Образование основного ацетата свинца протекает по уравнению:

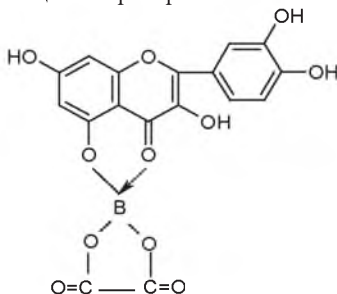


5) Флавоноиды образуют окрашенные комплексные соединения с 2–5 % спиртовым раствором хлорида алюминия и с 2 % спиртовым раствором хлорида циркония (III).

К 5 мл пробы (разбавленного напитка) приливают 3 мл спиртового раствора хлорида алюминия. При наличии в пробе флавоноидов появляется характерная желтая или зеленовато-желтая окраска, интенсивность которой напрямую зависит от концентрации флавоноидов в анализируемом напитке. Флавоноиды, имеющие две оксигруппы у атомов С-3 и С-5, дают окрашенные хелатные комплексы за счет водородной связи, возникающей между карбонильной и оксигруппой, желтого цвета с желто-зеленой флюоресценцией. Подобным образом идет комплексообразование с солями циркония.

Флавоны и изофлавоны в эту реакцию не вступают.

6) Реакция с борно-лимонным реактивом (реакция Вильсона, реакция Вильсона-Таубека) дает возможность отличить флавоноиды от фуранохромон. Флавоноиды с отделенными углеродным атомом гидроксильной и карбоксильной группами – 5-окси-флавоны и 5-оксифлавонолы – образуют комплексы с борной кислотой, не растворимые в присутствии лимонной и щавелевой кислот. К разбавленной пробе напитка приливают равный объем реактива Вильсона*. При этом формируется батохромный комплекс ярко-желтого цвета с желто-зеленой флуоресценцией (при использовании метанолового реактива Вильсона), резко усиливающейся при просвечивании в УФ-свете.



При использовании ацетонового реактива Вильсона флавоны и флавонолы дают желтое окрашивание с красноватой флуоресценцией в УФ-свете.

Качественный анализ. Определение дубильных веществ

1) Наличие дубильных веществ можно определять в неразбавленной пробе напитка. К 5–10 мл пробы добавляют нескольких капель насыщенного раствора железоммониевых квасцов. Наличие в пробе гидролизующих дубильных веществ – производных пирогаллола – приведет к появлению черно-синего окрашивания, при наличии конденсированных дубильных веществ – производных пирокатехина – появится черно-зеленое окрашивание.

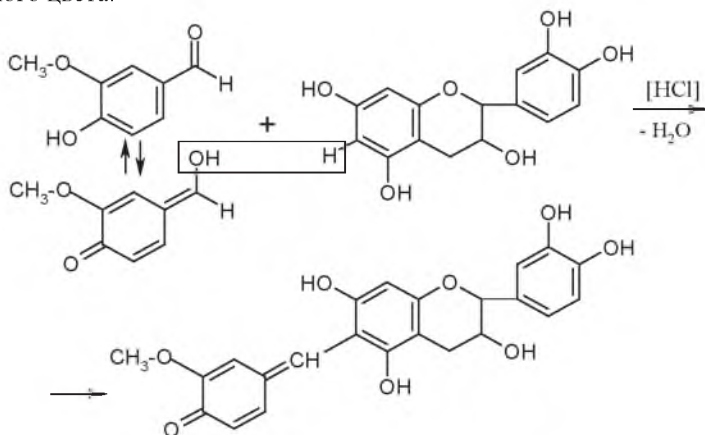
*Приготовление реактива Вильсона.

0,5 г борной кислоты и 0,5 г лимонной кислоты растворяют в 5 мл безводного метанола или ацетона (замена лимонной кислоты на щавелевую – реактив Таубека).

2) С 10 % раствором основного ацетата свинца дубильные вещества гидролизуемой группы образуют белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте. К пробе приливают 5–6 капель основного раствора ацетата свинца. После образования осадка к пробе добавляют равный объем 10 % раствора уксусной кислоты. Дубильные вещества конденсированной группы дают белый осадок, растворяющийся при подкислении пробы уксусной кислотой.

3) При добавлении к пробе равного объема 40 % раствора формальдегида и подкислении смеси по каплям концентрированным раствором соляной кислоты конденсированные дубильные вещества образуют осадок кирпично-красного цвета (*реакция Стиасни*).

4) Катехины вступают в реакцию с 1 % раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте, образуя соединения ярко-красного или малиново-красного цвета:



Качественный анализ. Определение искусственных красителей.

Стандартная методика выявления в составе продуктов и, особенно, напитков, искусственных красителей основана на получении суммарного извлечения пигментов и красителей путем экстракции и их последующей идентификации методом тонкослойной хроматографии.

Предварительная оценка натуральности вин и других напитков (выявление вероятности использования при их производстве искусственных красителей) может быть дана на основании одного из следующих приемов.

1) Окрашивание натуральных волокон (шерсти или хлопка).

Пробу неразбавленного напитка или водной болтушки продукта (1:1 по весу) объемом 50–100 мл нагревают на электроплитке в стакане или конической колбе из термостойкого стекла. После закипания пробы в неё помещают нити шерсти или хлопка и кипятят в течение 5 минут, после чего нити вынимают и промывают проточной водопроводной водой (20±2 °С). Если в составе

напитка были искусственные красители, то нить приобретёт окраску, соответствующую цвету красителя.

При наличии в пробе природных пигментов – флавоноидов или антоцианов – нить также не отмоется до первоначального цвета: после контакта с водопроводной водой на нити остаётся присущий фенольным соединениям бледный грязновато-синий или грязновато-розовый оттенок.

2) *Изменение цвета натуральных напитков при изменении кислотности* (для розовых и красных вин).

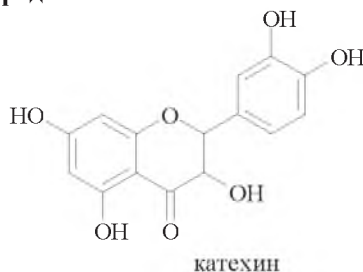
В пробу неразбавленного напитка объёмом 10–15 мл вносят несколько капель 0,1 н. раствора NaOH или мыльного раствора, либо несколько кристаллов пищевой соды. Смещение pH напитка в слабощелочной диапазон сопровождается переходом окраски натуральных пигментов с розово-красной в грязно-синюю. В случае использования производителем только синтетических красителей цвет пробы при внесении настолько незначительного количества щелочных реагентов не изменится.

Определение веществ фенольной природы в чае

В чае содержится более 30 полифенолов, получивших название дубильных веществ или танинов (танин – общее название изомеров одного из катехинов чая), в числе которых с учетом химической структуры выделяют четыре основные группы: флавонолы, катехины, антоцианидины и фенолослоты.

Содержание флавонолов (гликозиды кемпферола, кверцетина, мирицетина, витексина и др.) составляет до 6 % от суммы сухих веществ листа и 10–12 % от общего содержания полифенолов. Флавонолы оказывают непосредственное влияние на цветовую гамму настоя зеленого чая, придавая ему зелёный и жёлтый цвет.

Катехины (производные флаван-3-ола) – бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде и спирте и легко окисляющиеся. В составе полифенолов чая идентифицировано 12 видов катехинов, преобладают эпигаллокатехина галлат (50–60 % от общего количества катехинов), эпикатехина галлат (10–20 %) и эпигаллокатехин (10–15 %). По мере старения чайного листа содержание в нём катехинов снижается, больше катехинов содержат белые и желтые чаи, меньше – зелёный чай, еще меньше – черный (содержание катехинов снижается в результате процессов ферментативного окисления). Продукты окисления полифенолов обуславливают цвет и вкус настоя чая: чем выше степень окисления, тем интенсивнее цвет настоя чая и слабее терпкость его вкуса. Первичные продукты окисления катехинов – ортохиноны – придают настою заваренного чая золотисто-жёлтые оттенки.



Фенолокислоты присутствуют не только в зелёных, но и в ферментированных чаях, однако их содержание в чае невелико. К основным фенолокислотам чая относят галловую кислоту, теогаллин, хлорогеновую кислоту, кофейную кислоту и эллаговую кислоту.

Определение дубильных веществ чая – «чайного танина». В коническую колбу или стеклянный химический термостойкий стакан внесите одну чайную ложку байхового черного (зелёного) чая или один пакетик пакетированного чая, залейте 50 мл доведённой до кипения водопроводной воды и выдержите в течение 5 минут. По окончании отведенного времени выньте из воды пакетик или слейте настой с чайнок.

Добавьте к настою чая нескольких капель насыщенного раствора железо-аммониевых квасцов. Появление характерного насыщенного чёрно-зелёного окрашивания свидетельствует о присутствии в настое чая танинов. Чем интенсивнее окраска настоя – тем выше их содержание в анализируемом образце чая.

Оценка подлинности и качества чая включает **определение наличия красителей**. Для проведения анализа образцов чая в коническую колбу или стеклянный химический стакан внесите одну чайную ложку байхового черного (зелёного) чая или один пакетик пакетированного чая. Заключение о натуральности пигментов чая может быть дано по результатам следующих методик.

1) Пробу заливают 50 мл дистиллированной воды комнатной температуры и выдерживают в течение 5 минут. По окончании отведенного времени пакетик из воды вынимают или сливают настой с чайнок и оценивают цвет настоя на фоне белого листка бумаги: появление окраски свидетельствует о том, что в процессе производства чая был использован искусственный краситель. Интенсивность окраски настоя будет определяться концентрацией добавленного красителя.

2) Помещённые в коническую колбу или стеклянный химический термостойкий стакан образцы чая заливают 50 мл доведённой до кипения водопроводной воды (для каждого образца опыт проводится в двух повторностях) и выдерживают в течение 5 минут, после чего в один из стаканов вносят несколько капель свежеежатого лимонного сока либо несколько крупинок лимонной кислоты. Через 10 минут сравнивают цвет настоя заваренного чая с добавлением лимонного сока и без него. Лимон вступает в реакцию с чайными пигментами, связывая их, поэтому степень обесцвечивания настоя свидетельствует о натуральности анализируемых образцов чая.

Результаты проведения качественных реакций оформляют в тетради в произвольной форме.

Количественный анализ. Определение суммы дубильных веществ методом перманганатометрии

Стандартная методика определения суммы дубильных веществ основана на взаимодействии конденсированных дубильных веществ (танинов) с раство-

ром сильного окислителя – калия марганцевокислого в кислой среде [24]. Дубильные вещества при этом окисляются

Данный метод носит название «перманганатометрический метод Левенталя в модификации А.Л. Курсанова» и подходит для анализа сухого растительного сырья (чая, сырья лекарственно-технического назначения), полученных из него водных и водно-спиртовых извлечений (настоев, экстрактов, концентрированных форм), соков и других напитков, включая напитки брожения.

Для проведения анализа 5,0 мл напитка, настоя или экстракта вносят в коническую колбу вместимостью 250 мл, наливают 100 мл дистиллированной воды, 5 мл раствора индигосульфокислоты* и титруют при постоянном перемешивании 0,02 М раствором KMnO_4 до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт: в коническую колбу вместимостью 250 мл наливают 105 мл дистиллированной воды, добавляют 5 мл раствора индигосульфокислоты и начинают титровать пробу при непрерывном перемешивании 0,02 М раствором KMnO_4 до золотисто-желтого окрашивания.

При проведении расчетов принимают, что 1 мл 0,02 М раствора KMnO_4 соответствует 0,004157 г дубильных веществ (в пересчете на танин). С учетом этого коэффициента пересчета, содержание суммы дубильных веществ в напитке, в %, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 100}{5},$$

где 5 – объем пробы напитка или водного извлечения, взятой для одного титрования, мл,

V – объем точно 0,02 М раствора KMnO_4 , израсходованного на титрование пробы, мл;

V_1 – объем точно 0,02 М раствора KMnO_4 , израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 – количество дубильных веществ (в пересчете на танин), соответствующее 1 мл 0,02 М раствора KMnO_4 , г.

Если для проведения анализа была использована густая или сухая форма продукта (растительного сырья), то взвешенную с точностью до 0,01 г навеску необходимо предварительно растворить или гомогенизировать в воде, перенести затем в мерную колбу на 250 мл и доведя приготовленную пробу дистиллированной водой до метки колбы (250 мл).

В этом случае расчет суммы дубильных веществ в растительном сырье или продукте, в %, ведут по формуле:

*Приготовление раствора индигосульфокислоты.

0,1 г индигокармина переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл. В эту же колбу вносят 2,5 мл конц. H_2SO_4 и осторожно перемешивают до полного растворения индигокармина, после чего в колбу вносят ещё 2,5 мл конц. H_2SO_4 . Полученный раствор индигокармина медленно доводят дистиллированной водой до 100 мл.

$$X = \frac{(V - V_I) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 5},$$

где m – навеска растительного сырья или продукта, г;

250 – общий объем приготовленного из навески водного извлечения, мл,

5 – объем аликвоты водного извлечения, взятой для одного титрования, мл,

Если необходимо пересчитать содержание суммы дубильных веществ на абсолютно сухое сырье, то используют формулу:

$$X = \frac{(V - V_I) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 5 \cdot (100 - W)},$$

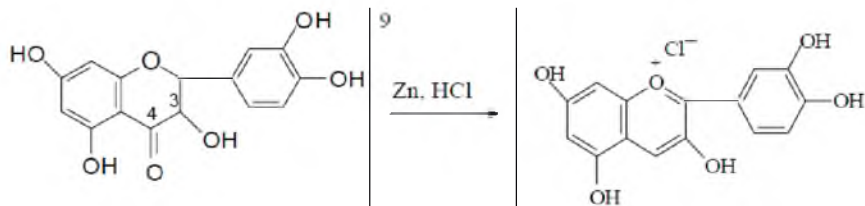
где W – влажность анализируемого растительного сырья или продукта, %.

Количественный анализ. Определение суммы флавоноидов

Стандартная методика определения суммы флавоноидов основана на использовании способности флавоноидов образовывать окрашенные комплексы с $AlCl_3$ и реализуется с пересчетом суммы флавоноидных соединений на преобладающий компонент – рутин, кверцетин или дигидрокверцетин. При проведении анализа используется фотометрическое или спектрофотометрическое облучение [25].

Сущность фотоколориметрического исследования состоит в следующем: анализируемый компонент переводят в состояние окрашенного комплекса, после чего измеряют интенсивность окраски полученного раствора. Таким образом, при колориметрическом определении существенное значение имеют, с одной стороны, правильно выбранные условия выполнения химической реакции по переводению определяемого компонента в окрашенный раствор и, с другой стороны, знание оптических свойств окрашенных растворов, и на этом основании – умение правильно выбрать способ измерения интенсивности окраски.

Основанием для использования фотоколориметрического метода в анализе флавоноидов служит реакция образования цианидинхлорида из дигидрокверцетина при обработке последнего цинковой пылью в кислой среде соляной кислоты.



Калибровочные графики (см. рисунок 8) строят для стандартных растворов рутина, кверцетина или дигидрокверцетина.

Измерения оптической плотности растворов ведут на лабораторном фотоколориметре модели КФК-2 или КФК-3 (см. рисунок 7), с использованием светофильтров:

- для рутина – 408–420 нм;
- для кверцетина – 421–435 нм;
- для дигидрокверцетина – 550 нм.

Приготовление стандартного 5 %-го раствора алюминия хлорида: точно 5,00 г $AlCl_3$ растворяют в 50 мл 95 % этанола в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объём раствора этанолом до метки и перемешивают. Срок годности приготовленного раствора 3 месяца.

Проведение анализа

В мерную колбу вместимостью 25 мл вносят с помощью пипетки 1 мл анализируемого напитка (настоя, экстракта), добавляют мерной пипеткой 4 мл 5 % раствора хлорида алюминия, после чего объём раствора в колбе доводят до риски 70 % раствором этилового спирта и выдерживают для развития окраски в течение 30 минут.

Во вторую колбу вместимостью 25 мл (раствор сравнения) с помощью пипетки вносят 1 мл анализируемого напитка (настоя, экстракта), после чего объём этой колбы доводят до риски 70 % раствором этилового спирта и выдерживают в течение 30 минут.

В случае помутнения растворов их фильтруют через бумажные фильтры.

Оптическую плотность раствора с пробой напитка измеряют относительно раствора сравнения в интервале 408–616 нм на длине волны максимума поглощения в кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм: в рабочую (первую) кювету наливают приготовленный раствор напитка с хлоридом алюминия, в кювету сравнения – раствор сравнения.

Массовую долю суммы флавоноидов в напитке (настоя, экстракте, соке, напитках брожения), в пересчете на рутин X , в мг/100 г рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{c \cdot F_p \cdot 10^5}{m},$$

где, c – количество рутина в анализируемой аликвоте экстракта, соответствующее измеренной оптической плотности по калибровочному графику, г/25 см³;

F_p – разбавление;

10^5 – коэффициент пересчета полученного значения в мг/100г;

m – масса взятой для анализа пробы напитка (настоя, экстракта), г.

По каждой качественной реакции сделайте заключения о присутствии / отсутствии искомого класса соединений в анализируемой пробе напитка. По результатам количественного анализа напишите вывод о содержании суммы веществ определяемого класса в пробе продукта.

Вопросы для самоконтроля:

1. Пигменты полифенольной природы: общее понятие, принцип подразделения на классы.

2. Локализация пигментов фенольной природы в составе растительного сырья (органы растения, органоиды клетки).
3. В каких формах пигменты фенольной природы входят в состав растительного сырья?
4. Назовите примеры растительного сырья, используемого для промышленного получения красителей полифенольной природы.
5. С какими хромоформными группировками связан цвет флавоноидов и антоцианов?
6. Какими особенностями строения молекулы обусловлены различия в окраске разных классов флавоноидов?
7. Охарактеризуйте основные химические и технологические свойства антоцианов.
8. Устойчивость антоцианов к технологическим факторам различной физико-химической природы.
9. Примеры качественных реакций, позволяющих подтвердить природу пигментов полифенольной природы.
10. Стандартные методы количественного определения пигментов полифенольной природы.
11. Охарактеризуйте стандартную методику определения суммы флавоноидов.
12. Гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества: примеры веществ, локализация в растительном сырье, эталоны для химического анализа.
13. Титриметрические методы определения дубильных веществ.
14. Охарактеризуйте стандартную методику определения суммы дубильных веществ методом перманганатометрии.
15. Что понимают под деградацией пигментов фенольной природы?
16. В каких диапазонах pH наиболее стабильна окраска антоцианов?
17. Что такое «лейкоантоцианы» и в каких органах растений, как правило, локализуются эти вещества?
18. Какие изменения в количественном содержании пигментов фенольной природы происходят при хранении растительного сырья?
19. Приведите примеры идентификации фенольных пигментов методом тонкослойной хроматографии.
20. Каким изменениям подвергаются пигменты фенольной природы в условиях щелочной среды.

2.3 Тема № 7 «Исследование веществ, отвечающих за формирование вкуса продуктов переработки растительного сырья»

Цель: Приобрести навыки идентификации, качественного и количественного анализа кофеина, заменителей сахара и интенсивных подсластителей.

ГОСТ Р ИСО 3972–2005 предусматривает использование в качестве стандартов основных видов вкусов водных растворов заданной концентрации:

- для солёного вкуса – раствор хлористого натрия;
- для сладкого вкуса – раствор сахарозы;
- для кислого вкуса – растворы лимонной или винной кислот;
- для горького вкуса – растворы алкалоидов (кофеина или хинина) или сульфата магния.

Кроме этого, горьким вкусом обладают и другие алкалоиды, многие пептиды и минеральные соли. Более или менее выраженным кислым вкусом обладают применяемые в пищевой промышленности органические и минеральные кислоты, солёным вкусом – некоторые минеральные соли. Сладкий вкус, наряду с сахарами, имеют полиолы («сладкие спирты», заменители сахара, – сорбит Е 420, маннит Е 421, изомальтит Е 953, лактит Е 966, ксилит Е 967) и пищевые добавки растительного происхождения на основе пептидов (некалорийные и интенсивные подсластители – аспартам Е 951, монелин, алитам Е 956, тауматин Е 957, неотам Е 961).

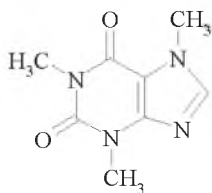
Алкалоиды – азотсодержащие гетероциклические соединения, часто обладающие свойствами слабых оснований. Большинство алкалоидов – кристаллические или аморфные вещества, горькие на вкус и не имеющие запаха (либо с неприятным запахом), хорошо растворимые в спиртах и неполярных органических растворителях; соли алкалоидов хорошо растворимы в воде и этаноле.

В растительном сырье содержание алкалоидов, как правило, незначительно – от следов до сотых и десятых долей процента, при содержании алкалоидов 1–3 % растения относят к высоко-алкалоидным (к этой группе относят и зерна кофе), но некоторые растения – например хинное дерево и барбарис – содержат от 10 % до 20 % алкалоидов (более подробно см. с. 33–38 [18]).

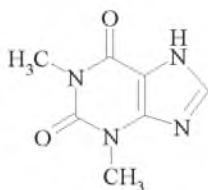
Физиологическое действие алкалоидов различно: одни из них угнетают или возбуждают нервную систему, некоторые парализуют нервные окончания, расширяют или сужают сосуды, проявляют обезболивающее действие. Алкалоиды пуринового ряда – кофеин, теобромин и теофиллин – оказывают стимулирующее действие на центральную нервную систему человека, способствуя повышению умственной и физической работоспособности, усилению сердечной деятельности; наиболее выраженное действие – у кофеина.

Наиболее важными источниками **кофеина** (систематическое название 1,3,7-триметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион; традиционные названия – 1,3,7-триметилксантин, гуаранин, кофеин, матеин, метилтеобромин, теин, обычно являются зерна кофе, плоды колы, какао-бобы, ягоды гуараны, листья мате и китайского чая. В чашке напитка из зёрен натурального обжаренного кофе

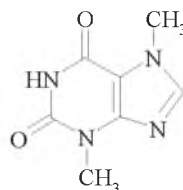
содержится примерно 100 мг кофеина, в стакане черного чая – 50 мг, в стакане зеленого чая – 20–46 мг.



Кофеин



Теофеллин



Теобромин

Согласно определению ТР ТС 029/2012, пищевой добавкой может называться «любое вещество (или смесь веществ), имеющее или не имеющее собственную пищевую ценность, обычно не употребляемое непосредственно в пищу, преднамеренно используемое в производстве пищевой продукции с технологической целью (функцией) для обеспечения процессов производства (изготовления), перевозки (транспортирования) и хранения, что приводит или может привести к тому, что данное вещество или продукты его превращений становятся компонентами пищевой продукции». С учетом частоты современного применения кофеина и теобромина и отсутствия у них собственной пищевой ценности, эти вещества условно также можно отнести к пищевым добавкам.

Практическое занятие

Задание 1. Используя данные научно-технической литературы, по заданию преподавателя записать в тетрадь названия и формулы веществ, используемых в пищевой промышленности в качестве интенсивных подсластителей и сахарозаменителей, указав отличительные признаки в строении молекул этих веществ, технологические свойства (стабильность в зависимости от температуры, активной кислотности среды, устойчивость к излучениям и т. д.) и рекомендуемые дозировки.

Задание 2. Выписать из данных литературы сведения об основных технологических свойствах кофеина и теобромина, указав дозировки и основные продукты, в состав которых вводятся эти вещества.

Лабораторная работа

Выделение кофеина и проведение качественных реакций. Кофеин можно выделить из байхового чая, молотых зерен кофе или растворимого кофе. Для этого в фарфоровый или металлический тигель насыпают 2,0–3,0 г (примерно одна чайная ложка) измельченного в ступке сырья, добавляют примерно 2,0 г оксида магния, накрывают тигель воронкой с заткнутым ватой носиком (на 1/2 длины) и нагревают на асбестовой сетке в течение 15–20 минут.

Нагрев должен быть умеренным. Сначала на внутренней части воронки конденсируются капли воды, далее в присутствии оксида магния начинает возгоняться кофеин – алкалоид переходит в пар, минуя стадию жидкости.

Попадая на холодную поверхность, кофеин вновь переходит в кристаллическое состояние и осаждается на воронке в виде игол бесцветных или белых кристаллов (рисунок 10).



Рисунок 10 – Кристаллы кофеина на воронке

При достаточном осаждении на стенках воронки кристаллического кофеина нагрев останавливают. После полного охлаждения посуды кристаллы кофеина счищают шпателем со стенок воронки и растворяют в небольшом объеме (1–2 мл) дистиллированной воды.

Одновременно таким же образом выделяют кристаллы кофеина из стандартного препарата кофеина, уменьшив дозировки помещаемых в тигель препарата кофеина и оксида магния в 5–10 раз.

Для обнаружения в растительном сырье или продуктах кофеина используют специфичные качественные реакции – реакции осаждения, позволяющие установить присутствие кофеина в растительном сырье даже при незначительном его содержании. Эти реакции основаны на том, что все алкалоиды (включая кофеин) при взаимодействии с определенными веществами образуют нерастворимые в воде окрашенные соединения.

1) С 5 % водным раствором *таннина* (в качестве раствора можно использовать настой черного чая) алкалоиды образуют осадки желтого цвета.

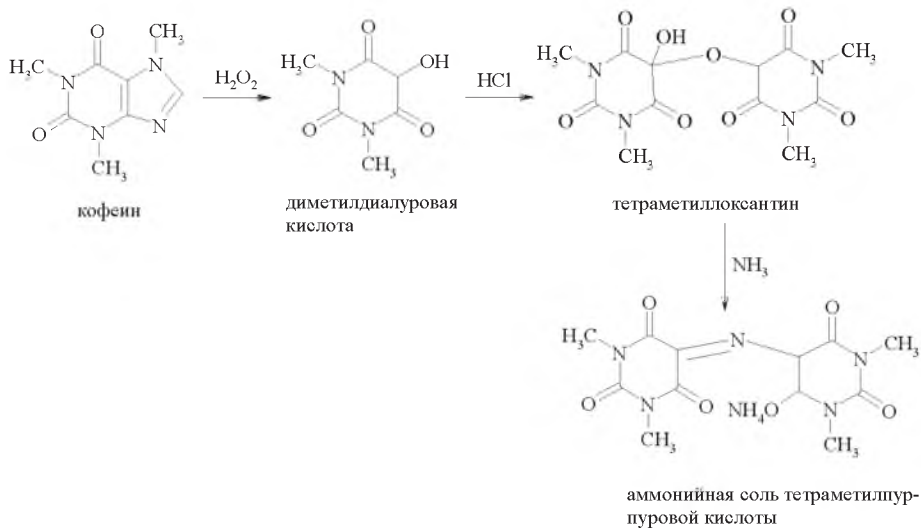
2) *Мурексидная проба* (качественная реакция на производные пурина): окисление азотной кислотой производных пурина – ксантина, теобромина, теофиллина, кофеина и других – приводит к образованию смеси окрашенных продуктов окисления и гидратации. К числу основных продуктов относят пурпуровую кислоту.

В фарфоровую выпарную чашку или на предметное стекло помещают несколько кристаллов кофеина и приливают 2–3 капли конц. азотной кислоты. Нагревают стекло с пробой на газовой горелке или асбестовой решетке электрической плитки до тех пор, пока проба не подсохнет. Сухой остаток при этом приобретает цвет от желто-коричневого до желто-оранжевого или ярко желтого (амалиновая кислота – продукт окисления кофеина).



После остывания сухой остаток смачивают при помощи шпателя или стеклянной палочки с одного края – 2–3 капли конц. раствора аммиака, с другого – 1–2 капли 10 % раствора гидроксида калия и вновь нагреть стекло до полного испарения воды. После добавления к подсушенной пробе раствора аммиака алкалоиды должны давать пурпурно-красное окрашивание, обусловленное образованием мурексида – аммонийной соли пурпуровой кислоты; при добавлении раствора гидроксида калия образуется калийная соль пурпуровой кислоты сине-фиолетового (при наличии примесей – бордового) цвета.

Качественной реакцией на *кофеин* служит образование соединений темно-коричневого цвета под действием на аммиачный раствор анализируемого образца концентрированной соляной кислоты:



3) Алкалоиды, включая кофеин, дают бурые или красно-бурые осадки с реактивами Вагнера* и Бушарда**.

1 мл анализируемого раствора вносят в пробирку, добавляют по каплям реактив, медленно перемешивая стеклянной палочкой. Выпадение осадка характерного цвета свидетельствует о наличии в пробе кофеина.

4) С раствором аммиака в присутствии соляной кислоты кофеин дает пурпурно-красное окрашивание.

1–2 капли анализируемого раствора наносят дно выпарной фарфоровой чашки или на предметное стекло, добавляют одну каплю 30 % водного раствора пероксида водорода и одну каплю 10 % раствора соляной кислоты. Далее пробу медленно выпаривают досуха на газовой горелке или электроплите, после чего пробу охлаждают и добавляют к ней 1 каплю концентрированного раствора аммиака, затем стекло вновь нагревают до полного испарения воды. Пурпурно-красный цвет пятна указывает на наличие кофеина в анализируемой пробе.

Природные подслащающие соединения

Согласно определению ТР ТС 029/2012, **подсластитель** – это пищевая добавка, предназначенная для придания пищевым продуктам сладкого вкуса или используемая в составе столовых подсластителей. **Столовый подсластитель** – пищевая продукция (пищевые(ая) добавки(а)), содержащая разрешенные подсластители с добавлением или без добавления других пищевых добавок и (или) пищевых компонентов и предназначенная для реализации потребителю.

К низкокалорийным подсластителям относят:

- пищевые добавки белковой природы – *аспартам* (E951), *тауматин* (E957), *миракулин* (Mirlin®), *монелин*, *алитам* (E956), *неотам* (E961);
- *неогесперидин дигидрохалкон* (E959),
- *глицирризин* (E958),
- *стевиозид* (E960).

К интенсивным синтетическим подсластителям относят (таблица 25):

- *сахарин* (E954),
- *ацесульфам калия*, *сунетт* (E950),
- *сукралоза*, *трихлоргалактосахароза* (E955),
- *цикламовая кислота* и *цикламаты* (E952).

Сахарозаменители:

- многоатомные спирты (полиолы) – *ксилит* (E967), *сорбит* (E420), *лактит* (E966), *маннит* (E421), *изомальтит* (E953).

Особое значение имеют **усилители вкуса (и аромата)** – пищевые добавки, предназначенные для усиления вкуса и (или) модификации природного вкуса и (или) аромата пищевых продуктов, включая сладкий вкус.

Приготовление реактивов Вагнера и Бушарда.

Реактив Вагнера: 1,27 г йода растворяют в 100 мл 2 % водного раствора йодида калия.

Реактив Бушарда: 1 г йода растворяют в 50 мл 4 % водного раствора йодида калия.

В этом качестве могут использоваться:

- *пищевая поваренная соль*;
- *сахароза, фруктоза*;
- *глутаминовая кислота* (E620) и её соли-глутаматы (глутамат натрия E621, калия E622, кальция E623, аммония E624, магния E625);
- *гуаниловая кислота* (E 626) и ее соли (гуанилат натрия E627);
- *инозиновая кислота* (E630) и ее соли (инозинат натрия E631);
- *мальтол* (E636), *этимальтол* (E637);
- *фосфорная кислота* (E338), пищевые органические кислоты – *фумаровая* (E365), *лимонная* (E330), *яблочная* (E296), *молочная* (E270), *адипиновая* (E355), *винная* (E334), *уксусная* (E260), *янтарная* (E363);
- *глюконо-дельта-лактон* (E575).

Таблица 25 – Максимально допустимые концентрации (мг/кг) подсластителей в пищевых продуктах

Продукт	Сахаринат Na* (E954)	Цикламат Na** (E952)	Ацесульфам К (E950)	Аспартам (E951)
Безалкогольные напитки на основе ароматизаторов, фруктовых соков, молочных продуктов без сахара или со сниженной калорийностью	80–100	400	350	600
Десерты ароматизированные: на воде, зерновой, фруктовой, овощной, молочной, яичной, жировой основе, без сахара или со сниженной калорийностью	100	250	350	1000
Кондитерские изделия со сниженной калорийностью или без сахара:				
на основе крахмала	300	500	1000	2000
на основе какао, сухофруктов	500	500	500	2000
сэндвичи с начинкой на основе какао, молочных продуктов, сухофруктов, жира	200	500	1000	1000
Жевательная резинка без сахара	1200	1500	2000	5500
Мороженое со сниженной калорийностью или без сахара	100	250	800	800
Джемы, варенье	200	100	350	1000
Мармелад со сниженной калорийностью	200	1000	1000	1000
Фруктовые и овощные консервы со сниженной калорийностью	200	250	350	1000
Фруктовые и овощные кисло-сладкие пресервы	160	–	200	300
Соусы	160	–	350	300
Горчица	320	–	350	350
Хлебобулочные изделия диетические	170	1600	1000	1700

Качественное определение сахара и глюкозы

При анализе пищевых продуктов с целью подтверждения наличия или отсутствия в составе продукта сахарозы проводят качественные реакции, основанные на образовании «серебряного зеркала» или окисленных соединений меди.

1) Проба «серебряное зеркало»

В пробирку вносят 3 капли 2–3 % раствора AgNO_3 , 5 капель 2 н. NaOH и добавляют по каплям 2,5–4 % NH_4OH до полного растворения осадка, образующегося в начале смешивания растворов. Полученный бесцветный раствор представляет собой аммиачный раствор гидрата окиси серебра.

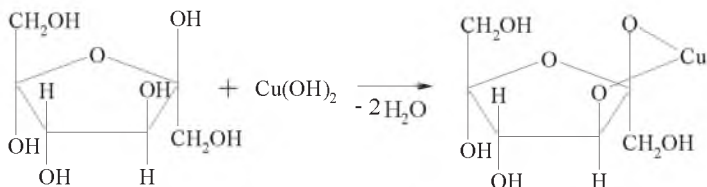
Затем к аммиачному раствору гидрата окиси серебра добавляют 3–4 капли 5 % раствора мёда и медленно подогревают на спиртовке. В результате реакции идет восстановление глюкозой серебра из аммиачного раствора, на стенках пробирки появляется «серебряное зеркало»*:



Аналогичный опыт выполняют с 0,5 % раствором глюкозы или сахарозы**.

2) Качественная реакция с сульфатом меди

В пробирку вносят 1 мл 5 % раствора мёда и 6–8 капель 2 н. раствора NaOH . Затем по каплям добавляют 0,2 н. раствор CuSO_4 до прекращения растворения реактива. Осторожно нагревают пробирку на спиртовке. При этом голубой, не растворимый в воде осадок гидрата окиси меди постепенно превращается в жёлтый, затем – в кирпично-красный осадок закиси меди.



Иногда выделяющийся осадок закиси меди сначала имеет желтоватый или зеленоватый цвет, что зависит от размера частиц. Укрупняясь, осадок становится красным, в присутствии некоторых несхаристых примесей – желтым.

Опыт повторяют с 0,5 % раствором глюкозы или раствором сахарозы.

Качественное определение фруктозы

В первую пробирку вносят 1 мл 5 % раствора мёда, во вторую – 1 мл 0,5 % раствора фруктозы, в третью пробирку – 1 мл 0,5 % раствора глюкозы.

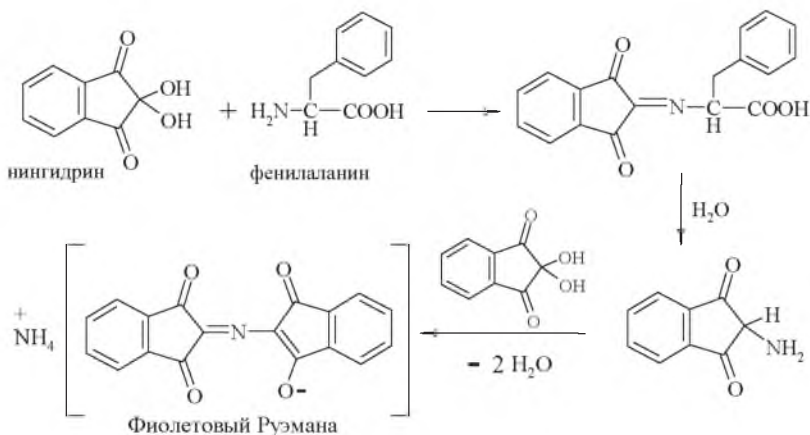
*Если в результате реакции вместо «серебряного зеркала» в пробирке появилась грязно-коричневая взвесь коллоидного серебра, то пробирку следует тщательно обезжирить и промыть, после чего реакцию необходимо повторить.

**Сахарозу предварительно подвергают гидролизу кипячением раствора сахарозы в присутствии минеральных кислот (0,5 мл 10 % раствора серной или азотной кислоты в расчете на 5 г сахара) в течение 15–20 минут.

2) *Нингидриновая реакция* основана на нагревании α -аминокислот в щелочном растворе избытка нингидрина и позволяет выявить аспартам при содержании в пробе от 1 мкг.

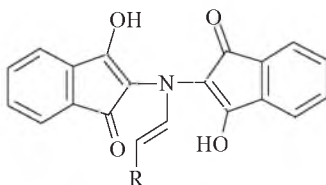
К 0,5 мл 0,5 % раствора аспартама приливают 6–10 капель 0,2 % раствора нингидрина. Полученную смесь нагревают в течение 3–5 минут на водяной бане при температуре 70–80 °С, перемешивая содержимое пробирки стеклянной палочкой.

При нагревании до температуры 70–80 °С α -аминокислоты окисляются нингидрином и подвергаются окислительному дезаминированию (выделяется NH_3) и декарбоксилированию (выделяется CO_2) с образованием альдегида, а нингидрин при этом восстанавливается. Восстановленный нингидрин, конденсируясь с аммиаком и окисленным нингидридом, переходит в окрашенную форму сине-фиолетового цвета (фиолетовый Руэмана):



Окрашенные продукты нестабильны: интенсивность окраски быстро снижается. При перегревании раствора окраска может исчезнуть.

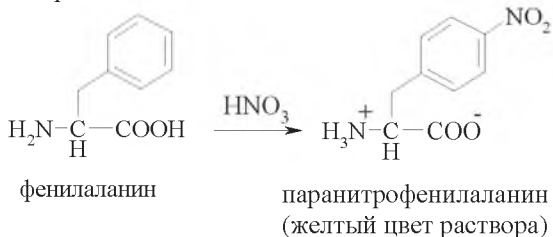
В присутствии органических растворителей, на которых готовят раствор нингидрина (ацетон, этанол), возможно протекание побочной реакции с образованием соединения, содержащего в своем составе радикал (R) аминокислоты:



Наличие радикала аминокислоты в составе этого соединения обуславливает различную окраску (*красную, жёлтую, голубую*) соединений, образовавшихся в ходе реакции аминокислот с нингидрином.

3) *Реакция нитрования* основана на реакции нитрования бензольного кольца ароматических аминокислот (фенилаланин и аспарагиновая кислота) с образованием окрашенного в *жёлтый* цвет нитросоединения.

В пробирку вносят 3 мл 0,5 % раствора аспартама и 1 мл конц. HNO_3 , после чего медленно нагревают в пламени спиртовой горелки. При наличии в пробе ароматических аминокислот проявляется жёлтое окрашивание, как результат реакции нитрования бензольного кольца:



По каждой качественной реакции необходимо записать вывод о наличии или отсутствии в составе анализируемой пробы веществ определяемой природы.

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите основные группы (классы) химических веществ, обеспечивающих основные виды вкусов продуктов.
2. Алкалоиды: специфика строения, химические свойства, влияние на вкус продукта.
3. Приведите примеры алкалоидов и их использования при производстве продуктов питания и напитков.
4. Приведите примеры растительного сырья, наиболее богатого алкалоидами.
5. Охарактеризуйте основные химические и технологические свойства алкалоидов растительного происхождения.
6. Качественные реакции, используемые для выявления присутствия алкалоидов в пищевом сырье и продуктах питания.
7. Перечислите основные группы (классы) природных веществ сладкого вкуса.
8. Поясните, в чем заключается различие между «подсластителем» и «сахарозаменителем».
9. Охарактеризуйте основные химические и технологические свойства простых сахаров.
10. Приведите примеры качественных реакций, используемых для выявления присутствия в составе продуктов и напитков моно- и дисахаридов.
11. Охарактеризуйте основные химические и технологические свойства подсластителей и сахарозаменителей пептидной природы.
12. Приведите примеры качественных реакций, используемых для выявления присутствия подсластителей и сахарозаменителей пептидной природы.

13. В каких случаях присутствие в составе напитка или продукта подсластителей или сахарозаменителей пептидной природы может быть небезопасно для потребителя?

14. Что называют «коэффициентом сладости»? Приведите примеры этого показателя для сахаров, подсластителей и сахарозаменителей.

15. Охарактеризуйте основные химические и технологические свойства подсластителей и сахарозаменителей из группы полиолов (сахароспиртов).

16. Приведите примеры качественных реакций, используемых для выявления присутствия подсластителей и сахарозаменителей из группы полиолов (сахароспиртов).

17. Приведите примеры подсластителей и сахарозаменителей, выделяемых из растительного сырья в форме гликозидов. В каких качественных реакциях эти вещества будут проявлять себя как сахараиды?

18. Приведите примеры природных веществ – зарегистрированных пищевых добавок, относящихся к низкокалорийным подсластителям.

19. Что называется *«редуцирующими веществами»* (приведите примеры)? На каких свойствах этих веществ основано такое название?

20. Как регламентируется содержание подсластителей и сахарозаменителей в составе пищевых продуктов? Приведите примеры.

2.4 Тема № 8 «Пищевые ароматизаторы. ТСХ ментола и ванилина в оценке качества пищевых добавок для кондитерского производства»

Цель: Приобрести навыки идентификации пищевых ароматизаторов. На примере ментола и ванилина научиться проводить идентификацию ароматобразующих веществ методом ТСХ.

Пищевые ароматизаторы – смеси ароматобразующих (душистых) веществ или индивидуальные ароматобразующие (душистые) вещества, с растворителем или сухим носителем либо без них, вводимые в пищевые продукты с целью улучшения их аромата и вкуса.

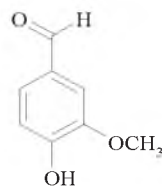
Пищевые ароматизаторы, идентичные натуральным – сложные композиции душистых веществ (природного происхождения, идентичные природным, в том числе синтетического происхождения) в соответствующем растворителе или смешанные с твердыми носителями – крахмалом, лактозой, сахарозой, белками, поваренной солью и другими.

В оценке подлинности ряда продуктов переработки растительного сырья – спирто-содержащих напитков, продукции фармацевтического назначения и других – важное значение уделяется качественному и количественному анализу специфичных ароматобразующих веществ.

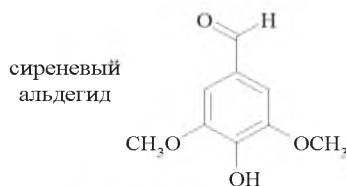
Например, при оценке качества коньяков и определении сроков их выдержки анализируется содержание и соотношение ароматических альдегидов (ванилина, сиреневого, кониферилового и синапового альдегидов, см. рисунок) – характерных продуктов гидролиза лигнина древесины дуба, ответственных за индивидуальность «букета» коньяков.

За типичный аромат многих других продуктов переработки растительного сырья отвечают компоненты эфирных масел – ментол (мятное масло, прохладительные напитки с мятой), эвгенол (пряность гвоздика), бензальдегид (горький миндаль, черемуха, вишня), лимонен (цедра citrusовых) и т. д.

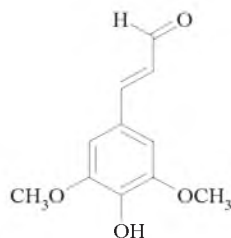
С целью количественного определения ароматобразующих веществ в растительном сырье и продуктах его переработки применяются преимущественно ГЖХ (терпены эфирных масел) и капиллярный электрофорез (ароматические альдегиды в продукции коньячного производства). Для идентификации и качественного анализа как экспресс-метод чаще применяется тонкослойная хроматография.



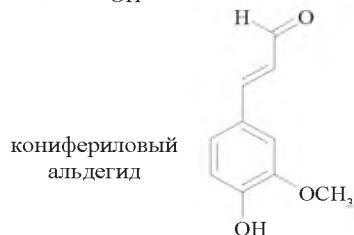
ванилин



сиреневый альдегид



синаповый альдегид



кониферильный альдегид

Тонкослойная хроматография (ТСХ) основана на различии в скорости перемещения компонентов пробы в плоском тонком слое сорбента, при движении пробы в потоке подвижной фазы жидкости или газа (элюента), и последующем анализе цвета проявляющихся на хроматограммах пятен путем просматривания в видимом или УФ-свете.

Разделение компонентов осуществляется в слое сорбента (силикаты, оксид алюминия, крахмал и т. д.), нанесенного в виде суспензии на фольгу, бумажный, стеклянный или полимерный носитель и зафиксированного высушиванием; толщина слоя сорбента 0,1–0,5 мм. В качестве элюента используются органические растворители, их смеси с водой, водные растворы кислот, солей и комплексонов. Основную роль в разделении компонентов пробы играют процессы адсорбции, экстракции, ионного обмена и комплексообразования.

В зависимости от положения пластинки и направления потока элюента различают восходящую, нисходящую и горизонтальную ТСХ. По технике исполнения анализа преимущественное применение находит элюционный вариант фронтального анализа. В данной методике на слой зафиксированного на пластинке сорбента наносят микроколичества раствора анализируемой пробы и погружают край пластинки в элюент, налитый на дно герметично закрывающейся стеклянной камеры, насыщенной парами подвижной фазы. Элюент, перемещающийся в слое сорбента под действием капиллярных и гравитационных сил, в том же направлении перемещает анализируемую пробу.

В результате многократного повторения механизма сорбции-десорбции в слое компоненты пробы разделяются, адсорбируясь на пластинке отдельными зонами – пятнами. По завершении процесса элюирования пластинку ТСХ вынимают из камеры, подсушивают и выявляют зоны разделившихся компонентов пробы по их собственной окраске или (в случае, если компоненты не имеют собственной окраски) после опрыскивания их растворами специальных реагентов-проявителей, образующих с компонентами разделяемой смеси окрашенные или флуоресцирующие комплексы. Полученная картина распределения хроматографических зон называется хроматограммой (рисунок 11).

Положение хроматографических зон (пятен) на хроматограмме характеризуется величиной R_f – отношением пути l_i , пройденного центром зоны каждого i -го компонента от линии старта, к пути l , пройденному элюентом:

$$R_f = l_i / l \quad R_f \leq 1.$$

Величина R_f зависит от коэффициента распределения (адсорбции) и от отношения объемов подвижной и неподвижной фаз.

Для повышения эффективности разделения компонентов пробы подвергают многократному элюированию в одном направлении либо двухмерной ТСХ – хроматографический процесс осуществляют последовательно в двух взаимно перпендикулярных направлениях с разными элюентами.

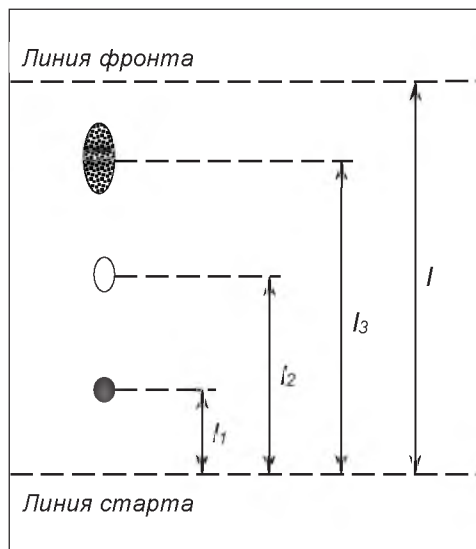


Рисунок 11 – Пример хроматограммы, полученной при разделении смеси трех компонентов методом тонкослойной хроматографии

Возможны также варианты выполнения ТСХ другими методами:

- «круговым» – раствор анализируемой пробы и элюент последовательно подаются в центр пластинки;
- «антикруговая» ТСХ – раствор анализируемой пробы наносится по окружности, а элюент перемещается от периферии к центру пластинки;
- ТСХ «под давлением» – растворитель пропускают под давлением через слой сорбента, плотно покрытый полиэтиленовой пленкой;
- ТСХ в условиях градиента температуры, состава сорбента и т. п.

На эффективность разделения компонентов пробы в ТСХ влияет ряд факторов:

- химический состав и свойства элюента;
- химический состав, дисперсность, пористость и толщина слоя сорбента;
- температура, влажность и размеры хроматографической камеры [20].

Количество компонента в хроматографической зоне определяют непосредственно на слое сорбента по площади зоны (диаметр которой обычно варьирует в пределах от 3 до 10 мм) либо интенсивности ее окраски (в том числе флуоресцентной).

Погрешность количественного определения методом ТСХ обычно не превышает 10 %. Пределы обнаружения веществ в анализируемой пробе – 10^{-3} – 10^{-2} мкг по окрашенным производным и 10^{-10} – 10^{-9} мкг при использовании приемов люминисцентного анализа.

Для ряда пищевых добавок – таких, как ванилин, – проверка подлинности на ТСХ является одним из основных методов идентификации и оценки степени чистоты в международной практике. В этом случае при проведении анализа все

пятна, вышедшие на хроматограмме, по размеру, положению и цвету должны соответствовать пятнам, приведенным на хроматограмме соответствующего стандарта (как правило, международного, – Европейской фармакопеи (EP), Американской фармакопеи (USP) и Кодекса Пищевых Химикатов (FOOD CHEMICALS CODEX, FCC), пятна на ТСХ образца не должны быть более интенсивными [21].

Подготовку образцов, пластинок для ТСХ, проведение испытаний и обработку результатов проводят в соответствие с ГОСТ 28366–89 [22].

В точки, отмеченные на линии старта, не нарушая целостности слоя сорбента, с помощью калиброванной микропипетки, микрошприца или стеклянного капилляра наносят 0,001–0,010 мл раствора анализируемого вещества. Проба наносится в виде пятна диаметром 3–5 мм или в виде черты.

При необходимости на линии старта таким же образом наносят точечные пробы растворов веществ, соответствующих предполагаемым компонентам смеси, для идентификации и количественной оценки этих примесей.

После нанесения на хроматографическую пластинку анализируемой пробы и проб веществ сравнения или, при необходимости, предполагаемых примесей, их подсушивают холодным воздухом для испарения растворителя.

Хроматографическую пластинку помещают при комнатной температуре в хроматографическую камеру, насыщенную парами подвижной фазы, таким образом, чтобы ее нижний конец был погружен в слой подвижной фазы на дне стакана (стартом вниз), и подвергают элюированию. Элюируют до тех пор, пока фронт подвижной фазы не окажется на высоте примерно 10–20 мм от верхнего края пластинки. После этого хроматограмму вынимают из камеры, отмечают фронт мягким карандашом и сушат в таком положении, как при элюировании, при комнатной температуре или в теплом воздухе. Продолжительность сушки зависит от скорости испарения подвижной фазы и химической стабильности компонентов пробы.

После высушивания хроматограмму можно элюировать повторно тем же самым растворителем (повторная хроматография) или другим растворителем (последовательная хроматография). Пластинку помещают в растворитель стартом вниз или повернув ее под углом 90° (метод двумерного разделения пятна анализируемой пробы).

Проявление компонентов на хроматограмме проводят физическими или химическими методами.

Физические методы. При дневном свете отмечают на хроматограмме положение пятен окрашенных веществ пробы. При наличии в анализируемой пробе флуоресцирующих веществ проявление проводят в УФ-свете.

Химические методы. Хроматограмму проявляют жидкими и газообразными проявителями, используя реакцию имеющихся на хроматограмме соединений с подходящим реагентом-проявителем с образованием окрашенного или флуоресцирующего вещества. Жидкие проявители наносят пульверизатором или используют реагенты в аэрозольной упаковке, для этого пластину кладут горизонтально на лист фильтровальной бумаги или оставляют в верти-

кальном положении и опрыскивают мелкими каплями (туманом) проявителя всю площадь хроматограммы. Газообразные проявители применяют, поместив хроматограмму в пары проявителя (например, хроматограмму подвешивают в камере, в которую помещен летучий реагент – кристаллы йода).

Качественное определение анализируемого компонента в пробе проводят по результатам визуального сопоставления размеров и интенсивности окраски его пятна с пятнами вещества сравнения («свидетеля»), нанесенными на ту же хроматографическую пластинку и обработанными в тех же условиях.

Лабораторная работа. Идентификация ароматобразующих веществ методом ТСХ

Навеску торгового образца ванилина (0,15 г) помещают в мерный стакан вместительностью 50 мл, прибавляют 20 мл 94 % этанола и перемешивают 5–10 минут. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместительностью 25 мл, промывая фильтр 5 мл этилового спирта. Объем полученного раствора доводят до метки этанолом.

Параллельно готовят раствор стандартного образца вещества-«свидетеля» кристаллического ванилина высокой степени очистки. В мерную колбу вместительностью 25 мл помещают 0,15 г стандартного образца, растворяют в спирте и доводят объем раствора 94 % этанолом до метки.

Тонкослойную хроматографию ментола или ванилина проводят на пластинках с закрепленным слоем силикагеля типа Silufol UV 254 или Alufolien 60 F₂₅₄.

На линию старта хроматографической пластинки наносят по 2–5 мкл исследуемого и образцового растворов. Пластинку с нанесенными веществами высушивают на воздухе до полного высыхания и помещают в хроматографическую камеру со смесью растворителей: спирт изопропиловый: гексан (10:1).

Когда фронт растворителей пройдет 12 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры и высушивают в вытяжном шкафу в течение 10 минут.

Идентификацию веществ осуществляют в УФ-свете при длине волны 254 нм. На хроматограмме исследуемого раствора должно проявиться пятно ванилина на уровне, соответствующем пятну раствора с чистым ванилином-«свидетелем».

Контуры пятен обводят простым карандашом на хроматограммах и рассчитывают факторы подвижности (**R_f**) всех присутствующих на хроматограмме пятен. Необходимо также отметить наличие других пятен на хроматограмме с «экстрактном ванилина», относящихся к примесям в основном продукте.

Рисунок хроматограммы и расчеты **R_f** (R_{f1} , R_{f2} и т. д.) соединений заносят в протокол, делают вывод о присутствии ванилина в исследуемом образце.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение понятию «пищевые ароматизаторы».
2. На каких принципах основана классификация пищевых ароматизаторов?

3. Приведите примеры растительного сырья, используемого для промышленного производства пищевых ароматизаторов и эссенций.

4. Назовите примеры природных соединений растительного происхождения, используемых в условиях промышленного производства с целью ароматизации пищевых продуктов.

5. К каким классам (в основном) относятся ароматобразующие вещества растительного происхождения?

6. Охарактеризуйте основные химические и технологические свойства наиболее известных ароматобразующих веществ.

7. На чем основан принцип идентификации ароматобразующих веществ хроматографией?

8. В чем состоит разница между понятиями «запах», «аромат» и «букет»? Поясните с позиций технологии производства продуктов и напитков.

9. Приведите примеры *«пищевых ароматизаторов, идентичных натуральным»*.

10. Каким образом различные технологические факторы могут повлиять на структуру, свойства и узнаваемость потребителем ароматобразующих веществ?

3 МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

К теме 1.

Посуда и инструменты:

- колбы стеклянные конические или стаканы из прозрачного стекла вместимостью 200–250 см³ – 36 шт. (одинаковые!).

Реактивы и материалы:

- красители пищевые порошкообразные Кошенилевый красный А (Понсо 4R, Е 124), Зеленое яблоко (Е 102, Е 133), Черный блестящий ВN (Бриллиантовый черный, Е 151);

- полихроматические таблицы Е. Б. Рабкина (1–24).

К теме 2.

Посуда и инструменты:

- стаканы или бокалы пищевого назначения из прозрачного стекла вместимостью 250–300 см³ для индивидуального использования при тестировании вкусовой чувствительности – по числу студентов в подгруппе;

Реактивы и материалы:

- сахароза;

- натрий хлористый безводный;

- кислота лимонная кристаллическая, моногидрат;

- кофеина бензоат натрия или кофеина гидрохлорид дигидрат, в виде таблеток или раствора;

- вода дистиллированная или питьевого назначения.

К теме 3.

Посуда и инструменты:

- колбы стеклянные вместимостью 100–250 см³, с пробками;

- пипетки.

Реактивы и материалы:

- препараты ароматических веществ по ГОСТ ISO 5496–2014 (ванилин, цитраль, эвгенол, тимол, лимонен, ментол и другие), х. ч.;

- вода дистиллированная;

- спирт этиловый 96 %;

- вата или марля;

- бумага фильтровальная для тестирования обонятельной способности.

! Важно: До тестирования чистые вещества или их концентрированные растворы должны храниться при 5±1 °С, защищенными от воздуха и света.

К теме 4.

Посуда и инструменты:

- стаканы стеклянные термостойкие вместимостью от 150 до 400 мл – 10 шт.;

- колбы мерные наливные вместимостью 50 или 100 мл – 10 шт.;

- пипетки мерные с градуировкой на 2, 5 и 10 мл – по 2–3 шт.;

- воронки стеклянные для жидкостей лабораторные – 3 шт.;
- ступка фарфоровая с пестиком, сетка асбестовая.

Оборудование и приборы:

- фотоэлектроколориметр лабораторный
- весы лабораторные электронные технические общего назначения с ценой деления не более 0,5 г;
- рефрактометр лабораторный с ценой деления не более 0,2 %;
- плитка электрическая бытовая.

Реактивы и материалы:

- калий йодистый кристаллический;
- йод кристаллический, возогнанный;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый 96 %;
- складчатые фильтры;
- бумага фильтровальная для обработки кварцевых поверхностей приборов.

Образцы:

- томатная паста 2–3 ТМ, томатное пюре.

К теме 5.

Посуда и инструменты:

- воронки стеклянные для жидкостей лабораторные – 4 шт.;
- пипетки или капельницы;
- терка;
- кастрюли вместимостью 1,5 л – 2 шт.

Оборудование и приборы:

- фотоэлектроколориметр лабораторный
- весы лабораторные электронные технические общего назначения с ценой деления не более 0,5 г;
- плитка электрическая бытовая.

Реактивы и материалы:

- лимонная кислота;
- вода дистиллированная;
- кобальт сернокислый.

Образцы:

- свеклы корнеплоды – 4 шт.

К теме 6.

Посуда и инструменты:

- воронки стеклянные для жидкостей лабораторные – 4 шт.;
- пипетки или капельницы;
- пинцеты, держатели;
- ступка фарфоровая с пестиком.

Оборудование и приборы:

- весы лабораторные электронные технические общего назначения с ценой деления не более 0,5 г;
- плитка электрическая бытовая.

Реактивы и материалы:

- лимонная кислота или 1 лимон;
- нитки шерстяные или хлопчатобумажные.

Образцы:

- красное и белое виноградное вино;
- бальзам;
- коньяк;
- напитки-имитации коньяка, бренди, вишневой наливки, амаретто;
- байховый или пакетированный черный и зеленый чай.

К теме 7.

Посуда и инструменты:

- штатив с пробирками;
- маленькие или средние выпарные фарфоровые чашки;
- стеклянные воронки \varnothing 50–75 мм;
- стеклянные палочки;
- пипетки или капельницы;
- пинцеты, держатели;
- ступка фарфоровая с пестиком.

Оборудование и приборы:

- весы лабораторные электронные технические общего назначения с ценой деления не более 0,5 г;
- спиртовка;
- спички;
- водяная баня, плитка электрическая бытовая.

Реактивы и материалы:

- 5 % раствор мёда (готовят в день проведения работы);
- 0,5 % раствор глюкозы или сахарозы (готовят в день проведения работы);
- 0,5 % раствор аспартама (готовят в день проведения работы);
- 2,5–4 % NH_4OH (концентрированный раствор NH_4OH разбавить в 10 раз!);
- 2 н. раствор NaOH , 10 % раствор гидроксида калия (или натрия);
- 2–3 % раствор AgNO_3 ;
- 0,2 н. раствор CuSO_4 (готовят в день проведения работы);
- 10 % раствор сульфата меди;
- раствор Селиванова (0,05 % раствор резорцина в 20 % соляной кислоте, готовят в день проведения работы);
- 0,2 % раствор нингидрина;
- концентрированная азотная кислота;
- бумага фильтровальная.

!Растворы реактивов хранить не более 1 мес.

Образцы:

- кофе натуральный в зернах;
- кофе растворимый сублимационной сушки;
- какао-порошок;
- препараты кофеина (кофеина бензоат натрия или кофеина гидрохлорид дигидрат, в виде таблеток или раствора);
- мёд цветочный натуральный;
- аспартам.

К теме 8.

Посуда и инструменты:

- микропипетки или шприцы с ценой деления 0,001–0,01 мл;
- широкогорлые стеклянные стаканы вместимостью 400–500 мл;
- колбы мерные стеклянные вместимостью 25 см³, 4 шт.

Реактивы и материалы:

- спирт этиловый 96 %;
- смесь растворителей: спирт изопропиловый: гексан (10:1);
- хроматографической пластинки типа Silufol UV 254 или Alufolien 60 F₂₅₄;
- бумага фильтровальная.

Образцы:

- стандартный образец ванилина;
- промышленные образцы ванилина для кондитерской промышленности.

Оборудование и приборы: источник УФ-света.

4 РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ ISO 5492–2014. Органолептический анализ. Словарь.
2. Родина, Т.Г. Сенсорный анализ продовольственных товаров: Учебник / Т.Г. Родина. – М.: Академия, 2004. – 208 с.
3. ГОСТ ISO 11037–2013. Органолептический анализ. Руководство по оценке цвета пищевых продуктов.
4. ГОСТ ISO 3972–2014. Органолептический анализ. Методология. Метод исследования вкусовой чувствительности.
5. ГОСТ Р 53161–2008 (ИСО 5495:2005). Органолептический анализ. Методология. Метод парного сравнения.
6. ГОСТ ISO 10399–2015. Органолептический анализ. Методология. Испытание "дуо-трио".
7. ГОСТ Р 53159–2008. Органолептический анализ. Методология. Метод треугольника.
8. ГОСТ ISO 5496–2014. Органолептический анализ. Методология. Обучение испытателей обнаружению и распознаванию запахов.
9. Химия пищевых продуктов / редакторы-составители Ш. Дамодаран, К.Л. Паркин, Р. Оуэн. – СПб.: Профессия, 2012. – 1039 с.
10. Ладыгин, В.Г. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот / В. Г. Ладыгин, Г. Н. Ширшикова // Журнал общей биологии. – 2006. – Т. 67. – № 3. – С. 163–189.
11. Ладыгин, В.Г. Пути биосинтеза, локализация, метаболизм и функции каротиноидов в хлоропластах различных видов водорослей [Электронный ресурс] / В.Г. Ладыгин // Вопросы современной альгологии. – 2015. – 87 с. (Режим доступа: <http://algology.ru/pdf/Ladygin-Carotenoids-algae.pdf>).
12. Борисова, Г.Г. Основы биохимии вторичного обмена растений: учебно-методическое пособие [Электронный ресурс] / Г.Г. Борисова, А.А. Ермошин, М.Г. Малева, Н.В. Чукина. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2014. – 128 с. (Режим доступа: http://elar.urfu.ru/bitstream/10995/29020/1/978-5-7996-1296-2_2014.pdf).
13. Курегян, А.Г. Спектрофотометрия в анализе каротиноидов / А.Г. Курегян // Фундаментальные исследования. Фармацевтические науки. – 2015. – № 2. – С. 5166–5172.
14. ГОСТ 32197–2013. Изделия макаронные. Методы определения цвета и потемнения на трехкоординатном колориметре.
15. ГОСТ Р 54058–2010. Продукты пищевые функциональные. Метод определения каротиноидов.
16. ГОСТ 8756.8–85. Продукты переработки плодов и овощей. Методы контроля цвета томатопродуктов.
17. ГОСТ Р 54678–2011. Продукты томатные консервированные. Общие технические условия.
18. Аверьянова, Е.В. Физиологически активные вещества растительного сырья: учебное пособие [Электронный ресурс] / Е.В. Аверьянова, М.Н. Школь-

никова, Е.Ю. Егорова. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2010. – 105 с. (Доступ через ЭБС «Ирбис». Режим доступа: <http://irbis.bti.secpa.ru/doc1/2010-123.pdf>).

19. Егорова, Е.Ю. Производство бальзамов и сиропов: учебное пособие (Гриф УМО) / Е. Ю. Егорова, М.Н. Школьникова, М. В. Гернет, Р. А. Зайнулин, Р.В. Кунакова. – СПб.: ИД «Профессия», 2011. – 408 с.

20. Бёккер, Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза [Электронный ресурс] / пер. В.С. Куровой. – М.: РИЦ «Техносфера», 2009. – 472 с. (Доступ через ЭБС «Университетская библиотека online». Режим доступа: http://biblioclub.ru/index.php?page=book_view_red&book_id=89008).

21. EUROPEAN PHARMACOPOEIA 6th EDITION, Art. 01/2008:0747.

22. ГОСТ 28366–89. Реактивы. Метод тонкослойной хроматографии.

23. Коренская, И.М. Лекарственные астения и лекарственное растительное сырье, содержащее антраценпроизводные, простые фенолы, лигнаны, дубильные вещества: учебное пособие [Электронный ресурс] / И.М., Коренская, Н.П. Ивановская, И.Е. Измалкова. – Воронеж, 2007. – 87 с. (Режим доступа: <http://www.pharm.vsu.ru/sources/fg11.pdf>).

24. ГОСТ 24027.2–80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла.

25. Р 4.1.1672–03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 240 с.

26. Минзанова С.Т. и др. Беталаиновые пигменты растительного происхождения: выделение, структура и химические свойства // Бутлеровские сообщения. 2010. Т.19. №2.

Допускается использование информации с официальных сайтов сети *Internet*.

Макет подготовлен и отпечатано в типографии ООО Издательский Дом «Ажур».

Формат 60×84^{1/8}. Бумага офсетная. Печать цифровая. Тираж 300 экз.

Гарнитура «Times New Roman». Усл. печ. л. 4,9.

Подписано в печать 27.04.26. № заказа 28/04_5.

г. Екатеринбург, ул. Восточная, 54, тел. (343) 350-78-28, 350-78-49.