



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA (11) 95879 (13) C2
(51) МПК
G01N 33/04 (2006.01)

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АМІАКУ У СИРАХ

1

2

(21) а201013333

(22) 10.11.2010

(24) 12.09.2011

(46) 12.09.2011, Бюл.№ 17, 2011 р.

(72) ЖУКОВА ЯРОСЛАВА ФРІДРІХІВНА, ЗАХАН-ДРЕВИЧ ОЛЬГА АНАТОЛІЙВНА, КОРОЛЬ ЦВІТА-НА ОЛЕКСАНДРІВНА, СЕМЕНІВСЬКА ОЛЕНА АНАТОЛІЙВНА

(73) ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ІНСТИТУТ МОЛОКА ТА М'ЯСА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

(56) Инихов Г. С., Брио Н. П. Методы анализа молока и молочных продуктов». М., 1971.

Бурштейн А. И. Методы исследования пищевых продуктов, Киев, 1963.

SU 775691, 30.10.1980.

(57) Спосіб визначення аміаку у сирах, що включає приготування проби продукту m , розтирання, фільтрування, відбирання фільтрату, додавання розчину NaOH і реактиву Несслера, і вимірювання коефіцієнту поглинання, який **відрізняється** тим, що продукт розтирають з буферним розчином pH 4,6 у співвідношенні 1:4, нагрівають отриману суміш при температурі +35 - +40 °C протягом 10-12 хв., центрифугують за швидкості 6000 об/хв. протягом 10 хв., відбирають супернатант і до нього

додають трихлороцтову (ТХО) кислоту до кінцевої концентрації 12,5 %, фільтрують, відбирають у мірну колбу 1 см³ з отриманого фільтрату N , додають 7 см³ 3 % NaOH, бідистильовану воду, 0,1 см³ реактиву Несслера і додають бідистильовану воду до загального об'єму 50 см³, перемішують, дають відстоятись 7-10 хв., вимірюють коефіцієнт поглинання E розчину на спектрофотометрі на довжині хвилі 430 нм, визначають кількість аміаку a (мг) в 1 см³ фільтрату за калібрувальним графіком і розраховують вміст аміаку A у 100 г продукту за формулою:

$$A = \frac{a \cdot N \cdot 100}{m},$$

де

A - вміст аміаку, мг в 100 г продукту;

a - кількість мг аміаку в 1 см³ фільтрату, за калібрувальним графіком;

N - об'єм фільтрату, отриманого з m г проби сиру, см³;

m - вага проби продукту, г.

Винахід належить до молочної промисловості, а саме до фізико-хімічних методів аналізу молочних продуктів, призначений для визначення в них вмісту аміаку.

Відомо метод виявлення аміаку та його солей у рідкому молоці (ГОСТ 24066-80. Молоко. Метод определения аммиака). Цей метод за допомогою реактиву Несслера встановлює присутність аміаку та його солей у молоці, але не дає змоги визначити їх кількісний вміст.

Відомо спосіб визначення аміноного азоту, до складу якого крім аміаку входять пептиди, аміді та амінокислоти, у молочних продуктах методом К'ельдаля (Инихов Г.С., Брио Н.П. Методы анализа молока и молочных продуктов. М., 1971). Такий спосіб передбачає тривалі за часом етапи виділення фракцій, їх мінералізацію та обчислення результатів.

Найбільш близьким до винаходу є метод виявлення аміаку у білкових продуктах харчування (Бурштейн А. И. Методы исследования пищевых продуктов, Киев, 1963). Цей метод застосовують для визначення показника свіжості м'яса за допомогою реактиву Несслера.

Реактив Несслера - подвійна сіль йодистої ртуті та йодистого калію, розчиненого у гідроксиді калію - здатний утворювати з аміаком та солями амонію йодид меркурамонію - сполуку, забарвлену у жовто-бурий колір, що є якісною реакцією, причому інтенсивність забарвлення залежить від концентрації аміаку або солей амонію у розчині.

Аміак є продуктом протеолізу, що утворюється упродовж визрівання у деяких сирах, таких як "Камамбер", "Рокфор", "Брі", "Невшатель", тощо, шляхом дезамінування вільних амінокислот під впливом ферментів певних молочнокислих бакте-

(13) C2

(11) 95879

(19) UA

рій та плісень. Аміак надає характеристичного аромату і впливає на фізико-хімічні властивості продукту. Водночас його наявність у сирах або кисломолочних продуктах у надмірній кількості може свідчити про порушення технології виготовлення або термінів зберігання.

Задачею способу визначення аміаку у сирах є створення нового універсального, точного, нетривалого у часі виконання, недорогого способу кількісного визначення аміаку, що використовується для сирів і кисломолочних продуктів.

В способі визначення аміаку у сирах готують пробу продукту вагою m , розтирають з буферним розчином рН 4,6 у співвідношенні 1:4, нагрівають отриману суміш за температури $+(35-40)^{\circ}\text{C}$ упродовж 8-10 хвилин, центрифугують за швидкості 6000 об/хв. упродовж 10-12 хв., відбирають супернатант і до нього додають трихлороцтову кислоту, скорочено ТХО, до кінцевої концентрації 12,5 %, фільтрують, відбирають 1 см^3 з отриманого фільтрату N і додають бідистильовану воду, 7 см^3 3 % NaOH, бідистильовану воду, $0,1\text{ см}^3$ реактиву Несслера, потім додають бідистильовану воду до загального об'єму 50 мл, розчин перемішують, дають відстоятись 7-10 хв. і на спектрофотометрі на довжині хвилі 430 нм вимірюють коефіцієнт поглинання E розчину. За отриманим значенням коефіцієнта поглинання E на калібрувальному графіку (Фіг.) знаходять вміст аміаку a в 1 см^3 фільтрату. Вміст аміаку A в 100 г продукту розраховують за формулою:

$$A = \frac{a \cdot N \cdot 100}{m},$$

де

A - вміст аміаку, мг в 100 г продукту;

a - кількість мг аміаку в 1 см^3 фільтрату;

N - об'єм фільтрату, отриманого з m г проби продукту, см^3 ;

m - вага проби продукту, г.

Спосіб визначення аміаку у сирах виконують таким чином: пробу продукту вагою $m = (10-20)$ г розтирають з буферним розчином рН 4,6 у співвідношенні 1:4, отриману суміш нагрівають у термостаті за температури $+(35-40)^{\circ}\text{C}$ упродовж 10 хвилин. Суміш переносять у центрифужну пробірку і центрифугують за швидкості 6000 об/хв. упродовж 10-12 хв. Отриманий супернатант відбирають у мірний циліндр і додають 50 % ТХО кислоту до кінцевої концентрації 12,5 %, перемішують і дають відстоятись 5-10 хв., фільтрують. У мірну колбу об'ємом 50 см^3 відбирають 1 см^3 з отриманого фільтрату N , додають 20 см^3 бідистильованої води, 7 см^3 3 % NaOH, $0,1\text{ см}^3$ реактиву Несслера і доводять бідистильованою водою до загального об'єму 50 см^3 , розчин перемішують, дають відстоятись 7-10 хв. і вимірюють коефіцієнт поглинання E розчину на спектрофотометрі на довжині хвилі 430 нм. За отриманим значенням коефіцієнта поглинання E на калібрувальному графіку (рис.) знаходять вміст аміаку a в 1 см^3 фільтрату. Вміст аміаку A в 100 г продукту розраховують за формулою:

$$A = \frac{a \cdot N \cdot 100}{m},$$

де

A - вміст аміаку, мг в 100 г продукту;

a - кількість мг аміаку в 1 см^3 фільтрату;

N - об'єм фільтрату, отриманого з m г проби продукту, см^3 ;

m - вага проби продукту, г.

Вага m проби продукту 10-20 г та її співвідношення 1:4 з буферним розчином було визначено емпіричним шляхом. Як буферний розчин рН 4,6 застосовують суміш, що містить 0,2 М ацетат натрію та 0,2 М оцтову кислоту. Додавання 50 % ТХО кислоти у супернатант до кінцевої концентрації 12,5 % призводить до осадження білків супернатанту. Після фільтрування отримуємо фільтрат, який відстоюють 5-10 хв. Відбір 1 см^3 фільтрату у мірну колбу об'ємом на 50 см^3 дозволяє додавати у необхідній кількості та послідовності речовини - бідистильовану воду, NaOH, реактив Несслера. Вимірювання коефіцієнту поглинання E проводять на спектрофотометрі на довжині хвилі 430 нм. Отримане значення коефіцієнта поглинання E порівнюють із даними калібрувального графіку.

Калібрувальний графік будують таким чином:

У мірній колбі розчиняють 3,147 г безводної солі NH_4Cl бідистильованою водою до об'єму 1 дм^3 . Відбирають 10 см^3 приготовленого розчину NH_4Cl у мірну колбу об'ємом 1 дм^3 і знову доводять до позначки бідистильованою водою. Отриманий розчин NH_4Cl , в 1 см^3 якого міститься 0,01 мг аміаку, вносять у мірні колби об'ємом на 50 см^3 в зростаючій кількості: 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 1,3; 1,6; 2,0; 2,3; 2,6; 3,0; 3,5; 4,0; $4,5\text{ см}^3$. Потім до кожної мірної колби додають по 5 см^3 бідистильованої води, по 1 см^3 12,5 % ТХО, ретельно перемішують і знову додають по 10 см^3 бідистильованої води, по 7 см^3 3 % NaOH, додають по 20 см^3 бідистильованої води, по $0,1\text{ см}^3$ реактиву Несслера. Розчин у кожній мірній колбі доводять бідистильованою водою до 50 см^3 і ретельно перемішують. Утворена рідина має послідовне забарвлення від світло-жовтого до насиченого жовтого кольору. Коефіцієнт поглинання розчину E кожної колби вимірюють на спектрофотометрі на довжині хвилі 430 нм.

Згідно з отриманими даними будують калібрувальний графік - Фіг. На осі Y відкладають дані коефіцієнту поглинання E розчину у кожній колбі на довжині хвилі 430 нм, а на осі X - концентрацію аміаку a розчину у кожній колбі, мг/см^3 .

За отриманим значенням коефіцієнта поглинання E проби продукту на калібрувальному графіку знаходять вміст аміаку a в 1 см^3 фільтрату. Вміст аміаку A в 100 г продукту розраховують за формулою:

$$A = \frac{a \cdot N \cdot 100}{m},$$

де

A - вміст аміаку, мг в 100 г продукту;

a - кількість мг аміаку в 1 см^3 фільтрату;

N - об'єм фільтрату, отриманого з m г проби продукту, см^3 ;

m - вага проби продукту, г.

Для дослідження було взято сири сичужні м'які з білою пліснявою та сир сичужний напівтвердий з блакитною пліснявою, сир кисломолочний, сир сичужний твердий, йогурт.

Приклади виконання способу визначення аміаку у сирах

Приклад 1

Пробу продукту $m = 10$ г сиру кисломолочного із вмістом жиру 9 % розтирають з буферним розчином рН 4,6 у співвідношенні 1:4, отриману суміш нагрівають у термостаті за температури $(35 \pm 5)^\circ\text{C}$ упродовж 10 хвилин. Суміш переносять у центрифужну пробірку і центрифугують за швидкості 6000 об/хв. упродовж 10 хв. Отриманий супернатант відбирають у мірний циліндр і додають 50 % ТХО кислоту до кінцевої концентрації 12,5 %, перемішують і дають відстоятись 5-10 хв., фільтрують. Отримують фільтрат N об'ємом 25 см^3 . У мірну колбу об'ємом 50 см^3 відбирають фільтрат кількістю 1 см^3 , додають 20 см^3 бідистильованої води, 7 см^3 3 % NaOH, $0,1\text{ см}^3$ реактиву Несслера і доводять загальний об'єм до 50 см^3 бідистильованою водою, перемішують, дають розчину відстоятись 7-10 хв. і вимірюють коефіцієнт поглинання розчину на спектрофотометрі на довжині хвилі 430 нм.

Коефіцієнт поглинання $E = 0,002$. Згідно з калібрувальним графіком (Фіг.) коефіцієнту поглинання відповідає $a = 0,357 \cdot 10^{-4}$ мг аміаку в 1 см^3 фільтрату. Розраховуємо за формулою:

$$A = \frac{a \cdot N \cdot 100}{m} = (0,357 \cdot 10^{-4}) \cdot 25 \cdot 100 / 10 = 0,009 \text{ мг.}$$

Вміст аміаку у 100 г сиру кисломолочного становить 0,009 мг.

Приклад 2

Виконують аналогічно прикладу 1 за винятком: беруть сир "Російський" із вмістом жиру 45 %.

Коефіцієнт поглинання $E = 0,001$. Згідно з калібрувальним графіком (Фіг.) коефіцієнту поглинання відповідає $a = 0,3348 \cdot 10^{-4}$ мг аміаку в 1 см^3 фільтрату. За формулою розраховуємо вміст аміаку у 100 г сиру "Російський" - 0,008 мг.

Приклад 3

Виконують аналогічно прикладу 1 за винятком: беруть сир "Камамбер" із вмістом жиру 60 %.

Коефіцієнт поглинання $E = 0,295$. Згідно з калібрувальним графіком (Фіг.) коефіцієнту поглинання відповідає $a = 7,032 \cdot 10^{-4}$ мг аміаку в 1 см^3 фільтрату. За формулою розраховуємо вміст аміаку у 100 г сиру "Камамбер" - 0,176 мг.

Приклад 4

Виконують аналогічно прикладу 1 за винятком: беруть сир "Брі" із вмістом жиру 60 %.

Коефіцієнт поглинання $E = 0,450$. Згідно з калібрувальним графіком (рис.) коефіцієнту поглинання відповідає $a = 10,562 \cdot 10^{-4}$ мг аміаку в 1 см^3 фільтрату. За формулою розраховуємо вміст аміаку у 100 г сиру "Брі" - 0,264 мг.

Приклад 5

Виконують аналогічно прикладу 1 за винятком: беруть сир "Гонзона Данаблу" із вмістом жиру 50 %.

Коефіцієнт поглинання $E = 0,465$. Згідно з калібрувальним графіком (рис.) коефіцієнту поглинання відповідає $a = 10,904 \cdot 10^{-4}$ мг аміаку в 1 см^3 фільтрату. За формулою розраховуємо вміст аміаку у 100 г сиру "Гонзона Данаблу" - 0,273 мг.

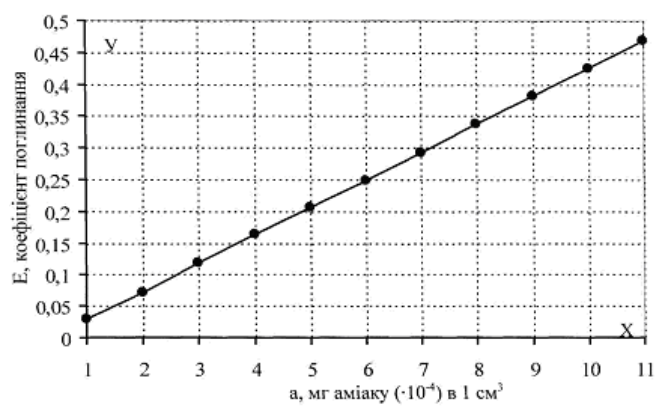
Приклад 6

Виконують аналогічно прикладу 1 за винятком: беруть "Йогурт" із вмістом жиру 2,5 %.

Коефіцієнт поглинання $E = 0,001$. Згідно з калібрувальним графіком (рис.) коефіцієнту поглинання відповідає $a = 0,3348 \cdot 10^{-4}$ мг аміаку в 1 см^3 фільтрату. За формулою розраховуємо вміст аміаку у 100 г "Йогурту" - 0,008 мг.

З наведених прикладів видно, що спосіб визначення аміаку у сирах дозволяє виявляти наявність аміаку у рідких молочних продуктах і сирах та проводити вимірювання незалежно від масової частки жиру у продукті.

Даний спосіб визначення аміаку у сирах є універсальним і ефективним, що заощаджує час вимірювань. Цей спосіб не вимагає складної апаратурної бази та реактивів, що мають високу вартість. Цей спосіб дозволяє проводити вимірювання аміаку незалежно від масової частки жиру у продукті. Спосіб дозволяє виявляти наявність аміаку у рідких молочних продуктах і сирах.



Калібрувальний графік

Фіг.