

Л.М.БОЙКО

ФИЗИКО- ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ БРОДИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Справочник

**Киев
«Техніка»
1986**

36.87я2
Б77
УДК 633

Бойко Л. М.

Б77 Физико-химические методы контроля бродильных производств: Справочник — К.: Техніка, 1986.—200 с., ил.— Библиогр.: с. 187—188.

В пер.: 95 к. 2000 экз.

В справочнике впервые обобщены и систематизированы сведения о современных физико-химических методах анализа в производстве спирта, хлебопекарных и кормовых дрожжей, солода и пива, безалкогольных напитков. Приведены характеристики приборов, их принципиальные схемы, области применения.

Рассчитан на инженерно-технических работников пищевой промышленности. Может быть полезен студентам вузов соответствующих специальностей.

Б 2908000000-099
М202(04)-86 119.86

36.87я2

Рецензенты: канд. техн. наук *В. Ф. Суходол*, *Л. Е. Купреенкова*

Редакция литературы по легкой, пищевой промышленности, торговле и бытовому обслуживанию
Зав. редакцией *Э. А. Степанова*

В Основных направлениях экономического и социального развития на 1986 — 1990 годы и на период до 2000 года отмечается, что необходимо последовательно усиливать режим экономии, являющийся одним из важнейших факторов интенсификации производства.

Вопросы повышения эффективности использования сырьевых, топливно-энергетических ресурсов весьма актуальны для пищевой промышленности, так как она является крупной материалоемкой отраслью народного хозяйства.

В различных отраслях пищевой промышленности используется дефицитное и дорогостоящее сырье — зерновые культуры, ферментные препараты, солод, сахар, меласса, плодово-ягодные соки и др.

Рациональную переработку сырья и высокое качество продукции можно обеспечить только при использовании прогрессивных методов контроля производства. Так, для обеспечения высокого выхода и качества хлебопекарных и кормовых дрожжей требуется осуществлять на предприятии оперативный контроль химического состава мелассы. Повышенная цветность, кислотность и ряд других показателей мелассы влияют на брожение, снижают количество биомассы и содержание белка в дрожжах. Изучение химического состава мелассы позволяет управлять технологическим процессом и обеспечивать необходимое качество кормовых дрожжей, содержание белка в них.

Ускорение научно-технического прогресса и рост эффективности производства также требуют внедрения самых современных методов контроля качества сырья, полупродуктов и готовой продукции.

Наибольший эффект производства достигается на пищевых предприятиях с высоким уровнем организации химико-технологического контроля, оснащенных современной измерительной аппаратурой. Применение физико-химических методов анализа позволит совершенствовать технику и технологию, управлять непрерывными и ускоренными процессами производства, глубоко изучать свойства ферментов, микроорганизмов, состав сырья, полупродуктов и готовой продукции, а также будет способствовать повышению качества продукции, автоматизации контроля производства.

Применение в промышленности фотоколориметрических методов определения несброженных углеводов в бражке обеспечивает уменьшение потерь сахара в производстве, способствует разработке автоматических анализаторов углеводов, которые в скором времени будут выпускаться отечественным приборостроением.

В отраслях бродильной промышленности необходимо внедрять прогрессивные физико-химические методы анализа, отвечающие современному уровню технологии, требованиям стандартизации и научно-технического прогресса.

Для организации современного контроля производства требуется не только оснащение лаборатории измерительной аппаратурой, но и высокая профессиональная подготовка кадров. Между тем в литературе отсутствуют систематизированные данные о приборах и физико-химических методах анализа для контроля бродильных производств.

В справочник включены такие методы, которые в настоящее время широко используются в пищевой промышленности, и такие, внедрение которых ожидается в ближайшее время.

Отзывы и пожелания просим направлять по адресу: 252601, Киев, 1, Крещатик, 5, издательство «Техніка».

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

ЗНАЧЕНИЕ, СУЩНОСТЬ, КЛАССИФИКАЦИЯ И ТОЧНОСТЬ

Физико-химические методы анализа позволяют достаточно точно и быстро определить состав сырья, полупродуктов, изделий.

Использование современных приборов обеспечивает точность, воспроизводимость и объективность результатов, позволяет сократить продолжительность анализа. Важным является также и то, что для физико-химических методов анализа требуется небольшой объем исследуемой пробы.

Физико-химические методы анализа используются для оценки качества ферментных препаратов, крахмалистого сырья, солода, мелассы, спирта, ликеро-водочных изделий, пива, безалкогольных напитков и др. Они позволяют глубже изучить химический состав технологических сред и разработать эффективную технологию. Так, с помощью методов хроматографии исследован качественный и количественный состав углеводов, аминокислот, органических кислот, эфиров, альдегидов, высших спиртов и усовершенствованы процессы брожения, культивирования кормовых дрожжей, брагоректификации, а также получены новые виды напитков.

С использованием физико-химических методов значительно возросла чувствительность и точность количественного анализа химических соединений, формирующих аромат и вкус изделий. Появилась возможность определять ароматические компоненты с очень низким содержанием — 10^{-7} %, а также одновременно исследовать количественно и качественно десятки компонентов, что значительно сокращает продолжительность анализов.

Сущность физико-химических методов анализа заключается в изучении соотношений между составом и свойствами химических систем. Изменения физических свойств системы (преломление света, электрическая проводимость, поглощение света и др.), происходящие в результате химических или электрохимических реакций, зависят от концентрации определяемого компонента.

Различают прямые и косвенные физико-химические методы анализа.

При прямых методах измеряемое свойство (сигнал) зависит от концентрации определяемого компонента непосредственно.

Например, концентрацию ионов водорода определяют путем измерения потенциала стеклянного электрода в водном растворе.

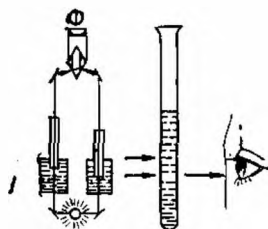
В косвенных методах изменение свойств системы используется для определения момента завершения реакции между

1. Классификация некоторых физико-химических методов анализа

Метод анализа	Используемое физическое явление	Измеряемая физическая величина
Оптический: рефрактометрия интерферометрия поляриметрия	Преломление света веществом Интерференция света Вращение плоскости поляризации света веществом	Показатель преломления Разность показателей преломления Удельное вращение
Фотометрический: спектрофотометрия	Поглощение молекулами и ионами, находящимися в растворе, монохроматического излучения	Интенсивность светового потока, прошедшего через раствор
фотоколориметрия	Поглощение раствором окрашенного вещества полихроматического излучения	Интенсивность светового потока, прошедшего через раствор
фотонейлометрия	Рассеяние и отражение светового потока суспензий или коллоидным раствором	Интенсивность светового потока, рассеянного суспензией вещества
фототурбидиметрия	Рассеяние и отражение светового потока суспензий или коллоидным раствором	Интенсивность светового потока, прошедшего через слой суспензии
Электрометрический: потенциометрия	Изменение электродных потенциалов системы в ходе химической реакции	Электродный потенциал
кондуктометрия	Изменение электрической проводимости раствора в процессе химической реакции	Электрическая проводимость, электросопротивление
полярография	Поляризация электрода	Сила тока, напряжение
Хроматографический: газовая	Избирательная адсорбция	Показатель разделения веществ (хроматографический пик)
бумажная	То же	Коэффициент разделения веществ
тонкослойная	»	То же

определяемым веществом и реагентом (нахождение конечной точки титрования).

Иногда физико-химические методы анализа называют инструментальными, так как для измерения сигналов используется аппаратура.



Физико-химическими методами анализа определяют оптические или электрические свойства, которые зависят от концентрации искомого вещества в растворе. Классификация некоторых физико-химических методов анализа приведена в табл. 1.

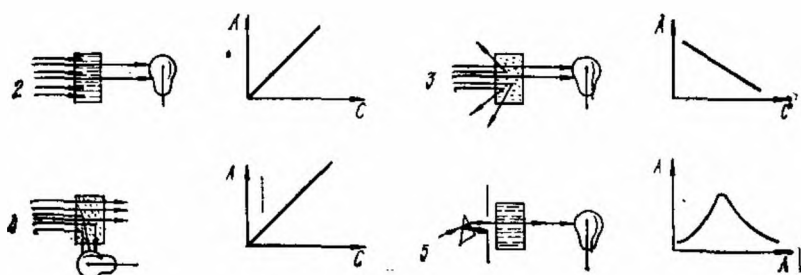


Рис. 1. Методы фотометрических определений:

1 — колориметрия; 2 — фотоколориметрия; 3 — турбидометрия; 4 — нефелометрия; 5 — спектрофотометрия; A — поглощение; C — концентрация; λ — длина волны.

Фотометрические методы основаны на определении концентрации веществ путем измерения взаимодействия электромагнитного излучения с анализируемым веществом. Они подразделяются в зависимости от длины волны, способа измерений и ширины полосы измеряемого излучения (рис. 1).

2. Рабочая область спектра фотометрических методов анализа

Метод анализа	Рабочая область спектра	Монохроматор	Способ регистрации светопоглощения
Фотоколориметрия	Видимая	Светофильтры	Фотоэлектрический
Фотонепелометрия	Видимая, ультрафиолетовая, инфракрасная	Монохроматоры	То же
Спектрофотометрия	Видимая, ультрафиолетовая, инфракрасная	Дифракционная решетка, призма	»

Рабочая область спектра фотометрических методов анализа приведена в табл. 2. Характеристика электромагнитного спектра приведена в табл. 3.

3. Характеристика электромагнитного спектра

λ , см · 10 ⁻⁴										10 ⁻⁴
λ , нм	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000 1100
УФ-область		Видимая область			ИК-область					
Дальняя (вакуумная)	Ближняя		Видимые спектральные цвета		Ближняя	Фундамен- тальная		Дальняя		
ν	10 ⁶	5 · 10 ⁴	2,5 · 10 ⁴		1,3 · 10 ⁴		10 ⁴	9 · 10 ³		см ⁻¹
Электронные спектры					Колебательные спектры			Вращательные спектры		

Для практических целей используется ультрафиолетовая область спектра (УФ) в интервале 200—380 нм; видимая область спектра (В) — область электромагнитного спектра, видимая человеческим глазом, интервал 380—780 нм; инфракрасная область спектра (ИК) — область электромагнитного излучения от 800 нм до 20 мкм.

В зависимости от длины волны различают спектрофотометрию в В-, УФ- и ИК- областях спектра. ИК-спектрофотометрия, нефелометрия и турбидиметрия еще не получили распространения в контроле бродильных производств.

Хроматографические методы разделения смесей веществ основаны на распределении их между двумя фазами, из которых одна является подвижной, а вторая — неподвижной. Разделение веществ при помощи методов хроматографии происходит потому, что компоненты смесей вместе с подвижной фазой перемещаются через слой неподвижной фазы со скоростью, зависящей от сил взаимодействия каждого компонента с одной и другой фазами. Различие в величинах этих взаимодействий приводит к разности в скоростях движения компонентов через слой неподвижной фазы, в результате чего достигается их разделение.

В настоящее время известно несколько классификаций методов хроматографии.

В зависимости от механизма процесса распределения компонентов смеси между подвижной и неподвижной фазами хроматография делится на: адсорбционную, основанную на различии в адсорбируемости компонентов смеси на данном сорбенте; распределительную хроматографию, основанную на

различии в растворимости компонентов смеси в подвижной и неподвижной фазах или на различии в стабильности образующихся комплексов; ионообменную хроматографию, основанную на различии констант ионообменного равновесия; осадочную хроматографию, основанную на различной растворимости осадков в подвижной фазе; гель-проникающую хроматографию, основанную на различии в проницаемости разделяемых веществ в неподвижную фазу — гель и обусловленную размерами их молекул.

В зависимости от способа выполнения процесса хроматография делится на: хроматографию на бумаге, процесс проводят на специальной бумаге; тонкослойную хроматографию — процесс проводят в тонком слое сорбента, нанесенного на пластинку из стекла или другого материала; колоночную хроматографию — процесс проводят в колонке; капиллярную хроматографию — процесс проводят в капиллярной колонке.

В зависимости от способа перемещения разделяемой смеси в колонке: проявительная хроматография — периодическое введение анализируемой смеси в поток подвижной фазы, после чего колонку промывают растворителем или газом-носителем.

Фронтальная хроматография представляет собой пропускание через колонку с сорбентом непрерывным потоком анализируемого раствора или газовой смеси.

Вытеснительная хроматография — введение в колонку после анализируемого раствора «вытеснителя», который сорбируется сильнее, чем компоненты исследуемой смеси.

В зависимости от агрегатного состояния подвижной и неподвижной фаз хроматография может быть жидкостной (подвижная фаза — жидкость) и газовой (подвижная фаза — газ).

В контроле бродильных производств в настоящее время нашли применение газовая, распределительная на бумаге и тонкослойная хроматография.

Физико-химические методы анализа обладают значительно большей специфичностью и чувствительностью по сравнению с химическими. Чем меньшее количество вещества вступает в реакцию с данным реактивом, тем более специфична данная реакция.

Чувствительность физико-химических методов определяется двумя факторами: интенсивностью измеряемого физического свойства и чувствительностью детекторов сигнала в приборе. К малоинтенсивным свойствам относится, например, ряд оптических свойств — преломление светового луча и вращение плоскости поляризации света, вследствие чего рефрактометрия и поляриметрия имеют низкую чувствительность и применяются при анализе сравнительно концентрированных растворов веществ.

Порог чувствительности некоторых физико-химических методов анализа приведен ниже.

Метод анализа	Предел обнаружения, г
Фотоколориметрия	10^{-6}
УФ-спектрофотометрия	10^{-8}
Полярография	10^{-8}
Тонкослойная хроматография	10^{-7}
Газовая хроматография. Хроматографы с детекторами:	
пламенно-ионизационным	10^{-10}
электронно-захватным	10^{-13}

Чувствительность и точность физико-химических методов анализа систематически повышается, так как регистрирующая аппаратура совершенствуется.

Результаты измерений на аналитических приборах наблюдаются визуально (по отсчетной шкале) или прибор регистрирует их автоматически (на ленте самописца). Различают нерегистрирующие и регистрирующие аналитические приборы. К нерегистрирующим относятся, например, фотоколориметры, отсчет показаний у которых производят визуально по шкале измерительного барабана, а к регистрирующим — газовые хроматографы, выдающие результаты на ленте самописца.

Точность большинства физико-химических методов анализа, применяемых в контроле бродильных производств, составляет $\pm 2 - 5$ отн. %, что, в основном, отвечает требованиям технологии.

На точность этих методов, помимо общих аналитических причин, влияют химические реакции, используемые в методе, и способ регистрации результатов измерений.

При выполнении любого анализа требуется высокая точность и аккуратность проведения всех операций. От техники работы, умения ее выполнить зависят результаты анализа и правильная оценка качества веществ и материалов.

Своевременное получение результатов анализа позволяет при необходимости изменить ход процесса, устранить выпуск брака, перерасход сырья и др.

Точность полученных результатов анализа зависит от многих факторов. В физико-химических методах таких факторов больше, чем в химических, что связано с использованием сложной аппаратуры и методов расчета результатов анализа. Ошибки физико-химических методов анализа складываются из большого числа частных ошибок, в которые входят: ошибки взвешивания, измерения объемов, приготовления растворов, построения градуировочных графиков, работы прибора, коэффициента разведения исследуемых растворов, расче-

та результатов анализа и др. Поэтому при выполнении физико-химических методов анализа требования к технике лабораторных работ особенно возрастают.

АНАЛИЗ ОШИБОК

При выполнении физико-химических методов малейшая неточность в работе значительно искажает результаты анализа. В процессе анализа, как правило, используются растворы, разведенные многократно, или исследуются низкие концентрации веществ, поэтому при вычислениях ошибка многократно возрастает.

Точность анализа зависит от соблюдения правил при отборе проб, хранении, подготовке их к анализу; чистоты химических соединений, используемых в качестве реактивов и стандартных растворов; изменения свойств и чистоты реактивов при хранении и др.

Источником ошибок могут быть разнообразные факторы: неравномерность образца, неоднородность, неомогенность пробы; нарушение техники анализа; неточность измерений объемов растворов — объемная ошибка, капельная ошибка (часто при анализе не учитывают последние капли, истекающие из пипеток, бюреток. Объем капли обычно равен $0,02—0,03 \text{ см}^3$, поэтому капельная ошибка значительно влияет на результаты анализа); изменение свойств реактивов при хранении; неправильный коэффициент разведения растворов; неполнота протекания химической или биохимической реакции; нарушение условий выполнения анализа — температуры, pH, концентрации растворов (наиболее часто температурная ошибка); изменение объема измерительной посуды в результате длительной эксплуатации (использование пипеток с отбитым носиком); неправильное построение градуированного графика; неустойчивость работы прибора, которая в некоторых случаях может быть вызвана наличием переменного магнитного поля от расположенных вблизи электродвигателей и другого электрооборудования; неправильная калибровка и настройка прибора; нарушение стабильности работы прибора из-за изменения напряжения электропитания; нарушение правил работы на приборах; неправильная установка шкалы на нуль и градуировка прибора; вращающаяся стрелка измерительной шкалы прибора; неправильный отсчет по шкале прибора; ошибки в вычислениях.

Для получения точных результатов на приборе обычно рекомендуют проводить не менее 2—3 измерений, затем их обработать и принять средний результат.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ВЫПОЛНЕНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Для получения точных и воспроизводимых результатов анализа необходимо строго соблюдать определенные правила.

Правила работы с приборами

Приборы должны быть установлены стационарно, на специальных лабораторных столах или полках, жестко вмонтированных с помощью металлических кронштейнов в капитальные стены. При этом стене не должны передаваться колебания от двигателей большой мощности, электродвигателей и др.

Запрещается размещать приборы вблизи отопительных батарей и источников освещения. Нельзя допускать, чтобы на приборы падал прямой солнечный свет. На оптические и электрические схемы, настройку шкал приборов оказывают вредное влияние механические колебания, резкие изменения температуры, загрязненность воздуха парами кислот, хлора, сероводорода, а также вибрация, толчки и пыль. Рекомендуется устанавливать приборы в изолированной комнате, защищенной от проникновения паров, газа, пыли и не подверженной большим механическим колебаниям с температурой воздуха 10—35 °С и относительной влажностью не более 80 %. Воздух не должен содержать вредные примеси.

Не допускается разбирать приборы и чистить оптические детали. Перед проведением измерений аналитические приборы (рефрактометры, поляриметры, фотоколориметры, рН-метры и др.) надо настроить. Калибровка и настройка проводятся специальными приемами с помощью стандартов с известными эталонами (рН, оптическое поглощение, концентрация и др.).

Организация лабораторных работ

Прежде чем приступить к анализу, следует организовать рабочее место, ознакомиться с характеристикой приборов, изучить правила работы на них, провести инструктаж по технике безопасности.

Перед началом работы готовят необходимые для анализа реактивы и посуду. Слянки с реактивами должны находиться на постоянных местах, не рекомендуется переносить их с одного стола на другой.

Мерная посуда должна быть чистой. Вода должна стекать со стенок ровно, нигде не оставляя капель. Появление капель

указывает на то, что стекло загрязнено жировыми веществами, при этом мениск получается искаженным и при выливании жидкости часть ее останется на стенках.

Анализы следует выполнять в строгом соответствии с действующими стандартами и инструкциями, т. е. применять оборудование, материалы, реактивы и лабораторную посуду, отвечающие требованиям нормативно-технической документации.

Запрещается оставлять действующий прибор или установку без надзора, а также пользоваться неисправными электроприборами. По окончании работы надо выключить электроприборы, перекрыть газ и водопроводные краны и убрать рабочее место.

Результаты количественного определения подвергают математической обработке, устанавливая воспроизводимость и правильность анализа, после чего их записывают в лабораторный журнал (рабочую тетрадь).

От правильной организации труда в лаборатории зависит точность результатов анализа. Следует так спланировать свою работу, чтобы была возможность совмещать однотипные операции. Для этого полезно составить график выполнения отдельных аналитических операций.

Отбор проб

Так как для проведения анализа используется малый объем вещества, то требования к правилам отбора проб повышены.

Сам способ отбора зависит от агрегатного состояния и степени однородности вещества. Трудно отбирать пробы гетерогенных (неоднородных), крупнозернистых и вязких материалов.

Сырье и полупродукты бродильных производств (зерно, меласса, осахаривающие материалы, замес, сусло, бражка) неоднородны по составу. Для того чтобы проба максимально соответствовала контролируемой партии, ее отбирают в соответствии со стандартами, химико-технологическими инструкциями.

Специальные требования предъявляются к отбору проб зерна, мелассы, что отражено в соответствующих стандартах.

В зависимости от назначения в аналитической практике пробы подразделяются на индивидуальные, средние и контрольные.

И н д и в и д у а л ь н а я (разовая, точечная) проба характеризует качество продукта в одном месте (емкость, мешок, бочка и т. д.) или на определенном уровне. Индивидуальную пробу отбирают в один прием.

Средняя проба состоит из нескольких индивидуальных проб, отобранных на различных уровнях в одной или нескольких емкостях. Она определяет среднее количество материала в одной или нескольких партиях и соответствует физическому и химическому составу основной массы вещества. Для приготовления средней пробы взятые индивидуальные пробы хорошо перемешивают в сосуде емкостью в 1,5—2 раза большей, чем общий объем средней пробы. После перемешивания среднюю пробу поровну переносят в два чистых и сухих сосуда, приготавливая таким образом контрольную и арбитражную пробы.

Контрольная проба является частью индивидуальной или средней пробы и предназначена для контрольного анализа. Контрольную пробу, хранящуюся на случай арбитражного анализа, называют арбитражной. Такую пробу печатают или пломбируют и хранят в кладовой ОТК на случай арбитражного анализа в течение срока годности.

Поверка приборов

Точность измерений зависит от соблюдения правил эксплуатации, выполнения графиков поверок и технического надзора, осуществляемого на предприятии.

Поверка приборов — важнейшее организационно-техническое мероприятие метрологического обеспечения достоверности результатов анализа. Правила проведения поверок средств измерений устанавливает ГОСТ 8.513—84.

Госстандарт периодически издает перечни конкретной номенклатуры рабочих средств измерений, подлежащих обязательной государственной поверке, которую проводят территориальные органы Госстандарта.

Поверка средств измерений органами Госстандарта может осуществляться в поверочных лабораториях или непосредственно на предприятиях госповерителем, командированным на предприятие по его заявке.

Обработка результатов анализа, классификация ошибок

Согласно ГОСТ 16263—70 «Метрология. Термины и определения», точность результатов анализа должна оцениваться сходимостью, воспроизводимостью и правильностью измерений, т. е. основными метрологическими характеристиками химико-аналитического процесса, определяющими точность, единство и качество измерений.

Сходимость измерений — качество, отражающее близкие по значению результаты измерений, выполненных в одинаковых условиях.

Воспроизводимость измерений — качество, отражающее близкие значения результатов измерений, выполненных в различных условиях (в разное время в различных местах, различными лицами и средствами). Правильность измерений — качество, отражающее значения систематических ошибок, близких к нулю.

Ошибки по характеру возникновения подразделяются на случайные, систематические и грубые или промахи.

Случайные ошибки возникают в результате неустойчивости реагентов, нарушения чувствительности прибора и техники анализа: добавлена лишняя капля раствора, неточно взята навеска вещества, неправильно установлена температура и др.

Для выравнивания отдельных случайных отклонений от истинного значения определяемой величины, результаты анализа обрабатывают, используя методы математической статистики.

Систематические ошибки — это постоянные или закономерные ошибки для данной серии определений. Возникают они из-за неправильной работы измерительных приборов, погрешностей мерной посуды, весов, неправильно составленной методики и др.

Например, при использовании прибора с неточно отградуированной шкалой или раствора с неправильно установленным титром все результаты анализа будут содержать одну и ту же систематическую ошибку. Систематические ошибки обычно имеют один знак, т. е. при всех измерениях получаются результаты, отклоняющиеся от истинного значения в одну сторону.

Грубые ошибки или промахи возникают в результате небрежного выполнения анализа, неверных отсчетов, неправильных записей и др. При грубых ошибках полученный результат резко отличается от величины параллельных определений.

При обработке экспериментальных данных результаты с грубыми ошибками следует выявлять и отбрасывать.

Случайные ошибки влияют на воспроизводимость результатов, а систематические — на правильность анализа. Воспроизводимость и правильность измерений в совокупности определяют точность анализа.

Точность анализа зависит не только от методики, но и от числа параллельных определений. Для получения точных результатов требуется провести определенное число параллельных анализов.

По степени и виду отклонения полученного результата от истинного различают ошибки абсолютные, относительные и средние квадратичные.

Абсолютная ошибка — это разность между результатом наблюдения или измерения (x_i) и истинной (a) или средней ($\bar{x}$) величиной:

$$\Delta_0 = x_i - \bar{x}.$$

Относительная ошибка — это отношение абсолютной ошибки к истинному или среднему результату:

$$\Delta = (\Delta_0/a) 100 \%, \text{ или } \Delta = (\Delta_0/\bar{x}) 100 \%.$$

Средние квадратичные ошибки подразделяются на дисперсию, стандартное отклонение отдельного результата и стандартное отклонение среднего результата.

Средние квадратичные ошибки используют для оценки аналитического метода с помощью математической обработки результатов анализа.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

При выполнении параллельных анализов получают результаты, отличающиеся друг от друга по величине. Разность между наибольшим и наименьшим результатом дает представление о качестве выполненных анализов. Любой полученный результат не является истинным, так как он обязательно включает в себя ошибки измерений. Фактически определяют не истинное значение величины, а те пределы, в которых оно должно находиться с данной степенью точности.

Отношение определенного значения (x) к общему числу возможных результатов (n) является мерой вероятности: $P = x/n$. Вероятности значений в большинстве случаев неодинаковы; а сумма вероятностей всех возможных значений случайной величины всегда равна 1.

По мере приближения 1 достоверность получения того или иного результата возрастает, закон распределения результатов характеризует связь между значениями случайной величины и вероятностями этих значений, т. е. совокупности значений общего числа возможных результатов и вероятности.

Для большинства исследований существенны две вероятности — 0,95 и 0,99, которые называют доверительными, т. е. такими, значения которых можно доверять и уверенно ими пользоваться, которые также принято выражать в процентах.

Определенным значениям вероятности соответствуют так называемые уровни значимости (вероятность ошибки). Вероятности 0,95 (95 %) соответствует уровень значимости 0,05 (5 %), а вероятности 0,99 (99 %) — уровень значимости 0,01 (1 %). С помощью уровня значимости можно установить, в каком проценте случаев возможна ошибка в результатах. Напри-

мер, уровень значимости, равный 5 %, указывает, что в силу случайности возможна ошибка в 5 % случаев наблюдения. Выбор уровня вероятности зависит от поставленных целей. При статистической обработке результатов в большинстве случаев можно принять низкий уровень вероятности (0,95) и соответственно уровень значимости 0,05.

Интервал значений, в который попадает измеряемая величина, называют доверительным интервалом. Вероятность попадания нового результата в доверительный интервал называют доверительной вероятностью, надежностью или коэффициентом надежности.

Надежность найденного результата — 95 % в обычной аналитической работе считается достаточной, при этом допустимые расхождения должны составлять не более 5 %.

Для обработки результатов анализа используют формулы, рассматриваемые в курсе математической статистики.

Методы математической обработки результатов анализа подробно изложены в литературе, в том числе и для контроля бродильных производств.

Методы математической статистики позволяют оценить точность аналитического метода; вычислить воспроизводимость анализа; сравнить точность двух и более методов анализа, а также определить промахи.

Для количественной оценки точности физико-химических методов на основании данных параллельных анализов находят среднее значение случайной величины (среднее арифметическое):

$$\bar{x} = \sum x_i / n,$$

где x_i — значение каждого измерения; n — число измерений.

Среднюю квадратичную ошибку единичного определения находят по формуле

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}}$$

и выражают в относительных процентах ($S/\bar{x}$) 100 %.

Из классической теории вероятности известно, что погрешность отдельного измерения может быть больше средней квадратичной. В 5 % всех случаев (что соответствует уровню надежности 0,95) погрешность отдельного измерения может быть больше $2S$. На практике часто приходится пользоваться результатами единичного определения. Поэтому необходимо указать границы интервальных значений измеряемой величины (доверительный интервал) и вероятную относительную ошибку единичного определения. В эти расчеты входят: средняя квадратичная ошибка среднего значения случайной вели-

чины $S_x = S_x/\sqrt{n}$; доверительный интервал $\Delta x = tS_x$ и результат $x \pm \Delta x$.

Здесь t — коэффициенты нормированных отклонений (для малого числа наблюдений), который находят по табл. 4.

4. Коэффициенты нормированных отклонений (для малого числа наблюдений)

n	При доверительной вероятности				n	При доверительной вероятности			
	0,9	0,95	0,99	0,999		0,9	0,95	0,99	0,999
2	6,3	12,71	63,66	636,62	7	1,9	2,45	3,71	5,96
3	2,9	4,30	9,93	31,60	8	1,9	2,37	3,50	5,41
4	2,4	3,18	5,84	12,94	9	1,9	2,31	3,36	5,04
5	2,1	2,78	4,60	8,61	10	1,8	2,26	3,25	4,8
6	2,0	2,57	4,03	6,86					

Полученные параллельные определения одного и того же образца используют не только для проверки полученного результата (исключения грубых ошибок), но и для увеличения точности определений, так как среднее арифметическое, полученное от нескольких цифр ближе к истине. Параллельные определения должны быть близкие по значению. Если результаты двух-трех определений сильно различаются, то ни одному из этих результатов верить нельзя. Надо найти источник погрешностей, устранить их и повторить определения до получения удовлетворительной сходимости. Хорошая сходимость параллельных определений не является показателем того, что результаты совпадают с истинным содержанием компонента. Она указывает лишь на отсутствие грубых случайных погрешностей и на то, что систематическая погрешность во всех случаях была почти одинаковой.

Практически более 5—6 параллельных определений делать не следует. Рекомендуются для практических анализов проводить два-три тщательных определения. При хорошей сходимости принимают среднее значение.

Все вычисления результатов анализа проводят с точностью, соответствующей точности выполненного анализа. В результатах вычислений должно быть столько значащих цифр, чтобы только последняя из них могла быть недостоверной. Точность всех вычислений не может быть выше точности наименее точного из чисел, входящих в данное вычисление.

Пример. Проведено пять определений крахмальности зерна, %: $x_1 = 57,38$; $x_2 = 57,27$; $x_3 = 57,33$; $x_4 = 57,39$; $x_5 = 57,24$.

1. Вычисляем среднее арифметическое из числа параллельных определений:

$$x = \frac{57,38 + 57,27 + 57,33 + 57,39 + 57,24}{5} = 57,32$$

2. Вычисляем отклонение для каждого определения и квадраты этих отклонений:

$x_i - x$	$(x_i - x)^2$
$57,38 - 57,32 = 0,06$	0,036
$57,27 - 57,32 = -0,05$	0,025
$57,33 - 57,32 = 0,01$	0,001
$57,39 - 57,32 = 0,07$	0,049
$57,24 - 57,32 = -0,08$	0,064
$\Sigma = 0,175$	

3. Вычисляем среднюю квадратичную ошибку (или стандартное отклонение) отдельного результата

$$S_x = \sqrt{\frac{0,175}{4}} = 0,209.$$

4. Вычисляем среднюю квадратичную ошибку (или стандартное отклонение) среднего арифметического

$$S_x = \frac{0,209}{\sqrt{5}} = 0,0935.$$

5. Вычисляем ошибку среднего результата. Из табл. 4 находим значение коэффициента, которое при $p = 0,95$ и $n = 5$ составляет 2,78, т. е. с вероятностью 95 % можно заключить

$$\Delta x = 0,0935 \cdot 2,78 = 0,029.$$

6. Доверительный интервал значений крахмалистости зерна лежит в пределах $(57,32 \pm 0,26)\%$.

Все результаты удобно свести в одну таблицу.

Глава 2

РЕФРАКТОМЕТРИЯ

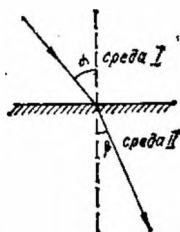
Рефрактометрия широко применяется в контроле бродильных производств. Преимуществами данного метода являются быстрота и простота измерений, достаточная точность (0,01 %), малый расход исследуемого вещества, возможность автоматизации контроля производства.

Рефрактометрический метод применяется для анализа растворов (водных, спиртовых, эфирных и др.) с концентрацией более 1 %. Анализ растворов меньшей концентрации приводит к большим ошибкам.

Измеряют рефракцию с помощью показателя преломления (рис.2). Показатель преломления — отношение синуса угла падения α к синусу угла преломления β :

$$n = \sin \alpha / \sin \beta.$$

Показателем преломления также называют отношение скорости распространения света в воздухе к скорости распространения света в испытуемом веществе (растворе). Он является важной константой, характеризующей химическую природу вещества, степень его чистоты и концентрацию раствора. Используют его для определения концентрации веществ и установления их чистоты. Чистые химические вещества имеют определенный показатель преломления, который изменяет сопутствующие примеси. Поэтому показатель преломления может характеризовать чистоту вещества.



Рефрактометрический метод основан на определении концентрации веществ по показателю преломления.

Рис. 2. Преломление луча света; α — угол падения; β — угол преломления.

Показатель преломления, найденный по отношению к воздуху, т. е. при падении света на преломляющую среду из воздуха (к пустоте), называют абсолютным. Зависит он от длины волны падающего света. Зависимость показателя преломления света в веществе от длины волны света называют дисперсией или рефракционной дисперсией. Показатель преломления вещества определяют в монохроматическом свете, дающем излучение с определенной длиной волны (при помощи натриевой, ртутной или водородной ламп). Зависимость показателя преломления воды от длины волны света приведена в табл. 5.

В обозначение показателя преломления вводят индекс, показывающий при какой длине волны света выполнялось измерение: например n_F , n_D или n_C .

Величина показателя преломления каждого вещества зависит от температуры и в его обозначение вводят надстрочным показателем температуру в момент измерения, например n_D^{20} .

Таким образом, индекс D обозначает желтую линию в спектре натрия (589,3 нм), так как в рефрактометрах источником света обычно служит натриевая лампа.

Рефрактометры откалиброваны для выражения показателя преломления в безразмерных единицах при длине волны 589,4 нм и 20 °С. Показатели преломления определяют на реф-

рактометрах, работающих на принципе измерения предельного угла преломления (рис. 3). Если угол падения луча равен 90° , то луч света, преломляясь в другую фазу, образует предельный угол преломления. При этом существует зависимость:

$$n = n_2 \sin \beta.$$

Если известен показатель преломления для одной среды (n_2), то для другой его легко определить, измерив предельный угол преломления β . Последний определяют по границе света и тени, наблюдаемой в рефрактометре. В качестве одной среды используют стеклянные призмы с известным значением n_2 , другой средой служит раствор, показатель преломления которого необходимо измерить.

Б. Зависимость показателя преломления воды от длины волны света

Условное обозначение спектральной линии	Цвет линии	Длина волны, нм	Показатель преломления при 20°C
F	Голубой	486,1	1,3371
D	Желтый	589,3	1,3330
C	Красный	656,3	1,3311

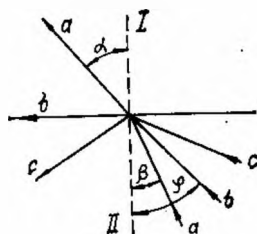


Рис. 3. Полное внутреннее отражение света:

a — луч света, падающий под углом α и преломляющийся под углом β , входит в среду *I*; *b* — луч света, падающий под предельным углом и преломляющийся под углом 90° ; *c* — луч света, падающий под углом большим, чем предельный, и не входящий в среду *I*.

Таким образом, показатель преломления зависит от природы и плотности вещества, его концентрации, температуры, давления среды и длины волны падающего света. При прочих постоянных условиях показатель преломления пропорционален только концентрации вещества.

Влияние температуры в рефрактометрии исключают, термостатируя призмные блоки, имеющие водяные рубашки. Влияние температуры, которая незначительно отличается от 20°C , учитывают по специальным таблицам или по формуле $n_D^t = n_D^{20} + (20 - t) 0,0002$, где n_D^t — показатель преломления при температуре измерения t ; n_D^{20} — показатель преломления при 20°C .

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕФРАКТОМЕТРОВ

Для измерения показателей преломления растворов применяют рефрактометры типа Аббе или Пульфриха, которые работают на принципе измерения предельного угла преломления.

6. Техническая характеристика рефрактометров

Тип и назначение	Шкала измерений		Погрешность измерений		Применение
	Показатель преломления	Сахароза, мас. %	Показатель преломления	Сахароза, мас. %	
УРЛ-I (модель I)	1,2—1,7	0—95	$\pm 1 \cdot 10^{-4}$	$\pm 0,1$	Для измерения показателя преломления и средней дисперсии жидкостей и твердых тел; концентрацию (сухие вещества) растворов определяют по сахарозе
УРЛ-II (модель II)	1,65—2,1	—	$\pm 1 \cdot 10^{-4}$	—	Для измерения показателя преломления и средней дисперсии жидкостей и твердых тел; концентрацию (сухие вещества) растворов находят по таблицам согласно установленному значению n_D^{20}
ИРФ-22	1,3—1,7 (в проходящем свете) 1,3—1,57 (в отраженном свете)	—	$\pm 2 \cdot 10^{-4}$	—	Для измерения показателя преломления и средней дисперсии жидкостей и твердых тел; концентрацию (сухие вещества) растворов находят по таблицам согласно установленному значению n_D^{20}
ИРФ-23	1,3—1,78	—	$\pm 1 \cdot 10^{-4}$	—	Для измерения показателя преломления и средней дисперсии жидкостей и твердых тел при разных длинах волн. Шкала рефрактометра градуирована в углах, которые пересчитывают на показатель преломления по специальным таблицам
ИРФ-454А (модель А)	1,2—2,0	—	$\pm 2 \cdot 10^{-4}$	—	Для измерения показателя преломления и средней дисперсии неагрессивных жидкостей и твердых тел; концентрацию (сухие вещества) растворов находят по таблицам согласно установленному значению n_D^{20} . Температура измеряемой жидкости 10—60 °С
454Б (модель Б)	1,2—1,7	—	$\pm 2 \cdot 10^{-4}$	—	

Тип и назначение	Шкала измерений		Погрешность измерений		Применение
	Показатель преломления	Сахароза, мас. %	Показатель преломления	Сахароза, мас. %	
ИРФ-451	1,325—1,647	—	$\pm 2 \cdot 10^{-5}$	—	Для измерения показателя преломления водных, водно-спиртовых и эфирных растворов (погружной рефрактометр); концентрацию (сухие вещества, спирт) находят по специальным таблицам согласно найденному значению условной шкалы и n_D^{20}
ИРФ-1	1,325—1,366	—	$\pm 2 \cdot 10^{-5}$	—	
РДУ	1,3—1,7	0—95	$\pm 2 \cdot 10^{-4}$	$\pm 0,25$	Для измерения показателя преломления и средней дисперсии жидкостей и твердых тел; концентрацию (сухие вещества) растворов находят по сахарозе
РПЛ-3	1,3—1,54	0—50; 50—95	$\pm 2 \cdot 10^{-4}$	$\pm 0,2$ $\pm 0,1$	Для измерения показателя преломления и концентрации (сухих веществ) растворов по сахарозе
РПЛ-2	1,333—1,381	0—30	$\pm 2 \cdot 10^{-5}$	$\pm 0,03$	Для измерения показателя преломления и концентрации (сухие вещества) растворов по сахарозе. Шкала прибора разделена на 100 условных делений с точностью отсчета $\pm 0,1$ деления шкалы
РЛУ	1,3—1,7	—	$\pm 2 \cdot 10^{-4}$	—	Для измерения показателя преломления. Концентрацию (сухие вещества) растворов определяют по таблицам согласно установленному значению

Наиболее простыми и распространенными рефрактометрами для измерения показателя преломления до $1 : 10^{-3}$ считаются приборы с измерительной призмой Аббе.

Для более точных измерений показателей преломления жидкостей используют рефрактометр типа Пульфриха и так называемые прецизионные рефрактометры, в которых углы преломления монохроматического света измеряют особыми

прецизионными гониометрами, достигая точности определения $1 \cdot 10^{-5}$ показателя преломления. В СССР выпускается рефрактометр типа Пульфриха ИРФ-23.

К рефрактометрам типа Аббе относятся УРЛ, РЛУ, РДУ, ИРФ-22, ИРФ-454 и др. Принцип действия их одинаков, но различаются они диапазоном измерений показателей преломления и концентрации сухих веществ, источниками света, устройством шкалы, расположением призм, влияющим на технику измерений. Техническая характеристика рефрактометров приведена в табл. 6.

Преломление лучей в рефрактометрах типа Аббе показано на рис. 4. Лучи от источника света входят в осветительную призму, преломляются в ней, проходят слой анализируемой жидкости, попадают под разными углами на поверхность измерительной призмы, снова преломляются и направляются в зрительную трубу. При этом в окуляре зри-

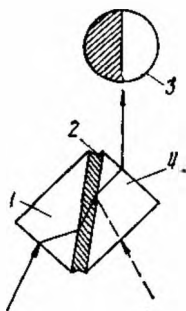


Рис. 4. Преломление лучей в призмах рефрактометров типа Аббе:

1 — осветительная призма; 2 — слой анализируемой жидкости; 3 — поле зрения в измерительной трубе; 4 — измерительная призма.

тельной трубы видно, что правая часть выходной грани призмы освещена, а левая — затемнена.

У некоторых рефрактометров шкала градуирована по показателю преломления и сахарозе (имеет два ряда делений), что дает возможность определять концентрацию сахарозы или сухих веществ в растворах. Если раствор содержит несколько различных веществ, рефрактометр покажет их суммарный показатель преломления и общую концентрацию сухих веществ по показателю преломления сахарозы.

Рефрактометры могут быть и со шкалой, градуированной только по показателю преломления, или условной, разделенной на определенное число делений. В таком случае показатель преломления, концентрацию сахарозы и спирта находят по специальным таблицам.

Более совершенная и удобная система измерений в рефрактометрах УРЛ, ИРФ-454, ИРФ-22. В рефрактометре ИРФ-22 одновременно наблюдают граничную линию, крест, деления шкалы и визирный штрих шкалы, что упрощает отсчет. Целые, десятые, сотые и тысячные доли значения показателя преломления отсчитывают по шкале, а десятичные — на глаз с точностью до десятитысячных (0,0002).

Пределы измерений, возможности применения, техника анализа для рефрактометра ИРФ-22 аналогичны и для рефрактометра УРЛ.

Рефрактометр УРЛ характеризуется достаточной точностью, позволяет определять в широком диапазоне величину показателя преломления и концентрацию сухих веществ по сахарозе, удобен в эксплуатации.

Оптическая схема рефрактометра УРЛ показана на рис. 5. От источника света 1 конденсорами 2 и 3 луч света направ-

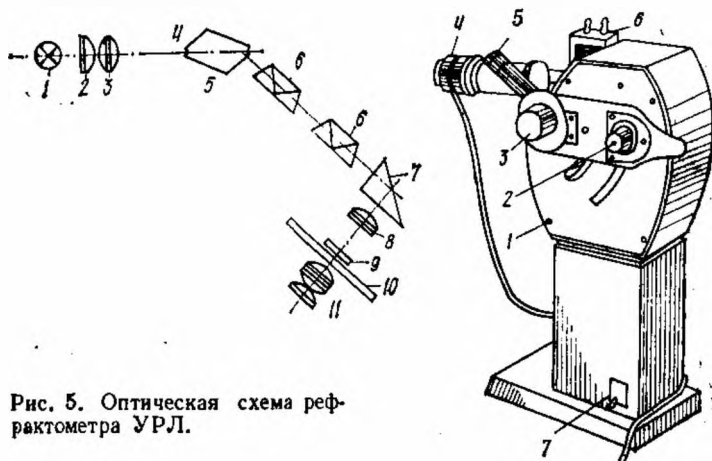


Рис. 5. Оптическая схема рефрактометра УРЛ.

Рис. 6. Общий вид рефрактометра типа УРЛ:

1 — корпус; 2 — окуляр; 3 — дисперсионный компенсатор; 4 — осветитель; 5 — термометр; 6 — верхняя призма; 7 — выключатель.

ляется на входную грань осветительной призмы 4, затем проходит через исследуемое вещество и измерительную призму 5. Далее луч, выйдя из измерительной призмы и пройдя через призмы дисперсионного компенсатора 6 в преломляющую призму 7, фокусируются объективом 8 зрительной трубы в ее поле зрения, образуя границу светотени. Грань осветительной призмы матирована, рассеянный на ней свет переходит в жидкость под всевозможными углами (от 0 до 90°).

Если показатель преломления жидкости меньше показателя преломления материала призмы, то лучи преломляются под углами от нуля до предельного. В окуляре зрительной трубы 11 при этом наблюдаются граница светотени, перекрестие сетки 9 и шкалы 10. Положение границы светотени зависит от величины предельного угла преломления, который в свою очередь зависит от показателя преломления анализируемой жидкости. Это дает возможность проградуировать

шкалу рефрактометра по показателям преломления или, соответственно, по концентрации раствора.

Отсчет по шкале проводится после устранения спектральной окраски границы светотени в положение пересечения границей светотени центра перекрестия сетки.

Рефрактометр УРЛ (рис. 6) состоит из двух основных частей: верхней — корпуса и нижней — основания. К корпусу крепятся камеры: верхняя и нижняя. В верхней камере находится осветительная призма, которая соединена шарниром с нижней и может поворачиваться относительно нее, в нижней — измерительная призма, которая жестко закреплена на корпусе.

Обе камеры имеют окна, закрывающиеся пробкой, и штуцера для подвода и вывода воды для термостатирования. При помощи резиновых трубок штуцера соединяются с каналами, расположенными внутри камер. На штуцере нижней камеры подвижно укреплен осветитель, свет от которого может быть направлен в одно из окон камеры.

Температуру измеряемого вещества измеряют термометром, укрепленным на штуцере нижней камеры с помощью накидной гайки. Со стороны передней крышки корпуса видна шкала рефрактометра.

На оси прибора укреплены окуляр для наблюдения границы светотени и рукоятка для совмещения ее с перекрестием сетки; дисперсионный компенсатор для устранения окрашенности границы светотени; механизм наведения (находится внутри корпуса), который вместе с рукояткой может поворачиваться вдоль шкалы.

На корпусе предусмотрено отверстие, закрытое пробкой, для ввода юстировочного ключа и установки нулевой точки.

Внутри основания находятся трансформатор и предохранитель, на корпусе — выключатель.

Рефрактометр ИРФ-454 также является современной моделью. Измерение показателя преломления осуществляется с помощью двух измерительных призм.

Конструкция рефрактометра приведена на рис. 7,а и б. Основные узлы прибора смонтированы в металлическом корпусе. Рефрактометрический блок съемный и на прибор устанавливается с помощью направляющих (рис. 7,б). С этой целью его подают по направляющим до упора и фиксируют юстировочным ключом.

Рефрактометрический блок состоит из двух частей: верхней и нижней. Нижняя часть неподвижная и является измерительной, а верхняя — осветительной призмой. Осветительную призму с помощью рукоятки откидывают на угол $\sim 100^\circ$.

В верхней части корпуса размещен окуляр. Корпус закрыт крышкой, на которой смонтированы светофильтр для окрас-

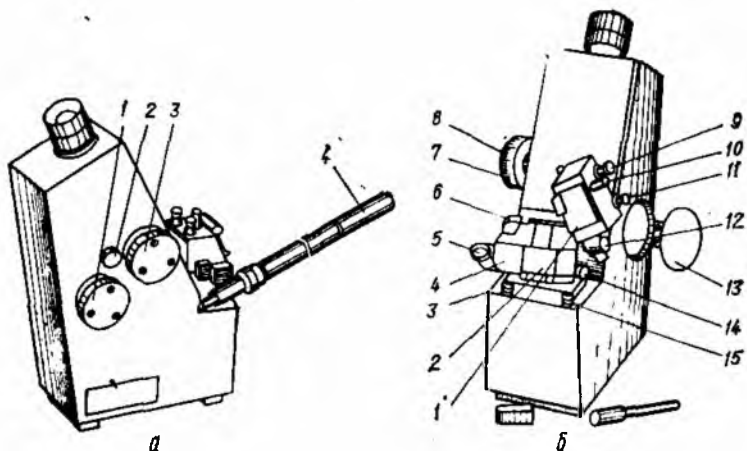


Рис. 7. Рефрактометр типа ИРФ-454:

a—1, 3 — маховики; 2 — заглушка; 4 — термометр; *б*—1 — крышка; 2, 12 — зеркала; 3, 15 — направляющие; 4 — рефрактометрический блок; 5, 9, 11, 14 — шурупы; 6 — крючок; 7 — шкала; 8 — нониус; 10 — рукоятка; 13 — шарнир.

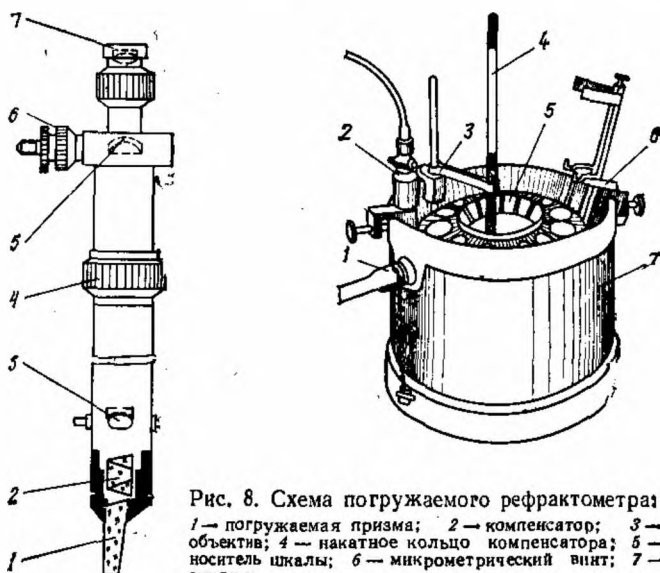


Рис. 8. Схема погружаемого рефрактометра:

1 — погружаемая призма; 2 — компенсатор; 3 — объектив; 4 — накатное кольцо компенсатора; 5 — носитель шкалы; 6 — микрометрический винт; 7 — окуляр.

Рис. 9. Термостат для погружаемого рефрактометра:

1 — сливное отверстие; 2 — съемная трубка с краном; 3 — держатель термометра; 4 — термометр; 5 — устройство для смены проб со стеклянными стаканчиками; 6 — держатель рефрактометра с зеркалом; 7 — сосуд для термостатирования.

ки поля зрения и зеркала для подсветки шкалы при работе в проходящем и отраженном свете. В оправках призм имеются камеры для термостатирования, в которые подают воду и отводят ее с помощью шлангов, соединенных с штуцерами.

Рефрактометр с погружаемой призой (рис. 8) применяется в спиртовой, пивоваренной и ликеро-водочной промышленности для анализа водных, спиртовых и эфирных растворов.

Показатель преломления измеряют с помощью погружаемых измерительных призм. Свет, отражаясь от зеркала, направляется в исследуемую жидкость и преломляется в ней. Пройдя жидкость свет направляется на входную грань измерительной призмы, проходит компенсатор дисперсии, объектив и попадает на шкалу прибора. Через окуляр наблюдают положение границы светотени на шкале.

Измерительную призму погружают непосредственно в исследуемую жидкость. Пробы жидкости помещают в стеклянные стаканчики и устанавливают их в термостат с дистиллированной водой (рис. 9).

Шкала прибора разделена на 105 условных делений. Десятичные доли деления отсчитывают с помощью микрометрического винта, а сотые определяют на глаз по шкале этого же винта. Показания шкалы погруженного рефрактометра пересчитывают по таблице на показатель преломления. Затем по найденному значению n_D^{20} определяют содержание сухих веществ или спирта в растворе (см. прил. 4).

ОБЩИЕ ПРАВИЛА РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Рефрактометрическим методом определяют концентрацию сухих веществ и спирта в растворах. С помощью рефрактометрии можно анализировать чистые водно-спиртовые растворы.

Для определения концентрации водно-спиртовых растворов по показателю преломления используют прецизионные рефрактометры, позволяющие определить этот показатель с точностью $\pm 2 \cdot 10^{-5}$, а концентрацию растворов с точностью до 0,03—0,05 мас. %. При работе с другими рефрактометрами n_D^{20} находят с меньшей точностью ($\pm 2 \cdot 10^{-4}$), что увеличивает абсолютную ошибку при определении спирта в области низких его концентраций до $\pm 0,3$ и средних концентраций — до $\pm 0,6$ мас. %.

Более точные результаты получают при проведении анализа водно-спиртовых растворов с помощью погружного рефрактометра, без разведения дистиллятов, в пределах кон-

центраций, обусловленных градуировкой шкалы прибора и оо-
держании спирта более 1 мас. %.

Для получения точных и воспроизводительных результатов необходимо строго соблюдать технику анализа. Этиловый спирт летуч, поэтому измерения необходимо проводить быстро, осторожно и сразу после окончания перегонки. Водно-спир-
товые растворы в зависимости от температуры резко изменяют
показатель преломления, поэтому необходимо ее строго контро-
лировать.

При работе с рефрактометром следует строго соблюдать
определенные правила. Специальное оптическое стекло, иду-
щее на изготовление призм рефрактометра, отличается мяг-
костью и легко повреждается. Особой осторожности требует
обращение с хорошо отполированной поверхностью изме-
рительной призмы. Поэтому призмы рефрактометра можно
протирать только салфетками из мягкой ткани.

Анализируемый раствор на рабочую поверхность призмы
следует наносить пипеткой или стеклянной палочкой с опла-
вленным концом. Запрещается концом палочки или пипетки
касаться поверхности призмы.

Все измерения следует проводить при постоянной темпера-
туре 20 °С, которую устанавливают путем термостатирования
призменного блока.

Нулевую точку шкалы рефрактометра проверяют по жид-
костям с известными показателями преломления (юстировоч-
ным). Чаще всего используют для этого дистиллированную во-
ду, у которой величина $n_D^{20} = 1,3329$. Проверяют нулевую
точку перед каждой серией измерений при температуре $20 \pm$
 $\pm 0,1$ °С.

При выполнении измерения следует стремиться к тому,
чтобы в окуляре зрительной трубы появилась четкая граница
светотени, разделяющая поле зрения пополам. После этого
отсчитывают величину показателя преломления жидкости по
шкале прибора. Если рефрактометр исправлен, то при 20 °С
он покажет величину 1,3329, что отвечает 0 % содержания
сахарозы в растворе.

Отсчет показаний рефрактометра при каждом определении
повторяют несколько раз. Поэтому, смещая границу свето-
тени попеременно вверх или вниз по шкале, повторяют отсче-
ты показателя преломления. Светорассеяние на границе
светотени устраняют с помощью дисперсионного компенсатора.

Для измерений с точностью до четвертого десятичного
знака жидкие образцы необходимо термостатировать с точно-
стью $\pm 0,2$ °С. При температуре, отличающейся от стандарт-
ной (20 °С), в результаты измерений вносят температурные
поправки.

Для большей части жидкостей, показатель преломления уменьшается примерно на 0,00015 при увеличении температуры на 1 °С.

Проверяют рефрактометр с погружаемой призмой по дистиллированной воде. При температуре воды 20 °С граница раздела светотени должна проходить через контрольное деление шкалы, указанное в инструкции к прибору. При отклонении границы от указанного значения на величину более чем 0,05 делений шкалы рефрактометр юстируют заново с помощью микрометрического винта.

При анализе водно-спиртовых растворов необходимо особенно строго соблюдать температуру измерений ($20 \pm 0,1$ °С), так как показатель преломления спирта резко изменяется в зависимости от температуры.

Необходимо пользоваться только прозрачными фильтрованными растворами. Растворы, содержащие взвешенные частицы, рассеивают свет, в результате чего граница светотени становится нечеткой, особенно для окрашенных растворов. Анализируют прозрачные растворы в проходящем свете (свет направляется в окно верхней камеры), но иногда и в отраженном. Направление света может быть установлено опытным путем.

Анализ окрашенных и темных растворов проводят в отраженном свете (свет направляется в окно нижней камеры). По окончании измерений открывают камеру с призмами, промывают их дистиллированной водой или ректификованным спиртом, насухо протирают призмы, закладывают между ними кусочек папиросной бумаги и закрывают прибор чехлом. После промывки рефрактометрический блок оставляют на несколько минут открытым для просушивания.

При работе на рефрактометре с погружаемой призмой пробы наливают до нижнего края матового пояса стаканчика. После измерения показателя преломления одного образца рефрактометр вынимают из термостата, осторожно вытирают призму и помещают в другую пробу.

ТЕХНИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Рефрактометр устанавливают в удобное для измерений положение, укрепляют термометр и присоединяют камеру к термостатирующей установке так, чтобы вода поступала в верхнюю часть камеры и выходила из штуцера, в котором установлен термометр.

При измерениях в поле зрения окуляра установочной лупы наблюдается светлое и темное поля. Линия раздела между обоими полями соответствует углу полного внутреннего отраже-

ния. При измерении в проходящем свете достигается большая контрастность светлого и темного полей; при измерении в отраженном свете оба поля менее контрастны. При освещении белым светом линия раздела сначала получается с цветной каемкой. Если пограничная линия размыта и окрашена в разные радужные цвета, отсчет по шкале прибора проводить нельзя. С помощью дисперсионного компенсатора добиваются четкой границы раздела между светлой и темной частью полей зрения. Затем полученную четкую линию устанавливают на точку пересечения крестовины.

Проверка нулевой точки. В рефрактометре типа УРЛ-I нулевую точку устанавливают по дистиллированной воде. Для этого открывают камеру, промывают дистиллированной водой или спиртом поверхности призмы и насухо вытирают их салфеткой. Затем оплавленным концом стеклянной палочки наносят на плоскость измерительной призмы 2—3 капли дистиллированной воды, закрывают камеру и, смещая осветитель, направляют луч света в окно верхней камеры. После чего, перемещая рукоятку с окуляром вдоль шкалы вверх и вниз, вводят в поле зрения границу светотени.

Резкость границы светотени, штрихов шкалы и перекрестия сетки по глазу наблюдателя устанавливают вращением гайки окуляра. Окрашенность границы светотени устанавливают вращением рукоятки дисперсионного компенсатора.

Границу светотени подводят к центру перекрестия сетки. При этом она должна находиться на делении 1,3329 шкалы n_D^{20} и 0 % шкалы сухих веществ. Если граница светотени не совпадает со значениями, приведенными выше, то нулевую точку устанавливают следующим образом: центр перекрестия устанавливают по шкале на деление нулевой точки, отвинчивают гайку на корпусе прибора и вращением ключа, прилагаемого к прибору, подводят границу светотени к центру перекрестия сетки, т. е. к нужному делению шкалы. Устанавливать нулевую точку следует 2—3 раза путем смещения рукояткой границы светотени и вновь подвести ее к перекрестию сетки.

В рефрактометре типа УРЛ-II нулевую точку устанавливают при помощи контрольной призмы, прилагаемой к прибору. Для этого на большую полированную грань призмы наносят 2—3 капли иммерсионной жидкости (монобромнафталина; $n_D^{20} = 1,6600$) и при помощи этой грани ее устанавливают на измерительную призму камеры так, чтобы малая полированная грань была обращена к осветителю и чтобы жидкость растекалась равномерно по толщине слоя. После установки призмы верхнюю часть камеры закрывают до упора на пружину. Затем перемещают осветитель и одновременно наблюдают в окуляр

за границей светотени к центру перекрестия сетки; если при этом граница пройдет через деление шкалы, соответствующее показателю преломления контрольной призмы, то нулевая точка установлена правильно.

Модель типа УРЛ-1 для темных сред снабжена красным сфетофильтром, который надевают на осветитель взамен диафрагмы. Для измерения вязких темных растворов в модели предусмотрена призма, на входящую грань которой наносят исследуемый раствор. Этой гранью призму устанавливают на измерительную призму прибора таким образом, чтобы большая полированная грань была обращена к осветителю. Верхнюю камеру закрывают, осветитель и окуляр устанавливают в нужное положение и проводят отсчет.

Измерение показателя преломления с помощью рефрактометра с погружаемой призмой. Нулевую точку рефрактометра устанавливают по дистиллированной воде. Для этого стаканчик с дистиллированной водой и измерительную призму рефрактометра устанавливают в термостат и выдерживают в водяной бане при $20 \pm 0,1$ °C в течение 10—15 мин. Затем призму рефрактометра вытирают насухо полотенцем, погружают в стаканчик с дистиллированной водой и проводят отсчет. Нулевая линия раздела (14,5 деления) должна четко проходить на границе светотени. Если линия раздела не соответствует нулевой точке, то последнюю корректируют.

Анализируемый раствор наливают в стаканчик, выдерживают в термостате при $20 \pm 0,1$ °C в течение 10—15 мин, затем погружают в него призму рефрактометра и устанавливают резкую видимость шкалы и линии раздела. Приводят микрометрический винт в нулевое положение и проводят отсчет целых делений по шкале окуляра, десятые доли отсчитывают по барабану микрометрического винта, поворачивая его от себя до тех пор, пока линия раздела не совпадет с делением, отсчитанным по шкале окуляра.

Растворы наливают в стаканчик до нижнего края матового пояса. После измерения показателя преломления одного образца, рефрактометр вынимают из термостата, промывают дистиллированной водой, насухо вытирают полотенцем и помещают в следующую пробу.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СУХИХ ВЕЩЕСТВ МЕЛАССЫ

Содержание сухих веществ в мелассе определяют в соответствии с ОСТ 18-395—82

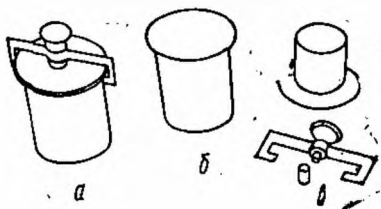
Отбор проб. Пробы отбирают периодически, равными порциями с помощью проботборника, не менее трех раз во время

налива или слива цистерны из крана, установленного на нагнетательной коммуникации.

В зимнее время, в случае подогрева мелассы, пробы отбирают пробоотборником непосредственно из цистерны до подогрева. Отобранные пробы сливают в одну емкость, тщательно перемешивают, не допуская образования пены, и из полученной общей пробы отбирают среднюю массой 1,5 кг.

При одновременном наливе или сливе нескольких цистерн допускается составлять одну среднюю пробу. Среднюю пробу перемешивают и делят на три равные части массой 0,5 кг каждая: одна часть пробы поступает в лабораторию для анализа, две другие — для хранения на случай возникновения разногласий в оценке качества мелассы между потребителем и изготовителем. Срок хранения этих проб — 3 мес. Пробы помещают в чистую сухую стеклянную тару, обеспечивающую герметичность закупорки.

Рис. 10. Сосуды для разбавления сахарных продуктов методом 1:1: а — общий вид; б — наружный сосуд; в — внутренний сосуд и зажим.



Пробы, отобранные на случай разногласий в оценке качества мелассы, должны быть плотно закупорены пробками, залиты парафином по ГОСТ 23682—79, сургучом или стеарином по действующей нормативно-технической документации, опечатаны печатью или опломбированы.

На стеклянную тару с пробками, направленными на хранение, должны быть наклеены этикетки с указанием: наименования продукции; завода-изготовителя; получателя; массы и номера партии; обозначения действующего стандарта; даты и места отбора проб; подписи лиц, проводивших анализы.

Аппаратура, материалы, реактивы: рефрактометр; стаканы стеклянные лабораторные; весы лабораторные технические; водяная баня; вода дистиллированная; сосуды для разбавления сахарных продуктов методом 1:1 (рис. 10).

Сосуды состоят из двух цилиндров. Высота наружного сосуда 75 мм, диаметр 58 мм. К внутренней стороне крышки сосуда припаивают сосуд высотой 45 мм и диаметром 40 мм. Масса обоих сосудов должна быть одинаковой. Если масса сосудов разная, то используют специальную гирьку для их уравновешивания. Сосуд с крышкой вставляют в наружный и уплотняют резиновой прокладкой, затем прижимают скобкой с винтом.

При отсутствии сосудов мелассу разбавляют в отношении 1 : 1 в стеклянных химических стаканах.

Испытание с применением сосудов для разбавления мелассы. На чашки весов помещают внутренний и наружный сосуды. В том случае, если масса их разная, то уравнивание сосудов на весах достигается специальной гирькой. Сосуды и гирьки должны быть пронумерованы. Затем во внутренний сосуд помещают около 50 г мелассы, а в наружный добавляют воду до тех пор, пока не будет достигнуто равновесие. После этого снимают сосуды с весов, и уравнивающую гирьку опускают в наружный сосуд для перемешивания. Затем внутренний сосуд осторожно опускают в наружный, герметически закрывают крышку, и прибор в собранном виде помещают в водяную баню, нагретую до 80 °С. Прибор периодически надо встряхивать до полного растворения содержимого и равномерного перемешивания.

Сосуд с раствором мелассы охлаждают в струе холодной воды до 20 °С и определяют рефрактометром содержание сухих веществ.

Испытание с применением химических стаканов для разбавления мелассы. На весах тарируют стакан со стеклянной палочкой и взвешивают в нем 50 г исследуемой мелассы. К навеске добавляют 30—35 см³ горячей дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Смесь охлаждают до 20 °С, доводят дистиллированной водой до двойной массы мелассы — 100 г, снова перемешивают и определяют рефрактометром содержание сухих веществ при 20 °С.

Если при снятии показаний рефрактометра температура раствора отличалась от 20 °С, то в полученное значение вводят поправку на температуру.

Обработка результатов. Удвоенное содержание сухих веществ, показанное рефрактометром, равно величине массовой концентрации сухих веществ в процентах.

За окончательный результат принимается среднее арифметическое двух определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать $\pm 0,4$ %.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СПИРТА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ДРОЖЖАХ И БРАЖКЕ

Для определения содержания спирта в производственных дрожжах и бражке отгоняют их дистилляты.

Аппаратура, материалы, реактивы: погружаемый рефрактометр; установка для отгонки спирта; мерные колбы на 200 см³; термометр; 1 н. раствор гидроксида натрия; индикаторная бумага.

Проведение испытания. Спирт из анализируемого образца отгоняют в одном из аппаратов (рис. 11, а, б). При установке прибора для перегонки его проверяют на герметичность. Для

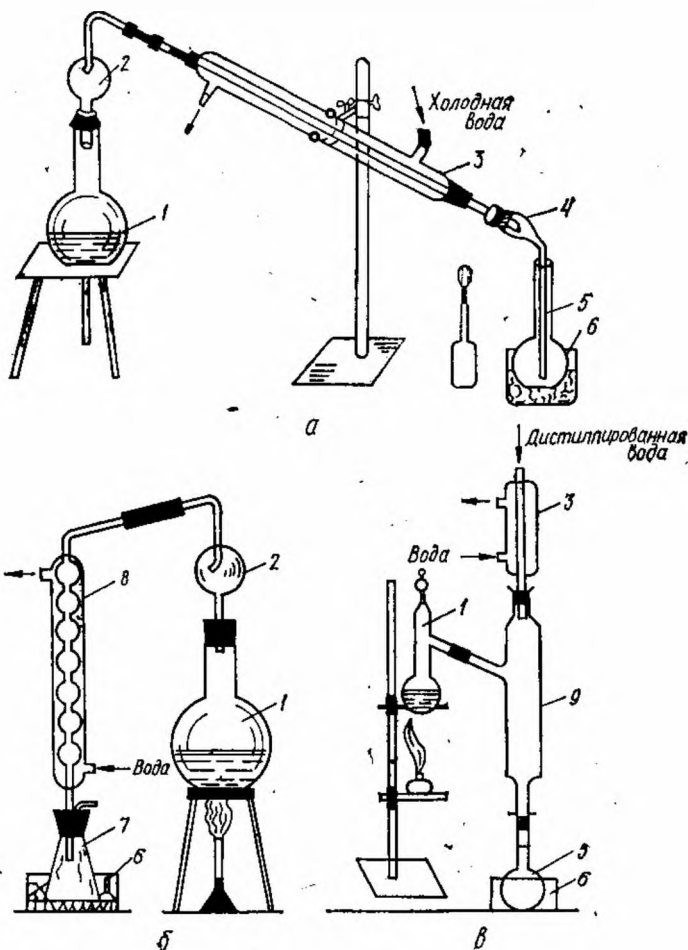


Рис. 11. Установка для отгонки спирта:

а — с прямоточным холодильником; б — с шариковым холодильником; в — для быстрой отгонки; 1 — плоскодонная перегонная колба; 2 — каплеуловитель Кельдаля; 3 — прямоточный холодильник; 4 — форштос; 5 — приемная мерная колба; 6 — баня со льдом; 7 — шариковый холодильник; 8 — приемная колба с воздушной трубкой; 9 — отводная трубка.

этого 200 см³ стандартного водно-спиртового раствора перегоняют 3 раза. Расхождения в показаниях между стандартным водно-спиртовым раствором и параллельными анализами дистиллятов не должны превышать 0,1 об. %.

Филырат дрожжей или бражки в количестве 200 см³ отмеривают мерной колбой при 20 °С и переводят в перегонную колбу, ополаскивают первую 2—3 раза дистиллированной водой (по 10—12 см³) и сливают ее в перегонную колбу. Туда же опускают полоску индикаторной бумаги и нейтрализуют кислоты 1 н. раствором гидроксида натрия. Дистиллят собирают в ту же мерную колбу, которой отмеривали пробу, наливают 10—15 см³ дистиллированной воды и помещают в нее конец отводной трубки холодильника. Во избежание потерь спирта из первых порций дистиллята приемную колбу устанавливают в ледяную баню. Перегонку ведут до тех пор, пока колба не наполнится на 1/2 объема. Затем конец трубки холодильника вынимают из дистиллята, ополаскивают его 5 см³ дистиллированной воды и продолжают перегонку до тех пор, пока колба наполнится на 3/4 объема. Дистиллят тщательно перемешивают, а затем доводят объем до метки дистиллированной водой при 20 °С. После чего дистиллят наливают в стаканчики погружного рефрактометра и проводят измерения. Снимают 2 отсчета и по среднему значению показаний условной шкалы находят содержание спирта в объемных процентах по специальным таблицам.

Допустимая погрешность при параллельных анализах — 0,1 деления условной шкалы рефрактометра.

Глава 3

ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ

Интерферометрический метод отличается высокой чувствительностью, точностью, простотой, экспрессностью, требует незначительного количества исследуемого вещества и считается одним из перспективных методов анализа.

Интерферометрия применяется для сравнительной характеристики степени чистоты веществ и количественного анализа жидкостей, а также анализа растворов различных химических соединений.

В контроле бродильных производств интерферометрия применяется для определения содержания эфирного масла в эфирномасличном сырье и ароматных спиртах, сухого остатка водопроводной и умягченной воды, концентрации спирта в производственных дрожжах и бражке, спиртованных соках и морсах.

Интерферометрия основана на измерении сдвига интерференции световых лучей, проходящих через кюветы с раствором вещества и растворителем и через щели коллиматора. Вслед-

ствии разности хода лучей, возникающей при этом, на матовом экране окуляра прибора образуются интерференционные полосы (рис. 12), которые смещены относительно оптической оси интерферометра. Смещение полос связано с показателем преломления анализируемого раствора уравнением $n_p - n_0 = N\lambda/l$, где n_p — показатель преломления раствора; n_0 — показатель преломления растворителя; N — смещение интерференционных полос; λ — длина световой волны; l — длина кювет с раствором и растворителем.

Рис. 12. Интерференционные полосы:

а, б — при $n \neq n_2$; в — при $n_1 = n_2$.



ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТЕРФЕРОМЕТРОВ

Для анализа газов применяют интерферометры типа системы Рэлея ЛИР-1 и ИТР-1, а для жидких сред — типа ЛИР-2 и ИТР-2. Принципиальная схема интерферометра Рэлея по-

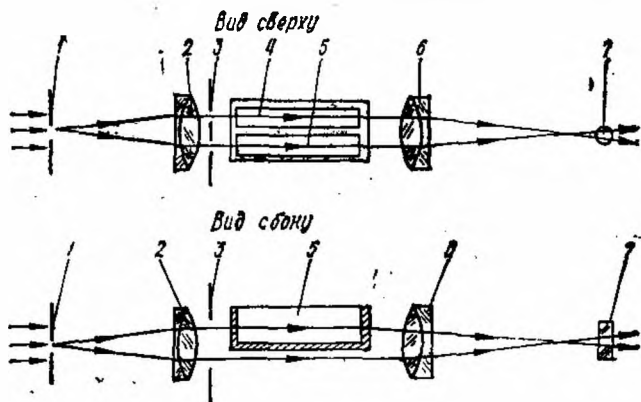


Рис. 13. Принципиальная схема интерферометра Рэлея:

1 — щель; 2 — объектив; 3 — диафрагма; 4, 5 — кюветы; 6 — объектив вратильной трубы; 7 — окуляр.

казана на рис. 13. Интерферометры имеют высокую точность измерений (Δn_D от $2,5 \cdot 10^{-7}$ до $4 \cdot 10^{-6}$) и позволяют определять разность показателей преломления растворов, содержащих 0,01—0,02 % вещества.

В контроле бродильных производств нашел применение интерферометр типа ИТР-2. Прибор предназначен для измерения малых разностей показателей преломления жидкостей $\Delta n \times$

$\times (0,00063—0,01)$. Разность показателей преломления определяется относительно эталонного вещества с известным показателем преломления. Его применяют и для оценки сравнительной характеристики степени чистоты и вещества и количественного анализа жидкостей. Прибор очень прост в обращении, каждое измерение требует незначительного количества пробы и занимает 3—5 мин.

Общий вид интерферометра типа ИТР-2 показан на рис. 14. Свет от источника направляют через конденсор и зеркало

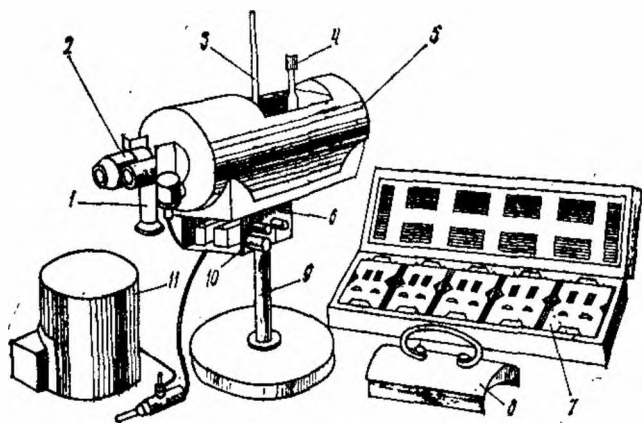


Рис. 14. Интерферометр типа ИТР-2:

1 — микрометрическое устройство; 2 — зрительная труба с автоколлимационным окуляром; 3 — термометр; 4 — рукоятка мешалки; 5 — кожух с двойной стенкой; 6 — кран для удаления жидкости из камеры; 7 — кюветы; 8 — крышка прибора; 9 — подставка; 10 — рукоятка; 11 — трансформатор.

на призму полного внутреннего отражения. Пучок света из щели проходит объектив и вторичную щель. Далее одна часть лучей проходит через кюветы, а другая — под кюветами. После отражения от зеркала, отклоненного от вертикали на 20° , лучи света, диафрагмируемые двойной щелевой диафрагмой, возвращаются в виде двух когерентных пучков света, проходят через камеры кюветы с эталонной и испытуемой жидкостью и под ними. Нижние пучки света образуют нижнюю неподвижную систему интерференционных полос, а верхние, проходящие сквозь растворы в камерах кюветы, образуют верхнюю подвижную систему полос. В фокальной плоскости цилиндрического окуляра зрительной трубы фиксируются две интерференционные полосы, расположенные одна над другой. Цилиндрический окуляр снабжен устройством для настройки резкости по глазу наблюдателя.

Компенсационное устройство включает пластины. Нижняя плоскопараллельная пластина образует вместе с верхними линию раздела между подвижной и неподвижной системами интерференционных полос. Совмещение нулевых полос подвижной интерференционной системы с неподвижной осуществляется поворотом пластины на некоторую величину при помощи микрометрического винта, связанного с пластиной специальным рычагом. Одна пластина вводится в пучок света, проходящий через испытуемый раствор.

Микрометрический винт имеет две шкалы, из которых одна — неподвижная — разделена на 30 делений, а вторая — вращающаяся — на 100 делений. Таким образом, вся шкала компенсации имеет 3000 делений. Шкала компенсации неравномерная. При нулевом положении барабана цена одного деления соответствует $1/15$ ширины нулевой полосы, а при положении барабана около 3000 делений — $1/24$ полосы. Следовательно, наиболее точные результаты анализа получаются при отсчетах барабана от нулевого до 1500 делений шкалы.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ИНТЕРФЕРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Для анализа окрашенных и мутных растворов интерферометрию применять нельзя. Применяется она для анализа сред при определенной разности показателей преломления исследуемого и эталонного раствора (для ИТР-2 — Δn равна 0,01). Анализ проводят при постоянной температуре, которую устанавливают с помощью термокамеры прибора.

В интерферометрии применяют кюветы на 5, 10, 20, 40 и 80 мм. Кюветы выбирают в зависимости от концентрации анализируемого вещества и необходимой разности показателей преломления, которую можно измерить на данном приборе.

Чувствительность прибора и точность измерения зависят от длины кюветы: чем она длиннее, тем выше точность измерения, но длина уменьшает интервал значений разности показателей преломления, которые можно измерять. Так, в кювете длиной 5 мм можно определить Δn сравниваемых жидкостей до 0,01, а в кювете длиной 80 мм — только до 0,00063. Поэтому для сохранения достаточной точности измерений и интервала значений Δn выбирают оптимальную для каждого случая длину кюветы или используют известные рекомендации для анализа данного вещества.

Перед проведением анализа кюветы тщательно промывают дистиллированной водой, затем спиртом и высушивают. По окончании работы из кювет выливают исследуемую жидкость, промывают их и высушивают.

ТЕХНИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Измерение на приборе проводят путем совмещения верхней (подвижной) и нижней (неподвижной) интерференционных полос.

Перед началом работы проверяют совпадение интерференционных полос при пустой термокамере, а потом — при заполненной на $2/3$ дистиллированной водой. Все измерения желательно проводить при постоянной температуре, близкой к комнатной.

После проверки совпадения интерференционных полос проверяют нуль кюветы. Для этого обе камеры кюветы заполняют дистиллированной водой на $2/3$ объема, закрывают стеклянными пластинками и кювету помещают в термокамеру, в которую также на $2/3$ объема налита вода. Затем через окуляр зрительной трубы наблюдают интерференционную картину. При этом, если имеется некоторая разность температур растворов в кювете и в термокамере прибора, интерференционная картина искажается, становится нечеткой и полосы верхней подвижной полосы приобретают наклонное положение.

Для выравнивания температур воду в термокамере перемешивают. Примерно через 2—3 мин она выравнивается и интерференционная картина становится четкой: полосы верхней системы принимают строго вертикальное положение. Нижняя и верхняя полосы должны совпадать и отсчет по шкале барабана должен быть равным нулю или быть близким к нему. Если при совмещении верхних и нижних полос отсчет не равен нулю, то делают поправку и в дальнейшем все отсчеты относят к нулю кюветы.

Например, если полосы верхней и нижней интерференционных картин совпадают при пяти делениях барабана, то при отсчете 453 делений величиной смещения считают: $453 - 5 = 448$ делений; величину смещения обозначают буквой m .

После установления нуля дистиллированную воду из левой камеры кюветы выливают и заполняют ее исследуемым раствором, предварительно ополоснув им камеру 2—3 раза. Затем камеру закрывают стеклянной пластинкой и кювету помещают в термокамеру.

Вследствие разности показателей преломления исследуемой жидкости и растворителя, через которые проходят лучи света, последние приобретают добавочную разность хода, верхняя интерференционная картина смещается и при большом смещении может выйти из поля зрения. Вращением барабана прибора разность хода лучей компенсируется.

После выравнивания температуры жидкостей интерференционная картина становится четкой и полосы верхней системы

приобретают вертикальное положение. Наблюдая через окуляр зрительной трубы, добиваются совмещения интерференционных картинок по нулевой полосе, которую опознают по отсутствию хроматизма (цветных каемок). Нулевая полоса имеет ярко выраженный черный цвет. Соседние полосы имеют цветные каемки, которые увеличиваются по мере увеличения номера полосы, отсчитываемой от нулевой. Совмещение полос проводят несколько раз до получения устойчивого отсчета в пределах одного-двух делений по шкале прибора. Получают значение величины смещения полос, которое пропорционально разности показателей преломления исследуемой жидкости и растворителя. По этому значению и определяют содержание исследуемого вещества в растворе.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СПИРТА В БРАЖКЕ (МЕТОД ВНИИПРБ)

Концентрацию спирта в бражном дистилляте определяют с помощью интерферометра типа ИТР-2. Для анализа используют 5 см³ бражки. Метод отличается быстротой и высокой точностью $\pm 0,01 - 0,02$ об. %.

Аппаратура, материалы, реактивы: установка для перегонки бражки; мерная колба на 25 см³; мерные пипетки на 5 и 10 см³; интерферометр типа ИТР-2; термометр с ценой деления 0,1 °C; 0,1 н. раствор NaOH.

Проведение испытания. Бражку из крахмалистого сырья быстро перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр, мелассную бражку не фильтруют.

Для работы с интерферометром используют водно-спиртовые растворы, содержащие примерно 2 об. % спирта, поэтому пробы с повышенным содержанием спирта, в том числе дистиллят бражки или фильтрат, перед интерферометрированием разбавляют дистиллированной водой. Кратность разведения водно-спиртовых растворов приведена в табл. 7.

При содержании в бражке примерно 8—12 об. % спирта поступают следующим образом. Бражку в количестве 5 см³ или ее фильтрат при 20 °C переносят в перегонную колбу установки для отгонки спирта (см. рис. 10, а). Объем пробы в перегонной колбе должен быть 7,5—12 см³ в зависимости от крепости исходной пробы. Поэтому в колбу добавляют 2,5—7 см³ дистиллированной воды, а для нейтрализации кислот бражки— 2—3 капли 0,1 н. раствора гидроксида натрия. Содержимое колбы перемешивают медленным вращением. Перегонную колбу закрывают притертой пробкой, присоединяют к ней отводную трубку, холодильник и приемную мерную колбу 5 объемом 25 см³, что позволяет разбавить дистиллят в 5 раз.

7. Кратность разведения водно-спиртовых растворов

Содержание спирта в исходной пробе, об. %	Количество пробы для анализа, см ³	Количество дистиллированной воды, добавляемой в перегонную колбу, см ³	Объем мерной колбы, см ³	Коэффициент разведения α	Содержание спирта в исходной пробе, об. %	Количество пробы для анализа, см ³	Количество дистиллированной воды, добавляемой в перегонную колбу, см ³	Объем мерной колбы, см ³	Коэффициент разведения α
2—3	25	—	25	—	19—22	5	5	50	10
8—12	5	2,5	25	5	23—30	7	4	100	14,29
12—14	8	4	50	6,25	31—35	6	5	100	16,66
15—18	6	5	50	8,33	35 и более	5	5	100	20

Примечание. Коэффициент разведения определяют следующим образом: объем мерной колбы делят на количество проб анализа и получают значение коэффициента разведения. Например, $25 : 5 = 5$.

Жидкость в перегонной колбе нагревают до кипения. Отгонку водно-спиртовых паров ведут очень осторожно во избежание пригорания сухих веществ бражки. Спустя 5—6 мин, после перегонки 2/3 жидкости, нагревание прекращают, холодильник через верхнее отверстие промывают из пипетки 5—8 см³ дистиллированной водой и ополоски собирают в приемную колбу 5. Осторожно разбирают прибор и доводят водой содержимое колбы при 20 °С до метки. В хорошо перемешанном разбавленном дистилляте определяют содержание спирта на интерферометре типа ИТР-2.

Для интерферометрического анализа спирта пригоден также дистиллят бражки, полученный при перегонке 200—250 см³ исходного продукта и затем разбавленный водой в 5 раз.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КРЕПОСТИ ЛИКЕРО-ВОДОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Метод основан на быстрой отгонке спирта из испытуемого изделия в специальном приборе с последующим определением крепости спирта на интерферометре по разности показателей преломления дистиллированной воды и спирта. Погрешность метода — ($\pm 1,0$ %).

Аппаратура, материалы, реактивы: интерферометр; прибор для отгонки спирта; кристаллизатор; водяная баня; колбы 4—50—2*, 4—100—2; пипетки 7—1—5, 7—1—10; пикно-

* Запись 4—50—2 здесь и далее следует расшифровывать так: 4 — количество колб; 50 — емкость; 2 — класс точности. Если есть четвертая цифра, то она указывает цену наименьшего деления (для пипеток, бюреток).

метр; электроплитка или газовая горелка; цилиндры для ареометров; термометр ртутный стеклянный с ценой деления 0,1 и 0,5 °С; вода дистиллированная.

Подготовка к испытанию. Определение поправочного коэффициента. Концентрацию спирта рассчитывают по уравнению с учетом коэффициента пропорциональности K_c (отношение концентрации спирта в испытуемом растворе к показанию интерферометра для данного раствора). Его устанавливают экспериментально для каждого интерферометра и проверяют в процессе эксплуатации.

Для определения коэффициента пропорциональности готовят водно-спиртовой раствор с концентрацией этилового спирта 20 об. %. Концентрацию спирта в растворе определяют пикнометрическим методом. Из полученного раствора готовят три-четыре рабочих раствора с концентрацией спирта 2 об. %. Для этого 5 см³ основного раствора переносят в мерные колбы вместимостью 50 см³ и доводят объем до метки дистиллированной водой при температуре 20 °С. Определение проводят в кювете с длиной грани 20 мм. Левую камеру кюветы заполняют водно-спиртовым раствором, правую — дистиллированной водой.

Растворы тщательно перемешивают и определяют три-четыре раза показания прибора, из которых вычисляют среднее арифметическое:

$$a_{\text{ср}} = (a_1 + a_2 + a_3)/3,$$

где a_1, a_2, a_3 — показания приборов.

По полученным значениям находят коэффициент пропорциональности:

$$K_c = C/a_{\text{ср}},$$

где C — концентрация спирта, об. %; $a_{\text{ср}}$ — среднее значение показаний прибора, деления.

Проведение испытания. Спирт из ликеро-водочных изделий отгоняют на приборе, предназначенном для отгонки (рис. 15). Для этого исследуемое изделие тщательно перемешивают в бутылке, отбирают необходимое количество для испытания и помещают в перегонную колбу. Затем добавляют необходимый объем дистиллированной воды, как указано в табл. 8, и перемешивают.

Содержимое перегонной колбы нагревают до кипения и спирт отгоняют. Дистиллят собирают в приемную колбу вместимостью 50 см³, в которую предварительно наливают 10 см³ дистиллированной воды, и помещают в водяную баню со льдом или холодную воду.

После отгонки 2/3 объема жидкости, что занимает 5—6 мин, нагрев прекращают. Холодильник через верхнее отверстие промывают дистиллированной водой, которую собирают в приемную колбу. Содержимое приемной колбы доводят до метки дистиллированной водой при температуре 20 °С, перемешивают и определяют концентрацию спирта в водно-спиртовом растворе.

Разность показателей преломления испытуемого водно-спиртового раствора и дистиллированной воды определяют на интерферометре в кювете с длиной грани 20 мм.

Левую камеру кюветы на 2/3 заполняют испытуемым дистиллятом, правую — дистиллированной

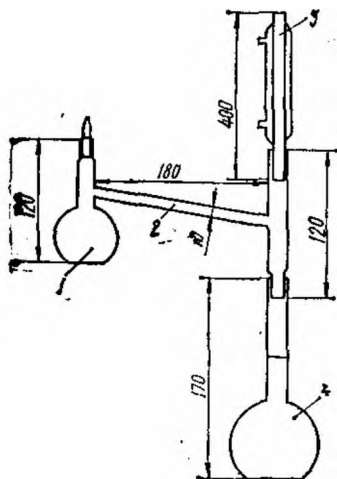


Рис. 15. Прибор для отгонки спирта из ликеро-водочных изделий:

1 — перегонная колба на 30 см³; 2 — отводная трубка; 3 — прямоточный холодильник; 4 — приемная колба на 50 см³.

8. Разведение ликеро-водочных изделий

Концентрация спирта в испытуемом изделии, об. %	Объем изделия, необходимый для испытания, см ³	Объем дистиллированной воды, см ³	Объем мерной колбы, см ³	Коэффициент разведения
12—15	8	4	50	6,25
16—18	6	5	50	8,33
19—25	5	5	50	10,00
26—30	7	4	100	14,29
31—35	6	5	100	16,67
36—43	5	5	100	20,00

Примечание. Коэффициент разведения определяют из следующего расчета. Объем мерной колбы делят на объем изделия, необходимый для испытания. Так, $50 : 8 = 6,25$.

водой и закрывают стеклянными пластинками. Затем два-три раза определяют показания прибора (а), из которых подсчитывают среднее арифметическое значение.

Обработка результатов. Концентрацию спирта, об. %, вычисляют по формуле

$$C = K_c a_{cp} n,$$

где K_c — коэффициент пропорциональности, который определяют экспериментально для используемого интерферометра; a_{cp} — среднее арифметическое значение показаний интерферометра, деления; n — коэффициент разведения.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО ЭКСТРАКТА В ЛИКЕРО-ВОДОЧНЫХ ИЗДЕЛИЯХ

Метод основан на определении концентрации общего экстракта в разбавленном остатке, полученном после отгонки спирта из изделия по ГОСТ 4828—83. Концентрацию общего экстракта определяют по разности показателей преломления экстракта и дистиллированной воды на интерферометре любой марки. Погрешность метода $\pm 1,5\%$.

Аппаратура, материалы, реактивы: весы лабораторные технические; интерферометр; прибор для отгонки спирта; электроплитка или газовая горелка; колба 2—50—2, 2—100—2; термометр ртутный стеклянный лабораторный с ценой деления 0,1 и 0,5 °C; пипетки 2—1—10, 2—1—5; воронки; стаканчик для взвешивания (бюкса); сахара; вода дистиллированная.

Подготовка к испытанию. Концентрацию общего экстракта рассчитывают по уравнению, в которое входит коэффициент пропорциональности.

Для каждого интерферометра коэффициент пропорциональности различен, а поэтому его устанавливают экспериментально следующим образом. Взвешивают в бюксе 400 мг сахара с погрешностью не более 0,1 мг и переводят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Бюксу ополаскивают дистиллированной водой, которую сливают в ту же колбу. Раствор в колбе доводят дистиллированной водой до метки при температуре 20 °C и тщательно перемешивают.

В приготовленном растворе сахара на интерферометре в кювете с длиной грани 20 мм два-три раза определяют разность показателей преломления растворов сахара и дистиллированной воды (a), и подсчитывают среднее значение $a_{\text{ср}} = (a_1 + a_2 + a_3)/3$.

По полученным значениям определяют коэффициент пропорциональности:

$$K_c^2 = C_1/a_{\text{ср}},$$

где C_1 — массовая концентрация сахара, г/100 см³; $a_{\text{ср}}$ — среднее значение показаний прибора, деления.

Проведение испытания. К содержимому перегонной колбы, оставшемуся после отгонки спирта, добавляют 20—25 см³ дистиллированной воды, перемешивают и переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Затем перегонную колбу несколько раз ополаскивают 10—15 см³ дистиллированной водой, перемешивают и ополоски переносят в ту же колбу.

Раствор в колбе доводят до метки дистиллированной водой при температуре 20 °C. Затем отбирают пипеткой 10 см³

испытуемого раствора и переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³, доводят до метки дистиллированной водой. В полученном растворе определяют показание интерферометра в кювете с длиной грани 20 мм.

Обработка результатов. Концентрацию общего экстракта в изделиях, г/100 см³, вычисляют по формуле

$$C_2 = (K_c^2 a n) / 1000,$$

где K_c^2 — коэффициент пропорциональности, полученный экспериментально для интерферометра; n — коэффициент разведения; a — показания интерферометра; 1000 — коэффициент перевода миллиграммов в граммы.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать $\pm 3\%$.

Глава 4

ПОЛЯРИМЕТРИЯ

Поляриметрия — один из важнейших методов контроля бродильных производств. Применяется для оценки качества крахмалистого сырья, мелассы, солода, ферментных препаратов, полупродуктов и др.

Поляриметрический метод отличается точностью, простотой, возможностью автоматизации поляриметрических измерений. Используют его для изучения химического строения и пространственной конфигурации органических соединений, исследования механизмов некоторых реакций, анализа углеводов, ферментов и др. Основан метод на определении вращения плоскости линейно-поляризованного света оптически активными веществами. Метод позволяет определять от 1 до 100 г/дм³ оптически активных веществ.

Оптическому вращению подвергается только поляризованный свет, который отличается тем, что колебания световых волн в нем происходят только в одной плоскости, а в неполяризованном — во всех (рис. 16). Плоскость, в которой происходят колебания волн поляризованного света, называют плоскостью поляризации. Свет поляризуется при прохождении через призму Николя, состоящую из двух склеенных призм из исландского шпата и пропускающую только поляризованный луч.

Все вещества по отношению к поляризованному свету подразделяются на оптически активные и оптически неактив-

ные. Первые способны изменять плоскость поляризации света, а вторые — неспособны.

Оптическая активность органических соединений обусловлена асимметрией молекул, а твердых кристаллических веществ — асимметрией структуры кристаллических решеток.

Оптически активные вещества могут быть двух модификаций: право- и левовращающие. Правовращающие вращают плоскость поляризации света вправо (вращение по часовой стрелке), их обозначают знаком «+» или D . Левовращающие

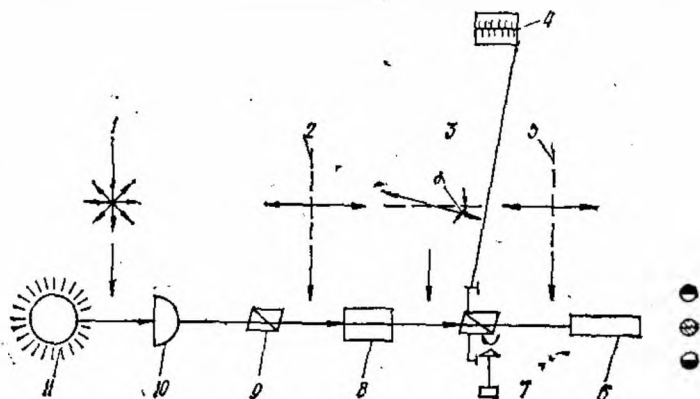


Рис. 16. Принципиальная схема поляриметра:

1 — неполяризованный луч; 2 — поляризованный луч; 3 — вращение плоскости луча; 4 — шкала; 5 — компенсация вращения; 6 — окуляр; 7 — анализатор и шкала; 8 — кювета; 9 — поляризатор; 10 — объектив; 11 — лампа.

вращают плоскость поляризации влево (вращение против часовой стрелки), их обозначают знаком «—» или α .

Если через слой оптически активного вещества или его раствор пропускать поляризованный луч света, то плоскость поляризации выходящего луча поворачивается на некоторый угол, называемый углом вращения плоскости поляризации, или углом вращения α . Величина угла вращения зависит от природы оптически активного вещества, его концентрации, толщины слоя вещества, через который проходит свет, температуры и длины волны света.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации вычисляют удельное вращение плоскости поляризации монохроматического света, вызванное слоем раствора толщиной в 1 дм, при температуре и концентрации активного вещества 1 г/см³. Обычно определение удельного вращения проводят при 20 °С и длине волны линии D спектра натрия (589,3 мм) и обозначают $[\alpha]_D^{20}$.

Удельное вращение определяют по формулам: для жидких веществ $[\alpha]_D^{20} = \alpha / ld$, где α — измеренный угол вращения, °; l — толщина слоя жидкости, дм; d — относительная плотность жидкости; для растворов $[\alpha]_D^{20} = \alpha \cdot 100 / lC$, где C — концентрация раствора, г, растворенного активного вещества в 100 см³ раствора.

Удельное вращение зависит от природы растворителя и концентрации раствора. При замене растворителя может изменяться не только величина угла вращения, но и его направление. Во многих случаях удельное вращение постоянно лишь в определенном интервале концентраций.

В интервале концентраций, в котором удельное вращение постоянно, можно по углу вращения рассчитать концентрацию вещества в растворе:

$$C = \alpha \cdot 100 / [\alpha]_D^{20}.$$

Если используется не вода, а другой растворитель или удельное вращение соединения неизвестно, то концентрацию вещества в растворе можно определить по калибровочному графику, используя серию растворов с известными концентрациями.

Зависимость удельного вращения от длины волны света называется вращательной дисперсией. В этом случае угол вращения измеряют в монохроматическом свете или с применением светофильтров.

В настоящее время получил применение новый поляриметрический метод анализа — спектрополяриметрия. В спектрополяриметрии измеряют зависимость угла вращения плоскости поляризации от длины волны света, проходящего через поляриметр.

Иногда удельное вращение изменяется во времени. Это явление называется мутаротацией и связано с переходом вещества из одной оптической формы в другую.

Ниже приведена величина удельного вращения для некоторых соединений в водном растворе.

Вещество	$[\alpha]_D^{20}$
Глюкоза	+52,5
Фруктоза	−92,5
Сахароза	+66,4
Мальтоза	+130,4
Рафиноза	+105,2
Инвертный сахар	−19,7
Декстрины	(+198) — (+160)
Крахмал	(+200) — (+205)
Аскорбиновая кислота	+23,0
D-винная кислота	+12,0

Явление мутаротации наблюдается у свежеприготовленных растворов редуцирующих сахаров. Так, глюкоза существует в трех взаимопревращающихся формах с удельным вращением α - D - глюкоза $+113^\circ$ и β - D - глюкоза $+19^\circ$. При растворении в воде удельное вращение каждой из форм изменяется, пока не достигается равновесие, при котором величина $[\alpha]_D^{20}$ составляет $+52,5$. Угол вращения измеряют на специальных приборах — поляриметрах.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛЯРИМЕТРОВ

Общая характеристика поляриметров приведена в табл. 9. Основными узлами поляриметров являются поляризатор—источник поляризованных лучей и анализатор—призма для исследования этих лучей.

9. Характеристика поляриметров

Тип и назначение	Шкала измерений	Погрешность измерений	Длина поляриметрических кювет, мм	Применение
СУ-4 (универсальный)	-40°S $+120^\circ\text{S}$	$\pm 0,05^\circ\text{S}$	100; 200; 400	Для определения концентрации сахарозы при $\lambda = 589,3$ нм
СУ-3	-40°S $+100^\circ\text{S}$	$\pm 0,1^\circ\text{S}$	100; 200; 400	То же
А1-ЕПО-01 (автоматический)	-25 $+25$ (градусы круговые)	$\pm 0,01$ (градусы круговые)	100; 50; 25	Для автоматического измерения и регистрации угла вращения плоскости поляризации растворов оптически активных веществ при $\lambda = 589,3$ нм и при $\lambda = 546,1$ нм для марки А1-ЕПО
А1-ЕПН (фотоэлектрический высокой точности)	-25 $+25$ (градусы круговые)	$\pm 0,002$ (градусы круговые)	100; 50; 25	Для автоматического измерения угла вращения плоскости поляризации растворов оптически активных веществ

Луч от источника света проходит последовательно через систему двух призм, т. е. неподвижного поляризатора и вращаемого анализатора, угол вращения которого отсчитывают в градусах. В ходе измерения сначала находят положение минимальной освещенности (погасания) без оптически активного вещества, а затем положение освещенности с анализируемым

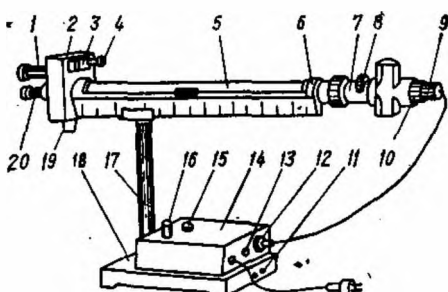
оптически активным веществом, помещенным в поляризметрическую кювету.

Наиболее распространены и удобны в работе полутеневые поляриметры, у которых угол вращения находят по достижении равномерной слабой освещенности оптического поля (полутени). Точность обычных полутеневых поляриметров составляет $0,05^\circ$, а современных фотоэлектрических — $0,002^\circ$.

В поляриметрах общего назначения для измерения удельного вращения применяется круговая шкала, градуированная в угловых градусах. У поляриметров-сахариметров на шкале вместо углов вращения показана непосредственно концентрация сахарозы, а у поляриметров-глюкозиметров — кон-

Рис. 17. Общий вид сахариметра:

1 — лупа; 2 — измерительная головка; 3 — механизм установки кониуса; 4 — клин; 5 — кюветное отделение; 6 — траверса; 7 — поляризатор; 8 — поворотная обойма; 9 — осветительный узел; 10 — регулировочный винт; 11 — винт заземления; 12 — вилка разъема; 13 — предохранитель; 14 — крышка; 15 — кнопка; 16 — ручка резистора; 17 — стойка; 18 — основание; 19 — рукоятка клинового компенсатора; 20 — зрительная труба.



центрация глюкозы. Шкала сахариметров градуирована в градусах Международной сахарной шкалы ($^\circ S$). Один градус сахарной шкалы соответствует $0,26$ г сахарозы в 100 см³ раствора, если измерение проводится в поляризметрической кювете длиной 200 мм при $20^\circ C$. Сто градусов сахарной шкалы ($100^\circ S$) соответствует $34,62^\circ$ угловым, а $1^\circ S = 0,3462^\circ$, что является коэффициентом для перевода градусов сахарной шкалы в угловые.

Сахариметр отличается от других поляриметров также и тем, что анализатор в нем установлен неподвижно и для уравнения освещенности полей зрения используют кварцевый клиновый компенсатор, соответственно положению которого по шкале отсчитывают значение угла вращения.

Сахариметр универсальный СУ-4 является усовершенствованной моделью СУ-3. Конструкция сахариметра СУ-4 представлена на рис. 17. Основными узлами сахариметра являются: узел измерительной головки и осветительный узел, соединенные между собой траверсой. Последняя крепится через стойку к основанию. На траверсе укреплены кюветное отделение для поляризметрических кювет и оправа с поляризатором и полутеневой пластиной.

С передней стороны измерительной головки расположены лупа для отсчета показаний по шкале и зрительная труба. С тыльной стороны находится винт механизма установки нониуса, служащий для совмещения нулевого деления нониуса с нулевым делением шкалы с помощью съемного ключа.

В нижней части измерительной головки находится рукоятка клинового компенсатора, вращая которую перемещают подвижный кварцевый клин и связанную с ним шкалу. В осветительный узел входят: патрон с лампой, который устанавливают тремя винтами и поворотная обойма со светофильтром и диафрагмой.

На основании установки находятся колонка для включения осветителя и ручка резистора для регулирования яркости поля зрения. Внутри основания вмонтирован понижающий трансформатор. На тыльной стороне основания находится винт заземления, вилка разъема для подключения осветителя сахариметра к трансформатору и предохранитель.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Перед началом анализа необходимо установить нуль прибора. За нулевой отсчет принимают среднее арифметическое 6 определений. Если нулевой отсчет отличается от нуля не более чем на одно деление нониуса, то нуль прибора считается установленным правильно.

Кюветы для анализа необходимо тщательно вымыть и просушить или 2—3 раза ополоснуть исследуемым раствором. Покровные стекла перед анализом протирают до блеска фильтровальной бумагой. Раствор для анализа должен быть прозрачным и профильтрованным. В кювете, заполненной раствором для анализа, не должно быть пузырьков воздуха.

Кювету заполняют дистиллированной водой, помещают в камеру прибора установленного на нуль, и, наблюдая за полем зрения, вращают ее вокруг своей оси. Если поле зрения при этом не изменится, то покровные стекла считаются пригодными. При завинчивании кювет нельзя сильно прижимать покровные стекла, так как в результате этого в стекле возникает дополнительное вращение плоскости поляризации, что влияет на точность результатов измерений.

Если поляриметр имеет кожух для термостатирования поляриметрической кюветы, то перед началом измерений через него необходимо в течение 10 мин пропускать воду из термостата при температуре $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$. В случае отсутствия кожуха следует работать в помещении при $20 \pm 3^\circ\text{C}$. При определении удельного вращения индивидуальной жидкости ее выдерживают в термостате при $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$ в течение 30 мин.

При анализе растворов инвертного сахара и фруктозы, вращательная способность которых значительно зависит от температуры, пользуются кюветами с кожухом.

Периодически необходимо проверять поляриметр по контрольной кювете с двумя нормальными кварцевыми пластинами на $-40^\circ S$ и $+100^\circ S$, которые прилагаются к прибору. Штуцера с пластинами ввинчивают с обоих концов кюветы. При проверке деления $+100^\circ S$ отсоединяют штуцер с пластиной $-40^\circ S$ и наоборот. Для кювет с двумя пластинками можно проверить деление $+60^\circ S$ (как алгебраическую сумму $+100 + (-40) = +60$).

Точность показаний поляриметра проверяют при $20^\circ C$. При проверке при другой температуре делают пересчет по фор-

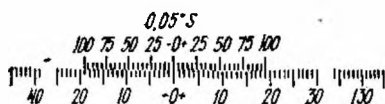


Рис. 18. Шкала и нониус сахариметра.

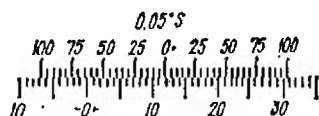


Рис. 19. Положение шкалы и нониуса сахариметра при $+11,85^\circ S$.

муле $\alpha_t = \alpha_{20} [1 + 0,000143 (t - 20)]$, где α_t и α_{20} — вращательная способность кварцевой пластинки при температуре измерения t и $20^\circ C$ соответственно $^\circ S$.

Разница в показаниях прибора и контрольной кюветы при проверенной нулевой точке является погрешностью данного прибора. Для сахариметра разница показаний не должна превышать $\pm 0,1^\circ S$. Сходимость показаний не более $0,01^\circ S$, чувствительность $0,05^\circ S$.

Поляриметрические кюветы имеют номинальную длину 100, 200 и 400 мм. На кювету наносят ее действительную длину, измеренную при температуре $20^\circ C$, с погрешностью не более $\pm 0,01\%$. Если отклонение измеренной длины от номинальной не превышает $\pm 0,01\%$, что соответствует $100 \pm \pm 0,01$; $200 \pm 0,02$ и $400 \pm 0,04$ мм, маркировку на кюветы не наносят.

Поляриметрические кюветы подлежат ежегодной проверке, так как износ торцов и изгиб трубок влияет на точность измерений. Пределы минимальных размеров поляриметрических кювет с номинальной длиной, мм: 100; 200 и 400 соответственно 99,95; 199,95 и 400. Поляриметрические кюветы, длина которых превышает указанные пределы, не пригодны к употреблению.

Кюветы длиной 100 мм применяют для анализа окрашенных растворов и при расчете результатов показания поляриметра умножают на 2. Кюветы длиной 400 мм применяют для анали-

ва растворов низкой концентрации и при расчете результатов показания поляриметра делят на 2.

Навеска 26 г и кювета длиной 200 мм называются нормальными. Если на анализ берут нормальную навеску материала или раствора, содержащих сахарозу, и поляриметрируют в нормальной кювете, то шкала сахариметра показывает содержание сахарозы в анализируемом образце в процентах.

Пример. На анализ взяли 26 г мелассы и поместили ее в колбу на 100 см³, измерение вращения проводили в кювете длиной 200 мм. Показание шкалы равно 48,2 °S, следовательно, в навеске содержалось $48,2 \cdot 0,26$ г сахарозы, а в 100 г мелассы $48,2 \cdot 0,26 \cdot 100 : 26 = 48,2$ % сахарозы.

Работать с нормальной навеской или с кратным ей количеством сахарозосодержащего вещества очень удобно.

После окончания работы поляриметр необходимо протереть мягкой, неворсистой салфеткой, на прибор надеть чехол, а кюветы уложить в футляр, чтобы не допустить их изгиба, так как это влияет на точность анализа. Покровные стекла чистят влажным тампоном, соблюдая при этом осторожность, чтобы не поцарапать полированные поверхности стекол.

ТЕХНИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Измерения проводят в следующей последовательности. Устанавливают сахариметр на нуль. Для этого закрывают крышкой кюветное отделение без кюветы. Затем вращением рукоятки клинового компенсатора уравнивают яркость полей сравнения. При этом нулевое деление шкалы и нониуса должны совпадать (рис. 18); если совмещения нет, переместить нониус ключом. После проверки нулевой точки проводят измерения.

Наполняют поляриметрическую кювету исследуемым раствором, отвинтив крышку с одного конца, ставят кювету на стол в вертикальном положении приливают раствор до появления в верхнем конце выпуклого мениска. Затем сбоку надвигают покрывное стекло и «срезают» мениск, накладывают резиновую прокладку и закручивают крышку. При этом необходимо следить, за тем, чтобы в трубке не оставалось пузырьков воздуха. Если сразу не удастся избежать попадания воздуха под стекло, его снимают, насухо вытирают, доливают раствор до появления мениска, снова закрывают стеклом и навинчивают гайку. В заполненной кювете протирают до блеска покрывные стекла и просматривают ее на свет, проверяя прозрачность и отсутствие пузырьков воздуха.

После чего вкладывают наполненную кювету в поляриметр и закрывают кюветное отделение крышкой. При этом изменяется однородность освещения обеих половин поля зрения. Уравнивают яркость полей сравнения вращением рукоятки

клинового компенсатора, отсчитывают показания по шкале и нониусу с точностью 0,05—0,1 °S. Если при измерении вращения бесцветных или слабоокрашенных растворов при установке на полутень оттенки обеих половинок одинаковы, то работают с матовым стеклом, ставя поворотную обойму в положение обозначенное буквой «М». Если же при этом окраски половинок поля зрения несколько различаются (имеют слегка желтоватый или голубоватый оттенки), то в оптическую систему вводят желтый светофильтр, ставя поворотную обойму в положение, обозначенное буквой «С». При работе с темноокрашенными растворами обойму ставят в положение без обозначения, соответствующее максимальной освещенности поля зрения.

Отсчет показаний при помощи нониуса приведен на рис. 19. На рисунке показано положение нониуса и шкалы, соответствующее отсчету 11,85 °S. Нуль нониуса расположен правее нуля

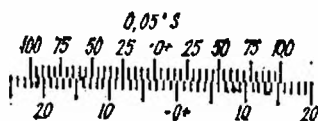


Рис. 20. Положение шкалы и нониуса сахариметра при $-3,25^{\circ}\text{S}$.

шкалы на 11 полных делений и в правой части нониуса с одним из делений шкалы совмещается его семнадцатое деление.

Положение шкалы и нониуса, соответствующее отсчету $-3,25^{\circ}\text{S}$, показано на рис. 20. Нуль нониуса расположен левее нуля шкалы на три полных деления и в левой части нониуса с одним из делений шкалы совмещается его пятое деление.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ СБРАЖИВАЕМЫХ САХАРОВ МЕЛАССЫ

Сумму сбраживаемых сахаров рассчитывают по специальной формуле с учетом результатов определения прямой поляризации, инверсионной поляризации и содержания инвертного сахара в исследуемой мелассе в соответствии с ОСТ 18-395—82.

Аппаратура, материалы, реактивы: сахариметр; весы аналитические; ультратермостат; шкаф сушильный лабораторный; термометр; воронки стеклянные; капельницы лабораторные; колбы вместимостью 100, 250, 500 и 1000 см³; цилиндры на 10, 50, 100 и 1000 см³; бюретки вместимостью 50 см³ с ценой деления 0,1 см³ и с форбаллонами вместимостью 1 дм³; пипетки вместимостью 2; 5; 20 и 50 см³; пробки резиновые конусные; стаканы вместимостью 100 и 500 см³; колбы конические вме-

стимостью 150 и 250 см³; аммиак водный; аммония дигидроортофосфат ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), вода дистиллированная; йод 0,0323 н. раствор; калия дихромат ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0,0323 н. раствор; калия—натрия тартрат ($\text{KООС}(\text{СНОН})\text{СООNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$); калия йодид (KJ); кислота азотная; кислота серная, раствор 1 : 4; кислота соляная 1 н. раствор; кислота уксусная; крахмал растворимый 0,5 %-ный раствор; натрия гидроксид; натрия карбонат безводный (Na_2CO_3); натрия гидрофосфат ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$); 0,0323 н. раствор; ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) натрия гидросульфит (NaHSO_2); сульфат меди ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$); ртути II йодид (HgI_2); свинца нитрат ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$); тальк; фенолфталеин; эфир этиловый.

Подготовка к испытанию. Приготовление реактива Герлеса. Реактив состоит из двух растворов — Герлес I и Герлес II.

Для приготовления раствора Герлеса I 340 г нитрата свинца, взвешенного в стакане вместимостью 100 см³, растворяют дистиллированной водой, затем переводят в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и доводят дистиллированной водой до метки.

Для приготовления раствора Герлеса II навеску 32 г гидроксида натрия, взвешенную в стакане вместимостью 500 см³, растворяют дистиллированной водой, затем переводят в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и доводят дистиллированной водой до метки.

Приготовление раствора соляной кислоты. 100 м³ соляной кислоты удельной массы 1,19, отмеренной градуированным цилиндром, растворяют в 500 см³ дистиллированной воды.

Приготовление реактива Офнера. Навеску 5 г перекристаллизованного сульфата меди, взвешенной в стакане вместимостью 100 см³, растворяют в 50—60 см³ дистиллированной воды, затем переводят в мерную колбу вместимостью 1 дм³.

В отдельном стакане смешивают навески 300 г мелкокристаллического тартрата калия—натрия, 10 г безводного карбоната натрия и 50 г гидрофосфата натрия, приливают 500 см³ дистиллированной воды, подогретой до 50 °С, и перемешивают содержимое стакана стеклянной палочкой для ускорения растворения смеси солей. Полученный раствор переводят в мерную колбу с раствором сульфата меди, перемешивают и фильтруют через двойной фильтр. Раствор должен быть совершенно прозрачным. Хранят его в стеклянной посуде из темного стекла с притертой пробкой.

Приготовление 0,0323 н. раствора дихромата калия. Навеску 1,5839 г перекристаллизованного и высушенного при 130—150 °С дихромата калия, взвешенного в стеклянном стакане, переводят дистиллированной

водой в мерную колбу вместимостью 1 дм³, доводят содержимое колбы до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Приготовление 0,5 %-ного раствора крахмала. 0,5 г растворимого крахмала, взвешенного в стакане вместимостью 50 см³, растворяют небольшим количеством воды, затем, помешивая стеклянной палочкой, переводят в коническую колбу вместимостью 150 см³, содержащую 100 см³ кипящей воды (после удаления горелки).

Приготовление 0,0323 н. раствора тиосульфата натрия. Навеску 25 г кристаллического тиосульфата натрия, взвешенного в стеклянном стакане, переводят в мерную колбу вместимостью 1 дм³ свежeproкипяченной охлажденной до 20 °С дистиллированной водой, добавляют 0,1 г безводного карбоната натрия, доводят содержимое колбы до метки той же водой и оставляют в покое на 6—7 дней в темном месте. Затем из этого раствора отбирают 323 см³ и переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм³, доводят до метки свежeproкипяченной дистиллированной водой при 20 °С, перемешивают и устанавливают титр по 0,0323 н. раствору дихромата калия.

В коническую колбу вместимостью 250 см³ с притертой пробкой отмеряют из бюретки точно 20 см³ 0,0323 н. раствора дихромата калия, прибавляют 0,5 г йодида калия, предварительно растворенного в 5 см³ воды, и 5 см³ раствора серной кислоты (1 : 4). Колбу закрывают пробкой, смоченной раствором йодида калия, и оставляют в темном месте на 10 мин. Затем прибавляют 50—60 см³ дистиллированной воды, пробку ополаскивают водой и титруют приготовленным раствором тиосульфата натрия до зеленовато-желтого окрашивания, прибавляют 2 см³ 0,5 %-ного растворимого крахмала и продолжают титровать до перехода синей окраски в светло-зеленую. Если на 20 см³ 0,0323 н. раствора дихромата калия расходуется точно 20 см³ приготовленного раствора тиосульфата, то последний считается точно 0,0323 н. раствора, если количество раствора тиосульфата, затраченное на титрование, отклоняется от 20 см³, то вычисляют поправочный коэффициент по формуле

$$K_p = 20/V_1,$$

где V_1 —объем раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование 20 см³ 0,0323 н. раствора дихромата калия, см³.

На этот коэффициент умножают объем тиосульфата, пошедший на титрование при определении редуцирующих веществ.

Приготовление 0,0323 н. раствора йода. 0,0323 н. раствор йода готовят из заранее пригото-

ленного приблизительно 0,1 н. раствора йода. Для этого навеску 25 г йодида калия, взвешенного в стеклянном стакане, растворяют в 50—60 см³ дистиллированной воды. В другом стакане взвешивают 12,7 г кристаллического йода и переводят в стакан с раствором йодида калия. Полученный раствор йода в йодиде калия переводят в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и доводят содержимое колбы до метки свежeproкипяченной и охлажденной до 20 °С дистиллированной водой. Раствор перемешивают и переводят в стеклянную посуду с хорошо закрывающейся притертой пробкой.

С помощью мерного цилиндра отбирают 323 см³ полученного раствора и переводят в мерную колбу вместимостью 1 дм³, содержимое колбы доводят до метки при 20 °С свежeproкипяченной дистиллированной водой, перемешивают и проверяют титр по титрованному 0,0323 н. раствору тиосульфата натрия.

В коническую колбу вместимостью 250 см³ переводят 20 см³ раствора йода и титруют раствором тиосульфата натрия от первоначального бурого до соломенно-желтого цвета. Затем прибавляют 5 см³ 0,5 %-ного раствора крахмала и дотитровывают до обесцвечивания. Поправочный коэффициент раствора йода вычисляют по формуле

$$K_n = (v_2 K_T) / 20,$$

где v_2 — количество тиосульфата натрия, пошедшее на титрование 20 см³ раствора йода, см³; K_T — поправочный коэффициент для раствора тиосульфата натрия.

Приготовление 1 %-ного раствора фенолфталеина. Навеску 1 г фенолфталеина переводят 90 %-ным этиловым спиртом в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят содержимое колбы до метки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЯМОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ

Проведение испытания. Взвешивают 65 г мелассы, с помощью теплой дистиллированной воды переводят в мерную колбу вместимостью 250 см³, где вместе с ополосками должно быть около 150 см³ смеси.

Полученный раствор охлаждают до 20 °С и осветляют раствором Герлеса I и Герлеса II.

На осветление расходуют по 30—50 см³ каждого из растворов. Для лучшего эффекта осветления и большей точности результатов анализа осветляющие реактивы должны вводиться по частям в 4—6 приемов. Процесс осветления осуществляют следующим образом: в колбу с раствором мелассы добавляют 5—10 см³ раствора Герлеса I и через 15—20 с — 5—10 см³ рас-

вора Герлеса II, смесь перемешивают легким вращением колбы в течение 1,5—2 мин, затем опять в указанном порядке задают осветлители; так повторяют несколько раз в зависимости от эффекта осветления.

Содержимое колбы доводят дистиллированной водой почти до метки, удаляют пену каплей эфира и доливают водой точно до метки при температуре 20 °С. Приставшие к шейке колбы капельки воды вытирают фильтровальной бумагой, после чего взбалтывают содержимое и фильтруют через сухой бумажный фильтр, вставленный в сухую воронку, которую покрывают сверху часовым стеклом. Фильтрат собирают в сухую коническую колбу. Первые 15 см³ фильтрата выливают. Если фильтрат мутный, то его возвращают на фильтрование и фильтруют до тех пор, пока не получится совершенно прозрачный раствор.

Для удаления избытка свинца на каждые 100 см³ полученного фильтрата в колбу прибавляют 0,9 г сухого измельченного порошка дигидроортофосфата аммония. После чего жидкость энергично взбалтывают и прибавляют на каждые 100 см³ фильтрата по 0,2 г тиосульфата или гидросульфита натрия. Затем раствор перемешивают и оставляют на 20 мин, снова взбалтывают и фильтруют согласно предыдущим указаниям.

Осветленный раствор наливают в кювету длиной 200 мм и поляризуют в сахариметре при температуре 20 °С.

Показание прибора равно величине прямой поляризации в процентах. За окончательный результат принимается среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не превышают $\pm 0,4$ %.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНВЕРСИОННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ

Метод основан на кислотном гидролизе сахарозы мелассы, сопровождающемся изменением направления вращения плоскости поляризации.

Проведение испытания. С помощью пипетки отбирают 50 см³ фильтрата (соответствующие 13 г мелассы), полученного при определении прямой поляризации, переводят в мерную колбу вместимостью 100 см³, наливают туда же 30 см³ раствора соляной кислоты (1 : 5) и перемешивают содержимое вращательным движением колбы. В колбу опускают термометр и помещают ее в водяную баню, предварительно нагретую до 75 °С. Колбу устанавливают не на дно бани, а на фарфоровую или металлическую вставку с круглыми вырезами.

Температуру воды в бане поддерживают в пределах 70—72 °С, нагревая содержимое колбы в течение 2,5—3 мин до 67—69 °С, и поддерживают эту температуру 5 мин.

По истечении 5 мин колбу вынимают из бани и быстро (в течение 2,5 мин) охлаждают под краном до 20 °С. Весь процесс инверсии должен быть проведен в течение 10 мин. Затем ополаскивают водой термометр, содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой, тщательно взбалтывают, фильтруют и поляризуют в кювете длиной 200 мм точно при 20 °С. Целесообразно для этих целей применять поляриметрическую кювету с кожухом, через который пропускается вода температурой 20 °С.

Удвоенное показание сахариметра является величиной инверсионной поляризации, выраженной в процентах. В случае отклонения температуры поляризации от 20 °С вводится поправка на температуру по формуле

$$H_{20} = H_t - 0,0038 (P + H_t) (20 - t),$$

где H — инверсионная поляризация, %; P — прямая поляризация, %; t — температура, °С.

За результат принимают среднее арифметическое двух определений, допускаемые расхождения между которыми не превышают $\pm 0,2$ %.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ИНВЕРТНОГО САХАРА

Для определения содержания инвертного сахара используется метод Офнера, основанный на окислении инвертного сахара щелочным раствором соединения меди (при этом сахара не окисляется) и йодометрическим определением количества образовавшейся закиси меди. Количество инвертного сахара определяется по количеству йода, вступившего в реакцию.

Проведение испытания. Из осветленного раствора, оставшегося после определения прямой поляризации, отбирают пипеткой 10 см³ (соответствующие 2,6 г мелассы), переводят в мерную колбу на 100 см³, доводят при 20 °С до метки дистиллированной водой, перемешивают и получают таким образом исходный раствор. После чего отбирают пипеткой 25 см³ исходного раствора (соответствующие 0,65 г мелассы), переводят в коническую колбу вместимостью 150 см³ и вливают 25 см³ реактива Офнера.

В смешанный раствор добавляют на кончике ножа немного талька в порошок или грубоизмельченной пемзы. Колбу ставят на асбестовую сетку с вырезанным в центре отверстием диаметром около 6,5 см и нагревают в течение 4—5 мин до начала кипения, затем поддерживают умеренное кипение точно 7 мин, по истечении которых содержимое колбы охлаждают до 20 °С в холодной воде, не взбалтывая, во избежание

окисления осадка. При нагреве на электрической плитке кипение регулируют, включая и выключая плитку.

После кипения раствор должен иметь голубоватую или зеленоватую окраску. Наличие желто-оранжевой окраски свидетельствует о недостаточном количестве реактива Офнера. В этом случае определение повторяют с раствором, разбавленным в 5, 10 или 20 раз. Для этого 5, 10 или 20 см³ исходного раствора переводят в колбу вместимостью 100 см³, доливают дистиллированной водой до метки и перемешивают. Отбирают пипеткой 25 см³ разбавленного таким образом исходного раствора, содержащего соответственно 0,13; 0,065 или 0,0325 г мелассы, переводят в коническую колбу вместимостью 150 см³ и прибавляют 25 см³ реактива Офнера.

Затем 7,5 см³ 1 н. раствора соляной кислоты, отмеренного градуированным цилиндром, осторожно прибавляют по стенкам колбы в охлажденный раствор, имеющий голубоватую или зеленоватую окраску, чтобы растворить находящийся на стенках осадок, и сразу же после добавления кислоты прибавляют к испытуемому раствору из бюретки 20 см³ 0,0323 н. раствора йода.

Колбу закрывают пробкой и оставляют на 2 мин, периодически перемешивая содержимое вращением. Точно через 2 мин оттитровывают избыток йода в колбе 0,0323 н. раствором тиосульфата. В конце титрования, когда раствор станет светло-желтым, в него добавляют 2,5 см³ 0,5 %-ного крахмального раствора и титруют до перехода окраски от синей в зеленую или бронзовую.

Одновременно проводят контрольный опыт (с тем же количеством раствора мелассы, реактивов и йода, что и в основном опыте без кипячения) для установления поправки на окисляемость йодом находящихся в растворе веществ.

По разности между объемом тиосульфата натрия, пошедшим на титрование в рабочем и контрольном опытах, устанавливают количество связывающегося йода. Содержание инвертного сахара определяют из расчета, что 1 см³ 0,0323 н. раствора йода эквивалентен 1 мг инвертного сахара по формуле

$$H_0 = \frac{(V_1 - V_2) 100}{1000 \cdot H},$$

где H_0 — содержание инвертного сахара к массе мелассы, %; V_1 — объем 0,0323 н. раствора тиосульфата натрия в контрольном опыте, см³; V_2 — объем 0,0323 н. раствора тиосульфата натрия в рабочем опыте, см³; H — фактическая навеска мелассы с учетом (если это имело место) дополнительного разбавления исходного раствора.

За результат принимают среднее арифметическое двух определений, допускаемые расхождения между которыми не превышают $\pm 0,1$ %.

Обработка результатов. Сумму сбраживаемых сахаров в свекловичной мелассе рассчитывают по формуле

$$C_{\text{сбр}} = 0,68P + 0,96I + 0,80I_0,$$

где $C_{\text{сбр}}$ — сумма сбраживаемых сахаров, %; P и I — абсолютные значения прямой и инверсионной поляризаций, %, определенные выше; I_0 — содержание инвертного сахара, %.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать $\pm 0,7$ %.

Пример. На определение инвертного сахара взяли 25 см³ раствора, полученного разведением в 10 раз (10 : 100) раствора, подготовленного для поляризации, что соответствует 0,65 г мелассы. Прибавили 20 см³ 0,0323 н. раствора йода. На титрование избытка йода затратили 13 см³ 0,0323 н. раствора тиосульфата натрия. На то же количество йода в контрольном опыте израсходовали 16,8 см³ тиосульфата натрия. Следовательно, количество йода, вступившего в реакцию, составило $16,8 - 13 = 3,8$ см³, или на 0,65 г мелассы соответственно 3,8 мг, что в процентах по массе мелассы составит:

$$I_c = \frac{(16,8 - 13) 100}{1000 \cdot 0,65} = 0,58 \text{ \%}.$$

Пример. При анализе мелассы установлено, что прямая поляризация составляет 48 %, инверсионная — 14,5 %, температура 20 °С, содержание инвертного сахара — 1 %.

Сумма сбраживаемых сахаров в мелассе:

$$C_{\text{сбр}} = 0,68P + 0,96I + 0,80I_0 = 0,68 \cdot 48,0 + 0,96 \cdot 14,5 + 0,80 \cdot 1,0 = 47,36 \text{ \%}.$$

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УСЛОВНОЙ КРАХМАЛИСТОСТИ СЫРЬЯ СПИРТОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Условную крахмалистость зерна, предназначенного для переработки в спиртовой промышленности, определяют по ОСТ 18-416—83, а отбор проб выполняют в соответствии с ГОСТ 135-86. 3—83.

Условную крахмалистость ячменя, овса, риса, проса, ржи, кукурузы, чумизы, сорго, гаюна, гречихи, вики, гороха и чечевицы определяют методом, основанным на переводе крахмала в растворимое состояние с применением соляной кислоты, а пшеницы с использованием хлорида кальция.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСЛОВНОЙ КРАХМАЛИСТОСТИ ЗЕРНА С ПРИМЕНЕНИЕМ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

Аппаратура, материалы и реактивы: сушильный шкаф типа СЭШ-1 или СЭШ-3М; весы лабораторные; мельница лабораторная; сита № 1 и 05; сахариметр; плитка электрическая нагревательная или газовая горелка; воронка В-75-110ХС или другие типа В; бумага фильтровальная; колба для определения содержания сахара вместимостью 100 см³ или колбы 1—100—2; Кн—1—100; пипетки 6—1—25; 7—1—10; кислота соляная, раствор соляной кислоты 1,124 %; раствор цинка сульфат; 30 %-ный раствор; калия гексацианоферрат (II) $[(K_4[Fe(CN_6)])]$, 15 %-ный раствор; вода дистиллированная; аммония молибдат $((NH_4)_6MO_7O_{24} \cdot 4H_2O)$, 2,5 %-ный раствор; натрия молибдат, 2,5 %-ный раствор; этиловый эфир.

Подготовка к испытанию. Из объединенной пробы на делителе или вручную способом, указанным в ГОСТ 10839—64, выделяют 30—50 г неочищенного зерна, подсушивают его в сушильном шкафу, если оно содержит более 16 % влаги, размалывают на лабораторной мельнице так, чтобы размолотое зерно прошло через сито с диаметром отверстий 1 мм (для кукурузы — 0,5 мм). Остаток вновь размалывают и просеивают до тех пор, пока весь помол не пройдет через сито.

Размолотое зерно переносят на ровную поверхность смешивают и разравнивают, затем придают его стеклом так, чтобы слой размолотого зерна получился не более 3—5 мм. Удалив стекло, отбирают не менее чем из 10 различных мест слоя две навески массой по 5 г каждая и взвешивают с погрешностью не более $\pm 0,01$ г.

Одновременно берут навеску полученного размолотого зерна для определения влажности методом высушивания в сушильном шкафу при 130 °С по ГОСТ 3040—55.

Проведение испытания. Навеску размолотого зерна переносят в сухую колбу вместимостью 100 см³. Сюда же в два приема по 25 см³ вливают 50 см³ раствора соляной кислоты. После добавления первой порции кислоты содержимое колбы взбалтывают до полного смачивания продукта и исчезновения комочков.

Следующей порцией кислоты (25 см³) смывают частицы муки со стенок горлышка колбы, смесь осторожно перемешивают и помещают колбу в кипящую водяную баню на 15 мин. В течение первых 3 мин, не вынимая колбы из бани, размешивают ее содержимое плавными круговыми движениями. Необходимо, чтобы вода в бане была выше уровня жидкости в колбе и непрерывно кипела.

По истечении 15 мин колбу вынимают из бани, вливают в нее 25—30 см³ холодной дистиллированной воды, взбалтывают и охлаждают раствор до температуры 20 °С. Затем для осаждения белков и осветления раствора в колбу приливают 1 см³ раствора сульфата цинка и после перемешивания добавляют 1 см³ раствора гексацианоферрата калия. Снова перемешивают содержимое колбы. Взамен обоих указанных реактивов, в случае их отсутствия, в колбу приливают 6 см³ раствора молибдата натрия или молибдата аммония.

При использовании молибдатов в качестве осадителей белков рекомендуется избегать попадания прямых солнечных лучей на реактивы. Если после добавления осадителей образуется пена, то ее погашают добавлением 1—2 капель этилового эфира.

Объем жидкости в колбе доводят дистиллированной водой до метки, соответствующей 100 см³. После тщательного перемешивания раствор фильтруют через сухой складчатый бумажный фильтр в чистую сухую колбу. Первые 20 см³ фильтрата отбрасывают. Остальной фильтрат после перемешивания используют для анализа с помощью сахариметра в кювете длиной 200 мм при температуре 20 °С.

Фильтратом наполняют поляризационную кювету, помещают в прибор и сразу же делают первый отсчет по шкале прибора. Заполняя кювету новой порцией фильтрата, делают следующий отсчет. Всего должно быть сделано не менее 3 отсчетов. Расхождение между результатами отсчетов не должно превышать 0,1° шкалы. В противном случае делают дополнительно 3 отсчета с новой порцией фильтрата. За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов 3 отсчетов, значения которых не превышают допускаемое расхождение.

При анализе всех видов зерна, кроме овса, определение проводят в кювете длиной 200 мм. Для овса применяют кювету длиной 100 мм и полученные результаты удваивают.

Обработка результатов. Условную крахмалистость в каждой навеске зерна, %, вычисляют по формуле

$$X = KP.$$

В пересчете на абсолютно сухое вещество:

$$X = (KP/100)/100 - W,$$

где K — расчетный коэффициент, равный для ячменя — 1,912; овса — 1,914; ржи — 1,957; кукурузы — 1,849; риса — 1,866; проса и чумизы — 1,818; сорго и гаоляна — 1,865; гречихи — 1,805; вики, гороха, чечевицы — 1,747; P — показание сахариметра, °S; W — влажность размолотого зерна %.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 0,5 % при длине кюветы 200 мм и 1 % при длине кюветы 100 мм. В противном случае анализ повторяют.

Для контрольных определений допустимая норма расхождений 0,5 % при длине кюветы 200 мм и 1 % при длине кюветы 100 мм.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСЛОВНОЙ КРАХМАЛИСТОСТИ ПШЕНИЦЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ХЛОРИДА КАЛЬЦИЯ

Метод основан на том, что при обработке помола зерна насыщенным раствором хлорида кальция крахмал переходит в растворимое состояние и вместе с другими углеводами зерна дает оптически активные растворы.

Аппаратура, материалы и реактивы: кальция хлорид двуводный или кальций хлорид, насыщенный раствор плотностью 1300 кг/м³; уксусная кислота, 1,6 %-ный раствор калия гексацианоферрат (II), 15 %-ный раствор.

Подготовка к испытанию. Помол зерна и взятие навесок для анализа и определения влажности осуществляют как указано выше. Отличие состоит в том, что из размолотого зерна отбирают две навески по 2 г каждая.

Проведение испытания. Навеску размолотого зерна пшеницы переносят в сухую круглодонную широкогорлую колбу вместимостью 100 см³ (допускается применение колбы для определения содержания сахара), наливают 5 см³ дистиллированной воды и размешивают стеклянной палочкой до исчезновения комочков. Затем приливают 60 см³ насыщенного раствора хлорида кальция и 2 см³ уксусной кислоты. Если будет обнаружено, что растворы плохо фильтруются, в последующих анализах количество раствора уксусной кислоты увеличивают до 3 см³.

Содержимое колбы тщательно перемешивают, колбу закрепляют в штативе на некотором расстоянии от источника нагрева (электроплитки, газовой горелки, пламя которой прикрыто асбестовой сеткой) и нагревают до кипения в течение 5—6 мин. При более быстром нагреве может произойти сильное вспенивание и выбрасывание массы из колбы. Не рекомендуется также проводить нагрев до кипения более 5—6 мин, так как в этом случае возможна частичная клейстеризация крахмала, способствующая образованию комков и пригоранию их. Во время нагрева содержимое колбы перемешивают стеклянной палочкой.

Кипячение проводят в течение 15 мин. Кипение должно быть умеренным. При бурном кипении необходимо уменьшить нагрев (отодвинуть плитку, уменьшить пламя горелки, поднять колбу и т. д.), но так, чтобы кипение не прекращалось. Время от времени палочкой снимают частицы смеси со стенок колбы. После кипячения реакцию смесь в горячем состоянии переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и охлаждают до 20 °С. Реакционную колбу ополаскивают дистиллированной водой, сливая ее в ту же мерную колбу, добавляют 1 см³ раствора сульфата цинка и после энергичного перемешивания 1 см³ раствора гексацианоферрата калия. Объем жидкости доводят при температуре 20 °С до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр в сухую колбу. Первые 20 см³ фильтрата отбрасывают. Остальной фильтрат после перемешивания используют тотчас же для поляризации с помощью сахариметра в кювете длиной 200 мм и при температуре 20 °С.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов трех отсчетов, значение которых не превышает допустимое расхождение — 0,1 °S.

Обработка результатов. Условную крахмалистость, %, в каждой навеске зерна вычисляют по следующим формулам: при данной влажности поступившего зерна

$$X = 4,271 \cdot P$$

в пересчете на абсолютно сухое вещество

$$X = (4,271 \cdot P \cdot 100) / (100 - W),$$

где 4,271 — расчетный коэффициент для пшеницы; P — показание сахариметра, °S; W — влажность размолотого зерна, %.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 0,6 %. В противном случае анализ повторяют. При контрольных определениях допустимая норма расхождений 0,6 %.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСАХАРИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СОЛОДА (МЕТОД ВНИИПРБ)

Метод применяется для контроля качества солода, сусла и бражки в производстве спирта из крахмалистого сырья. Активность ферментов в осаживающих материалах влияет на эффективность процессов осаживания, брожения и величину производственных потерь сырья. Для контроля активности амилолитических ферментов в процессах технологии

10. Нормативы амилолитических ферментов в осажаривающих материалах

Материал	Активность				Материал	Активность			
	амилолити- ческая		осахариваю- щая			амилолити- ческая		осахариваю- щая	
	минималь- ная	максим- альная	минималь- ная	максим- альная		минималь- ная	максим- альная	минималь- ная	максим- альная
Солод:	Ед/г					Ед/100 см ³			
ячменный	20	35	4	6,5	Осахаренное	20	35	4,5	8
овсяный	15	25	2	3	сусло				
ржаной	18	20	2,5	5	Бражка	2	8	0,3	2
просяной	8	12	0,8	1,5					

производства спирта ВНИИПрБ рекомендует нормативные величины, приведенные в табл. 10.

Метод основан на определении поляризации субстрата, гидролизованного ферментами исследуемого солода, в сравнении с контролем.

Осажаривающая активность (ОА) характеризует степень гидролиза крахмала под действием ферментов до мальтозы и глюкозы. Мальтоза является конечным продуктом гидролиза крахмала растительными α - и β -амилазами. Таким образом, ОА отражает действие одного или нескольких ферментов на данный субстрат. Выражают ОА числом единиц, содержащихся в 1 г, 1 см³ или 100 см³ осажаривающего материала.

За единицу ОА принимают такое количество фермента, которое гидролизует при 50 °С в течение 30 мин при рН 4,7—4,9 до низкомолекулярных углеводов 1 г крахмала субстрата, составляющего 10 % от введенного в реакцию.

Аппаратура, материалы, реактивы; сахариметр; ультра-термостат; субстрат — 2 %-ный раствор растворимого картофельного крахмала; 30 %-ный раствор сульфата цинка; 15 %-ный раствор гексацианоферрата (II) калия; 1 н. раствор соляной кислоты; фосфатный буферный раствор с рН 4,8—4,9.

Подготовка к испытанию. Приготовление фосфатного буферного раствора (рН 4,8—4,9). Для приготовления раствора отвешивают 11,876 г гидроортофосфата натрия и 9,079 г дигидрофосфата калия. Навески солей растворяют раздельно в дистиллированной воде в колбах на 1 дм³, доводят содержимое до метки и получают растворы солей I и II. Для получения буферного раствора с рН 4,85 перед анализом растворы смешивают в соотношении 1 : 1; 0,1 н. раствор HCl.

Приготовление 2 %-ного раствора крахмала. Для приготовления субстрата необходимо взять такое количество воздушно-сухого растворимого картофельного крахмала, которое содержало бы 2 г сухого вещества. При известной влажности воздушно-сухого крахмала величину его навески определяют из соотношения $2 \cdot 100 : (100 - W)$ г. Навеску переводят в мерную колбу на 100 см³, добавляют к ней 25 см³ воды и перемешивают. Затем добавляют еще 25 см³ воды и колбу помещают в кипящую водяную баню на 20 мин, непрерывно перемешивая содержимое до полного растворения крахмала. После чего колбу охлаждают и добавляют 10 см³ фосфатного буферного раствора (рН 4,8—4,9). Раствор доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и используют для проведения анализа. Готовить его надо в день проведения анализа.

Допускается хранить субстрат в холодильнике и применять его в течение 5—10 дней после приготовления. В этом случае каждый раз субстрат кипятят в течение 5—7 мин для растворения студня, а затем охлаждают и используют.

Приготовление вытяжки ферментов из солода. При работе с солодом применяют фосфатный буферный раствор. Для анализа используют рабочие растворы ферментов.

Для этого готовят основной (I) и рабочий (II) растворы. Для приготовления основного раствора навеску измельченного свежепросошедшего солода (просяного — 10 г; ячменного, овсяного или ржаного — по 5 г) переносят в коническую колбу на 200—250 см³, добавляют 10 см³ фосфатного буфера и 90 см³ дистиллированной воды. Смесь выдерживают 1 ч при

11. Приготовление рабочего раствора ферментов солода

Ожидаемая активность солода, ед./г	Масса солода в 5 см ³ II рабочего раство- ра, мг		Расход раствора I, см ³	Общий объем раз- бавленного раство- ра II, см ³	Ожидаемая активность солода, ед./г	Масса солода в 5 см ³ II рабочего раство- ра, мг		Расход раствора I, см ³	Общий объем раз- бавленного раство- ра II, см ³
Просяной солод					Ячменный, овсяный, ржаной солод				
5—10	30	6	100		15—20	20	4	50	
10—15	30	4	100		20—30	10	2	50	
15—20	10	2	100		30—50	7,5	3	100	
15—20	20	4	50						

температуре 30 °С при периодическом помешивании стеклянной палочкой, затем ее фильтруют через складчатый фильтр. Фильтрат представляет собой основной раствор (I). Рабочий раствор ферментов солода (II) готовят из основного раствора (I), разбавляя его водой так, чтобы в растворе, введенном в реакцию, содержалось количество ферментов, обеспечивающих гидролиз крахмала в принятых условиях на 20—70 % (табл. II).

Проведение испытания. В две пробирки ($d = 18$ мм, $l = 180$ мм) наливают по 20 см³ субстрата и инкубируют его в ультратермостате при температуре 50 °С в течение 5—10 мин. Затем к содержимому одной пробирки добавляют 10 см³ рабочего раствора ферментов, перемешивают и выдерживают в термостате при $50 \pm 0,2$ °С точно (по секундомеру) 30 мин. Ферменты быстро инактивируют добавлением 1 см³ 1 н. раствора соляной кислоты и осаждают оптически активные сахара двойным осадителем. Для этого приливают в пробирку 1 см³ сульфата цинка и после перемешивания 1 см³ раствора гексацианоферрата калия содержимое пробирки охлаждают до 20 °С. Одновременно в другой пробирке готовят контрольный раствор, в который входят 10 см³ раствора фермента, 1 см³ 1 н. раствора HCl, 1 см³ осадителей и 20 см³ субстрата.

Содержимое пробирок перемешивают при 20 °С и фильтруют через складчатый фильтр. Испытуемый и контрольный фильтраты поляризуют в кювете длиной 200 мм. Определив поляризацию контрольного (P_k) и опытного (P_o) растворов, вычисляют разность угла вращения ΔP плоскости поляризации этих растворов: $\Delta P = P_k - P_o$. Значение ΔP на поляриметре типа СУ-3 должно быть не менее 0,2°.

При анализе солодов для расчета ОА применяют уравнение

$$OA = (0,050\Delta P + 0,0114) \cdot 10^3 : H,$$

где 0,050 и 0,0114 — коэффициенты, найденные опытным путем; H — количество солода в реакционной среде, мг.

Пр и м е р. Определить ОА ячменного солода влажностью 42 %, если на приготовление 100 см³ основного раствора ферментов израсходовали 5 г солода.

Основной раствор разбавлен в 20 раз (5 см³: 100 см³). Следовательно, в реакцию введено: $H = 5 \cdot 5 \cdot 1000 : (100 \cdot 100) = 25$ мг солода.

При поляризации фильтратов субстрата на поляриметре типа СУ-3 получены такие данные: $P_k = 14,1^\circ$, $P_o = 12,6^\circ$ и $\Delta P = 14,1 - 12,6 = 1,5^\circ$.

Тогда осахаривающая активность влажного солода $OA = (0,050 \cdot 1,5 + 0,0114) \cdot 10^3 : 25 = 3,45$ ед./г, или в пересчете на абсолютно сухое вещество $OA = 3,45 \cdot 100 : (100 - 42) = 5,95$ ед./г.

Ячменный солод с $OA = 3,45$ ед./г относится к солодам среднего качества.

Поляриметрический метод, предусматривающий гидролиз при высокой температуре ($50^{\circ}C$), позволяет достаточно точно установить за 30 мин изменение состава субстрата по его поляризации. Метод достаточно быстрый и простой. Точность метода составляет $\pm 5-7$ отн. %.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОАМИЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ (МЕТОД ВНИИПрБ)

Метод предназначен для определения активности фермента глюкоамилазы в любых ее продуцентах микробного происхождения, выпускаемых ферментными цехами спиртовых заводов, заводами Главмикробиопромы, а также зарубежными фирмами.

Метод основан на определении скорости гидролиза мальтозы глюкоамилазой, которая измеряется поляриметрически по изменению угла вращения плоскости поляризации до и после действия фермента на субстрат.

Мальтоза не атакуется α -амилазой, поэтому она не мешает определению глюкоамилазы. Единственным продуктом действия глюкоамилазы на мальтозу является глюкоза. Удельный угол вращения плоскости поляризации мальтозы составляет $+130,4^{\circ}$, а глюкозы — $(+52,5^{\circ})$, что положено в основу поляриметрического метода определения активности глюкоамилазы.

Изменение угла вращения плоскости поляризации реакционной среды, после действия фермента, пропорционально количеству образующейся глюкозы, следовательно, пропорционально количеству глюкоамилазы, находящейся в растворе, и времени ее действия. За единицу активности глюкоамилазы принимают такое количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 мкмоль мальтозы при $50^{\circ}C$ в течение 1 мин и pH 4,7.

Результаты определения активности глюкоамилазы поляриметрическим экспресс-методом по мальтозе можно также выражать в единицах стандартного глюкозооксидазного метода. В этом случае за единицу активности глюкоамилазы принимают такое количество фермента, которое за 1 мин при $30^{\circ}C$ и pH 4,7 образует 1 мкмоль глюкозы из крахмала.

Аппаратура, материалы, реактивы: весы лабораторные аналитические; сахариметр; ультратермостат или водяная баня на $50^{\circ}C \pm 0,1^{\circ}C$; pH -метр; термометр с ценой деления

0,1 °С; стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 30 и 150 см³; колбы конические вместимостью 250 см³; колбы стеклянные мерные вместимостью 25, 50, 100, 250 и 1000 см³; воронки стеклянные; пробирки стеклянные размером 25 × × 200 мм; пипетки градуированные на 5 и 25 см³; пипетки Мора на 5, 10, 20 и 100 см³; бумага фильтровальная; ацетат натрия; кислота уксусная; кислота соляная; мальтоза перекристаллизованная; сульфат цинка; гексациано-феррат (II) калия.

Подготовка к испытанию. П е р е к р и с т а л л и з а ц и я мальтозы. Смешивают 20 см³ дистиллированной воды и 100 см³ ректификованного спирта крепостью 96 об. %.

Полученную смесь нагревают на кипящей водяной бане и вносят в нее 24 г мальтозы, тщательно перемешивают, добиваясь полного растворения кристаллов мальтозы. Раствор оставляют на 8—10 ч при температуре 30 ± 1 °С для осаждения примесей. Затем верхний, прозрачный раствор мальтозы осторожно декантируют, закрывают крышкой и оставляют в холодном месте для выпадения кристаллов мальтозы, которое происходит в течение 2—3 сут. Затем раствор над кристаллами декантируют, а кристаллы мальтозы промывают несколькими порциями ректификованного спирта (5—6 раз) и ацетона (2—3 раза). Выход мальтозы составляет 60—70 %.

Приготовление раствора ацетата концентрации 1 моль/дм³. Берут 136 г ацетата натрия и помещают его в мерную колбу вместимостью 1 дм³, доводят объем до метки дистиллированной водой.

Приготовление раствора уксусной кислоты с концентрацией 0,1 моль/дм³. Берут 58 см³ ледяной уксусной кислоты, наливают ее в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и доводят объем дистиллированной водой до метки.

Приготовление ацетатного буферного раствора с рН 4,7. Смешивают равные объемы уксусной кислоты концентрацией 1 моль/дм³ и ацетата натрия концентрацией 1 моль/дм³. Величину рН проверяют на потенциометре.

Приготовление раствора соляной кислоты концентрацией 5 моль/дм³. Берут 430 см³ соляной кислоты и разбавляют до 1 дм³ дистиллированной водой.

Приготовление раствора сульфата цинка концентрацией 300 г/дм³. Берут 30 г сульфата цинка и помещают его в мерную колбу вместимостью 100 см³, перемешивают до полного растворения соли и доводят до метки дистиллированной водой.

Приготовление раствора гексациано-феррата-III калия концентрацией 150 г/дм³. Берут 15 г гексациано-феррата-III калия, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, перемешивают до полного растворения соли и доводят до метки дистиллированной водой.

Приготовление раствора субстрата. Концентрация мальтозы в растворе должна составлять 20 г/дм³. Для этого 20 г перекристаллизованной мальтозы растворяют в мерной колбе вместимостью 1 дм³ в небольшом количестве дистиллированной воды, добавляют 100 см³ ацетатного буферного раствора с рН 4,7, доводят до метки дистиллированной водой и фильтруют. Раствор готовят не менее чем за сутки до его использования, чтобы в нем прошла мутаротация, и хранят при температуре 4—6 °С. Если при хранении раствор мальтозы помутнеет, пользоваться им нельзя.

Приготовление испытуемых растворов ферментных препаратов. Пробы ферментных препаратов отбирают по ГОСТ 20264. 0—74*. Разовые средние пробы объемом не менее 500 см³ фильтруют через бумажный фильтр (или двойной полотняный мешок), возвращая первые порции обратно, до получения прозрачного раствора.

Испытуемые растворы глюкоамилазы должны обеспечивать величину ΔP в пределах от 0,5 до 2°S.

Глюкаваморин Гх-466. Отбирают 5—10 см³ (в зависимости от ожидаемой активности) прозрачного раствора и помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой.

Глюкаваморин Г10х. Отбирают 0,1 г препарата фермента и взвешивают в стаканчике вместимостью 10—20 см³, тщательно растирают стеклянной палочкой с небольшим количеством дистиллированной воды, переносят в мерную колбу вместимостью 50 или 100 см³, доводят дистиллированной водой до метки и фильтруют через бумажный фильтр.

Глюкаваморин Пх. Отбирают 5 г препарата, помещают в фарфоровую ступку, тщательно растирают пестиком, туда же пипеткой вносят 100 см³ дистиллированной воды и экстрагируют фермент в течение 60 мин при температуре 30 °С, периодически помешивая смесь пестиком. Затем раствор фермента фильтруют через бумажный фильтр.

Глюкаваморин Г18х-466. Отбирают 5 см³ прозрачного раствора, пипетку снаружи протирают фильтровальной бумагой, а раствор вносят в мерную колбу вместимостью 250—500 см³, частично заполненную дистиллированной водой. Снова промывают пипетку несколько раз этой водой и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Проведение испытания. В две пробирки размером 25 × 200 мм пипеткой отмеривают по 25 см³ раствора субстрата (мальтозы) концентрацией 20 г/дм.³ Пробирки с раствором нагревают в течение 5—10 мин до 50 ± 0,1 °С в ультратермостате или на водяной бане. Пользоваться воздушным термостатом не рекомендуется. Затем доливают 5 см³ раствора фермента, быстро перемешивают и выдерживают смесь 15 мин (5 с) в ультратермостате или на водяной бане при температуре 50 ± 0,1 °С. После чего ферментативную реакцию прекращают добавлением 1 см³ раствора соляной кислоты концентрации 5 моль/дм.³ и охлаждают растворы до температуры 20 °С.

Одновременно проводят контрольный анализ. Для этого к 25 см³ раствора субстрата приливают сначала 1 см³ раствора соляной кислоты концентрацией 5 моль/дм.³, а затем вносят 5 см³ раствора фермента. Если опытные и контрольные гидролизаты были мутными, их следует осветлить. Для осветления приливают по 1 см³ раствора сульфата цинка концентрацией 300 г/дм.³. Затем добавляют по 1 см³ раствора гексацианоферрата калия концентрацией 150 г/дм.³, содержимое пробирок перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр.

После чего в опытных и контрольных растворах определяют угол вращения плоскости поляризации на сахариметре или автоматическом поляриметре, имеющих нормальную сахарную шкалу в кювете на 200 мм. Можно пользоваться также поляриметрами с круговой шкалой типа А1-ЕПЛ и А1-ЕПО. В этом случае измеренные величины надо умножить на коэффициент 2,8885 для перевода круговых градусов в градусы нормальной сахарной шкалы.

Расчет активности глюкоамилазы. Расчет проводят по формуле

$$Г_{\text{Лп}} = \frac{0,00243 \cdot 31 \cdot 10^6 \Delta \Pi}{15 \cdot 2 \cdot 180,16a} = \frac{13,94 \Delta \Pi}{a},$$

где Г_{Лп} — глюкоамилазная активность, определенная по мальтозе поляриметрическим методом и выраженная в единицах поляриметрического метода в расчете на 1 г или 1 см³ препарата фермента, ед./см³ или ед./г; 0,00243 — количество глюкозы, образующейся в условиях определения из мальтозы, в 1 см³ реакционной смеси и соответствующее ΔΠ = 1°S, г; 31 — объем реакционной смеси, см³; 10⁶ — коэффициент перевода г в мкг; 15 — время действия фермента глюкоамилазы; 2 — коэффициент, учитывающий, что при гидролизе 1 молекулы мальтозы образуется 2 молекулы глюкозы; 180,16 — молекулярная масса глюкозы, г (перевод из мкг в мкмоль); а — количество фермента в инкубационной смеси, г или см³; ΔΠ — изменение угла вращения плоскости поляризации

в опытном образце по сравнению с контрольным, °S. Получаемые результаты выражены в единицах поляриметрического метода.

В случае применения осветления в расчете следует учесть изменение объема реакционной среды на 2 см³ за счет осветлителей. Конечный результат умножают на коэффициент 1,06 (33 : 31).

Перевод в единицы стандартного глюкозооксидазного метода осуществляется по формуле

$$\text{ГлАп} = \text{ГлАп } K,$$

где ГлАп — активность глюкоамилазы в единицах стандартного глюкооксидазного метода, ед./см³ или ед./г; K — коэффициент для пересчета ферментного препарата глюкаваморин Гх-466, полученного на регламентной среде, он равен $1,76 \pm 0,11$; глюкаваморина Пх — $1,51 \pm 0,11$; глюконигрина — $1,58 \pm 0,11$. При изменении условий культивирования продуцента глюкоамилазы значение коэффициента следует уточнять. Коэффициент определяют путем сравнительного анализа активности глюкоамилазы стандартным глюкооксидажным и поляриметрическим методом. Анализ проводят на пяти пробах, полученных при разных ферментациях.

Коэффициент рассчитывают по формуле

$$K = \text{ГлА}/\text{ГлАп}.$$

Пример 1. Глюкоамилазная активность препарата глюкаваморин Гх, определенная стандартным методом, равна 167,03 ед./см³; глюкоамилазная активность по поляриметрическому методу (мальтозе) равна 91,51 ед./см³, откуда $K = 167,03/91,51 = 1,83$.

Пример 2. Отбирают 5 см³ профильтрованного препарата глюкаваморина Гх-466 и помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят объем до метки дистиллированной водой. На анализ берут 5 см³ разведенного раствора фермента. Объем исходного ферментного препарата в реакционной среде:

$$a = (5 \cdot 5)/100 = 0,25 \text{ см}^3.$$

При анализе получили значение поляризации: контрольного раствора $P_k = 12,27$ °S, опытного $P_o = 10,63$ °S; откуда

$$\Delta P = 12,27 - 10,63 = 1,64^\circ.$$

Активность глюкоамилазы в препарате глюкаваморина Гх-466 составила:

$$\text{Гл Ап} = (13,94 \cdot 1,64)/0,25 = 91,44 \text{ ед./см}^3.$$

Активность в единицах стандартного метода:

$$\text{Гл А} = 91,44 \cdot 1,83 = 167,85 \text{ ед./см}^3.$$

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЯ

Фотоколориметрия применяется для анализа органических и неорганических соединений в различных продуктах бродильных производств. Этот метод не требует больших затрат времени на подготовку и проведение анализа, используется сравнительно несложная аппаратура, которая обеспечивает хорошую точность ($\pm 2-3\%$).

Фотоколориметрический метод основан на измерении интенсивности света, прошедшего через окрашенный раствор, с помощью специальных оптических приборов с фотоэлементом — фотоколориметров.

Поглощение света в растворах характеризуется двумя параметрами — интенсивностью поглощения светового потока и длиной волны поглощенного света. Интенсивность поглощения определяется специфическими свойствами вещества, его концентрацией и толщиной слоя.

По основному закону фотометрии Бугера—Ламберта—Бера зависимость между интенсивностью окраски раствора и содержанием окрашенного вещества выражается уравнением: $I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon Cl}$, где I — интенсивность потока света, прошедшего через раствор; I_0 — то же, падающего на раствор; ϵ — молярный коэффициент светопоглощения — постоянная величина, зависящая от природы растворенного вещества; C — молярная концентрация окрашенного вещества в растворе; l — толщина слоя светопоглощающего раствора, см. Физический смысл этого закона состоит в том, что растворы одного и того же окрашенного вещества при одинаковой его концентрации и толщине слоя (а также при прочих равных условиях) поглощают одну и ту же долю падающего на них света. Светопоглощение таких растворов одинаково.

Логарифмируя уравнение и меняя знаки на обратные, получаем выражение $\lg I_0/I = \epsilon Cl$.

Степень ослабления интенсивности света, прошедшего через раствор вещества, характеризуется поглощением или пропусканием.

Величину поглощения $\lg I_0/I$ называют оптической плотностью раствора и обозначают через D . Оптическая плотность может иметь любые положительные значения, однако современные приборы позволяют определять оптическую плотность, не превышающую 2—3 ед. Отношение $\lg I/I_0$ характеризует пропускание или прозрачность раствора и обозначают через T . Величина пропускания может измеряться от 1—0 или

100—0 %. Величину пропускания, отнесенную к толщине слоя равному 1 см, называют коэффициентом пропускания.

Оптическая плотность и коэффициент пропускания связаны между собой соотношением $D = 2 - \lg T$ (если T выражено в процентах). При соблюдении основного закона светопоглощения оптическая плотность раствора прямо пропорциональна молярному коэффициенту поглощения, концентрации поглощающего вещества и толщине слоя раствора: $D = \epsilon_{\lambda} Cl$.

При графическом изображении зависимости оптической плотности от концентрации (при постоянной толщине слоя) получается прямая линия, которая проходит через начало координат при отсутствии поглощения света растворителем и систематических погрешностей.

Для того чтобы вещество определить фотометрически, проводят цветную реакцию и получают окрашенный раствор. Чувствительность метода зависит от химической реакции.

Цветные реакции, используемые в фотометрии, должны удовлетворять определенным требованиям, которые учитывают при разработке методов. Так, реакция получения окрашенного раствора должна протекать с большой скоростью, а полученное окрашенное соединение должно иметь интенсивную окраску (чем она интенсивнее, тем чувствительнее метод анализа).

Окраска должна быть устойчивой во времени и малочувствительной к свету. Интенсивность окраски не должна меняться с изменением температуры и pH раствора. Если изменение pH раствора оказывает заметное влияние на интенсивность окраски, то цветную реакцию следует проводить при строго определенной величине pH.

Интенсивность окраски должна быть прямо пропорциональна концентрации окрашенного соединения. Раствор данного окрашенного соединения должен подчиняться закону Бугера—Ламберта—Бера. Поэтому необходимо работать в оптимальных условиях, выбрав подходящий реагент и способ приготовления окрашенных испытуемого и стандартного растворов.

Продукт фотометрической реакции должен иметь постоянный состав. Для его стабилизации, например, комплексных соединений подбирают условия среды, избыток реагента, оптимальное время проведения реакций. Фотометрическая реакция должна быть избирательной и проходить, по возможности, только с определенным компонентом. Кюветы для анализа берут такие, чтобы измеряемые величины укладывались в интервале 0,1—1, а для наиболее точных измерений — в пределах 0,200—0,500. Для сильноокрашенных растворов используют кюветы с длиной рабочей грани 1—5 мм, для слабоокрашенных — 30—50 мм.

С целью увеличения точности и чувствительности метода измерение оптической плотности раствора должно проводиться при длине волны максимального поглощения света.

Максимум поглощения света в определенной спектральной области является важной оптической характеристикой вещества, а весь спектр поглощения характеризует его качественную индивидуальность. Минимальная относительная ошибка определения концентрации раствора получается в оптимальном интервале 0,2—0,5 и составляет 0,5 %.

Правильно подобранный светофильтр способствует повышению чувствительности и точности метода. Наиболее точно светофильтры подбирают экспериментально или в соответствии с данными табл. 12. Так, для фотометрирования желтых растворов применяют синие или фиолетовые, а для синих — желтые или красные светофильтры.

12. Метод подбора светофильтров для фотометрии

Анализируемый раствор		Светофильтр	Анализируемый раствор		Светофильтр
Цвет	Поглощаемая часть спектра, нм	Цвет	Цвет	Поглощаемая часть спектра, нм	Цвет
Желто-зеленый	400—450	Фиолетовый	Пурпурный	500—560	Зеленый
Желтый	450—480	Синий	Фиолетовый	560—575	Желто-зеленый
Оранжевый	480—490	Зелено-синий	Синий	575—590	Желтый
Красный	450—500	Сине-зеленый	Зелено-синий	590—625	Оранжевый
			Сине-зеленый	625—750	Красный

Концентрацию растворов определяют по калибровочному графику, который строят по серии стандартных растворов веществ, концентрации которых охватывают область возможных изменений концентрации исследуемого раствора. Затем измеряют величины их оптических плотностей и строят график зависимости оптической плотности раствора от концентрации растворенного вещества в координатах $D = f(C)$. Построенную кривую называют градуировочным или калибровочным графиком. Для построения калибровочного графика обычно используют 5—8 точек со значениями концентраций, отличающимися не менее чем на 30 %. При соблюдении основного закона светопоглощения концентрации стандартных растворов выбирают такими, чтобы величина оптической плотности исследуемого раствора находилась примерно в середине калибровочного графика. Последний должен подчиняться закону Бера,

т. е. выражать прямо пропорциональную зависимость между концентрацией вещества и оптической плотностью раствора. При подчинении закону Бера калибровочный график имеет вид прямой линии, закон Бера нарушается при очень малых ($D < 0,1$) и очень больших ($D > 1,5$) концентрациях веществ, что приводит к изгибанию графика. При количественном анализе пользуются только прямолинейным участком калибровочного графика (рис. 21).

Желательно, чтобы калибровочный график имел угол наклона к оси абсцисс, близкий к 45° . Угол наклона калибровочного графика изменяют путем подбора кювет. При использовании кювет с большой рабочей длиной (толщиной слоя жидкости) угол наклона калибровочного графика к оси абсцисс увеличивается, с меньшей длиной — уменьшается. Иногда калибровочный график почти на всем участке представляет собой кривую, а не

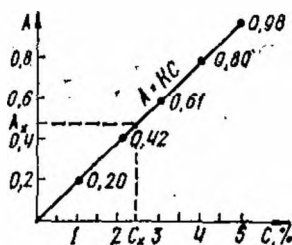


Рис. 21. Калибровочный график фотометрического определения: A — поглощение раствора; C — концентрация вещества.

прямую линию. Это наблюдается в тех случаях, когда полосы поглощения реактива и продукта взаимодействия этого реактива с исследуемым веществом значительно перекрываются.

Кюветы подбирают в зависимости от интенсивности окрашенного раствора. Для построения калибровочного графика готовят серию эталонных растворов, содержащих разные количества определяемого вещества. Сначала готовят стандартный раствор, содержащий строго определенное количество исследуемого вещества. Затем в мерные колбы вместимостью 100 см^3 добавляют из бюретки различные, точно измеренные объемы этого стандартного раствора и реактивов, образующих окрашенные соединения с определяемым веществом. Содержимое каждой мерной колбы разбавляют дистиллированной водой и доводят объем раствора до метки.

Для построения калибровочного графика на миллиметровой бумаге откладывают по оси абсцисс значения концентрации эталонных растворов, а по оси ординат — значения их оптических плотностей. Затем из точек, найденных на осях, восстанавливают перпендикуляры, и точки их пересечения соединяют одной линией.

Концентрацию испытуемого раствора определяют путем измерения его светопоглощения и нахождения соответствующего ему значения концентрации по калибровочному графику.

В фотоколориметре фотоэлемент преобразует световую энергию, прошедшую через раствор, в электрический ток (фототок), силу которого измеряют гальванометром. Сила возникающего фототока (общая чувствительность фотоэлемента) зависит от длины волны падающего на фотоэлемент света и от температуры.

В фотоколориметрии используется не моно-, а полихроматический свет с интервалом длины волн 20—100 нм, который выделяют при помощи соответствующего светофильтра. Последний выбирают таким, у которого спектральная область максимального пропускания лучей (минимум поглощения) совпадает с областью максимального поглощения раствора определяемого вещества.

Сила тока прямо пропорциональна интенсивности падающего на фотоэлемент света. Пользуясь предварительно построенным градуировочным графиком, определяют концентрацию окрашенного соединения в растворе.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФОТОКОЛОРИМЕТРОВ

По принципу действия фотоколориметры бывают двух типов: с одним фотоэлементом (однолучевые) — прямого действия; с двумя фотоэлементами (двухлучевые) — дифференциальные. В практике большое распространение получили дифференциальные фотоколориметры (рис.22).

Свет от лампы накаливания (или ртутно-кварцевой) двумя зеркалами делится на два параллельных световых потока одинаковой интенсивности, которые проходят через светофильтры, кюветы с раствором анализируемого вещества и растворителем (раствором сравнения) и попадают на фотоэлементы. Электрический ток, вырабатываемый фотоэлементами, поступает на измерительный прибор, где фиксируется разность электрических токов. Интенсивность световых потоков уравнивают с помощью оптических клиньев, связанных с отсчетным барабаном. В момент равенства световых потоков измерительный прибор устанавливают на нуль и по шкале отсчетного барабана отсчитывают величину поглощения раствора.

В аналитической практике используется несколько марок фотоколориметров. Характеристика фотоколориметров приведена в табл. 13. С помощью приборов типа ФЭК определяют оптическую плотность в пределах 0—2 ед. или коэффициент светопропускания в пределах 100—0 %. Принципиальные схемы их одинаковы, но марки отличаются типом фотоэлементов, способом измерения тока, количеством светофильтров, лампами светового излучения, длиной волны света и др.

Выпускаются специализированные фотоколориметры, которые также могут применяться в любом анализе, если позволяет область спектра, длина кювет, точность измерений. К ним относятся фотоколориметры (рис. 23): КФК-2; А1-ЕЦ2-С (400—720 нм); КМФЦ-2 (300—650 нм); ФК-100 и др.

Важнейшими деталями фотоколориметров являются фотоэлементы, светофильтры и кюветы.

Фотоэлементы применяются селеновые, сернисто-кадмиевые, сурьмяно-цезиевые и сернисто-серебряные.

Чувствительность селеновых фотоэлементов близка к

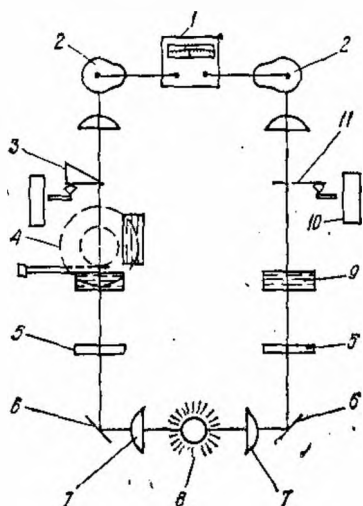


Рис. 22. Принципиальные схемы дифференциального фотоколориметра:

1 — индикатор нуля; 2 — фотоэлементы; 3 — фотометрический клин; 4 — отсчетный барабан; 5 — светофильтры; 6 — зеркала; 7 — конденсоры; 8 — лампа; 9 — кюветы; 10 — отсчетный барабан; 11 — диафрагма.

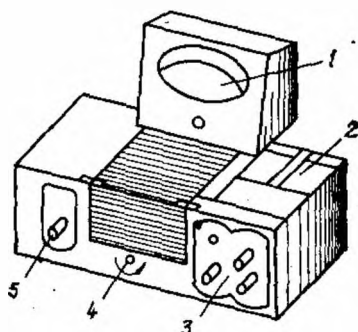


Рис. 23. Фотоколориметр типа КФК-2:

1 — регистрирующий микроамперметр; 2 — кюветное отделение; 3 — измерительные переключатели; 4 — переключатель кювет; 5 — переключатель светофильтров.

чувствительности глаз и составляет 400—700 нм (видимая область спектра). Сурьмяно-цезиевый фотоэлемент применяется в областях длин волн 360—600 нм, а кислородно-цезиевый и сернисто-серебряный — в области 600—1000 нм.

Селеновые фотоэлементы пригодны только для видимой части спектра, обладают высокой чувствительностью и при их использовании не требуется усиливать возникающий фототок, измерить который можно обычным стрелочным гальванометром. Селеновые фотоэлементы нельзя применять для измерения в узких частях спектра, так как используемые в этих случаях узкополосные светофильтры значительно ослабляют световые потоки.

13. Характеристика фотоколориметров

Тип и назначение	Рабочая область спектра, нм	Шкала измерений		Погрешность измерений, %	Применение и рабочая характеристика
		ед.	%		
ФЭК-60 (двухлучевой, нефелометр)	360—980	0—2	100—0	±1	Длина измерения оптической плотности и светопропускания растворов, светорассеяние взвесей, эмульсий и коллоидных растворов. Число светофильтров—9, из них: 2 — для УФ, 2 — для ИК, 5 — для видимой области спектра. Лампа накаливания СЦ-61 (источник освещения). Приемниками световой энергии служат два фотоэлемента: сурьмяно-цезиевый (СЦВ-4) для области спектра 350—600 нм и кислородно-цезиевый для участка 600—980 нм
ФЭК-Н-57 (двухлучевой, нефелометр)	360—656	0—2	100—0	±1	Для измерения оптической плотности и светопропускания растворов, светорассеяние взвесей, эмульсий и коллоидных растворов. Число светофильтров — 11, из них: 1 — для УФ и 10 — для видимой области спектра. Точные измерения получают при использовании светофильтров № 1—8. Светофильтры № 9—11 имеют широкие полосы пропускания, что снижает точность анализа. Приемниками световой энергии служат два сурьмяно-цезиевых фотоэлемента типа Ф-4
ФЭК-56-2 (двухлучевой, нефелометр)	315—630	0—2	100—0	±1	Для измерения оптической плотности и светопропускания растворов, светорассеяния взвесей, эмульсий и коллоидных растворов.

Тип и назначение	Рабочая область спектра, нм	Шкала измерений		Погрешность измерения, %	Применение и рабочая характеристика
		ед.	%		
ФЭК-56-2 (двухлучевой, нефелометр)	315—630	0—2	100—0	±1	Число светофильтров — 9 из них: 2 — для УФ и 7 — для видимой области спектра. Источником излучения для УФ области является ртутно-кварцевая лампа СВД-120 А, для видимой — лампа накаливания СП-98 или ртутная. Приемниками световой энергии служат 2 сурьмяно-цезиевых фотоэлемента типа Ф-4
ФЭК-56-М (двухлучевой, нефелометр)	315—630	0—2	100—0	±1	Для измерения оптической плотности и светопропускания растворов, светорассеяния взвесей, эмульсий и коллоидных растворов. Число светофильтров — 9, из них: 2 — для УФ и 7 — для видимой области спектра. Источником излучения является для видимой области лампа накаливания СЦ-98, для УФ — ртутно-кварцевая СВД-120. Приемниками световой энергии служат 2 сурьмяно-цезиевых фотоэлемента типа Ф-4
ФЭК-М (двухлучевой, нефелометр)	450—600	0—2	100—0	±1	Для измерения оптической плотности и светопропускания растворов. Источником излучения является вольфрамовая лампа накаливания. Число светофильтров — 4, с шириной пропускания 80—100 нм, поэтому точность в этой области низкая, анализ ограничен. Пригоден для анализа растворов с большой величиной оптической плотности, не требующих высокой точности измерений.

Тип и назначение	Рабочая область спектра, нм	Шкала измерений		Погрешность измерений, %	Примечание и рабочая характеристика
		ед.	%		
ФЭК-М (двухлучевой, нефелометр)	450—600	0—2	100—0	±1	Приемниками световой энергии служат 2 селеновых фотоэлемента. Источником излучения является вольфрамовая лампа накаливания
ЛМФ-72М (лабораторный малогабаритный фотометр)	356—790	0—0,5 0—1	100—0	±1	Для измерения оптической плотности, коэффициента светопропускания, а также интенсивности светорассеяния и люминисценции. Число светофильтров — 12, из них с погрешностью светопропускания: № 3; 6 ± 2 нм; № 2; 4; 5; 7; 8; 9; 10 нм; № 11 ± 5 нм; № 1; 12 ± 10 нм
ЛМФ-69 (лабораторный фотоэлектрический адсорбциометр-нефелометр)	450—630	0—1,3	100—5	±2,5	Для измерения оптической плотности или светопропускания растворов и светорассеяния взвесей, эмульсий и коллоидных растворов. Участок шкалы 0—5 % светопропускания для ориентировочных измерений. Число светофильтров — 5, с погрешностью светопропускания ± 10 нм. Источником излучения является лампа накаливания типа А-12-21. Приемниками световой энергии служат 2 селеновых фотоэлемента типа Ф-52С.
КФО (фотоэлектрический, однолучевой)	450—680	0—2	100—0	±1,5	Используют кюветы на 10, 20, 30 мм и проточная кювета на 10 и 20 мм Для измерения оптической плотности или светопропускания растворов. Отсчет проводят по шкале, имеющей 50—100 делений.

Тип и назначение	Рабочая область спектра, нм	Шкала измерений		Погрешность измерений, %	Применение и рабочая характеристика
		ед.	%		
КФО (фотоэлектрический, однолучевой)	450—680	0—2	100—0	$\pm 1,5$	Приемником световой энергии является один селеновый фотоэлемент. Наблюдается плохая воспроизводимость результатов анализа, так как точность прибора зависит от стабильности освещения, качества фотоэлементов, стабильности работы гальванометра и др. Используют кюветы на 1, 3, 5, 10, 20, 30, 50 мм
КФК-2 (фотоэлектрический концентрационный)	315—980	0—1,3	100—5	± 1	Для измерения оптической плотности или светопропускания растворов. Приемниками излучения являются фотоэлемент типа Ф-4 и фотодиод типа ФД-7
А1-ЕЦ2 (фотоэлектрический цветометр)	400—720	0—1,3	100—5	± 1	Для измерения оптической плотности или светопропускания растворов. Число светофильтров—11 с погрешностью светопропускания ± 5 нм. Источником света является лампа накаливания типа СГ-2. Приемниками световой энергии являются два фотоэлемента типа Ф-4 для участка спектра 400—560 нм и типа Ф-5 для области 600—750 нм. Используют кюветы на 10, 20, 30, 50 мм

Сурьмяно-цезиевые кислородно-цезиевые фотоэлементы обладают небольшой чувствительностью, поэтому возникающие фототоки необходимо усиливать. Сурьмяно-цезиевые фотоэлементы применяют в УФ и В областях спектра, кислородно-цезиевые в В и ближней ИК областях спектра.

Светофильтры — окрашенные оптические стекла, пленки, иногда диспергирующие призмы, которые характеризуются более высокой степенью монохроматизации. При помо-

щи светофильтров, устанавливаемых на пути световых потоков перед поглощающими растворами, выделяют область максимального поглощения света в фотоколориметрах (табл. 14).

14. Максимумы светопропускания светофильтров фотоколориметров, нм

Номер свето- фильтра	Тип								
	ФЭК-60	ФЭК-Н-57	ФЭК-56-2	ФЭК-56М	ФЭК-56	ЛМФ-72М	ЛМФ-69	КФК-2	А1-ЕЦ2-С
1	364	360	315	315	315	365	450	315	400
2	390	413	364	364	364	400	500	364	420
3	450	453	400	400	400	420	540	400	440
4	520	508	440	434	440	490	610	440	480
5	590	536	490	490	490	540	650	490	506
6	670	584	540	540	540	560	—	540	540
7	750	610	582	582	582	600	—	590	560
8	870	656	610	597	610	620	—	670	600
9	980	—	630	630	—	670	—	750	650
10	—	—	—	—	—	720	—	870	690
11	—	—	—	—	—	750 790	—	980	720

Ширина пропускания определенного спектрального участка (линейная дисперсия) для светофильтров колеблется в пределах 20—100 нм; в призмённых и дифракционных приборах в пределах 0,5—2 нм.

У фотоколориметров типа ФЭК-Н-57 светофильтры № 9, 10 и 11 имеют широкие полосы пропускания, поэтому непригодны для количественного анализа. При нефелометрических измерениях используют светофильтр № 10. У фотоколориметра типа ФЭК-М светофильтры имеют очень широкую полосу светопропускания порядка 80—100 нм, что отрицательно влияет на точность количественного анализа. Так, длина волны для синего светофильтра составляет 400—480 нм, для зеленого — 500—560, желтого — 580—650 и красного 650—750.

К ю в е т ы — прямоугольные или цилиндрические сосуды из стекла или кварца с определенным расстоянием между стенками (у прямоугольных кювет) или между крышками (у цилиндрических). Стеклённые кюветы пропускают все лучи видимого спектра; кварцевые — не только В, но и УФ и частично ИК лучи.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Для получения надежных результатов измерений необходимо прежде всего обеспечить правильную установку фотоколориметров. В процессе работы необходимо следить, чтобы

все оптические детали прибора (линзы, зеркала, лампы) не были запыленными.

Фотоколориметры должны быть снабжены двумя комплектами кювет, в каждом из них по семь пар кювет с расстояниями между рабочими гранями (толщина слоя раствора) от 1 до 50 мм. Некоторые предприятия комплектуют приборы наборами кювет № 1—3. Набор № 1 содержит кюветы с рабочей длиной 1, 3, 5, 10, 20 мм; № 2 — 5, 10, 20, 30, 50 мм; № 3 — 20, 30, 50, 100 мм. По требованию заказчика предприятие-изготовитель может поставить нужный набор.

Кюветами с малой длиной рабочей грани (1—5 мм) пользуются, когда раствор интенсивно окрашен, кюветы с большой рабочей длиной (10—50 мм) — при анализе слабоокрашенных растворов. С кюветами необходимо обращаться осторожно, чтобы не поцарапать их грани. Они должны быть абсолютно чистыми внутри и снаружи. Капли раствора и загрязнения на стенках кюветы приводят к получению неверных результатов определений. Моют кюветы концентрированной соляной кислотой, затем водопроводной и несколько раз ополаскивают дистиллированной водой и сушат или ополаскивают испытуемым раствором и насухо вытирают снаружи. Не разрешается трогать руками рабочие грани кювет (рабочими называют грани, через которые проходит свет; на них обычно стоит цифра, указывающая толщину рабочего слоя раствора или метки — штрих), перед каждым измерением их необходимо тщательно протирать.

Заполняют кюветы до метки, чтобы свет проходил через слой раствора. Чистые кюветы устанавливают в кюветном отделении прибора в строго определенном положении, чтобы избежать ошибок, связанных с отражением и рассеянием излучения. При проведении анализа рекомендуется закрывать кюветы крышками, чтобы предотвратить проливание жидкости во внутрь прибора. При работе с летучими растворами кюветы следует обязательно закрывать.

Все фотометрические измерения следует проводить в абсолютно одинаковых условиях, а необходимые реактивы добавлять как в анализируемый, так и в контрольный раствор в одной и той же последовательности, при одинаковых объемах и температурах растворов ($20 \pm 3^\circ\text{C}$).

Измерения проводят в течение небольшого интервала времени. Интенсивность окрасок исследуемого и контрольного растворов сравнивают в одинаковых кюветах. Анализировать растворы и измерять их оптическую плотность начинают с раствора, имеющего самую низкую концентрацию. Наименьшая ошибка измерения получается при $D = 0,15—0,5$ (по шкале светопропускания 70—30 %).

Градуировочный график действителен только для тех условий работы прибора и светофильтра, при которых он был построен, так как всякие изменения условий анализа отражаются на характере кривой. Не реже 1—2 раза в год график проверяют по 2—3 свежеприготовленным стандартным растворам. Если наблюдаются расхождения, график следует построить заново.

После ремонта фотоколориметра, замены осветительной лампы или смены фотоэлементов градуировочный график строят заново. Оптическую плотность растворов измеряют при помощи правого и левого отсчетных барабанов. Правый барабан обеспечивает более высокую точность измерений. С помощью левого барабана можно измерять растворы с D более 0,5. Закончив измерение, проверяют, закрыта ли шторка, и ставят отсчетные барабаны на нуль. Раствор выливают из кюветы, а ее моют и ставят в перевернутом виде на чистую фильтровальную бумагу.

ТЕХНИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Фотоколориметр включают за 25—30 мин до начала работы, так как первые показания не постоянны, то система должна прогреться. При этом шторка должна быть закрыта.

На левом и правом отсчетном барабане прибора типа ФЭК нанесены по две шкалы: шкала оптической плотности (красная) и шкала светопропускания (черная). Шкала левого барабана градуирована от 0,00 до 2 (100—0% светопропускания), шкала правого барабана имеет пределы измерений 0,00—0,52, причем точность измерений на участке шкалы 0,15—0,52 (70—30% пропускания) выше, чем при измерении на левом барабане.

Оба отсчетных барабана устанавливают на нуль по красной шкале ($D = 0$ и $T = 100\%$), после чего устанавливают нужный светофильтр, затем проверяют «электрический нуль» прибора: стрелка миллиамперметра должна стоять на нуле (при закрытых шторках). Если стрелка отклоняется, специальной рукояткой подводят стрелку миллиамперметра к нулю. Потом берут 3 одинаковых кюветы, 2 из них заполняют растворителем, а 1 — исследуемым раствором.

Измерения проводят в следующем порядке. В левый кюветодержатель ставят кювету с растворителем, а в правый — в одно гнездо кювету с испытуемым раствором, а в другое — кювету с растворителем. В правый пучок света помещают кювету с испытуемым раствором.

Открывают шторку, при этом стрелка микроамперметра отклоняется от нуля. Вращая левый отсчетный барабан от

себя, подводят стрелку микроамперметра к нулю, потом закрывают шторку.

Рукояткой кюветодержателя перемещают кюветы в правом кюветодержателе, так чтобы в правом пучке света оказалась кювета с растворителем. Открывают шторку, стрелка микроамперметра снова отклоняется от нулевого положения. Вращая правый отсчетный барабан от себя, возвращают стрелку микроамперметра к нулю. Закрывают шторку и снимают показания прибора по красной шкале правого отсчетного барабана.

Для исключения случайных ошибок повторяют измерение еще два раза. Для расчетов можно брать повторяющиеся результаты с незначительным расхождением. По градуировочной кривой или таблице находят количество определяемого вещества.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЛОДА (МЕТОД ВНИИПрБ)

Фотоколориметрический метод определения амилолитической (декстриногенной) активности солода применяется для контроля осахаривающих материалов в производстве спирта из крахмалистого сырья, может также применяться для оценки качества ферментных препаратов. В этом случае ферментативная реакция гидролиза крахмала проводится с использованием ацетатного буферного раствора.

Определение амилолитической активности основано на зависимости степени гидролиза крахмала от количества единиц активности фермента, взятых для проведения реакции. Количество прогидролизованного субстрата устанавливают по изменению йодной окраски крахмала при действии α -амилазы.

За единицу амилолитической активности (АА) принимают такое количество фермента, которое катализирует 1 г крахмала до декстринов за 60 мин при температуре 30 °С и рН 4,8—4,9.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; ультратермостат; йод; йодид калия; 0,1 н. раствор HCl; фосфатный буферный раствор с рН 4,7—4,9; 1 %-ный раствор растворимого крахмала и ферментная вытяжка, которые готовят точно таким же способом, как и для определения осахаривающей активности.

Подготовка к испытанию. Готовят раствор йода для йод-крахмальной реакции. Вначале готовят основной раствор йода, для этого 0,5 г кристаллического йода и 5 г йодида калия растворяют в боксе с притертой крышкой в небольшом количестве воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу с пробкой на 200 см³ и доводят водой до метки.

Раствор перемешивают и оставляют на хранение в темном месте. По мере необходимости из него готовят рабочий раствор путем разбавления 2 см³ исходного раствора 0,1 н. раствором HCl в мерной колбе на 100 см³. При этом определяют оптическую плотность рабочего раствора при длине волны 453 нм в кювете с длиной рабочей грани 1 см. Она должна быть $0,160 \pm 0,01$ (ФЭК-Н-57, ФЭК-М) и $0,220 \pm 0,01$ (ФЭК-60, ФЭК-56).

При использовании фотоколориметров марки КФО, КФК-2, А1-ЕЦ-2С оптическую плотность рабочего раствора йода измеряют в зависимости от длины волны.

Марка фотоколориметра	Длина волны света, нм
КФО	415
КФК-2	415
А1-ЕЦ-2С	440

Оптическая плотность рабочего раствора йода при этом должна составлять $0,220 \pm 0,01$. При отклонении от этого значения ее доводят добавлением нескольких капель кислоты или основного раствора йода, который хранят не более 30 сут.

Качество полученного субстрата контролируют по реакции с йодом. Для проверки плотности субстрата в пробирку наливают 10 см³ 1 %-ного раствора крахмала и добавляют 5 см³ дистиллированной воды, смесь хорошо перемешивают. Затем в коническую колбу наливают 50 см³ рабочего раствора йода и 0,5 см³ смеси. Полученный окрашенный раствор колориметрируют на ФЭК при $\lambda = 656$ нм в кювете с длиной рабочей грани 1 см по сравнению с водой. Плотность раствора должна быть не менее 0,70.

Проведение испытания. В две пробирки диаметром 2 см и высотой 18 см наливают по 10 см³ субстрата и помещают их в ультратермостат или водяную баню с температурой $30 \pm \pm 0,2$ °C на 10 мин. Затем, не вынимая пробирок из термостата, в первую добавляют 5 см³ дистиллированной воды (контрольная проба), а во вторую — 5 см³ рабочего раствора фермента II (испытуемая проба). Смеси быстро перемешивают и выдерживают при 30 °C в течение 10 мин, отмечая время по секундомеру. Через 10 мин пробирки вынимают из термостата и из каждой отбирают по 0,5 см³ прогидролизованного раствора раздельно в две колбы, в которые предварительно наливали по 50 см³ рабочего раствора йода, содержащего соляную кислоту. Содержимое колб перемешивают. Соляная кислота сразу прерывает действие ферментов. Полученные растворы приобретают различную окраску: контрольный — синий цвет, а опытный — фиолетовый цвет различной степени интенсивности в зависимости от количества прогидролизованного крахмала.

Затем определяют оптическую плотность растворов исходного и прогидролизованного крахмала по отношению к дистиллированной воде. Для работы используют кюветы с длиной рабочей грани 1 см и красный светофильтр ($\lambda = 656$ нм). Плотность раствора должна быть не менее 0,69.

При использовании фотоколориметров марок КФО, КФК-2, А1-ЕЦ-2С оптическую плотность исследуемых растворов измеряют в зависимости от длины волны.

Марка фотоколориметра	Длина волны света, нм
КФО	630
КФК-2	670
А1-ЕЦ-2С	670

Формула для расчета амилолитической активности при этом остается без изменений.

Количество прогидролизованного крахмала (C) определяют из соотношения $0,1 : C = D_1 : (D_1 - D_2)$, откуда $C = 0,1 (D_1 - D_2) : D_1$, где 0,1 — количество исходного крахмала, введенного в ферментативную реакцию, г; D_1 — оптическая плотность контрольного раствора (раствор крахмала и воды); D_2 — оптическая плотность опытного раствора с ферментом. Если количество прогидролизованного крахмала окажется меньшим 0,02 или большим 0,07 г, то опыт повторяют с большим или меньшим количеством основного раствора фермента I. Если же соблюдается условие $0,02 < C < 0,07$, то амилолитическую активность свежепроросшего солода, ед./г, вычисляют по формуле

$$AA = (6,889 \cdot C - 0,029388) 1000 : H,$$

где 6,889 и 0,029388 — коэффициенты рабочего уравнения, математически описывающего прямолинейную зависимость количества прогидролизованного крахмала от количества ферментов солода, взятого на анализ. В коэффициенты введен множитель для пересчета на 1 ч действия фермента; 1000 — коэффициент пересчета в г; H — количество исходного солода, участвующего в ферментативной реакции, мг.

Для расчета АА в международных стандартных единицах принимают условно, что молекулярная масса крахмала соответствует молекулярной массе остатка глюкозы, т. е. $180 - 12 = 168$. В этом случае за единицу активности принимают такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль крахмала за 1 мин в условиях опыта. Пересчет одной условной единицы активности на стандартные международные единицы осуществляется следующим образом: $1 \text{ ед./г} = 10^6 : 162 \cdot 60 = 103 \text{ мкмоль/(мин} \cdot \text{г)}$, где 10^6 — коэффициент перевода граммов в микрограммы; 162 — моле-

кулярная масса крахмала (условная); 60 — перевод времени действия фермента в минуты. Из расчетов видно, что условная единица активности равна 103 стандартным международным единицам.

П р и м е р. Определить АА ячменного солода среднего качества влажностью 40 %, если $D_1 = 0,725$, $D_2 = 0,500$, а расход основного раствора ферментов солода I для приготовления рабочего раствора II составил 2 см³.

Прежде всего проверяют по формуле, удовлетворяет ли величина прогидролизованного крахмала условиям эксперимента: $C = (0,725 - 0,500) \cdot 0,1 : 0,725 = 0,031$, т. е. $0,02 < C < 0,07$.

Определяют количество солода, участвующего в реакции: $H = 5 \cdot 2 \cdot 5 \cdot 1000 : (100 \cdot 50) = 10$ мг, а затем амилолитическую активность исследуемого солода: $AA = (6,889 \cdot 0,031 - 0,029388) \times \times 1000 : 10 = 18,42$ ед./г. В пересчете на абсолютно сухое вещество $AA = 30,7$ ед./г.

Значение АА, полученное фотоколориметрическим методом, в 5 раз превышает значение этого показателя, найденное визуальным. Относительная ошибка метода для солода составляет 7—8,5 %.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОАМИЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Глюкоамилазную активность определяют в соответствии с ГОСТ 20264.4—74. Метод основан на количественном определении глюкозы, образующейся при гидролизе растворимого крахмала ферментом глюкоамилазой. Глюкоамилазная активность (ГлА) характеризует способность ферментов катализировать расщепление растворимого крахмала до глюкозы и выражается числом единиц активности в 1 г препарата. За единицу ГлА принято такое количество фермента, которое гидролизует растворимый крахмал при температуре 30 °С и рН 4,7 в течение 1 мин освобождает 1 мкмоль глюкозы.

Фермент глюкозооксидаза катализирует окисление d-глюкозы кислородом воздуха до глюконовой кислоты. Вторым продуктом реакции является пероксид водорода. Оба конечных продукта образуются в количествах, эквимольных окисленной глюкозе. Пероксид водорода под влиянием фермента пероксидазы окисляет гексацианоферрат калия, который переходит в ферроцианид калия, окрашенный в лимонно-желтый цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству образующейся глюкозы.

Аппаратура, материалы, реактивы: весы аналитические; фотоколориметр; ультратермостат; 1 %-ный раствор крахмала (субстрат, употребляемый для анализа должен иметь рН 4,7, что достигается добавлением ацетатного буфера с рН 4,7);

1 М фосфатный буферный раствор с рН 7,5; насыщенная бензойная кислота; 0,1 %-ный раствор глюкозы в бензойной кислоте; рабочие растворы ферментных препаратов.

Подготовка к испытанию. Приготовление 1 М буферного раствора с рН 7,5. Смешивают равные объемы KH_2PO_4 (136 г безводного KH_2PO_4 в 1 дм³ дистиллированной воды) и КОН (56 г КОН в 1 дм³ дистиллированной воды).

Приготовление насыщенного раствора бензойной кислоты. Берут 2,7 г бензойной кислоты, растворяют в дистиллированной воде и вливают в мерную колбу на 1 дм³.

Приготовление рабочих растворов ферментных препаратов. Смешивают равные объемы раствора А (0,1 г гексацианоферрата II калия растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 см³; раствор готовят непосредственно перед определением) и раствора Б (5,6 мг глюкозооксидазы, соответствующие 500—600 ед./г ферментативной активности при активности глюкозооксидазы 10000 ед./г, растворяют в 1 М фосфатном буфере с рН 7,5 в мерной колбе на 50 см³, затем добавляют 2 мг пероксидазы. Объем доводят до метки 1 М фосфатным буфером). Полученный раствор хранят в темной склянке в холодильнике в течение 2—3 сут.

Проведение испытания. К 5 см³ исследуемого раствора ферментного препарата, нагретого до 30 °С, приливают 10 см³ 1 %-ного раствора крахмала, нагретого до этой же температуры и выдерживают 10 мин в ультратермостате при 30 °С. Точно через 10 мин отбирают 1 см³ гидролизата, переносят его в маленькую пробирку, которую помещают в кипящую водяную баню, инактивируют фермент в течение 2 мин и затем охлаждают холодной водой.

Для определения содержания глюкозы в каждую пробирку с охлажденным гидролизатом вносят по 3 см³ рабочего раствора С, перемешивают и оставляют на 45 мин при комнатной температуре.

Одновременно с исследуемой пробой готовят контрольную. Для этого 5 см³ раствора ферментного препарата кипятят на водяной бане в течение 10 мин (для инактивации фермента), затем раствор охлаждают и добавляют 10 см³ 1 %-ного раствора крахмала.

Все последующие операции с контрольными пробами проводят так же как с опытными. Кроме указанной контрольной пробы на инактивированный фермент, проводят контрольную пробу на рабочий раствор С. Для этого к 3 см³ рабочего раствора приливают 1 см³ дистиллированной воды.

Интенсивность окраски полученных растворов определяют на фотоколориметрах марки ФЭК-56, пользуясь светофильтром с $\lambda = 400$ нм, и марки ФЭК-60 — при $\lambda = 390$ и 418 нм в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Для построения градуировочного графика используют стандартные растворы глюкозы, содержащие в 1 см³ — 50, 100 и 150 мкг глюкозы. К 1 см³ раствора глюкозы добавляют 3 см³ рабочего раствора С. Окраска проявляется в течение 45 мин, после чего измеряют оптическую плотность растворов на фотоколориметре. По полученным значениям строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс количество глюкозы, по оси ординат — соответствующую оптическую плотность. Рабочая зона градуировочного графика лежит в области 10—150 мкг.

Если контрольные пробы на инактивированный фермент имеют окраску, исследуемый раствор колориметрируют, взяв в качестве раствора сравнения рабочий раствор. Величина оптической плотности должна лежать в рабочей зоне градуировочного графика, т. е. в пределах оптической плотности, соответствующей количеству глюкозы от 10 до 150 мкг.

Если при измерении интенсивности окраски исследуемой пробы полученные значения не укладываются в градуировочный график, опыт повторяют с меньшим количеством исследуемого ферментного препарата. По полученным значениям экстинкций исследуемой пробы находят количество глюкозы, образовавшейся в результате действия фермента.

Глюкоамилазную активность (в единицах на грамм или единицах на сантиметр кубический) определяют по формуле

$$\text{Гл А} = a : (b \cdot 180 \cdot 10),$$

где a — количество глюкозы, образовавшейся в 1 см³ гидролизата за счет действия фермента, мкг; b — количество фермента в 1 см³ гидролизата, г или см³; 180 — молекулярная масса глюкозы (пересчет микрограммов в микромоли); 10 — время гидролиза, мин.

Пример. В колбе вместимостью 100 см³ растворяют 100 мг препарата и доводят объем до метки дистиллированной водой. Затем 15 см³ приготовленного раствора вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем до метки дистиллированной водой. Для определения берут 5 см³ исследуемого раствора; объем реакционной смеси 15 см³. Определяют по приведенной формуле количество фермента в гидролизате в соответствии с разведением: $0,1 \cdot 15 \cdot 5,0 : (100 \times \times 100 \cdot 15) = 0,00005$ г.

В результате колориметрирования этого раствора получают величину $D = 0,173$. По калибровочному графику эта величина соответствует 87 мкг глюкозы. Подставляя ее в формулу, определяют значение глюкоамилазной активности:

$$\text{Гл А} = 87 : (0,00005 \cdot 180 \cdot 10) = 967 \text{ ед. г.}$$

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В соответствии с ГОСТ 20264.4—74 протеолитическую активность микробных ферментных препаратов (ФП) определяют модифицированным методом Ансона. Метод основан на гидролизе белка казеината натрия ферментами исследуемого ФП с последующим колориметрическим определением продуктов гидролиза после осаждения негидролизованного белка и высокомолекулярных соединений трихлоруксусной кислотой (ТХУ).

Протеолитическая активность характеризует способность ферментов гидролизовать белки до пептидов и аминокислот и выражается числом единиц активности протеазы в 1 г ферментного препарата.

За единицу протеолитической активности (ПА) принимают такое количество фермента, которое за 1 мин при 30 °С превращает в неосаждаемое ТХУ состояние казеинат натрия в количестве, соответствующем 1 мкмоль тирозина (1 мкмоль тирозина соответствует 0,181 мг). Активность выражается в международных единицах.

Активность мицелиальных и бактериальных протеаз определяют при различных значениях pH: кислые протеазы анализируют при $\text{pH } 2,5 \pm 0,2$; слабокислые — при $\text{pH } 5,5 \pm 0,2$. Зная продуцент протеаз, выбирают оптимум pH при определении протеолитической активности ФП.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; pH-метр; магнитная мешалка; весы аналитические; ультратермостат; колба круглодонная вместимостью 2 дм³ с обратным холодильником; колба Эрленмейера; трубка Аллина; колбы мерные вместимостью 1 дм³, 100 см³; термометр; 0,1 н. раствор соляной кислоты; 0,1 М универсальный буферный раствор с pH 5,5; тирозин; 0,1 М раствор уксусной кислоты; 1 н. раствор гидроксида натрия; 0,3 М раствор трихлоруксусной кислоты; 0,5 М раствор карбоната натрия; вольфрамат натрия; 85 %-ная фторфосфорная кислота; сульфат лития; бром; фенолфталеин.

Подготовка к испытанию Приготовление 0,1 М раствора уксусной кислоты. Берут 5,7 см³ ледяной уксусной кислоты (CH_3COOH), доводят ее дистиллированной водой до метки в мерной колбе до 1 дм³.

Приготовление 0,1 М раствора фосфорной кислоты. Берут 6,45 см³ кислоты и разбавляют ее дистиллированной водой до метки в мерной колбе 1 дм³.

Приготовление 0,1 М раствора ортоборной кислоты. Берут 6,18 г ортоборной кислоты, до-

водят ее до метки дистиллированной водой в мерной колбе 1 дм³.

Приготовление 0,3 М раствора трихлоруксусной кислоты. Берут 50 г трихлоруксусной кислоты и доводят ее до метки дистиллированной водой в мерной колбе 1 дм³, затем фильтруют.

Приготовление 0,5 М раствора карбоната натрия. Берут 53 г соли, переносят в мерную колбу, доводят до 1 дм³.

Приготовление 0,1 М универсального буферного раствора рН 5,5. Смешивают в равных количествах 0,1 М раствор уксусной, фосфорной и ортоборной кислот и получают буферную смесь с рН 1,8. После чего путем постепенного добавления 1 М раствора гидроксида натрия доводят смесь до рН 5,5.

Приготовление 1 %-ного раствора казеината натрия. Берут 2 г воздушно-сухого казеината натрия и растворяют в 90 см³ 0,1 М универсального буферного раствора с рН 5,5, после чего раствор доводят точно до рН 5,5 несколькими каплями 0,1 н. раствора соляной кислоты. Затем раствор переносят в мерную колбу на 100 см³ и доводят объем до метки буферным раствором.

Приготовление реактива Фолина. Берут 100 г вольфрамата натрия и 25 г молибдата натрия вносят в круглодонную колбу на 2 дм³ с пришлифованным обратным холодильником, добавляют 700 см³ дистиллированной воды, 50 см³ 85 %-ной фторофосфорной кислоты плотностью 1,869 и 100 см³ концентрированной кислоты. Смесь кипятят на слабом огне на асбестовой сетке в течение 10 ч. Затем содержимое колбы охлаждают и переносят в колбу Эрленмейера. Стенки холодильника и колбы ополаскивают 50 см³ воды, к содержимому колбы добавляют 150 г сульфата лития и 5 капель брома. Открытую колбу нагревают и кипятят содержимое под тягой на слабом огне 15—20 мин для удаления паров брома. Раствор должен иметь желтую окраску. Если раствор зеленый, обработку бромом повторяют. После охлаждения раствор доводят в мерной колбе водой до 1 дм³, перемешивают и фильтруют через трубку Аллина, заполненную стеклянной ватой. Концентрацию кислоты проверяют титрованием разбавленного в 10 раз реактива Фолина 0,1 н. раствором NaOH по фенолфталеину. Реактив используют в течение 1—2 мес. После длительного хранения в реактив добавляют 1—2 капли брома и кипятят 1—2 мин. Рабочий раствор готовят разведением основного раствора водой в 2 раза.

Проведение испытания. Готовят раствор ферментного препарата (ФП), содержащего протеазу. Для этого 0,1 г ФП взвешивают на аналитических весах, растирают в стеклянном

стаканчике стеклянной палочкой с небольшим количеством 0,1 М универсального буферного раствора с pH 5,5. Затем раствор переносят в колбу на 100 см³ и доводят объем тем же универсальным буферным раствором. Далее готовят рабочий раствор фермента разбавлением 5—40 см³ основного раствора в 50 см³ буферного с таким расчетом, чтобы в сфере реакции находилось 0,5—5 мг нативного ФП.

Для определения активности ФП в две пробирки наливают по 2 см³ субстрата (1 %-ного раствора казеината натрия) и содержимое термостатируют 10 мин при 30 °С. Отдельно термостатируют ферментный раствор при 30 °С. Затем в каждую пробирку наливают по 2 см³ раствора фермента, смеси перемешивают и инкубируют при 30 °С точно 10 мин. Через 10 мин прерывают протеолиз добавлением 4 см³ 0,3 М ТХУ. При этом осаждается белок. Смеси быстро перемешивают и для полного осаждения белка пробирки выдерживают еще 20 мин при 30 °С. Затем растворы фильтруют через складчатые фильтры. В сухие пробирки вносят по 1 см³ фильтрата, добавляют по 5 см³ 0,5 М раствора карбоната натрия, содержимое перемешивают и к нему быстро при перемешивании добавляют по 1 см³ рабочего раствора реактива Фолина. Через 20 мин растворы приобретают голубую окраску.

Окрашенный раствор колориметрируют в кюветах с длиной рабочей грани 10 мм при $\lambda = 656-670$ нм. Контрольный опыт проводят, добавляя реактивы в обратной последовательности. Так, к 2 см³ ферментного раствора добавляют 4 см³ ТХУ и смесь выдерживают 10 мин при 30 °С, затем вносят 2 см³ субстрата. Через 20 мин раствор фильтруют и проводят колориметрическую реакцию с реактивом Фолина.

Определив оптическую плотность рабочего раствора, рассчитывают протеолитическую активность в единицах на грамм по формуле: $ПА = D \cdot 4 \cdot 1000 : (ТЭ \cdot 10 М)$, где 4 — соотношение объемов реакционной смеси и раствора фермента после добавления ТХУ; 1000 — коэффициент пересчета на 1 г ФП; ТЭ — тирозиновый эквивалент, характеризующийся оптической плотностью 1 мкмоль тирозина в 1 см³ стандартного раствора, определяемый по градуировочному графику для каждой партии реактива Фолина и каждого фотоколориметра; 10 — время протеолиза субстрата, мин; М — количество ФП, взятого на протеолиз, мг на 1 см³ раствора.

Количество фермента рассчитывают и подбирают так, чтобы в реакционной среде был большой избыток субстрата и чтобы измеряемая величина плотности находилась в области 0,10—0,45.

Построение градуировочного графика. Готовят раствор тирозина концентрацией 0,001 М. Для этого 181,19 мг чистого

тирозина растворяют в 0,2 М растворе HCl в колбе на 1 дм³. Из исходного раствора готовят рабочие растворы тирозина методом разбавления в 0,2 н. HCl. Получают серию растворов тирозина концентрацией от 0,02 до 0,3 мкмоль/см³ для этого отдельно вносят в колбу на 500 см³ по 1; 2; 4; 5; 7,5; 10; 15 см³ исходного раствора тирозина концентрацией 0,001 М. Таким образом, готовят серию разбавленных растворов, содержащих $0,2 \cdot 10^{-4}$ М; $0,4 \cdot 10^{-4}$ М; $0,8 \cdot 10^{-4}$ М; $1 \cdot 10^{-4}$ М; $1,5 \cdot 10^{-4}$ М; $2 \cdot 10^{-4}$ М; $3 \cdot 10^{-4}$ М тирозина. В пересчете на микромоль на кубический сантиметр это соответственно составит 0,02; 0,04; 0,08; 0,1; 0,15; 0,20; и 0,30.

Затем вносят в пробирки по 1 см³ раствора тирозина различной концентрации, после чего при перемешивании добавляют по 5 см³ 0,5 М раствора карбоната натрия и 1 см³ рабочего раствора Фолина. Контрольный опыт готовят так же, но вместо раствора тирозина берут 1 см³ воды. Смеси колориметрируют спустя 20 мин, как описано выше. После чего строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс количество тирозина (в мкмоль/см³), а по оси ординат — соответствующее значение оптической плотности. Для приготовленных растворов тирозина оптическая плотность возрастает с увеличением количества тирозина следующим образом: 0,037; 0,07; 0,127; 0,151; 0,220; 0,310; 0,500. Концентрации тирозина, равной $1 \cdot 10^{-4}$ М, или 0,10 мкмоль/см³, соответствует $D = 0,151$, поэтому $TЭ = 1,51$.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦВЕТНОСТИ МЕЛАССЫ (МЕТОД УкрНИИСП)

Цветность мелассы выражают в процентах коэффициента светопропускания в сравнении с дистиллированной водой.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; технические лабораторные весы; мерная колба на 100 см³; стакан химический на 50 см³; воронка; фильтровальная бумага.

Проведение испытания. Взвешивают 10 г хорошо перемешанной мелассы, переводят ее теплой дистиллированной водой в мерную колбу на 100 см³, охлаждают до 20 °С, доводят объем до метки и тщательно перемешивают. Полученный раствор фильтруют через бумажный складчатый фильтр. Измеряют коэффициент светопропускания на фотоколориметре в кювете с толщиной границ 5 мм при длине световой волны 500 нм в сравнении с дистиллированной водой. Полученная величина коэффициента светопропускания характеризует цветность мелассы.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ САХАРА В СПИРТОВАННЫХ СОКАХ И МОРСАХ (МЕТОД ВНИИПрБ)

Метод определения сахара в полуфабрикатах основан на коллометрической реакции редуцирующих сахаров с пикриновой кислотой. Образовавшаяся аминопикриновая кислота окрашивает раствор в коричневый цвет. Интенсивность этой окраски пропорциональна содержанию сахара в растворе. Измеряя оптическую плотность раствора, определяют количество сахара в полуфабрикатах.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; весы аналитические; пикриновая кислота; натрия гидроксид; вода дистиллированная; сульфат цинка; гексацианоферрат (II) калия; колбы мерные на 100 см³; бумага фильтровальная; колбы типа КН-200; палочки стеклянные; пробирки типа ПП-45-КШ; стаканчик для взвешивания (бюкс); штатив для пробирок; секундомер.

Подготовка к испытанию. Приготовление 1,2 %-ного раствора пикриновой кислоты. Отбирают 1,2 г пикриновой кислоты и взвешивают ее на весах с точностью до 0,01 г, переносят в мерную колбу объемом 100 см³. Добавляют 50—60 см³ дистиллированной воды, перемешивают, растворяют и доводят до метки дистиллированной водой при 20 °С. Раствор хранят в темном месте при комнатной температуре. Срок хранения 30 сут.

Приготовление 30 %-ного раствора сульфата цинка. Отвешивают 30 г сульфата цинка с точностью до 0,1 г и переносят его в мерную колбу объемом 100 см³. Добавляют 50—70 см³ дистиллированной воды, перемешивают и доводят до метки при 20 °С.

Приготовление 15 %-ного раствора гексацианоферрата (II) калия. Отвешивают 15 г гексацианоферрата калия с точностью до 0,1 г и переносят в мерную колбу объемом 100 см³. Добавляют 50—70 см³ дистиллированной воды, перемешивают и доводят до метки при 20 °С.

Приготовление раствора гидроксида натрия концентрацией 0,75 моль/дм³. Отвешивают 30 г гидроксида натрия с точностью до 0,1 г и переносят в мерную колбу объемом 100 см³. Добавляют 50—60 см³ дистиллированной воды, перемешивают и доводят до метки при 20 °С.

Подготовка исследуемых проб. Концентрацию сахара в сброженных и спиртованных соках и морсах определяют в осветленных растворах.

При определении содержания сахара в сброженных соках на анализ берут 50 см³ сброженного и 10 см³ спиртованного соков. Затем сок переносят в мерную колбу на 100 см³ и добавляют по 2 см³ сульфата цинка и гексацианоферрата (II) калия, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют. Полученные растворы используют для анализа.

Проведение испытания. В две пробирки вносят по 5 см³ раствора пикриновой кислоты, добавляют по 10 см³ раствора гидроксида натрия и перемешивают.

В одну пробирку добавляют 0,5 см³ полученного фильтрата испытуемого раствора, в другую — такое же количество дистиллированной воды. Содержимое данной пробирки служит эталоном сравнения (контроль) при колориметрировании. Пробирки закрывают пришлифованными пробками, перемешивают и помещают в кипящую водяную баню на 5 мин для проведения колориметрической реакции.

По истечении этого времени содержимое пробирок охлаждают и измеряют на фотоколориметре оптическую плотность образовавшегося окрашенного раствора. При определении содержания сахара в сброженных соках используют кювету с расстоянием между гранями 20 мм, в спиртованных соках — кювету с расстоянием между гранями 3 мм и длиной световой волны 434 нм.

Массовую концентрацию сахара рассчитывают по формуле

$$C = DKn,$$

где C — содержание сахаров, г/100 см³; D — оптическая плотность испытуемого раствора; K — коэффициент пропорциональности, установленный экспериментально для колориметра; n — коэффициент разбавления.

Фотоколориметры имеют светофильтры с различными длинами волн, поэтому каждый прибор имеет свой коэффициент пропорциональности. Определяют этот коэффициент на модельных растворах глюкозы. Для этого 1,041 г глюкозы растворяют в воде в мерной колбе на 100 см³. В 1 см³ этого раствора содержится 10 мг сахара.

При определении содержания сахара в сброженных соках в мерные колбы на 50 см³ отмеривают 5 и 10 см³ раствора глюкозы. При определении содержания сахара в спиртованных соках в колбы отмеривают по 15 и 20 см³ раствора глюкозы. Объем колб доводят до метки дистиллированной водой. Концентрация полученных растворов будет соответствовать 0,1 и 0,2 и соответственно 0,3 и 0,4 г глюкозы в 100 см³ глюкозы.

С полученными растворами проводят колориметрическую реакцию. Измеряют оптические плотности окрашенных растворов.

Коэффициент пропорциональности рассчитывают по формуле

$$K = C/D,$$

где C — концентрация глюкозы в растворе; D — показания фотоколориметра.

Пример 1. При колориметрировании растворов глюкозы концентрацией 0,3 г/100 см³ оптическая плотность их составила: 0,399; 0,400; 0,398. Определяют среднее значение: $0,399 + 0,400 + 0,398 / 3 = 0,399$.

При колориметрировании растворов глюкозы концентрацией 0,4 г/100 см³ оптическая плотность составила:

$$(0,533 + 0,535 + 0,531) / 3 = 0,533.$$

Коэффициент пропорциональности будет: в первом случае — $K = 0,3 / 0,399 = 0,751$; во втором — $K = 0,4 / 0,533 = 0,750$; $K_{ср} = (0,751 + 0,750) / 2 = 0,750$, т. е.

$$C = 0,750 \cdot Dn, \text{ г/100 см}^3.$$

Пример 2. На анализ поступил спиртованный абрикосовый сок, который развели в 10 раз, провели колориметрическую реакцию и измеряли оптическую плотность полученного окрашенного раствора на фотоколориметре. При этом оптическая плотность составила 0,420. Подставляя полученную величину в расчетную формулу, определяют содержание сахара в исследуемом изделии:

$$C = 0,420 \cdot 0,750 \cdot 10 = 3,15 \text{ г/100 см}^3.$$

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОЗРАЧНОСТИ СПИРТОВАННЫХ ПЛОДОВО-ЯГОДНЫХ СОКОВ (МЕТОД ВНИИПрБ)

В спиртованных соках и морсах содержание взвешенных веществ, обуславливающих их мутность, не должно превышать 0,05 %. Во ВНИИПрБ разработан метод, по которому нормальная прозрачность сока характеризуется пределами оптической плотности, измеренной в кювете с толщиной слоя жидкости, установленной для каждого вида сока (табл. 15). В качестве раствора сравнения используют тот же сок, но отфильтрованный. Допустимые пределы оптических плотностей, характеризующие удовлетворительное качество соков по прозрачности, установлены на приборе марки ФЭК-Н-57, который принят за эталон. В приборах других марок светофильтры могут отличаться от светофильтров эталона. Поэтому для каждого прибора определяют поправочный коэффициент.

Поправочный коэффициент определяют по 0,001 н. раствору йода, приготовленному из фиксанала 0,01 н. раствора йода. Оптическую плотность полученного раствора определяют в кювете с толщиной слоя 5 мм при $\lambda = 430 \text{ мкм}$. Оптическая плотность 0,001 н. раствора йода при определении на эта-

15. Пределы оптической плотности, характеризующие нормальную прозрачность соков

Сок	Длина рабочей грани кюветы, мм	Оптическая плотность, не более	Сок	Длина рабочей грани кюветы, мм	Оптическая плотность, не более
Яблочный	20	0,120	Калиновый	5	0,260
Абрикосовый	3	0,130	Вишневый	1	0,150
Рябиновый	20	0,140	Малиновый	10	0,120
Сливовый	5	0,150	Черносмородиновый	3	0,200
Алычевый	5	0,130	Кизиловый	1	0,460
Айвовый	5	0,100	Черничный	5	0,200
Облепиховый	10	0,260	Морс кураги	10	0,100

лонном приборе равна 0,475. Поправочный коэффициент $K = 0,475 : D_1$. Приведенное значение оптической плотности $D_{пр} = D_0 K$, где D_0 — оптическая плотность сока, измеренная на используемом приборе.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; 0,001 н. раствор йода; стеклянный фильтр № 2; колба Бунзена.

Проведение испытания. В стеклянный фильтр № 2 укладывают двойной слой картона марки Т или слой тонкого асбеста, фильтр вставляют в сухую колбу Бунзена и под разряжением отфильтровывают 20—25 см³ анализируемого сока, до полной его прозрачности. Затем по табл. 15 находят соответствующий наименованию сока размер кюветы. Одну кювету заполняют нефильтрованным соком, а две другие — прозрачным фильтратом. Оптическую плотность сока определяют

16. Длина волны света и расчетные формулы для определения содержания несброженных углеводов

Марка фотоколориметра	Длина волны света, нм	Расчетные формулы (C , г/100 см ³)
ФЭК-56	$D_1 = 610$ $D_2 = 440$	$(17,23D_1 - 14,36D_2) n \cdot 10^{-3}$
ФЭК-56М	$D_1 = 597$ $D_2 = 434$	$16,9 (D_1 - D_2) n \cdot 10^{-3}$
КФО	$D_1 = 600$ $D_2 = 415$	$(18,56D_1 - 16,15D_2) n \cdot 10^{-3}$
КФК-2	$D_1 = 590$ $D_2 = 440$	$19,53 (D_1 - D_2) n \cdot 10^{-3}$
А1-ЕЦ-2С	$D_1 = 600$ $D_2 = 440$	$(36,47D_1 - 29,41D_2) n \cdot 10^{-3}$

с помощью синего светофильтра. Полученное значение оптической плотности сравнивают с табличным.

Пример. Для анализа взят яблочный сок, оптическую плотность которого в соответствии с данными табл. 16 нужно измерять в кювете с длиной рабочей грани 20 мм. Измерение проводили на фотоколориметре марки ФЭК-Н-54. Оптическая плотность 0,001 н. раствора йода, измеренная на этом приборе, равна 0,450. Поправочный коэффициент $K = 0,475 : 0,450 = 1,06$. Оптическая плотность анализируемого сока = 0,100, приведенная оптическая плотность сока $D_{пр} = 0,100 \cdot 1,06 = 0,106$. Предел оптической плотности яблочного сока должен быть не более 0,120, следовательно, анализируемый сок пригоден для производства.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НЕСБРОЖЕННЫХ САХАРОВ В МЕЛАСНОЙ БРАЖКЕ (МЕТОД УкрНИИСП)

К несброженным сахарам меласной бражки относятся сахароза и продукты ее распада — глюкоза и фруктоза. Кроме этих сахаров в бражке содержатся такие редуцирующие но несбраживаемые сахара, как пентоза и мелибиоза (продукт распада трисахарида рафинозы), содержание которых составляет 50 % и выше от общего количества сахаров в бражке. Поэтому для определения действительных потерь сбраживаемых сахаров в производстве спирта из мелассы методы анализа, основанные на использовании редуцирующей способности сахаров, непригодны, так как дают завышенные результаты. Более точные данные получаются фотоколориметрическим методом.

Меласная бражка имеет темно-коричневый цвет и содержит коллоидные вещества, что затрудняет измерение оптической плотности раствора. Осветляют бражку нейтральным ацетатом свинца и пиросульфитом натрия. Для создания кислой среды при колориметрической реакции применяют концентрированную соляную кислоту с добавкой сульфата аммония — железа (III).

Аппаратура, материалы, реактивы: мерные колбы на 100 и 200 см³; бюретка на 50 см³; пробирки из тугоплавкого стекла (диаметр пробирки 2,5, высота 18 см) со шлифами для воздушных холодильников длиной 20—25 см; пипетки на 10 см³ с делениями; водяная баня со штативом для пробирок; воронки; химические стаканы на 50 и 150 см³; 0,6 %-ный раствор резорцина (1,2 г C₆H₆O₂ растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 200 см³). Раствор хранят в темной склянке до 15 сут; соляная кислота плотностью 1,19 с добавкой сульфата аммония — железа (III) (в мерный цилиндр на 1 дм³ с притертой пробкой отвешивают 0,02 г соли, растворяют ее в большом количестве кислоты, затем объем доводят до метки

той же кислотой); 25 %-ный раствор ацетата свинца; 3 %-ный раствор пиросульфата натрия (3 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 100 см³); сахароза химически чистая.

Построение калибровочного графика. Для приготовления стандартного раствора отвешивают на аналитических весах в стаканчик 0,0300 г сахарозы, навеску без потерь переносят в мерную колбу на 200 см³. Содержимое колбы доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют. Первые 15—20 см³ фильтрата отбрасывают.

Из фильтрата, содержащего 150 мкг сахарозы в 1 см³, готовят растворы для колориметрирования следующих концентраций, мкг/см³: 3,75; 7,50; 15,00; 22,50; 30,00; 37,50; 45,00; 52,50. Для этого в мерные колбы на 100 см³ из бюретки отмеривают 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0 и 35 см³ стандартного раствора, доливают дистиллированную воду до метки и перемешивают.

Из каждой колбы отбирают по 4 см³ раствора сахарозы в сухие пробирки для проведения реакции образования комплекса. В одной из пробирок готовят «холостую» пробу, в которой вместо раствора сахарозы используют 4 см³ дистиллированной воды. Таким образом, в приготовленной серии растворов содержание сахарозы составляет 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 и 210 мкг. Потом в каждую пробирку добавляют по 0,5 см³ раствора резорцина и 5,5 см³ соляной кислоты. Содержимое всех пробирок быстро перемешивают энергичным вращением, пробирки закрывают пробками, соединенными с воздушными холодильниками, устанавливают в штатив и погружают в кипящую водяную баню, уровень воды в которой должен быть на 1—2 см выше уровня жидкости в пробирках. При погружении пробирок кипение воды должно возобновиться через 30 с. Через 5 мин от начала погружения штатив с пробирками вынимают и быстро охлаждают под струей воды до 20 °С. Растворы в пробирках приобретают розовый цвет.

При измерении оптической плотности полученных растворов пользуются кюветами с длиной рабочей грани 1 см и светофильтром с максимумом поглощения при длине волны 432 нм. В качестве раствора сравнения служит «холостая» проба. Колориметрическую реакцию для каждого раствора повторяют не менее трех раз, причем отклонение в величинах оптической плотности не должно превышать 0,003—0,004 *D*. За оптическую плотность раствора принимают среднеарифметическое значение из повторных измерений.

Калибровочный график строят на миллиметровой бумаге, откладывая по оси абсцисс содержание сахарозы в анализиру-

емой пробе, а по оси ординат — величины оптической плотности.

Удобным является масштаб, когда отрезок на осях в 10 мм соответствует 10 мкг сахарозы и 0,02 величины оптической плотности.

Проведение испытания. Для анализа пипеткой отбирают 2 см³ бражки и помещают ее в мерную колбу на 100 см³, последовательно добавляют 3 см³ ацетата свинца и 150 мг пиро-сульфита натрия. Содержимое колбы перемешивают, выдерживают в течение 3—5 мин, затем доводят до метки водой, снова перемешивают и фильтруют через сухой фильтр в сухой стакан, удаляя первые 15—20 см³ фильтрата.

Для проведения колориметрической реакции в пробирку отбирают 4 см³ фильтрата, добавляют 0,5 см³ раствора резорцина и 5,5 см³ соляной кислоты. Затем ведут реакцию образования комплексона и измеряют оптическую плотность полученного раствора. Если значение оптической плотности раствора ниже 0,050, определение повторяют, но на анализ берут не 2, а 4 см³ бражки. При величине оптической плотности больше 0,300 фильтрат разбавляют вдвое и на анализ берут 4 см³ разбавленного фильтрата.

По величине оптической плотности на калибровочном графике находят содержание сахарозы во взятом на колориметрирование объеме осветленной бражки. Содержание несброженного сахара в бражке, г. на 100 см³, определяют по уравнению

$$x = 1000ab / (1000000BH) = ab / [BH10000],$$

где a — количество сахара, найденное по калибровочному графику, мкг; b — общий объем осветленного раствора бражки, см³; 100 — пересчет на 100 см³ бражки; B — объем осветленной бражки, взятый на колориметрирование, см³; H — количество бражки, взятое на анализ, см³; 1 000 000 — коэффициент перевода микрограммов в граммы.

П р и м е р. На анализ взято 2 см³ бражки, которая после осветления разбавлена до 100 см³. На колориметрирование взято 4 см³ осветленного раствора бражки.

Оптическая плотность раствора составляет 0,302, что соответствует 136 мкг сахарозы. Содержание несброженного сахара в бражке, определяют по уравнению $x = (136 \cdot 100) / (2 \cdot 4 \cdot 100\,000) = 0,17$ г/100 см³.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В ПОЛУПРОДУКТАХ ИЗ КРАХМАЛИСТОГО СЫРЬЯ (МЕТОД ВНИИПРБ)

Антроновым методом рекомендуется определять содержание углеводов в бражке, барде, в полупродуктах, в производстве ферментных препаратов. Содержание углеводов в разбав-

ленном анализируемом растворе должно составлять 3—12 мг/100 см³.

В бражке определяют антроновым методом содержание несброженных углеводов, нерастворенного крахмала, декстринов и сахаров. Такой анализ необходимо проводить при нарушениях технологического процесса для выяснения причин повышенных потерь.

Аппаратура, материалы и реактивы: фотоколориметр; весы аналитические; термометр; фильтровальная бумага; мерные колбы на 50; 100; 200; 1000 см³; мерные пипетки на 1; 2; 10; 20 см³; мерный цилиндр на 200 см³; воронка; антрон химически чистый; серная кислота, выдерживающая пробу Савалля или химически чистая; этиловый спирт.

Подготовка к испытанию. Приготовление 0,2 %-ного раствора антрона. Берут 0,9175 г антрона и помещают его в мерную колбу на 250 см³. Добавляют 100—150 см³ серной кислоты и смесь перемешивают до полного растворения антрона. Затем объем жидкости в колбе доводят серной кислотой до метки, перемешивают, приготовленный раствор выдерживают при комнатной температуре в течение 4 ч в темном месте. Раствор антрона можно использовать для анализа в течение 12—15 сут с серной кислотой, выдерживающей пробу Савалля, и в течение 2 сут при использовании химически чистой серной кислоты.

Приготовление 0,4 %- и 0,5 %-ного растворов серной кислоты. В мерную колбу на 1 дм³ наливают 500 см³ дистиллированной воды и осторожно приливают 2,4 см³ серной кислоты для приготовления 0,4 %-ного раствора и 3,2 см³ серной кислоты для приготовления 0,53 %-го раствора, перемешивают, охлаждают и объем жидкости в колбе доводят дистиллированной водой до метки при 20 °С. Концентрацию кислоты в полученном растворе проверяют путем титрования 10 см³ раствора 0,1 н. раствором гидроксида натрия. При правильной концентрации кислоты на титрование 0,4 %-ного раствора должно пойти 8,5 см³ и на титрование 0,53 %-ного раствора 11,26 см³ гидроксида натрия.

Проведение испытания. В пробирку из тугоплавкого стекла с притертой пробкой на 15—20 см³ приливают при помощи автоматической пипетки или бюретки с краном 5 см³ антронового реактива, осторожно по стенке доливают 2,5 см³ разбавленного фильтрата так, чтобы жидкости не смешивались, а образовывали два слоя. Затем пробирку закрывают притертой пробкой. Параллельно готовят холостую пробу, добавляя к 5 см³ реактива 2,5 см³ дистиллированной воды.

Содержание пробирок энергично перемешивают в течение 10 с, ставят в штатив и погружают в бурно кипящую водяную

баню. После прекращения кипения оно должно возобновиться через 0,5 мин с момента погружения пробирок. Замечают начало кипения, раствор выдерживают в кипящей бане в течение 5,5 мин. Общее время выдержки должно быть 6 мин. Затем пробирки вынимают, помещают в баню с проточной водой и содержимое пробирок охлаждают до 20 °С.

Раствор после реакции приобретает синевато-зеленую окраску, его оптическую плотность определяют, используя кюветы с шириной рабочей грани 3 мм при длине световой волны 610 и 413 мμ, после чего находят величину оптической плотности, соответственно D_1 и D_2 :

$$C = 18,9 (D_1 - D_2) n \cdot 10^{-3},$$

где 18,9 — коэффициент экстинкции, определенный экспериментальным путем; n — коэффициент разведения раствора.

При использовании фотоколориметров, имеющих другую длину волны света, применяют длины волн и формулы, приведенные в табл. 16.

Определение несброженных углеводов в бражке

Содержание несброженных углеводов в бражке является технологическим показателем, характеризующим степень сбраживания сусла. Показатель несброженных углеводов характеризует содержание растворимых сбраживаемых углеводов в бражке.

Проведение испытания. Бражку фильтруют через складчатый бумажный фильтр, отбирают 1—2 см³ фильтрата, помещают в мерную колбу на 100 см³, куда предварительно наливают около 50 см³ дистиллированной воды. Жидкость перемешивают и добавляют дистиллированную воду при температуре 20 °С до метки. В растворе определяют несброженные углеводы по прописи, указанной выше.

Пример. На анализ взято 2 см³ фильтрата бражки и получено 100 см³ разбавленного раствора ($n = 50$). После колориметрирования получены такие значения оптической плотности: $D_1 = 0,570$ и $D_2 = 0,185$ при длине волн 610 и 413 мμ. Откуда содержание растворимых сбраживаемых углеводов в бражке:

$$C_{p. y} = \frac{18,9 (0,570 - 0,185) 50}{1000} = 0,364 \text{ г/100 см}^3.$$

Определение суммарного содержания сбраживаемых углеводов

Для определения суммарного содержания сбраживаемых углеводов в бражке или других полупродуктах вначале гидролизуют крахмал путем нагрева его в 0,4 %-ном растворе сер-

ной кислоты в течение 15 мин, после чего определяют общее содержание сбраживаемых углеводов ($C_{\text{общ}}$).

Проведение испытания. В стаканчик помещают навеску — 25 г полупродукта — и переводят ее в мерную колбу на 200 см³ с помощью 75 см³ 0,53 %-ного раствора серной кислоты. Получают 100 см³ смеси, в которой содержится 0,4 % серной кислоты. Колбу с реакционной смесью помещают в кипящую водяную баню и выдерживают для гидролиза крахмала в течение 15 мин. Затем колбу вынимают из бани, содержимое ее охлаждают до комнатной температуры, объем жидкости доводят до метки и фильтруют. Первые порции фильтрата (20 см³) удаляют, а в последующих определяют общее содержание углеводов как описано выше. Одновременно в другой навеске бражки определяют растворимые углеводы ($C_{p.y.}$). Для этого 25 г бражки переводят в колбу на 200 см³, доливают до метки дистиллированной водой температурой 20 °С, перемешивают, фильтруют и в фильтрате определяют углеводы.

Определяют содержание нерастворенного крахмала по формуле

$$C_{кр} = 0,9 (C_{\text{общ}} - C_{p.y.}).$$

Пример. Содержание крахмала в бражке определяют по формуле $n = (200 \cdot 100)/(10 \cdot 25) = 80$. Запишем величины оптических плотностей, полученные после реакции растворимых углеводов с антроном: $D_1 = 0,450$; $D_2 = 0,150$ (данные получены на колориметре марки ФЭК при длине волны 610 и 413 нм):

$$C_{p.y.} = \frac{18,9 (0,450 - 0,150) 80}{1000} = 0,454 \text{ \%}.$$

При реакции общих углеводов с антроном получены значения $D_1 = 0,610$ и $D_2 = 0,180$, откуда

$$C_{\text{общ}} = \frac{18,9 (0,610 - 0,180) 80}{1000} = 0,650 \text{ \%}.$$

Содержание нерастворенного крахмала (по разности) составит

$$C_{кр} = 0,9 (0,650 - 0,454) = 0,176 \text{ \%}.$$

Определение спирторастворимых сахаров и декстринов

Для определения спирторастворимых сахаров их отделяют от других углеводов путем растворения в спирте концентрацией 92,6 об. % и определяют в спиртовом растворе.

Поскольку в спиртовых растворах чувствительность реакции сахаров с антроном повышается, то повышаются и молярные коэффициенты погашения глюкозы и арабинозы. Поэтому уравнение, составленное для расчета данных анализа в водных растворах, неприменимо для определения в спирто-

вых растворах. Для этого используют специальное уравнение, составленное аналогичным образом, но с применением спиртовых модельных растворов сахаров.

Вследствие того, что коэффициент погашения зависит от концентрации спирта и уменьшается с понижением концентрации спирта в водно-спиртовом растворе, при определении содержания сахаров в экстракте необходимо строго следить за тем, чтобы применяемый для осаждения декстринов спирт был точно определенной концентрации. Так, в разбавленном исследуемом экстракте и в контрольном растворе содержание спирта не должно оставаться постоянным, т. е. 92 об. %.

Проведение испытания. Исследуемый полупродукт фильтруют через бумажный складчатый фильтр и отбирают в мерную колбу на 50 см³ от 0,5 до 2 см³ фильтрата в зависимости от предполагаемого содержания углеводов. Если фильтрата было взято менее 2 см³, например 1 см³, то добавляют дистиллированную воду до 2 см³. Это делают для того, чтобы при осаждении декстринов и последующем определении сахаров в спиртовом экстракте содержание алкоголя в растворе было 92,6 об. %.

К раствору приливают до метки этиловый спирт концентрацией 96,4 об. %. При этом декстрины выпадают в осадок. Содержимое колбы тщательно перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр. В спиртовом экстракте определяют сахар по описанной выше методике.

Затем в пробирку наливают 10 см³ антронового реактива, добавляют 5 см³ полученного экстракта и перемешивают. Параллельно готовят контрольную пробу. Для этого вначале готовят спирт концентрацией 92,6 об. %, приливая к 2 см³ дистиллированной воды 48 см³ спирта концентрацией 96,4 об. %. Для контрольной пробы берут также 10 см³ антронового реактива и приливают к нему 5 см³ полученного разбавленного спирта.

Составление реакционных сред необходимо проводить с соблюдением тех же мер предосторожностей, что и при анализе водных растворов. Таким же образом нагревают смеси и проводят колориметрирование окрашенных растворов при двух светофильтрах на фотоколориметре в кювете с длиной рабочей грани 5 мм.

В результате анализа получают два значения оптической плотности D_1 и D_2 и определяют содержание сахаров в исследуемом полупродукте по формуле

$$C_s \approx (14,28D_1 - 20,77D_2)/1000.$$

Содержание декстринов в бражке определяют по формуле

$$C_d = 0,9 (C_{p. y} - C_s).$$

Пример. Для анализа взята зрелая бражка. Фильтрат ее разбавлен в 50 раз ($n = 50$) и в разбавленном растворе определено общее содержание растворимых сбраживаемых углеводов.

При колориметрировании на колориметре марки ФЭК при длине волны 610 и 413 нм получены значения оптических плотностей $D_1 = 0,425$ и $D_2 = 0,158$.

Содержание растворимых углеводов:

$$C_{p.y} = [18,9 (0,425 - 0,158) 50] / 1000 = 0,252 \text{ г/100 см}^3.$$

Для определения спирторастворимых углеводов используют 1 см³ фильтрата, который помещают в мерную колбу на 50 см³, добавляют 1 см³ дистиллированной воды и объем доводят до метки этиловым спиртом концентрацией 96,4 об. %. В данном случае разбавление фильтрата 1 : 50 и $n = 50$.

В результате анализа получены значения оптических плотностей $D_1 = 0,750$ и $D_2 = 0,450$.

$$\text{Содержание сахаров: } C_a = \frac{(14,28 \cdot 0,750 - 20,77 \cdot 0,450) 50}{1000} = 0,067 \text{ г/100 см}^3.$$

$$\text{Содержание декстринов: } C_d = 0,9 (0,252 - 0,067) = 0,166 \text{ г/100 см}^3.$$

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦЕРИНА В ПОЛУПРОДУКТАХ СПИРТОВОГО ПРОИЗВОДСТВА (МЕТОД УкрНИИСП)

Метод основан на окислении глицерина йодной кислотой при нагревании в приборе типа «Эбулиостат», отгонке образовавшегося формальдегида с водяным паром, проведении колориметрической реакции формальдегида с хромотроповым реагентом и фотометрическом измерении величины оптической плотности цветного комплекса. Колориметрическую реакцию формальдегида проводят с хромотроповой кислотой в 90 %-ном растворе серной кислоты. Количество глицерина определяют по градуировочному графику, построенному по растворам окисленного глицерина.

В связи с тем что в полупродуктах спиртового производства содержатся сахара, которые также обладают способностью окисляться йодной кислотой, их удаляют с помощью гидроксида бария, используя при этом в качестве растворителя этиловый спирт, ускоряющий процесс образования осадка сахаратов бария.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; весы технические и аналитические; эбулиостат (рис. 24), термометр; холодильник шариковый; колбы мерные на 50, 100, 200 см³; цилиндры измерительные на 1, 2, 5, 10, 20 см³; бюретка на 25 см³; воронка; стаканы химические; колбы конические широкогорлые на 750—1000 см³; колбы конические на 50 и 100 см³; часы песочные; баня водяная электрическая; гидроксид бария, химически чистый; глицерин; периодат ка-

лия; спирт этиловый; 1 н. раствор серной кислоты; серная кислота плотностью 1,835; хромотроновая кислота, динатриевая соль.

Подготовка к испытанию, Приготовление раствора периодата калия. Растворяют 0,15 г периодата калия в дистиллированной воде в мерной колбе на 100 см³, приливают пипеткой 2,5 см³ 1 н. H₂SO₄, доводят водой до метки при 20 °С, перемешивают и переливают в колбу из темного стекла. Раствор периодата калия хранить не рекомендуется, его следует применять в свежеприготовленном виде.

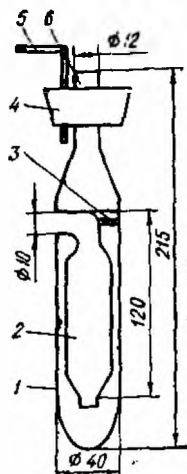
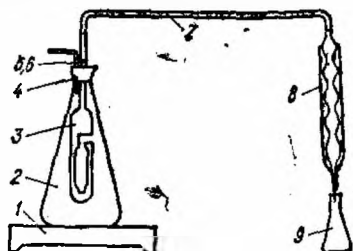


Рис. 24. Эбулиостат:

1 — сосуд для анализируемого раствора; 2 — трубка для водяного пара; 3 — крепление паровой трубки; 4 — пробка; 5 — трубка, соединяющая паровое пространство с атмосферой; 6 — трубка для ввода анализируемого раствора.

Рис. 25. Прибор для отгонки формальдегида:

1 — электрическая плита; 2 — широкогорлая коническая колба; 3 — эбулиостат; 4 — пробка эбулиостата; 5, 6 — пробки соединительной трубки; 7 — соединительная трубка; 8 — шариковый холодильник; 9 — приемник дистиллята.



Приготовление раствора хромотроновой кислоты в 90 % - ной серной кислоте. Берут 0,2005 г динатриевой соли хромотроповой кислоты, переводят навеску в мерную колбу на 50 см³, растворяют в дистиллированной воде, доводят водой до метки при 20 °С, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр. Отбирают пипеткой 25 см³ фильтрата в химический стакан или коническую колбу, осторожно приливают из мерного цилиндра 178 см³ серной кислоты плотностью 1,835 г/см³ и смесь тщательно перемешивают. Раствор хромотроповой кислоты хранят в колбе из темного стекла в защищенном от света месте не более 10 дней.

Построение калибровочного графика. Для количественного определения содержания глицерина в сбраживаемых растворах строят график зависимости между количеством окисленного глицерина, взятым на колориметрическую реакцию, и значением оптической плотности раствора.

Основной раствор глицерина готовят концентрацией 250 мг/см³. Для этого на аналитических весах отвешивают 1 г химически чистого глицерина, количественно переводят его в мерную колбу на 100 см³, доводят дистиллированной водой до метки при 20 °С и перемешивают. Отбирают пипеткой 5 см³ раствора и разбавляют водой в мерной колбе на 200 см³. Полученный раствор является основным для построения калибровочного графика.

Окисление глицерина и отгонку образовавшегося формальдегида проводят на специальном приборе (рис. 25). Сначала наполняют бюретку основным раствором глицерина и последовательно отмеривают в эбулиостат 0,5; 1; 2; 3; 4 и 5 см³, доводят каждый объем дистиллированной водой до 5 см³, смывая при этом стенки эбулиостата, и приливают пипеткой 10 см³ 0,15 %-ного раствора периодата калия. Общий объем смеси составляет 15 см³. Закрывают эбулиостат пробкой со вставленной в нее соединительной трубкой, погружают в коническую колбу с кипящей дистиллированной водой, плотно соединяют его посредством пробок с горлышком конической колбы и шариковым холодильником. Уровень кипящей воды в колбе должен быть выше уровня раствора в эбулиостате и ниже входного отверстия для водяного пара.

Носик холодильника погружают в мерную колбу на 50 см³, в которую предварительно набирают 5 см³ дистиллированной воды для улавливания первых более концентрированных порций дистиллята, содержащего формальдегид. Носик оставляют погруженным до тех пор, пока объем дистиллята не составит 15 см³, затем вынимают его из раствора, чтобы жидкость не засасывало в холодильник, и смывают небольшим количеством дистиллированной воды. Общий объем дистиллята должен составлять 40—45 см³. По окончании перегонки дистиллят доводят водой до объема 50 см³ при 20 °С, перемешивают и выполняют колориметрическую реакцию.

Реакцию формальдегида с хромотроповым реагентом осуществляют в мерных или обычных плоскодонных колбах на 50 см³ с высотой горлышка 10—12 см. Раствор на анализ отбирают одной и той же микропипеткой на 1 см³, начиная с более слабых концентраций, при 4—5-кратном ополаскивании пипетки очередным раствором. В реакционной смеси должно содержаться 2,5; 5; 10; 15; 20; 25 мг окисленного глицерина.

Затем в 1 см³ анализируемого дистиллята добавляют из мерного цилиндра 10 см³ раствора хромотроповой кислоты, содержащейся в 90 %-ной серной кислоте. Общий объем смеси составляет 11 см³. Жидкость в колбе быстро перемешивают, погружают в водяную баню с температурой 62 °С и выдерживают при 60 °С точно 3 мин. По истечении это-

го времени раствор охлаждают до 20 °С холодной водой и фотометрируют в кюветах с толщиной рабочих граней 5 мм при длине световой волны 490 или 540 нм. В другие кюветы такой же вместимости наливают контрольный раствор и измеряют оптическую плотность на фотоколориметре. В качестве контроля служит раствор хромотроповой кислоты (10 см³), дополненный до 11 см³ дистиллированной водой и выдержанный в течение 3 мин при 60 °С.

Найденные значения оптических плотностей откладывают на оси ординат, а количество глицерина, взятое на анализ, — на оси абсцисс (рис. 26). Полученные точки соединяют в виде прямой линии (график строят на миллиметровой бумаге).

Для построения калибровочного графика процесс окисления глицерина и колориметрическую реакцию в каждом испытуемом растворе повторяют не менее трех раз. Отклонения между определениями



Рис. 26. Калибровочный график зависимости между концентрацией глицерина и оптической плотностью раствора.

не должны превышать 0,002 ед. оптической плотности. По данным графика составляют рабочую таблицу с интервалами в концентрации глицерина 0,5 мкг (табл. 17).

Проведение испытания. Для определения содержания глицерина в сбраживаемых мелассных и зерно-картофельных средах анализируемые продукты предварительно очищают от сахаров с помощью гидроксида бария, количество которого рассчитывают по следующему уравнению:

$$B = A (0,04B + 0,15),$$

где B — количество $Ba(OH)_2$, необходимое для обработки анализируемых растворов, г; A — количество мелассной, см³, или зерно-картофельной, г, бражки, взятое на анализ; B — содержание сахара в испытуемом растворе, г/100 см³ или г/100 г.

Так как избыточное количество $Ba(OH)_2$ в определенных пределах допустимо, а содержание сахара при установившемся технологическом процессе отклоняется незначительно, то в производстве спирта из крахмалистого сырья для бражки после 36 ч брожения вплоть до зрелой бражки можно применять постоянное количество $Ba(OH)_2$, равное 0,2 г на 1 г обрабатываемого продукта. Для анализа среды из дрожжегенераторов расход $Ba(OH)_2$ должен составлять не менее 0,3 г на 1 г продукта.

17. Содержание глицерина в анализируемом растворе в зависимости от величины оптической плотности

Оптическая плотность	Содержание глицерина в реакционной смеси, мкг	Оптическая плотность	Содержание глицерина в реакционной смеси, мкг	Оптическая плотность	Содержание глицерина в реакционной смеси, мкг
0,004	0,5	0,084	9,0	0,162	17,5
0,009	1,0	0,088	9,5	0,167	18,0
0,012	1,5	0,093	10,0	0,172	18,5
0,018	2,0	0,097	10,5	0,177	19,0
0,023	2,5	0,102	11,0	0,181	19,5
0,028	3,0	0,106	11,5	0,185	20,0
0,032	3,5	0,111	12,0	0,190	20,5
0,037	4,0	0,116	12,5	0,195	21,0
0,042	4,5	0,120	13,0	0,200	21,5
0,047	5,0	0,125	13,5	0,205	22,0
0,051	5,5	0,130	14,0	0,209	22,5
0,056	6,0	0,135	14,5	0,214	23,0
0,060	6,5	0,139	15,0	0,219	23,5
0,065	7,0	0,144	15,5	0,223	24,0
0,069	7,5	0,148	16,0	0,227	24,5
0,074	8,0	0,153	16,5	0,232	25,0
0,078	8,5	0,158	17,0		

В производстве спирта из мелассы, начиная с 6-го бродильного аппарата (как для однопоточной, так и для двухпоточной схем), допускается также одинаковая навеска $\text{Ba}(\text{OH})_2$ — 0,2 г на 1 см³ сбраживаемого мелассного раствора. Для анализа среды, взятой из дрожжегенераторов, при двухпоточной технологической схеме количество $\text{Ba}(\text{OH})_2$ должно составлять не более 0,3 г на 1 см³ исследуемого продукта.

В анализируемых образцах следует определить содержание сахара и рассчитать необходимую навеску $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Однако

18. Расход гидроксида бария на осаждение сахаров в сбраживаемых зерно-картофельных средах

Анализируемый продукт	Содержание сахара, %	Расход гидроксида бария, г на 1 г продукта	Анализируемый продукт	Содержание сахара, %	Расход гидроксида бария, г на 1 г продукта
Дрожжи	3,8	0,32	Бражка после 36-часового брожения	0,9	0,19
Бражка после 3-часового брожения	8,6	0,50	Зрелая бражка	0,4	0,17

19. Расход гидроксид бария на содержание сахаров в сбраживаемых мелассных растворах

Анализируемый продукт	Однопоточная схема		Двухпоточная схема	
	Содержание сахара, г/100 см ³	Расход Ba(OH) ₂ на 1 г/см ³ продукта	Содержание сахара, г/100 см ³	Расход Ba(OH) ₂ на 1 г/см ³ продукта
Дрожжи из дрожжегенераторов	10	0,55	3	0,27
Бражка из бродильных аппаратов:				
№ 1	9	0,51	10	0,55
№ 2	7	0,43	8	0,47
№ 3	5	0,35	6	0,39
№ 4	3	0,27	4	0,31
№ 5	1	0,20	2	0,23
№ 6	0,6	0,17	1	0,20
№ 7	0,5	0,17	0,7	0,18
№ 8	0,4	0,17	0,5	0,17
Зрелая бражка	0,4	0,17	0,4	0,17

для ориентировочного определения глицерина можно воспользоваться данными табл. 18 и 19, в которых приведена приблизительная концентрация сахара в сбраживаемых зерно-картофельных и мелассных растворах и соответственно расход Ba(OH)₂ на 1 г или 1 см³ этих продуктов.

Пример 1. В зерно-картофельной бражке в период главного брожения содержится 8 % сахара. На анализ взято 5 см³ разбавленного фильтрата бражки, содержащего 2 г исходного продукта. Количество Ba(OH)₂, необходимое для осаждения сахаров, составит: $B = 2 (0,04 \cdot 8,0 + 0,15) = 0,94$ г.

Пример 2. В мелассной бражке в одном бродильном аппарате содержится сахара 8,5 г/100 см³. На анализ взято 2 см³ бражки. Количество Ba(OH)₂, необходимое для осаждения сахаров, составит: $B = 2 (0,04 \cdot 8,5 + 0,15) = 0,98$ г.

Определение содержания глицерина в сбраживаемых зерно-картофельных средах

В химический стакан на 50 см³ отвешивают 2 г исследуемого продукта с точностью 0,01 г, добавляют 2 см³ дистиллированной воды и необходимую навеску Ba(OH)₂. Смесь тщательно перемешивают стеклянной палочкой, затем прибавляют 10 см³ спирта этилового, снова перемешивают и количественно переводят ее в мерную колбу на 50 см³, смывая при этом стенки стакана спиртом, дополняют объем до метки этиловым спиртом при 20 °С, перемешивают и фильтруют через бумажный

фильтр. Первые 5 см³ фильтрата удаляют, а последующие используют для анализа. Затем проводят окисление глицерина и колориметрическую реакцию.

Для этого отмеривают пипеткой 2—5 см³ полученного фильтрата и вводят его в эбулиостат, приливают 3 см³ дистиллированной воды и 10 см³ 0,15 %-ного раствора периодата калия. Общий объем смеси в эбулиостате должен составлять 15 см³, а концентрация глицерина — в пределах 125—1250 мкг. Эбулиостат закрывают пробкой, опускают в коническую колбу с кипящей водой и соединяют с шариковым холодильником (см. рис. 25).

Затем проводят отгонку формальдегида в мерную колбу на 50 см³. Отгонку ведут до тех пор, пока объем дистиллята не составит 40—45 см³. По окончании перегонки дистиллят доводят водой до метки при 20 °С, перемешивают и отбирают 1 см³ для проведения колориметрической реакции. Реакцию формальдегида с хромотроповым реагентом выполняют так же, как при построении калибровочного графика.

Необходимо помнить, что общий объем смеси при выполнении колориметрической реакции должен составлять 11 см³. Одновременно можно анализировать до десяти проб. Интенсивность окраски полученных растворов не изменяется в течение 60 мин.

В качестве контрольного раствора при фотометрировании, как и в случае построения калибровочного графика, служит смесь 1 см³ дистиллированной воды и 10 см³ раствора хромотроповой кислоты в 90 %-ной серной кислоте, выдержанной в тех же условиях, что исследуемые растворы.

Пользуясь калибровочным графиком или таблицей, по величине оптической плотности находят содержание глицерина в объеме анализируемого раствора. Колориметрируемые смеси должны содержать окисленный глицерин в пределах 4—25 мкг. В противном случае необходимо варьировать изменением объема раствора, вводимого в эбулиостат на окисление.

Содержание глицерина, %, в исследуемой пробе вычисляют по формуле

$$Г = (AB)/BD \cdot 10\,000,$$

где A — количество глицерина, найденное по калибровочному графику, мкг; B — величина разбавления продукта (бражки), см³; B — количество исследуемого продукта, взятое на анализ, г; D — количество раствора, израсходованное на колориметрическую реакцию, см³; 10 000 — перевод мкг в г, содержание глицерина в 100 см³ или 100 г продукта.

Пр и м е р 1. Для определения глицерина взято 2 г зрелой бражки, которые обработаны гидроксидом бария (0,4 г) и разбавлены спир-

том до 50 см³. На окисление глицерина взято 5 см³ фильтрата. Образовавшийся формальдегид отгоняли водяным паром и дистиллят разбавляли водой до 50 см³. На колориметрическую реакцию было израсходовано 1 см³ дистиллята. Величина разбавления бражки: $B = (50 \times 50)/5 = 500$ см³.

Оптическая плотность после проведения колориметрической реакции равна 0,172, что по калибровочному графику соответствует 18,5 мкг глицерина. Содержание глицерина в зрелой бражке:

$$Г = \frac{18,5 \cdot 500}{2 \cdot 1 \cdot 10\,000} = 0,46 \, \%.$$

Пример 2. Для определения содержания глицерина в период главного брожения взято 2 г бражки с содержанием сахара 9 %, которую обработали Ва(ОН)₂ и разбавили этиловым спиртом до 50 см³. Разбавление бражки перед окислением глицерина в эбулиостате составило 50 см³.

На окисление глицерина йодной кислотой взято 5 см³ фильтрата. Поправочный коэффициент на углеводы составит: $K = (0,003 \cdot 2,0 \times \times 9,0 \cdot 5)/50 = 0,005$.

Объем дистиллята после окисления глицерина составил 50 см³. На колориметрическую реакцию с хромотроповой кислотой израсходовано 1 см³ дистиллята. Оптическая плотность раствора равна 0,061. Скорректированная величина оптической плотности: 0,061 — 0,005 = 0,056, что по данным табл. 18 соответствует 6 мкг глицерина.

Окончательное разведение бражки перед колориметрической реакцией составит: $B = (50 \cdot 50)/5 = 500$ см³.

Содержание глицерина в бражке равно: $Г = \frac{AB}{ВД \cdot 10\,000} = \frac{6,00 \cdot 500}{2,0 \cdot 1 \cdot 10\,000} = 0,15 \, \%$.

Поправочный коэффициент на углеводы применяют, когда содержание сахара в анализируемой среде больше 8 об. %.

Если в исследуемом продукте (бражка в начальных стадиях брожения) будет содержаться менее 8 % сахара, то при определении, оптической плотности используется поправочный коэффициент, который рассчитывается по следующей формуле: $K = 0,003 \, a \, b \, v / e$, где K — поправочный коэффициент на углеводы, ед. оптической плотности; 0,003 — величина оптической плотности от влияния 100 мкг сахара (постоянная величина); a — навеска исследуемого продукта, г; b — содержание сахара в продукте, %; v — количество раствора, взятое на окисление глицерина, см³; e — объем, до которого разбавлен исследуемый продукт перед окислением йодной кислотой, см³.

Величину поправочного коэффициента отнимают от значения оптической плотности, полученной при определении глицерина и по скорректированной величине определяют по калибровочному графику или таблице соответствующее содержание глицерина.

Определение содержания глицерина в сбраживаемых мелассных растворах

В мерную колбу на 50 см³ отмеривают градуированной пипеткой 2 см³ исследуемого мелассного раствора и, периодически взбалтывая содержимое, добавляют необходимое количество Ва (ОН)₂ для осаждения сахаров. Смесь тщательно взбалтывают, приливают до 2/3 объема этиловый спирт, перемешивают и доводят до метки спиртом при 20 °С, снова перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр. Далее поступают точно так, как при анализе зерно-картофельных сред.

Пример 1. Для определения глицерина берут 2 см³ зрелой мелассной бражки, которые обработаны 0,4 г Ва (ОН)₂ и разбавлены до 50 см³ этиловым спиртом.

В эбулиостат помещают 4 см³ подготовленного фильтрата на окисление глицерина. Образовавшийся формальдегид отгоняют водяным паром и дистилят доводят водой до 50 см³. На колориметрическую реакцию израсходовано 1 см³ дистилята. Объем, до которого разбавлен исследуемый раствор, равен: $B = 50 \cdot 5/4 = 625 \text{ см}^3$.

Оптическая плотность раствора после проведения анализа составляет 0,177, что по калибровочному графику или данным табл. 18 соответствует 19,0 мкг глицерина.

Содержание глицерина в зрелой бражке:
$$\Gamma = \frac{19 \cdot 625}{2,0 \cdot 1 \cdot 10\,000} = 0,59 \text{ г/100 см}^3.$$

Если в исследуемом продукте будет содержаться более 8 % сахара, то на его влияние необходимо вносить поправочный коэффициент по методике, описанной для зерно-картофельных сред.

Пример 2. Содержание сахара в мелассной бражке в начале брожения составило 10 %. Для осаждения углеводов взято 2 см³ бражки и разбавлено спиртом до 50 см³. Следовательно, разбавление бражки перед окислением глицерина в эбулиостате равно 50 см³. На окисление глицерина в эбулиостат взято 5 см³ фильтрата.

Поправочный коэффициент на углеводы составит: $K = (0,003 \times \times 2,0 \cdot 10,0 \cdot 5)/50 = 0,006$.

Объем дистилята после окисления глицерина составил 50 см³. На колориметрическую реакцию с хромотроповой кислотой израсходовано 1 см³ дистилята. Оптическая плотность раствора равна 0,066.

Скорректированная величина оптической плотности: $0,066 - - 0,006 = 0,060$, что по данным табл. 18 соответствует 5,6 мг глицерина.

Разведение бражки перед колориметрической реакцией: $B = = 50 \cdot 50/50 = 500 \text{ см}^3$.

Содержание глицерина в бражке:
$$\Gamma = \frac{5 \cdot 500}{2 \cdot 1 \cdot 10\,000} = 0,25 \text{ г/100 см}^3.$$

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ В СПИРТЕ И ВОДКЕ

Фотоколориметрические методы анализа примесей в спирте и в водке разработаны ВНИИПрБ.

В соответствии с ГОСТ 5964—82 качество спирта оценивают по величине оптической плотности у исследу-

емых растворов, что соответствует стандартным нормативам на содержание соответствующей примеси в спирте.

Для определения содержания альдегидов в спирте и водке во ВНИИПрБ была разработана расчетная формула. Для количественного анализа сложных эфиров, сивушного масла, метилового спирта необходимо строить градуировочный график по стандартным (типовым) растворам в соответствии с правилами фотометрии.

Содержание сивушного масла в водке определяют в водно-спиртовом растворе с содержанием спирта 40 об. %. Водку, крепостью более 40 %, разбавляют до нужной концентрации как указано в табл. 20.

Водку, содержащую различные добавки, предварительно перед проведением анализа подвергают перегонке по ГОСТ 5363—82 п. 2.8.3. В дистилляте определяют содержание сивушного масла.

Методы определения альдегидов, сивушного масла, метилового спирта, сложных эфиров в спирте основаны на колориметрическом измерении интенсивности окрасок, образующихся в результате реакции указанных примесей со специфическими реактивами.

20. Нормативы величин оптической плотности для оценки качества водок, установленные ГОСТ 5363—82

Определяемая примесь	Водка, приготовленная на спирте «Экстра»	Водка, приготовленная на спирте высшей очистки
Сивушное масло	0,285	0,300
Сложные эфиры	0,097	0,115
Метиловый спирт	0,160	0,200

Определение содержания альдегидов

Метод основан на измерении оптической плотности испытуемого раствора после реакции присутствующих в испытуемом спирте альдегидов с фуксинсернистой кислотой.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; секундомер; ареометры стеклянные; ареометры для спирта; спиртомеры металлические типа А контрольные; термометры с ценой деления 0,1 и 0,5 °С; весы лабораторные; колбы 2—100—1 и 2—200—1; колбы Кн-100; цилиндры 1 (2) — 50 и 1 (2) — 100. Цилиндры стеклянные для ареометров; бюретка 1—2—50—0,1; пипетки 4—1—1, 4—1—2, 6—1—5, 6—1—10 и 6—1—20; пробирки на 45 см³ с пришлифованными пробками; стаканчики для взвешивания (бюксы); воронки; колба из темного стекла с пришлифованной пробкой на 1 дм³; ступка фарфоровая с пестиком; водяная баня или ультратермостат;

стеклянные палочки; бумага фильтровальная; часовые стекла; кислота серная; кислота уксусная; 2 %-ный раствор; натрия гидроксид (раствор NaOH концентрацией 0,1 моль/дм³); фуксин основной, чистый для анализа (ч. д. а) для фуксинсернистой кислоты натрия пиросульфит ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$); фенолфталеин; спиртовой 1 %-ный раствор; вода дистиллированная.

Подготовка к испытанию. Приготовление фуксинсернистого реактива. Взвешивают 0,22 г основного фуксина, с погрешностью не более 0,0002 г, растирают в фарфоровой ступке в 5—6 каплями холодной дистиллированной воды до образования однородной массы. Затем добавляют 20—30 см³ дистиллированной воды температурой 95—98 °С и смесь без потерь переносят в мерную колбу на 200 см³, обмывая пестик и ступку горячей дистиллированной водой. Объем жидкости в колбе не должен превышать 120—150 см³. Содержимое колбы перемешивают, добиваясь растворения фуксина, и помещают в кипящую водяную баню на 1 ч. Затем раствор охлаждают до 20 °С, доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Полученный раствор переливают в склянку из темного стекла с пришлифованной пробкой на 400 см³ и смешивают с 20 см³ раствора пиросульфита натрия (плотность 1,290 г/см³) и 3 см³ концентрированной серной кислоты (плотность 1,830 г/см³). Приготовленный реактив выдерживают 12 ч при 8—10 °С для более полного насыщения SO_2 . Срок хранения реактива — 2 мес.

Приготовление раствора пиросульфита натрия. Взвешивают 40 г пиросульфита натрия с погрешностью не более 0,01 г, помещают в мерную колбу на 100 см³ с пришлифованной пробкой, приливают 40 см³ дистиллированной воды и содержимое выдерживают в течение 5—6 ч при комнатной температуре для более полного растворения пиросульфита натрия.

Насыщенный раствор отфильтровывают через бумажный складчатый фильтр на воронке, прикрытой часовым стеклом. Фильтрат собирают в цилиндр вместимостью 100 см³, доводят его плотность до 1,290 г/см³ дистиллированной водой и переливают в склянку с пришлифованной пробкой. Раствор пиросульфита натрия готовят непосредственно перед его использованием.

Приготовление 2 %-ного раствора уксусной кислоты. В мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 100 см³ помещают 2 см³ концентрированной уксусной кислоты, доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают.

В коническую колбу на 100 см³ помещают 10 см³ полученного раствора уксусной кислоты, добавляют 30—50 см³ дис-

тиллированной воды и определяют концентрацию этого раствора путем титрования раствором гидроксида натрия концентрацией 0,1 моль/дм³ в присутствии фенолфталеина.

На титрование 10 см³ 2 %-ного раствора уксусной кислоты должно пойти 33,3 см³ раствора гидроксида натрия. При отклонении от указанного количества в сторону уменьшения или увеличения добавляют к раствору по каплям соответственно концентрированную уксусную кислоту или дистиллированную воду.

Приготовление испытуемых водно-спиртовых растворов. Содержание альдегидов в ректификованном спирте определяют в водно-спиртовом растворе с концентрацией спирта 40 об. %, поэтому непосредственно перед определением ректификованный спирт разбавляют дистиллированной водой до указанной концентрации при 20 °С.

Объем исходного спирта, который необходимо смешать с дистиллированной водой, чтобы получить необходимый объем водно-спиртового раствора, вычисляют по формуле

$$V = V_1 x / C_1,$$

где V — объем, который необходимо приготовить, см³; x — необходимая концентрация водно-спиртового раствора, об. %; C_1 — исходная концентрация, об. %.

Концентрацию полученного водно-спиртового раствора измеряют спиртомером в цилиндре на 500 см³ при температуре 20 °С. Содержание альдегидов в этиловом спирте-сырце определяют в разбавленном водно-спиртовом растворе. Спирт-сырец разбавляют дистиллированной водой при температуре 20 °С до концентрации 40 % вышеописанным способом. Затем полученный водно-спиртовый раствор разбавляют в пять раз ректификованным спиртом «Экстра». Для этого 20 см³ испытуемого водно-спиртового раствора с концентрацией спирта 40 % помещают в мерную колбу на 100 см³ и доводят объем до метки ректификованным спиртом «Экстра» при температуре 20 °С.

Проведение испытания. Для анализа ректификованного спирта и спирта-сырца 20 см³ испытуемого водно-спиртового раствора вносят в пробирку с пришлифованной пробкой, добавляют 1 см³ 2 %-ного раствора уксусной кислоты. Пробирку закрывают пробкой и содержимое тщательно перемешивают. К раствору добавляют 2 см³ фуксинсернистого реактива, содержимое снова перемешивают в течение 10 с и помещают на водяную баню температурой 20 °С на 30 мин.

В результате проведенной реакции образуется комплексное соединение красно-фиолетовой окраски, интенсивность которой измеряют фотоколориметром.

Оптическую плотность испытуемого раствора спирта-сырца, полученную после реакции альдегидов с фуксинсернистым реактивом, измеряют фотоколориметром при длине световой волны 536 нм в кювете с шириной рабочей грани 1 мм в сравнении с дистиллированной водой. Измерение растворов ректификованного спирта проводят в кюветах с шириной рабочей грани 50 мм при светофильтре с длиной световой волны 536 нм в сравнении с дистиллированной водой.

Полученные после колориметрирования результаты не должны превышать предельно допустимые значения оптических плотностей, установленные для каждого сорта спирта и указанные ниже.

Сорт спирта	Предельно допустимые значения оптической плотности, не более
Экстра	0,145
Высшей очистки и 95 %-ный питьевой	0,255
I сорта	0,635
Спирт-сырец, выработанный из зерна и картофеля или смеси зерна, картофеля, сахарной свеклы и мелассы	0,240
Спирт-сырец, выработанный из мелассы	0,450

В случае необходимости количественного анализа, содержание альдегидов в спирте определяют по уравнению

$$C = 15,380D + 0,308,$$

где C — содержание альдегидов в пересчете на уксусный альдегид, мг/см³ безводного спирта; 15,380 и 0,308 — коэффициенты, найденные экспериментально путем изучения зависимости оптических плотностей реакционных сред от содержания альдегидов в спирте; D — оптическая плотность раствора, полученная после реакции исследуемого спирта с фуксинсернистым реактивом.

Пример. Для анализа взят спирт «Экстра», который разбавили до 40 об. %. С данным спиртом провели реакцию с фуксинсернистым реактивом. Оптическая плотность реакционной смеси составила — 0,105 г/см³, поэтому спирт является кондиционным.

Содержание альдегидов в спирте: $C = 15,38 \cdot 0,105 + 0,308 = 1,92$ мг/см³ в пересчете на уксусный альдегид.

Превышение указанных пределов оптических плотностей свидетельствует о наличии сверхнормативного количества альдегидов. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух парал-

тельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать $\pm 5\%$ относительно среднего значения при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Определение содержания сивушного масла

Метод основан на измерении оптической плотности испытуемого раствора после реакции присутствующего в испытуемом спирте сивушного масла с раствором парадиметиламинобензальдегида в концентрированной серной кислоте.

Аппаратура, материалы, реактивы: ареометры для спирта; спиртомеры металлические типы А, контрольные; термометры с ценой деления 0,1 и 0,5 °С; весы аналитические; фотоколориметр; секундомер; водяная баня; колбы 2—50—2, 2—100—2 и 2—250—2; колба Кн-100; цилиндр 1—100; цилиндры стеклянные для ареометров; бюретки 1—2—50—0,1; пипетки 4—1—1, 4—1—2, 6—1—5 и 6—1—1; пробирки вместимостью 20 см³ с шлифованными пробками; стаканчики для взвешивания (бюксы); склянки с шлифованными пробками вместимостью 100 см³; стеклянные палочки; шпатель; штатив металлический; штативы для пробирок; кислота серная, химически чистая; парадиметиламинобензальдегид (П-ДАБ) химически чистый; раствор с концентрацией П-ДАБ 0,4 в 100 см³ серной кислоты; дихромат калия; вода дистиллированная.

Подготовка к испытанию. Приготовление раствора с концентрацией парадиметиламинобензальдегида (П-ДАБ) 0,4 г в 100 см³ серной кислоты. Берут 0,4 г П-ДАБ, взвешенного с погрешностью не более 0,0002 г, растворяют в мерной колбе на 100 см³ в 40—50 см³ серной кислоты, доводят объем до метки той же кислотой и перемешивают. Приготовленный раствор хранят в холодильнике не более 7 дней.

Приготовление основного раствора дихромата калия. Берут 0,15 г дихромата калия, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в мерной колбе на 100 см³ в 40—50 см³ дистиллированной воды, доводят объем до метки и перемешивают. Полученный раствор дихромата калия используют для приготовления эталонного раствора.

Приготовление эталонного раствора для анализа ректификованного спирта. Содержание сивушного масла в ректификованном спирте определяют в водно-спиртовом растворе с концентрацией спирта 40 об. %. Испытуемый спирт разбавляют до указанной концентрации так, как указано выше.

Берут 40 см³ основного раствора дихромата калия и помещают его в мерную колбу на 50 см³, затем объем доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Интенсивность ярко-желтой окраски полученного раствора измеряют на фотоколориметре при светофильтре с длиной световой волны 490 нм в кювете с шириной рабочей грани 5 мм в сравнении с дистиллированной водой. Оптическая плотность этого раствора должна быть 0,210.

При отклонении от указанного значения в сторону увеличения или уменьшения следует добавить соответственно к полученному раствору по каплям дистиллированную воду или основной раствор дихромата калия, добиваясь точного показания прибора. Раствор следует хранить в склянке с притертой пробкой вместимостью 50—100 см³, проверяя его оптическую плотность один раз в месяц.

Приготовление эталонного раствора для анализа спирта-сырца. Содержание сивушного масла в спирте-сырце определяют в водно-спиртовом растворе концентрацией 5 об. %. Испытуемый спирт-сырец разбавляют до указанной концентрации так, как указано выше. Затем отбирают 12 см³ основного раствора дихромата калия помещают его в мерную колбу на 100 см³, объем доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Интенсивность светло-желтой окраски полученного раствора измеряют на фотоколориметре при светофильтре с длиной световой волны 490 нм в кювете с шириной рабочей грани 5 мм в сравнении с дистиллированной водой. Оптическая плотность этого раствора должна быть равна 0,035. При отклонении от указанного значения поступают так, как указано выше.

Проведение испытания. Для проведения анализа ректифицированного спирта и спирта-сырца 10 см³ раствора П-ДАБ вносят в пробирку с притертой пробкой, осторожно по стенке пробирки приливают 1 см³ испытуемого водно-спиртового раствора с концентрацией спирта 40 об. % с таким расчетом, чтобы не происходило смешивания обеих жидкостей, а образовывалось два слоя.

Содержимое пробирки энергично перемешивают в течение 10 с и выдерживают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, отмечая время по секундомеру. Затем пробирки погружают в проточную холодную воду (или в водяную баню со льдом) для быстрого охлаждения реакционной смеси до температуры 20 °С. Интенсивность образовавшейся в результате реакции розовато-оранжевой окраски измеряют на фотоколориметре при светофильтре с длиной световой волны 490 нм в кювете с шириной рабочей грани 20 мм в сравнении с эталонным раствором, имеющим оптическую плотность 0,210.

Полученные после колориметрирования результаты не должны превышать предельно допустимые значения оптических плотностей, установленные для каждого сорта спирта и указанные ниже. Превышение указанных пределов оптических плотностей указывает на наличие сверхнормативного количества сивушного масла.

При работе на фотоколориметре, в котором отсутствуют светофильтры с длиной световой волны 490 нм, измерение следует проводить при тех светофильтрах, длина волны у которых близка к 490 нм.

При работе на фотоколориметре марки ФЭК-М используют светофильтры с длиной световой волны 530 нм. Оптическую плотность, полученную на этом приборе, следует умножить на поправочный коэффициент, равный 0,86. Результаты, полученные после умножения на поправочный коэффициент, позволят судить о количестве сивушного масла в испытуемом спирте при сравнении их с предельно допустимыми значениями оптических плотностей, указанными ниже.

Сорт спирта	Предельно допустимые значения оптических плотностей, не более
Экстра	0,285
Высшей очистки и 95 %-ный пищевой	0,300
I сорта	0,430
Спирт-сырец	0,475

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать $\pm 5\%$ относительно среднего значения при доверительной вероятности 0,95.

При анализе спирта-сырца оптическую плотность испытуемого водно-спиртового раствора измеряют на фотоколориметре при длине световой волны 490 нм в кювете с шириной рабочей грани 5 мм в сравнении с эталонным раствором, имеющим оптическую плотность, равную 0,035. Поправочный коэффициент для значений оптических плотностей, измеренных на фотоколориметре марки ФЭК-М, равен 1,8.

Определение содержания сложных эфиров

Метод основан на колориметрическом измерении интенсивности окраски, получаемой после реакции хлорида железа с гидроксамовой кислотой, образующейся в результате взаимодействия сложного эфира испытуемого спирта и гидроксилamina в щелочной среде.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; секундомер; шпатель; весы аналитические; стаканчики для взвешивания (бюксы); пипетки 6—1—5, 6—1—10 и 6—1—25; цилиндр 1—25; колбы КнКШ-25 и КнШ-50; колбы 1—500—2 и 1—1000—2; натрия гидроксид, раствор NaOH концентрацией 3,5 моль/дм³; гидроксилamin гидрохлорид; железа (III) хлорид; кислота соляная; раствор с соляной кислотой концентрацией 4 моль/дм³.

Подготовка к испытанию. Приготовление 2 М раствора гидрохлорид гидроксилamina. Отбирают 69,6 г гидрохлорид гидроксилamina, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в мерной колбе на 500 см³ в 200 см³ дистиллированной воды и доводят его объем до метки. Полученный раствор перемешивают и хранят в холодильнике.

Приготовление раствора соляной кислоты с концентрацией 4 моль/дм³. Отбирают 500 см³ дистиллированной воды, наливают в мерную колбу на 1 дм³, постепенно при непрерывном перемешивании приливают 333 см³ концентрированной соляной кислоты, тщательно перемешивают и охлаждают до 20 °С. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и снова перемешивают.

Приготовление раствора хлорида железа концентрацией 0,37 моль/дм³. Отбирают 50 г хлорида железа взвешенного с погрешностью не более 0,012, растворяют в 400 см³ дистиллированной воды, приливают 12,5 см³ раствора соляной кислоты и перемешивают. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и снова перемешивают. При хранении раствора может образоваться осадок, который необходимо отфильтровать.

Приготовление раствора гидроксида натрия концентрацией 3,5 моль/дм³. Отбирают 70 г гидроксида натрия, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в 400 см³ дистиллированной воды в мерной колбе на 500 см³, охлаждают до 20 °С, доводят объем полученного раствора до метки дистиллированной водой и снова перемешивают.

Приготовление раствора реакционной смеси. Готовят раствор реакционной смеси путем смешивания равных объемов раствора гидрохлорид гидроксид-амина и раствора гидроксида натрия, учитывая, что на проведение анализа одного образца испытуемого спирта расходуется 24 см³ смеси. Полученную смесь перемешивают и используют для анализа не позднее чем через 6 ч с момента приготовления.

Проведение испытания. Для анализа ректификованного спирта и спирта-сырца требуется приготовление испытуемых растворов А и Б.

Приготовление испытуемого раствора А. Отбирают 12 см³ реакционной смеси и помещают ее в коническую колбу на 50 см³, приливают 6 см³ испытуемого спирта, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 1,5—2 мин. Затем приливают 6 см³ раствора соляной кислоты, перемешивают, добавляют 6 см³ раствора хлорида железа и непрерывно помешивают в течение 1 мин, отмечая время по секундомеру.

Интенсивность образовавшейся окраски измеряют в течение 3 или 4 мин. Измерение проводят на колориметре при свето-фильтре с длиной световой волны 540 нм в кювете с шириной рабочей грани 50 мм в сравнении с дистиллированной водой.

Приготовление испытуемого раствора Б. Отбирают 12 см³ реакционной смеси и помещают в коническую колбу на 50 см³, приливают 6 см³ раствора соляной кислоты, перемешивают, добавляют 6 см³ испытуемого спирта, снова перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 1,5—2 мин. Затем приливают 6 см³ раствора хлорида железа и непрерывно помешивают в течение 1 мин, отмечая время по секундомеру.

Интенсивность образовавшейся окраски измеряют выше-описанным способом.

Полученные значения оптических плотностей используют для определения расчетного значения оптической плотности, по которой судят о количестве сложных эфиров.

Расчетное значение оптической плотности вычисляют по формуле

$$D_{\text{расч}} = D_A - D_B,$$

где D_A , D_B — оптические плотности соответственно испытуемых растворов А и Б.

Полученные после колориметрирования результаты не должны превышать предельно допустимые значения оптических плотностей, установленные для каждого сорта спирта и указанные ниже.

Сорт спирта	Предельно допустимые значения оптических плотностей не более
Экстра	0,245
Высшей очистки и 95 %-ный питьевой	0,295
I сорта	0,495
Спирт-сырец, выработанный из зерна и картофеля или смеси зерна, картофеля, сахарной свеклы и мелассы	0,435
Спирт-сырец, выработанный из мелассы	0,605

Примечание. Оптическую плотность ректифицированного спирта измеряют в кювете с шириной рабочей грани 50 мм, а спирта-сырца — 5 мм.

Превышение указанных пределов значений оптических плотностей свидетельствует о наличии сверхнормативного количества сложных эфиров. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать $\pm 5\%$ относительно среднего значения при доверительной вероятности 0,95.

Анализ спирта-сырца проводят в водно-спиртовом растворе, как указано выше. Интенсивность окраски испытуемого раствора А измеряют фотоколориметром при светофильтре с длиной световой волны 540 нм в кювете с шириной рабочей грани 5 мм в сравнении с испытуемым раствором Б, а не с дистиллированной водой.

По полученному значению оптической плотности определяют количество сложных эфиров в испытуемом образце спирта-сырца, сравнивая его с предельно допустимым значением оптической плотности, указанным выше.

Определение содержания метилового спирта

Метод основан на колориметрическом измерении интенсивности окраски, получаемой после взаимодействия фуксинсернистой кислоты с формальдегидом, образующимся в результате реакции окисления метилового спирта, содержащегося в испытуемом спирте, перманганатом калия.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; секундомер; термометры с ценой деления 0,1 и 0,5 °С; ареометры стеклянные; весы аналитические; ступка фарфоровая с пестиком; стеклянные палочки; водяная баня; шпатель; часовое стекло; колбы 1—100—2 и 1—500—2; цилиндры 1—50 и 1—100; бюретка 1—2—25—0,1; пипетки 4—1—1,

6—1—5, 6—1—10 и 6—1—15; стакан фарфоровый на 250 см³; пробирки с шлифованными пробками вместимостью 20 см³; стаканчики для взвешивания (бюксы); склянки из темного стекла вместимостью 600 см³ с шлифованными пробками; бумага фильтровальная; кислота серная; кислота щавелевая химически чистая; насыщенный раствор; кислота уксусная, 1 %-ный раствор; фуксин основной, ч. д. а для фуксинсернистой кислоты; натрия пиросульфит, насыщенный раствор; калия перманганат, 1 %-ный раствор натрия гидроксид, раствор с концентрацией (NaOH), 1 моль/дм³; фенолфталеин (индикатор), 1 %-ный спиртовой раствор; вода дистиллированная.

Подготовка к испытанию. Приготовление фуксинсернистого реактива. Отбирают 0,55 г основного фуксина, взвешенного с погрешностью не более 0,0001 г, растирают в фарфоровой ступке с 5—6 каплями холодной воды до образования однородной массы. Затем добавляют 50 см³ горячей дистиллированной воды температурой 95—98 °С и смесь без потерь переносят в мерную колбу на 500 см³, обмывая пестик и ступку горячей водой.

Объем жидкости в колбе не должен превышать 200 см³. Содержимое колбы перемешивают до растворения фуксина и помещают на кипящую водяную баню на 1 ч. Затем раствор охлаждают до 20 °С, доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Полученный раствор переливают в склянку из темного стекла с шлифованной пробкой на 600 см³ и смешивают с 12,5 см³ раствора пиросульфита натрия (плотность 1,260 г/см³) и 2,5 см³ концентрированной серной кислоты (плотность 1,830 г/см³). Полученный реактив выдерживают в течение 24 ч при температуре 8—10 °С для более полного насыщения SO₂. Срок хранения реактива — 2 мес.

Приготовление раствора пиросульфита натрия. Отбирают 40 г пиросульфита натрия, взвешивают с погрешностью не более 0,01 г, помещают в мерную колбу на 100 см³ с шлифованной пробкой, приливают 40 см³ дистиллированной воды и содержимое колбы выдерживают в течение 5—6 ч при комнатной температуре для более полного растворения пиросульфита натрия. Насыщенный раствор отфильтровывают через бумажный складчатый фильтр на воронке, прикрытой часовым стеклом. Фильтрат собирают в цилиндр вместимостью 100 см³ и доводят его плотность дистиллированной водой до 1,260 г/см³.

Раствор пиросульфита натрия готовят непосредственно перед его использованием. Реактив следует хранить в склянке с шлифованной пробкой.

Приготовление 1 %-ного раствора перманганата калия (KMnO_4). Отбирают 5 г перманганата калия, взвешивают с погрешностью не более 0,002 г, растворяют в 100—150 см³ дистиллированной воды в мерной колбе на 500 см³, доводят объем раствора до метки водой и перемешивают.

Полученный раствор переносят в склянку из темного стекла с пришлифованной пробкой и используют для анализа не ранее чем через 2 сут.

Приготовление насыщенного раствора щавелевой кислоты. Отбирают 10 г щавелевой кислоты, взвешивают с погрешностью не более 0,01 г, помещают в мерную колбу на 100 см³ с пришлифованной пробкой, доливают до метки дистиллированной водой и выдерживают при комнатной температуре не менее 24 ч для достижения полного насыщения. Затем раствор фильтруют через бумажный складчатый фильтр, фильтрат собирают и хранят в склянке с пришлифованной пробкой.

Приготовление 1 %-ного раствора уксусной кислоты. Отбирают 1 см³ концентрированной уксусной кислоты и вносят его в мерную колбу на 100 см³, доливают дистиллированной водой до метки. Раствор перемешивают и определяют его концентрацию. Для этого 10 см³ полученного раствора помещают в коническую колбу на 100 см³ и титруют раствором гидроксида натрия концентрацией 0,1 моль/дм³ в присутствии фенолфталеина.

На титрование 10 см³ раствора с массовой долей уксусной кислоты 1 % расходуется 17,5 см³ раствора гидроксида натрия концентрацией 0,1 моль/дм³.

При отклонении от указанного значения в сторону уменьшения или увеличения следует добавить к приготовленному раствору по каплям соответственно концентрированную уксусную кислоту или дистиллированную воду, добиваясь точного количества расходуемого раствора гидроксида натрия.

Проведение испытания. Для анализа ректификованного спирта и спирта-сырца отбирают 1 см³ испытуемого спирта, вносят его в пробирку с пришлифованной пробкой, добавляют 5 см³ 1 %-ного раствора перманганата калия и 0,4 см³ серной кислоты, разбавленной дистиллированной водой в соотношении 1:1. Содержимое пробирки перемешивают и ровно через 3 мин приливают 1 см³ насыщенного раствора щавелевой кислоты при помешивании.

Когда жидкость приобретает светло-желтую окраску, к ней приливают 1 см³ концентрированной серной кислоты, перемешивают и добавляют 1 см³ 1 %-ного раствора уксусной кислоты. Смесь снова перемешивают, добавляют 5 см³

фуксинсернистого реактива и выдерживают на водяной бане при 20 °С в течение 30 мин.

Реакционная смесь приобретает серо-голубую окраску, интенсивность которой измеряют на фотоколориметре при свето-фильтре с длиной световой волны 582 нм в кювете с шириной рабочей грани 30 мм в сравнении с дистиллированной водой.

Полученные после колориметрирования результаты не должны превышать предельно допустимые значения оптических плотностей, установленные для каждого сорта спирта и указанные ниже.

Сорт спирта	Предельно допустимые значения оптических плотностей, не более
Экстра	0,350
Высшей очистки и I сорта, 95 %-ный питьевой	0,400
Спирт-сырец, выработанный из зерно-картофельного сырья	0,550

В ректификованном спирте и спирте-сырце, выработанных из сахаросодержащего сырья, содержание метилового спирта не определяют. Превышение указанных предельно допустимых значений оптических плотностей свидетельствует о наличии сверхнормативного количества метилового спирта.

При работе на фотоколориметре марки ФЭК-М проводят испытание при светофильтре с длиной световой волны 590 нм. Полученное значение оптической плотности следует умножить на поправочный коэффициент, равный 1,34. По результатам, полученным после умножения на поправочный коэффициент, определяют количество метилового спирта.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦВЕТА ЛИКЕРО-ВОДОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Фотоколориметрический метод определения цвета ликеро-водочных изделий разработан во ВНИИПрБ и включен в ГОСТ 4828—83.

В испытуемом изделии измеряют оптическую плотность и сравнивают ее с экспериментально установленной величиной оптической плотности, характеризующей цвет ликеро-водочных изделий.

Аппаратура, материалы, реактивы: фотоколориметр; колбы 2—1000—2, 2—100—2; пипетки 6—1—10, 7—1—5; термометры ртутные стеклянные лабораторные с ценой деления 0,1 и 0,5 °С; вода дистиллированная; йод.

Подготовка к испытанию. Приготовление раствора йода концентрацией 0,001 моль/дм³ из фиксана йода концентрацией 0,1 моль/дм³. Берут указанное количество фиксана йода и переносят в мерную колбу на 1 дм³. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Отбирают 1 см³ раствора, переносят в мерную колбу на 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Определение поправочного коэффициента. При определении цвета ликеро-водочных изделий пределы оптических плотностей были установлены на фотоколориметре марки ФЭК-Н-57. Определяют поправочный коэффициент фотоколориметра. Для этой цели раствор йода с концентрацией 0,001 моль/дм³ наливают в кювету с расстоянием между рабочими гранями 5 мм и измеряют его оптическую плотность при светофильтре с длиной световой волны 413 нм или близкой к ней. В качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду. Оптическая плотность данного раствора должна быть 0,400. Если оптическая плотность раствора будет иная, определяют поправочный коэффициент:

$$K = 0,400/D,$$

где 0,400 — оптическая плотность раствора йода с концентрацией 0,001 моль/дм³, полученная на фотоколориметре марки ФЭК-Н-57; D — оптическая плотность раствора йода концентрацией 0,001 моль/дм³, полученная на имеющемся фотоколориметре.

Поправочный коэффициент устанавливают для каждого фотоколориметра, а также периодически в процессе эксплуатации.

Проведение испытания. Перед проведением испытаний по табл. 21 находят наименование испытуемого изделия, размер кюветы и длину световой волны, при которых следует проводить колориметрирование. Изделие наливают в кювету и измеряют три раза оптическую плотность. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов трех параллельных определений допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,01 % оптической плотности. В качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду.

Обработка результатов. Если оптическая плотность раствора йода 4,000, то полученное значение оптической плотности сравнивают с предельно допустимыми значениями оптических плотностей, указанных в табл. 21.

Если оптическая плотность йода не соответствует оптической плотности 0,400, то полученное ее значение умножают

21. Пределы оптических плотностей для определения цвета ликеро-водочных изделий

Наименование	Длина рабочей граны кюветы, мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Ликеры крепкие					
Алмаз	10	—	0,320—0,370	—	—
Апельсиновый	3	—	0,250—0,310	—	—
Бенедиктин	5	—	0,300—0,350	—	—
Бочю	1	—	0,600—0,800	—	—
Крупникас	3	—	0,160—0,180	—	—
Кянну-Кухк	1	—	—	0,380— 0,450	—
Мятный	10	—	—	—	0,440— 0,480
Папараць кветка	1	—	0,250—0,310	—	—
Розмарин	3	—	0,310—0,380	—	—
Старый Таллин	1	—	Не менее 0,540	—	—
Фантазия	1	—	—	—	Не менее 0,180
Шартрез	10	—	—	—	0,400— 0,500
Южный	5	—	0,260—0,320	—	—
Ликеры десертные					
Абрикосовый	3	—	Не менее 0,180	—	—
Алычевый	3	—	0,420—0,450	—	—
Ванильный	3	—	0,500—0,600	—	—
Вишневый	3	—	—	Не менее 0,460	—
Дружеский	3	—	Не менее 0,320	—	—
Жагаровишня	3	—	Не менее 0,430	—	—
Колхида	10	—	0,200—0,280	—	—
Кофейный	1	—	Не менее 0,320	—	—
Кизилловый	3	—	0,200—0,250	—	—
Лимонный	5	—	0,300—0,340	—	—
Львовский	3	—	Не менее 0,380	—	—
Юбилейный	5	—	Не менее 0,180	—	—
Мокко	3	—	0,600—0,800	—	—
Молдавская вишня	3	—	—	Не менее 0,400	—

Наименование	Длина рабочей части цветка, мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Новогодний	5	—	Не менее 0,200	—	—
Нектар	3	—	Не менее 0,290	—	—
Облепиховый	3	—	0,390—0,440	—	—
Роза	3	—	0,180—0,250	—	—
Розовый	5	—	—	0,420— 0,500	—
Шоколадный	3	—	0,750—0,850	—	—
Черносмородиновый	3	—	Не менее 0,730	—	—
Утро Байкальское	3	0,280— 0,330	—	—	—
Кремы					
Абрикосовый	3	—	Не менее 0,160	—	—
Вишневый	3	—	—	Не менее 0,460	—
Кизиловый	3	—	0,400—0,420	—	—
Малиновый	3	—	Не менее 0,160	—	—
Рябиновый	5	—	—	0,310— 0,370	—
Черносмородиновый	3	—	Не менее 0,720	—	—
Шоколадный	3	—	0,800—0,900	—	—
Яблочный	3	—	Не менее 0,150	—	—
Наливки					
Айвовая	5	—	0,120—0,160	—	—
Алычевая	5	—	0,240—0,300	—	—
Белорусская	3	—	Не менее 0,350	—	—
Вишневая	3	—	—	Не менее 0,450	—
Десертная	1	—	0,140—0,250	—	—
Запеканка	1	—	Не менее 0,290	—	—
Запеканка украинская	1	—	0,260—0,340	—	—
Золотая осень	5	—	0,230—0,350	—	—
Кизиловая	5	—	—	0,200— 0,280	—

Наименование	Длина рабочей грани ювелир. мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Клубничная	5	—	—	Не менее 0,300	—
Курортная	3	—	Не менее 0,140	—	—
Малиновая	3	—	Не менее 0,290	—	—
Майская	3	—	Не менее 0,320	—	—
Минский десерт	3	—	—	Не менее 0,430	—
Северная	3	—	—	0,220—0,330	—
Сливянка	3	—	—	Не менее 0,470	—
Сливянка украинская	3	Не менее 0,440	—	—	—
Спотыкач	1	—	Не менее 0,300	—	—
Спотыкач украинский	1	—	0,260—0,340	—	—
Украинская вишневая	1	—	—	Не менее 0,370	—
Черносмородиновая	3	—	Не менее 0,680	—	—
П у н ш и					
Айвовый	1	—	0,350—0,400	—	—
Алычевый	5	—	Не менее 0,380	—	—
Апельсиновый	3	—	0,180—0,200	—	—
Винный	5	0,350—0,390	—	—	—
Вишневый	1	—	—	Не менее 0,340	—
Жигулевский	10	—	Не менее 0,370	—	—
Коньячный	5	—	0,350—0,380	—	—
Кубанский	3	—	Не менее 0,300	—	—
Полесский	3	—	Не менее 0,590	—	—
Майга	5	0,400—0,500	—	—	—
Малиновый	3	—	Не менее 0,290	—	—
Сливовый	3	—	Не менее 0,500	—	—

Наименование	Длина рабочей гранн кофеты, мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Черносмородиновый	1	—	—	0,450— 0,600	—
Яблочный	5	—	Не менее 0,240	—	—
Настойки сладкие					
Абрикосовая	5	—	0,400—0,500	—	—
Алтайская черноплодная	1	—	—	0,300— 0,400	—
Вишневая	3	—	—	Не менее 0,330	—
Голубичная	3	—	Не менее 0,430	—	—
Дар осени	5	—	Не менее 0,230	2	2
Лимонная	20	—	Не менее 0,210	—	—
Нежинская рябина	5	—	0,660—0,700	—	—
Нежная	3	—	Не менее 0,240	—	—
Облепиховая	3	—	0,130—0,180	—	—
Рябиновая на коньяке	5	—	0,640—0,720	—	—
Черри	3	—	0,280—0,380	—	—
Черемуховая	3	—	Не менее 0,400	—	—
Янтарь	3	—	0,200—0,220	—	—
Настойки полусладкие					
Алеся	3	—	0,550—0,600	—	—
Восточная	5	—	0,240—0,290	—	—
Дайнава	3	—	0,640—0,720	—	—
Лесная сказка	3	—	0,450—0,520	—	—
Ранет перцовый	3	0,420— 0,500	—	—	—
Паланга	3	—	0,600—0,670	—	—
Рябинка	3	—	0,200—0,380	—	—
Суздальская	5	0,320— 0,360	—	—	—
Южная	5	0,250— 0,280	—	—	—
Напитки десертные					
Вишневка	3	—	Не менее 0,500	—	—

Наименование	Длина рабочей части концы, мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Вишневый	3	—	—	Не менее 0,270	—
Желтые листья	3	—	Не менее 0,240	—	—
Лада	5	—	Не менее 0,230	—	—
Летний десерт	3	—	Не менее 0,420	—	—
Золотистый	10	—	Не менее 0,570	—	—
Клюковка	3	—	—	Не менее 0,750	—
Освежающий	5	—	0,230—0,280	—	—
Рубиновый	3	—	Не менее 0,480	—	—
Тейка	3	—	—	Не менее 0,400	—
Яблочко	5	—	Не менее 0,240	—	—
Яблочный Орловский	5	—	0,260—0,310	—	—
Уральский	3	—	—	Не менее 0,440	—
Аперитивы					
Агнес	1	—	Не менее 0,680	—	—
Габриэль	1	—	Не менее 0,680	—	—
Кларет	5	0,250— 0,300	—	—	—
Кунгла	5	0,400— 0,550	—	—	—
Иртыш	3	—	—	Не менее 0,340	—
Новость	3	—	Не менее 0,280	—	—
Невский	10	—	0,630—0,680	—	—
Нектар	5	0,260— 0,310	—	—	—
Медя	3	—	0,240—0,280	—	—
Морской	5	0,250— 0,300	—	—	—
Минск	5	—	—	0,400— 0,470	—
Рига	5	—	Не менее 0,440	—	—

Наименование	Длина рабочей части цветка, мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Степной	5	0,230— 0,270	—	—	—
Сюрприз	5	—	Не менее 0,380	—	—
Утес	3	—	Не менее 0,170	—	—
Цитрусовый	10	0,260— 0,350	—	—	—
Оригинальный	3	—	0,130—0,190	—	—
Настойки горькие					
Адмиралтейская	5	—	0,550—0,600	—	—
Беловежская	3	—	0,700—0,800	—	—
Вильяк	3	0,430— 0,480	—	—	—
Волжская особая	3	0,140— 0,190	—	—	—
Горная	3	—	0,230—0,250	—	—
Горный дубняк	3	—	0,140—0,160	—	—
Двинтар дэидрайо	10	—	0,400—0,450	—	—
Донская стременная	5	—	0,300—0,320	—	—
Житомирская ароматная	5	—	0,300—0,320	—	—
Звездику	3	—	0,170—0,260	—	—
Зверобой	3	—	0,220—0,270	—	—
Золотой рог	3	—	Не менее 0,600	—	—
Зубровка	3	—	Не менее 0,150	—	—
Ерофенч	5	0,250— 0,320	—	—	—
Кедровка	3	—	Не менее 0,200	—	—
Киевская ароматная	5	—	Не менее 0,260	—	—
Казачья	5	—	0,260—0,440	—	—
Ласите	5	—	0,520—0,570	—	—
Лимонная	10	—	0,240—0,290	—	—
Листопад	3	—	0,220—0,250	—	—
Мелиховская	3	—	0,270—0,350	—	—
Омская горькая	3	—	0,350—0,400	—	—
Охотничья	3	—	0,400—0,500	—	—
Перцовка	3	—	0,450—0,600	—	—
Переяславская	10	—	0,430—0,480	—	—
Петровская	3	—	0,280—0,340	—	—
Полесская особая	3	—	0,300—0,360	—	—

Наименование	Длина рабочей грани ювелир., мм	Пределы оптических плотностей при λ , нм			
		400	413	536	610
Ром советский	3	0,140— 0,180	—	—	—
Славутич	10	—	0,480—0,540	—	—
Старка	3	—	0,300—0,350	—	—
Смеричка	10	—	—	—	0,130— 0,140
Сурхан	3	—	0,140—0,180	—	—
Старокиевская	10	0,350— 0,380	—	—	—
Треес девинеринос	3	—	0,280—0,300	—	—
Украинская с перцем	10	—	0,330—0,380	—	—
Украинская степная	5	—	0,220—0,280	—	—
Юбилейная особая	3	—	0,180—0,220	—	—
Черниговская	5	—	0,220—0,270	—	—
Яремча	5	—	Не менее 0,350	—	—
Коктейли					
Диско	5	—	0,500—0,600	—	—
Рубин	3	—	—	0,700— 0,750	—
Изумруд	3	—	—	—	0,350— 0,400
Огонек	1	—	0,550—0,600	—	—
Ангара	5	—	0,300—0,350	—	—
Три апельсина	5	—	0,300—0,400	—	—

на установленный поправочный коэффициент и находят приведенную величину оптической плотности по формуле

$$D_{\text{прив}} = D_{\text{изд}} K,$$

где $D_{\text{изд}}$ — оптическая плотность испытуемого изделия; K — поправочный коэффициент.

Затем полученное значение оптической плотности сравнивают с предельно допустимыми значениями оптических плотностей.

Изделие считается соответствующим требованиям нормативно-технической документации по цвету, если полученные результаты соответствуют предельно допустимому значению оптической плотности, указанному в табл. 21.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ

Спектрофотометрия отличается высокой чувствительностью, воспроизводимостью, избирательностью, простотой выполнения измерения, возможностью автоматизации аппаратуры, благодаря чему является одним из перспективных методов анализа в контроле бродильных производств.

Спектрофотометрия основана на измерении поглощения света при строго определенной длине волны (мономатическое излучение), которое соответствует максимуму поглощения данного соединения в В-УФ- или ИКС-области спектра.

В спектрофотометрии используются те же законы светопоглощения, что и в фотоколориметрии. В связи с тем что в спектрофотометрии используется не полихроматический, а мономатический свет, т. е. узкий интервал длин волн — 1—2 нм, она имеет следующие преимущества по сравнению с фотоколориметрией: анализ, проводимый в узкой области оптимального светопоглощения, значительно увеличивает чувствительность и точность количественного определения, применима как для анализа одного вещества, так и для анализа систем, содержащих несколько поглощающих свет и химически не взаимодействующих друг с другом компонентов; позволяет анализировать как окрашенные, так и бесцветные растворы; дает возможность охватить более широкий диапазон длин волн, благодаря чему измерения проводят с большей точностью; позволяет широко исследовать качественный состав и химическое строение различных соединений.

ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕКТРОФОТОМЕТРОВ

Для спектрофотометрических измерений в УФ-, и В-областях применяется два типа приборов — нерегистрирующие и регистрирующие. Широкое распространение получили нерегистрирующие спектрофотометры, в которых результат наблюдают на шкале прибора визуально. Эти приборы имеют одинаковую оптическую схему, но несколько различаются электрическими схемами и методикой измерений.

Спектрофотометр включает мономатризатор для получения мономатического света и фотометр для измерения оптической плотности. Мономатризатор состоит из источника света и диспергирующего устройства. Наиболее часто источником света служит лампа накаливания с вольфрамовой нитью, излучающая свет в области длин волн 340—1100 нм. Этот

источник света позволяет работать в ближней УФ-, В-, а также в ближней ИК-областях спектра. Для измерений в УФ-области спектра с длиной световой волны 186—350 нм применяют разрядную дейтериевую лампу. Важно, чтобы источник света давал непрерывный спектр по всей спектральной области, тогда с помощью диспергирующего устройства можно выделить любой нужный участок спектра.

Для разложения света применяются стеклянные и кварцевые призмы, а также дифракционные решетки. Призмы об-

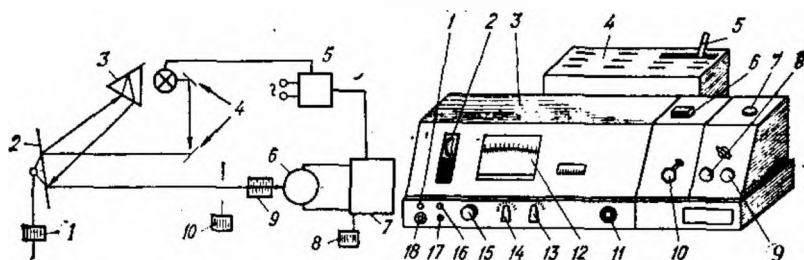


Рис. 27. Схема УФ-спектрофотометра:

1 — ручка установки длины волн; 2 — поворачивающееся зеркало; 3 — призма; 4 — зеркало; 5 — стабилизатор; 6 — фотоэлемент; 7 — усилитель; 8 — ручка установки отсчетного потенциометра; 9 — кювета; 10 — ручка установки ширины щели.

Рис. 28. Общий вид спектрофотометра марки СФ-26:

1 — сигнальная лампа включения в «сеть»; 2 — шкала длины волн; 3 — корпус монохроматора; 4 — стабилизатор с источником излучения; 5 — рукоятка переключения зеркального конденсора; 6 — крышка кюветной камеры; 7 — рукоятка переключения фотоэлемента; 8 — рукоятка шторки; 9 — рукоятка компенсации темнового тока; 10 — рукоятка перемещения каретки с образцами; 11 — рукоятка раскрытия щели; 12 — намерительный прибор; 13 — рукоятка «отсчет»; 14 — рукоятка компенсации; 15 — рукоятка шкалы длин волн; 16 — сигнальная лампа включения дейтериевой лампы; 17 — сигнальная лампа включения лампы накаливания; 18 — тумблер «сеть».

ладают довольно высокой дисперсией и большой светосилой. Кварцевые призмы дают возможность работать в ультрафиолетовой области спектра. Важной деталью спектрофотометра является щель, с помощью которой можно регулировать интенсивность светового потока: чем меньше раскрытие щели, тем меньше света проходит через нее и тем уже интервал длин волн светового пучка.

Фотометр состоит из вакуумных фотоэлементов, усилителя постоянного тока и компенсирующего устройства (потенциометра), шкала которого градуирована в единицах оптической плотности в процентах светопропускания.

Схема УФ-спектрофотометра показана на рис. 27, а на рис. 28 и 29 приведен общий вид СФ-26 и СФ-16. Характеристика рабочей области длин волн спектрофотометров следующая:

Марка прибора	Рабочая область спектра, нм
СФ-26	186—1100
СФ-18	760—2500
СФ-16	186—1100
СФ-14	400—760
СФ-11	220—1100
СФ-10	400—750
СФ-9	760—2500
СФ-8	195—2500
СФ-5	380—1100
СФ-4	760—1100
СФ-4А	220—1100
СФ-2М	400—750

Наибольшее распространение получили нерегистрирующие спектрофотометры марок СФ-26, СФ-16, СФ-4А. Они сконструированы по однолучевой схеме, поэтому в процессе измерений на пути потока излучения поочередно устанавли-

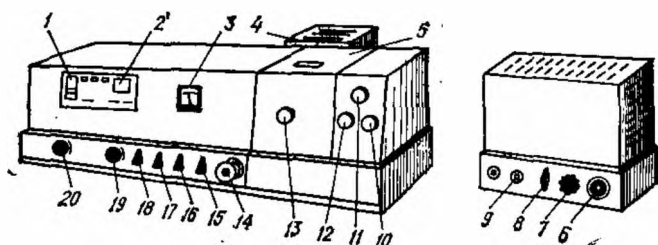


Рис. 29. Общий вид спектрофотометра марки СФ-16:

а — спектрофотометр; б — стабилизатор; 1 — шкала длины волн; 2 — шкала отсчетного потенциометра; 3 — микроамперметр; 4 — осветитель; 5 — кюветная камера; 6 — кнопка включения высокого напряжения; 7 — регулировки тока накала; 8 — изменения режима работы стабилизатора; 9, 10 — включения в сеть источника излучения; 11 — точной компенсации темнового тока; 12 — переключения шторки; 13 — включения фотоэлемента; 14 — микрометрического винта регулировки ширины щели; 15 — плавного изменения чувствительности; 16 — ступенчатого изменения чувствительности; 17 — компенсации темнового тока; 18 — переключения пределов измерения; 19 — отсчетного потенциометра; 20 — шкалы длин волн.

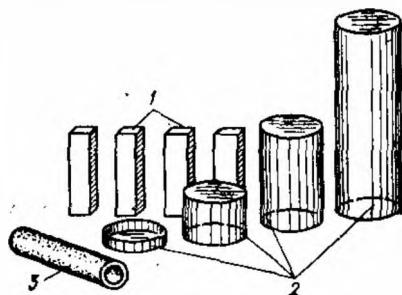
ваются эталонный и испытуемый растворы. При этом изменении интенсивности излучения падающего на фотоэлемент, вызывают изменение напряжения в системе усилителя, которое компенсируется изменением напряжения на потенциометре, связанном с отсчетным устройством.

Спектрофотометр снабжен электронным стабилизатором, который питает прибор постоянным током.

Помимо общих требований, предъявляемых к фотометрии и фотоколориметрии, к спектрофотометрии предъявляются еще и дополнительные требования. К спектрофотометру прилагаются прямоугольные кюветы с толщиной слоя в 1 см, цилиндрические с различной толщиной слоя и тефлоновые (рис. 30).

Рис. 30. Кюветы, прилагаемые к спектрофотометру марки СФ-16:

1 — тефлоновые; 2 — стеклянные прямоугольные; 3 — стеклянные цилиндрические.



Прямоугольные кюветы изготовлены из оптического кварца и могут применяться для работы в любой области спектра. Для этих кювет имеется специальный металлический держатель с четырьмя гнездами (рис. 31). В одно гнездо устанавливают кювету с раствором сравнения, светопоглощение которо-

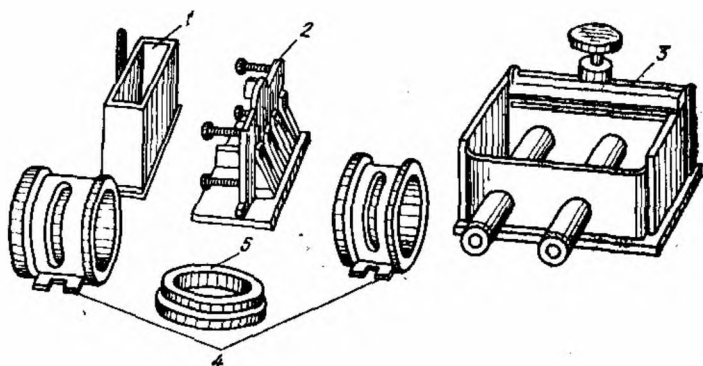


Рис. 31. Держатели кювет к спектрофотометру марки СФ-16:

1 — для прямоугольных кювет; 2 — для твердых образцов; 3 — для тефлоновых кювет; 4 — для цилиндрических кювет; 5 — оправа кюветы.

го принимается в данном случае равным нулю. В три остальных гнезда помещают кюветы с анализируемыми растворами. Это дает возможность измерять одновременно поглощение трех растворов, если их поглощающая способность сравнивается с одним и тем же раствором сравнения.

Цилиндрические кюветы представляют собой стеклянные стаканы, закрываемые с обеих сторон крышками, кварце-

выми или стеклянными, в зависимости от того, в какой области спектра предполагается проводить определение. Стеклянные крышки используют для области от 400 до 1000 нм, они обозначены буквой «С». В комплект прибора входят 18 цилиндрических кювет (по 2 шт. с одинаковой толщиной слоя в 4,05; 4,10; 4,20; 4,50; 5,50; 10; 20; 50 и 100 мм). Кюветы вставляют в металлические держатели. Точные данные о толщине слоя кюветы и их пропускаемости приведены в аттестате прибора.

Для наполнения цилиндрической кюветы одну из крышек помещают на чистую твердую подставку и сбоку надвигают на нее стакан кюветы. Наполняют кювету раствором до образования выпуклого мениска. Вторую крышку надвигают сбоку так, чтобы в стакане не оставалось пузырьков воздуха, затем кювету осторожно снимают с подставки, придерживая крышки, и вставляют ее в отвинченную крышку металлического держателя, поместив в нее предварительно резиновую прокладку. Сверху помещают вторую резиновую прокладку и навинчивают металлический стакан вместе со второй металлической крышкой.

Кварцевые кюветы одинаковой длины могут иметь различные характеристики пропускания в ультрафиолетовой области спектра их необходимо маркировать и одни использовать только для растворителя, а другие — для исследуемого раствора. Кюветы необходимо всегда содержать в чистоте. Сразу же после работы из них следует вылить раствор и промыть их водой. Сильно загрязненные кюветы можно опустить ненадолго в концентрированную азотную кислоту, а затем хорошо прополоскать водой. Кюветы следует проверять на пропускаемость света, наполнив их дистиллированной водой, сопоставляя полученные результаты с данными аттестата.

При абсолютных измерениях контрольным образцом служит воздух и величина потока, проходящего через свободное окно держателя фильтров, принимается равной 100 % пропускания.

ТЕХНИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Перед началом измерений устанавливают в исходное положение («Выключено», «Закрыто») все переключатели в шкалу. Стабилизатор должен быть подключен к спектрофотометру и находиться в положении «Выключено». Затем устанавливают в рабочее положение фотоэлемент и источник излучения, соответствующие спектральному диапазону измерений. При помощи тумблера включают в цепь стабилизатора нужную лампу, закрывают фотоэлемент, поставив шторку-пере-

ключатель в положение «Закрото», и устанавливают ширину щели примерно в 0,1 мм.

Отсчетную шкалу устанавливают на нулевое деление по шкале оптической плотности (100 % пропускания). Потенциометр чувствительности приводят в среднее положение. Затем устанавливают в рабочее положение необходимый источник света (лампу), после чего прибор включают в сеть. Для этого тумблер стабилизатора ставят в положение «Накал», реостатом стабилизатора доводят ток накала до величины, указанной в паспорте. Через 1—2 мин включают «Высокое напряжение» стабилизатора и в течение 10 мин прогревают прибор.

Измерения проводят в следующем порядке. Устанавливают кюветы с анализируемым раствором и раствором сравнения в кюветную камеру так, чтобы на пути потока излучения был раствор сравнения, закрепляют кюветы и закрывают крышку кюветной камеры. После чего устанавливают необходимую ширину щели. Узкая щель (положение «4») обеспечивает большую монохроматичность. Если нужно проводить измерения с большей чувствительностью и можно пренебречь снижением монохроматичности, работают с широкой щелью (положение «1»).

Устанавливают по шкале необходимую длину волны света, подводя ее со стороны малых значений. Если при этом шкала повернется на большую величину, то следует возвратить ее назад на 3—5 нм и снова подвести к требуемому делению. Затем компенсируют темновой ток фотоэлемента, подводя грубой и плавной регулировкой стрелку миллиамперметра к нулю (центральный штрих-электрический нуль), открывают фотоэлемент и устанавливают стрелку миллиамперметра на нуль, изменяя ширину щели. Более плавно это можно сделать рукояткой потенциометра чувствительности.

Устанавливают на пути излучения кювету с анализируемым раствором, перемещая каретку с кюветодержателем, потом устанавливают положение ширины щели «1» и поворотом отсчетного барабана приводят стрелку миллиамперметра к нулю. Снимают отсчет по шкале пропускания или оптической плотности. Для увеличения точности отсчет производят 3 раза, повторяя весь порядок компенсации, затем находят среднее значение показаний по шкале.

Выводят измеряемый образец и вводят контрольный образец в поток излучения. Устанавливают рукоятку пределов измерений в положение «Закрото», если при этом стрелка миллиамперметра возвращается к нулю, можно проводить измерения, не проверяя компенсацию темнового тока перед каждым измерением. Если стрелка миллиамперметра заметно отклонилась, проверяют измерение.

Если необходимо провести измерение с большей точностью, то ширину щели устанавливают в положение «2», и снятое по шкале пропускания показание умножают на 0,1, а к показаниям оптической плотности прибавляют единицу. При измерении коэффициента пропускания (больше 90 %) с высокой точностью, ширину щели устанавливают в положение «3», полученное показание умножают на 0,1 и прибавляют к нему 90.

По окончании работы закрывают фотоэлемент, выключают на стабилизаторе «Ток накала» и ставят его в положение «Выключено», приводят в исходное положение все переключатели и прибор выключают из сети.

МЕТОД ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЭТИЛОВОГО СПИРТА И ВОДКИ (МЕТОД ВНИИПрБ)

Чистый от примесей этиловый спирт не поглощает свет, в то время как его примеси (альдегиды, сивушные спирты, органические кислоты, эфиры и др.) поглощают свет в ультрафиолетовой области спектра.

Альдегиды, изоамиловый спирт, миристиновая, каприловая, капроновая кислоты значительно повышают оптическую плотность ректификованного спирта в области спектра при длинах волн 250—270 нм.

Триэтиламин из группы аминов, присутствующих как в спирте, так и в водке, значительно ухудшает органолептические свойства спирта и водки: придает специфический сладковато-гнилостный вкус и затхлый запах. Максимум поглощения триэтиламина и сивушного масла наблюдается при длине волны 260 нм.

Чем выше степень очистки спирта, тем ниже интенсивность УФ-поглощения его. Примеси, заметно ухудшающие органолептические свойства, значительно повышают оптическую плотность ректификованного спирта в области 250—270 нм. Величина оптической плотности или показателя светопропускания в области спектра 250—253, 7 нм в 80 % случаев объективно характеризует органолептические свойства спирта, а также степень очистки его от примесей. Чем ниже оптическая плотность или выше светопропускание, тем более высокая степень очистки спирта.

Контроль качества спирта можно проводить как в лаборатории, так и непосредственно в цехе ректификации.

Спектрофотометрический метод может также применяться для оценки степени очистки сортировки, путем измерения величины оптической плотности сортировки до и после процесса обработки ее.

Аппаратура, материалы, реактивы: спектрофотометр, имеющий длину волны света 250—260 нм.

Проведение испытания. Анализируемый спирт или водку наливают в кювету с шириной рабочей грани 50 мм и определяют коэффициент светопропускания или оптическую плотность при 260 нм по отношению к воздуху.

Величина оптической плотности ректификованного спирта высшей очистки при длине волны 260 нм находится в пределах 0,1—0,3, а водки — 0,2—0,5. Чем ниже показатель оптической плотности исследуемого образца, тем меньше примесей в нем содержится.

Глава 7

ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ

ПОКАЗАТЕЛЬ pH И ЕГО РОЛЬ В КОНТРОЛЕ БРОДИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Концентрация ионов водорода в растворе — один из важнейших технологических показателей в контроле бродильных производств, так как от него зависят скорость и эффективность процессов осахаривания, дрожжегенерирования, брожения, активность ферментов, жизнедеятельность посторонних микроорганизмов, которая влияет на выход и качество продукции.

Оптимум действия всех ферментов и микроорганизмов проявляется при строго определенном значении pH. При отклонении от оптимума pH скорость всех биохимических процессов значительно уменьшается.

Из уравнения диссоциации воды $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$ видно, что в чистой воде концентрации ионов H^+ и OH^- равны.

Известно, что $[\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1 \cdot 10^{-14}$, откуда $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = \sqrt{1 \cdot 10^{-14}} = 1 \cdot 10^{-7}$. Чистая вода имеет нейтральную реакцию. Таким образом, растворы, в которых концентрация ионов водорода равна 10^{-7} моль/дм³, называются нейтральными. В этих растворах $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-]$. Если к чистой воде прибавить какой-либо кислоты, концентрация ионов водорода повысится и станет больше, чем $1 \cdot 10^{-7}$, а концентрация ионов OH^- уменьшится.

Следовательно, кислотность и щелочность растворов можно количественно охарактеризовать концентрацией водородных ионов: нейтральный раствор $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7}$ моль/дм³; кислый раствор $[\text{H}^+] > 10^{-7}$ моль/дм³; щелочной раствор $[\text{H}^+] < 10^{-7}$ моль/дм³.

Применение чисел с отрицательным показателем неудобно. Поэтому для характеристики степени кислотности растворов применяют вместо истинных концентраций водородных и гидроксидных ионов их десятичный логарифм с обратным знаком, который обозначают через pH , т. е. $pH = -\lg[H^+]$.

Иногда концентрацию гидроксид-ионов характеризуют гидроксильным показателем — десятичным логарифмом их концентрации с обратным знаком и обозначают через pOH , т. е. $pOH = -\lg[OH^-]$.

Сумма водородного и гидроксидного показателей для любого водного раствора — величина постоянная: $pH + pOH = 14$. Шкала водородных показателей обычно заключается в пределах от 1 до 14. Величины pH и pOH характеризуют среду раствора. Растворы, имеющие $pH < 7$, называются кислыми, $pH > 7$ — щелочными. Нейтральная среда характеризуется равенством $pH = pOH = 7$. С уменьшением pH кислотность раствора растет, а щелочность убывает.

Для поддержания необходимого значения pH биохимических, химических, аналитических реакций, используют специальные системы, называемые буферными. Буфер — это соединение или смесь веществ, введение которого в раствор способствует поддержанию постоянного значения pH . Буферный раствор препятствует изменению pH , которое может происходить при разбавлении раствора или добавлении к нему сильной кислоты или сильного основания.

Буферным действием обладают смеси слабых кислот и оснований с их солями, смеси кислот соли слабой кислоты с ее средней солью, некоторые индивидуальные вещества и др. Сущность буферного действия заключается в том, что одно из соединений, входящих в состав буферной смеси, может связывать ионы водорода, а другое — ионы гидроксила в молекулы слабого электролита (кислоты, воды или основания). При этом pH системы до определенного предела изменяется незначительно.

Постоянное значение pH сохраняется также при разбавлении буферных смесей водой, так как при разбавлении в одинаковой степени уменьшается концентрация кислоты и соли, а соотношение между ними остается прежним.

Буферная емкость. Способность буферного раствора сохранять неизменной реакцию среды в зависимости от количества добавленной кислоты или щелочи характеризуют буферной емкостью — количеством молей кислоты или основания, добавка которых изменяет на единицу значение pH в 1 dm^3 буферного раствора.

Буферная емкость зависит от концентрации компонентов буферного раствора. Чем раствор концентрированнее, тем боль-

ше его буферная емкость. Разбавление буферного раствора не влияет заметно на изменение рН, но значительно отражается на буферной емкости. Буферные растворы используются в качестве рН-стандартов для калибровки и проверки рН-метров (см. прил. 7,8).

В технологии бродильных производств представляют интерес вопросы стабилизации и смещения равновесия рН технологических сред. В процессах осахаривания, дрожжегенерирования, брожения, культивирования кормовых дрожжей действуют буферные системы, регулирующие рН. Буферной емкостью обладают меласса, солод, крахмалистое сырье, барда и др. Стандартные буферные растворы используются в контроле бродильных производств для стабилизации сред при определении активностей ферментных препаратов, солода и др.

ОСНОВЫ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Потенциометрия широко применяется в контроле бродильных производств для определения рН. Метод — точный, простой, оперативный. Измерительные приборы просты в эксплуатации и позволяют осуществлять экспресс-анализ.

В настоящее время входит в практику метод потенциометрического титрования, который основан на измерении потенциала электрода, погруженного в анализируемый раствор, или на определении концентрации иона по величине электродвижущей силы (ЭДС) гальванического элемента.

Любой гальванический элемент состоит из двух электродов, а ЭДС его представляет собой разность потенциалов этих электродов. Для потенциометрического анализа используют гальванические элементы, состоящие из индикаторного электрода и электрода сравнения. Потенциал первого зависит от концентрации определяемого иона в растворе, а потенциал второго нечувствителен к концентрации этого иона. Поэтому ЭДС гальванического элемента зависит только от концентрации определяемого (потенциалоопределяющего) иона в растворе.

Потенциал между электродами измеряют специальными приборами — потенциометрами или рН-метрами. В потенциометрическом анализе различают метод прямой потенциометрии и метод потенциометрического титрования.

Прямая потенциометрия — измерение точной величины электродного потенциала, по которой можно определить точную концентрацию потенциалоопределяющего иона в растворе. Предварительно, пользуясь растворами с известной концентрацией, калибруют электрод, т. е. опытным путем определяют зависимость его потенциала от концентрации потенциалоопределяющего иона.

Прямая потенциометрия широко применяется для определения концентрации водородных ионов или величины рН растворов (рис. 32). Появление ионоселективных мембран, т. е. перегородок, пропускающих ионы только одного вида, привело к разработке методов потенциометрического определения других ионов.

Преимуществом прямой потенциометрии является то, что в процессе анализа концентрация анализируемого раствора не изменяется, имеется возможность работать с малыми объемами разбавленных растворов, процессы легко поддаются автоматизации.

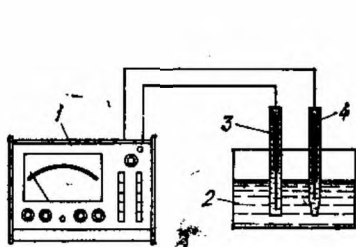


Рис. 32. Схема потенциометрического измерения:

1 — рН-метр; 2 — контролируемый раствор; 3 — стеклянный электрод; 4 — хлорсеребряный электрод.

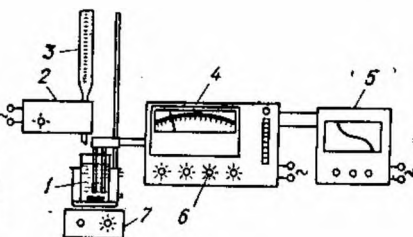


Рис. 33. Схема установки для потенциометрического титрования:

1 — блок потенциометрической ячейки; 2 — блок титратора; 3 — бюретка; 4 — потенциометр; 5 — самописец; 6 — переключатель; 7 — магнитная мешалка.

Потенциометрическое титрование основано на том, что изменение концентрации иона непременно сопровождается изменением потенциала на электроде, погруженном в титруемый раствор. Около точки эквивалентности происходит скачок потенциала, фиксируемый потенциометром. Записав показания потенциометра, определяют точку эквивалентности и объем титранта, израсходованный на титрование.

Потенциометрическое титрование применяют для индикации точки эквивалентности во всех титрометрических методах.

Потенциометрическое титрование имеет ряд преимуществ: возможность титрования окрашенных и мутных растворов, слабых кислот и оснований, смесей кислот или оснований, смесей окислителей или восстановителей в неводных средах; возможность анализа смеси близких по своим свойствам веществ без их предварительного разделения; высокая точность и воспроизводимость определений; исключение визуальной ошибки при определении эквивалентной точки; большая скорость выполнения анализа сложных производственных объектов.

Ошибки титрования могут быть обусловлены погрешностью измерений объема стандартного раствора, соответствующего эквивалентной точке, и потенциала индикаторного электрода.

Для точного определения окончания титрования необходимо, чтобы скачок разности потенциалов был наибольшим. Эта величина зависит от первоначальной концентрации раствора и от разности нормальных электродных потенциалов окислителя и восстановителя: чем больше концентрация раствора и чем больше разность потенциалов, протекающих окислительно-восстановительных процессов, тем больше скачок потенциала в точке эквивалентности.

Простейшая установка для потенциометрического титрования показана на рис. 33. Промышленность выпускает блок автоматического титрования (БАТ). Применение таких приборов рационально при большом числе однотипных анализов. Действие БАТ основано на автоматической добавке титранта в контролируемый раствор при регулярной скорости. На блоке автоматического титрования устанавливают разность потенциалов индикаторного электрода и электрода сравнения, соответствующую точке эквивалентности. Электроды опускают в анализируемый раствор и включают бюретку автоматического титрования. В точке эквивалентности автоматически прекращается титрование. Объем израсходованного раствора реагента отмечается специальным счетчиком. По реле времени устанавливают скорость титрования.

Точку эквивалентности (конец титрования) устанавливают в зависимости от рН перехода окраски индикатора, используемого при обычном титровании. Если при обычном титровании применяется фенолфталеин, то титрование заканчивают при рН 8,5; бромтимоловый синий — при рН 7,3; лакмус — при рН 7; метиловый красный — при рН 6,3 и т. д.

Электроды. Для электрохимических измерений применяют стандартные и индикаторные электроды. Потенциал стандартных электродов постоянен, потенциал индикаторных зависит от концентрации веществ и измеряется относительно стандартных.

Наибольшее практическое применение для измерения рН раствора и потенциометрического титрования кислот и оснований среди индикаторных электродов нашли стеклянный, сурьмяный, а стандартных (сравнения) — каломельный и хлорсеребряный электроды. Водородный электрод применяется для анализа растворов, у которых рН больше, чем 11—12, так как при значениях рН выше 12 стеклянный электрод неточен.

На рис. 34 показан стеклянный электрод. В стеклянном электроде в качестве внутреннего применяют: хлорсеребряный

в растворе соляной кислоты; хингидронный в буферном растворе; каломельный в растворе хлористого калия и др. Стекланный электрод по сравнению с другими имеет преимущества: позволяет анализировать с высокой точностью кислые и щелочные растворы в области от 1 до 12 рН; применять электрод можно в окрашенных, мутных, коллоидных растворах и эмульсиях; измерять рН можно в небольшом объеме жидкости; при анализе незабуференных растворов дает точные результаты. При измерении в раствор не вводят постоянных веществ (водород, хингидрон).

Потенциал электрода не зависит от присутствия окислителей, восстановителей и тяжелых металлов. Электрод можно применять в широкой области рН, на него не действуют яды. Потенциал электрода устанавливается практически мгновенно.

К недостаткам стекланный электрода относятся: хрупкость, чувствительность к щелочным растворам. Кроме того, из-за неодинаковых свойств внутренней и внешней поверхности стекла мембраны возникают потенциалы, отличающиеся друг от друга. Эта разность потенциалов носит название потенциала асимметрии. В случае тонкостенных электродов из мягкого стекла потенциал асимметрии может составить несколько милливольт, а в случае толстостенных электродов из тугоплавкого стекла — десятки милливольт. Для уменьшения потенциала асимметрии стекланный электрод вымачивают и хранят в воде или 0,1 н. растворе HCl .

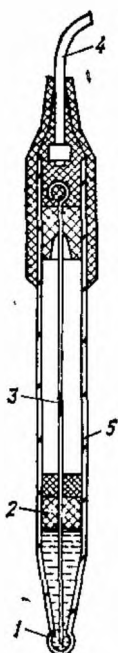


Рис. 34. Стеклянный электрод:

1 — тонкостенная стеклянная мембрана; 2 — раствор; 3 — контактный электрод; 4 — электродлитический ключ; 5 — корпус.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИОМЕТРОВ

Различные лабораторные рН-метры (рН-673, рН-340, рН-262, рН-121), иономеры И-102, ЭВ-74 предназначены для измерения активности ионов водорода (рН), активностей одно- и двухвалентных катионов и анионов (рХ), а также для потенциометрического титрования (табл. 22). В приборах используются различные индикаторные электроды. Например, для измерения ЭДС окислительно-восстановительных потенциалов заменяют индикаторный стекланный электрод платиновым. Прибор рН-121 снабжен дополнительными ионоселективными электродами для измерения активности ионов Na^+ , K^+ , Ag^+ и NH_4^+ .

22. Потенциометрические приборы

Прибор	Назначение	Пределы измерений	Погрешность
Универсальный иономер лабораторный марки ЭВ-74	Для измерения величины рХ (рН) одно- и двухвалентных анионов и катионов, мВ	(-1) — (+19 рХ) (±100) — (+1900 мВ)	(±0,04) — 0,08 рХ
рН-метры:			
милливольтметр лабораторный марки рН-121	Для измерения рН; рNa; рAg; рК; рNH ₄ , мВ	(-1) — (+14 ед. рН) (±100) — (+1400 мВ)	±0,05 рН
редокс-метр лабораторный с приспособлением для подключения БАТ марки рН-673	Для измерения рН, мВ	(-1) — (+14 ед. рН) (±100 — (±2000 мВ) 0 — 3В)	±0,05 рН
милливольтметр лабораторный с приспособлением для подключения БАТ марки рН-430	То же, рН; рNa, мВ	(-1) — (+14 ед. рН) ±100 — 1400 мВ	±0,05 рН
милливольтметр лабораторный марки рН-262	Для измерения рН; мВ	(-1) — (+14 ед. рН) (100) — (±1400 мВ)	±0,02 рН
милливольтметр лабораторный марки ЛПУ-01	То же, рН, мВ	(-1) — (+14 ед. рН) (±100) — (+1400 мВ)	±0,01 рН
переносный полевой марки рН-47М	» рН, мВ	(2 — 7,7) — 12 ед. рН	
переносный портативный специализированный для контроля молочных продуктов марки рН-222	» рН, мВ	3 — 8	(±0,003) — (0,05 рН)

Блоки автоматического титрования: БАТ-12-ЛМ, БАТ-15; лабораторный потенциометрический титрометр «Потенциал» в комплекте с рН-метрами используются для автоматического потенциометрического титрования.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Прежде чем приступить к измерениям, проверяют механический нуль показывающего прибора. При необходимости коррекции нуля отверткой устанавливают стрелку на начальную отметку. Затем присоединяют провод заземления к зажиму заземления и включают прибор в сеть. При этом должна загораться лампочка на панели прибора.

Правильность показаний рН-метра необходимо проверить по буферным растворам, фиксаналы которых прилагаются к прибору. Новые стеклянные электроды перед работой предварительно сутки вымачивают в 0,1 н. растворе соляной кислоты, хранят электроды в стаканчике с дистиллированной водой.

Буферные растворы при многократном применении могут изменять рН. Электрод перед каждым погружением в анализируемый раствор промывают дистиллированной водой и осушивают фильтровальной бумагой. Величины рН по шкале прибора отсчитывают после того как показания примут устойчивое значение (через 0,5—1 мин).

Стеклянный электрод тщательно оберегают от высыхания, закончив работу, его погружают в дистиллированную воду. При появлении пленок на электродах их промывают органическими растворителями, растворами кислот и щелочей, а затем дистиллированной водой.

ТЕХНИКА ИЗМЕРЕНИЙ

Прибор включают в сеть и прогревают 25—30 мин до начала работы. После чего наливают в стаканчик анализируемый раствор. Переключатель «Виды работ» устанавливают на отметку «рН», а переключатель «Пределы измерений» — на шкалу 1—14. Затем регулируют высоту установки электродов так, чтобы они могли погружаться в раствор на 20—40 мм, и положение столика. При закреплении упора следует обращать внимание на то, чтобы столик, отведенный в крайнее правое положение, находился под электродами и мог поворачиваться влево на 90°.

В стаканчик с раствором погружают стеклянный электрод и электрод сравнения. Рукоятку компенсатора температуры на панели прибора устанавливают на температуру анализируемого раствора и отсчитывают показания прибора. При установке показателя пределов измерений на шкалу — 1 + 14 показания отсчитывают по нижней шкале, градуированной непосредственно в единицах рН. Показания на любом из узких диапазонов отсчитывают по верхней шкале показывающего прибора. По окончании измерений электроды промывают и погружают их в стаканчик с дистиллированной водой.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ рН МЕЛАССЫ

Мелассу анализируют в соответствии с ОСТ 18-395—82. Метод основан на определении реакции мелассы путем измерения рН водного раствора ее (1 : 1) при помощи рН-метра со стеклянным электродом.

Аппаратура, материалы, реактивы: потенциометр лабораторный, вода дистиллированная.

Проведение испытания. В стеклянный стаканчик на 50 см³ наливают, не доливая до верха, пробу мелассы, разбавленную дистиллированной водой в соотношении 1 : 1, и погружают электроды рН-метра. Показания рН-метра записывают по истечении 5 мин после погружения электрода.

Обработка результатов. Показание прибора является величиной рН среды раствора мелассы. За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух определений.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОТ В ЛИКЕРО-ВОДОЧНЫХ ИЗДЕЛИЯХ

Метод основан на титровании испытуемого изделия раствором гидроксида натрия и электрометрическом определении точки нейтрализации при рН 7. Темноокрашенные изделия необходимо анализировать путем электрометрического титрования.

Аппаратура, материалы, реактивы: колбы КН-100, КН-250; пипетки 6—1—10; цилиндры 1—30; потенциометры; гидроксид натрия.

Проведение испытания. В коническую колбу помещают 10 см³ испытуемого изделия, добавляют 50 см³ дистиллированной воды, доводят до кипения и охлаждают до комнатной температуры. Начинают титрование, прибавляя раствор гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ сначала небольшими порциями, а затем — по каплям. После каждого прибавления раствора жидкость в колбе перемешивают и наблюдают за показаниями потенциометра. Титрование заканчивают при рН 7.

Обработка результатов. Концентрацию кислот вычисляют по количеству израсходованного на титрование раствора гидроксида натрия с последующим пересчетом на лимонную кислоту. Концентрацию кислот, выраженную в граммах лимонной кислоты в 100 см³ исследуемого изделия, вычисляют по формуле

$$C = V \cdot 0,007 \cdot 10,$$

где V — объем раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³, пошедшей на титрование, см³; 0,007 — коэффициент пересчета на лимонную кислоту в одной молекулой кристаллизационной воды.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЩЕЛОЧНОСТИ ВОДКИ

Водку анализируют в соответствии с ГОСТ 5363—82. Метод основан на титровании испытуемого изделия раствором соляной кислоты до установления точки нейтрализации при рН 6,1.

Аппаратура, материалы, реактивы: рН-метр; стакан химический Вн-250; пипетки 2—1—100; соляная кислота концентрацией 0,1 моль/дм³.

Проведение испытания. В химический стакан на 250 см³ помещают 100 см³ испытуемой водки и титруют 0,1 моль/дм³ раствором соляной кислоты. Постепенно прибавляя титрант, перемешивают анализируемый раствор и контролируют рН. Титрование заканчивают при рН 6,1.

Обработка результатов. Количество 0,1 моль/дм³ раствора соляной кислоты, пошедшее на титрование 100 см³ водки, определяет ее щелочность. Например, на титрование 10 см³ водки Пшеничная пошло 2,2 см³ раствора соляной кислоты. Следовательно, щелочность водки составляет 2,2.

Глава 8

ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Газовая хроматография — наиболее распространенный и эффективный метод хроматографии. Этим методом можно качественно и количественно определять компоненты органических и неорганических смесей, газообразных, жидких и твердых веществ, давление пара которых превышает 0,133—133 Па и перегоняющихся без разложения в области температур до 400—500 °С.

Основным преимуществом газовой хроматографии является высокая чувствительность и разделяющая способность, скорость, точность и высокая степень автоматизации анализа. Расшифровка результатов хроматографического анализа достаточно проста. Современный газовый хроматограф представляет собой автоматический прибор, требующий от химика для выполнения анализа небольшого числа операций.

Основными понятиями газовой хроматографии являются приведенные ниже.

Газоадсорбционная хроматография — метод, в котором неподвижной фазой является твердое тело; газожидкостная — метод, в котором неподвижной фазой является жидкость, нанесенная на твердое тело.

Подвижная фаза — та, которая движется в хроматографическом слое и включает часть образца, содержащегося в этой фазе, неподвижная — фаза в хроматографическом слое, от которой зависит разделение. В газожидкостной и жидкостно-жидкостной хроматографии неподвижной фазой является жидкость, а не твердый носитель.

Зона — область хроматографической колонки или слоя, где локализуется один или несколько компонентов образца.

Детектирование — процесс, с помощью которого выявляют присутствие хроматографически разделенных веществ.

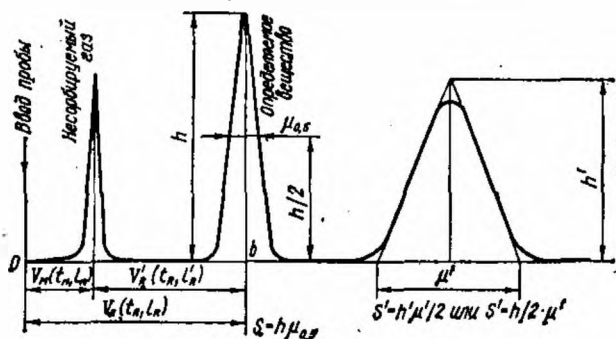


Рис. 35. Параметры газохроматографического пика и расчет площади пиков.

Хроматограмма — графическое представление зависимости величин сигнала детектора от времени или объема газа-носителя.

Нулевая (базисная) линия — часть хроматограммы, полученная при рабочих условиях колонки до выхода компонентов пробы.

Хроматографический пик — часть хроматограммы, соответствующая выходу из колонки компонента пробы. Основание пика — отрезок, соединяющий крайние точки пика. Площадь пика — площадь хроматографического пика до его основания. Высота пика (h) — длина вертикального отрезка между максимумом и основанием пика.

Ширина пика (μ) — длина проекции на горизонтальную ось отрезка основания пика, заключенного между касательными, проведенными в точках перегиба пика (рис. 35). Ширина пика на половине высоты ($\mu_{0.5}$) — длина отрезка, соединяющего две точки пика, находящиеся на половине высоты пика от его основания.

Время удерживания ($t_{уд}$, t_R) — время от момента ввода пробы в колонку до момента регистрации максимума на хроматограмме.

Относительное время удерживания $t_{уд. отн}$ — отношение времени удерживания анализируемого вещества ко времени удерживания стандартного вещества, которое принято за 1. Зависит от природы вещества, стандарта, сорбента, температуры колонки.

Исправленное время удерживания ($t'_{уд}$, t'_R) — время от момента появления пика растворителя до появления максимума пика анализируемого вещества:

$$t'_R = t_R - tM,$$

где tM — время удерживания несорбируемого газа (растворителя).

Объем удерживания, или удерживаемый объем ($V_{уд}$, V_R) — объем газа, прошедшего через колонку с момента ввода пробы до момента появления максимума пика на хроматограмме:

$$V_R = t_R F_{ос},$$

где $F_{ос}$ — объемная скорость газа-носителя.

Относительный удерживаемый объем ($V_{уд. отн}$) представляет отношение удерживаемого объема анализируемого вещества к удерживаемому объему стандарта в одних и тех же условиях. Относительный удерживаемый объем стандарта принимается за 1.

Исправленный объем удерживания ($V'_{уд}$, V'_R) измеряется от момента появления пика растворителя до появления максимума пика анализируемого вещества:

$$V'_R = V_R - VM,$$

где VM — объем удерживания несорбируемого газа (растворителя).

Критерий селективности газохроматографической колонки (K_c) — безразмерная расчетная величина, характеризующая избирательность колонки и численно равная отношению разности времен удерживания двух соседних компонентов:

$$K_c = t_{R(2)} - t_{R(1)} / t_{R(2)} + t_{R(1)}.$$

Критерий разделения служит мерой качества разделения хроматографических зон веществ 1 и 2, отношение расстояния между высотами для двух хроматографических пиков:

$$K = \Delta l / (\mu_{0,5(1)} + \mu_{0,5(2)}) = \Delta V_R / (\mu_{0,5(1)} + \mu_{0,5(2)}).$$

Критерий разделения равный 0,8—1 считается удовлетворительным.

Для описания процесса разделения веществ по слою сорбента в хроматографической колонке ее мысленно разбивают

на ряд последовательных элементарных участков — тарелок. Эффективность колонки характеризуется высотой (H), эквивалентной одной теоретической колонке ($BЭТТ$) и числом теоретических тарелок (N).

Таким образом, высота представляет собой отношение длины слоя сорбента, необходимой для установления равновесия между веществом, находящимся в движущейся газовой фазе и неподвижной твердой или жидкой к числу теоретических тарелок. Выражают ее чаще всего в миллиметрах:

$$H = L/N,$$

где L — длина слоя сорбента

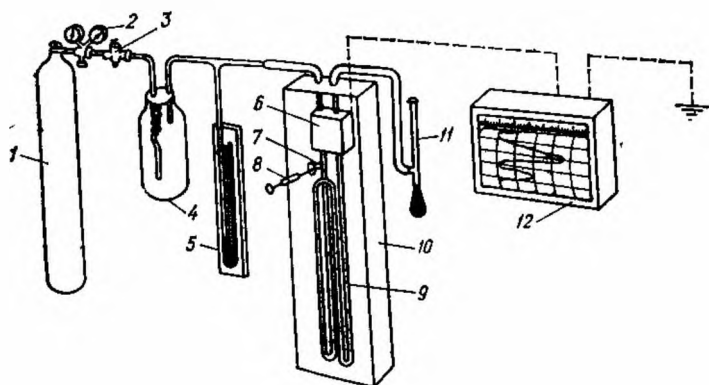


Рис. 36. Схема газового хроматографа.

Число эффективных теоретических тарелок определяют экспериментально (ГОСТ 17567—81) по формуле

$$N = 5,54 \left(\frac{t'_R}{\mu_{0,5}} \right)^2.$$

При проведении газовой хроматографии в нагретый до определенной температуры поток газа-носителя вводят анализируемую пробу. Вещества, содержащиеся в пробе, испаряются и вместе с потоком газа поступают в термостатированную колонку с неподвижной фазой (адсорбентом).

В колонке многократно протекают процессы адсорбции и десорбции на твердом носителе или растворения и выделения в жидкой пленке смеси газообразных веществ. Разделение сложной смеси здесь определяется коэффициентами адсорбции или распределения анализируемых веществ между фазами. На выходе из колонки смесь разделяется на индивидуальные вещества, поступающие с потоком газа на детектор.

Схема газового хроматографа показана на рис. 36. Газ-носитель из баллона 1 через редуктор 2, регулятор давления 3 и стабилизатор потока 4 поступает в сравнительную ячейку детектора 6. Затем через устройство для ввода пробы 7 он поступает в хроматографическую колонку 9, расположенную вместе с детектором в термостате 10. Давление на входе колонки измеряется манометром 5, объемная скорость газа-носителя периодически контролируется пеним измерителем скорости 11. Проба дозатором 8 вводится в поток газа-носителя перед хроматографической колонкой через устройство для ввода пробы 7. Поток газа-носителя переносит пробу в хроматографическую колонку 9, где и происходит разделение ее компонентов на отдельные зоны. Разделенные вещества (хроматографические зоны) поступают в детектор 6, который определяет концентрацию (или поток вещества) анализируемых компонентов в газе-носителе. Сигнал детектора, величина которого пропорциональна концентрации вещества, автоматически регистрируется потенциометром 12.

Расход газа-носителя определяют с помощью специальных расходомеров-ротаметров. Для очистки газа от влаги и других примесей используют склянки или U-образные трубки, заполненные хлоридом кальция, силикагелем. Их устанавливают перед дозатором. Дозировка и введение пробы в хроматограф производится специальными дозаторами. Хроматограф имеет приспособления, обеспечивающие смещение введенной дозы с газом-носителем или ее испарение. Поток газа-носителя вместе с пробой поступает в колонку.

Подвижная фаза, или газ-носитель, представляет собой газ высокой степени очистки, в качестве которого в практике используют азот, гелий, водород, а также аргон и диоксид углерода. Лучше пользоваться инертными газами, так как в этом случае не происходит взаимодействия разделяемых веществ с газом-носителем. Выбор газа зависит от вида детектора.

Неподвижная или жидкая фаза — те вещества, которые в виде пленки наносят на поверхность твердого инертного носителя. Они представляют собой высококипящие жидкости, относящиеся к разным классам соединений. Известно около 500 различных жидких фаз, однако на практике применяют очень немногие.

АППАРАТУРА

Дозаторы — устройства для ввода в хроматографическую колонку газовой, жидкой или твердой пробы.

Газообразные пробы обычно вводят медицинским шприцем. Жидкие пробы, в подавляющем большинстве случаев,

вводят с помощью микрошприцев различной вместимости и конструкции. Наиболее распространены микрошприцы на 1 и 10 мкг. Лучшую воспроизводимость обеспечивает способ введения пробы с помощью заполненной ампулы, содержащей точно взвешенное количество анализируемой смеси. Ампулу, введеную в испаритель или другое устройство, затем раздавливают специальным винтом. После этого газ-носитель уносит испарившуюся пробу в хроматографическую колонку. Для введения проб газа большого объема пользуются бюретками и отсекающими петлями.

Колонки. В хроматографической колонке компоненты смеси разделяются на отдельные зоны. Чаще используются два основных типа колонок: насадочные и капиллярные. Внутренний диаметр колонок в зависимости от цели анализа составляет 2—4 мм — в аналитических, 0,25—0,7 мм — в микронасадочных и 10—100 см³ — в препаративных колонках. Колонки изготовляют из стекла, меди, нержавеющей стали и др. Часто при анализе полярных соединений (спирты, амины и др.) необходимо использовать только стеклянные колонки во избежание образования «ложных пиков».

Колонки помещают в термостаты, температура в которых поддерживается с точностью $\pm 0,05 \div 0,5$ °C. Наиболее широко распространено воздушное термостатирование с принудительной циркуляцией.

Точность анализа зависит от способности хроматографической колонки надежно разделять анализируемую смесь. Разделительная способность колонки по отношению к данной смеси обусловлена следующими факторами: природой и качеством неподвижной фазы (распределением частиц адсорбента, равномерностью их упаковки в колонке, их удельной поверхностью, размером пор), длиной и диаметром колонки, температурой колонки, скоростью потока газа-носителя, величиной и скоростью испарения введенной пробы и др.

Детекторы. С помощью детектора количественно определяют концентрацию (поток) анализируемых компонентов в газе-носителе после разделения их в хроматографической колонке. Характеристики детектора в основном определяют точность и чувствительность анализа. Одной из важных характеристик детектора является чувствительность, т. е. отношение выходного сигнала к входному, который определяется количеством поступающего в детектор вещества.

ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ДЕТЕКТОРОВ

Катарометр. Основным элементом является металлическая нить с высоким сопротивлением, расположенная в канале металлического блока детектора и омываемая потоком газа-носителя. Нить нагревают, пропуская через нее постоянный ток (рис. 37,а). На чувствительность катарометра оказывают влияние сила протекающего через нить тока, теплопроводность газа-носителя и температура детектора. Для увеличения чувствительности катарометра необходимо увеличить силу тока в нити, уменьшить температуру термостата детектора и подобрать газ-носитель (H_2 , He) с высокой теплопроводностью.

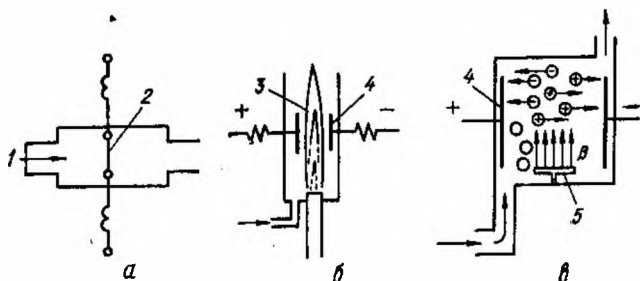


Рис. 37. Хроматографические детекторы:

1 — поток газа; 2 — накаливаемая проволока; 3 — пламя; 4 — электроды;
5 — источник β -излучения (электронов).

Катарометр помимо универсальности имеет и другие преимущества: стабилен в работе, прост в эксплуатации и экономичен. Однако для надежной работы катарометра требуется точная регулировка температуры и скорости газового потока.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД) основан на том, что органические вещества в пламени водородной горелки подвергаются ионизации, вследствие чего возникает ток ионизации, сила которого пропорциональна количеству заряженных частиц (рис. 37,б). ПИД имеет высокую линейную динамическую область, обладает малым рабочим объемом и малой инерционностью, малочувствителен к колебаниям расхода газа-носителя, давления и температуры. Применяется при анализах с программированием температуры в колонке, нечувствителен к воде в газе-носителе и пробе, поэтому может использоваться при анализе проб, содержащих воду. ПИД обладает высокой чувствительностью (10^{-9} — 10^{-12} г/с) и линейностью (10^6 — 10^7) ко всем органическим веществам.

Работа ПИД зависит от правильного выбора скоростей газов. Обычно соотношение скорости потоков водорода, газа-носителя и воздуха составляет 1 : 1 : 10. Сочетание высокой чув-

ствительности и широкого линейного диапазона обусловило применение ПИД для анализа микропримесей.

Пламенно-фотометрический детектор (ПФД) основан на том, что анализируемое вещество, выходящее из колонки, после смешивания с кислородом или воздухом сгорает в обогащенном водородном пламени. Продукты сгорания фосфор- и серосодержащих соединений регистрируются с помощью фотометрии пламенной эмиссии при длине волны 526 и 394 нм соответственно. Чувствительность для серосодержащих соединений составляет 10^{11} г/с, для фосфорсодержащих — 10^{-13} — 10^{-12} г/с. Линейный диапазон — $5 \cdot 10^4$ — 10^3 — 10^4 , 10^3 — 10^3 и 10^3 — 10^4 соответственно.

Электронно-захватный детектор (ЭЗД) основан на том, что под действием радиоактивного β -излучения в камере детектора происходит ионизация молекул азота и образуются медленные электроны, которые под влиянием приложенного напряжения быстро перемещаются к аноду. При попадании в камеру детектора веществ с высоким сечением захвата возникают отрицательные ионы, а ионизационный ток уменьшается пропорционально концентрации захватываемых веществ (рис. 37, в).

Чувствительность ЭЗД к различным соединениям зависит от степени электроотрицательности или сродства к электрону этих соединений. Селективная чувствительность обуславливает узкую сферу применения ЭЗД.

Термоионный детектор состоит из обычного пламенно-ионизационного детектора и помещаемой на конец кварцевой горелки таблетки соли щелочного металла. Детектор очень чувствителен к фосфорсодержащим соединениям и полностью нечувствителен к другим органическим веществам.

23. Характеристика детекторов

Тип детектора	Пороговая чувствительность	Линейный диапазон	Постоянная времени, с	Рабочая температура, °C	Газ-носитель	Особенности детектора
Катарометр	10^{-2} — 10^{-5} мг/см ³	10^{-4}	1—2	450	Пред- почти- тельно гелий	Прост в обращении, но недостаточно чувствителен
Пламенно-ионизационный	10^{-6} — 10^{-10} мг/с	10^7	10^{-3}	400	Гелий, азот	Высокая чувствительность, анализ микропримесей
Термоионный	10^{-8} — 10^{-9} мг	10^4	10^{-3}	300	То же	Селективен к фосфору

В настоящее время широкое применение получил масс-спектральный детектор, который практически используется для анализа соединений. Характеристика некоторых наиболее часто употребляемых детекторов приведена в табл. 23.

Регистрирующие устройства. Для измерения и записи импульса детектора применяют чувствительные потенциометры. Наиболее распространен автоматический компенсационный потенциометр со шкалой 1—10 м и временем пробега шкалы пером 0,5—0,2 с.

ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОМАТОГРАФОВ

В зависимости от типа применяемого детектора и температурного режима выпускается более 20 моделей различных хроматографов. В комплект хроматографа могут входить до 6 ви-

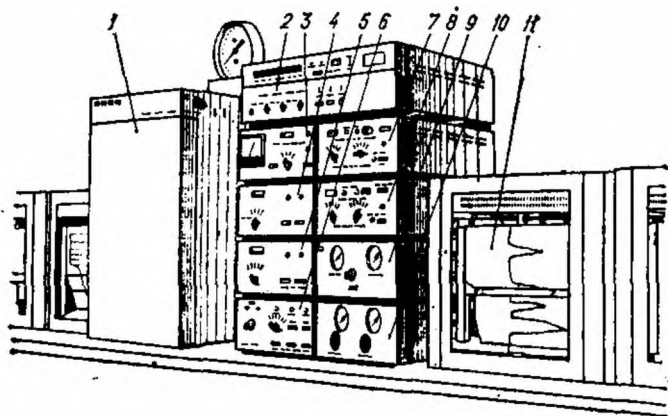


Рис. 38. Хроматограф «Цвет-100»:

1 — термостат колонок; 2 — интегратор цифровой автоматический; 3 — блок питания детекторов; 4 — регулятор температуры для термостата колонок; 5 — регулятор температуры для термостата детекторов; 6 — программатор температуры; 7, 8 — измерители малых токов; 9 — преобразователь сигнала газа-носителя пневматический; 10 — блок питания газов (водорода и воздуха); 11 — потенциометр автоматический.

дов детекторов, различные приставки, устройство для программирования температуры. Наибольшее распространение в аналитической работе получили хроматографы «Цвет».

Приборы серии ЛХМ-8 МД снабжены двумя детекторами (катарометром и пламенно-ионизационным), набором колонок, в том числе капиллярных, и устройством для программирования температуры. Хроматограф «Цвет-100» показан на рис. 38. Характеристика хроматографов приведена ниже.

101-110
(хроматограф)

Детектор пламенно-ионизационный; дополнительные детекторы: термоионные, постоянной скорости рекомбинации, по теплопроводности и по плотности. Температура термостата до 400 °С, чувствительность по пропану ДИП — $2,5 \cdot 10^{-4}$ мг/с; по пропану ДТП — $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см³, по пропану ДП — $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см³

ЛХМ-8МД7
(хроматограф лабо-
раторный газовый)
ЛХМ-8МД5

Детектор пламенно-ионизационный. Температура термостата до 300 °С, чувствительность по пропану 2×10^7 см(мг/с)

Детекторы: по теплопроводности, пламенно-ионизационный. Температура термостата до 300 °С, чувствительность по пропану с катарометров $1,25 \cdot 10^4 \frac{\text{Ом}}{\text{мг/см}^3}$, с пламенно-ионизационным $2 \cdot 10^7$ см/(мг/с)

Примечание. ДП — детектор по плотности; ДИП — детектор пламенно-ионизационный.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Количественные методы основаны на том, что концентрация любого компонента в пробе, введенной в хроматограф, должна быть того же состава, что и анализируемая, количество компонента в пробе пропорционально параметру хроматографического пика (высоте, площади) этого компонента на хроматограмме, т. е.

$$C_i = K [h_i (S_i)] / G_n$$

где C_i — концентрация компонента в анализируемом растворе; K — абсолютный калибровочный коэффициент, который зависит от условий хроматографирования, детектирования и других факторов; обратно пропорционален чувствительности детектора; $h_i (S_i)$ — хроматографические параметры (высота или площадь) пика; G_n — размер пробы, введенной в хроматограф.

Параметры хроматографического пика — величины, функционально связанные с количеством соответствующего данному пику вещества. Высота пика является наиболее легко измеряемым параметром и поэтому случайные ошибки, связанные с измерениями на хроматограмме, как правило, минимальны. Площадь пика для детекторов, используемых в количественной хроматографии, является универсальным параметром, применимым во всех случаях, когда отсутствуют необратимые эффекты в колонке и детектор работает в нормальных рабочих условиях.

Однако практически нельзя точно вычислить истинную площадь хроматографического пика. Более высокую воспроизводимость и точность результатов можно получить, применяя методы внутреннего стандарта, абсолютной калибровки, нормализации площадей.

Метод внутреннего стандарта. Метод основан на определении зависимости параметров хроматографических пиков анализируемых компонентов смеси и стандартного соединения — внутреннего стандарта. Заключается в хроматографировании определенного количества пробы, к которой прибавлено известное количество не содержащегося в ней соединения, выбранного в качестве внутреннего стандарта. Внутренний стандарт должен полностью отделяться от других компонентов, быть химически инертным, иметь концентрацию, близкую к концентрации определяемых веществ, время удерживания его должно быть близким к временам удерживания анализируемых соединений.

Для построения градуировочного графика в пробу вносят определенные количества анализируемого соединения (10, 25, 50, 1000 мкг), известное количество внутреннего стандарта (5 мкг), хроматографируют и измеряют высоты пиков анализируемого соединения и внутреннего стандарта, вычисляют среднее значение отношения этих высот и строят график зависимости отношения этих высот от содержания анализируемого вещества.

Метод абсолютной калибровки. Метод основан на определении зависимости одного из количественных параметров хроматографического пика (высота или площадь) от содержания анализируемого компонента в пробе.

Необходимо строго соблюдать тождественность и постоянство хроматографирования стандартных растворов и пробы, а также точность и воспроизводимость дозирования пробы. Следует предварительно построить градуировочный график в координатах $h_i(S_i) — C_i$ или найти абсолютные градуировочные коэффициенты для анализируемых компонентов.

Для построения градуировочного графика в хроматограф вводят одинаковые объемы стандартных растворов анализируемого компонента различной концентрации либо различные объемы одного и того же стандартного раствора. Последний метод менее точен.

Метод нормализации площадей заключается в том, что сумму площадей всех пиков с учетом поправочных коэффициентов принимают за 100 %. Для вычисления концентрации вещества в объемных процентах необходимо его площадь умножить на 100 и разделить на сумму всех площадей. Этот метод прост, но может быть использован только в тех случаях, когда все

компоненты известны и полностью разделены. Необходимо также определять экспериментально поправочные коэффициенты, так как компоненты вызывают неодинаковый сигнал детектора.

Преимуществом этого метода является возможность определения процентного содержания всех компонентов смеси; при этом точность дозирования не имеет значения. К недостаткам метода относится зависимость результатов анализа от наличия нерегистрируемых пиков, а также необходимость полного разделения и идентификации всех компонентов смеси и определения их поправочных коэффициентов.

ИСТОЧНИКИ ОШИБОК ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА

Методика ввода пробы. На анализ влияет испарение компонентов пробы до момента ввода в хроматограф или химическое превращение анализируемого компонента до момента ввода пробы в хроматограф.

Адсорбция или разложение в хроматографе. При анализе термически нестабильных и реакционноспособных соединений (в испарителе, колонке и детекторе), возможно окисление анализируемых соединений кислородом, содержащимся в газоносителе, химическое взаимодействие компонентов пробы с неподвижной фазой, адсорбция твердым носителем.

Работа регистратора. Результаты могут быть источником ошибок. При отклонениях необходимо проверять диапазон линейности самописца, скорость пера, зону нечувствительности, положение электрического нуля и скорость движения диаграммной ленты.

Методы расчета хроматографических пиков. Для исключения ошибок метод расчета пика должен соответствовать каждому компоненту смеси.

Точность измерения времени удерживания. Неправильные измерения могут быть источником случайной погрешности, а именно: при установке и поддержании температуры колонки; измерениях расхода газоносителя и изменения его в процессе анализа; времени, необходимом для ввода пробы; инерции и погрешности показателей секундомера (погрешность нахождения максимума пика в случае сильного размытия зоны).

Источником ошибок может быть также работа детектора.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЭТИЛОВОГО СПИРТА И ГЛИЦЕРИНА В БРАЖКЕ (МЕТОД УкрНИИСП)

Метод позволяет быстро и просто определять содержание спирта и глицерина в бражке без ее перегонки и рекомендуется для оперативного контроля производства. Длительность анализа составляет 5—10 мин.

Содержание спирта и глицерина в бражке характеризует ход процессов дрожжегенерирования и брожения и указывает величину потерь сахара при образовании глицерина. В производстве спирта и хлебопекарных дрожжей из мелассы в 100 см³ бражки накапливается 8—12 об. % спирта и 0,3—1,2 г глицерина. На образование 1 г глицерина расходуется 1,356 г сахара.

Метод позволяет определять этиловый спирт и глицерин в бражках, содержащих пропиловый, бутиловый, амиловый и другие спирты. Температура кипения спирта и глицерина при нормальном давлении равна соответственно 78,3 и 290°C. При температуре кипения глицерин разлагается, поэтому хроматографирование бражки ведут при температуре ниже 290°C. При этом погрешность не превышает 5 отн. %. Высшие спирты находятся в микроколичествах, поэтому в условиях данного анализа они не определяются.

Аппаратура, материалы и реактивы: газовый хроматограф с детектором по теплопроводности (тип ЛХМ-8МД, «Цвет» и др.); микрошприц МШ-10 ДФ ОКБА СССР; весы аналитические; колбы конические на 500 см³ с притертыми пробками; мерные пробирки на 10 см³ со шлифами; пипетки на 1; 5 и 10 см³ с ценой деления 1 см³; стекловата; ацетон; глицерин; гелий; н-пропанол; спирт этиловый ректификованный; полисорб-1 зернением 0,25—0,5 мм.

Подготовка к испытанию. Предварительно готовят хроматографическую колонку и прибор. Для этого спиральобразную чистую и высушенную колонку длиной 300 см и внутренним диаметром 0,3 см осторожно (встряхивая) заполняют полисорбом-1. Слой адсорбента закрывают стеклянной ватой. Подготовленную колонку кондиционируют при пропуске газа-носителя в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору.

Температура в термостате колонки при определении этилового спирта должна быть 100, глицерина — 220 °C. Колонку прогревают при температуре 100 °C — 3 ч, а затем, определив спирт, прогревают еще 3 ч при температуре 200 °C для дальнейшего определения глицерина. Затем к колонке подключают детектор, выводят скорость газа-носителя на рабочий режим

и проверяют положение нулевой линии. Кондиционирование продолжают до тех пор, пока не исчезнет дрейф нулевой линии при максимальной чувствительности прибора.

Если работа ведется на хроматографе с ПИД, снабженном заранее подготовленной и кондиционированной колонкой, то выполняют следующие операции. Вначале проверяют и обеспечивают герметичность прибора и тщательно выравнивают расходы газа-носителя, водорода и воздуха. Расход газа-носителя (гелия), измеренный на выходе из детектора по теплотворности, при рабочей температуре должен составлять $100 \text{ см}^3/\text{мин}$. Соотношение расхода газа-носителя, водорода и воздуха при использовании ПИД равно примерно $1 : 1 : 10$.

Включают электрометр, блок питания детектора и задают температуры испарителя и колонки. При анализе этилового спирта температура в испарителе проб устанавливается равной 150°C , а в термостате хроматографической колонки составляет 100°C . При определении глицерина эти температуры выше и равны 250 и 220°C соответственно. Поджигают водород в ячейках ПИД. Через 30 мин, после нагревания электрометра и испарителя, включают потенциометр и проверяют стабильность нулевой линии.

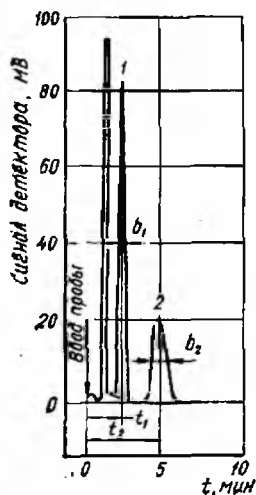
Положение аттенюатора, при котором достигаются заданная пороговая чувствительность прибора с детектором по теплопроводности ($1 \cdot 10^{-3}$ об. % по пропанолу) и высота наименьшего из измеряемых пиков (более 20 мм), составляет при определении спирта 3, а глицерина — 1. Скорость движения диаграммной ленты, при которой ширина самого узкого из измеряемых пиков больше 5 мм, составляет 10 мм/мин .

Убедившись в стабильности работы хроматографа, опытным путем проверяют критерий разделения прибором контрольной пары веществ этиловый спирт — Н-пропанол в принятых условиях опыта. Согласно ГОСТ 17567—81 критерий разделения K определяют по формуле $K = \Delta VR(B_1 + B_2)$, где ΔVR — разность объемов удерживания этилового и н-пропилового спиртов; B_1 и B_2 — ширина хроматографических пиков этилового и н-пропилового спиртов на половине высоты пиков. В принятых условиях разделения пробы на хроматографе с детектором по теплопроводности критерий K должен быть равным 2 (рис. 39). При необходимости по критерию разделения уточняют режим работы хроматографа.

Построение калибровочных графиков. Для количественного определения этилового спирта по таблице разведения спиртов готовят модельные водно-спиртовые растворы концентрацией от 1 до 15 об. %.

Для построения калибровочного графика применяют метод абсолютной калибровки или метод внутреннего стандарта.

При построении калибровочного графика методом внутреннего стандарта поступают следующим образом. В 10 сухих пробирках с притертыми пробками помещают серию растворов, содержащих по 5 см³ модельного раствора спирта разных концентраций и 0,4 см³ н-пропилового спирта (стандарт). После перемешивания смеси пробы поочередно вводят в хроматограф. По полученным хроматограммам определяют расчетный параметр $h_{эп}/h_{ст} = f(c)$, где $h_{эп}$ — высота пика этилового спирта; $h_{ст}$ — высота пика стандарта. Для каждой смеси отдельно строят калибровочный график (рис. 40).



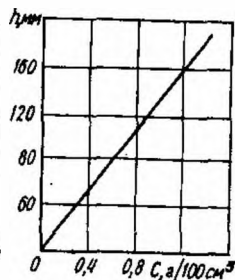
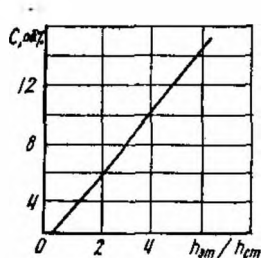
Для количественного определения глицерина также строят калибровочный график методом абсолютной калибровки. Вначале готовят основной модельный раствор глицерина концентрацией 10 г

Рис. 39. Хроматограмма для определения критериев разделения контрольной пары веществ: 1 — этиловый спирт; 2 — н-пропиловый спирт.

на 100 см³ водно-спиртового раствора. Для этого на аналитических весах отвешивают 10 г глицерина, переводят его в колбу на 100 см³ и содержимое доводят до метки 10 %-ным водно-спиртовым раствором при 20 °С. Смесь перемешивают.

Рис. 40. Калибровочный график для газохроматографического определения этилового спирта по методу внутреннего стандарта.

Рис. 41. Калибровочный график для газохроматографического определения глицерина по методу абсолютной калибровки.



Для построения калибровочного графика из основного раствора глицерина готовят модельные растворы, содержащие от 0,1 до 1 г глицерина в 1 дм³. В 10 сухих пробирок на 10 см³ последовательно отмеривают пипеткой 0,1; 0,2; 0,3; 1 см³ основного раствора и каждый объем доводят 10 %-ным водно-спиртовым раствором до метки при температуре 20 °С. После перемешивания микрошприцем отбирают пробу в объеме 10 мкг,

которую хроматографируют в условиях разделения глицерина. Опыт повторяют 3—5 раз.

На полученных хроматограммах определяют высоту пиков для каждой концентрации глицерина и строят калибровочный график (рис. 41).

Проведение испытания. Отбирают 500 см³ бражки, фильтруют и охлаждают до 20 °С. Затем определяют содержание в бражке этилового спирта при заданных условиях разделения.

Для количественного определения этилового спирта берут 5 см³ профильтрованной бражки, добавляют 0,4 см³ н-пропилового спирта и смесь тщательно перемешивают. Все операции ведут при температуре 20 °С. Далее микрошприцем отбирают 10 мкг смеси и быстро впрыскивают пробу в заранее подготовленный к работе хроматограф. Смесь разделяют по методике, изложенной ранее. Получив хроматограммы, вычисляют отношение $h_{\text{эт}}/h_{\text{ст}}$ и по графику (см. рис. 40) находят концентрацию спирта в бражке.

Пример. Определить содержание спирта в бражке по методу внутреннего стандарта, если получена хроматограмма, аналогичная приведенной на рис. 39, со следующими параметрами: $h_{\text{эт}}$ — высота пика этилового спирта, равная 239 мм; $h_{\text{ст}}$ — высота пика стандарта, равная 70 мм.

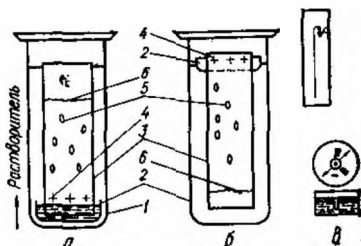


Рис. 42. Хроматография на бумаге:

а — восходящая хроматограмма; б — нисходящая; в — радиальная; 1 — сосуд для хроматографирования; 2 — резервуар с растворителем; 3 — хроматографическая бумага; 4 — стартовые точки; 5 — разделенные компоненты; 6 — фронт растворителя.

По калибровочному графику (см. рис. 40) находят, что отношению $h_{\text{эт}}/h_{\text{ст}} = 238 : 70 = 3,4$ соответствуют 8,1 об. % этилового спирта в бражке.

После окончания анализа этилового спирта хроматограф переводят на режим определения глицерина в бражке.

Для определения глицерина в бражке отбирают микрошприцем 10 мкг отфильтрованной бражки и вводят ее в хроматограф. Разделение смеси проводят так же, как и при анализе модельных растворов. По высоте пиков глицерина, пользуясь графиком (см. рис. 41), определяют его концентрацию в бражке.

ХРОМАТОГРАФИЯ НА БУМАГЕ

Бумажная хроматография — один из видов жидкостной распределительной хроматографии. Одной жидкой неподвижной фазой обычно является вода, другой — насыщенный водой органический растворитель, не смешивающийся или частично смешивающийся с водой. При непрерывном прохождении растворителя через хроматографическую бумагу происходит перенос разделяемых веществ от точки их нанесения на бумагу к точке, находящейся на некотором расстоянии от нее в направлении продвижения растворителя. Поскольку коэффициенты распределения веществ между двумя фазами различны, разделяемые вещества под действием подвижной фазы продвигаются на разное расстояние.

При идентификации веществ обычно применяют метки — «свидетели». Хроматографируют вместе известное вещество — «свидетель» и разделяемую смесь веществ.

Для оценки способности разделения веществ на бумаге введен коэффициент, который определяют по следующей формуле: $R_f = \frac{\text{Фронт вещества, см}}{\text{Фронт растворителя, см}}$, где фронт вещества, см, — точка, до которой поднялось исследуемое вещество; фронт растворителя, см, — линия, до которой поднялся растворитель.

Обычно для расчета R_f выбирают на хроматограмме точку в центре пятна. Стартовая точка или линия — точка или линия на хроматографическом слое, куда вводят хроматографируемое вещество.

Хроматография бывает: восходящей — растворитель поднимается снизу вверх; нисходящей — растворитель движется сверху вниз; радиальной или круговой — растворитель движется от центра бумаги к периферии (рис. 42).

Различают одно- и двухмерную хроматографию. При одномерной хроматографии растворитель пропускают по бумаге только в одном направлении, при двухмерной — после пропускания растворителя в одном направлении бумагу высушивают и вновь пропускают другой растворитель в направлении, противоположном движению первого растворителя.

Бумага. Для получения четких хроматограмм необходимо использовать бумагу высокого качества. Она должна быть химически чистой, однородной по плотности, химически и адсорбционно нейтральной. В СССР выпускается четыре сорта хроматографической бумаги № 1, 2, 3, 4. Каждый номер отличается по плотности, а следовательно, и скорости движения рас-

творителя. Бумага № 1 и 2 называется «быстрой», а № 3 и 4 — «медленной». Эти сорта бумаги обеспечивают скорость движения растворителя 1—2 см/ч.

При точных количественных определениях хроматографическую бумагу иногда необходимо очищать от следов зольных элементов.

Хроматографические камеры. Хроматографическая камера представляет собой цилиндрический или прямоугольный сосуд из стекла с шлифованной стеклянной крышкой. Для получения хроматограмм небольших размеров могут быть использованы аквариумы.

Камеры должны быть герметически закрыты, чтобы в них поддерживалась насыщенная парами растворителя атмосфера и для предотвращения испарения растворителя с бумаги. Для разделения веществ на бумаге применяют различные системы растворителей.

Для обнаружения веществ на хроматограмме ее обрабатывают проявителями — реактивами, дающими цветные реакции с исследуемыми веществами. Некоторые растворители и проявители для хроматографии на бумаге, применяемые в контроле бродильных производств, приведены в табл. 24.

24. Растворители и проявители для хроматографии на бумаге

Исследуемое вещество	Растворитель		Проявитель
	Состав	Соотношение объемов	
Аминокислоты	н-бутанол — уксусная кислота — вода	4 : 1 : 1 4 : 1 : 5 40 : 15 : 5	Нингидрин в ацетоне или бутаноле
Альдозы	н-бутанол — этанол — вода — аммиак	40 : 10 : 49 : 1	Анилинофосфатный или нафторезарциновый реактив
Моно-, ди-, трисахариды	Этилацетат — уксусная кислота — вода	9 : 2 : 2	Анилиндифениламинофосфорный реактив
Моно-, ди-, трисахариды	н-бутанол — этанол — вода — аммиак	40 : 10 : 49 : 1	То же

Анализируемые вещества должны в данной системе обладать значениями R_f от 0,05 до 0,85. При разделении большого числа веществ следует стремиться к тому, чтобы они были распределены по всей длине хроматограммы. Система должна полностью разделять два или (более) вещества близкого строения, причем различие в величинах R_f должно составлять не менее 0,05.

ТЕХНИКА АНАЛИЗА

Методика выполнения хроматографии на бумаге состоит из следующих основных операций: подготовки бумаги и растворителей; нанесения пробы на бумагу; разделения веществ в камере и проявления хроматограмм; анализа веществ на хроматограмме.

Подготовка бумаги и растворителей. Хроматографическую бумагу режут на полосы в зависимости от размеров камеры, так чтобы ее края не соприкасались со стенками камеры. Для стандартной камеры ширина листа составляет 15—20, длина — 50—55 см. При движении растворителя со скоростью 1,5—2 см/ч он достигнет противоположного конца листа за 25—35 ч.

Затем на бумаге простым карандашом обозначают линию старта, которая должна находиться на расстоянии 2—5 см от уровня растворителя в камере. На этой же линии на расстоянии 2—2,5 см от боковых краев обозначают последовательно через 3—4 см исследуемые образцы. Для равномерного стекания растворителя на нижнем крае листа вырезают зубчики. Для восходящей хроматографии стартовую линию^{*} намечают на нижнем конце листа, для двухмерной используют лист размером 62 × 52 см и пробу наносят на расстоянии 6—7 см от обеих сторон.

Растворители готовят смешиванием смеси растворителей в делительной воронке. Если при этом образуются два слоя, то растворитель оставляют для расслаивания до полной прозрачности. Затем нижний слой помещают в камеру для насыщения ее парами растворителя, а верхний используют для разделения смесей веществ, наливают в «лодочку».

Нанесение пробы на бумагу. Подготовленный лист кладут на чистое сухое стекло и наносят автоматической калиброванной микропипеткой исследуемые образцы и «свидетели». Перед нанесением каждой следующей пробы пипетки ополаскивают дистиллированной водой, а затем испытуемым раствором.

Для получения правильных результатов анализа диаметр пятна должен составлять 0,5—1 см, объем раствора 0,0020—0,0025 см³. При малой концентрации исследуемых компонентов объем раствора может составлять 0,01—0,05 см³. При нанесении пробы необходимо, чтобы в ней содержалось 20—500 мкг определяемого вещества. Содержание сахара в пятне не должно превышать 500 мкг, а каждой аминокислоты должно быть не менее 15—30 мкг. Капли наносят последовательно после высыхания предыдущей пока не достигнут в пятне нужного объема и концентрации вещества. После нанесения проб бумагу высушивают и используют для разделения веществ в камере.

Разделение веществ в камере и проявление хроматограмм. Бумагу закрепляют в кювете и наполняют ее растворителем так, чтобы он на 2—3 см не доходил до старта. Камеру закрывают крышкой, края которой для лучшей герметичности заклеивают лейкопластырем.

При хроматографическом разделении веществ необходимо поддерживать температуру $(20—22) \pm 2^\circ\text{C}$. Для этой цели в лабораториях обычно служат термостатированные хроматографические комнаты. При колебаниях температуры четкость проявления веществ на хроматограммах ухудшается.

Продолжительность пропускания растворителя зависит от величины коэффициента R_f разделяемых веществ. При высоких его значениях разделение заканчивается, когда фронт растворителя доходит до края листа бумаги. При значениях $R_f < 0,6—0,7$ время пропускания растворителя увеличивают на 10—12 ч. При точном количественном анализе сложных смесей веществ с близкими значениями величин R_f используют метод многократного (5—7 раз) пропускания растворителя по бумаге. Перед каждым повторным пропусканием хроматограмму высушивают. Аминокислоты можно разделить только тогда, когда значения их коэффициента R_f отличаются не менее чем на 0,05, а сахара — на 0,1—0,2.

После разделения веществ хроматограмму вынимают из камеры и высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре или при температуре $40—60^\circ\text{C}$ в специальных сушильных шкафах, затем удаляют растворитель и обрабатывают ее проявителем путем опрыскивания из пульверизатора или погружая на 3—5 с в проявитель. Некоторые проявители образуют цветные пятна после нагревания.

После проявления хроматограммы пятна должны иметь круглую форму и по окончании разделения занимать такую же площадь, как и при нанесении.

Анализ веществ на хроматограмме. Для качественного анализа используют способ «свидетелей». После проявления зон визуально сопоставляют положение пятен для известных и анализируемых веществ.

Методы количественного анализа основаны: на сравнении площади и интенсивности окраски пятна анализируемого вещества и стандартного («свидетеля»); на элюции (экстрагировании) пятна растворителем и анализе полученного раствора фотометрическим или титриметрическим методом.

Степень окраски пятна определяют визуально с погрешностью $\pm 20—30\%$ или с помощью прибора — денситометра, работающего по принципу фотометрирования, проходящего через хроматограмму светового потока. Затем строят калибровочный график зависимости параметров пятна от массы «свидетеля».

теля» и по графику определяют массу исследуемого вещества. Ошибка метода составляет $\pm 5 - 15 \%$.

Иногда измеряют площадь пятна с помощью планиметра или переносят хроматограммы на миллиметровую бумагу с последующим подсчетом площади пятна. На основании количества вещества, в миллиграммах, и найденного размера площади, в квадратных миллиметрах, строят калибровочный график.

Глава 10

ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Тонкослойная хроматография (ТСХ) отличается от бумажной более высокой чувствительностью (в 10 раз), скоростью и четкостью разделения. Этот вид позволяет определять 0,005—50 мкг веществ, входящих в многокомпонентные смеси в течение 15—90 мин, использовать для идентификации веществ агрессивные проявители и нагревание. Перспективным является метод ТСХ в сочетании с денситометрией. В настоящее время разрабатываются методы автоматизации ТСХ, что позволит значительно повысить воспроизводимость и точность результатов анализа, снизить трудоемкость и повысить производительность метода.

Разделение веществ осуществляется на пластинках, покрытых тонким слоем адсорбента. Последний является неподвижной фазой, а растворители — подвижной.

В ТСХ применяют пластинки с закрепленным, незакрепленным, модифицированным и готовым слоем адсорбента. Для аналитических целей применяют пластинки с толщиной слоя 0,15—0,25 мм. При использовании пластинок с незакрепленным слоем сорбента процесс хроматографирования происходит быстрее, однако слой непрочный. Эффективность ТСХ возрастает при использовании пластинок с готовым закрепленным слоем промышленного производства. Разделение веществ на пластинках так же, как и на бумаге, можно проводить методом восходящей, нисходящей или круговой хроматографии. Применяется одно-, дву- или многократное разделение веществ и др.

Положение пятен на хроматограмме определяют путем измерения R_f и сравнения его со «свидетелями».

Величина R_f при данных определенных условиях опыта зависит от свойств сорбента, степени его зернения, толщины слоя, способа нанесения на пластинку анализируемого веще-

ства (пятно, полоса), количества исследуемого вещества, состава подвижной фазы, степени насыщения камеры растворителем, температуры и влажности, при которых проводится хроматографирование, и других факторов.

Эффективное разделение смесей веществ обуславливается также выбором адсорбента нужного качества, активности и системы растворителей.

При правильном выборе условий хроматографирования вещества должны разделяться на пластинках в области величин $R_f = 0,15-0,85$. Величины $R_f < 0,15$ и $R_f > 0,85$ являются ненадежными при идентификации веществ методом хроматографии в тонком слое сорбента. Самые точные результаты, когда $R_f = 0,50$. Краевым эффектом является увеличение R_f по краям пластинки в камерах, не насыщенных парами подвижного растворителя.

Для проявления хроматограмм используются общие или специфические реагенты. Получают пластинки с флюоресцирующим слоем, которые анализируют в УФ.

Некоторые адсорбенты и растворители, применяемые в ТСХ, приведены в табл. 25. Количественное определение анализируемых соединений можно проводить непосредственно на хроматограмме несколькими методами.

25. Некоторые адсорбенты и растворители, применяемые в ТСХ

Анализируемое вещество	Адсорбент	Растворитель	
		Состав	Соотношение объемов
Аминокислоты	Силикагель, оксид алюминия, крахмал, сефадекс, кизельгур	Этанол — вода	7 : 3
		н-бутанол — уксусная кислота — вода	6 : 2 : 2
Моно-, дитрисахариды	Силикагель, кизельгур (ацетат натрия), кизельгур (фосфат натрия, рН 5)	Фенол — вода	7 : 3
		н-бутанол — уксусная кислота — вода	4 : 5 : 1
		Метилэтилкетон — метанол — уксусная кислота	3 : 1 : 1
		н-бутанол — ацетон — фосфатный буфер с рН 5	4 : 5 : 1

Определение площади пятна. Площадь измеряют при помощи планиметра или миллиметровой бумаги после перенесения контура пятна на прозрачную бумагу. Затем площадь анализируемого пятна сравнивают с площадью пятен стандартов.

Денситометрический метод. Определяют интенсивность проходящего через пластинку или отраженного света. Между количеством определяемого вещества, величиной и плотностью окраски пятна должна быть линейная зависимость.

Метод требует применения особых приборов — денситометров. Можно использовать денситометр марки «БИАН-170». Точность определения зависит от толщины слоя адсорбента на пластинке, влажности слоя, присутствия посторонних веществ и других факторов.

Прямая спектрофотометрия на пластинке. Метод основан на передвижении пластинки с постоянной скоростью по направлению к щели, пропускающей свет определенной длины волны. Его можно использовать для количественного определения соединений, поглощающих в УФ-области спектра. Метод требует применения спектроденситометра.

Прямая флюорометрия на пластинке. Метод основан на измерении флюоресценции или погашении флюоресценции вещества, предварительно нанесенного на сорбционный слой. Требуется применения флюороденситометра.

Количественная хроматография с использованием метода элюирования заключается в переносе сорбента с анализируемым веществом с хроматографической пластинки в приемник, извлечение вещества органическим растворителем и последующее количественное определение его в растворе инструментальным методом. Результаты количественного анализа зависят от чистоты сорбента, растворителей, способа переноса сорбента и других факторов. В настоящее время отдается предпочтение методу непосредственно количественного определения на пластинке.

Техника анализа ТСХ состоит в следующем: подготовка пластин, нанесение проб, разделение веществ в камере и анализ хроматограмм. Пластинки обычно применяют из стекла длиной 10—20 и шириной 4—20 см.

Камерой для хроматографирования является стеклянный сосуд, соответствующий по размерам пластинке с плоским дном. Сверху камеру закрывают шлифованной крышкой или стеклом. Можно использовать эксикатор.

Камера для опрыскивания представляет собой стеклянный колпак диаметром 20—30 см, высотой 40—60 см, установленный с наклоном 5—10°. Пульверизатор — стеклянный. Используются микропипетки емкостью 1 см³ с делениями 0,01 см³ (ГОСТ 1770—83) или медицинский шприц емкостью 1 см³ с делениями 0,02—0,01 см³ для нанесения проб и стандартных растворов на хроматографическую пластинку.

В настоящее время выпускается комплект оборудования КТХ-03, который содержит необходимую аппаратуру

и позволяет наиболее эффективно осуществлять качественную и количественную ТСХ. Толщину слоя можно регулировать в пределах $0,05 \pm 0,02$ мм.

ТЕХНИКА АНАЛИЗА

Подготовка пластинок. Стеклопластиковую пластинку тщательно моют содой, хромовой смесью, водой и сушат в вертикальном положении. Перед нанесением слоя адсорбента ее протирают спиртом. Пластины с закрепленным слоем получают применяя суспензию, состоящую из адсорбента, связующего вещества (фиксатора) и воды.

Для нанесения суспензии на пластинку ее разбрызгивают из пульверизатора, погружают в суспензию или наливают суспензию на пластинку и, покачивая ее, равномерно распределяют слой на поверхности. После нанесения тонкого слоя сорбента пластинку высушивают при комнатной температуре.

В случае необходимости перед хроматографированием тонкий слой сорбента активируют нагреванием в сушильном шкафу. При этом пластинки предварительно высушивают на воздухе во избежание образования в тонком слое трещин. Подготовленные пластинки сохраняют в эксикаторе.

Суспензию, в состав которой входит гипс, необходимо наносить на пластинку не позднее чем через 4 мин после прибавления воды к смеси сорбента и гипса, чтобы избежать затвердения последнего.

Хроматографирование. На пластинке с сорбентом отмечают стартовую линию на расстоянии 1,5 см от узкого края пластинки. Затем с помощью микропипетки, медицинского шприца или пипетки с оттянутым концом на середину стартовой линии помещают пробу в одну точку так, чтобы размер пятна не превышал 10 мм. Пробу наносят осторожным прикосновением пипетки, чтобы слой сорбента при этом не нарушался. Справа и слева от пробы на расстоянии 1,5—2 см наносят с помощью микропипетки стандартные растворы по 2, 5, 10 мкг.

Пластинку со стартовой линией опускают краем в камеру, на дно которой за 30 мин до хроматографирования наливают растворитель в таком количестве, чтобы поставленная вертикально пластинка погружалась в растворитель не более чем на 0,5 см. Сверху камеру закрывают стеклянной крышкой.

После того как растворитель поднимется на 10 (пластинки 9×12 см) или на 16 см (пластинки 13×18 см), пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Далее пластинку опрыскивают проявляющим реагентом и в случае необходимости облучают

УФ-светом. Пластины следует располагать на расстоянии 20 см от источника света.

Результаты разделения веществ и величина коэффициента R_f зависят от степени насыщения камер парами растворителей. Воспроизводимость величин R_f на пластинках, внесенных в камеры, ненасыщенные парами растворителей, меньше, чем при хроматографировании в насыщенных парами камерах. Для насыщения камеры парами растворителя рекомендуется на задней стенке камеры прикрепить смоченный растворителем лист фильтровальной бумаги, доходящий до дна сосуда, плотно закрыть камеру крышкой и оставить на 30—40 мин.

Для каждого разделения применяют свежую порцию растворителей, так как после хроматографирования изменяется состав смеси растворителей: одна часть их переходит на пластинки, другая — испаряется (причем одни растворители улетучиваются в больших количествах, другие — в меньших).

При количественном определении веществ ТСХ могут возникать ошибки за счет неточного измерения объемов растворов, нанесенных на хроматографические пластины. Даже при самом тщательном измерении объемов возможна ошибка за счет стекания раствора с наружной поверхности иглы шприца или пипетки. Ошибки могут возникнуть за счет капиллярных явлений в тонком слое сорбента, с которым соприкасается игла шприца или пипетка при нанесении исследуемых растворов.

МЕТОД АНАЛИЗА УГЛЕВОДОВ МЕЛАСНОЙ БРАЖКИ

Для разделения углеводов меласной бражки наиболее подходящим сорбентом является силикагель. Для устойчивости сорбента в водную суспензию добавляют гипс. Стационарной фазой служит вода.

Аппаратура, материалы, реактивы: пластины размером 11 × 17,5 см; сито с диаметром отверстий 0,10 и 0,07 мм; спирт бутиловый; кислота уксусная 98%-ная; эфир этиловый; этиловый спирт; 5%-ный спиртовой раствор О-толуидина; 0,2%-ный нафторезорцин в ацетоне; 1 н. раствор соляной кислоты; силикагель марки КСК; гипс медицинский.

Проведение испытания. Силикагель размачивают и просеивают через сито 150 или 200 мм (размер отверстия сита соответственно 0,10 или 0,07 мм). Для получения сорбционной массы смешивают сорбент, содержащий 5 % гипса, с дистиллированной водой в отношении 1 : 2.

Сорбционную массу из силикагеля марки КСК для пластины размером 11 × 17,5 см с толщиной слоя около 0,3 мм го-

товят следующим образом. Берут 6,9 г силикагеля, 0,35 г медицинского гипса и 18 см³ воды и все тщательно растирают в ступке. Полученную сорбционную массу выливают на стекло и разравнивают ровным слоем при помощи шпателя.

Наиболее четкие хроматограммы получаются при использовании повторного хроматографирования в двух системах растворителей: спирт бутиловый — кислота уксусная 98 %-ная — вода (4 : 1 : 5) и спирт бутиловый — кислота уксусная 98 %-ная — эфир этиловый — вода (9 : 6 : 3 : 1).

Ниже приведены числовые значения величины коэффициента R_f углеводов, содержащихся в мелассной бражке.

Углеводы	Значение R_f
Мелибиоза	0,20
Рафиноза	0,28
6-кестоза	0,31
1-кестоза + неокестоза	0,35
Сахароза	0,42
Галактоза	0,50
Глюкоза	0,52
Фруктоза	0,56
Ксилоза	0,63
Ангидрид фруктозы	0,71

Значения коэффициента R_f некоторых сахаров на хроматограммах близки между собой, что затрудняет их идентификацию. Поэтому целесообразно проявлять параллельные хроматограммы двумя реагентами, специфичными для альдоз и кетоз. Для проявления альдоз применяют 5 %-ный спиртовой раствор 0-толуидина, для кетоз — 0,2 %-ный раствор нафторезорцина в ацетоне.

Идентификацию углеводов бражки проводят по способу «свидетелей» путем сравнения значений коэффициента R_f отдельных компонентов испытуемого раствора и химически чистых сахаров. В качестве свидетелей применяют водные растворы фруктозы, глюкозы, рафинозы, ксилозы, арабинозы и галактозы. В качестве R_f метчика мелибиозы используют нейтрализат гидролизованного 1 %-ного раствора рафинозы. Гидролиз проводят 1 н. раствором соляной кислоты в течение 10 мин на кипящей водяной бане. В гидролизатах содержатся фруктоза и мелибиоза. «Свидетель» кестозу получают путем действия β -фруктофуранозидазы дрожжей на чистую сахарозу при ее инкубировании в течение 10 мин при температуре 30 °С. В инкубационной среде содержатся сахароза, глюкоза, фруктоза и три изомерных формы кестозы: 1-кестоза, неокестоза и 6-кестоза. Пробу бражки наносят на пластину в минимальном количестве (5—7 мкг). «Свидетели» наносят с таким

расчетом, чтобы количество сахара в пробе составляло 0,6 мг. Для количественного анализа используют один из приведенных методов.

Глава 11

ОХРАНА ТРУДА И ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

Работа в химических лабораториях связана с применением сильных кислот, щелочей, ядовитых, огнеопасных, взрывоопасных реактивов. Анализы проводят при высоких температурах с использованием электрических приборов, механизмов, стеклянной посуды и др. Все это требует особого внимания к охране труда, технике безопасности и противопожарным мероприятиям. При правильной организации работы и соблюдении правил техники безопасности возможность возникновения пожаров, взрывов может быть полностью исключена или сведена к минимуму.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА

К работе в лаборатории допускаются лица, прошедшие инструктаж по технике безопасности. К работе с приборами, специальными установками, центрифугами, лабораторным электрооборудованием допускаются лица, изучившие правила их эксплуатации.

В лаборатории должны быть обеспечены безопасные условия труда и требования санитарии. Необходимо иметь отдельные помещения для хранения кислот, щелочей, ядовитых, огнеопасных реактивов, образцов проб. В помещении должны быть противопожарные средства.

В лаборатории нельзя хранить и есть пищу, курить, пользоваться косметикой. Неаккуратность, невнимательность, недостаточное ознакомление с приборами и свойствами используемых реактивов может привести к несчастному случаю. Работать в лаборатории необходимо в халатах. Для работы с опасными реактивами следует иметь спецодежду: передники, защитные очки, резиновые перчатки. Все приборы должны быть заземлены. Запрещается пользоваться неисправными приборами и электрооборудованием. Все вращающиеся детали установки должны быть ограждены. Запрещается оставлять действующий прибор или установку без надзора.

В помещениях необходимо строго контролировать сохранность электропроводки, исправность электроприборов. Нельзя пользоваться электроплитками с открытой спиралью, долж-

на быть полностью исключена возможность искрообразования.

На всех бутылках, склянках и другой таре для хранения реактивов и материалов должны быть четкие надписи. Запрещается выливать в раковины остатки кислот, щелочей, растворителей, нагревать или охлаждать жидкости в герметически закрытых сосудах.

При перегонке жидкостей нужно внимательно следить за установкой, холодильником, регулируя подачу охлаждающей воды.

Едкие ядовитые, летучие вещества отбирают пипеткой с грушей или автоматической. Запрещается отбирать реактивы с помощью пипетки ртом, наклоняться над сосудом с кипящей жидкостью. Нагревая жидкость в пробирке, последнюю следует держать отверстием в сторону от себя и работающих рядом. При переносе горячих колб, стаканов, тиглей необходимо под дно подложить асбестовую подставку и держать их на некотором расстоянии от себя, тигли следует поддерживать щипцами. Закрывая колбу пробкой, необходимо поддерживать ее. Нельзя закрывать колбу пробкой, поддерживая ее на ладони, так как колба может лопнуть и вызвать порезы.

Под действием спирта, бензола, ацетона и эфира резиновые пробки сильно набухают, а от паров йода и брома они становятся хрупкими, теряют эластичность. Для этих жидкостей рекомендуются притертые стеклянные пробки.

Работы, связанные с опасностью разбрызгивания горячих жидкостей, воспламенения, следует выполнять стоя.

Запрещается переносить склянки с едкими, ядовитыми или горючими веществами, поддерживая их за горлышко. Склянку всегда надо поддерживать снизу.

ПРАВИЛА РАБОТЫ С КИСЛОТАМИ, ЩЕЛОЧАМИ, ЯДОВИТЫМИ РЕАКТИВАМИ

Все концентрированные растворы кислот должны храниться в специальных склянках с притертыми пробками, поверх которых надевают притертый колпак.

Щелочи следует хранить в широкогорлых банках из темного оранжевого стекла, закрытых корковыми пробками, залитых поверх слоем парафина. Нельзя закрывать их стеклянными притертыми пробками, так как это приводит к их заклиниванию и опасности при открывании. Открывать сосуды с концентрированными кислотами, щелочами и готовить растворы из них разрешается только в вытяжных шкафах с включенной принудительной вентиляцией. Щелочи следует брать только с помощью шпателей.

Бутыли с кислотами и другими едкими щелочами следует переносить вдвоем в специальных корзинах или ящиках или подвозить их на специальных тележках.

В процессе приготовления растворов из кислот кислоту следует прибавлять в воду, а не наоборот, во избежание разбрызгивания раствора. Для переливания кислот, растворов щелочей из бутылей следует пользоваться специальными сифонами.

Разлитую кислоту необходимо засыпать сухим песком, затем снять его лопаткой, засыпать пищевой содой для нейтрализации, убрать соду и хорошо промыть участок водой. Разлитую щелочь также необходимо засыпать опилками, затем удалить их, залить участок разбавленной уксусной кислотой и хорошо промыть водой. Уборку следует проводить в резиновых перчатках.

При работе с кислотами и щелочами особенно следует беречь глаза.

Опасные ожоги возникают при попадании на кожу азотной, серной, соляной кислот и окислов азота. Особенно опасны пары азотной кислоты и окислы азота при попадании их в дыхательные пути. При этом наблюдается сильная сухость слизистых дыхательных путей, приступы удушья, которые сопровождаются нарастанием кашля, ухудшением общего самочувствия и слабостью.

Сильное раздражение дыхательных путей, слезотечение, насморк, кашель, повышенное слюноотделение, потеря голоса могут возникнуть при вдыхании паров аммиака (из баллона). Чрезвычайно опасно для организма вдыхание паров брома, при отравлении которыми наблюдаются сильный кашель, носовое кровотечение, головокружение, головная боль, а в некоторых случаях охриплость голоса и удушье.

ПРАВИЛА РАБОТЫ С ОГНЕОПАСНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Легковоспламеняющиеся жидкости, за исключением веществ, имеющих низкую температуру кипения, должны храниться в вентилируемом металлическом ящике с плотно закрывающейся крышкой, стенки и дно которого выложены асбестом, в толстостенной посуде с притертыми пробками.

Все работы с легковоспламеняющимися веществами и горючими жидкостями должны проводиться в вытяжном шкафу при работающей вентиляции и обязательно при выключенных электроприборах и нагревательных источниках.

Экстракцию органическими растворителями, перегонку и нагревание низкокипящих огнеопасных веществ (эфир, спирты) следует проводить в круглодонных колбах из туго-

плавкого стекла на водяной (или с другим теплоносителем) бане.

В лаборатории категорически запрещается хранение низкокипящих веществ (петролейный эфир, дивинил, изопрен и т. д.). По окончании работы эти вещества должны быть вынесены в специальное помещение на хранение.

Этиловый эфир следует хранить изолированно от других веществ в холодном и темном помещении, так как при хранении этилового эфира на свету образуется взрывчатое вещество — перекись этила.

ПРАВИЛА РАБОТЫ С ЭТИЛОВЫМ СПИРТОМ

Этиловый спирт — легковоспламеняющаяся бесцветная жидкость. Температурные пределы взрываемости насыщенных паров в воздухе: нижний 11, верхний 41 °С. Концентрационные пределы взрываемости при 101,3 кПа (760 мм рт. ст.) составляют 19 об. %.

При отборе проб категорически запрещается применять открытый огонь, курить. К отбору проб допускаются лица, хорошо знающие свойства спирта, правила техники безопасности и пожарной безопасности при обращении с ним.

В целях предотвращения вдыхания паров спирта пробоотборщик должен становиться боком к ветру.

Нагревать колбы с горючими жидкостями на открытом огне запрещено. При нагревании свыше 0,5 см³ легковоспламеняющейся жидкости необходимо под прибор ставить кювету достаточной емкости для предотвращения разлива жидкости по столу в случае аварии.

Сосуды, в которых проводились работы с горючими жидкостями, после окончания опыта необходимо немедленно промыть.

При случайных проливах огнеопасных жидкостей необходимо немедленно выключить все нагревательные приборы и пролитую жидкость засыпать песком. Загрязненный песок следует собрать деревянным или пластмассовым совком; применение стального совка запрещается.

В случае воспламенения горючей жидкости необходимо: немедленно выключить электронагревательные приборы и вентиляцию; применить соответствующие эффективные средства пожаротушения; при возникновении пожара вызвать пожарную охрану; вынести из помещения все сосуды с огнеопасными веществами и баллоны со сжатыми газами.

Горючие жидкости нельзя сливать в канализацию. Их нужно регенерировать или уничтожать, (например сжигать)

в специально отведенном месте при соблюдении соответствующих правил безопасности.

В сушильных шкафах нельзя испарять горючие жидкости или сушить содержащие их осадки.

После окончания отбора проб крышку люка цистерны следует осторожно закрыть, не допуская удара. Отбор проб спирта на открытом воздухе во время грозы, сильных атмосферных осадков и бури запрещается.

При работе со спиртом должны выполняться требования, предъявляемые к температуре помещения и содержанию паров спирта по ГОСТ 12.1.005—76. Предельно допустимая концентрация паров спирта в воздухе производственных помещений (ПДК) — 1000 мг/м³.

В качестве первичных средств тушения используют химические огнетушители ОХП-10, огнетушители марки ОУ-8, песок, войлочную или асбестовую кошку. В качестве средств индивидуальной защиты используют фильтрующий промышленный противогаз с фильтрующей коробкой А по ГОСТ 23111—78.

ПРАВИЛА РАБОТЫ С ГАЗОВЫМИ БАЛЛОНАМИ

Необходимо строго соблюдать правила работы с газовыми баллонами. Маркировка газовых баллонов приведена в табл. 26.

26. Маркировка газовых баллонов

Газ	Окраска	Цвет полосы	Цвет надписи
Азот	Черная	Коричневый	Желтый
Аргон	Серая	—	Синий
Аммиак	Желтая	—	Черный
Водород	Темно-зеленая	—	Красный
Воздух	Черная	—	Белый
Гелий	Коричневая	—	Белый
Кислород	Голубая	—	Черный
Диоксид углерода	Черная	—	Белый
Углеводород и прочие горючие газы	Красная	—	Белый

Боковые штуцеры у вентилей баллонов, наполненных горючими газами, имеют левую резьбу, наполненных инертными газами и кислородом, — правую.

При работе со сжатыми и растворенными газами необходимо выполнять следующие правила: баллоны можно переносить

сильно только на носилках, приспособленных для этих целей (переносить на плечах категорически запрещается); на всех баллонах при их перемещении должны быть колпачки, во избежание взрывов нельзя подвергать баллоны толчкам и ударам: в комнате должно находиться минимальное количество баллонов с газами под давлением.

Баллоны с аммиаком и другими газами, обладающими ядовитыми свойствами, устанавливаются в помещении с хорошей вентиляцией. Одновременное хранение в одной лаборатории баллонов с кислородом и горючими газами запрещается.

Баллоны с водородом следует хранить в отдельном складе снаружи помещения с разводкой требуемых газов по лабораториям. Баллоны с газами не должны соприкасаться с электрическими проводами или находиться вблизи нагревательных приборов.

Допускается устанавливать баллоны не ближе 1 м от радиаторов отопления и других нагревательных приборов и не ближе 1,5 м от газовых плит и других газовых устройств. Нельзя ставить баллоны на места, освещаемые прямым солнечным светом.

Баллоны с кислородом рекомендуется устанавливать в местах, где исключено попадание на них масел и жиров. Баллоны должны находиться в чистоте и храниться в вертикальном положении, вверх вентилями.

Работая со сжатыми и сжиженными газами, необходимо тщательно укрепить баллоны, остерегаясь их падения, так как возможен взрыв (во избежание этого их следует прикреплять скобками к стене). Надо внимательно следить за маркировкой баллонов.

Газ из баллонов следует подавать только через исправный редуктор, предназначенный для данного газа. Вентиль баллона рекомендуется открывать медленно. Пользуясь газом из баллона, нужно следить, чтобы в нем оставалось избыточное давление не менее 0,5 Па.

ОКАЗАНИЕ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ ПРИ НЕСЧАСТНЫХ СЛУЧАЯХ

Для оказания первой помощи при несчастных случаях в лаборатории необходимо иметь аптечку с перевязочными средствами и некоторыми медикаментами. В серьезных случаях после оказания первой помощи пострадавший должен быть направлен в лечебное учреждение. Каждый работающий обязан знать меры оказания первой помощи.

При ожоге кислотами необходимо быстро промыть обожженное место сильной струей воды, а затем обработать раство-

ром питьевой соды. При ожоге щелочами обожженное место нужно обильно промыть водой, пока кожа не перестанет быть скользкой, 1%-ным раствором уксусной кислоты, а затем наложить повязку из ваты, смоченной раствором танина или перманганата калия. При химических ожогах глаз кислотой или щелочью необходимо немедленно промыть глаза обильной струей воды и отправить пострадавшего к врачу. При ожогах фенолом пораженное место надо немедленно промыть этиловым спиртом, а затем теплой водой с мылом, после этого наложить повязку с борным вазелином. При ожогах бромом пораженное место быстро промывают водой или спиртом, затем накладывают компресс из 5%-ного раствора тиосульфата натрия. При термических ожогах обожженное место следует смочить этиловым спиртом или раствором перманганата калия, затем нанести мазь от ожогов.

При отравлении сероводородом пострадавшего следует вынести на свежий воздух или дать ему подышать кислородом, а при потере сознания сделать искусственное дыхание. Внутрь необходимо принять чайную ложку 2%-ного раствора H_2O_2 . При отравлении ртутью и ее солями необходимо вовнутрь принять сырые яйца, взбитые в молоке, вызвать рвоту. При отравлении хлором, бромом, йодом, плавиковой кислотой пострадавшего необходимо вынести на свежий воздух или дать ему подышать кислородом, а затем парами аммиака. Рот и нос промыть 2—3%-ным раствором питьевой соды и обеспечить полный покой. При отравлении кислотами у пострадавшего надо вызвать рвоту, рот прополоскать водой и 5%-ным раствором питьевой соды и выпить молоко. При отравлении щелочами следует вызвать рвоту, выпить 1—2%-ный раствор уксусной или лимонной кислоты. При отравлении солями мышьяка пострадавшему следует вызвать рвоту, выпить сырые яйца. При отравлении солями свинца, меди, бария, кадмия надо вызвать рвоту, выпить активированный уголь с водой или молоко, или яичный белок.

А. с. 275029 (СССР).

Айвазов Б. В. Основы газовой хроматографии.— М.: Высш. шк., 1977.— 188 с.

Алексеев Р. И., Коровин Ю. И. Руководство по вычислению и обработке результатов количественного анализа.— М.: Высш. шк., 1972.— 200 с.

Алимарин И. П., Ушакова Н. Н. Справочное пособие по аналитической химии.— М.: Изд.-во МГУ, 1977.— 200 с.

Барковский В. Ф., Городенцева Т. Б., Топорова Н. Б. Основы физико-химических методов анализа: /Под общ. ред. В. Ф. Барковского.— М.: Высш. шк., 1983.— 247 с.

Бурдун Г. Д. Справочник по международной системе единиц. 2-е изд. доп.— М.: Изд.-во стандартов, 1977.— 232 с.

Васильев В. П. Теоретические основы физико-химических методов анализа.— М.: Высш. шк., 1979.— 140 с.

Великая Е. И., Суходол В. Ф. Лабораторный практикум по курсу общей технологии бродильных производств: (Общие методы контроля).— 2-е изд., перераб. и доп.— М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983.— 312 с.

Кац А. М., Конторович А. С. Руководство по приборам и оборудованию для медико-биологических исследований.— Л.: Медицина. Ленингр. отд-ние, 1976.— 255 с.

Коростелев П. П. Лабораторная техника химического анализа/ Под общей ред. А. И. Бусева.— М.: Химия, 1981.— 312 с.

Коцев Н. А. Справочник по газовой хроматографии: Пер. с болг.— М.: Мир, 1976.— 200 с.

Крешков А. П., Ярославцев А. А. Курс аналитической химии. Количественный анализ/Под ред. А. П. Крешкова, 5-е изд., испр.— М.: Химия, 1982.— 312 с.

Коваль В. Г., Бойко Л. М., Ковальчук Е. П. Дистилляционно-колориметрический метод определения содержания глицерина в биологических средах.— Спирт. и ликеро-водоч: пром-сть: Науч.-техн. реф. сб. /ЦНИИТЭИпищепром. М., 1978, № 4, с. 12—16.

Киселев А. В., Яшин Я. И. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография.— М.: Химия, 1979.— 287 с.

Корольюк Т. А. Исследование углеводного состава бражки и разработка оперативного метода контроля сбраживаемых сахаров в производстве спирта из мелассы: Автореф. дис...канд. техн. наук.— М. 1978.— 28 с.

Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов /И. М. Грачева, Ю. П. Грачев, М. С. Мосичев и др.— М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1982.— 239 с.

Мусакин А. П., Рачинский Ф. Ю., Суглобова К. Д. Оборудование химических лабораторий. Справочник.— Л.: Химия. Ленингр. отд-ние, 1978.— 480 с.

Номенклатурные правила ИЮПАК по химии.— М.: ВИНТИ, 1972.— Т. I.— 287 с.

Пономарев В. Д. Аналитическая химия: В 2-х ч. Ч. 2. Количественный анализ.— 288 с.

Рачинский Ф. Ю., Рачинская М. Ф. Техника лабораторных работ.— Л.: Химия, Ленингр. отд-ние, 1982.— 432 с.

Рухлядева А. П., Польшалина Г. В. Методы определения активности гидролитических ферментов.— М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1981.— 283 с.

Рухлядева А. П., Филатова Т. Г., Чередниченко В. П. Справочник для работников лабораторий спиртовых заводов.— М.: Пищ. пром-сть, 1979.— 231 с.

Рухлядева А. П., Листова З. А. Справочное пособие для лаборантов-химиков ликеро-водочных заводов.— М.: Пищ. пром-сть, 1977.— 216 с.

Столяров Б. В., Савинов И. М., Виненберг А. Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии.— Л.: Химия, Ленингр. отд-ние, 1978.— 284 с.

Тюрин Н. И. Введение в метрологию.— М.: Изд-во стандартов, 1976.— 320 с.

Ушакова Н. Н., Николаева Е. Р., Моросанова С. А. Пособие по аналитической химии.— М.: Изд-во МГУ, 1978.— 223 с.

Фертман Г. И., Муравицкая Л. В. Справочник для работников лабораторий пивоваренных заводов.— М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1982.— 208 с.

Цитович И. К. Аналитическая химия.— М.: Колос, 1982.— 308 с.

Чарыков А. К. Математическая обработка результатов химического анализа.— Л.: Изд-во ЛГУ, 1977.— 120 с.

Широков К. П., Богуславский М. Г. Международная система единиц /Под ред. Ю. В. Тарбеева.— М.: Изд-во стандартов, 1984.— 112 с.

Химико-технологический контроль производства солода и пива /П. М. Мальцев, Е. И. Великая, М. В. Зазирная, П. В. Колотуша.— М.: Пищ. пром-сть, 1976.— 446 с.

Предисловие	3
Глава 1. Общая характеристика физико-химических методов анализа	5
Значение, сущность, классификация и точность	5
Анализ ошибок	11
Общие правила выполнения физико-химических методов анализа	12
Правила работы с приборами	12
Организация лабораторных работ	12
Отбор проб	13
Поверка приборов	14
Обработка результатов анализа, классификация ошибок	14
Математическая обработка результатов анализа	16
Глава 2. Рефрактометрия	19
Характеристика рефрактометров	21
Общие правила рефрактометрического анализа	28
Техника измерений	30
Метод определения содержания сухих веществ мелассы	32
Метод определения содержания спирта в производственных дрожжах и бражке	34
Глава 3. Интерферометрия	36
Характеристика интерферометров	37
Общие правила интерферометрического анализа	39
Техника измерений	40
Метод определения содержания спирта в бражке (метод ВНИИПрБ)	41
Метод определения крепости ликеро-водочных изделий	42
Метод определения содержания общего экстракта в ликеро-водочных изделиях	45
Глава 4. Поляриметрия	46
Характеристика поляриметров	49
Общие правила поляриметрического анализа	51
Техника измерений	53
Метод определения суммы сбраживаемых сахаров мелассы	54
Определение прямой поляризации	57
Определение инверсионной поляризации	58
Определение содержания инвертного сахара	59
Методы определения условной крахмалистости сырья спиртовой промышленности	61
Определение условной крахмалистости зерна с применением соляной кислоты	62
Определение условной крахмалистости пшеницы с применением хлорида кальция	64
Метод определения осаживающей активности солода (метод ВНИИПрБ)	65

Метод определения глюкоамилазной активности ферментных препаратов (метод ВНИИПрБ)	69
Глава 5. Фотоколориметрия	74
Характеристика фотоколориметров	78
Общие правила фотоколориметрического анализа	84
Техника измерений	86
Метод определения амилолитической активности солода (метод ВНИИПрБ)	87
Метод определения глюкоамилазной активности ферментных препаратов	90
Метод определения протеолитической активности ферментных препаратов	93
Метод определения цветности мелассы (метод УкрНИИСП)	96
Метод определения содержания сахара в спиртованных соках и морсах (метод ВНИИПрБ)	97
Метод определения прозрачности спиртованных плодовых соков (метод ВНИИПрБ)	99
Метод определения содержания несброженных сахаров в мелассной бражке (метод УкрНИИСП)	101
Методы определения содержания углеводов в полупродуктах из крахмалистого сырья (метод ВНИИПрБ)	103
Определение несброженных углеводов в бражке	105
Определение суммарного содержания сбраживаемых углеводов	105
Определение спирторастворимых сахаров и декстринов	106
Методы определения содержания глицерина в полупродуктах спиртового производства (метод УкрНИИСП)	108
Определение содержания глицерина в сбраживаемых зерно-картофельных средах	113
Определение содержания глицерина в сбраживаемых мелассных растворах	116
Методы определения примесей в спирте и водке	116
Определение содержания альдегидов	117
Определение содержания сивушного масла	121
Определение содержания сложных эфиров	124
Определение содержания метилового спирта	126
Метод определения цвета ликеро-водочных изделий	129
Глава 6. Спектрофотометрия	138
Характеристика спектрофотометров	138
Общие правила спектрофотометрического анализа	141
Техника измерений	142
Метод оценки качества этилового спирта и водки (метод ВНИИПрБ)	144
Глава 7. Потенциометрия	145
Показатель pH и его роль в контроле бродильных производств	145
Основы потенциометрического анализа	147
Характеристика потенциометров	150
Общие правила потенциометрического анализа	151
Техника измерений	152
Метод определения pH мелассы	152