

Красноярский государственный аграрный университет

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА
АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ СЫРЬЯ
И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ**

Красноярск 2006

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Красноярский государственный аграрный университет

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА
АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ СЫРЬЯ
И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ**

Методические указания

Красноярск 2006

Рецензент
Бойченко М.В., канд. биол. наук, доцент

Составитель Хохлова А.И.

Хохлова, А.И. Использование рефрактометрического метода анализа для исследования свойств сырья и продуктов питания: метод. указания / А.И. Хохлова; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2006. – 14 с.

Предназначены для студентов факультета пищевой и перерабатывающей промышленности.

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Красноярского государственного аграрного университета

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Рефрактометрический метод один из старейших оптических методов анализа, он применяется для быстрого определения концентрации водных, спиртовых, эфирных и других растворов. Преимуществами метода являются простота, точность, быстрота, возможность проведения анализа в малом объеме вещества, возможность автоматизации контроля. Рефрактометрический метод применяется для определения массовой доли сухих веществ пищевых продуктов. Он введен ГОСТами при анализе патоки, меда, повидла, варенья, подварок, для определения массовой доли сахара, жира в жмыхах, масличных семенах. Применяется для идентификации некоторых видов жиров, контроля процесса фракционирования масел, для экспресс - определения содержания глицерина в его водных растворах, быстрого определения кислотных чисел при контроле процесса гидролиза и для других целей (кислотное число КЧ – количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира). Кислотное число масел и жиров является одним из качественных показателей, нормируется стандартами и нормативными документами, зависит от качества сырья, способа получения масла и жира, условий их хранения и других факторов.

Сущность метода заключается в следующем. Если луч света переходит из одной среды в другую и плотность этих сред различна, то он частично отражается от поверхности раздела, а частично переходит во вторую среду, изменяя при этом свое первоначальное направление, т.е. преломляется. Показателем (коэффициентом) преломления n называется отношение синусов угла падения и преломления

$$n_{2 \text{ (отн.)}} = \frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2}$$

Правильнее: величину n_2 называют n_2 (отн.) относительным показателем (коэффициентом) преломления второй среды по отношению к первой. Показатель преломления по отношению к вакууму называют абсолютным показателем преломления.

$$n_{2 \text{ (абс.)}} = \frac{\sin \alpha \text{ (вакуум)}}{\sin \alpha_2}$$

$$\text{или } n_{1 \text{ (абс.)}} = \frac{\sin \alpha \text{ (вакуум)}}{\sin \alpha_1},$$

$$\text{то } n_{2 \text{ (отн.)}} = \frac{\sin \alpha_2}{\sin \alpha_1} = \frac{\sin \alpha \text{ (вакуум)} n_{2 \text{ (абс.)}}}{n_{1 \text{ (абс.)}} \sin \alpha_1} = \frac{n_{2 \text{ (абс.)}}}{n_{1 \text{ (абс.)}}},$$

т.е. относительный показатель преломления равен отношению абсолютных показателей преломления. Из уравнения получим другую формулу записи закона преломления:

$$n_{1 \text{ (абс.)}} \cdot \sin \alpha_1 = n_{2 \text{ (абс.)}} \cdot \sin \alpha_2.$$

Относительный показатель преломления по отношению называют просто показателем преломления n

$$n_{1 \text{ (абс.)}} = n_{1 \text{ (абс.)}} \text{ (возд.)} \cdot n_1.$$

При атмосферном давлении и комнатной температуре $n_{\text{ (абс.) (возд.)}} = 1,00027$, поэтому $n_{\text{ (абс.)}} = 1,00027 \cdot n$.

Если луч света переходит из вакуума или из воздуха в другую среду, то угол падения всегда больше угла преломления, так как коэффициент преломления среды больше коэффициента преломления вакуума или воздуха. С увеличением угла падения светового луча увеличивается угол его преломления. При угле падения 90° , когда луч скользит по разделу двух сред, угол преломления будет иметь наибольшее значение, называемое предельным углом преломления. При обратном направлении луча из среды с большим коэффициентом преломления в среду с меньшим его значением угол, при котором луч света полностью отражается от поверхности, называется углом полного внутреннего отражения. Предельный угол преломления и угол полного внутреннего отражения абсолютно равны. Зная величину любого из этих углов α и показатель преломления одной среды n_1 можно определить показатель преломления другой n_2 , исходя из формулы:

$$\sin \alpha = \frac{n_1}{n_2}.$$

Показатель преломления определяют на приборах, называемых рефрактометрами.

Конструкция большинства рефрактометров, применяемых в пищевой промышленности для определения показателей преломления

жидкостей, основана на измерении предельного угла преломления. Основная деталь таких приборов – призма с точно известным показателем преломления.

Коэффициент преломления является одной из характерных констант вещества, он зависит от природы вещества, а также от длины волны падающего света и температуры окружающего воздуха (рис. 1).

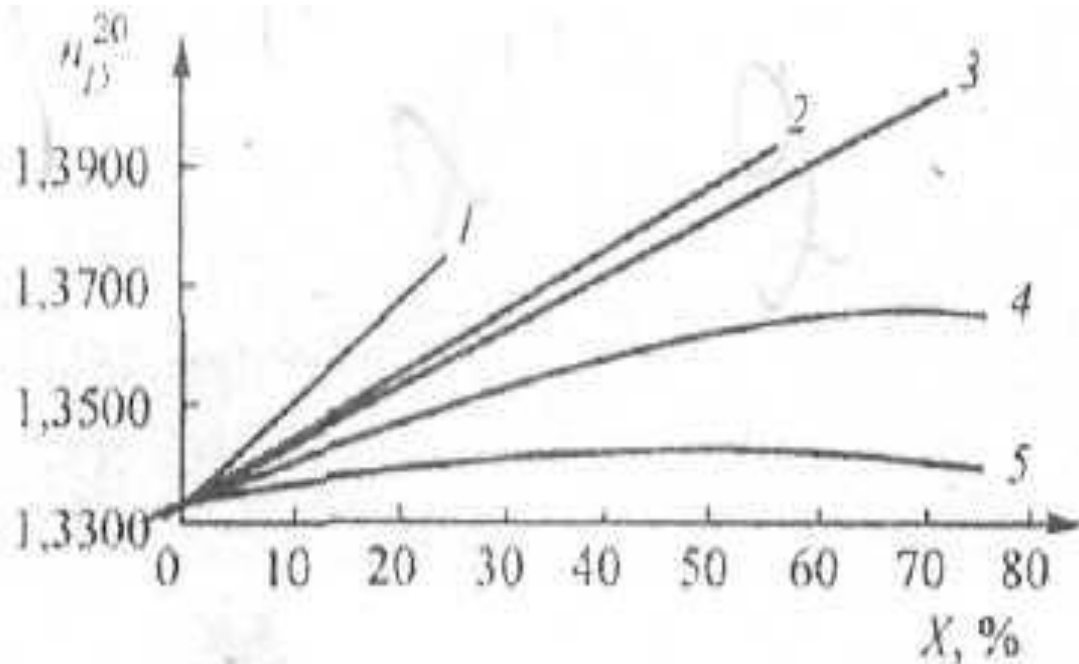


Рис.1 Зависимость показателя преломления n_D^{20} водных растворов от содержания X , % растворенных веществ: 1 – NaCl; 2 – CaCl; 3 – этиленгликоль; 4 – этанол; 5 – метанол.

Коэффициент преломления при прочих равных условиях зависит от концентрации раствора: чем выше концентрация раствора, тем больше значение коэффициента преломления. Для определения концентрации раствора используют метод градуировочного графика, который строится в координатах: показатель преломления – концентрация раствора.

Применение метода в количественном анализе основано на использовании зависимости между показателем преломления (светопреломления) n анализируемого раствора и содержанием X определяемого вещества в этом растворе. Зависимость показателя преломления от концентрации раствора может быть линейной и нелинейной (рис.1).

Если в некотором интервале изменений X и n эта зависимость линейна, то выполняется соотношение $X = \frac{n - n_0}{F}$,

где n – показатель преломления раствора;

n_0 – показатель преломления чистого растворителя (для $H_2O \times n_D^{20} = 1,3330$; $n_0^{25} = 1,3325$);

F – фактор, равный величине прироста показателя преломления раствора при увеличении содержания растворенного вещества на 1%.

Фактор F находится экспериментально. Для этого измеряют значения показателей преломления n_1 и n_2 двух растворов с концентрацией (%) определяемого вещества X_1 и X_2 , расчет по формуле:

$$F = \frac{n_2 - n_1}{x_1 - x_2}.$$

Значения n_1 и n_2 выбирают так, чтобы величина n испытуемого раствора лежала ближе к n_1 и n_2 , а интервал и $n_2 - n_1$ был бы по возможности минимальным. Например, показатели преломления n_D^{20} водного раствора $CaCl_2$ при его содержании $X_1 = 2,40\%$, $X_2 = 5,00\%$, $n_1 = 1,3360$, $n_2 = 1,3390$,

$$\text{тогда } F = \frac{n_2 - n_1}{x_2 - x_1} = \frac{1,3390 - 1,3360}{5,00 - 2,40} = 0,001154.$$

Так как показатель преломления зависит от t и длины волны света, то определения будут при длине волны 589,3Нм (дублет 589,0 и 589,6Нм) линии D при $t 20^\circ \pm 0,3^\circ C$.

Для показателей преломления всегда необходимо указывать, какой длине волны они соответствуют. Обычно определяют показатели преломления при монохроматическом источнике света – для желтого луча D натриевого пламени с длиной волны 589,3 Нм температура определения должна составлять $20^\circ C$. Символ показателя преломления изображают с подстрочным и надстрочным индексами, например n_D^{20} означает показатель преломления при температуре $20^\circ C$ для желтой спектральной линии натрия, линия D (длина волны 589,3Нм). При отклонении температуры измерения от $20^\circ C$ вводят температурные поправки.

Для определения массовой доли сухих веществ применяют универсальный рефрактометр УРЛ первой модификации и марки РПЛ-3, имеющие шкалу содержания (массовой доли) сухих веществ по сахарозе в %, и прецизионный рефрактометр марки РПЛ-2, в котором показания даются в условных единицах шкалы. Кроме того, можно пользоваться рефрактометром УРЛ второй модификации для измерения показателя преломления в пределах значений 1,65-2,1 и рефрактометром ИРФ-22 для определения этого показателя в интервале 1,3-

1.7 в проходящем свете. По найденным значениям показателя преломления по специальным таблицам определяют массовую долю сухих веществ в процентах.

При использовании рефрактометра следует иметь в виду, что с его помощью определяют не истинное, а видимое содержание сухих веществ, поэтому в зависимости от химического состава продукта вводят поправку, учитывающую отклонение определяемой на рефрактометре величины от истинного содержания сухих веществ.

Определение массовой доли сухих веществ выполняется на рефрактометре, имеющемся в лаборатории. Ознакомимся с некоторыми из них.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ СУХИХ ВЕЩЕСТВ НА РЕФРАКТОМЕТРЕ РПЛ-3

Рефрактометр пищевой лабораторный РПЛ-3 (рис.2) состоит из двух призм – осветительной и измерительной, заключенных в пустотелую камеру. Верхняя осветительная призма, соединенная шарниром, откидывается в бок и позволяет поместить несколько капель исследуемой жидкости на поверхность измерительной призмы. Через камеры призм во время определения пропускают воду для установления строго определенной температуры, которая фиксируется термометром. Нормальной считается температура 20°С. Концентрацию сухих веществ можно определять при температуре от 15 до 30°С, вводя температурную поправку по соответствующим таблицам.

На передней стенке корпуса имеется продолговатая прорезь, в которой укреплены две шкалы: слева – шкала показателей преломления, справа – шкала сухих веществ от 0 до 95%, отградуированная по сахарозе. Для получения четкого изображения шкалы вдвигают или выдвигают окуляр. Для устранения дисперсии света и расплывчатой границы между светлым и темным полем зрения служит компенсатор, расположенный на одной оси с рычагом окуляра.

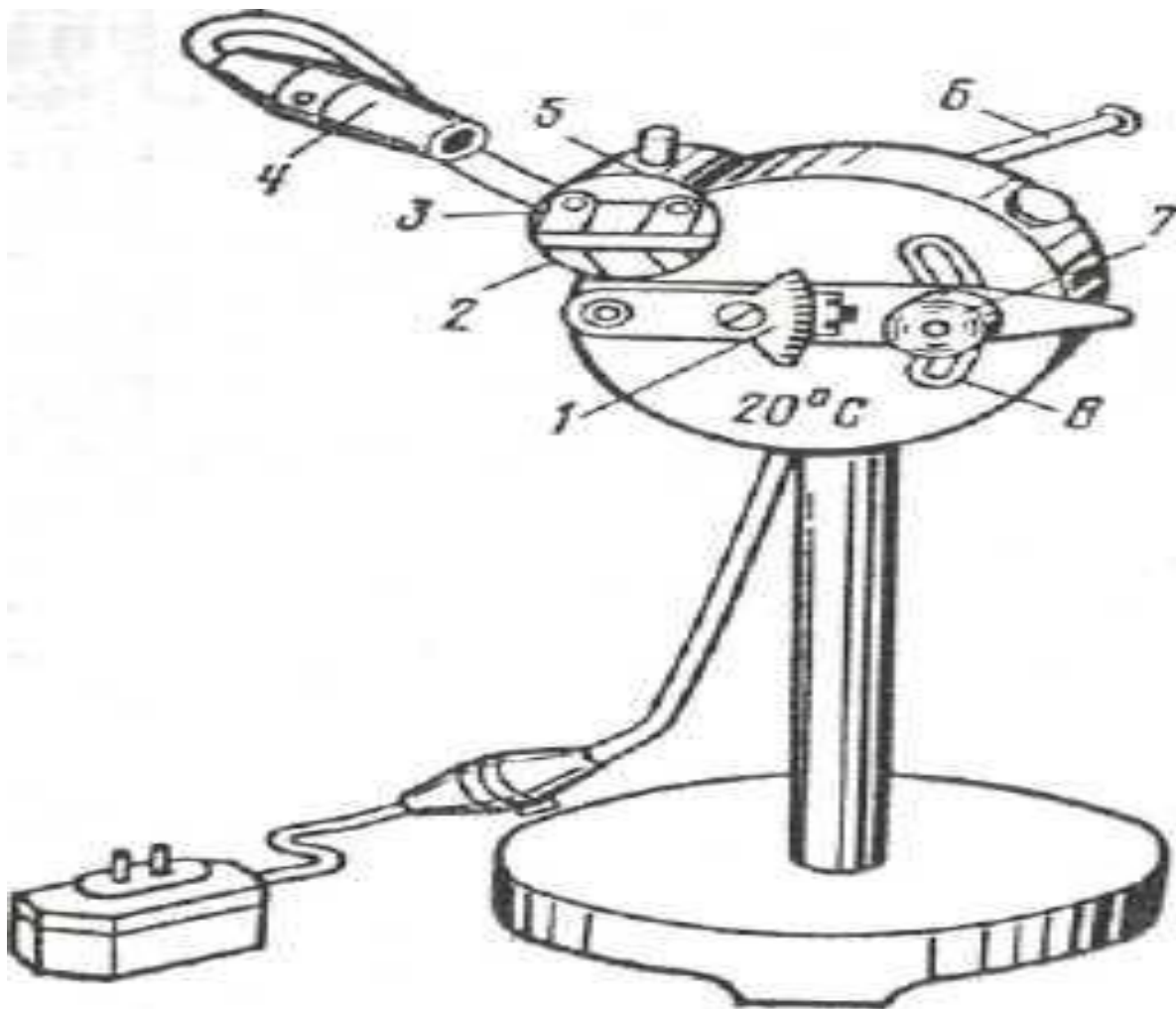


Рис.2 Рефрактометр РПЛ-3: 1 – компенсатор; 2 – окно для отраженного света; 3 – система призм; 4 – осветитель; 5 – окно для проходящего света; 6 – корпус термометра; 7 – окуляр; 8 – прорезь

ТЕХНИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ – перед началом работы рефрактометр проверяют по дистиллированной воде при температуре 20°C , при этом пунктирная линия, нанесенная на окуляр, должна совместиться с границей света и тени на нулевой отметке шкалы. Если этого совмещения не произошло, необходимо отрегулировать прибор с помощью специального ключа.

Затем на призмы с помощью оплавленной стеклянной палочки наносят несколько капель исследуемой жидкости, при этом палочка не должна касаться поверхности призмы. Опускают верхнюю призму, плотно прижимая ее к нижней. Если раствор не мутный и не слишком окрашен, в окно верхней призмы направляют луч света от осветителя, добиваясь максимальной освещенности поля зрения, наблюдаемого в окуляр; окно нижней призмы закрывают щитком. В случае исследования темноокрашенных растворов окно верхней призмы закрыто, а

свет направляют на нижнюю призму. После этого перемещают окуляр вдоль прорези, пока граница света и тени не совместится с пунктирной линией. На шкале прибора отмечают деление, через которое проходит граница светотени. При отсчете показаний прибора отмечают температуру определения. После определения поверхность призм вытирают фильтровальной бумагой, а затем промывают дистиллированной водой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ СУХИХ ВЕЩЕСТВ НА РЕФРАКТОМЕТРЕ РПЛ-2

Прецизионный рефрактометр РПЛ-2 (рис.3) состоит из следующих составных частей: камеры с измерительной призмой и термометром, камеры с освещающей призмой, вращающегося кольца с компенсатором и отсчетного барабана.

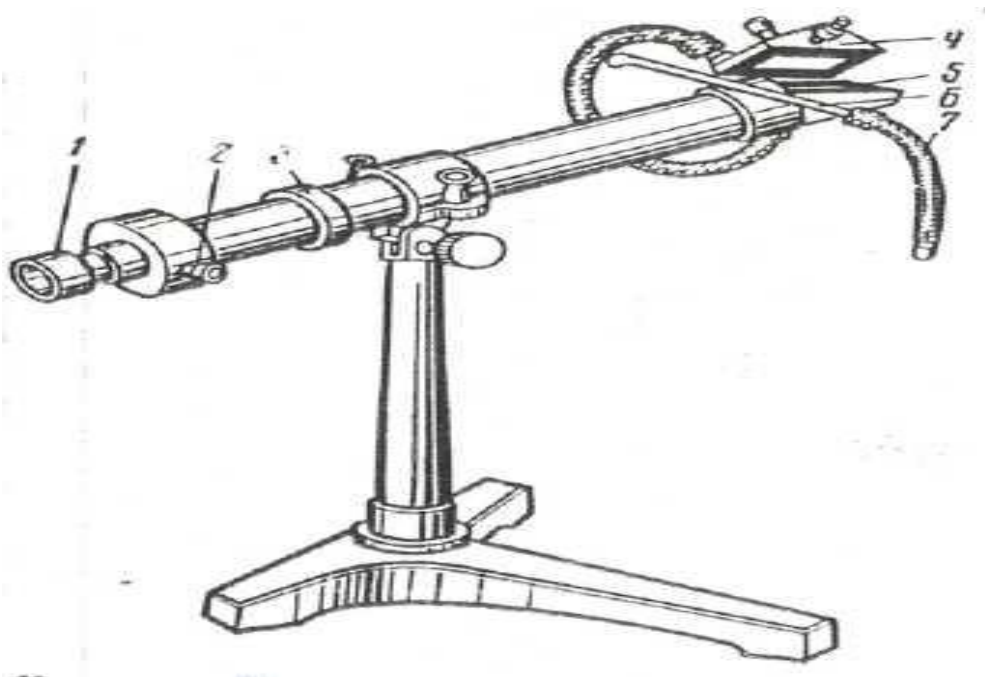


Рис. 3 Рефрактометр РПЛ-2: 1 – окуляр; 2 – отсчётный барабан; 3 – кольцо компенсатора; 4 – осветительная призма; 5 – измерительная призма; 6 – корпус термометра; 7 – шланг

ТЕХНИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ – сначала определяют правильность установки прибора на нуль. Для этого на середину полированной поверхности измерительной призмы стеклянной палочкой наносят 1-2 капли дистиллированной воды. Затем створки камеры закрывают и, открыв заслонку освещающей призмы, устанавливают отсчетный ба-

рабан на нуль. Наблюдая в окуляр и вращая кольцо компенсатора, находят такое его положение, при котором горизонтальная линия раздела между темной и светлой частями поля зрения не имеет никакой окраски. При температуре 20°C линия раздела должна проходить через нулевое деление шкалы, причем отсчетный барабан должен быть обязательно установлен на нуль.

После этого между измерительной и освещающей призмами вводят 1-2 капли исследуемой жидкости и вращением кольца компенсатора устраняют возможную дисперсию света. Устанавливают отсчетный барабан на нуль и наблюдают за положением линии раздела по шкале. Если линия раздела находится между двумя какими-либо делениями шкалы, то передвижением отсчетного барабана доводят линию раздела до ближайшего нижнего деления шкалы. Затем отсчитывают число делений шкалы от нуля до деления, по которому проходит линия раздела, включительно. Показания, полученные по шкале отсчета, записывают как целые единицы; за десятые принимают число делений, находящихся на отсчетном барабане против указательной черты.

Так как на правильность отсчета показаний прибора оказывает влияние температура, измерения ведут при 20°C , эту температуру поддерживают, пропуская воду через кожухи призм. Если термостатирование прибора не проводится, следует вводить поправку на температуру по специальным таблицам.

Можно проводить измерения при температуре помещения, не устанавливая рефрактометр на нуль при 20°C и не вводя температурной поправки.

Для этого линию раздела между темной и светлой частями поля зрения устанавливают по дистиллированной воде, имеющей такую же температуру, как и помещение.

В этом случае определяют содержание сухих веществ в растворах с той же температурой без введения поправки.

Зная показание рефрактометра, по специальным таблицам находят массовую долю сухих веществ в растворе, выраженную в процентах.

Недостатком прецизионного рефрактометра является то, что с его помощью можно определять концентрацию растворов, содержащих не более 30% сухих веществ (что соответствует предельному делению шкалы – 102).

Растворы с большим содержанием сухих веществ при работе на прецизионном рефрактометре следует анализировать по методу разбавления.

При определении содержания сухих веществ в растворах с высокой концентрацией (сахарные сиропы, патока, варенье и т.п.) исполь-

зуют рефрактометр РПЛ-3, точность показаний которого наибольшая при содержании сухих веществ в продукте 50-95%.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ СУХИХ ВЕЩЕСТВ НА РЕФРАКТОМЕТРЕ ИРФ-22

Рефрактометр ИРФ-22 (рис.4) состоит из следующих основных частей: корпуса, на котором смонтирована измерительная головка, состоящая из двух полушарий, служащих оправами измерительной и осветительной призм; зрительной трубы с отсчетным устройством и термометра.

Показатель преломления изучаемых веществ зависит от температуры, которая поддерживается при пропускании воды через камеры в оправах линз.

Для этого измерительная головка присоединяется к ультратермостату так, чтобы вода поступала в верхнюю часть этой головки и выходила из штуцера, в котором зафиксирован термометр.

Температура воды на выходе должна составлять $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Измерительная головка плотно соединена со шкалой отсчетного устройства, которое помещается внутри корпуса прибора.

Для установления границы раздела и совмещения ее с перекрестием сетки можно наклонять измерительную головку до 60° , вращая маховичок, который находится с противоположной стороны.

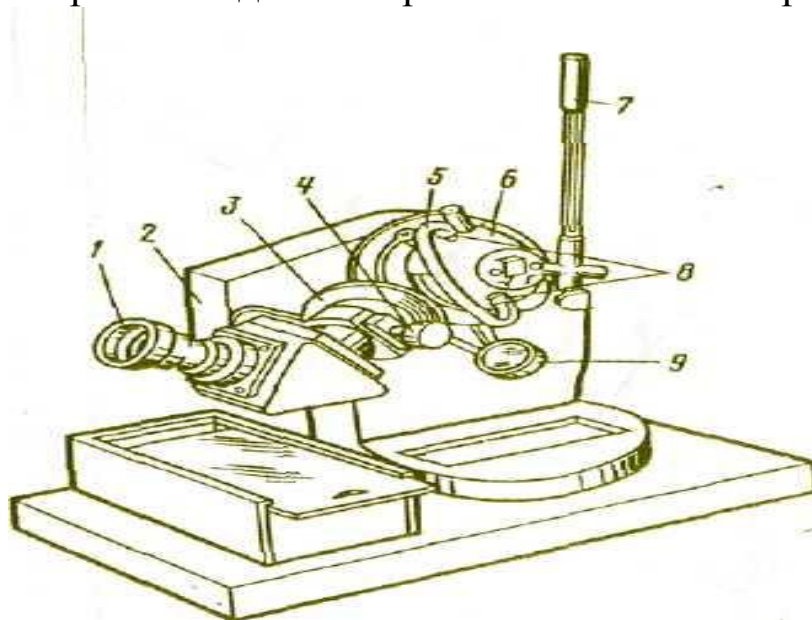


Рис. 4. Рефрактометр ИРФ-22: 1 – зрительная труба с отсчетным устройством; 2 – корпус; 3 – барабан со шкалой; 4 – маховичок для вращения призмы; 5 – шланг; 6 – измерительная головка; 7 – корпус термометра; 8 – корпус штуцера; 9 – осветительное зеркало

ТЕХНИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ – перед началом работы проверяют правильность установки прибора на нуль по дистиллированной воде. Затем откидывают верхнюю часть измерительной головки, промывают спиртом или дистиллированной водой поверхность измерительной и осветительной призм, удаляя следы жидкости фильтровальной бумагой. Оплавленным концом стеклянной палочки на поверхность измерительной призмы наносят 3-4 капли жидкости и осторожно опускают верхнюю часть измерительной головки на нижнюю, наблюдая в окно головки, чтобы жидкость заполнила зазор между призмами. Глядя в окуляр зрительной трубы, осветительное зеркало устанавливают так, чтобы свет от источника через окно поступал в осветительную призму и равномерно освещал поле зрения. Вращая маховичок, добиваются появления в поле зрения границы светотени, которую проводят к центру перекрестия сетки. Резкость границы светотени и штрихов шкалы для глаза наблюдателя устанавливают вращением гайки окуляра. Если граница светотени при измерении показателя преломления окажется расплывчатой, радужной, то вращением рукоятки компенсатора добиваются четкости этой границы и записывают показание шкалы. Целые, десятые, сотые и тысячные доли отсчитывают по шкале, а десятитысячные доли оценивают на глаз. Таким образом проводят не менее трех определений, принимая за окончательный результат среднее арифметическое значение. По этому значению по таблице определяют массовую долю сухих веществ (в пересчете на сахарозу) в растворе по показателю преломления при 20°C.

nD^{20}	Содержание сахарозы, %	nD^{20}	Содержание сахарозы, %	nD^{20}	Содержание сахарозы, %	nD^{20}	Содержание сахарозы, %
1,3330	0	1,3672	22	1,4076	44	1,4532	65
1,3344	1	1,3689	23	1,4096	45	1,4555	66
1,3359	2	1,3706	24	1,4117	46	1,4579	67
1,3374	3	1,3723	25	1,4137	47	1,4603	68
1,3388	4	1,3740	26	1,4158	48	1,4627	69
1,3403	5	1,3758	27	1,4179	49	1,4651	70
1,3418	6	1,3775	28	1,4200	50	1,4676	71
1,3433	7	1,3793	29	1,4221	51	1,4700	72
1,3448	8	1,3811	30	1,4242	52	1,4725	73
1,3464	9	1,3829	31	1,4264	53	1,4749	74
1,3479	10	1,3847	32	1,4285	54	1,4774	75
1,3494	11	1,3865	33	1,4307	55	1,4799	76
1,3510	12	1,3883	34	1,4329	56	1,4825	77
1,3526	13	1,3902	35	1,4351	57	1,4850	78
1,3541	14	1,3920	36	1,4373	58	1,4876	79
1,3557	15	1,3939	37	1,4396	59	1,4901	80
1,3572	16	1,3958	38	1,4418	60	1,4927	81
1,3590	17	1,3978	39	1,4441	61	1,4954	82
1,3605	18	1,3997	40	1,4464	62	1,4980	83
1,3622	19	1,4016	41	1,4486	63	1,5007	84
1,3638	20	1,4036	42	1,4509	64	1,5033	85
1,3655	21	1,4056	43				

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. В чем сущность рефрактометрического метода определения массовой доли сухих веществ?
2. Какие факторы влияют на коэффициент преломления?
3. В каких единицах отградуирована шкала различных рефрактометров? Как установить приборы на нуль?
4. В каких случаях вводят поправки на температуру?
5. В чем недостаток прецизионного рефрактометра?

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лабораторный практикум по общей технологии пищевых производств / под ред. Л.А. Ковальский. – М.: Агропромиздат, 1991.
2. Химия жиров: лабораторный практикум по химии жиров / Н.С. Арутюнян, Е.П. Корнена и др. – СПб.: ГИОРД, 2004.
3. Барковский, В.Ф. Основы физико-химических методов анализа / В.Ф. Барковский, Т.Б. Городенцева. – 1987.
4. Васильев, В.П. Аналитическая химия: в 2 кн. Кн.2. Физико-химические методы анализа: учеб. для студентов вузов, обучающихся по химико-технол. спец. / В.П. Васильев. – М.: Дрофа, 2002. – 384 с.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА
АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ СЫРЬЯ
И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ**

Методические указания

Хохлова Альбина Ивановна

Редактор Т.М. Мاستрич

Санитарно-эпидемиологическое заключение № 24.49.04.953.П. 000381.09.03 от 25.09.2003 г.

Подписано в печать 29.08.2006. Формат 60x84/8. Бумага тип. № 1.

Офсетная печать. Объем п.л. Тираж 110 экз. Заказ №

Издательство Красноярского государственного аграрного университета
660017, Красноярск, ул. Ленина, 117