

Из кафедры Ветсанэкспертизы. Зав. доц. Горегляд Х. С.

К ВОПРОСУ О САНИТАРНОЙ ОЦЕНКЕ ЖИВОТНЫХ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Х. С. Горегляд

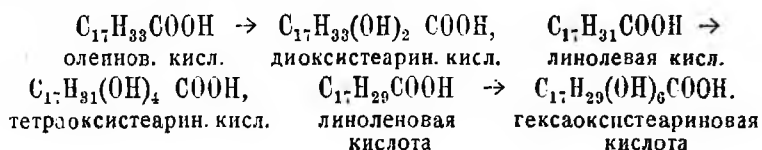
Санитарная оценка пищевых животных жиров занимает большое место в работе санитарно-гигиенических и пищевых лабораторий. Изменение констант животного жира (и растительных жиров также) заслуживает большого внимания не только при хранении его в чистом виде, но и в связи с др. пищевыми—мясными продуктами (в консервах, колбасе, копченостях, в мороженом мясе и пр.). Изменения жира зависят, главным образом от химического состава его—от наличия в нем триглицеридов— $C_3H_5(COOR)_3$ непредельных $C_nH_{2n-1}COOH$ жирных кислот. На глубину и скорость расщепления жиров существенную роль оказывает: контакт жира с белковыми веществами (сало сырец, шпиг, масло коровье, колбаса, консервы и др.), воздействие внешней среды (влажность, лучи солнца, доступ воздуха и др.); биологические факторы (плесень, микроорганизмы на коровье масло, колбасы, мясо) и длительность хранения (напр. на мясо свинину, говядину, баранину). Чем больше жир содержит в своем составе предельных ($C_nH_{2n+1}COOH$) жирных кислот, тем он плотнее и более устойчив. Так например баранье сало, содержащее до 60% предельных и 40% непредельных жирных кислот и говяжье сало, содержащее 53% предельных и 47% непредельных жирных кислот,—является наиболее устойчивым, чем свиное сало, содержащее 60,4% непредельных и только 39,6% предельных жирных кислот. Вот почему и сроки хранения в холодильниках разные для мяса разного вида животных.

Под влиянием приведенных факторов жир изменяется по трем направлениям: а) осаливание, в) увеличение кислотности и с) прогоркание.

Осаливание. Термин „осаливание“ жира взят из наблюдавшихся (и наблюдающихся) химических изменений в коровьем масле, вследствие чего оно приобретает белый цвет, запах сала, появляются крупинки (кристаллы п/ оксистеариновой кис-

лоты) и уплотняется. Осаливанию подвергаются животные (растительные также) жиры, в которых преобладают триглицериды непредельных— $C_3H_5(C_nH_{2n-1}COOH)_3$ —жирных кислот: коровье масло, свиное, конское и собачье сало, цевочное (говяжье) и копытное сало, гусиный жир и проч. И почти не подвергаются этому процессу жиры с преобладанием триглицеридов предельных— $C_3H_5(C_nH_{2n+1}COOH)_3$ —жирных кислот: сало говяжье, баранье, оленье, лосевое и др. Такое изменение жиров—с преобладанием в них триглицеридов непредельных жирных кислот,—наступает в обычных условиях хранения их при длительном действии света.

Химизм этого процесса выражается в замещении свободных связей у непредельных жирных кислот $(OH)_n$ группой и при мерно характеризуется в следующем:



Причем, чем менее насыщены многоатомные жирные кислоты, напр.: линоленовая, линолевая,—тем активнее, их свободные связи замещаются гидроксильной (OH) группой.

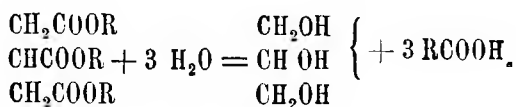
В опытах Кочергина—коровье масло, вытопленное сильно перегретым паром и при хранении его при доступе воздуха очень быстро приобретало вкус, запах и вид, сала.

В нашей лаборатории топленое свиное сало с точкой плавления $39,5^\circ C$ вначале (на четвертый день после вытопки), после восьмимесячного хранения в стеклянном сосуде на свету, приобрело сильную уплотненность и точку плавления $41,2^\circ C$. Такие изменения мы наблюдали конского и собачьего сала, которое после вытопки было совершенно жидкое, прозрачное, оливкоподобного цвета и спустя девять месяцев хранения на свету оно стало гораздо плотнее и приняло матовый цвет.

Аналогичные процессы уплотнения жира совершаются с маслами растительного происхождения, напр.: льняное, подсолнечное и др. масла при варке с сикотивами, (при изготовлении покоста—масла для малярных красок) приобретают некоторую плотность и слегка, матовый цвет.

Растительное масло (кунжутное, хлопковое, соевое, кокосовое и др.) в производстве пищевых жиров (маргарина) составляют до 15—18%. Но прежде чем такое масло пустить в производство маргарина, оно подвергается гидрогенизации, т. е. в масло вводятся 0,5—1,0% никеля (Ni) к весу масла и потом, при температуре $180^\circ C$, пропускается струя водорода (H), который замещает свободные связи и непредельных жирных кислот. Такое масло называется саломазом и легко берется лопаткой. Гидрогенизированные жиры морского зверя называются ворванью.

Кислотность жира. Сущность этого процесса заключается в расщеплении триглицеридов жирных кислот на глицерин и жирные кислоты:



Отщепившиеся жирные кислоты (R SOOH) и придают кислотность жиру. Причиной расщепления жира на глицерин и жирные кислоты является: высокая температура, контакт воздуха с жиром, высокая влажность воздуха в помещении, где хранится жир, действие света. наличие воды и белковых веществ в жире (например: в коровьем масле, или в топленом сале, плохо освобожденном от шквары), перегретость жира при вытапливании и проч. Существенную роль в повышении кислотности жира играют микробы *Bac. fluorescens liquefaciens*, *B. prodigiosum*, *B. ruscyanum*, *B. typhi* и др.) и плесни (*Aspergillus niger*, *A. glaucus*, *Pen. glaucus* и др.). Микробы оказывают свое влияние на расщепление жира при наличии воды и белковых веществ, а плесени требуют и доступа воздуха. Взаимо-связи между повышением кислотности и прогорканием жира нет, причем, появление свободных жирных кислот в жире требует наличия воды, тогда как прогоркание жира может наступить в совершенно сухих условиях хранения, но при обязательном доступе света.

Определение кислотности жира. Навеска жира в 3—5 г, отвешенная в колбочке или химическом стакане, предварительно расплавляется на спиртовке и потом, в остуженную до 60—70° пробу приливается 30—50 см³ нейтральной смеси—серного эфира (2ч.) и этилового спирта (1 ч.), добавляется индикатор—2—кап., 1% спирт. раств. фенолфталеина и титруется N/10 водным раствором KOH.

1) Количество расходуемого N/10 водн. раствора щелочи (KOH) в см³ на нейтрализацию свободных жирных кислот в 100 гр жира, переведенное в нормальный раствор, выражает градус кислотности (K°) и высчитывается по формуле: $X = \frac{b \cdot 100}{a \cdot 10}$ где X — градус кислотности, а—навеска жира, в—количество см³ расходуемого KOH.

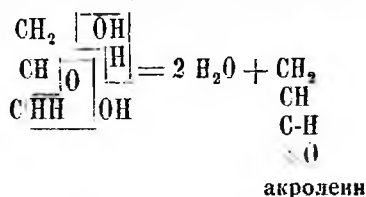
2) Количество расходуемого KOH в миллиграммах на нейтрализацию свободных жирных кислот в одном гр жира выражает число кислотности и высчитывается по формуле: $X = \frac{a \cdot 5,611}{b}$ *), где X—кислотное число, а—количество см³ N/10 в. р. KOH, расходуемого на титрование, в—навеска жира.

Прогоркание жира. Прогорканию жира предшествует процесс расщепления его на глицерин и жирные кислоты. В последующем, при благоприятствующих для этого факторах они распадаются более глубоко, в результате чего образуется акро-

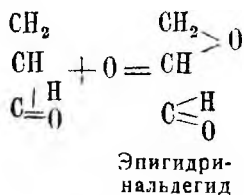
*) $5,611 = 1/10$ мол. KOH.

леин и ряд оксикислот легко переходящих в их альдегиды и кето-кислоты.

При расщеплении глицерина образуются:



Акролеин легко присоединяет молекулу кислорода и получается:



Эпигидринальдегид—соединение очень ядовитое с неприятным едким запахом, которое по Вгауп'у легко вступает в реакцию с флороглюцином, проявляющуюся в виде малинового или красного цвета.

При расщеплении линолевой кислоты могут образоваться продукты *).



Причиной прогоркания жиров, как и повышения кислотности их являются: влажность, доступ воздуха, повышенная температура, доступ световых лучей и др. Существенную роль в

*) Формула расщепления линолевой кислоты выведена нами теоретически.

этом играют и микроорганизмы (*Oidium lactis*, *Chladasporium butyr.* *Bact. fluorescens liquefaciens*, *B. Рyocyaneum*, *B. Prodigiosum* и друг.), вырабатывающие фермент—липазу.

Озониды образуются, когда в воздухе присутствует озон (O_3), получающийся из кислорода воздуха при действии энергии световых коротких—фиолетовых и ультрафиолетовых лучей. Образующиеся при этом продукты расщепления жира—акролеин, оксикислоты, двуосиновые кислоты, альдегиды, кетоны и др., не безразличные для организма человека. Такие жиры, неприятного вкуса, запаха и пр., вызывают гастрические заболевания у людей. Вот почему вопросу пригодности жиров в пищу уделялось и уделяется много внимания, особенно в определении прогоркания их, для чего и предложен ряд цветных реакций.

Сущность реакций на прогоркание жиров заключается в выявлении молекулы кислорода (O), связанной с непредельной жирной кислотой по месту двойной связи, являясь начальной стадией расщепления, образуя таким путем группы окиси— $CH_3 (CH_2)_n \underset{\text{O}}{C}H - CH (CH_2)_n - COOH$, перекиси— $CH_3 (CH_2)_n \underset{\text{O-O}}{C}H - CH (CH_2)_n COOH$ или группы озонидов $CH_3 - (CH_2)_n - \underset{\text{O-O-O}}{C}H - CH (CH_2)_n COOH$.

Такую связь молекул кислорода с незамещенными связями у ненасыщенных жирных кислот *Vintilesk'y* и *Popesk'y* назвали лабильным кислородом, для выявления которого они и предложили свою реакцию с гваяколом ($HO-C_6H_4-OCH_3$) и гемоглобином (Hb).

Кроме окисей, перекисей и озонидов при последующем расщеплении глицерина и жирных кислот образуются акролеин *)

$CH_2CHC \begin{smallmatrix} O \\ // \\ H \end{smallmatrix}$, альдегиды $CH_3(CH_2)_n C \begin{smallmatrix} O \\ // \\ H \end{smallmatrix}$, альдегидокислоты $C \begin{smallmatrix} O \\ // \\ H \end{smallmatrix} (CH_2)_n COOH$, кетокислоты $CH_3 (CH_2)_n CO COOH$, двуосновные кислоты— $COOH (CH_2)_n COOH$ и ряд других соединений.

С точки зрения санитарной оценки пищевых жиров нас больше всего интересует акролеин, как более ядовитое вещество (2 свободных связи), который, следует полагать, при контакте с реактивом Шиффа, в состав которого входит $NaHSO_3 +$ основной фуксин $+ HCl + (H_2O)$, замещает свои свободные связи, а фуксин восстанавливается и придает реакции красный или красно-сиреневый цвет. HCl является катализатором. Очевидно, такое же поведение этих реактивов и в отношении предельных альдегидов, где реакции протекает, *apriori*, следующим образом:

$CH_2 (CH_2)_n C \begin{smallmatrix} O \\ // \\ H \end{smallmatrix} + NaHSO_3 = CH_2 (CH_2)_n C \begin{smallmatrix} O \\ // \\ H \end{smallmatrix} OSNaO_2$, а фуксин восстанавливается, как и в случае хода реакции—с акролеином.

*) От слов *acer*—острый и *olein*—масло.

Для определения предельных и непредельных альдегидов пользуемся еще окислителями из группы бензола.

1) Флороглюцин $C_6H_3(OH)_3$ при контакте с альдегидами окисляется, а альдегиды при этом восстанавливаются до спиртов (непредельные альдегиды—акролеин—глицерин) или до жирных альдегидов (предельные альдегиды).

Окисление флороглюцина дает ряд комбинаций окислительных продуктов, в результате чего образуются цветные реакции, быстро меняющиеся в тонах (малиновый, красный, фисташковый, коричневый и др. цвета). Какие именно образуются при этом соединения бензольного ядра неизвестно, химизм его пока не изучен.

HCl входит в реакцию, как катализатор, хотя при сильном расщеплении жира на границе контакта компонентов реакции появляется заметное, бурого цвета, кольцо. Применяющиеся при этом растворители для флороглюцина, как ацетон, серый эфир, являются, очевидно, средой, в которой флороглюцин становится доступным для хода реакции.

2) Резорцин— $C_6H_4(OH)_2$, очевидно, дает аналогичные реакции с альдегидами, как и флороглюцин, выражающиеся появлением светло, иногда, темно-коричневого цвета.

Интенсивность окраски и скорость наступления реакции изменения испорченного жира зависит пропорционально степени разложения его—чем сильнее жир разложился, тем больше в нем акролеина, а значит,—тем быстрее и интенсивнее протекают в нем эти качественные (цветные) реакции.

Для определения прогоркания жиров предложен ряд качественных реакций, некоторые из них постараемся перечислить:

1. Реакция Видмана I. К 3 см³ расплавленного в пробирке жира прибавляется равное количество по объему 1% раствора флороглюцина в ацетоне, добавляется 2 капли H₂SO₄ у. в. 1,84, пробирку закрывают резиновой пробкой и 4—6 раз встряхивают. При положительной реакции через 2—3 м. появляется красное окрашивание с малиновым оттенком.

2. Реакция Видмана II. 3 см³ расплавленного испытуемого жира в пробирке смешивается с равным количеством по объему HCl у. в. 1,19 и добавляется третья часть по объему насыщенного раствора резорцина в бензоле на холоду. При наличии акролеина и альдегидов образуется диффузное-красно-фиолетовое окрашивание.

3. Реакция Крейса. К 3 см³ испытуемого жира, расплавленного в пробирке добавляются равные объемы HCl у. в. 1,19 и 1% флороглюцина в эфире, смешивается путем встряхивания. В прогорклом жире появляется красная окраска.

4. Реакция Шиффа (реактив: 100 см³ 0,1% водн. раствора основного фуксина+2 см³ 27% водн. раствора NaHSO₃ и +1 см³ HCl у. в. 1,19). К 3 см³ расплавленного в пробирке жира додается равный объем реактива (Ш), пробирку закрывают резиновой пробкой и энергично встряхивают. При резко положительной реакции—красная окраска через 3—5 м., при положительной—сиреневой двег через 10 минут.

5. Реакция Фелленберга (реактив—2,5 гр основного фуксина растворяют в

*) Акролеин и альдегиды в петролейном эфире не растворяются.

400 см³ теплой воды + 6,0 NaSO³ растворенного в 10 см³ воды + 50 см³ норм. раств. HCl и разбавляют водой до 1,5 литра). Пробу испытуемого жира растворяют в петролейном эфире (1:1) и встряхивают одну минуту — с двумя частями реактива. В прогорклом жире фуксин восстанавливается и приобретает красный или сине-фиолетовый цвет (аналогично реакции Шиффа).

6. Реакция Винтилеску и Попеску. К 3 см³ испытуемого расплавленно о жира в пробирке прибавляется 2—3 капли 1% водного раствора гемоглобина *) + 5—8 капель 5% раств. гваяковой смолы в 60% спирте. Все энергично встряхивается ½ минуты. При наличии перекисей и азонидов получается сине-голубая окраска.

7. Р. Инхова и Шошина. К жиру, растворенному в петролейном эфире, добавляют реактив Шиффа и сравнивают со стандартными растворами формалина, к которым добавлен реактив Шиффа.

Имеется и еще ряд реакций предложенных Шмидтом—1898 г. Зкалом, Ганусом, Issoglio Fahrionom, Шонбеином, Bulierom и др., но некоторые из них очень сложные (Issoglio) некоторые неточные, а для постановки некоторых трудно достать реактивы (Шмидта).

Приведенные 6 реакций по своей чувствительности и четкости показаний наиболее заслуживают внимания в оценке пищевой пригодности, в отношении прогорклости, животных жиров. Но не все они доступны к выполнению в частности р. Крейса и Видмана I—с флороглюцином. Флороглюцин редкий реактив и поэтому рекомендовать эту реакцию для более широкого пользования нет смысла, потому что она не всегда осуществима. Ограничиться же реакциями Видмана II, Винтилеску и Попеску, Шиффа и Фелленберга недостаточно, ибо первая мало чувствительна, вторая свидетельствует о наличии перекисей, а 3-я и 4-я—аналогичные реакции.

Это обстоятельство заставило нас заняться вопросом изыскания таких реактивов, которые были бы достаточно чувствительны и доступны к приобретению на рынке **).

Для настоящей работы в качестве дополнительных реактивов нами были избраны производные группы бензола (C₆H₆)—близкие к флороглюцину—C₆H₃((OH)₃ 1, 3, 5: карболовая кислота—C₆H₅(OH): хинон—C₆H₄O; сульфосалициловая кислота—C₆H₃OH COOH; пикриновая кислота—C₆H₂(NO₂)₃OH и пирогалловая кислота C₆H₃(OH)₃ 1, 2, 3.

В качестве растворителей применялись: ацетон, бензол и серный эфир в соотношении от насыщенных растворов до 5:100 и 1:100.

Реакции производились следующим образом: к 2 см³ расплавленного жира прибавляли равные объемы HCl и приготовленные выше реактивы, при одновременных контролях с 1% флороглюцином в серном эфире и в ацетоне, с насыщенным раствором резорцина в бензоле, с реактивом Шиффа и с реакцией Винтилеску и Попеску (см. табл.).

*) Г-моглобин можно приготовить путем выслушивания дефибрированной крови и превращения ее в порошок.

**) В работе принимал участие студент Качинский Н. и Куприенко Г.

ТАБЛИЦА ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕАКЦИИ

Название жира	Количество проб	Реакция Видмана I	Через сколько минут	Реакция Видмана II	Через сколько минут	Реакция Крейса	Через сколько минут	Реакция Шиффа	Через сколько минут	Реакция Вингилеску и Попелеску	Через сколько минут	Реакция с 1% раств. acid. picogallici в серном эфире	Через сколько минут	Реакция с 10% acid. picogallici в ацетоне	Через сколько минут
Говяжий—пищев. стар.	20	++	$\frac{1}{2}$ -1	++	2-3	++	$\frac{1}{2}$ -1	+++	4-5	++	2-3	++	1- $\frac{1}{2}$	+	6-8
Бараний—пищев. стар.	20	++	$\frac{1}{2}$ -1	++	1-2	++	$\frac{1}{2}$ -1	++	4-6	++	1-2	++	1-2	+	7-10
Свиной—пищев. стар.	18	++	1-2	++	1-2	++	1-2	+	5-6	++	1-3	+	1-2	+	8-10
Говяжий—бар. техн. .	28	+++	1	+++	1-2	+++	1-2	+++	2-3	+++	1-3	+++	1- $\frac{1}{2}$	++	5-7
• — пищ. свеж.	32	-	5-10	-	10	-	8-10	-	5-10	-	10	-	5-10	-	10-15
Свиной—пищ. свеж. .	10	+	5	-	5	-	10	-	10	-	15	-+	10	-	10
Бараний—пищ. свеж. .	18	+	5-8	-	10	-	15	-	16	-	6-19	-+	5-10	-	10-20
Масло коров. свеж. .	15	+++*)	1	-	10	-	10	-	10	-	10	-	10	-	10
• . стар. .	12	+++*)	$\frac{1}{2}$ -1	+++	3-5	+++	2-3	++	3-5	++	2-5	+++	1-2	++	8
	173														

*) Прибавляемая при этом H_2SO_4 у. в. 1,84 обугливает белки масла и придает реакция бурю окраску.

Знаки: + — сомнительная, ++ — положительная, +++ — резко положительная, -- отрицательная.

Реактивы, как карболовая, сульфосалициловая и пикриновая кислоты и хинон никаких заметных изменений ни в каких концентрациях и соотношениях к испытуемому жиру не оказали.

Пирогалловая кислота в насыщенном растворе и в растворе 1:100 дает ярко выраженную цветную реакцию малинового цвета с испорченным жиром. Причем более интенсивно получается реакция с пирогалловой кислотой в серном эфире; в ацетоне, обычно, реакция запаздывает и выражается появлением через 8—10 минут цвета оливкового масла.

Прибавление 2—3 капель концентрированной H_2SO_4 , как это рекомендуется реакции Видмана I, в наших опытах имеет противопоказание, очевидно, потому, что наличие хотя бы следов белковых веществ в испытуемом жире, серная кислота вызывает обугливание их, ввиду чего реакция не ясная, а потому и не совсем характерна.

Прибавление HCl у. в. 1,19 в количестве равном об'ему взятого жира, как это рекомендуется р. Крейса и Видмана II по нашим наблюдениям необязательно; достаточно прибавление HCl половины количества взятого для реакции жира, оно не мешает для хода реакции и в тоже время дает экономии реактива. Также нет необходимости вводить растворы флороглюцина (р. Видмана I и Крейса) и резорцина (р. Видмана II) в количествах пропорционально взятого для реакции жира; их достаточно прибавлять $\frac{1}{4}$ об'ема взятого жира.

Всего нами исследовано 173 пробы (см. таблицу стр. 98).

Из таблицы видно, что наиболее чувствительными реакция-ми являются: р. Видмана I, р. Крейса, р. Видмана II и реакция с 1% пирогалловой кислотой в эфире. Менее чувствительными реакциями оказались: р. Винтелеску и Попеску, р. Шиффа и с большим запозданием и менее интенсивно наступает реакция с 1% пирогалловой кислотой в ацетоне.

Обычно, р. Видмана II считают характерной появлением фиолетово-дифузного окрашивания или в виде фиолетового кольца на границе HCl с жиром; но бывает, в случаях сильного расщепления жира, когда реакция выражается в виде фиштакшковой окраски, переходящей через 5—10 минут в коричневый цвет. Появление такой (фиштакшковой) окраски, следует полагать, является наличием в жире большого количества предельных альдегидов (акролеина), которые активно соединяются с молекулой Cl отщепляющейся от HCl и образует фиштакшковый цвет.

В ы в о д ы

1. Карболовая, пикриновая и сульфосалициловая кислоты и хинон являются не пригодными для выявления альдегидов (прогорклости) жиров.

2. Реакция Виятелеску и Попеску показывает о первичных

процессах расщепления жиров с образованием перекисей и озонидов.

3. Положительная реакция Шиффа свидетельствует о наличии акролеинов и альдегидов в испытуемом жире.

4. Прибавление 1% раствора пирогалловой кислоты в эфире в количестве ¼ объема к испытуемому жиру и HCl в количестве 1½ объема к взятому для реакции жиру, с испорченным жиром дает реакцию в виде кольца малинового цвета в течение 1—3 минут и может быть рекомендована вместо р. Крейса и Видмана I.

5. Прибавление 1% раствора пирогалловой кислоты в ацетоне с одновременным применением HCl в количествах обозначенных в п. 4 данных выводов, с испорченным жиром дает реакцию, через 8—10 минут, в виде оливкового цвета.

6. На основании проведенных нами исследований считаем, что наиболее приемлемыми реакциями для определения прогорклости жиров являются, принимая во внимание дефицитность флороглюцина,—реакция Видмана II, реакция с 1% пирогалловой кислотой в эфире, р. Шиффа, р. Винтилеску и Попеску, с одновременной постановкой реакции на кислотность; при этом необходимо учитывать и органолитические свойства жира.

Л и т е р а т у р а

1. D. Horde—Kohlenwasserstoffole u. Fette. 1924.
2. С. А. Иванов—Химия жиров. (1934 г.)
3. Г. С. Инихов—Биохимия молочных продуктов (1934 г.)
4. А. А. Зиновьев—Курс химии жиров (1932 г.)
5. Л. К. Лейхман—Словарь химических реактивов (1932 г.)
6. А. Болтушкин, Ф. Турандин и Шур—Мясная Индустрия СССР № 2 стр. 49 (1931 г.)
7. E. S. Gufhrrie, B. I. Scheid. und C. N. Stark—Journal of Dairy Science N. 4, S 267 (1936 g)
8. Z. Slansku—ang. chem. 34, S 533. (1921.): 35 s. 389 (1922).
9. Yintilesku u Popesku—J. Pharm. chm. N 12, S. 318, (1915)
10. K. Braun—Ztsch. Fl. u. Milchg. 1 Marz. (1935).

Doc. Goregljad.

„Über die sanitäre Bewertung tierischer Lebensmittelfette“

Es wurden 173 Proben von nicht frischen tierischen Fetten gestellt mit der Pyrogallol-reaction (1% ac. pyrogallum in Aether oder Aceton mit 1/3 Volum von acid. muriaticum); Parallele Versuche wurden mit den Reactionen nach Wiedmann I u. II, Kreiss, Schiff, Vin'ilescu und Popescu ausgeführt. Die Pyrogallolprobe, besonders mit Aether, erwies sich als vollkommen brauchbar bei Feststellung von Aldehyden in tierischen Fetten.