

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Л.А. Воронцова

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Лабораторный практикум

Благовещенск
Издательство ДальГАУ
2015

УДК : 664+577+641

Воронцова, Л.А. Пищевая химия: лабораторный практикум / сост. канд. биол. наук, профессор Л.А. Воронцова. – Благовещенск: ДальГАУ, 2015. – 148 с.

Практикум содержит 11 тем, включающих 29 лабораторных работ, краткие теоретические сведения, вопросы для коллоквиумов и для самоподготовки студентов.

Предназначен для подготовки бакалавров всех направлений технологического факультета очной и заочной форм обучения.

Рецензент – О.П. Задачаина, канд. хим. наук, доцент

Печатается по решению методического совета технологического факультета Дальневосточного государственного аграрного Университета (Протокол №3 от 19 ноября 2014 года)

Издательство ДальГАУ
2015

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОБЩИЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ	8
Тема 1. ВОДА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	11
Лабораторная работа 1 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛАГИ И СУХИХ ВЕЩЕСТВ (ГОСТ 5900-73, ГОСТ 5904-82.)	14
Лабораторная работа 2 АНАЛИЗ ВОДЫ	15
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	19
Вопросы к коллоквиуму №1 по теме «Вода пищевых продуктов»	19
Тема 2. БЕЛКИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	20
Лабораторная работа 3 ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ ИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	21
Лабораторная работа 4 ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОСТЫХ И СЛОЖНЫХ БЕЛКОВ ИЗ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ И ИХ ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ.....	25
Лабораторная работа 5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ДЕНАТУРАЦИИ БЕЛКА.....	30
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	32
Тема 3. УГЛЕВОДЫ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	34
Лабораторная работа 6 ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЯХ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ	35
Лабораторная работа 7 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КРАХМАЛА	39
Лабораторная работа 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН	42
Лабораторная работа 9 ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОГЕНА И ЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ	46
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	49
Вопросы к коллоквиуму №2	49
Тема 4. ЛИПИДЫ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	51
Лабораторная работа 10 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИРОВ И МАСЕЛ	52
Лабораторная работа 11 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ ДОЛИ ЖИРА (ГОСТ 5899-85)	56
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	58
Тема 5. ВИТАМИНЫ.....	59
Лабораторная работа 12 ОБНАРУЖЕНИЕ ВИТАМИНОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ	60

Контрольные вопросы для самоподготовки.....	71
Вопросы к коллоквиуму №3	72
Тема 6. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ	73
Лабораторная работа 13 КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В КОСТНОЙ ТКАНИ.....	74
Лабораторная работа 14 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ПРОДУКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ (КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ).....	76
Лабораторная работа 15 АНАЛИЗ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ	78
Лабораторная работа 16 ОПРЕДЕЛЕНИЕ В МОЛОКЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КАЛЬЦИЯ	80
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	82
Вопросы к коллоквиуму №4	83
Тема 7. ФЕРМЕНТЫ	84
Лабораторная работа 17 ОБНАРУЖЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ	86
Лабораторная работа 18 ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТА α -АМИЛАЗЫ.....	91
Контрольные вопросы для самопроверки	94
Тема 8. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПРИ ХРАНЕНИИ И ПЕРЕРАБОТКЕ	95
Лабораторная работа 19 ИЗМЕНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПРИ ХРАНЕНИИ И ПЕРЕРАБОТКЕ	97
Лабораторная работа 20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ОСАХАРИВАНИЯ КРАХМАЛА.....	100
Лабораторная работа 21 ОБНАРУЖЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В МОЛОКЕ	104
Лабораторная работа 22 ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТОВ	105
Лабораторная работа 23 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	109
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	113
Тема 9. ПИЩЕВЫЕ ДОБАВКИ	114
Лабораторная работа 24 ОПРЕДЕЛЕНИЕ В МОЛОКЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ И КОНСЕРВИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ.....	117
Лабораторная работа 25 АНАЛИЗ КОЛЕРА	119
Вопросы к коллоквиуму №5	123

Тема 10. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ.....	124
Лабораторная работа 27 ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МЕТАБОЛИТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ	125
Лабораторная работа 28 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ПЕРЕВАРИВАЕМОСТИ БЕЛКОВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	128
Контрольные вопросы для самоподготовки.....	130
Вопросы к коллоквиуму №6	131
Тема 11. РАСЧЁТНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ ПРОДУКТОВ	132
Лабораторная работа 29 ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ БЕЛКОВ	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	142
ПРИЛОЖЕНИЕ	143
Таблица 1 Формула сбалансированного питания	143
Таблица 2 Химический состав пищевых продуктов (на 100г продукта) ...	144
Таблица 3 Формула пищевой ценности говядины 1 категории в энергетическом выражении на 300 ккал (1255кДж).....	147

ВВЕДЕНИЕ

Проблема пищи всегда была одной из самых важных проблем, стоящих перед человеческим обществом. Человечество испытывало и продолжает испытывать дефицит продуктов питания. Особенно не хватает продуктов с высоким содержанием белка, однако простое увеличение потребления пищи не может решить всех проблем, связанных с питанием. Оно должно быть рациональным, соответствовать основным положениям науки о питании. Правильная организация питания требует знания химического состава пищевого сырья и готовых продуктов питания, представлений о способах их получения и при кулинарной обработке продуктов, а также сведений о пищеварительных процессах.

Предлагаемое учебное пособие «Лабораторный практикум по пищевой химии» предназначено для студентов бакалавриата всех пищевых специальностей очной и заочной форм обучения.

Практикум составлен в соответствии с программой по дисциплине «Пищевая химия» и материальной базой кафедры химии.

Цель лабораторного практикума – ознакомить студентов с методами оценки качества продуктов на базе экспериментальных исследований.

Пособие предусматривает применение и закрепление ранее полученных знаний и формирование у студентов экспериментальных навыков.

В теоретической части каждого раздела пособия сформулированы общие сведения, необходимые при выполнении отдельных работ. Также приводится подробное описание лабораторных методов исследования.

Кроме того, в практикуме изложены основные правила работы в химической лаборатории, правила работы с кислотами и щелочами, правила оказания первой помощи при ожогах и других несчастных случаях.

Практикум включает 11 тем, 29 лабораторных работ, сгруппированных по признаку общности цели с указанием экспериментальных приемов, используемых при их выполнении. Отбор отдельных опытов проводился с учетом доступности реактивов, простоты аппаратуры, сравнительно небольшой продолжительности.

Для более углубленного изучения курса пищевой химии в

практикум включены таблицы, схемы и рисунки. Закреплению учебного материала способствуют приводимые после каждой изучаемой темы контрольные вопросы для самоподготовки и вопросы для коллоквиумов. В целях углубления теоретических знаний студентам предлагается в процессе выполнения лабораторных работ самостоятельно сформулировать выводы. Помимо этого, указывается перечень литературы, вводящей студента в круг изучаемых вопросов. Для подготовки к специальным семинарским занятиям в практикум включены вопросы к коллоквиумам по всем разделам курса.

ОБЩИЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

При работе в химической лаборатории необходимо соблюдать определенные правила предосторожности. Эти правила необходимо выполнять не только в целях личной безопасности, но и для обеспечения безопасности окружающих.

Обычно характер мер предосторожности, обеспечивающих безопасность выполнения какого-либо химического эксперимента, зависит от вида работы. Однако существуют общие правила, выполнение которых обязательно для каждого работающего в лаборатории.

Правила работы с кислотами и щелочами

Минеральные кислоты (соляная, азотная, серная), а также сильные органические кислоты (поли- и моногалогенкарбоновые) при попадании на кожу и слизистые оболочки вызывают химические ожоги.

Попадание кислот, щелочей и их растворов, а также растворов некоторых солей в глаза может привести к поражению роговицы, что ведет к потере зрения. При работе с такими веществами необходимо помнить следующие правила:

1. Все работы с кислотами и щелочами, а также с едкими солями надо проводить в защитных очках и резиновых перчатках.
2. Категорически запрещается кислоты и щелочи, а также их растворы и растворы едких солей затягивать ртом в сифон и пипетки.
3. Разбавлять концентрированную серную кислоту можно только в жаростойкой посуде, приливая кислоту к воде, а не наоборот, так как происходит значительное выделение теплоты и разбрызгивание. При работе необходимо надеть защитные очки.
4. Растворять гидроксиды калия и натрия следует (в защитных

очках) медленным прибавлением их к воде небольшими порциями. Твердую щелочь надо брать только щипцами, а не руками.

5. Нельзя выливать в раковины остатки кислот, щелочей, насыщенные растворы солей. Их сливают в специальные склянки.

Оказание первой помощи при ожогах и других несчастных случаях

1. При термических ожогах немедленно делают обильные примочки спиртовым раствором танина, этиловым спиртом или раствором перманганата калия.

3. При ожогах кислотами необходимо сразу промыть обожженное место большим количеством воды, а затем 3%-ным раствором гидрокарбоната натрия. При ожогах щелочами необходимо обильно промыть обожженное место проточной водой, а затем разбавленным раствором (3%-ным) уксусной кислоты и опять большим количеством проточной воды.

4. При попадании кислоты или щелочи в глаз следует сразу же его промыть длительное время (3–5 минут) большим количеством воды, направляя небольшую струю прямо в глаз, несмотря на неприятное ощущение. Затем глаз необходимо в случае попадания кислых реагентов промыть раствором гидрокарбоната натрия, а случае щелочных – раствором борной кислоты. После это необходимо немедленно обратиться к врачу.

5. При ожогах фенолом необходимо обработать пораженное место спиртом.

6. При ожогах бромом следует быстро смыть бром спиртом или разбавленным раствором щелочи, а потом спиртом. После пораженное место смазать мазью для ожогов. В случае вдыхания паров брома следует вату обильно смочить этиловым спиртом и глубоко вдыхать пары спирта, а затем выпить молоко и выйти на свежий воздух.

7. Кожу, пораженную органическим веществом, нерастворимым в воде, нужно промыть большим количеством растворителя

данного вещества, а затем смазать кремом.

8. После оказания первой помощи пострадавшего необходимо доставить в медпункт.

Тушение местного пожара и горячей одежды

1. При возникновении пожара немедленно отключить электроприборы по всей лаборатории. Быстро убрать все горючие вещества подальше от зоны огня, тушить пламя с помощью огнетушителя, песка или используя противопожарное одеяло.

Не следует заливать пламя водой, ибо во многих случаях это приводит к растеканию пламени и расширению зоны пожара.

2. При загорании на ком-то одежды нужно быстро накрыть пострадавшего войлочным одеялом. Ни в коем случае нельзя пострадавшему бежать, так как это только усилит пламя на нем. Можно потушить на себе одежду обливанием водой или быстрым перекачиванием на полу.

Тема 1. ВОДА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: овладение методиками определения содержания влаги в пищевых продуктах и анализа воды.

Общие сведения

Химически чистая вода - это прозрачная жидкость без запаха и вкуса.

Молекула воды содержит 11,19 % водорода и 88,81 % кислорода. Молекулярная масса воды составляет 18,016. Температура замерзания 0 °С, температура кипения 100 °С, плотность воды при +4 °С - 1 г/см.

Вода - отличный растворитель многих органических и минеральных веществ, что связано со структурой её молекулы. Молекула воды - электрический диполь. Дипольный момент воды - 1,86. Вода имеет высокую диэлектрическую постоянную - 80, это дает возможность ее частицам легко разрушать кристаллическую решетку, образованную положительными и отрицательными ионами и осуществлять их гидратацию.

Для воды характерна водородная связь, определяющая в значительной степени ее свойства и значение. Водородные связи участвуют в обоюдной проницаемости биологических мембран, в формировании высших уровней организации молекулы белка, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов и других веществ. Вода - слабый электролит.

Диссоциирует по уравнению: $\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$

Вода входит в состав всех пищевых продуктов. Наиболее высокое содержание воды характерно для плодов, овощей (65-95 %), молока (87-90 %), мяса (58-74 %), рыбы (62-84 %). Значительно меньше воды находится в зерне, муке, крупах, макаронных изделиях, сушеных овощах и плодах, маргарине, сливочном масле (12-17 %). Минимальное количество воды содержится в сахаре (0,14-0,4 %), растительном и топленом масле, кулинарных изделиях (0,25-1,0 %), поваренной соли, чае, карамели без начинки, сухом молоке (0,5-5 %).

Свойства продукта зависят не только от количества содержащейся в нём воды, но и от формы связи её с другими веществами продукта. В пищевых продуктах вода может быть в свободном и связанном состоянии.

Вода – самое распространенное вещество в живой природе, и ее весовое содержание в большинстве живых организмов составляет 70% и более. Вода характеризуется рядом специфических физических свойств. При нагревании от 0 до 4°C ее объем не увеличивается, а уменьшается, и максимальной плотности она достигает при 3,98°C. При замерзании объем воды увеличивается, а не уменьшается, как объемы всех других тел. После ртути вода обладает самым большим поверхностным натяжением. Она отличается высокой степенью смачивания, способна подниматься высоко вверх по тонким капиллярам и прилипать к поверхности многих тел, является универсальным и сильнейшим растворителем очень многих веществ, обладает чрезвычайно большой удельной теплоемкостью по сравнению с удельной теплоемкостью других тел.

Вода является постоянной средой, в которой протекают все биохимические процессы в организме. Только в жидкой водной среде совершаются процессы пищеварения и усвоения пищи в желудочно-кишечном тракте. Вода активно участвует в реакциях обмена. Она выполняет также важную механическую функцию, облегчая скольжение трущихся поверхностей (суставы, мышцы, связки). Испарение воды через кожу представляет мощное приспособление, посредством которого поддерживается температура организма на постоянном уровне. С потом из организма выводятся продукты обмена (шлаки), а также частично микробы, вирусы и токсины.

Суточная потребность взрослого человека в воде обычно составляет 2,5-3,0 л, или 40 г на килограмм массы его тела, у грудных детей – в 3-4 раза больше. При физической нагрузке или при высокой наружной температуре воздуха потребность в воде повышается до 3,5-5 л и более. Потребление воды человеком должно балансироваться с ее расходом. Потребность организма в воде удовлетворяется разными путями. Так, при употреблении человеком в сутки 2,6 л воды на долю питьевой воды приходится примерно 0,9 л; воды пищевых продуктов – 1,35 л; воды, образующейся в тканях при окислении различных веществ, – 0,35 л.

Недостаток воды в организме приводит к усилению вязкости крови, а избыток – к усиленному вымыванию из организма солей, повышению нагрузки на сердце и почки. При утрате воды в коли-

честве 6-8% массы организма человек впадает в полубморочное состояние; потеря 10% воды приводит к нарушению глотательного рефлекса, галлюцинациям, потере сознания, сердце оказывается не в состоянии проталкивать по кровеносным сосудам сгустившуюся кровь; потеря же 12% и более воды приводит к летальному исходу. Голодание переносится человеком до 21-35 дней при употреблении 300-400 мл воды в сутки, а при ее отсутствии – 4-5 дней. Излишняя вода в организме временно удерживается главным образом в мышечной ткани и в коже.

Водный обмен тесно связан с белковым, жировым, углеводным и другими обменами. Так, при избыточном употреблении воды происходит усиленный распад белков, и образовавшиеся продукты выводятся из организма. Соли натрия вызывают задержку воды в тканях организма, а соли калия и кальция способствуют ее удалению.

Для характеристики свойств воды в различных продуктах и материалах широко используют понятие «активность воды». Под активностью воды в продукте понимается отношение парциального давления равновесного водяного пара на поверхности продукта к парциальному давлению насыщенного пара свободной воды в окружающей среде.

Лабораторная работа 1

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛАГИ И СУХИХ ВЕЩЕСТВ

(ГОСТ 5900-73, ГОСТ 5904-82.)

Реактивы и оборудование:

1. Весы лабораторные.
2. Шкаф сушильный.
3. Эксикатор.
4. Стаканчики для взвешивания (бюксы).

Опыт 1.1 Определение массовой доли влаги высушиванием

Принцип метода заключается в высушивании навески изделия или полуфабриката при определенной температуре до постоянно сухой массы и определении потери массы по отношению к навеске.

Метод предназначен для изделий, не растворимых в воде, мучных кондитерских изделий, кексов, полуфабрикатов для тортов и пирожных, рулетов, халвы, шоколада, помады, молочных конфет, ириса, изделий, содержащих спирт, и т.д.

Методика выполнения работы

Бюкс с крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до 130-135°C, выдерживают при этой температуре около 20 мин., затем помещают в эксикатор, дают остыть и взвешивают.

Не более 5г подготовленного изделия, предварительно тщательно растертого, взвешивают с погрешностью не более 0,01 г в предварительно подготовленный бюкс.

Открытые бюксы с навесками помещают в сушильный шкаф, нагретый до 130°C.

Длительность высушивания печенья, галет, крекера, пряников, кексов, полуфабрикатов для тортов, пирожных, рулетов - 40 мин, остальных кондитерских изделий - 50 мин, а затем взвешивают.

Обработка результатов

Массовую долю влаги (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100\%.$$

где m_0 – масса пустой высушенной бюксы, г;

m_1 - масса бюксы с навеской до высушивания, г;

m_2 - масса бюксы с навеской после высушивания, г;

m - масса навески изделия, г.

$$m = m_1 - m_0$$

Предел возможных значений погрешности измерения 0,5% ($P=0,95$), для изделий с массовой долей влаги более 20% -1,3% ($P = 0,95$).

Выводы.

Лабораторная работа 2 АНАЛИЗ ВОДЫ

Вода на пищевых предприятиях используется для технологических, хозяйственных и теплотехнических целей. В технологии вода может являться сырьем, входящим в состав готового продукта, растворителем некоторых видов сырья, средой для выполнения производственных операций.

Все чаще для описания свойств в пищевых продуктах используется термин «активность воды». Активность воды определяет способность воды к улетучиванию с поверхности влажного продукта относительно способности к улетучиванию чистой воды при той же температуре.

$$A_w = \frac{P}{P_0}$$

где A_w – активность воды;

P – парциальное давление паров воды над поверхностью продукта; P_0 – давление пара чистого растворителя (дистиллированной воды) при той же температуре.

Дистиллированная вода имеет $A_w = 1$, а совершенно обезвоженное вещество $A_w = 0$.

Активность воды представляет собой ту часть общего количества содержащейся в продукте воды, которая не связана растворенными в ней веществами. Эта часть влаги, которую можно также

обозначить как химически несвязанную влагу пищевого продукта, оказывает прямое воздействие на способность микроорганизмов к размножению, на их обмен веществ, а также на сопротивляемость их, например, к тепловому воздействию или облучению.

В зависимости от отношения микроорганизмов к воде они делятся на: гидрофилы – влаголюбивые микроорганизмы, мезофилы – средневлаголюбивые микроорганизмы, ксерофилы – сухолюбивые микроорганизмы.

Критический предел активности воды для развития микроорганизмов: гидрофилы (в основном бактериальная микрофлора) 0,99- 0,92; мезофилы (по большей мере различные расы дрожжей) 0,88-0,85; ксерофилы (микроскопические грибы) 0,70-0,65. Таким образом, если активность воды больше 0,65, то возможно развитие микрофлоры.

По активности воды все пищевые продукты делятся на три группы:

- продукты с активной влажностью (мясо, сыр, фрукты) – 1,0-0,9;
- продукты с промежуточной влажностью (мука, мед, кексы) – 0,9-0,6;
- продукты с низкой влажностью (кофе, сахар) – 0,6-0,0.

Вода оказывает огромное влияние на органолептические свойства продукции пищевой промышленности. Используемая в производстве вода должна быть чистой, прозрачной, бесцветной, приятной на вкус и не иметь запаха.

Качественные показатели воды, пригодной для использования в пищевой промышленности, следующие: отсутствие какого-либо запаха, вкуса и привкуса; цветность по платиново-кобальтовой шкале не более 20 °; мутность по стандартной шкале не более 1,5 мг/дм³; сухой остаток не более 1000 г/дм³; общая жесткость не более 1,5 мг-экв/дм³ (допускается до 6 мг-экв/дм³); общая щелочность не более 1,5 мг-экв /дм³ ; общее количество бактерий в 1 см³ неразбавленной воды не более 100; бактерий группы кишечной палочки в 1 дм³ воды не более 3.

Воду, содержащую взвеси или не соответствующую санитарным требованиям, очищают и обезвреживают.

Опыт 2.1: Определение органолептических показателей

Реактивы и оборудование: вода водопроводная, электрическая плита, колбы на 250-300 мл, пробки, пипетки, электромешалка, фотоэлектроколориметр ФЭК-60.

Органолептические свойства воды оцениваются показателями, нормирующими вкус, цвет, запах, мутность, концентрацию ряда химических веществ.

Характер и интенсивность запаха воды определяют органолептически, отмечая ощущение воспринимаемого запаха: землистый, хлорный, нефтепродуктов и др. Интенсивность запаха оценивают по пятибалльной шкале.

Интенсивность вкуса и привкуса воды оценивают по пятибалльной системе, отмечают характер вкуса и привкуса: соленый, кислый, щелочной, металлический и др.

Цветность воды определяют путем сравнения проб исследуемой воды, профильтрованной через мембранный фильтр, с растворами, имитирующими цвет природной воды, и выражают в градусах цветности.

Методика выполнения работы:

Для определения запаха и вкуса отбирают образец воды объемом не менее 500 см³ и анализируют его не позднее чем через 2 часа

Для определения запаха в колбу вместимостью 250-350 см³ отмеряют 100 см³ анализируемой воды температурой 20 °С. Колбу закрывают пробкой, содержимое перемешивают вращательными движениями. Затем колбу открывают и определяют характер и интенсивность запаха. Опыт далее повторяют с водой, нагретой до 60 °С. В этом случае горло колбы закрывают часовым стеклом. Интенсивность запаха оценивают по таблице 2. Запах при 20 °С и 60 °С должен быть не более 2 баллов.

Для определения вкуса небольшую порцию воды набирают в рот и выдерживают 3-5 с. Интенсивность вкуса и привкуса, оцениваемая при 20 °С по таблице 2, должна быть не выше 2 баллов.

Цветность воды определяют колориметрически, сравнивая анализируемую жидкость с раствором, имитирующим цвет природ-

ной воды.

Для определения цветности анализируемого образца воды определяют оптическую плотность на колориметре при длине волны 413 нм в кювете толщиной 5 см. В качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду. Цветность определяют по градуировочному графику, откладывая на оси ординат полученную оптическую плотность. Соответственно на оси абсцисс получают искомый показатель в градусах.

Для построения градуировочного графика используют фотоэлектроколориметр, сравнивая анализируемую жидкость с раствором, имитирующим цвет природной воды. Для приготовления имитатора используют растворы бихромата калия, сульфата кобальта и серной кислоты. Из имитатора приготавливают шкалу цветности, определяют оптическую плотность эталонных растворов на колориметре при длине волны 413 нм в кювете толщиной 5 см. По полученным данным строят градуировочный график в координатах градусы цветности – оптическая плотность.

Таблица 1

Оценка запаха и вкуса воды

Интенсивность запаха (вкуса)	Характер проявления запаха (вкуса)	Оценка интенсивности запаха (вкуса), баллы
Нет	Не ощущается	0
Очень слабая	Не ощущается потребителем, но Обнаруживается при лабораторном исследовании	1
Слабая	Замечается потребителем, если обратить на это его внимание	2
Заметная	Легко замечается и вызывает неодобрительный отзыв о воде	3
Отчётливая	Обращает на себя внимание и заставляет воздержаться от питья	4
Очень сильная	Настолько сильный, что делает воду непригодной к употреблению	5

Выводы

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Физико-химические свойства воды и её значение для организма
2. Содержание воды в пищевых продуктах
3. Свободная и связанная вода пищевых продуктов
4. Гигроскопичность пищевых продуктов
5. Влияние свободной и связанной воды на хранение пищевого сырья и продуктов питания
6. Роль воды в пищевых продуктах и сырье.
7. Формы связи влаги в пищевом сырье.
8. Понятие активности воды (a_w).
9. Приведите примеры пищевых продуктов с промежуточной влажностью.
10. Какова связь между устойчивостью продукта при хранении и активностью воды.
11. Методы определения влаги.
12. Механизмы удаления воды из продуктов питания.
13. Требования к воде, используемой для пищевых целей.

Вопросы к коллоквиуму №1 по теме «Вода пищевых продуктов»

1. Специфические физические свойства воды.
2. Вода как постоянная среда, в которой протекают все биохимические процессы организма.
3. Суточная потребность человека в воде.
4. Последствия недостатка и избытка воды в организме.
5. Классификация форм связи воды с пищевым материалом по Ребиндеру.
6. Химическая, физико-химическая и физико-механическая формы связи воды.
7. Гигроскопичность пищевых продуктов.
8. Понятие-активность воды.
9. Продукты с высокой, промежуточной и низкой влажностью
10. Требования к воде, используемой для пищевых целей.

Тема 2. БЕЛКИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Общие сведения

Пищевые продукты содержат комплекс белков. Для их выделения в чистом виде применяют следующие основные операции:

1. Измельчение продуктов.
2. Экстракция белков из измельченного продукта.
3. Осаждение белка из экстракционной смеси.
4. Очистка белка от примесей.
5. Сушка белка.

Измельчение пищевого продукта, имеющего твердую консистенцию (мясо, рыба, сыр, хлеб, крупа, овощи и т.д.), проводят для разрушения клеточных или других структур (волокон, гелей, кристаллов) с целью высвобождения из них белков. Измельчение обычно проводят тщательным растиранием продукта пестиком в фарфоровой чашке.

Белки пищевых продуктов разнообразны по строению и физико-химическим свойствам, в частности, по растворимости. Поэтому экстракт белка из измельченного продукта проводят в соответствующем растворителе в зависимости от вида выделяемого белка. Для измельчения альбуминов измельченный продукт настаивают в дистиллированной воде, для выделения глобулинов - в солевом растворе, для выделения глютелинов - в слабощелочном растворе, для выделения проламинов и гистонов - в спиртовом растворе. Для выделения плохо растворимых белков коллагена, эластина и других, продукт подвергают кипячению в щелочном или кислотном растворе, но при этом выделяемые белки частично разрушаются. Экстракцию белков обычно проводят 15-30 мин при периодическом помешивании и для более полного извлечения белков повторяют 2-3 раза. По окончании экстракции смесь продукта с растворителем фильтруют. Фильтрат содержит белок, а осадок, содержащий остатки продукта, либо используют для экстракции белков, либо выбрасывают.

Для осаждения белка из экстракта (либо из жидкого пищевого продукта: молока, растительного масла) используют методы обратимого осаждения белков, то есть при которых не происходит их денатурация:

1. Высаливание.

2. Изоэлектрическое осаждение.

3. Осаждение органическими растворителями (спиртом, ацетоном при низкой температуре и низкой концентрации растворителя).

Часто в осадок выпадают ряд белков, близких по своим свойствам. Поэтому проводят дробное осаждение белков, меняя изоточку или концентрацию соли, либо органического растворителя. Осажденный белок отфильтровывают. Для очистки белков от сопутствующих белкам примесей других соединений (липидов, углеводов и др.) применяют разнообразные методы: диализ, гель-хроматография, электрофорез и другие.

Очищенный белок во избежание его денатурации и потери свойств сушат при комнатной температуре на воздухе, либо в вакуум - сушильном шкафу. Высушенный простой белок обычно представляет собой кристаллы или порошок белого цвета.

Лабораторная работа 3

ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ ИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Реактивы и оборудование:

1. Водяная баня.
2. Фарфоровая ступка и пестик.
3. Пробирки.
4. Стеклянные палочки.
5. Фильтры бумажные.
6. Пипетки.
7. Воронки для фильтрования.
8. Марля для фильтрования.
9. Пробирки широкие для гидролиза со стеклянной трубкой и пробкой.
10. Насыщенный раствор сульфата аммония.
11. Концентрированная уксусная кислота.
12. Кристаллический сульфат аммония.
13. Раствор сульфата аммония, 50%.
14. Раствор хлорида калия, 5%.
15. Раствор хлорида натрия, 10%.
16. Раствор сульфата меди, 1%.
17. Раствор пероксида водорода, 3%.

18. Раствор едкого натра, 10%.
19. Раствор гваяковой смолы на спирту (свежеприготовленный), 1%.
20. Этанол, 70%.
21. Продукты: говяжье мясо, свежее сырое молоко, пшеничная мука.

Опыт 3.1Выделение белков из мяса

Методика выполнения работы Выделение водорастворимых белков

0,5 кг мяса растирают в фарфоровой ступке с десятью каплями дистиллированной воды в течение 3-5 мин до получения гомогенной массы.

К растертой кашеце подливают при помешивании небольшими порциями (по 5-10 капель) дистиллированную воду (всего в количестве 3 мл).

Водяную вытяжку фильтруют через тройной слой марли. В фильтрате содержатся водорастворимые белки мяса: миоальбумины, миоглобин^ миоген, глобулин X.

Остаток мяса сохраняют для получения солевой вытяжки, а с фильтратом проделывают биуретовую реакцию: к 1 мл фильтрата добавляют 2 мл 10 %-гораствора едкого натра и 1-2 капли 1 %-го раствора сульфата меди, в пробирке появляется сине-фиолетовое окрашивание; высаливание альбуминов серноокислым аммонием: к 1 мл фильтрата добавляют насыщенный раствор сульфата аммония до помутнения и добавляют кристаллический сульфат аммония до полного насыщения (на дне пробирки должен лежать избыток соли) и гваяковую пробу на присутствие миоглобина: к 5 каплям фильтрата добавляют 1-2 капли свежеприготовленного 1 %-го спиртового раствора гваяковой смолы и 1-2 капли 3 %-го раствора пероксида водорода. Жидкость окрашивается в зеленый или синий цвет. Реакция обусловлена способностью геминовой группы миоглобина катализировать окисление гваяковой смолы периксидом водорода в озонид гваяковой смолы синего цвета.

Выделение солерастворимых белков

Остаток мяса после получения водной вытяжки отмывают путем повторного экстрагирования новыми порциями воды до тех пор, пока промывная жидкость не перестанет давать биуретовую реакцию. Промывание воды выбрасывают. Отмытый осадок мяса заливают в ступке 3 мл 5 %-го раствора хлорида калия и растирают пестиком в течение 5 минут. В раствор переходят солерастворимые белки: миозин, актин, актомиозин. Жидкость отделяют фильтрованием, а остаток мяса сохраняют для получения коллагена. С небольшими порциями фильтрата проводят биуретовую реакцию, реакцию высаливания глобулинов и осаждение белка путем разведения десятикратным объемом дистиллированной воды.

Выделение коллагена

Для удаления солерастворимой фракции остаток мяса отмывают новыми порциями раствора хлорида калия до получения отрицательной биуретовой реакции. Промывные воды выбрасываются.

Остаток мяса переносят с марлевого фильтра в широкую пробирку для гидролиза, заливают 1 мл дистиллированной воды и кипятят около 30 мин. При нагревании коллаген частично гидролизуется, превращается в желатин и переходит в раствор. Горячий раствор фильтруют и с фильтром проводят биуретовую реакцию. Получается сине-фиолетовое окрашивание, характерное для раствора желатина.

Опыт 3.2: Выделение белков из молока

Методика выполнения работы

Выделение казеина

50 мл сырого молока нагревают до 40-50 °С и вносят при помешивании несколько капель концентрированной уксусной кислоты. Выпавший осадок казеина отфильтровывают, фильтрат используют для выделения других белков, а осадок осторожно снимают стеклянной палочкой с фильтра в пробирку и проводят с ним биуретовую реакцию на белок.

Выделение лактоглобулина и лактоальбумина

2-3 мл фильтрата кипятят до появления хлопьев лактоглобулина и лактоальбумина.

К 5 мл фильтрата в другой пробирке добавляют сульфат аммония до полунасыщения. Выпадают хлопья глобулина, которые отфильтровывают.

Лактоальбумин выпадает в осадок в виде хлопьев при добавлении к 5 мл фильтрата в третьей пробирке сульфата аммония до полного насыщения. Хлопья альбумина также отфильтровывают.

Полученные осадки снимают с фильтра и проделывают с ними биуретовую реакцию.

Опыт 3.3: Выделение белков из пшеничной муки

Методика выполнения работы

Выделение альбуминов

0,5 кг пшеничной муки растирают в фарфоровой ступке с 3 мл дистиллированной воды. Через 2-3 мин надосадочную жидкость фильтруют через бумажный фильтр, а осадок муки промывают в ступке 2 мл воды и после 2-3 минут отстаивания промывные воды удаляют. Промытый осадок сохраняют для выделения других фракций белка, а с фильтратом, содержащим альбумин (лейкозин), проделывают биуретовую реакцию и реакцию высаливания альбуминов.

Остаток муки после выделения альбуминов обрабатывают в ступке миллилитрами 10 %-го хлорида натрия и после отстаивания фильтруют. С фильтратом, содержащим глобулины, проделывают биуретовую реакцию и реакцию высаливания глобулинов.

Выделение проламинов (глиадинов)

5 кг пшеничной муки растирают в ступке с тремя миллилитрами 70 %-го этанола и смесь фильтруют через складчатый фильтр. С фильтратом, содержащим проламины, проделывают биуретовую реакцию и реакцию осаживания при разведении вытяжки водой. Для этого к 10 каплям спиртовой вытяжки добавляют по каплям дистиллированную воду до появления осадка (или мути) проламинов.

Выводы.

Лабораторная работа 4

ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОСТЫХ И СЛОЖНЫХ БЕЛКОВ ИЗ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ И ИХ ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ

Цель работы: освоить методики выделения и фракционирования белковых веществ из пищевого сырья.

Общие сведения

Белки – необходимая составная часть продуктов питания. Отсутствие или недостаточное их количество в пище вызывает серьезные заболевания человека. Пищевая ценность белков зависит от их аминокислотного состава, от содержания в них незаменимых аминокислот, которые не синтезируются в организме человека. Потребляемые человеком в пищу белки можно разделить на полноценные, содержащие все незаменимые аминокислоты, и неполноценные, в которых отсутствует одна или несколько незаменимых аминокислот. Например, казеин – основной белок молока – является полноценным, в то время как желатин – белок, получаемый из костей и сухожилий (продукт частичного гидролиза коллагена), – неполноценным.

Белки входят в состав практически всех продуктов животного и растительного происхождения.

Белки являются высокомолекулярными биологическими полимерами, построенными из остатков аминокислот.

В зависимости от формы молекулы белки делят на глобулярные и фибриллярные. Молекулы глобулярных белков состоят из одной полипептидной цепи или нескольких, плотно свернутых за счет нековалентных, а часто и ковалентных связей в компактную частицу, называемую глобулой. Они имеют шарообразную или веретенообразную форму. Подавляющее большинство природных белков относится к глобулярному типу.

Они растворимы в воде и в солевых растворах и выполняют в организме динамические функции (гемоглобин крови, сывороточный альбумин, ферменты, антитела, гормоны и другие). Фибриллярные белки состоят из вытянутых или спирализованных полипептидных цепей, расположенных параллельно и удерживаемых за счет многочисленных нековалентных, а иногда и ковалентных свя-

зей. Полипептидные цепи объединены в волокна (фиб-риллы). Эти белки в большинстве своем нерастворимы в воде и выполняют функцию структурных элементов (кератин волос, коллаген кожи, эластин связок, фиброин шелка и другие).

Между глобулярными и фибриллярными белками существуют различные переходные формы.

По способу свертывания и ассоциации полипептидных цепей, согласно представлениям К.У. Линденштрема-Ланга, выделяют четыре уровня пространственной структуры белка: первичная, вторичная, третичная и четвертичная. Эти уровни соответственно означают: линейную последовательность аминокислот; упорядоченное строение основной цепи полипептида; трехмерную структуру белков глобулы и структуры белковых агрегатов.

У глобулярных белков выделяют еще два дополнительных уровня: сверхвторичную структуру, которая характеризует энергетически предпочтительные агрегаты вторичной структуры, и домены – части белковой глобулы, представляющие собой достаточно обособленные глобулярные области. Организация высших структур полностью закодирована в аминокислотной последовательности. Совокупность уровней организации называют конформацией белковой молекулы.

Белки делят на простые (протеины) и сложные (протеиды). Продуктами гидролиза протеинов являются только аминокислоты.

К ним относятся альбумины, глобулины, гистоны, проламины, протамины, глутелины. В состав продуктов гидролиза протеидов входят не только аминокислоты, но и небелковые вещества разнообразные по составу (простетические группы).

Важнейшее свойство белков – их способность к денатурации (изменению природной пространственной структуры) под действием различных факторов внешней среды.

Степень денатурации белка может быть различной в зависимости от характера белка, природы денатурирующего агента и времени его действия. Различают обратимую и необратимую денатурацию. Основные признаки денатурации – это

снижение растворимости, потеря биологической активности, изменение оптических свойств, вязкости и другие.

В процессе приготовления пищи белки, входящие в состав пищевых продуктов, денатурируются. Такие белки легче подверга-

ются действию ферментов пищеварительного тракта, и поэтому лучше и быстрее усваиваются организмом. Целый ряд технологических процессов получения пищевых продуктов (выпечки хлеба, производство макарон и другие) связан с частичной денатурацией белков, входящих в состав сырья.

Выделение белков из пищевого сырья начинается из извлечения их соответствующим растворителем (экстракция). Каждый белок обладает определенной растворимостью, зависящей от природы самого белка и состава растворителя. На растворимость существенное влияние оказывает pH среды. Присутствие солей в растворе может либо увеличить, либо уменьшить растворимость того или иного белка.

Из полученных экстрактов белки осаждают органическими растворителями, смешивающимися с водой. С этой целью обычно используют метанол, этанол, бутанол, глицерин и ацетон. Кроме того, применяют прием высаливания.

Опыт 4.1. Разделение альбуминов и глобулинов яичного белка методом высаливания

Высаливанием называют процесс осаждения белка из раствора под действием нейтральных солей: NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , MgCl_2 и другие. При высаливании белок выпадает в осадок, не подвергаясь денатурации.

При добавлении к растворам белка солей щелочных и щелочно-земельных металлов их ионы адсорбируются на противоположно заряженных группах частиц белка, делая их электронейтральными и тем самым, понижая устойчивость белков в растворе. Кроме того, соли щелочных ищелочно-земельных металлов растворяясь, связывают большие количества воды, что при достаточно высоких концентрациях ведет к дегидратации частиц белка и лишает их гидратной оболочки. Белок при этом выпадает в осадок.

Для осаждения из раствора различных белков используют растворы соли разной концентрации. Глобулины, например, осаждаются полунасыщенным раствором сернокислого аммония, а альбумины – только насыщенным раствором. Это происходит из-за того,

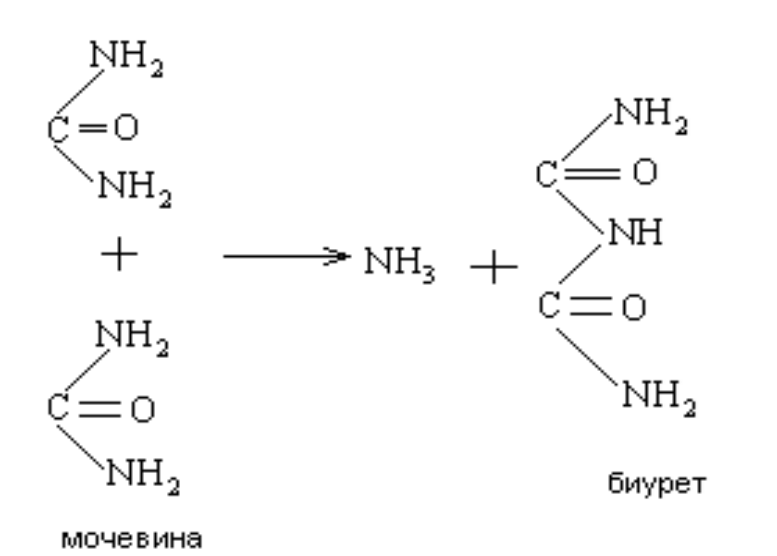
что частицы глобулинов значительно крупнее частиц альбуминов, это используется для разделения альбуминов и глобулинов.

Осаждающиеся при высаливании белки способны вновь растворяться в воде, т.к. макромолекулы белков при высаливании, как правило, сохраняют свои нативные свойства.

Приборы и реактивы: штатив с пробирками, воронки, фильтры бумажные, стеклянные палочки, пипетки, 1% раствор яичного белка, сульфат аммония кристаллический, сульфат аммония насыщенный раствор, 10 % раствор гидроксида натрия, 0,5 % раствор сульфата меди.

Методика выполнения работы

В пробирку прилить 2-3 мл раствора яичного белка и равный объем насыщенного раствора сульфата аммония. Содержимое пробирки тщательно перемешать и оставить на 10 минут. Выпадает хлопьевидный осадок глобулина. Осадку дают отстояться, после чего отфильтровать. К фильтрату добавить кристаллический сульфат аммония на кончике шпателя до насыщения; выпадает хлопьевидный осадок альбуминов. Осадок отцентрифугировать в течение 5 минут при 3000 оборотах в минуту. С фильтратом провести биуретовую реакцию. Отрицательная реакция указывает на отсутствие белков в фильтрате и полноту осаждения. Осадок альбуминов из центрифужной пробирки перенести в пробирку и растворить в 2-3 мл воды. Раствор альбуминов отфильтровать и провести с ним биуретовую реакцию.



В присутствии солей меди в щелочной среде белки дают фиоле-

товое окрашивание. Окраску дает комплексное соединение меди с пептидными группами - CO – NH-.

Цвет комплекса, получаемый при биуретовой реакции с разными пептидами, зависит от длины пептидной цепи.

Пептиды с длиной цепи от четырех аминокислотных остатков и выше образуют красный комплекс, трипептиды – фиолетовый, а дипептиды – синий.

В пробирку с фильтратом налить 1 мл раствора едкого натра и 1-2 капли раствора сернокислой меди. При взбалтывании в случае присутствия белков появляется фиолетовое окрашивание.

Полученные результаты записывают в таблицу .

№ пробирки	Окраска	Вывод

Выводы.

Лабораторная работа 5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ДЕНАТУРАЦИИ БЕЛКА

Цель работы: сравнить степень денатурации белка при воздействии на него различных факторов

Общие сведения

В пищевой технологии особое практическое значение имеют процессы гидролиза и денатурации белков. В основе денатурации белков лежит нарушение упорядоченного расположения полипептидных цепей во вторичной, третичной структуре молекулы в результате разрыва некоторых внутримолекулярных связей. При денатурации изменяются физические свойства белков, снижается их растворимость, способность к гидратации, агрегированию, утрачиваются биологические свойства.

В результате разрыва внутримолекулярных связей (водородных, солевых) пептидные цепи частично разворачиваются, в результате чего функциональные группы становятся более активными или более доступными для воздействия реагентов или ферментов. Для тепловой денатурации белков особенно характерно увеличение реактивности SH- групп.

Денатурация белков происходит под воздействием тепла, начиная с 60°C, при механическом воздействии (давлении, растирании, встряхивании и т.д.) и под действием химических реагентов.

Извлечение белков

Техника выполнения: Отвешивают 5 г муки, заливают 10 мл раствора хлорида калия (KCl) и ставят на встряхиватель на 5 мин. Полученную суспензию переносят в центрифужную пробирку на 50 мл и добавляют 35 мл раствора KCl. Пробирки закрывают резиновыми пробками и встряхивают 15 мин. Через 15 мин осадок отделяют на центрифуге при 5000 об/мин в течение 5 мин. Экстракт сливают в мерную колбу на 100 мл через воронку с ватным фильтром, который помещают в горлышко воронки. Извлечение раствором KCl повторяют еще три раза, но с 10 мл растворителя. При тщательном извлечении в солевую вытяжку переходит не менее 30% от общего количества азота. После добавления новой порции

растворителя осадок в пробирке хорошо перемешивают палочкой. Экстракцию солевым раствором заканчивают промыванием осадка 20–30 мл дистиллированной воды, которую после перемешивания и центрифугирования сливают в мерную колбу с солевыми вытяжками и доводят до метки водой.

Денатурация белков при нагревании

Навеску муки 5 г отвешивают в алюминиевой бюксе на весах и нагревают в течение 30 минут в зависимости от заданного режима на водяной бане или электроплитке. Извлечение белков осуществляют по п. 5.1.

Денатурация белка при механическом воздействии

Отвешивают 5 г муки и тщательно растирают в фарфоровой ступке с 0,2 г стеклянного песка в течение 30 мин.

Количественное определение растворимых белков

Содержание водо- и солерастворимых белков определяют колориметрическим методом с биуретовым реактивом. Метод основан на определении интенсивности окраски, возникающей в результате взаимодействия белков с ионами меди в щелочном растворе. При этом раствор белка окрашивается в сине-фиолетовый цвет.

Для проведения реакции 1 мл исследуемого раствора, содержащего 1–10 мг белка, смешивают с 4 мл биуретового реактива, оставляют на 30 мин при комнатной температуре в темном шкафу. По истечении времени определяют оптическую плотность при длине волны 540 нм против воды.

Расчет белка ведут по формуле:

$$B = \frac{C \cdot V \cdot 100}{P \cdot 1000}$$

где C — количество белка, найденное по калибровочному графику, мг/мл;

V — объем разведения, мл P — навеска, г 1000 — перевод мг в г

Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика 100 мг кристалличе-

ского человеческого альбумина растворяют в 10 мл физиологического раствора и делают следующие разведения:

Раствор 1. 100мг альбумина + 10мл 0,85%-го раствора поваренной соли = 10 мг белка в 1 мл.

Раствор 2. 2мл раствора1 + 0,7мл физраствор = 7мг белка в 1мл.

Раствор 3. 4мл раствора2 + 4мл физраствора = 5мг белка в 1мл.

Раствор 4. 5мл раствора3 + 5мл физраствора = 2,5мг белка в 1мл.

Раствор 5. 5мл раствора4 + 5мл физраствора = 1,5мг белка в 1мл.

Раствор 6. 5мл раствора5 + 5мл физраствора = 0,625мг белка в 1 мл.

Из каждого разведения берут по одному мл для проведения биуретовой реакции.

Для построения калибровочного графика (средние данные, полученные из 4-х повторностей) на оси ординат откладывают оптическую плотность, а на оси абсцисс – концентрацию альбумина, выраженную в мг на мл измеряемого раствора.

Расчет степени денатурации белка

Степень денатурации белков устанавливают по уменьшению растворимости по формуле:

$$СД\% = \frac{(B_{исх} - B_0) \cdot 100}{B_{исх}},$$

где B_0 – количество растворимых белков после денатурации, %; $B_{исх}$ – количество растворимых белков в исходной пробе до денатурации, %.

Выводы.

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Физико-химические свойства белков, используемые в пищевой промышленности. Гидратация, амфотерность, набухание, гидролиз, денатурация, пенообразование, синерезис.

2. Биологическая ценность и потребность в белке. Незаменимые аминокислоты.

3. Значение белков для организации человека и их содержание

в пищевых продуктах.

4. Почему нельзя сушить белок при высоких температурах(свыше 60°)?

5. Назовите стадии выделения белков из пищевых продуктов.

6. Для чего проводится измельчение продукта перед экстракцией белка?

7. На чём основано экстрагирование белка из продукта?

8. Какой растворитель применяют для экстракции альбуминов, глобулинов, глютеинов, проламинов?

9. В чём особенности извлечения из пищевого продукта трудно растворимых белков: коллагена, эластина и др.?

10. Что такое высаливание белка?

11. Что такое изoeлектрическое осаждение белка?

12. Как влияют органические растворители: спирт, ацетон и другие на белок при их воздействии на белковый раствор?

13. Понятие денатурации.

14. Какие факторы способны денатурировать белки?

15. Существует ли разница между денатурацией и коагуляцией?

16. Как изменяется биологическая активность белка при денатурации?

17. Структуры белковой молекулы.

18. Приведите примеры соле-, водо-, щелоче-, спирторастворимых белков.

19. Какие изменения могут происходить с белками сырья при хранении в процессе технологической обработки?

20. Сущность биуретовой реакции.

21. Как рассчитать степень денатурации?

22. Продукт гидролиза белков.

23. Ферментативный гидролиз белка.

Тема 3. УГЛЕВОДЫ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Общие сведения

Углеводы (сахара) представляют собой альдегиды, или кетоны многоатомных спиртов и полимеры этих соединений. В клетках животных организмов на долю углеводов приходится 20 %, в растениях - 90 % сухого вещества. В соединениях с белками и жирами углеводы представляют основу субклеточных структур, а, следовательно - основу живой материи. В зависимости от числа остатков сахаров в молекуле углеводы классифицируют на **моносахариды, олигосахариды и полисахариды**.

Моносахариды содержат только одну структурную единицу. Это

- *полигидроксиальдегиды* или *полигидроксикетоны*. По числу углеводных атомов, входящих в состав моносахаридов, их подразделяют на: *триозы* ($C_3H_6O_3$), *тетрозы* ($C_4H_8O_4$), *пентозы* ($C_5H_{10}O_5$), *гексозы* ($C_6H_{12}O_6$), *гептозы* ($C_7H_{14}O_7$) и т. д.

Олигосахариды состоят из нескольких остатков моносахаридов, соединенных -О-гликозидными связями. Наиболее распространены **дисахариды**, построенные из двух моноз ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

Полисахариды являются высокомолекулярными веществами, построенными из сотен моносахаридов, соединенных -О-гликозидными связями $(C_6H_{10}O_5)_n$.

К олигосахаридам (дисахаридам) относятся: Мальтоза - солодовый сахар (maltum - солод [ячмень]).

Сахароза - тростниковый, свекловичный сахар.

Лактоза - молочный сахар (laktum- молоко). В коровьем молоке содержится 4-6 % лактозы.

Полисахариды - это углеводы, молекулы которых построены из нескольких сотен моноз. Пример моносахаридов - крахмал, гликоген, клетчатка.

Крахмал $(C_6H_{10}O_5)_n$ (входит в состав пшеницы, гороха, сои, кукурузы, зерновых культур, хлеба, картофеля). Построен из α-Д-глюкопираноз.

Крахмал - содержится в клеточных органеллах растений. Это запасное питательное вещество листьев, стеблей, луковиц, клубней. Построен из α-Д-глюкопираноз.

Качественная реакция крахмала - синяя окраска с йодом.

Гликоген- животный крахмал, резервное вещество тканей и клеток организма. В печени содержится 20 % гликогена, в скелетных мышцах 0,9 %. Построен из α -D-глюкопираноз.

Качественная реакция гликогена - красно-коричневая окраска с йодом.

Клетчатка ($C_6H_{10}O_5$)_n. **Пример** клетчатки: волокна сена, соломы, древесины, хлопка, льна.

Клетчатка(пищевые волокна)- основной полисахарид растений. В листьях содержится 30 % клетчатки, в древесине 70 %, в стеблях волокнистых растений (хлопка, льна) почти 100 %. Клетчатка нерастворима в воде, в разбавленных кислотах и щелочах. В результате гидролиза клетчатки образуется глюкоза, а затем этиловый спирт. Построена из β -D-глюкопираноз.

В организме человека нет ферментов, расщепляющих клетчатку, но небольшое количество клетчатки расщепляется в желудочно-кишечном тракте человека ферментами микроорганизмов. У животных клетчатка (трава, сено, солома, ветки и т. д.) расщепляется микрофлорой рубца, сетки, книжки желудка и слепой кишки до уксусной, масляной, молочной и пропионовой кислот.

К полисахаридам относятся кислые полисахара: **пектин** (клетчатка ягод, фруктов), и студневидное вещество водорослей -**агар-агар**. Пектин и агар-агар – гетерополисахариды. Они построены из цепей глюкозы, галактозы, спиртов, кислот, атомов Ca, Mg, S.

Лабораторная работа 6 ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЯХ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Реактивы и оборудование:

1. Фотоколориметр ФЭК
2. Цилиндры, пипетки, стаканы
3. Веем лабораторные
4. Колбы комические, колбы мерные на I л. 250 мл
5. Ступки с пестиками
6. Баня водяная
7. Эксикатор
8. Сернокислый цинк безводный
9. Фенолфталеин

10. Кислота серная
11. Гидроокись натрия или калия
12. Калий двуххромовокислый
13. Сахароза
14. Исследуемые продукты: печенье, пряники, конфеты, овощи, драже, карамель, сиропы, жевательная резинка

Построение калибровочного графика (выполняется преподавателем или лаборантом)

1. 49 г калия двуххромовокислого растворяют в 300 мл дистиллированной воды (первый раствор). Отдельно к 300 мл дистиллированной воды осторожно небольшими порциями при перемешивании приливают 300 мл концентрированной серной кислоты и охлаждают (второй раствор). Сначала первый, а затем и второй раствор осторожно переливают в мерную колбу на 1 л, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём дистиллированной воды до метки, перемешивают.

Построение графика производят не ранее чем через сутки после приготовления сернокислого калия двуххромовокислого.

1. 1 г сахарозы или сахара рафинада, предварительно высушенного в экстракте в течение трёх суток, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, растворяют в дистиллированной воде и переносят в мерную колбу на 250 мл. Объём раствора доводят до метки дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Полученный раствор содержит 4 мг сахарозы в 1 мл. Раствор сахарозы готовят непосредственно перед употреблением.

2. 40 г гидроокиси натрия или 56 г гидроокиси калия растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 1 л - приготовление 1 М раствора NaOH.

3. 145 г серного цинка растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 1 л - приготовление 1 М раствора NaOH или KOH.

4. Отдельно сернокислый цинк (1 М) с фенолфталеином титруют гидроокисью (на 10 мл $ZnSO_4 \sim 14,6$ мл KOH).

5. Построение графика. В 5 мерных колбах мерным цилиндром вносят по 25 мл сернокислого раствора двуххромовокислого калия, затем пипеткой в каждую колбу по разному: 2, 4, 6, 8, 10 мл стандартного раствора сахарозы, и по 23, 21, 19, 17, 15 мл дистиллированной

воды, чтобы объём в каждой колбе достиг 50 мл. Колбы с содержимым помешают в кипящую баню на 10 мин.

Охлаждают до комнатной температуры, доводят объём, дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают и измеряют оптическую плотность на ФЭКе с красным светофильтром. Оптическую плотность измеряют в каждом растворе не менее трёх раз и из полученных данных берут среднее арифметическое значение.

По полученным данным строят калибровочный график, откладывая на оси ординат, абсцисс ~ соответствующие значения массы сахарозы в мг.

Калибровочный график используется для определения общего сахара.

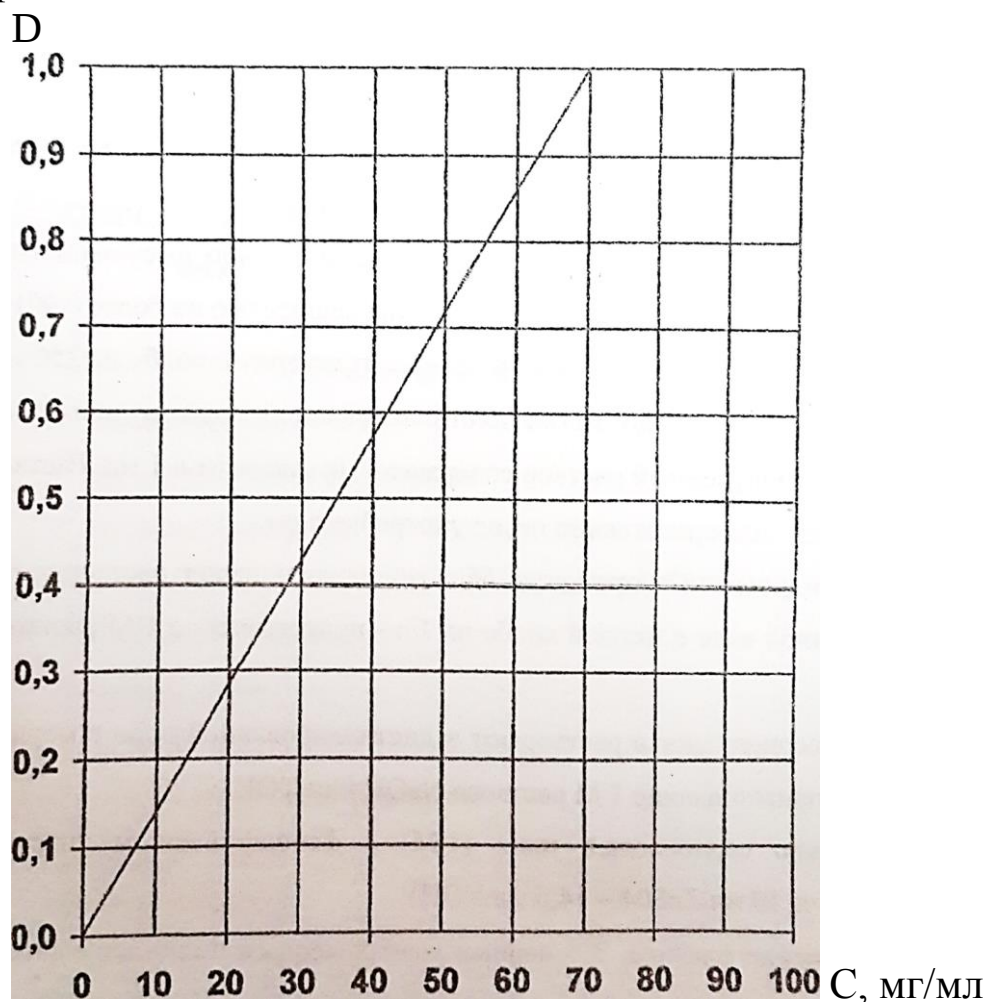


Рис. 1. Калибровочный график для определения общего сахара

Методика выполнения работы

Навеску (не менее 5 г) измельченного исследуемого вещества взвешивают с погрешностью не более 0,0001 г. Навеску растворяют

в стакане со 100-150 мл дистиллированной воды, нагревают до 60-70 °С.

Если изделие растворяется без остатка (сиропы, драже, леденцы), то полученный в стакане раствор охлаждают и переносят в колбу на 200 или 250 см³, доводят объём до метки дистиллированной воды и хорошо перемешивают

При растворении печенья, пряников, халвы, ягод, содержащих белки, жиры, крахмал, пектины, навеску из стакана переносят в мерную колбу на 200-250 см³, смывая нерастворимые частицы в колбу дистиллированной водой примерно до половины объёма колбы, помешают её в водяную баню, нагретую до 60 °С, взбалтывая, выдерживают на бане 15 мин

Охладив раствор до комнатной температуры, осаждают сахара, прибавляя к раствору 15 см сернокислого цинка и соответствующий объём, указанный преподавателем, гидроокиси натрия. Содержимое колбы взбалтывают, доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют в сухую коническую колбу.

В мерную колбу на 100 см³ мерным цилиндром вносят 25 см³ сернокислого раствора двуххромовокислого калия, 10 см³ фильтрата исследуемого раствора и 15 см³ дистиллированной воды.

Колбу помешают в кипящую водяную баню на 10 мин. Охлаждают до комнатной температуры, доводят объём дистиллированной воды до метки и перемешивают!

Измеряют на ФЭКе оптическую плотность (Д) при красном фильтре. По значению оптической плотности и калибровочному графику находят соответствующее количество общего сахара, условно выраженное в сахарозе.

Массовую долю общего сахара X в мг/%, выраженных в сахарозе определяют по формуле

$$X = \frac{M1 \cdot 100 \cdot 1000}{M \cdot 10}$$

где М - масса навески изделия, г;

М1 - масса сахарозы, полученная по калибровочному графику (С, мг /мл);

100 - вместимость мерной колбы, см,

10 - объём раствора, взятого на анализ;

1000 - коэффициент пересчета миллиграммов сахарозы в граммы.

Лабораторная работа 7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КРАХМАЛА

Реактивы и оборудование: раствор соляной кислоты массовой долей 1,124 % раствор соляной кислоты массовой долей 25% реактив Карреза 1 (15 г $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ растворяют в мерной колбе вместимостью 100 см³)

сахариметр СУ-4

весы квадрантные ВЛКТ-500г-М электрическая водяная баня.

Основными видами крахмалсодержащего сырья являются картофель, зерно и продукты его переработки (мука, крупа). Содержание крахмала в картофеле составляет в среднем 70-80 % его сухой массы, в зерновке злаков – 40-80 %.

Состоит крахмал из полисахаридов двух типов, различающихся по своим физическим и химическим свойствам, - амилозы и амилопектина. В пшеничном крахмале содержится 25 % амилозы и 75 % амилопектина.

В молекуле амилозы остатки глюкозы связаны 1,4-глюкозидными связями; образуют линейную цепочку. Молекулярная масса амилозы

$$3 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6 \text{ а.е.м.}$$

Молекула амилопектина имеет не только 1,4-глюкозидные связи, но и связь между 1-м и 6-м атомами углерода остатков глюкозы; образуется разветвленная структура. Молекулярная масса амилопектина достигает сотен миллионов а.е.м.

Крахмал на 96,1-97,7 % состоит из полисахаридов, образующих при кислотном гидролизе глюкозу. Поэтому существующие методы количественного определения крахмала основываются на использовании различных свойств глюкозы: ее редуцирующей способности, оптической активности и др. Наибольшее распространение получили поляриметрические методы.

Для определения содержания крахмала в растительном сырье необходимо предварительно перевести его в растворимое состояние и гидролизовать, что достигается обработкой исследуемого объекта соляной кислотой или хлоридом кальция. С целью удале-

ния сопутствующих веществ, мешающих определению (в основном белков), и для осветления полученного гидролизата, раствор обрабатывают реактивом-осадителем. Прозрачный раствор поляризуют.

Метод Эверса – основной стандартный метод определения массовой доли крахмала при оценке качества зерна и продуктов его переработки.

Методика выполнения работы

В сухую мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят из бюретки 25 см³ раствора соляной кислоты массовой долей 1,124 % и добавляют через воронку при постоянном перемешивании (взбалтывании) навеску муки массой 5 г. Когда материал будет полностью суспендирован, промывают воронку и горлышко колбы новой порцией (25 см³) той же кислоты. Колбу при постоянном перемешивании опускают в кипящую водяную баню и взбалтывают в течение 3 мин (по секундомеру). Нагрев на бане продолжают еще 12 мин. По истечении 15 мин с момента погружения колбы в баню ее вынимают, вливают цилиндром 40 см³ холодной дистиллированной воды и быстро охлаждают под краном до 20°C.

Для осаждения белков и осветления раствора в колбу приливают по 2 см³ реактивов Карреза 1 и 2. Через 5 мин содержимое колбы доводят дистиллированной водой до метки, взбалтывают и фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу. Первые порции фильтрата (до 10 см³) не используют. Прозрачным фильтратом с температурой 20 °C наполняют поляризационную трубку длиной 200 мм и измеряют угол вращения плоскости поляризации на сахариметре. Параллельно проводят опыт (контрольный) для внесения поправки на оптически активные водорастворимые вещества, не осаждаемые реактивами-осадителями и находящиеся в растворе (преимущественно углеводы).

Контрольный опыт – отвешивают 5 г продукта, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, добавляют цилиндром 70 см³ воды и взбалтывают в течение 15 мин. Затем смывают горлышко колбы 10 см³ дистиллированной воды, осветляют реактивом-осветлителем, используемым в основном опыте. Взбалтывают в те-

чение 5 мин, доводят содержимое колбы до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют. Отбирают пипеткой 50 см³ фильтрата, переносят в мерную колбу на 100 см³, добавляют 2 см³ раствора соляной кислоты массовой долей 25 %, выдерживают 15 мин на кипящей водяной бане, охлаждают до 20 °С и поляризуют в трубке длиной 200 мм на сахариметре.

Содержание крахмала рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{(\alpha_{\text{оп}} - \alpha_{\text{к}}) 100 \cdot 100 \cdot 100}{[\alpha]_{\text{D}}^{20} \cdot m \cdot l \cdot (100 - W)},$$

где С – массовая доля крахмала, в % на сухие вещества;

$\alpha_{\text{оп}}$ – величина угла поворота плоскости поляризации, полученная оптически активными веществами в основном опыте, град сахариметра;

$\alpha_{\text{к}}$ – величина угла поворота плоскости поляризации, осуществляемая водорастворимыми оптически активными веществами (не крахмалом) в контрольном опыте, град сахариметра;

$(\alpha_{\text{оп}} - \alpha_{\text{к}})$ – величина угла поворота плоскости поляризации, полученная растворенным крахмалом навески, град сахариметра;

m – масса продукта, взятого для анализа, г; l – длина поляризационной трубки, мм;

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ – удельная вращательная способность крахмала исследуемого продукта, град;

W – массовая доля влаги исследуемого продукта, %.

При взятой для анализа навеске массой 5 г и длине поляризационной трубки 200 мм формула приобретает вид:

$$C = \frac{(\alpha_{\text{оп}} - \alpha_{\text{к}}) * F * 100}{100 - W},$$

где F – коэффициент Эверса, равный $1000/[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ (табл. 1)

Таблица 2

Величина удельной вращательной способности

Крахмал	$[\alpha]_D^{20}$	F
Картофельный	194,5	1,775
Кукурузный	184,6	1,879
Овсяной	181,3	1,914
Пшеничный	182,7	1,898
Ржаной	184,0	1,885
Рисовый	185,9	1,886
Ячменный	181,5	1,912

Выводы.

Лабораторная работа 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН

Цель работы – ознакомиться с методами определения суммы пищевых волокон.

Под термином «пищевые волокна» понимают химические соединения, входящие в состав пищевых продуктов растительного происхождения, которые не способны расщепляться в пищеварительном тракте человека под действием его тканевых ферментов. По химической природе пищевые волокна представляют собой сложные углеводы: целлюлозу (клетчатка), гемицеллюлозу, пектиновые вещества. К пищевым волокнам относится также лигнин, хотя не является углеводом, всегда сопутствует клетчатке в довольно заметных количествах, химически связан с ней и практически не отделим. В кислотных и других средах не гидролизуются. Лигнин не является индивидуальным химическим соединением. Лигнином называют группу опорных веществ фенольной природы, состоящих из полимеризатов дегидрированных спиртов.

Суммарное количество пищевых волокон можно определить по количеству входящих в пробу отдельных компонентов – клетчатки, гемицеллюлозы, лигнина, пектиновых веществ.

Методика выполнения работы

Сформулировать этапы выполнения лабораторной работы.
Определить содержание «сырой» клетчатки.

Определить содержание пектиновых веществ.

Сравнить полученные результаты с литературными данными и сделать вывод.

Опыт 8.1. Определение сырой клетчатки

Для определения суммарных компонентов (клетчатка, гемицеллюлоза, лигнин) наиболее пригоден метод «сырой» клетчатки по Геннесбергу и Штоману. В состав «сырой» клетчатки входят инкрустирующие вещества (лигнин, кутин, суберин), частично гемицеллюлоза, пентозаны, гексозаны и другие вещества. «Сырую» клетчатку получают в результате последовательной обработки навески кислотой и щелочью в точно определенных условиях, в некоторой степени имитирующих действие среды пищеварительного тракта организма. Под действием кислоты из пробы удаляются простые и сложные сахар, некоторые азотистые соединения. Щелочь омыляет жиры, растворяет белки и часть инкрустирующих веществ.

Методика выполнения работы. Берут навеску 3г на аналитических весах и помещают в химический стакан емкостью 300 мл, добавляют 200 мл 1,25% раствора серной кислоты и кипятят на сетке в течение 30 минут (время фиксируется с момента закипания). Для поддержания данной концентрации кислоты в стакан регулярно доливают горячую дистиллированную воду до метки (200мл). Воду подливают сильной струей из промывалки, так чтобы она смывала частицы, приставшие к стенкам стакана. По истечении времени стакан снимают с нагревательного прибора, дают осесть осадку, охлаждают при комнатной температуре. Затем жидкость отсасывают на воронке Бюхнера, после этого осадок несколько раз промывают горячей дистиллированной водой до нейтральной реакции (проба на универсальную или синнюю лакмусовую бумагу).

После промывания осадок вновь переносят с фильтра в тот же химический стакан и добавляют 200 мл 1,25% раствора едкого натрия и кипятят 30 минут, регулярно добавляя воду по аналогии с серной кислотой. Затем жидкость отсасывают на воронке Бюхнера, осадок промывают горячей дистиллированной водой до нейтральной реакции (проба на универсальную или красную лакмусовую бумагу). Только после этого осадок переносят на высушенный и заранее взвешенный на аналитических весах фильтр.

Фильтр должен быть высушен в сушильном шкафу при температуре 100-150°C в течение 3-4 часов. Осадок на фильтре промывают смесь спирта и эфира (1:1) для удаления жира. Осадок считается промытым тогда, когда вытекающие капли фильтрата станут бесцветными. Потом осадок вместе с фильтром сушат в сушильном шкафу при температуре 100-150°C в течение 3-5 часов.

Осадок после высушивания охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах. По разнице весов осадка с фильтром и самого фильтра находят вес «сырой» клетчатки, и по формуле вычисляют процентное содержание «сырой» клетчатки в пробе (y), %:

$$y = 100 \cdot \frac{b}{a}$$

где b — вес «сырой» клетчатки, г ;

a — навеска пробы, г.

Опыт 8.2. Определение пектиновых веществ

Пектиновые вещества являются кальциевыми и магниевыми солями полимеров частично метоксилированной галактуроновой кислоты. Пектины могут находиться в растворимой и нерастворимой формах. Нерастворимая форма называется протопектином. При действии разбавленных кислот протопектин гидролизует до растворимого пектина.

Для определения пектина чаще всего пользуются весовым кальциево-пектиновым методом. Метод основан на гидролизе пектиновых веществ до полигалактуроновой (пектиновой) кислоты, ее осаждении в форме кальциевой соли, высушивании и взвешивании. Нерастворимые кальциевые и магниевые соли полигалактуроновой кислоты предварительно переводят в раствор цитратом аммония или натрия.

Методика выполнения работы. На технических весах отвешивают навеску массой 3 г, растирают в ступке до однородного состояния и переносят в колбу вместимостью 100-150 мл. Заливают 50 мл раствора HCl ($0,3 \text{ моль/дм}^3$) и нагревают с обратным холодильником в течение 30 минут на кипящей водяной бане. Затем гидролизат фильтруют через складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 250 мл.

Осадок с фильтром возвращают в колбу, заливают 50 мл 1% раствора лимоннокисло-го аммония и вновь помещают на 30 минут на кипящую водяную баню. По истечению времени гидролизат фильтруют в ту же мерную колбу, что и в первый раз. Гидролизаты в обоих случаях фильтруются после водяной бани без предварительного охлаждения.

Далее фильтрат нейтрализуют 10% раствором NaOH (в среднем 5 мл) и содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой. Пектиновые вещества, включая протопектин, находятся в форме пектиновой кислоты.

Затем из мерной колбы берут 50 мл фильтрата, добавляют 50 мл 0,4% раствора NaOH и оставляют на ночь при комнатной температуре для омыления метоксильных групп.

На следующий день раствор нейтрализуют 50 мл уксусной кислоты (1 моль/дм^3) и прибавляют 50 мл CaCl_2 (2 мл/дм^3). Для полноты реакции CaCl_2 с пектиновой кислотой раствор сразу кипятят 5 минут или оставляют на 1 час. После кипячения образовавшийся осадок пектата кальция фильтруют через высушенный до постоянной массы беззольный фильтр. Осадок на фильтре промывают кипящей водой до исчезновения положительной реакции на хлор. Затем осадок пектата кальция вместе с фильтром переносят в бюкс и при температуре 100°C доводят до постоянной массы.

Исходя из массы пектата кальция, рассчитывают содержание пектина по формуле

$$X_b = \frac{0,9235 \cdot 100 \cdot M_0 \cdot V_1}{M \cdot V_2},$$

где M - масса навески, г; M_0 - масса осадка пектата кальция, г; 0,9235 - коэффициент, учитывающий массу кальция в молеку-

ле пектата; V_1 -общий объем гидролизата, мл;
 V_2 -объем гидролизата, взятого для омыления метоксильных групп, мл.

Регистрируемые показатели:

Масса навески (a), г
 Масса «сырой» клетчатки (b), г
 Количество «сырой» клетчатки в пробе (y), % Масса осадка пектата кальция (M_0), г
 Масса навески (M), г Объем гидролизата (V_1), мл
 Объем гидролизата, взятого для омыления метоксильных групп (V_2), мл Количество пектина (X_n), %

Выводы.

Лабораторная работа 9 ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОГЕНА И ЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель работы: закрепить знания учащихся по теме «Углеводы», привить навыки по выделению гликогена из биологического материала (мышечной ткани).

Реактивы и оборудование: Центрифуга, холодильник, водяная баня, пробирка стеклянная химическая, пробирки стеклянные центрифужные, трубка стеклянная, стакан стеклянный без носика, пипетки градуированные на 2 и 5мл, мерный цилиндр на 10 мл, гидроксид Na 10%, фелингова жидкость -10-15мл, раствор Люголя - 5-10мл, лед – одна формочка, раствор гидроксида калия 30% -15мл, раствор гидроксида калия 15%, 60% -30мл, раствор сульфата натрия 10% - 10мл, этанол -5-10мл, дистиллированная вода.

Методика выполнения работы

Гликоген служит резервным углеводом, как у животных, так и у многих микроорганизмов, где он накапливается до 30% в сухом веществе. В организме гликоген существует в двух формах:

1. Прочно связанной с белками и трудно извлекаемый из тканей.
2. Менее прочно связанный с белками и легко экстрагируемый

горячей водой и разбавленными растворами трихлоруксусной кислоты. Исходя из этого, предлагается два метода выделения гликогена.

Один метод заключается в том, что исследуемую ткань обрабатывают 30%-м раствором гидроксида калия на кипящей водяной бане. При такой жесткой обработке ткани распадаются, большинство веществ гидролизуются, но гликоген не изменяется и при добавлении спирта выпадает осадок. Однако молекулярная масса гликогена при такой обработке значительно уменьшается.

Другой метод сводится к извлечению гликогена 5%-м раствором трихлоруксусной кислоты. Такая обработка меньше отражается на молекулярной массе гликогена, но в этом случае трудно извлечь полностью гликоген, связанный с белком. Для получения гликогена предпочтительнее пользоваться вторым методом.

Опыт 9.1. Выделение гликогена из печени или мышечной ткани животных

Методика выполнения работы

3 г выделенной из только что убитого животного печени (или мышечной ткани) помещают в пробирку с 2 мл нагретого 30%-го раствора гидроксида калия. Пробирку нагревают в течение 30-ти минут на кипящей водяной бане при частом перемешивании содержимого. По окончании гидролиза пробирку охлаждают и к ее содержимому прибавляют 0,2 мл 10% раствора сульфата натрия и 5 мл этанола. Смесь хорошо перемешивают и оставляют на ночь в холодильнике. На следующий день образующийся осадок отделяют центрифугированием в течение 40 минут. Надосадочную жидкость отбрасывают, а осадок растворяют в 1-2 мл воды. К полученному раствору прибавляют 2 объема этанола, перемешивают и оставляют на 30 минут в холодильнике. Образовавшийся осадок отделяют центрифугированием, растворяют в воде и переосаждают спиртом. После третьего переосаждения гликогена надосадочную жидкость удаляют. Осадок высушивают, растворяют в воде и используют для определения его концентрации с помощью химического и ферментативного метода.

Выводы.

Опыт 9. 2. Определение гликогена в животных тканях.

Методика выполнения работы

В центрифужную пробирку наливают 2 мл 60%-го раствора гидроксида калия, туда же помещают 1,5-2 г печени только что убитого животного. Пробирку ставят на 1 час в кипящую водяную баню, содержимое пробирки часто взбалтывают. Затем пробирку вынимают из бани, охлаждают и добавляют в нее 8-10 мл эталона. Пробирку помещают в стакан со льдом на 20-30 минут. Выпадает осадок гликогена. Его отделяют центрифугированием в течение 5-10 минут. Жидкость сливают, а осадок растворяют в 2 мл 15% раствора гидроксида калия, снова добавляют 8-10 мл спирта и охлаждают полученную смесь. Выпавший снова осадок гликогена отделяют центрифугированием. Растворяют небольшую часть осадка гликогена в нескольких каплях воды и добавляют реактив Люголя – появляется красное окрашивание, исчезающее при нагревании и снова появляющееся при охлаждении.

Выводы.

Опыт 9.3. Исследование полученного гликогена

Методика выполнения работы

Оставшуюся часть гликогена делят на 2 порции:

а) Проводят гидролиз гликогена в присутствии соляной кислоты. Осадок гликогена растворяют в 3-4 мл 2,5% раствора соляной кислоты и кипятят 15-30 мин, затем охлаждают и нейтрализуют 10%-м раствором едкого натра, добавляют равный объем свежеполученной фелинговой жидкости. Смесь нагревают до начинающегося кипения – образуется красный осадок закиси меди Cu_2O .

б) Проводят ферментативный гидролиз гликогена.

К другой части гликогена добавляют 1 мл раствора слюны (1:10), хорошо перемешивают содержимое пробирки и помещают в водяную баню на 10-15 минут при 37-40°C. Об окончании гидролиза гликогена судят по исчезновению красно-бурой окраске йода, а наличие образующейся при гидролизе глюкозе проверяют харак-

терными для нее реакциями: так же добавляют равный объем свежеполученной фелинговой жидкости и нагревают на кипящей водяной бане до образования красного осадка меди.

Выводы.

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Углеводы. Классификация.
2. Строение и основные свойства углеводов пищевых продуктов, их физиологическое значение.
3. Значение углеводов в питании человека и их синтез.
4. Физико-химические свойства моносахаридов (гидролиз, брожение, растворимость)
5. Физико-химические свойства дисахаридов (гидролиз, инверсия, брожение, карамелизация)
6. Физико-химические свойства полисахаридов (гидролиз, набухание, растворимость, клейстеризация)
7. Что такое гликоген? Особенности его образования и физиологическое значение.
8. Методы определения углеводов.
9. Дать определение пищевых волокон. Химическая природа пищевых волокон.
10. Дать определение пектинового вещества
11. Привести примеры пищевого сырья, богатого пищевыми волокнами.
12. Роль пищевых волокон в организме.
13. Какое пищевое сырьё богато пектиновыми веществами?
14. Примеры использования пектиновых веществ в пищевой промышленности.
15. Метод определения пектиновых веществ и на чём он основан.
16. Функции углеводов в организме.

Вопросы к коллоквиуму №2

(проверка остаточных знаний по темам «Пища человека – важная социальная и экономическая проблема общества», «Вода», «Белки», Углеводы пищевых продуктов»)

1. Пища как фактор выживания человека.
2. История добычи пищи человечеством.

3. Пища – социальная и экономическая проблема.
4. Роль химии в решении пищевой проблемы.
5. Вода в масштабе планеты Земля.
6. Свойства воды. Диполи. Водородные связи. Гидрофильность
7. Пищевая вода. Её химические показатели.
8. Вода пищевых продуктов, свободная, связанная, кристаллизационная, гигроскопическая.
9. Пищевые белки. Структура, классы белков.
10. Физико-химические свойства белков, используемые в пищевой промышленности. Гидратация. Амфотерность. Набухание. Гидролиз. Денатурация. Пенообразование. Биологическая ценность и потребность белков.
11. Структура, классы, физико-химические свойства, используемые в пищевой промышленности моносахаридов (гликолиз, брожение, растворимость)
12. Структура, классы, физико-химические свойства, используемые в пищевой промышленности дисахаридов (гликолиз, инверсия, карамелизация, брожение)
13. Структура, классы, физико-химические свойства, используемые в пищевой промышленности полисахаридов (гликолиз, набухание, растворимость, ретроградация, клейстеризация)
14. Биологическая ценность углеводов

Тема 4. ЛИПИДЫ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Цель работы: овладение методиками определения массовой доли жира, температуры плавления жиров и масел, кислотного и перекисного чисел.

Общие сведения

Липиды относятся к основным питательным веществам и являются обязательными компонентами организма. *Липиды* - это общее название жиров и жироподобных веществ. Жиры представляют собой обширный класс органических соединений, состоящих из смеси сложных эфиров (глицеридов), образованных из глицерина и различных насыщенных и ненасыщенных кислот. Липиды классифицируются на простые и сложные. Простые – это ацилглицеролы. Сложные – фосфолипиды, гликолипиды и стеролы.

Жиры, содержащие насыщенные кислоты, имеют твердую консистенцию и называются «жиры». А жиры, содержащие преимущественно ненасыщенные кислоты, имеют жидкую консистенцию и называются «маслами».

Все разнообразие жиров зависит от кислот их образующих. Важное значение имеют полиненасыщенные кислоты (ПНЖК), которые являются эссенциальными, незаменимыми для организма человека. ПНЖК - структурный элемент, как жиров, так и жироподобных веществ - фосфолипидов и липопротеидов. Они участвуют в синтезе жирных кислот и биоактиваторов организма, способствуют преобразованию холестерина в желчные кислоты, нормализуют работу сердца. Жиры в целом участвуют в пластических процессах, являясь структурной частью клеток и их мембранных систем.

Физико-химические свойства жиров, используемые в пищевой промышленности, определяют свойствами входящих в их состав жирных кислот. Для их характеристики служат константы (табл. 1).

Температура плавления - температура, при которой жир переходит в жидкое состояние и становится прозрачным.

Температура застывания (отвердевания) -- температура, при которой жир приобретает твердую консистенцию.

Йодное число - содержание в жире ненасыщенных кислот. Выражается в граммах йода, с которым связываются 100 г жира.

Число омыления - количество мг КОН, необходимого для

омыления 1г жира. Чем больше низкомолекулярных кислот, тем выше число.

Таблица 3

Константы различных жиров

Жиры и масла	Температура, С		Йодное число	Число омыления
	плавления	застывания		
Молочный жир	27-34	18-23	28-45	220-234
Говяжий жир	42-52	30-28	32-47	190-200
Свиной жир	36-42	26-32	46-66	193-203
Подсолнечное масло	-	-16,-19	119-145	186-194
Хлопковое масло	-	0,-6	100-116	189-199
Кукурузное масло	-	-10,-20	111-113	187-190

Лабораторная работа 10

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИРОВ И МАСЕЛ

Опыт 10.1. Определение температуры плавления

Температурой плавления жира называется температура, при которой жир переходит из твердого состояния в жидкое. Поскольку натуральные жиры представляют собой смеси триацилглицеринов, имеющие различные температуры плавления, переход их в жидкое состояние происходит в пределах некоторого интервала температур.

Температуры плавления зависят от специфических особенностей ацилглицеринов и от их жирнокислотного состава. У насыщенных жирных кислот температура плавления возрастает с увеличением молекулярной массы. У ненасыщенных жирных кислот на температуру плавления оказывают влияние наличие двойных связей, их положение в углеродной цепи и стерео-конфигурация молекулы (цис- или трансизомеры).

Реактивы и оборудование: Пальмовое масло. Масло какао. Кондитерский жир.

Методика выполнения работы. Небольшое количество ис-

следуемого образца жира нагревают в фарфоровой чашке на водяной бане до полного расплавления. Сухой, открытый с двух концов капилляр из тонкого стекла с внутренним диаметром 1,0...1,2 мм и длиной 50...60 мм погружают одним концом в расплавленный жир так, чтобы высота его в капилляре была равна 10 мм (заполняют подобным образом 2 капилляра). Капилляр с жиром выдерживают на льду в течение 1 часа. После этого капилляр прикрепляют к термометру с помощью тонкого резинового кольца таким образом, чтобы столбик жира находился на одном уровне с ртутным шариком термометра. Затем термометр осторожно опускают в стакан с водой (~100 см³), имеющей температуру 15... 18 °С, на такую глубину, чтобы он был погружен в воду на 3...4 см. При непрерывном перемешивании воду в стакане нагревают со скоростью 1...2 °С в минуту.

Фиксируют температуру, при которой жир в капилляре начинает подниматься. Определение проводят 2 раза, за результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений которые не должны различаться более чем на 0,5 °С.

Выводы.

Опыт 10.2: Определение кислотного числа

Кислотное число (КЧ) – количество мг КОН, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Кислотное число зависит от качества жира, способа его получения, условий хранения и других факторов. Кислотное число относится к регламентируемым ГОСТом показателям: для нерафинированных масел кислотное число допускается до 6 мг КОН.

Реактивы и материалы: образцы жиров и масел; 96%-ный этиловый спирт; 0,1 моль/дм³ спиртовой раствор КОН; 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина.

Методика выполнения работы. В конической колбе взвешивают 3...5 г образца жира с погрешностью не более 0,01 г, приливают отмеренные цилиндром 50 см³ предварительно приготовленной нейтральной смеси диэтилового эфира и 96%-го этилового спирта (2:1), перемешивают до растворения навески образца и приливают

несколько капель раствора фенолфталеина. Полученный раствор при постоянном перемешивании титруют из микробюретки 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором КОН до слабо-розовой окраски, устойчивой в течение 30 с.

Кислотное число (мг КОН на 1 г жира) вычисляют по формуле:

$$\frac{KЧ = 5,611 \cdot K \cdot V}{m}$$

где K – поправка к титру; 5,611 – титр 0,1 моль/дм³ раствора КОН, мг/см³; V – количество см³ 0,1 моль/дм³ раствора КОН, затраченное на титрование; m – навеска образца масла, в г.

Определение проводят в двух повторностях. Расхождение между двумя параллельными определениями не более 0,06 мг КОН.

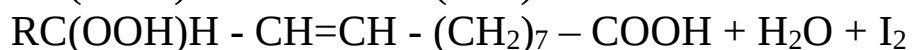
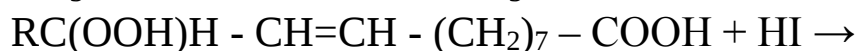
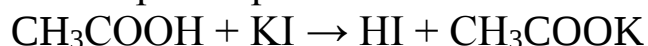
Пользуясь коэффициентом пересчета на олеиновую кислоту (для подсолнечного, соевого масел и кондитерского жира) и пальмитиновую кислоту (для пальмового масла), равными 0,503 и 0,456 соответственно, определяют примерное свободных жирных кислот в % в исследуемых образцах жиров.

Выводы.

Опыт 10.3. Определение перекисного числа

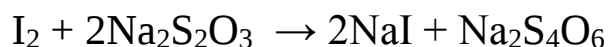
Перекисное число (ПЧ) выражают в миллимолях активного кислорода на 1000 г жира или процентах йода, выделившегося при взаимодействии активного пероксидного или гидропероксидного кислорода с йодистоводородной кислотой.

Метод основан на реакции взаимодействия активного пероксидного или гидропероксидного кислорода с йодистоводородной кислотой при титровании:



Гидропероксид кислоты

Выделившийся свободный йод оттитровывают тиосульфатом натрия:



Метод предназначен для определения первичных продуктов окисления жиров и масел – пероксидных и гидропероксидных соединений.

Реактивы и материалы: Хлороформ х.ч. Ледяная уксусная кислота. 50 %-ный водный свежеприготовленный йодистый калий. 0,01 моль/дм³ раствор тиосульфата натрия. 1 %-ный раствор свежеприготовленного крахмального клейстера (0,25 г растворимого крахмала смешивают с 5 см³ воды и добавляют эту смесь к 20 см³ кипящей воды, кипятят 2...3 минуты).

Методика выполнения работы

В коническую колбу с пришлифованной крышкой взвешивают с точностью до третьего десятичного знака 1 г исследуемого масла (жира). Навеску масла (жира) растворяют в предварительно приготовленной смеси ледяной уксусной кислоты и хлороформа (в соотношении 2:1 по объему). Добавляют в колбу 1 см 50 %-ного раствора KI (не должно быть расслоения, в противном случае необходимо увеличить количество смеси). Колбу выдерживают 20 минут без доступа света. Затем в колбу добавляют 50 см³ дистиллированной воды и 5...6 капель 1 %-ного раствора крахмального клейстера. Выделенный йод титруют 0,01 моль/дм³ раствором тиосульфата натрия. Параллельно с основным определением проводят контрольное определение.

Перекисное число в миллимолях активного кислорода на кг вычисляют по формуле:

$$\text{ПЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot C \cdot 1000}{m}$$

где V_1 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование в основном опыте, см³; V_2 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрова-

ние в контрольном опыте, см^3 ; C – концентрация раствора тиосульфата натрия, моль/дм^3 ; m – масса исследуемого образца масла или жира, г; 1000 – коэффициент, учитывающий пересчет результата измерения в миллимоли на кг.

Выводы.

Лабораторная работа 11 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ ДОЛИ ЖИРА (ГОСТ 5899-85)

Отбор пробы по ГОСТ 5904-85

Метод основан на извлечении из предварительно гидролизованной навески изделия растворителя и определения количества жира взвешиванием после удаления растворителя из определённого объёма полученного раствора.

Реактивы и оборудование

- | | |
|----------------------------------|---|
| 1. Весы лабораторные. | 12. Воронки стеклянные |
| 2. Шкаф сушильный | 13 Бумага фильтровальная |
| 3. Часы | 14 Пипетки 20, 50 см^3 |
| 4. Центрифуга | 15 Холодильник шариковый |
| 5. Электроплита | 16 Холодильник с прямой трубкой |
| 6. Эксикатор | 17 Стаканы стеклянные 25,50 см^3 |
| 7. Баня водяная | 18 Кислота серная, 5% |
| 8. Вата | 19 Аммиак водный |
| 9. Груша резиновая | 20 Соляная кислота, 1,5% |
| 10. Колба 100, 250 см^3 | 21 Хлороформ |
| 11. Цилиндр 100 см^3 | 22 Фенолфталеин, 1% |
| | 23 Кондитерское изделие |

Методика выполнения работы

Навеску измельченного кондитерского изделия в количестве 10 г взвешивают¹ с погрешностью не более 0,01 г, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3 , приливают 100 см^3 1,5 %-ной соляной кислоты, кипятят в колбе с обратным холодильником на слабом огне 30 мин. Затем колбу охлаждают водой до комнатной температуры, вносят 50 см^3 хлороформа, плотно закрывают пробкой и взбалтывают в течение 15 мин. Выливают содержимое в центри-

фужные пробирки и центрифугируют 2 мин. В пробирке образуется три слоя. Верхний водный слой удаляют. Пипеткой, снабженной резиновой грушей, отбирают хлороформный раствор жира и фильтруют его в колбу через ватный тампон, вложенный в узкую часть воронки, причем кончик пипетки должен касаться ваты. 20 см³ фильтрата помещают во взвешенную с погрешностью не более 0,001 г колбу вместимостью 100 см³.

Фильтрацию и отбор должны проводить в течение 2 мин. Хлороформ из колбы отгоняют на горячей бане, пользуясь холодильником с прямой трубкой. Оставшийся в колбе жир сушат до постоянной массы 1-1,5 ч при температуре 100-105 °С, охлаждают в эксикаторе 20 мин и взвешивают с погрешностью не более 0,001 г.

Допускается следующий способ расслаивания. После гидролиза в охлажденную колбу добавляют 5 см³ хлороформа. Содержимое колбы взбалтывают в течение 15 мин и оставляют на 1 час для отстаивания.

Если расслаивания не произойдет, добавляют еще 2-3 см³ аммиака, следя за тем, чтобы реакция по фенолфталеину оставалась кислой.

Обработка результатов

Массовую долю жира (X) в % в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле

$$X = \frac{(M_1 - M_2) \cdot 50 \cdot 100}{M \cdot 20 \cdot 100 - W} \cdot 100$$

где M₁ – масса колбы с высушенным жиром, г

M₂ – масса пустой колбы, г

50 – объём хлороформа для растворения жира, см³

M – масса навески, г

20 – объём хлороформного раствора жира, взятый для отгона, см³

W – массовая доля влаги в исследуемом изделии, %

Выводы.

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Что такое липиды? Какую роль выполняют липиды в живой клетке?
2. Какие виды условной классификации липидов вам известны?
3. Какие группы липидов относятся к простым липидам?
4. В чем состоит отличие простых липидов от сложных?
5. Приведите формулы и названия эссенциальных жирных кислот, их роль в питании человека.
6. Какие физико-химические характеристики жиров вам известны? Какие процессы можно контролировать с помощью кислотного числа?
7. Строение и биологическая роль триглицеридов
8. Физико-химические свойства триглицеридов, используемые в пищевой промышленности: окисление, переэтерификация, гидрогенизация
9. Строение, биологическая роль, физико-химические свойства, используемые в пищевой промышленности, фосфолипидов.
10. Строение и биологическая роль стерина, их физико-химические свойства, используемые в пищевой промышленности
11. Пищевая ценность и потребление липидов

Тема 5. ВИТАМИНЫ

Цель работы: ознакомиться с методиками определения аскорбиновой и никотиновой кислот, рутина и тиамина

Общие сведения

Витаминами называют низкомолекулярные соединения органической природы, не синтезируемые в организме человека, поступающие извне в составе пищи, не обладающие энергетическими и пластическими свойствами, проявляющие биологическое действие (коферментов) в малых дозах. Отсутствие или недостаток витаминов в организме вызывает болезни недостаточности: гиповитаминозы и авитаминозы, в то же время приём витаминов в избыточных количествах может привести к развитию гипervитаминозов.

Витаминная недостаточность может проявляться в виде авитаминозов, гиповитаминозов и скрытых форм. Наиболее тяжелую и выраженную форму представляют собой авитаминозы, вызванные прежде всего продолжительным употреблением пищи, лишенной витаминов. Для каждого авитаминоза характерны определенные симптомы. К наиболее известным авитаминозам относятся: С * авитаминоз (цинга), В_т - авитаминоз (бери- бери), РР - авитаминоз (пеллагра), А - авитаминоз (ксерофтальмия), Д - авитаминоз (рахит).

Общее количество изученных витаминов и витаминоподобных веществ не превышает 30, непосредственное значение для питания и здоровья имеет только 20 витаминов. Своё название витамины получили от латинского слова *vita*- жизнь. В настоящее время известно более тридцати соединений, которые относятся к витаминам. В качестве единицы измерения пользуются миллиграммами (1 мг=10⁻³ г), микрограммами (1 мкг= 0,001мг=10⁻⁶г) на 1 г продукта или мг% (миллиграммов витаминов на 100г продукта) и мкг% (микрограммы витаминов на 100 г продукта).

В основу квалификации витаминов положен принцип их растворимости в воде и жире, в связи с чем витамины делятся на водорастворимые и жирорастворимые.

Для всех групп населения трудоспособного возраста рекомендованы единые величины суточного потребления следующих витаминов: В₆ - 200мг,

B_{12} - 3 мкг, А - 1000 мкг, Д - 100 мкг, Е - 15 мкг,

Потребность в витаминах в основном должна удовлетворяться за счет потребляемой пищи. Основными источниками витаминов являются продукты животного происхождения - печень, молоко, яйца, а также растительно-зерновые, овощи, фрукты и растительные масла. Наиболее богата витаминами (А, Д, В, В] В₃, В₆, В[^]) печень рыб и животных.

Лабораторная работа 12

ОБНАРУЖЕНИЕ ВИТАМИНОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Реактивы и оборудование:

1. Фильтры
2. Градуированные пробирки
3. Соляная кислота, 2%
4. Реактив Тильманса
5. Кафельный или стеклянный порошок
6. Растительные материалы

Витамин С (аскорбиновая кислота)

Витамин С в природных условиях встречается в трех формах: в виде - аскорбиновой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты, аскорбигена. Все три формы обладают витаминной активностью. Биологическая роль аскорбиновой кислоты в организме в основном связана с окислительно- восстановительным действием класса ферментов - оксидоредуктаз, обменом белков, поддержанием нормального состояния стенок кровеносных капилляров и сохранением их эластичности, Витамин С повышает сопротивляемость организма факторам внешней среды. Аскорбиновая кислота в организме человека не синтезируется. Ее естественным источником являются растительные продукты: шиповник, черная смородина, петрушка, укроп, из продуктов животного происхождения богаты витамином С: печень, сердце, кумыс.

Опыт 12.1. Количественное определение витамина С в пищевых продуктах

Принцип метода. Аскорбиновая кислота восстанавливает 2,6-дихлорфенол с образованием бесцветного соединения. Содержание

витамина С определяют титрованием. В эквивалентной точке избыточная капля 2,6-дихлорфенола окрашивает раствор в розовый цвет.

Методика выполнения работы

Навеску свежего растительного материала тщательно растирают с 10мл соляной кислоты, добавляя стеклянный песок. Полученный гомогенат фильтруют через бумажный фильтр градуированную центрифужную пробирку до объема в 3 мл и в той же пробирке титруют реактивом Тильманса до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 0.5 минут. Количество витамина С рассчитывается по формуле

$$\text{мг}\% = \frac{A \cdot K \cdot 0,88 \cdot 100 \cdot 10}{V \cdot c}$$

где А - количество реактива Тильманса, пошедшее на титрование фильтрата;

К - поправка к нормальности реактива Тильманса;

V - объем фильтрата, взятого для титрования;

c - навеска растительного материала, г.

Каждый студент проводит опыт с одним из предложенных образцов:

1. Капуста свежая
2. Капуста квашеная
3. Тыква
4. Морковь
5. Лук-перо
6. Лук репчатый
7. Шиповник
8. Цитрусовые
9. Смородина.

Делаются групповые выводы. Отметьте продукты с большим и меньшим содержанием витамина

Опыт 12.2: Определение витамина С в молоке

Методика выполнения работы

Метод основан на титровании пробы в кислой среде раствором натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола без предварительного осаждения белков.

Реактивы и оборудование:

1. конические колбы
2. Пипетки
3. Макробюретки на 2 мл
4. Бюретки на 25 мл
5. Раствор соляной кислоты 2% (45,1 мл HCl 1,19 доведённый дистиллированной водой до 1 л)
6. Краска Тильманса (0,001н раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола)
7. Молоко

Методика выполнения работы

10-15 мл молока разводят в три раза дистиллированной водой, 5 мл разведенного молока вносят пипеткой в коническую колбу на 20-25 мл, куда заранее наливают 1 мл 2%-ного раствора соляной кислоты, и доводят дистиллированной водой до объема 15 мл затем взбалтывая содержимое колбы, титруют 0,001 н. раствором натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления слабо-розового окрашивания, удерживающегося в течение 0,5-1 минуты, титрование проводят 2-3 раза. Разница в титрованих не должна превышать 0,02-0,03 мл определяют средний показатель. После этого проводят «слепое» титрование. Для «слепого» титрования берут 1 мл 2 %-ного раствора соляной кислоты, и доводят до 15 мл дистиллированной водой. Количество краски Тильманса, пошедшей на «слепое» титрование, вычитают из среднего количества краски, которое было израсходовано на титрование разведенного молока.

Обработка результатов.

Содержание витамина С в молоке определяется по формуле

$$\text{мг\%} = \frac{A \cdot K \cdot V \cdot 0,088 \cdot 100}{5}$$

где А - количество краски, пошедшее на тестирование за вычетом данных «спелого» опыта,

К - поправка на титр краски;

С - число деления (при делении 1 :2- разведение = 3);

088 - число миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл затраченного 0,001 н. раствора краски Тильманса;

5 - количество мл разведенного молока;

100 - коэффициент для пересчета в проценты.

Опыт 12.3 Фотокolorиметрический метод определения аскорбиновой кислоты

Метод основан на экстракции аскорбиновой кислоты из продукта раствором кислоты, восстановлении 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия аскорбиновой кислоты с последующей экстракцией органическим растворителем (ксилолом или бутилацетатом) избытка 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и фотометрирование этого экстракта при $\lambda=490$ нм.

Приборы и реактивы: колориметр фотоэлектрический; весы лабораторные; 2 % раствор соляной или щавелевой кислоты; раствор аскорбиновой кислоты концентрации 1,0 г/дм³ и 0,1 г/дм³; насыщенный раствор гидрохинона в ацетоне.

Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия

0,08 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют в 150 см³ горячей прокипяченной в течение 30 минут и содержащей 0,04 г NaCO₃ воде, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем до 200 см³ той же охлажденной водой, перемешивают и фильтруют в темную склянку. Титр хранят в холодильнике не более 10 дней.

Приготовление полунасыщенного раствора гидрохинона

Сначала готовят насыщенный раствор гидрохинона в ацетоне. Для этого 1 г гидрохинона растворяют в 10 см³ ацетона и фильтруют. Полунасыщенный раствор гидрохинона готовят смешением

одного объема насыщенного раствора с таким же объемом ацетона.

Приготовление раствора ацетатного буфера с рН 4,0

Растворяют 300 г безводного уксуснокислого натрия в 700 см³ дистиллированной воды, добавляют 1000 см³ ледяной уксусной кислоты, перемешивают и с помощью рН-метра устанавливают рН 4,0, при необходимости добавляют кислоту.

Методика выполнения работы

Навеску пробы массой 5-50 г гомогенизировать с небольшим количеством экстрагирующего раствора соляной кислоты. перенести количественно в мерную колбу на 100 см³ и довести до метки раствором соляной кислоты. перемешать, выдержать 10 минут и отфильтровать. Для определения взять 8 колб, провести анализ последовательно с первой до восьмой колбы (табл. 4).

Таблица 4

Последовательность добавления реагентов

	Реагент	№ колб			
		1,2(аскорбиновая кислота)	3,4(контроль)	5,6 (стандарт)	7,8 (редукционные)
1	Исследуемый раствор	5 см ³ фильтрата	-	0,5 см ³ стандартного раствора АК	5 см ³ фильтрата
2	2 % раствор HCl	-	5 см ³	4,5 см ³	-
3	Ацетатный буфер	5 см ³	5 см ³	5 см ³	5 см ³
4	Формалин	-	-	-	2,5 см ³ , инкубация 10 мин
5	Раствор фенолята	1 см ³	1 см ³	1 см ³	1 см ³

После добавления фенолята смесь энергично встряхнуть, добавить 10 см³ ксилола или бутилацетата и снова встряхнуть. Приготовление пробы следует проводить быстро. Для разделения полученных слоев смеси растворов оставить на 20 минут в темном месте и отцентрифугировать. Затем измерить поглощение раствора ксилола или бутилацетата при $\lambda=490$ нм.

Если в продукте содержится растворимые в органическом растворителе красящие вещества, то их влияние определить следующим образом: после проведения измерений в кювету с экстрактом добавить 2 капли полунасыщенного раствора гидрохинона, перемешать палочкой, выдержать 30 секунд и снова измерить оптическую плотность. Полученное значение вычесть из начального значения оптической плотности органического экстракта.

Оформление результатов

Полученные результаты записать в таблицу.

№ кол-бы	Оптическая плотность, D	Общий объем экстракта, см ³		Объем экстракта, взятый для определения, см ³	Массовая доля АК, мг/100 г
1	2	3		4	5

Массовую долю аскорбиновой кислоты в мг/100г продукта вычислить по формулам:

а) без учета редуцирующих примесей:

$$x = \frac{k \cdot (D - D_1) \cdot y_2 \cdot 100}{(D - D_2) \cdot y_3 \cdot m}$$

б) с учетом редуцирующих примесей:

$$x = \frac{k \cdot (D_3 - D_1) \cdot y_2 \cdot 100}{(D - D_2) \cdot y_3 \cdot m}$$

где k – количество АК в 0,5 см³ стандартного раствора, взятого для определения (0,05), мг;

D — средняя величина поглощения органического экстракта в колбах 3, 4 (контроль на реактивы);
 D_1 — в колбах 1, 2 (АК);
 D_2 — в колбах 5, 6 (стандарт);
 D_3 — в колбах 7, 8 (редуктоны);
 u_2 — общий объем экстракта, см³;
 u_3 — объем экстракта, взятый для определения (5 см³), см³; m — масса навески продукта, г.

Опыт 12.4 Обнаружение витамина Р (рутина) в чае

Известно несколько соединений, обладающих активностью витамина Р. В основе их лежит скелет флавона.

Многие из этих веществ имеют один или несколько гидроксильных в положениях 5, 7, 3, 4. Наличием фенольных групп объясняется способность флавоновых производных образовывать цветные комплексы соединения с некоторыми металлами.

Витамин Р участвует в окислительно-восстановительных процессах. При недостатке витамина Р повышается проницаемость. Это проявляется во внезапных кровоизлияниях после сдавливания, болях в конечностях, в быстрой утомляемости к слабости.

Одним из источников витамина Р является чай. В листьях чайного дерева содержатся производные флавона, известные под названием катехинов.

Реактивы и оборудование:

1. Пробирки
2. Пипетки
3. Воронки
4. Фильтр
5. Раствор хлорного железа в спирте, 1%
6. Раствор молибденово-кислого аммония, 2,5%
7. Чай
8. Этиловый спирт

Методика выполнения работы

1. В пробирку помещают несколько кусочков сухого листа чайного дерева и заполняют спиртом до 1/3 объема пробирки.

Смесь настаивают 24 часа до тех пор, пока спирт не окрасится в зеленовато-желтый цвет. Полученный экстракт, содержащий катехины чая, отделяют фильтрованием и проделывают с ним качественные реакции.

2. К 5 каплям экстракта добавляют по каплям спиртовой раствор хлорного железа. Возникает оливково-серое или зеленое окрашивание. Реакция характерна для фенолов.

3. К 5 каплям спиртового экстракта добавляют 1 каплю раствора молибденового аммония. Появляется красное окрашивание, переходящее в оливковое и желто-зеленое при разбавлении раствора спиртом. Реакция на флавоновые производные.

Выводы.

Опыт 12.5: Обнаружение витамина В₁ (тиамина) в пищевых продуктах

В состав молекулы входят два гетероцикла - пиримидиновый и тиазоловый, связанные метиленовой группой.

В тканях организма животных тиамин превращается в пиррофосфорный эфир I тиаминпиррофосфат, являющийся коферментом декарбоксилазы - фермента углеводного обмена.

Недостаток витамина В₁ приводит к накоплению пировиноградной кислоты в тканях, что вызывает заболевание - полинефрит.

Раствор тиамина при добавлении к нему дназореактива и щелочи окрашивается в розовато-оранжевый или красный цвет

Реагентом дназореактива является диазобензосульфокислота - неустойчивое соединение, которое при хранении разрушается. Поэтому диазореактив готовится непосредственно перед применением путем смешивания в равных объемах 1 %-го раствора сульфаниловой кислоты в 2 %-м растворе соляной кислоты и 5 %-го раствора азотистокислого натрия с добавлением кусочка льда в реакционную смесь. Соль диазония образуется по уравнению.

Пищевые продукты, содержащие тиамин, при добавлении к ним дназореактива в щелочной среде окрашиваются в оранжевый или красный цвет.

Реактивы и оборудование:

1. Пробирки
2. Стеклянные лопатки

3. Пипетки
4. Раствор сульфаниловой кислоты, 1 %
5. Раствор нитрата натрия, 5 %
6. Продукты: отруби, пшеничная мука, мука из полированного риса

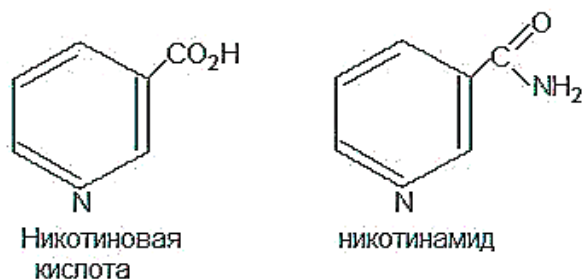
Методика выполнения работы

В три пробирки отдельно насыпают по 2-3 стеклянные лопатки отрубей, пшеничной муки и муки из полированного риса. Добавляют по 5 капель 1 %-ного раствора сульфаниловой кислоты, 5 %-ного раствора нитрата натрия и 10 %-ного раствора гидрокарбоната натрия. Содержимое пробирок окрашивается в оранжево-красный цвет различной степени интенсивности, что связано с различным количеством тиамин в исследуемых продуктах.

Опыт 12.6. Фотокolorиметрическое определение ниацина (витамина РР)

Ниацин является коферментом большой группы ферментов дегидрогеназ. При недостатке витамина РР в организме наблюдается вялость, быстрая утомляемость, бессонница, сердцебиение и пониженная сопротивляемость к инфекционным болезням. К ниацину относятся 2 химических соединения:

Источники витамина РР – мясные продукты и рыба. В злаковых и продуктах их переработки витамин РР находится в связанной форме.



Сущность метода. Метод основан на освобождении связанных форм ниацина путем гидролиза, очистка гидролизата от мешающих определению веществ, количественном производного глутаминового альдегида и колориметрическом определении его массовой доли при 400-425 нм в сравнении со стандартным раствором.

Реактивы и оборудование: колориметр фотоэлектрический; весы лабораторные; электроплитка; баня водяная; автоклав; цен-

трифуга; эксикатор; фарфоровая ступка с пестиком; мерная колба на 50 см³; мерный цилиндр на 100 см³; коническая колба на 250 см³; кислота никотиновая; 0,05 моль/дм³, 1,0 моль/дм³, 2,5 моль/дм³ растворы серной кислоты; 0,5 моль/дм³ раствор соляной кислоты; 4,0 моль/дм³, 10 моль/дм³ растворы гидроксида натрия; бром; 100 г/дм³ и 10 г/дм³ растворы роданистого калия (или роданистого аммония); карбонат кальция; окись кальция; метол, перекристаллизованный 80 г/дм³ раствор в 0,5 моль/дм³ растворе соляной кислоты; спирт этиловый; 800 г/дм³ раствор сульфата цинка; толуол; 1 % раствор фенолфталеина; активированный уголь; фильтры.

Методика выполнения работы

В зависимости от свойств исследуемого продукта для освобождения связанных форм ниацина используют различные виды гидролиза.

При определении ниацина в мясе, рыбе, яйцах применяют гидролиз с 1 моль/дм³ раствором серной кислоты.

При анализе хлебобулочных, крупяных и макаронных изделий, молока, творога, плодов и овощей проводят щелочной гидролиз с Ca(OH)₂, который образует с сахарами и крахмалом соединения, малорастворимые в охлажденных растворах. В результате гидролизат содержит меньше соединений, мешающих определению.

В фарфоровую ступку взять навеску пробы (зерна, муки, хлеба, сырое и вареное яйцо) 10 г.

При кислотном гидролизе навески добавить небольшое количество 1,0 моль/дм³ раствора серной кислоты и тщательно растереть в ступке. Затем количественно перенести в мерную колбу на 50 см³ с помощью 1,0 моль /дм³ раствора серной кислоты. Весь объем используемого раствора серной кислоты должен составлять 40 см³. Колбу поместить на 90 минут в кипящую водяную баню, периодически перемешивая содержимое. По окончании гидролиза охладить колбу до комнатной температуры, довести объем гидролизата дистиллированной водой до метки, перемешать, отфильтровать (первые 3-5 см³ фильтрата отбросить). 25 мл фильтрата поместить в мерный цилиндр емкостью 100 см³, добавить 1- 2 капли 10 моль/дм³ фенолфталеина, нейтрализовать раствором гидроокиси натрия до слабо-розового окрашивания и охладить. Объем гидролизата довести водой до 50 см³, перемешать и отфильтровать.

При щелочном гидролизе к навеске добавить 10 см³ водной

суспензии гидроокиси кальция, тщательно растереть в ступке и количественно перенести в коническую колбу на 250 см^3 с помощью 40 см^3 дистиллированной воды. Содержимое перемешать и колбу поместить в кипящую водяную баню на 90 минут. По окончании гидролиза колбу охладить до комнатной температуры, содержимое перенести в мерный цилиндр на 100 см^3 и объем довести до 75 см^3 дистиллированной водой, перемешать и поместить на ночь в холодильник.

Охлажденный гидролизат отфильтровать. 25 см^3 фильтрата внести в мерный цилиндр на 100 см^3 , добавить 1-2 капли фенолфталеина и по каплям $2,5\text{ моль/дм}^3$ раствором серной кислоты довести до обесцвечивания.

В цилиндр с нейтрализованным фильтратом внести 2 см^3 раствора сульфата цинка и добавить по каплям 4 моль/дм^3 раствор гидроокиси натрия. Содержимое цилиндра перемешать стеклянной палочкой, розовое окрашивание удалить несколькими каплями $2,5\text{ моль/дм}^3$ раствора серной кислоты. Оставить стоять на 10 минут, затем добавить 1-2 капли этилового спирта (для удаления пены) и довести объем дистиллированной водой до 50 см^3 , перемешать и отфильтровать через складчатый фильтр.

Цветную реакцию проводят в пробирках с притертыми пробками.

В одну пробирку внести 5 см^3 дистиллированной воды (контроль); в две пробирки внести по 5 см^3 рабочего стандартного раствора ниацина; в четыре пробирки внести по 5 см^3 очищенного гидролизата испытуемого образца.

Все пробирки на 5 минут поместить на водяную баню при 50°C , после чего в две пробирки с гидролизатом добавить 2 см^3 дистиллированной воды (контроль к испытуемому раствору), а в остальные пробирки по 2 см^3 роданбромидного раствора из бюретки в вытяжном шкафу. Содержимое перемешать встряхиванием. Затем все пробирки поставить на 10 минут в темное место, добавить по 3 см^3 раствора метола, перемешать и оставить на 1 час в темном месте.

Оптическую плотность раствора измерить по отношению к воде на фото-электроколориметре со светофильтром, дающим длину волны 400-425 нм. Если растворы мутные, перед фотокалориметрированием их фильтруют в кювету через бумажный фильтр.

Оформление результатов

Полученные результаты записать в таблицу.

Проба	Масса пробы	Оптическая плотность		
		Испытуемого раствора	Контроля к испытуемому раствору	Раствора контроля на реактивы

Массовую концентрацию ниацина (x) в мг на 100 г продукта вычисляют по формуле:

$$x = \frac{(A - A_1) \cdot M \cdot V \cdot V_2}{(B - B_1) \cdot M_1 \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 10};$$

где A - оптическая плотность испытуемого раствора (среднее из двух параллельных определений) ед. прибора;

A_1 - оптическая плотность раствора контроля к испытуемому раствору (среднее из двух параллельных определений), ед. прибора;

M - масса ниацина в 5 мл рабочего стандартного раствора, мкг;

V - общий объем гидролизата, мл;

V_2 - объем после очистки гидролизата сульфатом цинка, мл;

B - оптическая плотность стандартного раствора (среднее из двух параллельных определений), ед. прибора;

B_1 - оптическая плотность раствора контроля на реактивы, ед. прибора;

M_1 - масса пробы, взятой для анализа, г;

V_1 - объем гидролизата, взятый на очистку, мл;

V_3 - объем очищенного гидролизата, взятый для проведения цветной реакции, мл; 10 – коэффициент пересчета из мкг/г в мг/100 г продукта.

Выводы

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Витамины. Понятие и классификация. Витаминная недостаточность.

2. Витамин Е. Строение, витаминная недостаточность. Суточная потребность.

3. Витамин К. Строение, витаминная недостаточность. Суточная потребность.

4. Витамин В₆. Строение, витаминная недостаточность. Суточная потребность.

5. Витамин В₁₂- Строение, витаминная недостаточность Суточная потребность.

6. Витамин В₁. Строение, витаминная недостаточность. Суточная потребность.

7. Витамин С. Строение, витаминная недостаточность. Суточная потребность.

8. Химическая реакция в основе открытия витаминов (С, Р, В)

9. В чем заключается биологическая активность витаминов?

10.Какое влияние оказывает технологическая обработка сырья на сохранность витаминов в готовом продукте?

11.Приведите схему окисления аскорбиновой кислоты в присутствии кислорода воздуха

12.Какие факторы активируют процесс окисления аскорбиновой кислоты? 13. Назовите заболевания человека, возникающие при недостатке или отсутствии в пище тех или иных витаминов

13.Как проводится витаминизация продуктов на предприятиях пищевой промышленности?

Вопросы к коллоквиуму №3 по теме «Витамины»

1. Химическая природа, физиологическое значение, авитаминозы, суточная потребность, источники жирорастворимых витаминов растений.

2. Химическая потребность, физиологическое значение, авитаминозы, суточная потребность, источники водорастворимых витаминов растений.

3. Влияние различных способов и режимов технологической обработки и хранения на стабильность витаминов.

4. Способы витаминизации пищевых продуктов.

5. Минеральные вещества. Понятие и биологическая роль. Макроэлементы и микроэлементы продуктов растительного происхождения.

6. Макроэлементы: Ca, P, Na, K сырья и продуктов растительного происхождения.

7. Микроэлементы: Fe, Cu, Mn, I сырья и продуктов растительного происхождения.

8. Токсические элементы: Hg, Pb сырья и продуктов растительного происхождения.

Тема 6. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Цель работы – овладеть методиками по определению неорганических веществ в костной ткани, минерального состава продуктов растительного происхождения и анализа поваренной соли.

Общие сведения

В составах живых организмов входит более 80 химических элементов. В живом веществе содержится 65-70 % кислорода и 10 % водорода. На долю более 70 элементов приходится всего 20-25%. Среди них преобладают углерод, азот и кальций (1-10%). Сера, фосфора, калия и кремния в живых организмах не более 1 %, а таких элементов, как железо, хлор, алюминий, натрий и магний (0,1-0,01 %).

Минеральные вещества обычно делят на две основные группы: **макроэлементы** (Ca, P, Mg, Na, K, Cl, S), содержащиеся в пищевых продуктах в относительно больших количествах; **микроэлементы** (Fe, Zn, I, F, и другие), концентрация которых невелика.

Данные о содержании важнейших минеральных веществ в основных продуктах питания приведены в таблицах 1 (примечание) и 2.

Физиологическое значение минеральных элементов в основном определяется их участием в:

- 1) структуре и функциях ферментных систем;
- 2) пластических процессах и построении тканей организма;
- 3) поддержании кислотно-щелочного состояния организма;
- 4) нормализации водно-солевого обмена.

При переработке пищевого сырья происходит снижение содержания минеральных веществ, кроме NaCl)

Таблица 5

**Примерное содержание минеральных веществ в основных продуктах питания,
мг/100 г**

Элемент	Рыба	Мясо	Молоко	Хлеб	Картофель	Овощи	Фрукты ягоды	Содержание в сут. .диете
Ca	40	10	120	30	10	35	29	1380
P	250	180	90	200	60	40	20	2335
Mg	30	25	13	80	23	20	15	540
Na	80	70	50	15	30	20	25	4000-6000 без добавки NaCl
K	300	350	150	200	570	200	250	5460
Cl	160	60	ПО	25	60	40	2	7000-1000 с до- бавкой NaCl
S	200	220	30	70	30	20	6	1140

Лабораторная работа 13 **КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ** **ВЕЩЕСТВ В КОСТНОЙ ТКАНИ**

В состав костной ткани входит вода (50%), органические (28%) и неорганические (22%) вещества. Среди последних большую часть составляет фосфат кальция (85%) и в значительно меньших количествах содержится карбонат кальция (10%), фосфат магния (1,5%) и фторид кальция (0,3%). Минеральные вещества распределены в органическом веществе костей в виде тончайших включений.

Реактивы и оборудование: колба коническая на 50 мл; цилиндр на 50 мл; пробирки; воронки; фильтры; костная ткань; серная кислота 0,5%; раствор оксалата аммония насыщенный; гидроксид аммония концентрированный; молибденовый реактив.

Кальций и фосфор

В организме взрослого человека содержится больше 1 кг Са, который играет роль внутриклеточного регулятора и регулятора скелетных и сердечных мышц. Кальций содержится в молоке, сыре, бобах, орехах и овощах.

Количество фосфора в организме тоже велико – 300-500 гр. Он входит в состав не только костей, но и нуклеиновых кислот, коферментов НАД, НАДФ, ФАД, ФМН и др., в состав АТФ-АДФ-фосфатной системы. Фосфора много в сыре, рыбе, горохе, хлебе и др. продуктах

Магний

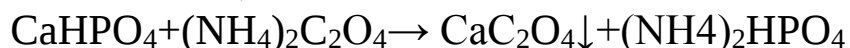
В организме человека содержится около 25 гр магния, большая часть которого сосредоточена в костях. Ионы Mg^{2+} играют важную роль во многих ферментативных реакциях, особенно в гликолизе. Магний обладает сосудорасширяющими свойствами. Содержится магний во многих продуктах, в том числе в горохе, хлебе, пшене, гречке и т.д.

Методика выполнения работы

В колбу помещают примерно 5 гр костной ткани, прибавляют 50 мл 0,5%-ного раствора серной кислоты и оставляют на сутки, неорганические вещества переходят в раствор.

Опыт 13.1 Открытие ионов кальция

Отфильтровывают 3-4 мл вытяжки в пробирку и добавляют 3-4 капли насыщенного раствора оксалата аммония. Выпадает в осадок оксалат кальция.

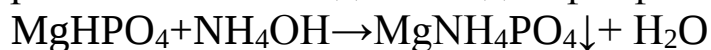


Выводы

Опыт 13.2. Открытие ионов магния

Методика выполнения работы

Оксалат кальция, полученный в предыдущем опыте, отделяют фильтрованием. К фильтрату добавляют 3-4 капли концентрированного раствора аммиака. Выпадает осадок фосфата магния.

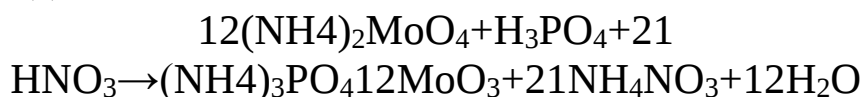


Выводы

Опыт 13.3. Открытие фосфорной кислоты

Методика выполнения работы

К нескольким мл профильтрованной вытяжки костной ткани прибавляют 5-6 капель молибденового реактива и нагревают до кипения. Медленно образуется жёлтый кристаллический осадок фосфо-молибдата аммония.



Выводы

Лабораторная работа 14

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ПРОДУКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ (КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ)

Реактивы и оборудование: электроплитка, микроскоп, химические стаканы, пробирки, предметные стёкла, 10% соляная кислота, нитрат серебра, гексанитрокобальт (II) натрия, водный раствор аммиака, 1% дигидрофосфат натрия, щавелевая кислота, роданид аммония, гексацианоферрат (III) калия, 2Н серная кислота, иодид калия, хлорид бария.

Опыт 14.1. Подготовка сырья

Методика выполнения работы

Поместите в тигли продукты (хлеб, крупы, макароны, муку, семечки, сухофрукты и т.п.) и озолите на электроплитке в вытяжном шкафу (в сушильном шкафу или муфельной печи). Разделите золу на 2 части. Одну часть золы перенесите в химический стакан и залейте дистиллированной водой (1:4). Другую часть золы залейте 10% раствором соляной кислоты (1:4).

Опыт 14.2. Определение хлоридов

Методика выполнения работы

В пробирку налейте 1 мл водного раствора и добавьте раствор нитрата серебра. При наличии хлоридов образуется белый осадок. Напишите химическое уравнение в ионном виде.

Выводы.

Опыт 14.3. Определение калия

Методика выполнения работы

В пробирку налейте 1 мл водного раствора и добавьте раствор гексанитрокобальтата (II) натрия. При наличии калия образуется красный осадок. Перенесите часть осадка на предметное стекло и посмотрите на форму кристаллов в микроскоп. Напишите уравнение в ионном виде.

Выводы

Опыт 14.4. Определение магния

Методика выполнения работы

В пробирку налейте 1 мл солянокислого раствора. Нейтрализуйте раствор водным раствором аммиака (прилейте 1 мл). Прилейте 1% раствор дигидрофосфата натрия. Образуется белый осадок. Перенесите часть осадка на предметной стекло, посмотрите на форму кристаллов в микроскоп и зарисуйте их.

Выводы.

Опыт 14.5. Определение кальция

Методика выполнения работы

В пробирку налейте 1 мл водного раствора и добавьте раствор щавелевой кислоты или оксалата аммония. Образуется белый осадок. Рассмотрите осадок под микроскопом.

Выводы.

Опыт 14.6 Определение железа

Методика выполнения работы

В две пробирки налейте по 1 мл солянокислого раствора. В первую добавьте раствор роданида аммония, во вторую гексацианоферрат (III) калия. Если раствор краснеет, значит присутствуют ионы железа (III), если образуется синий осадок, значит обнаруживаются ионы железа (II).

Выводы.

Опыт 14.7 Определение нитрит-ионов

Методика выполнения работы

К 1 мл водного раствора прилейте 1 мл 2 н раствора серной кислоты и столько же раствора иодида калия. Образуется бурый осадок йода. Напишите уравнение реакции в ионном виде

Выводы.

Опыт 14.8 Определение сульфат-, фосфат-, и карбонат-ионов

Методика выполнения работы

В пробирку налейте 1 мл водного раствора и добавьте раствор хлорида бария. Выпадает белый осадок. Разделите осадок на три пробирки. К осадку долейте 2 н раствор соляной кислоты. Если осадок не изменился, обнаружены сульфат-ионы. Если осадок растворился без выделения газа, присутствуют фосфат-ионы, если при растворении выделяется бесцветный газ – карбонат-ионы.

Выводы.

Лабораторная работа 15

АНАЛИЗ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ

Реактивы и оборудование: Весы аналитические, термометры, химические стаканы, пробирки, бумага лакмусовая синяя и красная, соль поваренная, вода дистиллированная.

Поваренная соль представляет собой природной хлорид натрия с очень незначительной примесью других солей. Она хорошо растворяется в воде. С повышением температуры ее растворимость повышается, но весьма незначительно. Чистый хлорид натрия негигроскопичен, поваренная соль же вследствие содержания в ней хлоридов кальция и магния – гигроскопична.

Кристаллы хлорида натрия прозрачны, однако в мелкодробленном виде соль имеет белый цвет. Находящиеся в ней примеси придают ей различные оттенки. Соль не обладает запахом.

Поваренную соль добывают различными способами. В зависимости от этого различают соль каменную, самосадочную, садочную и выварочную.

Каменная соль залегает мощными пластами на большой глубине и добывается горным способом путем устройства шахт. Она отличается высокой степенью чистоты и малым содержанием влаги.

Самосадочная соль находится в виде пластов на дне соленых озер. Летом, когда озера высыхают, ее легко добывают технически. Этот вид соли является основным.

Садочная (бассейновая) соль получается из естественных или искусственных солевых водоемов путем выпаривания или вымораживания, при этом вследствие пересыщения выпадает осадок. Этот вид соли добывается в незначительных количествах.

Выварочная соль получается путем выпаривания из рассолов, добываемых прокачиванием воды через подземные залежи соли. Полученные рассолы содержат до 30 % хлорида натрия и примеси иных солей, которые удаляют в результате химической очистки. Затем рассол уваривают под вакуумом для кристаллизации соли, которую центрифугируют, высушивают и просеивают. Наиболее чистой является выварочная соль.

Примеси оказывают влияние на свойства поваренной соли.

Соли магния придают ей горьковатый привкус, соли кальция – грубый щелочной вкус. Примеси солей железа вызывают при соприкосновении с жирами красно-бурые пятна и, являясь катализаторами окислительных процессов, ускоряют прогоркание жиров.

В основу деления соли по сортам положена чистота соли и крупнота ее частиц (тонина размол). По сортам выпускается соль «Экстра», высшего, 1 и 2 сортов. По крупности помола различают помол № 0, являющийся самым мелким, № 1, 2, 3.

ГОСТ 13830- 91 предусматривает определение органолептических, физико-химических показателей и гранулометрического состава соли.

Опыт 15.1. Определение цвета, вкуса и запаха соли **Методика выполнения работы**

По органолептическим показателям цвет соли «Экстра» и высшего сорта должен быть белым, а у 1 и 2 – белым с возможными оттенками: сероватым, голубоватым или желтоватым. Запах соли определяют непосредственно после растирания навески 20 г в чистой фарфоровой ступке. В холодное время года соль перед растиранием выдерживают в закрытом сосуде 10 -15 мин при температуре 20 °С. Запах у соли должен отсутствовать. Для определения вкуса, который должен быть чисто соленым, готовят 5%-й раствор соли в дистиллированной воде, имеющий температуру 15 -25 °С. В соли не должны содержаться заметные глазу посторонние примеси.

Выводы.

Опыт 15.2. Определение реакции соли по лакмусу **Методика выполнения работы**

Навеску соли массой около 5 г растворяют в 15 см³ дистиллированной воды, опускают в раствор красную и синюю лакмусовые бумажки, наблюдая за изменением их окрасок; соответственно определяют реакцию раствора: «кислая по лакмусу», «нейтральная по лакмусу», «слабокислая по лакмусу», «щелочная по лакмусу» или «слабощелочная по лакмусу». Соль со слабокислой или слабощелочной реакцией по лакмусу считается, соответствующей требованиям стандарта.

Выводы.

Лабораторная работа 16

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В МОЛОКЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КАЛЬЦИЯ

Концентрацию металлов в растворах можно установить химическими и физическими методами. Наиболее быстрым и простым является комплексометрический метод (по А.Я. Дуденкову). Данным методом можно контролировать не только массовую долю общего кальция в молоке, но и содержание условно растворимого кальция, который остается в сыворотке после осаждения белков молока трихлоруксусной кислотой или сычужным ферментом.

Принцип метода. Определение массовой доли кальция основано на образовании устойчивого комплекса трилона Б (динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты) с двухвалентным кальцием. Комплексное соединение трилона Б настолько прочно связывает катионы кальция, что при его добавлении к молоку растворяются плохо растворимые соединения кальция с фосфором и белками. Если в молоко внести индикатор, образующий с ионами кальция окрашенные соединения, то при добавлении трилона Б в точке эквивалентности окраска индикатора изменится. В качестве металлоиндикатора в методе АЛ. Дуденкова применяют мурексид, который в щелочной среде при отсутствии ионов кальция окрашивается в сине-фиолетовый цвет, а при их наличии – в розовый. В методике используется способ обратного титрования: в молоко вносят избыток трилона Б, связываемый затем раствором хлорида кальция.

Реактивы и оборудование:

1. Коническая колба вместимостью 250-300 см³ *
2. Пипетки вместимостью 5 см³
3. Мерный цилиндр на 100 см³
4. Бюретка на 20 см³
5. NaOH 2 н (или 8%)
6. 0,1 н раствор трилона Б (18,6 г. трилона Б на 1 л дистиллированной воды)
7. мурексида с хлоридом натрия (соотношение 1:50)
8. CaCl₂ 0,1 н
9. Вода дистиллированная
10. Молоко

Приготовление хлорида кальция: карбонат кальция высушивают при 110°C 2 часа, охлаждают в эксикаторе. 5,005 г карбоната кальция помещают в химический стакан, прибавляют 10 см концентрированной соляной кислоты, приливают 100 см³ дистиллированной воды и нагревают до кипения. Охлажденный раствор переносят в мерную колбу на 1 л и доводят водой до метки (Эту работу выполняет лаборант).

Методика выполнения работы

В коническую колбу вместимостью 250-300 см³ отмеривают 5 см³ молока, приливают 90 см³ воды, 5 см³ 2 н NaOH, 4 см³ 0,1 н трилона Б, перемешивают и оставляют на 2 мин. Вносят на кончике шпателя 0,05 г мурексида, раствор перемешивают (он окрашивается в сиреневый цвет) и титруют 0,1 н CaCl₂ до устойчивого окрашивания.

Далее вновь добавляют по каплям 0,1 н раствор трилона Б до появления сиреневой окраски (заметного синеватого оттенка). Массовую долю кальция (х мг %) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V_1 - V_2 \cdot 2 \cdot 0,97 \cdot 100}{V}$$

где V₁– общий объем 0,1Н раствора трилона Б, добавленного к молоку (4 см³ плюс количество, израсходованное на второе титрование), см³;

V₂– объем 0,1Н раствора хлорида кальция, израсходованного на обратное титрование трилона Б, см³;

V – объем исследуемого молока, см³;

2 – количество кальция, соответствующее 1 см³ ОДН раствора трилонаБ, мг;

0,97 – коэффициент для перерасчета количества молока из кубических сантиметров в граммы;

При исследовании 5 см³ молока формула приобретает следующий вид:

$$X = (V_1 - V_2) \cdot 38,83$$

Следовательно, для подсчета массовой доли в молоке кальция необходимо объем трилона Б, связанного с кальцием, умножить на 38,83 или пользоваться данными таблицы 6. Для достижения более

резкого перехода окраски рекомендуют смешивать мурексид с другим индикатором или применять более чувствительный индикатор флуорексон, образующий с кальцием соединение, флуоресцирующее зеленым цветом, а при его отсутствии – красную или желтую окраску.

Таблица 6

Зависимость массовой доли кальция в молоке от количества израсходованного раствора трилона Б

Расход 0,1н трилона Б, см ³	Массовая доля, Са мг%	Расход 0,1н трилона Б, см ³	Массовая доля, Са мг%
2,90	113	3,30	128
2,95	115	3,35	130
3,00	116	3,40	132
3,05	118	3,45	134
3,10	120	3,50	136
3,15	122	3,55	138
3,20	124	3,60	140
3,25	126	3,65	142

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Микро- и макроэлементы в пищевых продуктах.
2. Роль минеральных компонентов в функционировании иммунной системы, в обмене веществ.
3. Влияние технологической обработки на минеральный состав пищевых продуктов.
4. Влияние минеральных веществ на устойчивость пищевых систем при производстве пищевых продуктов.
5. Значение минеральных веществ в оценке биологической безопасности пищевых продуктов.
6. Методы определения минеральных веществ.
7. Содержание минеральных веществ в основных продуктах питания

Вопросы к коллоквиуму №4
(проверка остаточных знаний
по темам «Жиры», «Минеральные вещества», «Витамины»

1. Строение и биологическая роль жиров (триглицеридов)
2. Физико-химические свойства жиров, триглицеридов, используемые в пищевой промышленности: наличие водородных связей, действие на жиры высоких температур, окисляемость, высыхание, переэтерификация, гидрогенизация.
3. Строение, биологическая роль, физико-химические свойства фосфолипидов, используемые в пищевой промышленности.
4. Строение, биологическая роль, физико-химические свойства стероидов, используемые в пищевой промышленности.
5. Биологическая ценность и потребность липидов.
6. Витамины, понятие и классификация. Витаминная недостаточность.
7. Витамин Е (токоферол). Строение. Витаминная недостаточность. Источники. Суточная потребность.
8. Витамин К (филлохинон). Строение. Витаминная недостаточность. Источники. Суточная потребность.
9. Витамин В₆ (пиридоксин). Строение. Витаминная недостаточность. Источники. Суточная потребность.
10. Витамин В₁₂ (цианкобаламин). Строение. Витаминная недостаточность. Источники. Суточная потребность.
11. Витамин С (аскорбиновая кислота). Строение. Витаминная недостаточность. Источники. Суточная потребность.
12. Витамин В₉ (фолиевая кислота). Строение. Витаминная недостаточность. Источники. Суточная потребность.
13. Минеральные вещества пищи.
14. Токсические элементы. Нахождение их в природе. Действие на организм человека. Антидоты.
15. ПДК токсических элементов в продуктах питания.

Тема 7. ФЕРМЕНТЫ

Цель работы: ознакомление с методиками по обнаружению ферментов в пищевых продуктах и изучению их некоторых свойств.

Общие сведения

Ферменты – наиболее важный класс белковых веществ, универсальный по своей биологической функции. Ферменты представляют собой специфические и высокоэффективные катализаторы химических реакций, протекающих в живой клетке. Изучение ферментов, их строения, свойств и механизма биологического действия составляет один из главных разделов биохимии и биоорганической химии. К настоящему времени охарактеризовано несколько тысяч ферментов, свыше тысячи из них получены в индивидуальном состоянии. Для многих сотен белков-ферментов выяснена аминокислотная последовательность, а самые известные из них расшифрованы с помощью рентгеноструктурного анализа до уровня полной пространственной структуры, изучение любой проблемы в области познания механизмов жизнедеятельности обязательно связано с исследованием соответствующих ферментных систем. Кроме того, ферменты широко используются как мощные инструменты при выяснении строения биополимеров, и при генно-инженерных разработках. Они находят широкое практическое применение в медицине и пищевой промышленности.

Ферменты имеют различные молекулярные массы – от 10000 до 1000000 и выше. Они могут быть построены из одной полипептидной цепи, нескольких полипептидных цепей или представлять собой сложные (иногда полиферментные) комплексы. В состав фермента входят и небелковые компоненты, получившие название коферментов (кофакторов) – ионы металлов, небольшие органические молекулы типа витаминов и т. п.

Ферменты являются высокоэффективными катализаторами: они способны увеличивать скорости реакций в миллионы и миллиарды раз. Так, например, уреазы (при pH 8,0, 20°C) ускоряет гидролиз мочевины примерно в 10^{14} раз.

Ферменты являются высокоспецифичными катализаторами. Они проявляют специфичность в отношении типа катализируемой химической реакции, причем образования побочных продуктов не

происходит. Кроме того, они обладают выраженной субстратной специфичностью и, как правило, высокой стереоспецифичностью.

Классификация ферментов

Ранее при наименовании ферментов за основу брали название субстрата с добавлением суффикса «аза»; так появились, в частности, протеиназы, липазы, карбогидразы. По сходному принципу обозначали ферменты, катализирующие окислительные реакции (дегидрогеназы). Некоторые ферменты получили специальные названия – трипсин, пепсин и др.

В настоящее время принята классификация, в которой ферменты сгруппированы в 6 классов в соответствии с типом катализируемых ими реакций:

1. Оксидоредуктазы (окислительно-восстановительные реакции).
2. Трансферазы (реакции переноса функциональных групп).
3. Гидролазы (реакции гидролиза).
4. Лиазы (реакции отщепления групп негидролитическим путем).
5. Изомеразы (реакции изомеризации).
6. Лигаза (реакции синтеза за счет энергии АТФ).

В пределах классов ферменты группируются в подклассы и подподклассы в соответствии с особенностями катализируемых реакций; на этой основе составлена кодовая нумерация (шифры) ферментов и их систематические названия. Шифр фермента состоит из четырех разделенных точками чисел: первое число означает класс фермента, второе и третье числа – подкласс и подподкласс соответственно, а четвертое число – порядковый номер фермента в его подподклассе. Например, кислая фосфатаза имеет шифр 3,1,3,2; это означает, что она относится к классу гидролаз (3.1.3.2), подклассу этих ферментов, действующих на сложноэфирные связи (3.1.3.2), к подподклассу ферментов, гидролизующих моноэфиры фосфорной кислоты (3.1.3.2), а порядковый номер фермента в данном подподклассе – 2 (3.1.3.2).

Ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию, но выделенные из разных видов живых организмов, различаются между собой. В номенклатуре же они имеют общее название и один кодо-

вый номер. Различные формы того или иного фермента нередко встречаются и у одного биологического вида. Для наименования группы ферментов, катализирующих одну и ту же реакцию и находящихся в организмах одного вида, рекомендуется термин множественные формы фермента. Для тех ферментов одной группы, которые имеют генетически обусловленные различия в первичной структуре, используют термин «изоферменты».

Лабораторная работа 17 ОБНАРУЖЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Реактивы и оборудование:

- 1 Термостат
- 2 Спиртовки
- 3 Пробирки
- 4 Восковый карандаш
- 9 Пипетки
- 6 Водяная баня
7. Препарат сахаразы: 5 г сухих дрожжей тщательно растирают в ступке для разрушения дрожжевых клеток и добавляют 10 мл воды и растирают дрожжи с водой, полученную суспензию фильтруют через складчатый фильтр
8. Раствор сахарозы, 2 %
- 9 Реактив Фелинга: а) 40 г сегнетовой соли и 30 г едкого натрия разводят в мерной колбе и в 200 мл водой; б) 8 г $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ разводят в колбе водой на 200 мл перед употреблением смешивают растворы а) и б).
10. Фенолфталеин 0.5 % спиртовой раствор
- 11 Водный экстракт мышечной ткани: 10 г тщательно измельченной мышечной ткани при перемешивании экстрагируют двойным объемом воды в течение 10 мин. Вытяжку отфильтровывают через марлю и экстракцию повторяют еще два раза. Водные экстракты объединяют.
- 12 Раствор крахмала. 0,1 %
- 13 Раствор хлорида натрия, 0,05 н.
- 14 Раствор I_2 в KI
- 15 Раствор гваяковой смолы в этаноле, 1 %

- 16 Раствор пероксида водорода, 3%
- 17 Карбонат натрия 1% раствор
- 18 Раствор формальдегида 0,4%
- 19 Раствор метиленового синего 0,01%
- 20 Вазелиновое масло
- 21 Продукты: экстракт из хрена, свежее молоко или сухие сливки 5% раствор, картофель сырой и вареный, мясо

Опыт 17.1 Обнаружение действия сахаразы дрожжей

Сахараза дрожжей расщепляет дисахарид сахарозу, образовавшиеся моносахариды определяют реакцией Фелинга. Сахароза не имеет свободной гидроксильной (полуацетонной) группы и поэтому не обладает восстанавливающими свойствами

Сахароза катализирует гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы.

Методика выполнения работы:

В две пробирки наливают по 1 мл водного экстракта дрожжей, содержащего сахарозу. Содержимое одной пробирки (контроль) кипятят в течение 3 мин для разрушения сахаразы и охлаждают. Затем в обе пробирки добавляют по 3 мл раствора сахарозы, хорошо перемешивают и ставят в термостат при температуре 38 °С

Через 15 мин в обе пробирки вносят по 2 мл раствора Фелинга, перемешивают и нагревают до кипения. В контрольной пробирке осадка нет, а в пробирке с активным ферментом (опыт) образуется красный осадок оксида меди.

Выводы.

Опыт 17.2 Обнаружение действия амилазы мышечной ткани

Амилазу мышечной ткани открывают по ее гидролитическому действию на крахмал. Амилаза ускоряет гидролиз α -1,4-гликозидных связей в молекуле крахмала до декстринов и амилазы на крахмал можно обнаружить по результатам реакции: крахмал дает с йодом синюю, декстрины - желтую окраску

Методика выполнения работы:

В две пробирки наливают по 5 мл 0,1% раствора крахмала, 1 мл 0,05 н. раствора хлористого натрия и добавляют в одну пробирку 1

мл водного экстракта мышц, а в другую - 1 мл прокипяченного экстракта мышц. Пробирки выдерживают в термостате при температуре 37 °С 10 мин, после чего прибавляют по одной капле раствора йода в йодистом калии. Отмечают действие амилазы *по* изменению окраски раствора и делают выводы.

Опыт 17.3. Обнаружение действия фенолоксидазы картофеля

Фенолоксидазы обычно встречаются в составе большинства растительных тканей, реже - в тканях животных. По своему строению фенолоксидазы являются сложными ферментами, содержащими в своем составе медь. Они катализируют окисление полифенолов с участием кислорода воздуха как акцептора водорода.

В работе источником фенолоксидазы является картофель, а гваяковая смола содержит субстрат: полифенол пирокатехин. При действии фенолоксидазы на пирокатехин получается продукт окисления ортобензохинои, окрашенный в синий цвет.

Методика выполнения работы

На срезе сырого и вареного картофеля наносят по 1-2 капли 1%-госпиртового раствора гваяковой смолы и отмечают появление окраски на одном из срезов картофеля.

Отмечают разницу в окраске на срезах .

Выводы.

Опыт 17.4 Обнаружение действия пероксидазы хрена

Пероксидазы - сложные ферменты, содержащие в качестве кофермента гем. Они широко распространены в растительных и животных тканях пероксидазы катализируют окисление ряда веществ за счет кислорода пероксидов, например пероксида водорода.

В работе источником пероксидазы является водный экстракт из хрена, а источником окисляемого соединения - гваяковая смола, содержащая полифенол - пирокатехин.

Методика выполнения работы

В одну пробирку вносят 2 мл экстракта из хрена, во вторую пробирку - 2 мл прокипяченного экстракта из хрена. В каждую пробирку добавляют по 2 капли 1 %-ного раствора гваяковой смолы и отмечают окрашивание полученных растворов.

В каждую пробирку добавляют по 1-2 капли 3 %-ной перекиси водорода. Отмечают изменение окраски в одной из пробирок .

Выводы.

Опыт 17.5 Обнаружение действия альдегидоксидазы молока

Альдегидоксидаза ускоряет дегидрирование различных алифатических и ароматических альдегидов (ацетальдегида, формальдегида, салицилового альдегида и др.) В аэробных условиях (в присутствии газообразного кислорода) фермент катализирует реакцию дегидрирования путем переноса водорода на кислород с образованием перекиси водорода.

Реакция идет в присутствии метиленового синего, последний служит акцептором, на который альдегидоксидаза переносит водород с окисляемого альдегида. В аэробных условиях действие альдегидоксидазы может быть обнаружено по обесцвечиванию метиленового синего.

Методика выполнения работы

В три пробирки наливают по 5 мл молока, содержимое одной пробирки кипятят 2-3 минуты и охлаждают. В прокипяченное молоко и в одну из пробирок с некипяченым молоком добавляют 1 мл раствора формальдегида, в третью пробирку с некипяченым молоком - 1 мл воды.

Во все пробирки прибавляют по 1-му мл раствора метиленового синего, перемешивают, доливают по 0,5 мл вазелинового масла (для создания анаэробных условий) и ставят на водную баню при 40 °С на 30 минут. Через некоторое время жидкость в пробирке, с некипяченым молоком и субстратом (формальдегидом) обесцвечивается вследствие образования восстановительной формы метиленового синего.

Поскольку в первой пробирке фермент инактивирован кипячением, а в третьей пробирке с некипяченым молоком отсутствует субстрат (формальдегид), обесцвечивания метиленового синего не наблюдается.

Выводы.

Опыт 17.6: Обнаружение действия липазы мышечной ткани

Фермент липаза относится к классу гидролаз, по химической природе является простым белком. В продуктах питания содержащих жиры под действием липазы происходит гидролиз жира на глицерин и жирные кислоты, что снижает качество этих продуктов

Действие липазы можно обнаружить, добавив водный экстракт мышечной ткани к молоку, предварительно подщелоченному раствором карбоната натрия в присутствии фенолфталеина до бледно-розовой окраски.

Принцип метода. Под действием липазы жиры гидролитическим путем расщепляются, реакция среды сдвигается в кислую сторону за счет образующих жирных кислот, и розовая окраска в присутствии фенолфталеина исчезает.

Методика выполнения работы

В две пробирки наливаем по 10 капель молока. В 1-ю пробирку добавляем 5 капель экстракта мышечной ткани, содержащего липазу, во вторую пробирку - 5 капель воды. В обе пробирки доливаем по 1 капле 0,5 %-го раствора фенолфталеина и по каплям 1 %-ный раствор карбоната натрия до появления бледно-розовой окраски при рН - 8 (нельзя приливать избыток раствора карбоната натрия). Пробирки помещают в термостат при температуре 38 °С на 30 мин. наблюдают обесцвечивание окраски в пробирке, содержащей липазу.

Выводы.

Лабораторная работа 18

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТА α -АМИЛАЗЫ

Общие сведения

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы. Они значительно повышают скорость химических реакций, которые в отсутствие ферментов протекают очень медленно.

Фермент α -амилаза был открыт Кирхгофом в 1814 году. Он относится к классу гидролаз, подклассу гликозидаз. Этот фермент содержится в организме животных и человека (в слюне, соке поджелудочной железы), продуцируется плесневыми грибами и многими видами бактерий, содержится в солоде (проросшем зерне) пшеницы, ячменя, ржи, проса.

α -амилаза катализирует гидролиз в молекуле крахмала, гликогена и родственных полисахаридов глубинных α -1-4-гликозидных связей без определенного порядка. При этом в качестве продуктов гидролиза образуются декстрины и небольшое количество мальтозы, в связи с этим α -амилазу называют ферментом декстринирующего действия.

Ферментативные превращения крахмала лежат в основе многих пищевых технологий, в том числе в основе хлебопечения. Скорость гидролиза под действием α -амилазы зависит от состояния крахмала (нативный или клейстеризованный крахмал), от фракционного состава крахмальных гранул (отношение мелких и крупных зерен, содержание поврежденных зерен), а также от эффективности фермента. Характерная особенность всех α -амилаз – наличие одного атома Са на молекулу фермента.

Роль кальция заключается в том, что он стабилизирует вторичную и третичную структуру молекулы α -амилазы, обеспечивая ее каталитическую активность и предохраняя ее от действия протеолитических ферментов и тепловой денатурации.

Большое практическое значение имеет влияние температуры и pH среды на стабильность амилаз. Быстрое разрушение зерновой α -амилазы при pH 3,3-4,0 дает возможность выпекать ржаной хлеб из муки, которая содержит избыток α -амилаз, при низких значениях pH, чтобы предотвратить излишнее декстринирование крахмала и образование клейких веществ в мякише хлеба.

Реактивы и оборудование: конические колбы на 100 мл; водяная баня, термометр; фильтр; пипетка Мора на 20 мл; пробирки; солод; ферментный препарат α -амилазы; 2 % раствор крахмала; 1 м раствор уксусной кислоты; 1 м раствор уксуснокислого натрия; 1/15 м раствор Na_2HPO_4 ; 1/15 м раствор KH_2PO_4 ; 0,1 м раствор йода.

Метод определения активности α -амилазы основан на качественной реакции продуктов гидролиза – декстринов – с раствором йода.

В результате гидролиза интенсивная синяя окраска крахмала с йодом переходит в винно-красную.

Приготовление препаратов α -амилазы

Для приготовления солодовой вытяжки к 4 г тонко измельченного солода прибавить 100 мл дистиллированной воды и экстрагировать в течение 1 часа при 30°C. Затем суспензию отфильтровать через складчатый фильтр, возвращая обратно на фильтр первые порции мутного фильтрата. Прозрачный фильтрат используют как источник ферментов.

При использовании ферментного препарата взять навеску 100 мг и растворить в 100 мл дистиллированной воды.

Методика выполнения работы

В колбу на 100 мл внести пипеткой 20 мл раствора крахмала и 8 мл буферных растворов для создания определенного значения pH. Количество вносимых буферов приведено в таблице 7.

Таблица 7

Количество вносимых буферов

Растворы	Объем вносимых буферов, мл при pH				
	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0
CH_3COOH 1 М	6,9	2,7	0,4	-	-
CH_3COONa 1 М	1,1	5,3	7,6	-	-
Na_2HPO_4 1/15 М	-	-	-	4,8	7,6
KH_2PO_4 1/15 М	-	-	-	3,2	0,4

Смесь крахмала с буфером поместить на водяную баню и нагревать при температуре 30°, 40°, 50° в течение 5 – 8 минут. Затем в колбу (не вынимая из бани) добавить 2 мл солодовой вытяжки или раствора фермента. Перемешать. Записать время внесения фермента (начало гидролиза).

Через 10, 20, 30, 45 минут отобрать по 1 мл гидролизной смеси, внести ее в пробирку с 5 мл йодного раствора, встряхнуть. Когда проба гидролизата дает винно-красную окраску с йодным раствором, гидролиз закончен.

Декстринирующую активность (А, ед/г) определяют по формуле:

$$A = \frac{0,4 \cdot 60}{t \cdot v \cdot q}$$

где 0,4 – навеска крахмала в 20 мл раствора;

60 – перевод минут в часы;

v- объем раствора фермента или экстракта, взятый для гидролиза, мл;

t- время декстринизации, мин;

q - содержание фермента или солода в 1 мл раствора или экстракта, г.

Пример расчета. В качестве источника фермента α-амилазы был использован солод. Для экстракции была взята навеска 4 г и добавлено 100 мл дистиллированной воды, что соответствует содержанию солода в 1 мл экстракта 0,04 г. Объем экстракта для гидролиза крахмала составил 2 мл. время окончания гидролиза – 20 мин. Следовательно декстринирующая активность солода равна

$$A = \frac{0,4 \cdot 60}{20 \cdot 2 \cdot 0,04} = 15 \text{ ед/г.}$$

Оформление результатов опыта

Полученные результаты записывают в таблицу

Температура гидролиза, °C	Время декстринизации, мин	Содержание солода или фермента в 1 мл раствора, г	Декстринирующая активность солода, ед/г
30			
40			
50			

Выводы.

Контрольные вопросы для самопроверки

1. Какую реакцию катализирует сахараза дрожжей?
2. Какие процессы происходят при взаимодействии продуктов гидролиза сахарозы с реактивом Фелинга?
3. К какому классу ферментов относятся сахараза дрожжей, амилаза и липаза мышечной ткани?
4. В чём особенность строения пероксидазы?
5. В чём особенность строения фенолоксидазы?
6. К какому классу ферментов относятся фенолоксидаза и альдегидоксидаза?
7. Какие реакции катализируют фенолоксидаза, пероксидаза и альдегидоксидаза?
8. Почему не идут ферментативные реакции с прокипячёнными пищевыми продуктами и экстрактами из них?
9. Что является субстратом для α -амилазы и какие связи она гидролизует?
10. Какие продукты образуются при действии α -амилазы; как это объяснить? Напишите уравнение гидролиза субстрата α -амилаз.
11. Что такое декстрины?
12. Какое значение имеет α -амилаза в технологии хлебопечения, пивоварения, спиртовом производстве?
13. Расскажите о применении α -амилазы в хлебопекарной промышленности.

Тема 8.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПРИ ХРАНЕНИИ И ПЕРЕРА- БОТКЕ

Цель работы: овладение методами обнаружения факторов порчи в пищевых продуктах.

Общие сведения

При хранении молока длительное время под действием ферментов липаз возникает *прогорклый вкус*, связанный с порчей жира. В молоке накапливаются свободные кислоты: *масляная, капроновая, каприловая, каприновая и лауриновая*. Эти продукты распада жира обладают неприятным прогорклым вкусом, часто с рыбным и мыльным привкусом. Если молоко хранится на свету, в железной или медной посуде, то возникает *окислительная порча*. В первую очередь окисляются ПНЖК. Порок обусловлен образованием различных альдегидов и альдо или кетокислот. Окисленный *привкус характеризуется салистым, металлическим и рыбным вкусом*.

К порче кисломолочных продуктов биохимического происхождения относят *прогорклый и салистый* вкус. Они характерны для сметаны и жирного творога. Прогорклый вкус развивается при длительном хранении продуктов. Он обусловлен распадом жира под действием липаз, выделяемых плесневыми грибами. *Салистый* вкус появляется при хранении сметаны и вызывается *окислительной порчей* жира.

Порча сливочного масла возникает в результате изменения триглицеридов и фосфолипидов молочного жира. Порче способствуют ферменты, свет, кислород воздуха, металлы, высокая температура. Прогорание возникает в результате гидролиза триглицеридов под действием липаз и характеризуется неприятным запахом и вкусом за счет образования, в основном, *масляной* кислоты. *Окисленный* вкус объединяет несколько пороков - рыбный и металлический привкусы, что вызывается окислением ПНЖК, входящих в состав фосфолипидов и триглицеридов молочного жира.

Пороки сыров вызваны, прежде всего, накоплением в сырной массе *молочной* кислоты, накопление которой вызывает *прогорклый*

вкус. При развитии бактерий сырной слизи в сырах появляется *аммиачный* вкус и запах.

Хранение мяса

Технология переработки мясного сырья предусматривает несколько вариантов его использования:

1. Непосредственная переработка сразу после убоя,
2. Охлажденное мясо, когда его хранят при $t=0^{\circ}$, 1°C в течение 19-20 секунд;
3. Мороженое мясо.

При хранении мороженого и охлажденного мяса происходит «созревание» мяса, то есть вначале увеличивается «жесткость» мяса, а затем она восстанавливается. Остальные процессы при созревании мяса связаны с гликолизом - превращением гликогена в молочную кислоту, протеолизом и денатурацией, частичным распадом саркоплазмических белков до пептидов и аминокислот.

При длительном хранении происходит окисление липидов, увеличение перекисного числа жиров. При взаимодействии углеводов с образовавшимися аминокислотами может происходить карбомламинная реакция (реакция Майяра) с образованием меланомов - соединений коричневого цвета, обладающих горьким вкусом и неусваиваемых организмом.

Хранение овощей и фруктов

Овощи, фрукты и ягоды - это скоропортящиеся продукты Их выращивание сезонно Хранят овощи в охлаждаемых хранилищах с регулируемой газовой средой. При хранении возможно внутриклеточное брожение сахаров:

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot 2\text{C}_2\text{H}_3\text{OH} + 2\text{CO}_2 + 28 \text{ ккал.}$ Окислительное разрушение органических кислот (яблочной) до CO_2 и H_2O следовательно, кислотность падает и вкус становится «плоским». При хранении самопроизвольно разрушается витамин С.

Для зимних видов фруктов важное значение имеет превращение пектина. При хранении происходит постепенное разрушение вторичной структуры пектина, которое придает «твердость». В результате водоудерживающая способность снижается и пектин переходит в растворимую форму. Вкус продукта при этом улучшается.

Лабораторная работа 19

ИЗМЕНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПРИ ХРАНЕНИИ И ПЕРЕРАБОТКЕ

Реактивы и оборудование

1. Шкаф сушильный
2. Эксикатор
3. Хроматографическая камера, хроматографические пластинки «Силуфол»
4. Стакан стеклянный на 100 мл
5. Микрокапиляры
6. Пробирки
7. Магний (порошок)
8. Насыщенный раствор щавелевой кислоты
9. Колбы Эрленмейера на 100 мл, колбы для перегонки
10. Уксусная кислота
11. Глиоксиловая кислота
12. Концентрированная серная кислота
13. Этанол
14. Аммиак
15. Кристаллический йод
16. Кристаллические хлористый натрий или хлористый калий
17. Йодистый натрий
18. Бертолетова соль (KClO_3)
19. Дистиллированная вода
20. Продукты: яблоки, поваренная соль, загнившее мясо, проба прогорклого сливочного масла в бензоле

Опыт 19.1. Обнаружение индола и скатола в гниющем мясе

Методика выполнения работы

Раствор глиоксиловой кислоты готовит лаборант. (В колбу Эрленмейера емкостью 100 мл помещают 1 г порошка магния, смачивают его водой и осторожно, небольшими порциями вносят туда же 25 мл насыщенного раствора щавелевой кислоты. Реакционная колба охлаждается ледяной водой и тщательно взбалтывается после внесения каждой порции щавелевой кислоты до прекращения вы-

деления водорода. Когда щавелевая кислота внесена, жидкость фильтруют, фильтрат слабо подкисляют уксусной кислотой и доводят дистиллированной водой до метки) 15-20 г загнившего мяса растирают с 10 мл воды до суспензии. Наливают суспензию в количестве 30-40 мл в колбу, которую закрывают пробкой с газоотводной трубкой. Трубка помещается в чистую колбу - приемник для дистиллята. Суспензию нагревают, подвергают паровой перегонке и собирают в приёмник 10-15 мл дистиллята. В колбу с дистиллятом прибавляют 1-2 мл раствора глиоксиловой кислоты и 3-4 мл концентрированной серной кислоты. Появляется красное окрашивание в результате присутствия индола или скатола.

Выводы.

Опыт 19.2. Тормозящее действие ионов хлора на окислительные ферменты в яблоках

Методика выполнения работы

Яблоко разрезают на четыре части. Первую часть оставляют для контроля, вторую – посыпают со всех сторон поваренной солью, третью – йодистым натрием, четвертую – бертолетовой солью. Все 4 части оставляют на воздухе в течение 20 минут. За это время срезы трёх кусочков яблок – первого, третьего и четвертого темнеют. Срез второго кусочка остаётся без изменений. Проведённый опыт показывает, что ионы хлора являются ингибиторами для окислительных ферментов яблока.

Выводы.

Опыт 19.3. Обнаружение масляной кислоты в сливочном масле

Методика выполнения работы

При хранении жиров и масел под действием кислорода воздуха происходит прогоркание жиров, сопровождаемое окислением и гидролизом ненасыщенных жирных кислот, одним из продуктов которых является масляная кислота. Обнаружение масляной кислоты в сливочном масле можно провести методом тонкослойной хроматографии. Тонкослойная хроматография (ТСХ) – эффективный метод анализа сложных смесей веществ различных классов – угле-

водов, спиртов, кислот, белков, углеводов, стероидов. Она заключается в следующем: на одну сторону небольшой стеклянной пластинки наносят тонкий слой сорбента (окись алюминия или силикагеля). На поверхности пластинки наносят сорбционную массу в виде суспензии из серебра, фиксатора (гипс) и воды, выравнивают её на поверхности пластинки. Затем сушат пластинки на воздухе и активируют в сушильном шкафу. В настоящее время выпускают готовые хроматографические пластинки с закреплённым слоем, например «силуфол». Объём пробы играет существенную роль при разделении веществ с помощью хроматографии. Если нанести очень много вещества получится чересчур большие и плохой формы пятна. Пробы испытуемых веществ (обычно от 0,1 до 50 мкг) наносят на пластинку в виде растворов в эфире, хлороформе или другом растворителе точечными каплями при помощи стеклянного капилляра или пипетки (ёмкостью 0,1 мл).

На стартовую линию слоя сорбента наносят пробы веществ и их смесей; края пластинки ниже стартовой линии погружают в систему растворителей, налитую в стеклянный сосуд с пришлифованной крышкой. За счёт капиллярных сил растворитель продвигается по пластинке. По мере продвижения жидкости по пластинке смесь веществ разделяется. Границу подъёма жидкости, или фронта, отмечают, пластинку сушат и проявляют. Отмечают положение пятен, соответствующих исследуемым веществам и находящихся между линией старта и линией фронта жидкости. Для этого измеряют расстояние от центра пятна до стартовой линии (отрезок a). Далее определяют расстояние от линии фронта жидкости до стартовой точки (отрезок b). Отношение отрезка a к отрезку b обозначают через константу R_1 .

$$R_1 = \frac{a}{b}, \text{ где } R_1 - \text{коэффициент распределения.}$$

Для более надёжной идентификации веществ, определяя R_1 , часто применяют вещества – свидетели. На пластинке рядом с разделяемой смесью веществ хроматографируют известное вещество («свидетель») и сравнивают положение пятен на хроматограмме.

На пластинке силуфола (закреплённый слой силикагеля с добавкой крахмала) размером 7 на 5 см на расстоянии 1 см от нижнего края наметьте линию старта. На стартовую линию капилляром нанесите пробу сливочного масла (лучше прогорклого), растворённого в бензоле и масляной кислоте («свидетель»). Когда пятна под-

сохнут, пластинку поместите в хроматографическую камеру, на дно которой налито 5 мл смеси (элюент) этанол-аммиак-вода (20:1:4). После достижения растворителем верхней границы (приблизительно 1 см от края пластины), выньте и высушите пластинку. Для обнаружения (идентификации) соединений поместите пластинку в эксикатор с парами йода. Отметьте проявившиеся пятна и определите R_1 (R_1 масляной кислоты 0,65).

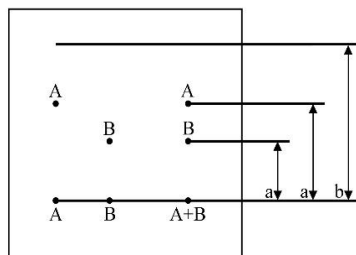


Рис. 2 Хроматографическая пластинка
A,B – индивидуальные вещества («свидетели»); A+B – смесь веществ

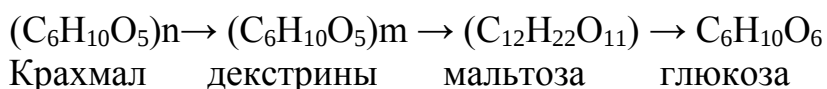
Выводы.

Лабораторная работа 20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ОСАХАРИВАНИЯ КРАХМАЛА

Цель работы: сравнить эффективность процесса осахаривания крахмала при разных режимах его проведения.

Осахариванием крахмала называют процесс его гидролитического расщепления до ди- и моносахаридов. Крахмал является полисахаридом, состоящим из молекул α -глюкозы, связанных между собой α -1,4-связью.

Схема гидролиза крахмала имеет следующий вид:



Методика выполнения работы

Управляя глубиной гидролиза крахмала, можно получить продукты питания с заданным содержанием сахаров.

Химический гидролиз крахмала проходит очень медленно, поэтому его проводят при повышенных температурах в присутствии катализатора, которым является кислота. Скорость осахаривания зависит от концентрации кислоты, температуры и длительности гидролиза.

Варианты проведения гидролиза крахмала

Вариант 1. Навеску крахмала в 0,2 г заливают 50 мл горячего раствора HCl (0,5 моль/дм³) в химическом стакане и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин при периодическом помешивании.

Вариант 2. Гидролиз проводят аналогично варианту 1, но в течение 90 мин.

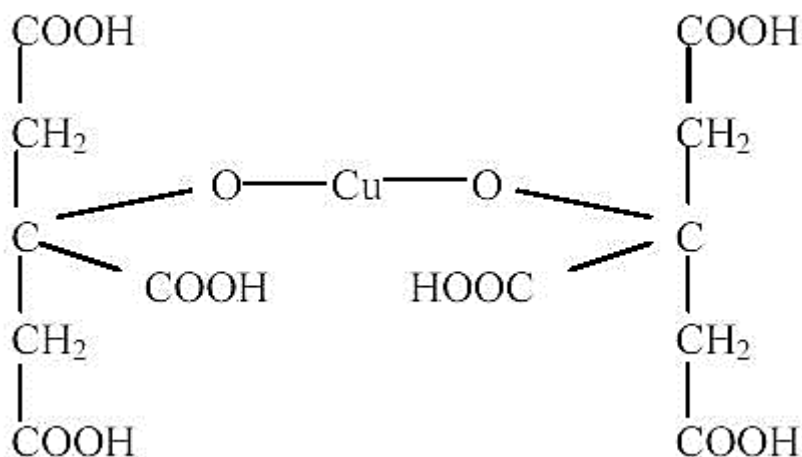
Вариант 3. Навеску крахмала в 0,2 г заливают 50 мл горячего раствора HCl (1 моль/дм³) в химическом стакане и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин при периодическом помешивании.

Вариант 4. Гидролиз проводят аналогично варианту 3, но в течение 60 минут.

Определение количества осахаренного крахмала

О количестве осахаренного (гидролизованного) крахмала судят по содержанию образовавшейся из него глюкозы. Определение глюкозы основано на ее окислительно-восстановительных свойствах. Глюкозу окисляют оксидом меди, в составе комплексного соединения меди с лимонной кислотой в щелочной среде, которую создает карбонат натрия.

Комплексное соединение имеет вид:



Избыток оксида меди, находящийся в комплексе, определяется йодометрически на основе следующей реакции:



Выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Количество последнего, пошедшего на титрование, эквивалентно количеству оставшегося после окисления глюкозы оксида меди.

Методика выполнения работы

После проведения гидролиза гидролизат охлаждают и в том же стакане нейтрализуют при помощи 30%-ного раствора NaOH , добавляя его осторожно по каплям и контролируя, чтобы pH не был выше 6,5.

Нейтрализованный гидролизат переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Из полученного объема 25 мл переносят в мерную колбу на 100 мл, добавляют 25 мл медного окислительного реактива, ставят на асбестовую проводочную сетку и нагревают до кипения. Кипятят 10 мин, быстро охлаждают до комнатной температуры и доводят водой до метки.

В коническую колбу отбирают 25 мл ярко-синего раствора, не затрагивая образовавшегося осадка закиси меди красного цвета, добавляют 30 мл свежеприготовленного 10%-ного раствора KI и 25 мл 25%-ного раствора H_2SO_4 . Выделившийся йод оттитровывают раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,1 моль/дм³).

Одновременно проводят контрольный опыт в таких же усло-

виях, но вместо 25 мл исследуемого раствора берут 25 мл дистиллированной воды.

Разница объемов тиосульфата, пошедшего на контрольный и рабочий опыты, эквивалентна количеству оксида меди, пошедшего на окисление глюкозы. Умножив полученную разность на 4 (поскольку из 100 мл взято 25 мл) находят содержание осажаренного крахмала в 25 мл нейтрализованного раствора (в мг) по таблице 8.

Таблица 8

Данные для расчета крахмала

Количество Na ₂ S ₂ O ₃ , мл	Содержание крахмала, мг	Количество Na ₂ S ₂ O ₃ , мл	Содержание крахмала, м
1	2,8	8	23,1
2	5,6	9	26,1
3	8,4	10	29,2
4	11,3	11	32,3
5	14,2	12	35,4
6	17,1	13	38,6
7	20,1	14	41,8
		15	45,0

Учитывая разведение гидролизата, рассчитывают степень оса-
х-ривания крахмала, исходя из его количества до гидролиза (0,2 г).

Массовая доля крахмала X (в %):

$$X = \frac{100 \cdot A \cdot V_1 \cdot V_3}{1000 \cdot m \cdot V_2},$$

где A – количество крахмала по табл. 6.1, мг; V_1 – общий объём-
гидролизата (100мл); V_3 - объём раствора после окисления глюкозы
950 мл), m - масса навески, г; V_2 – объём гидролизата для окисления
глюкозы (25мл).

Лабораторная работа 21

ОБНАРУЖЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В МОЛОКЕ

Цель работы: ознакомиться с методикой определения антибиотиков в молоке.

Антибиотики в молоке являются чужеродными веществами, могут попасть в него при непосредственном лечении вымени или опосредованно, через корма или при лечении самого животного. Методы обнаружения антибиотиков в молоке основаны на восстановлении резазурина или метиленового голубого при развитии в молоке чувствительного к антибиотикам микроорганизмам вида *Streptococcus thermophilus*. Метод позволяет обнаружить пенициллин более 0,01 МЕ/мл, стрептомицин более 30 мкг/мл, тетрациклин – от 1 МЕ/мл, олендомицин – от 10 МЕ/мл.

Определение антибиотиков

Методика выполнения работы

В чистую пробирку наливают 10 мл исследуемого молока, закрывают резиновой пробкой и нагревают на водяной бане до $85 \div 90^{\circ}\text{C}$ с выдержкой 10 минут, затем охлаждают до $42 \div 45^{\circ}\text{C}$. После этого в пробирку вносят стерильной пипеткой 0,3 мл рабочей тест-культуры. Содержимое пробирки тщательно перемешивают путем 3-кратного перевертывания, после чего пробирку выдерживают в водяной бане при температуре $42 \div 43^{\circ}\text{C}$ в течении 1 час. 40 мин – 2 час. 20 мин. Затем в пробирку вносят 1 мл 0,05%-ного раствора резазурина с температурой не ниже $18 \div 20^{\circ}\text{C}$ и тщательно перемешивают, перевертывая пробирку. Пробирку с молоком и резазурином выдерживают при $42 \div 43^{\circ}\text{C}$ в течение 15 минут.

В случае использования метиленового голубого его вносят одновременно с рабочей тест-культурой в количестве 0,1 мл 0,5%-ного раствора.

Примечание: растворы резазурина и метиленового голубого готовятся на дистиллированной кипяченой воде.

Чтение результатов

При отсутствии в молоке антибиотиков, ферменты, выделяемые термофильным стрептококком, восстанавливают краситель, и

молоко будет иметь белый или розовый цвет.

При наличии антибиотиков, они ингибируют развитие тест-культуры, в результате чего она не вырабатывает ферменты, и красители не восстанавливаются, при этом молоко окрашено в их цвет: в случае с резазурином – сине-стальной, сине-фиолетовый, в случае с метиленовым голубым – голубой. Голубое кольцо, образующееся в пробирке на поверхности молока высотой 1 см, не учитывают.

Регистрируемые показатели: Окраска исследуемых проб.

Лабораторная работа 22 ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТОВ

Цель работы: ознакомиться с методами определения нитратов в пищевых продуктах.

Общие сведения

Интенсификация производства овощей приводит к применению азотистых удобрений. Это влечет за собой повышение содержания в сырье и, следовательно, в продуктах питания нитратов, которые могут восстанавливаться в нитриты в верхних отделах пищеварительного тракта и оказывать вредное влияние на организм человека.

На концентрацию нитратов в растениях влияет недостаток света, сроки уборки урожая. Так увеличение продолжительности вегетации в весенний период положительно сказывается на снижении содержания нитратов в овощах. В молодых растениях нитратов на 50÷70% больше чем в зрелых.

При хранении овощей может происходить микробиологическое восстановление нитратов под действием ферментов нитратредуктаз. Поэтому для продуктов содержащие нитраты опасны высокие температуры в течение длительного времени.

Установлено, что нитраты могут угнетать активность иммунной системы организма, снижать устойчивость организма к отрицательному воздействию факторов окружающей среды. Нитраты и

нитриты также способны изменять активность обменных процессов в организме. Допустимая суточная доза поступления нитратов с пищей составляет 300÷350 мг.

Реактивы и оборудование: овощные, зерновые, молочные, мясные продукты; спектрофотометр; аналитические весы, иономер, гомогенизатор, мешалка, химические стаканы, колба Эрленмейера на 250 мл, делительные воронки, цилиндры, ватные и беззольные фильтры, стеклянный песок, алюмокалиевые квасцы, 1%; перекись водорода 33%; нитротолуол, уксусная кислота концентрированная, гидроокись алюминия, серная кислота (3:1)

Ионометрический метод

Наиболее простым и экспрессным методом определения нитратов является ионометрический, но его можно применять только при контроле свежей растительной продукции. Более универсальным методом, пригодным при анализе нитратов как в сырье, так и в готовой продукции, является фотометрический метод.

Сущность ионометрического метода состоит в извлечении нитратов из анализируемого материала раствором алюмокалиевых квасцов с последующим измерением их концентрации, в полученной вытяжке, с помощью ионоселективного электрода. Для ускорения анализа вместо вытяжки может быть использован сок продукции, разбавленный раствором алюмокалиевых квасцов. При анализе капусты, для разрушения примесей, мешающих определению нитратов, дополнительно проводят их окисление марганцевокислым калием.

Нижний предел обнаружения нитратов – 6 мг на 1 л анализируемого раствора. Предел надежного определения нитратов в анализируемой пробе – 30 мг/кг.

Методика выполнения работы

10г измельченного материала взвешивают с точностью до второго десятичного знака, помещают стакан гомогенизатора или измельчителя, наливают 50 мл 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов и гомогенизируют в течение 1 минуты при частоте вращения 6000 мин⁻¹. При отсутствии гомогенизатора пробу с квасцами перемешивают в стакане с помощью мешалки в течение 3-х минут.

В полученной суспензии определяют концентрацию нитрат-ионов. Гомогенизацию можно заменить растиранием массы в ступке с прокаленным песком или битым стеклом, или 15-минутным нагреванием суспензии в кипящей водяной бане с последующим охлаждением.

При анализе капусты 10 г измельченного сырья помещают в стакан на 100 мл, наливают 50 мл экстрагирующего раствора, перемешивают с помощью мешалки в течение 3-х минут. Не прекращая перемешивания, добавляют (2-3) капли 33%-ного раствора перекиси водорода до обесцвечивания раствора. В полученной суспензии измеряют концентрацию нитрат-ионов.

При использовании для анализа сока отбирают пипеткой 10 мл сока, прибавляют 50 мл 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов, перемешивают и в полученном растворе определяют концентрацию нитрат-ионов.

Измерение концентрации нитрат-ионов проводят непосредственно в логарифмических единицах pC_{NO_3} ($pC_{NO_3} = -\log C_{NO_3}$) по шкале иономера, предварительно отградуированного по растворам сравнения, или в милливольтх с последующим определением наличия pC_{NO_3} по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС электродной пары в растворах сравнения или в единицах концентрации, в соответствии с инструкцией к прибору.

Перед началом работы измеряют показания растворов сравнения в порядке возрастания концентрации, начиная с меньшей: $c(NO_3) = 0,0001$ моль/дм³.

Перед погружением электродов (ионоселективного нитратного и электрода сравнения – хлорсеребрянного) исследуемые суспензии взбалтывают. Показания прибора считывают не ранее, чем через 1 минуту после прекращения дрейфа показаний прибора. Температура испытуемых проб и растворов сравнения должна быть одинаковой.

После каждого измерения электроды ополаскивают дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой.

По полученному значению величины pC_{NO_3} – определяют содержание нитрат-ионов в мг/кг в исследуемом продукте.

Оценку качества продукции проводят в соответствии с допу-

стимыми уровнями содержания нитратов в растительных продуктах. Допустимые отклонения от ПДК при содержании нитратов до 100 мг/кг – 20%, свыше 100 мг/кг – 24%.

Спектрофотометрический метод

Принцип метода. Определение нитратов основано на образовании бесцветного комплекса нитротолуола. Метод обладает большой чувствительностью по сравнению с существующими, т.к. нитраты определяются непосредственно, без предварительного их восстановления из нитритов. Чувствительность метода – 0,016 мг/кг.

Методика выполнения работы

25 г измельченного продукта(овощи – на терке, зерновые–на кофемолке , мясные изделия – в мясорубке) помещают в колбу Эрленмейера на 250 мл с притертой пробкой , извлекают присутствующие токсические вещества 50-100 мл дистиллированной водой из овощей, зерновых (плюс 5 мл – концентрированной уксусной кислоты в случае мясных изделий) при взбалтывании на встряхивателе в течение 15 минут. Затем экстракт фильтруют через ватный фильтр и прибавляют к нему 25-50 мл суспензии гидроокиси алюминия. После 30-минутного контакта, когда осадок гидроокиси алюминия станет серого цвета, его отфильтровывают через беззольный складчатый фильтр (синяя, красная, желта лента), а в фильтрате определяют нитраты.

Для определения нитратов к 5 мл анализируемого раствора, помещенного в коническую колбу на 100 мл с притертой пробкой, прибавляют 5 мл толуола и 15 мл серной кислоты (3:1) . Раствор встряхивают в течении 5 минут в делительной воронке и после охлаждения до 20⁰С отделяют бесцветный органический слой и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при $\lambda = 284$ нм, в кювете $l = 1$ см против дистиллированной воды.

Содержание нитрата определяется по соответствующему калибровочному графику, для построения которого используется стандартный раствор нитрата калия.

При определении нитратов раствором сравнения служит дистиллированная вода. Содержание нитратов в пробе рассчитывают по формуле

$$X = \frac{A \cdot V \cdot 0,001 \cdot 1000}{m \cdot V_1},$$

где A - содержание определяемых веществ в мкг, рассчитываемое по калибровочному графику;

V - общий объем фильтрата, мл;

V_1 - анализируемый объем, мл;

$0,001$ - коэффициент пересчета мкг в мг;

1000 - коэффициент пересчета г в кг;

m - навеска продукта, г.

Регистрируемые показатели:

Общий объем фильтрата (V), мл; Анализируемый объем (V_1), мл; Масса навески (m), г;

Содержание нитратов в пробе (X), кг.

Лабораторная работа 23 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Кислотность – важный показатель качества пищевой продукции. Кислотность муки – показатель, свидетельствующий о ее свежести.

Она обусловлена присутствием белков, имеющих кислую реакцию, наличием свободных жирных кислот и различных соединений фосфорной кислоты. Кроме того, в муке в небольшом количестве содержатся такие органические кислоты, как яблочная, уксусная, молочная и др.

При хранении муки кислотность ее повышается, что связано в первую очередь с гидролитическими процессами, происходящими с высокомолекулярными соединениями муки. Так, содержащиеся в муке жиры расщепляются под действием фермента липазы на свободные жирные кислоты и глицерин, под действием протеолитических ферментов идет гидролиз белков с образованием аминокислот, а при распаде фосфатидов образуются кислые фосфаты. Хранение муки при повышенной температуре и влажности приводит к ускорению этих процессов из-за роста активности ферментов муки. Кроме того, неблагоприятные условия хранения муки активизируют жизнедеятельность бактерий, за счет чего в муке возрастает количество органических кислот.

Мука, полученная из проросшего, морозобойного, самосо-

гневшегося зерна, имеет более высокую кислотность.

Таким образом, мука с высокой кислотностью либо хранилась длительное время, либо хранилась в неблагоприятных условиях, либо получена из зерна с пониженными хлебопекарными свойствами.

Показатель кислотности хлеба характеризует качество хлеба с вкусовой и гигиенической стороны. По этому показателю можно судить и о правильности ведения технологического процесса приготовления хлеба, так как кислотность в основном обуславливается наличием в хлебе продуктов, получаемых в результате спиртового и молочнокислого брожения в тесте.

Титруемая кислотность характеризует общее количество свободных кислот и кислых солей. Она выражается в градусах. Под градусом кислотности понимают количество раствора гидроксида натрия или калия молярной концентрацией эквивалента 1 моль/л необходимых для нейтрализации кислот, содержащихся в 100 г муки или хлеба.

Для муки показатель кислотности не регламентируется соответствующими стандартами, поэтому пользуются ориентировочными данными. Кислотность муки зависит также от ее сорта. При одинаковой длительности и условиях хранения титруемая кислотность при снижении сортности муки повышается. Так, показатель титруемой кислотности по болтушке не должен превышать для пшеничной муки высшего сорта 3°, а для муки 1 и 2 сортов – 3,5-4,5°, для ржаной сеяной муки – 4°, для обдирной – 5°, обойной – 5,5°.

Согласно стандартам максимальная норма кислотности для отдельных сортов хлеба из ржаной муки колеблется в пределах 9-12°, а для хлеба из пшеничной муки – 2-6° (в зависимости от сорта хлеба).

Опыт 23.1. Определение титруемой кислотности муки по болтушке (ГОСТ 27493-87)

Испытуемый материал: мука

Реактивы и оборудование: раствор фенолфталеина массовой долей 3 % раствор гидроксида натрия молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³

Методика выполнения работы

Навеску муки массой 5 г переносят в сухую коническую пробирку вместимостью 100-150 см³ и приливают цилиндром 50 см³ дистиллированной воды. Содержимое колбы перемешивают до исчезновения комочков муки и добавляют три капли 3 %-ного раствора фенолфталеина. Затем болтушку титруют раствором гидроксида натрия молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³ до появления ясного розового окрашивания, не исчезающего при спокойном стоянии колбы в течение 20-30 с.

При исчезновении розового окрашивания по истечении указанного времени прибавляют еще 3-4 капли раствора фенолфталеина. Появление розового окрашивания свидетельствует об окончании титрования. В противном случае титрование продолжают.

Кислотность муки вычисляют по формуле

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot K}{m \cdot 10} = 2 \cdot V \cdot K$$

где X – кислотность муки, град;

V – объем затраченного на титрование раствора гидроксида натрия молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³, см³;

100 – коэффициент, приводящий к 100 г навески; K – поправочный коэффициент к раствору гидроксида натрия; m – масса навески муки, г;

10 – коэффициент пересчета раствора гидроксида натрия молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³ на 1 моль/дм³. Вычисление проводят с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми, не должно превышать для муки 0,2 градуса кислотности.

Выводы.

Опыт 23.2. Определение кислотности хлебобулочных изделий стандартным арбитражным методом (ГОСТ 5670-96)

Испытуемый материал: хлебобулочные изделия **Реактивы и оборудование:** раствор фенолфталеина массовой долей 3%, раствор гидроксида натрия молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³ Отвешивают 25 г измельченного мякиша. Навеску помещают в сухую бутылку (типа молочной) вместимостью 500 см³ с хорошо пригнанной пробкой.

Мерную колбу вместимостью 250 см³ наполняют до метки водой комнатной температуры. Около ¼ взятой воды переливают в бутылку с хлебом, который после этого быстро растирают деревянной лопаткой или стеклянной палочкой с резиновым наконечником до получения однородной массы, без заметных комочков нерастёртого хлеба .

К полученной смеси приливают из мерной колбы всю оставшуюся воду. Бутылку закрывают пробкой, смесь энергично встряхивают в течение 2 мин и оставляют в покое при комнатной температуре на 10 мин. Затем смесь снова энергично встряхивают в течение 2 мин и оставляют в покое на 8 мин.

По истечении 8 мин отстоявшийся жидкий слой осторожно сливают через частое сито или марлю в сухой стакан. Из стакана отбирают пипеткой по 50 см³ в две конические колбы вместимостью по 100-150 см³ и титруют раствором гидроксида натрия с 2-3 каплями фенолфталеина до получения слабо-розового окрашивания, не исчезающего при спокойном стоянии колбы в течение 1 мин.

Кислотность хлеба вычисляют по формуле

$$X = \frac{25 \cdot 50 \cdot 4 \cdot V \cdot K}{250 \cdot 10} = 2 \cdot V \cdot K$$

где X – кислотность хлебобулочного изделия, град; 25 – масса навески испытуемого продукта, г;

50 – объем испытуемого раствора, взятого для анализа, см³; 4 – коэффициент, приводящий к 100 г навески;

V – объем затраченного на титрование раствора гидроксида натрия молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³ ,

см³;

К – поправочный коэффициент к раствору гидроксида натрия;

250 – объем воды, взятый для извлечения кислот, см³;

10 – коэффициент пересчета раствора гидроксида натрия мольной

концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³ на 1 моль/дм³.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое двух параллельных титрований для одного фильтра, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,3 градуса.

Выводы.

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Какие изменения происходят при хранении овощей, фруктов, ягод?
2. Переработка овощей, фруктов, ягод.
3. Процессы, происходящие при хранении и переработке молочного сырья.
4. Какие изменения происходят при хранении мясного сырья?
5. Тепловая обработка мяса.
6. На что указывает высокая концентрация масляной кислоты в сливочном масле?
7. Как вы понимаете выражение «осахаривание крахмала»?
8. Факторы, влияющие на скорость реакции гидролиза углеводов?
9. На чём основано определение глюкозы в растворе?
10. Как реакция Майяра сказывается на качестве продуктов?
11. Дать определение карамелизации.
12. Что такое нитраты?
13. Почему говорят об опасности нитратов для людей?
14. Основные источники попадания нитратов в пищу?
15. На чём основаны методы обнаружения антибиотиков в молоке?
16. Чем обусловлена кислотность муки?
17. О чём свидетельствует показатель – кислотность М

Тема 9. ПИЩЕВЫЕ ДОБАВКИ

Цель работы: освоение методик определения нейтрализующих и консервирующих веществ в молоке, цветности сахарного колера, количества бензойной кислоты в пищевых продуктах.

Общие сведения

Пищевые добавки - это вещества природного происхождения или получаемые искусственным путем, использование которых необходимо для усовершенствования технологии, получения продуктов специализированного назначения (диетических, лечебных), сохранения требуемых или придания новых свойств, повышения стабильности и улучшения органолептических свойств пищевых продуктов.

К пищевым добавкам не относят соединения, повышающие пищевую ценность продуктов питания: витамины, микроэлементы, аминокислоты. Применение пищевых добавок допустимо в том случае, если они при длительном использовании не угрожают здоровью человека.

Введение пищевых добавок & пищевые продукты по своему технологическому назначению может быть направлено на:

- 1) улучшение внешнего вида и органолептических свойств пищевого продукта,
- 2) сохранение качества продукта в процессе его хранения;
- 3) ускорение сроков изготовления пищевых продуктов.

В соответствии с технологическим назначением пищевые добавки могут быть сгруппированы так:

1. Пищевые добавки, обеспечивающие необходимый внешний вид и органолептические свойства продукта, включающие в свою очередь:

- 1) Улучшители консистенции;
- 2) пищевые красители.
- 3) ароматизаторы;
- 4) вкусовые вещества

2. Пищевые добавки, предотвращающие микробную или окислительную порчу продуктов (консерванты):

- 1) антимикробные средства (химические, биологические).

2) антиокислители (антиоксиданты), препятствующие химической порче продукта (окислению).

3. Пищевые добавки, необходимые в технологическом процессе производства пищевых продуктов:

- 1) ускорители технологического процесса,
- 2) фиксаторы миоглобулина;
- 3) технологические пищевые добавки (разрыхлители теста, желеобразователи, пенообразователи, отбеливатели).

4. Улучшители качества пищевых продуктов (кислоты, регуляторы кислотности, пеногасители, антиокислители, наполнители, красители, эмульгаторы, стабилизаторы, подсластители загустители).

Улучшители консистенции - это вещества, изменяющие реологические свойства продуктов или консистенцию (загустители, желе-, студиеобразователи, пищевые ПАВ, стабилизаторы, разрыхлители) Многие эмульгаторы и стабилизаторы являются пищевыми компонентами или получены из растений, употребляемых в пищу, в связи с чем относительно безвредны для человека. Среди улучшителей консистенции необходимо отметить натуральные пищевые добавки; желатин, пектин, альгинат натрия,

агар и агароиды, растительные камеди и вещества, получаемые искусственно из природных объектов: метил целлюлоза, амиллопектин, крахмал.

Поверхностно-активные вещества - это вещества снижающие поверхностные натяжения. Это позволяет использовать их для получения тонкодисперсных и устойчивых коллоидных систем

Основные пищевые ПАВ - это производные одноатомных и многоатомных спиртов, моно- и дисахаридов, структурными компонентами которых являются остатки кислот различного строения. В качестве ПАВ применяют многокомпонентные смеси. Кроме смеси моно- и дисахаридов жирных кислот, фосфолипидов (лецитина) к группе ПАВ относят производные моноглицеридов, этерифицированные карбоновыми кислотами, эфиры полиглицерина, эфиры сахарозы, сорбита, производные высших спиртов, производные молочной кислоты.

Пищевые красители

Для придания пищевым продуктам и полуфабрикатам окраски используют природные (натуральные) и синтетические (органические и неорганические) красители. Из синтетических красителей в нашей стране разрешены к применению только два: индиго кармин (E132) и тартразин (E102). Все остальные синтетические красители (амарант E123, хлорофилл E140 и др.) запрещены в виде их канцерогенного действия на организм человека.

Натуральные красители представляют собой смесь каротиноидов, антоцианов, флавоноидов, хлорофилла, компонентов растений, наделённых пигментацией.

Ароматизаторы- это вещества, усиливающие вкус и аромат, который вносят в продукт с целью улучшения органолептических свойств. Природные Ароматизаторы выделяют из фруктов, растений в виде соков, эссенций или концентратов В качестве концентрата для 1 и 2 блюд используют глутамат натрия (ПДК 5 г/кг)

Антиокислители - вещества, которые замедляют окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов. Из природных антиоксидантов выделяют токоферолы, из синтетических - бутилксианизол

Консерванты- вещества, которые подавляют развитие микроорганизмов или убивают их. Наиболее широко используемые консервантами в настоящее время являются поваренная соль, этиловый спирт, уксусная, бензойная, сернистая, пропионовая, сорбиновая кислота и их соли, углекислый газ, низин, нитриты, нитраты. Формальдегиды и уротропин применяются ограниченно для консервирования икры лососевых рыб.

Антиокислители - вещества, которые замедляют окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов. Из природных антиоксидантов выделяют токоферолы, из синтетических – бутилксианизол. Консерванты- вещества, которые подавляют развитие микроорганизмов или убивают их. Наиболее широко используемые консервантами в настоящее время являются поваренная соль, этиловый спирт, уксусная, бензойная, сернистая, пропионовая, сорбиновая кислота и их соли, углекислый газ, низин, нитриты, нитраты. Формальдегиды и уротропин применяются ограниченно для консервирования икры лососевых рыб.

Лабораторная работа 24

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В МОЛОКЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ И КОНСЕРВИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Для обнаружения нейтрализующих и консервирующих веществ (сода, аммиака, пероксида водорода и формальдегида) применяют соответствующие разработанные методы, утверждённые стандартами. В основе методов определения лежат специфические реакции, позволяющие обнаружить присутствие нейтрализующих и консервирующих веществ по изменению цвета соответствующих реактивов, добавленных к молоку или молочной сыворотке.

Реактивы и оборудование

1. Водяная баня
2. Цилиндр вместимостью 25 см³
3. Пипетки вместимостью 1,2,5 см³
4. Стаканы вместимостью 50 см³
5. Контрольная проба с натуральным сырым молоком
6. Опытные пробы, содержащие нейтрализующие и консервирующие вещества (сода, аммиак, пероксид водорода, формальдегид)
7. Спиртовой раствор индикатора бромтимолого синего, 0,4%
8. Реактив Нesslerа (раствор ртути-иодида калия)
9. Раствор уксусной кислоты, 10%
10. Раствор серной кислоты (один объём кислоты с тремя частями воды)
11. Крахмальный раствор иодида калия (3 г крахмала растворяют в 20 см³ воды и приливают к 80 см³ кипящей воды. Добавляют 3 г иодида калия, растворённого в 10 см³ воды. Раствор хранить не более 5 суток)
12. Раствор кислот (к 100 см³ серной кислоты плотностью 1820- 1825 кг/м³ прибавляют каплю концентрированной азотной кислоты)

Опыт 24.1: Наличие соды

Методика выполнения работы:

Присутствие в молоке соды по ГОСТ 24065-80 определяют по изменению окраски индикатора бромтимолого синего, добавленного к молоку. Чувствительность метода составляет 0,05% соды.

В сухую пробирку наливают 5 см³ исследуемого молока

(опытная проба) и осторожно по стенке добавляют 8 капель раствора бромтимолого синего. Одновременно ставят опыт с контрольной пробой молока. Через 10 минут наблюдают за окраской кольца на границе слоев. Жёлтая окраска кольца свидетельствует об отсутствии в молоке соды, зелёная окраска говорит о наличии её следов или значительного количества.

Выводы.

Опыт 24.2: Наличие аммиака

Методика выполнения работы

Определяют по изменению цвета выделенной молочной сыворотки при её взаимодействии с реактивом Нesslerа (ГОСТ 24066-80) Чувствительность метода составляет 6-9 мг % аммиака.

В стаканы или колбу на 50 см³ отмеривают цилиндром 20 см³ исследуемого молока (одновременно ставят контрольный опыт) и нагревают на водяной бане до 35-45°C. В подогретое молоко для осаждения казеина вносят 1 см³ 10%-ного раствора уксусной кислоты и выдерживают пробу при этой температуре 10 мин. Из отстоявшегося слоя сыворотки пипеткой с ватой на конце отбирают 2 см³ и переносят в пробирку, куда добавляют 1 см³ реактива Нesslerа. Содержимое пробирки перемешивают и следят за окраской. В случае отсутствия аммиака смесь окрашивается в лимонно-желтый цвет, а при его наличии - в желто-оранжевый цвет.

Выводы.

Опыт 24.3: Наличие пероксида водорода

Методика выполнения работы

Определение основано на взаимодействии пероксида водорода с иодидом калия, в результате которого выделяется йод, дающий с крахмалом синее окрашивание (ГОСТ 24067-80).

В пробирку отмеривают 1 см³ исследуемого молока, добавляют две капли приготовленного раствора серной кислоты и 0,2 см³ (10 капель) крахмального раствора иодида калия. Через 10 мин. наблюдают за окраской раствора. Появление синего окрашивания свидетельствует о присутствии в молоке перекиси водорода.

Выводы.

Опыт 24.4: Наличие формальдегида

Методика выполнения работы

Присутствие в молоке формальдегида устанавливают по окраске кольца, образующегося после добавления молока к смеси серной и азотной кислот.

В пробирку наливают 3 см³ смеси кислот и осторожно по стенке наклонной пробирки приливают такое же количество исследуемого молока. При наличии формальдегида в молоке на границе соприкосновения двух жидкостей появляется кольцо фиолетового или темно-синего цвета, при его отсутствии кольцо имеет желтую или желто-бурую окраску.

Выводы.

Лабораторная работа 25 **АНАЛИЗ КОЛЕРА**

В пищевой промышленности широко используются пищевые добавки, в том числе пищевые красители.

Пищевые красители делятся на натуральные и синтетические. Натуральные красители содержатся в растительном или животном сырье, из которого выделяются и далее вносятся в сырье или готовый продукт.

Каротиноиды – пигменты растительного происхождения красно-желтого цвета, обеспечивающие окраску ряда жиров, овощей, фруктов, яичного желтка и других продуктов.

Хлорофилл – растительный пигмент зеленого цвета, придающий окраску многим овощам (не имеет разрешения к применению в пищевой промышленности в Российской Федерации).

Сахарный колер (карамель, жженка) – темно-окрашенный продукт карамелизации сахарозы. Карамелизация дисахаридов протекает при температуре 100 °С и выше. При отщеплении двух молекул воды от сахарозы образуется карамелан $C_{12}H_{18}O_9$ – растворимое в воде соединение желтого цвета, при отщеплении трех – карамелен $C_{36}H_{50}O_{25}$, имеющий ярко-коричневый цвет, затем – карамелин, трудно растворимое в воде соединение. Применяют сахарный колер для окраски напитков, кондитерских изделий, в кулинарии.

Энокраситель – продукт получаемый извлечением из темных сортов винограда или путем сгущения сока бузины. В кислой среде имеет красную окраску. При значении pH выше 7 единиц приобретает синий цвет.

Кармин – соединение красного цвета, получаемое из тропических насекомых (кошенили).

Индиго – краситель синего цвета.

Куркума – желтый краситель, получаемый из корней многолетних травянистых растений семейства Имбирных – *Curcuma longa*.

Алканин – красно-бордовый краситель, получаемый из корней *Alkannatinctoria* (не имеет разрешения к применению в пищевой промышленности в Российской Федерации).

Шафран – желтый краситель, получают из высушенных рылец цветков шафрана, растения семейства касатиковых.

Красители, получаемые из кизила, красной и черной смородины, клюквы, брусники, свеклы, пигменты чая.

Синтетические красители получают синтезом из органических веществ.

Индигокармин (динатриевая соль индигодисульфокислоты) – краситель синего цвета. Применяют в кондитерской промышленности, при производстве сахара-рафинада.

Тартразин Ф (натриевая соль азокрасителя) – сообщает продукту оранжево-желтую окраску. Используют в кондитерской промышленности, при производстве напитков.

Ультрамарин – краситель синего цвета.

Орлеан – придает готовому продукту желтую окраску.

Амарант – краситель красного цвета (запрещен к применению в пищевой промышленности в Российской Федерации).

Реактивы и оборудование: весы квадрантные, рефрактометр, химические стаканы, цилиндры, пипетки, йод 0,1М.

Испытуемый материал – сахарный колер.

Опыт 25.1: Определение экстрактивных веществ

Методика выполнения работы

Несколько капель колера помещают между осветительной и измерительной призмами рефрактометра, при этом палочка не должна касаться призм. После этого перемещают окуляр прорези, пока граница света и тени не совместится с пунктирной линией. На правой шкале прибора отмечают деление, через которое проходит граница светотени. Сразу же после определения поверхность призм вытирают фильтровальной бумагой, а затем промывают дистиллированной водой.

Выводы.

Опыт 25.2. Определение цветности

Методика выполнения работы

Образец колера (около 1 г) растворяют в 99 см³ дистиллированной воды. 50 см³ полученного раствора вносят в цилиндр или колориметрический стакан. 47-48 см³ дистиллированной воды наливают в другой цилиндр или колориметрический стакан, добавляют по каплям при помощи градуированной пипетки емкостью 1 см³ при постоянном перемешивании раствор йода до выравнивания цвета в обоих сосудах.

Цветность колера определяют по формуле:

$$Ц = 2 \cdot A,$$

где Ц – цветность колера, см³ 0,1 моль /дм³ раствора I₂;

A – объем затраченного на титрование раствора йода молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/дм³; см³.

Выводы.

Лабораторная работа 26

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

Сущность метода определения бензойной кислоты и бензоата натрия сводится к приготовлению водной вытяжки из исследуемого продукта, осаждению из нее белковых веществ, экстракции бензойной кислоты из водной вытяжки хлороформом с последующим титрованием.

Реактивы и оборудование: мерные колбы на 250 мл, химические стаканы, воронки, фарфоровые чашки для выпаривания, фильтры, делительные воронки, водяная баня, лакмус, фенолфталеин, 10% NaOH, 10% NaCl, хлороформ, спирт, ZnSO₄, K₄[Fe(CN)₆]

Испытуемый материал: молочные, мясные, зерновые, овощные продукты

Методика выполнения работы

Для проведения анализа готовят водную вытяжку в мерной колбе на 250 мл из навески продукта массой 20–50 г (если продукт твердый его измельчают). Добавляют по каплям 10%-ный раствор

NaOH до щелочной среды (проба по лакмусовой бумаге). Для осаждения белковых веществ прибавляют 5–10 мл $K_4[Fe(CN)_6]$ и 5–10 мл $ZnSO_4$. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой, энергично перемешивают и через 5 мин фильтруют. Затем 100 мл фильтрата помещают в делительную воронку, нейтрализуют 10%-ным раствором HCl до нейтральной реакции, после чего добавляют еще 5 мл HCl. Бензойную кислоту экстрагируют 4 раза хлороформом по 40–50 мл; продолжительность каждой экстракции 15–20 минут.

Взбалтывание проводят круговыми вращательными движениями через каждые 5 мин. После каждой экстракции хлороформенные вытяжки собирают в одну колбу и затем отгоняют $\frac{3}{4}$ объема хлороформа на водяной бане при $65^\circ C$, после чего остаток вытяжки переносят в фарфоровую чашку и выпаривают досуха при температуре $40–50^\circ C$. При попадании в вытяжку водного слоя, необходимо хлороформенный слой промыть дистиллированной водой 2 раза по 5 мл.

Остаток бензойной кислоты в чашке растворяют в 30–50 мл спирта (нейтрализованного по фенолфталеину), прибавляют 10 мл дистиллированной воды, 2–3 капли фенолфталеина и титруют 0,05 моль/дм³ раствором NaOH. 1 мл раствора NaOH соответствует 0,0061 г бензойной кислоты и ли 0,0071 г бензоата натрия.

Массовая доля бензойной кислоты X (в %):

$$X = \frac{100 \times V \times C \times M \times V_1}{1000 \times V_2 \times m},$$

где V – объем NaOH, израсходованный на титрование, мл;
 C – молярная концентрация раствора NaOH, моль/дм³;
 M – молекулярная масса бензойной кислоты, г/моль;
 V_1 – общий объем приготовленного раствора, мл;
 V_2 – объем фильтрата, взятый для экстракции хлороформом, мл;
 m – масса навески продукта, г.

Выводы.

Контрольные вопросы для самоподготовки.

1. Какие вещества называются пищевыми добавками?
2. Классификация пищевых добавок в соответствии с технологическим назначением.
3. Характеристика улучшителей консистенции.
4. Характеристика ПАВ.
5. Характеристика пищевых красителей.
6. Характеристика ароматизаторов.
7. Характеристика антиокислителей.
8. Характеристика консервантов.
9. Понятие «пищевые добавки».
10. Цель введения консервантов в пищевые продукты.
11. Положительные и отрицательные стороны использования пищевой добавки.
12. Опасность отдалённых последствий при использовании пищевой добавки.
13. Сахарозаменители. Требования, предъявляемые к ним.
14. Приведите примеры природных антиокислителей.
15. Приведите примеры пищевых добавок, ускоряющих технологические процессы.
16. Пищевые добавки, запрещённые в России.
17. Роль БАД в питании.

**Вопросы к коллоквиуму №5
по теме «Пищевые добавки»**

1. Пищевые добавки. Структура и классификация.
2. Вещества, улучшающие внешний вид, консистенцию, аромат, вкус пищевых продуктов.
3. Пищевые добавки – консерванты, антиоксиданты, пищевые кислоты.
4. Белковые препараты растительного и животного происхождения.
5. Химическая структура, механизм действия.
6. Применение в пищевой промышленности.

Тема 10.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Цель работы: ознакомление с методиками определения отдельных метаболитов в продуктах питания и степени перевариваемости пищевых белков.

Общие сведения

Обмен веществ (метаболизм) - превращение веществ в организме с момента поступления их в клетки до образования конечных продуктов обмена, т.е. совокупность химических реакций, протекающих в живых клетках и обеспечивающих организм веществами и *энергией* для его жизнедеятельности, роста, размножения. Обмен веществ - существенный и неперенный признак жизни. Различают две стороны обмена веществ - анаболизм (ассимиляция) и катаболизм (диссимиляция).

Анаболические процессы - направлены на образование и обновление Т. структурных элементов клеток и тканей и заключается в синтезе сложных молекул из более простых, сопровождаются затратой энергии,

Катаболические превращения - это расщепление сложных молекул, как поступавших с пищей, так и входящих в состав клетки, до простых компонентов: эти процессы окислительные и сопровождаются *выделением* энергии. Обе стороны метаболизма тесно связаны, обмен веществ тесно связан с обменом энергии. В результате метаболизма образуются разнообразные общие метаболиты, в том числе ацетилКоА, ПВК, молочная кислота, при патологиях – кетоны и т.д.

Питание – составная часть обмена веществ, поскольку основным энергетическим источником для человека является энергия, запасённая в химических связях пищевых продуктов: углеводов, белков и жиров.

В 80-ые годы 20 века академиком А.М. Уголевым была сформирована теория рационального (адекватного) питания.

Теория адекватного питания формирует основные принципы рационального питания. Их три:

1. Баланс энергии, поступающей с пищей, и энергии, расходу-

емой в процессах жизнедеятельности.

2. Удовлетворение потребности организма в оптимальном количестве и соотношении пищевых веществ.

3. Режим питания, подразумевающий соблюдение определённого времени и числа приёмов пищи, а также рационального распределения пищи при каждом её приёме.

В соответствии со вторым принципом должно быть обеспечено удовлетворение потребности организма в основных пищевых веществах и источниках энергии (белки, жиры, углеводы, незаменимые аминокислоты, незаменимые жирные кислоты, витамины, минеральные вещества), то есть в состав рациона должно входить 5 классов питательных веществ, каждый из которых выполняет свою функцию.

Лабораторная работа 27 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МЕТАБОЛИТОВ** **В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ**

Опыт 27.1 Фотокolorиметрическое определение молочной кислоты по Холлину и Ноблу в мышцах(мясе), печени, почках

Молочная кислота (лактат) – конечный продукт анаэробного распада глюкозы в тканях (гликолиз), образуется в мясе в послеубойный период и обуславливает нежную консистенцию мяса после его созревания.

Реактивы и оборудование:

1. ФЭК
2. Центрифуга
3. Цилиндр на 100, 250 мл
4. Мерные колбы на 50, 250 мл
5. Пробирки.
6. Ступка, пестик
7. Трихлоруксусная кислота (ТХУ), 10%
8. Сульфат меди 20%
9. Дистиллированная вода
10. Продукты мышечная ткань, печень, почки

Методика выполнения работы

В ступке растворить 2-4 г *измельченной мышечной ткани* (печень, почки) с 10мл 10%-ной *трихлоруксусной кислоты* в течение 10 мин. Образовавшуюся суспензию перенести в *мерную колбу* на 50 мл, добавить 20 мл 10%-ной трихлоруксусной кислоты и несколько миллилитров дистиллированной воды.

Колбу оставить 10 мин. при комнатной температуре, *встряхивая* ее через каждые 10 минут, затем довести дистиллированной водой до метки,

закрывать пробкой, хорошо перемешать и отцентрифугировать в течение 10- 15 минут, при 2500-3000 об/мин. Центрифугат слить в сухую колбу, отобрать 25 мл прозрачной жидкости и развести ее в 4 раза дистиллированной водой.

Для осаждения углеводов к 2 мл разбавленного центрифугата прибавить 1мл 20 %-ного раствора сульфата меди

Объем довести до 10 мл, перенести в мерную колбу на 25 мл и довести дистиллированной водой до метки.

В 1 мл такого раствора содержится 0,002 мл молочной кислоты. Взять из него 1,2,3,4,5 мл и перенести в четыре пробирки и добавить до 10 мл (то есть 9,8,7,6,5, мл H₂O). Количество молочной кислоты в каждой из этих проб будет 20,60,80,100 мкг.

Измерить оптическую плотность стандартных растворов и построить калибровочную кривую. В качестве «спелой» пробы использовать дистиллированную воду. Рассчитать количество молочной кислоты в опытной пробе. Опыт пробы: 7 мл сыворотки + 3 мл CCl₃COOH. Отцентрифугировать.

Выводы.

Оыт27.2 Определение кетоновых тел в молоке

Кетоновые тела (ацетон, β-оксимасляная и ацетоуксусная кислота) являются метаболитами распада липидов в тканях.

Реактивы и оборудование:

1. Стеклянные палочки
2. Предметные стекла
3. Капсулаторки

4. Пипетки
5. NaOH
6. Нитропруссид натрия, 10%
7. Смесь 1,5г нитропруссид натрия, 50 г сернокислого аммония, 25 г безводного углекислого натрия - эти реактивы растереть в тонкий порошок и хранить в темной склянке.
8. Дистиллированная вода
9. Молоко

Методика выполнения работы
Качественная реакция определения
кетоновых тел в молоке

На предметное стекло наносят 0,1-0,2 г свежеприготовленного порошка (смесь), затем прибавляют 2-3 капли молока и выдерживают 5 минут. Появление розово-фиолетовой окраски указывает на положительный результат. В этом случае уровень кетоновых тел составляет 10 мг%. Если интенсивное фиолетовое окрашивание смеси возникает немедленно, это свидетельствует о наличии в пробе 50-80 мг% и более кетоновых тел. При появлении интенсивной фиолетовой окраски через 1 минуту в пробе содержится 30-50 мг% кетоновых тел, слабая окраска после 3 минут - 10-30 мг% кетоновых тел.

Выводы.

Полуколичественное определение кетоновых тел в молоке.

После качественного определения кетоновых тел в молоке и получения ориентированных данных о концентрации кетоновых тел, молоко разводят дистиллированной водой. При содержании 30-50 мг% кетоновых тел делают разведение: 1:3; 1:4; 1:5 и 1:6. В пробе с наибольшим разведением, дающим положительную реакцию, содержится 10 мг% кетоновых тел.

Умножая результат на разведение молока получим содержание кетоновых тел в неразведённой форме.

Например: получена положительная реакция при разведении молока 1:5 и отрицательная при разведении 1:6, следовательно, 10 мг% умножаем на 5 ($10 \times 5 = 50$) - 50 мг % кетоновых тел в исследуемой пробе молока.

Выводы.

Лабораторная работа 28

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ПЕРЕВАРИВАЕМОСТИ БЕЛКОВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Скорость переваривания белков в желудочно-кишечном тракте или атакуемость их протеолитическими ферментами является одним из основных показателей, определяющих биологическую и пищевую ценность белков пищи.

Особенность данного метода заключается в том, что действие протеина из желудочно-кишечного тракта осуществляется *invitro* в приборе, позволяющем проводить гидролиз в условиях непрерывного перемешивания среды и удаления низкомолекулярных продуктов белка через полупроницаемую мембрану. Скорость проникновения белка определяется по накоплению продуктов гидролиза в диализатах. Содержание продуктов гидролиза определяют по методу Лоури.

Реактивы и оборудование:

1. Прибор для переваривания белков
2. Ультратермостат
3. Фотоэлектроколориметр ФЭК-56М
4. Пепсин кристаллический
5. Трипсин кристаллический
6. Глициновый буфер рН 2,2: 3,75 г глицина и 3 мл концентрированной соляной кислоты растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до литра
7. Глициновый буфер рН 8,4: 3,75 г глицина, 2,9 г хлорида натрия и 25мл раствора NaOH растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 литра
8. NaOH - 2 н.раствор
9. NaOH-0,2 н.раствор
10. Реактив Фолина (разведение 1:2)
- 11.11 Пищевые продукты (мясо, яйцо)

Методика выполнения работы.

В специальном приборе (рис.4), состоящем из двух стаканов, внутреннего и внешнего, разделенных полупроницаемой мембраной, проводят переваривание белковых веществ ферментами пищеварительного тракта: пепсином и трипсином. Стакан (1) имеет ру-

башку, которая заполняется водой, поступающей из термостата с температурой 37°C . Дно внутреннего стакана (2) представляет собой полупроницаемую мембрану (3). Стакан (2) снабжен мешалкой (4).

0,5 г измельченного продукта (мясо сырое и вареное, яйцо, колбаса) тщательно растирают в ступке с небольшим количеством глицинового буферного раствора с pH 2,2 (общий объем буфера 15 мл), количественно переносят во внутренний стакан, используя для смыва оставшийся буфер. В наружный стакан помещают глициновый буфер в таком количестве, чтобы уровень жидкости в обоих стаканах был одинаковым; прибор подключают к водяному термостату и после выравнивания температур во внутренний стакан вносят 15 мг пепсина.

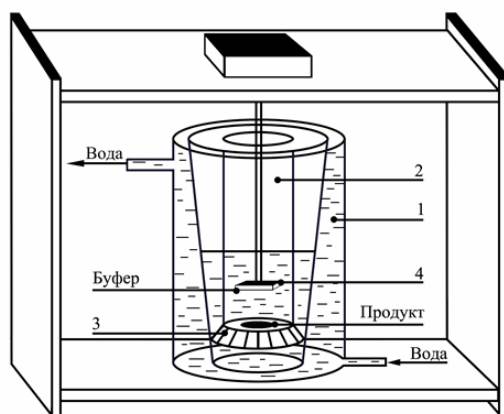


Рис. 4. Установка для переваривания белков: 1 – стакан внешний; 2 – стакан внутренний; 3 – полупроницаемая мембрана (ПМ); 4 – мешалка

Через каждые 20 мин в течение часа из внешнего стакана отбирают по 2 мл жидкости. Определение прироста продуктов гидролиза проводят по аминокислоте тирозину, которая дает с реактивом Фолина синее окрашивание. Для этого в каждую пробирку добавляют по 4 мл 0,5 н. NaOH и по 1 мл реактива Фолина. После перемешивания и 10-минутной выдержки определяют оптическую плотность на фотоэлектроколориметре при $\lambda = 630$ нм (светофильтр №8) против контрольного раствора в кювете с рабочей длиной 10 мл.

Для приготовления контрольного раствора к 2 мл дистиллированной воды добавляют 4 мл 0,5 н. NaOH и по 1 мл реактива Фолина.

По градуировочному графику (рис. 5) находят концентрацию тирозина в мкг/мл.

Через 1 час производят замену буферных растворов в приборе.

Для этого пробу во внутреннем стакане нейтрализуют добавлением 2 н раствора едкого натра. Затем добавляют 0,2 н раствор едкого натра до щелочной реакции среды, близкой к оптимальной для проявления действия трипсина. Во внутренний стакан после удаления кислого буферного раствора добавляют щелочной буферный раствор с рН 8,4 так, чтобы уровень жидкости в стаканах был одинаковым. После выравнивания температуры вносят 15 мг трипсина во внутренний стакан. Пробы отбирают также и с тем же интервалом, как и при работе с пепсином. К пробам, полученным в результате переваривания промежуточных продуктов белка трипсином, добавляют в каждую из пробирок по 4 мл 0,5 н NaOH и по 1 мл реактива Фолина. После перемешивания и 10- минутного выдерживания также, как и в первом случае, определяют величину оптической плотности и концентрации тирозина.

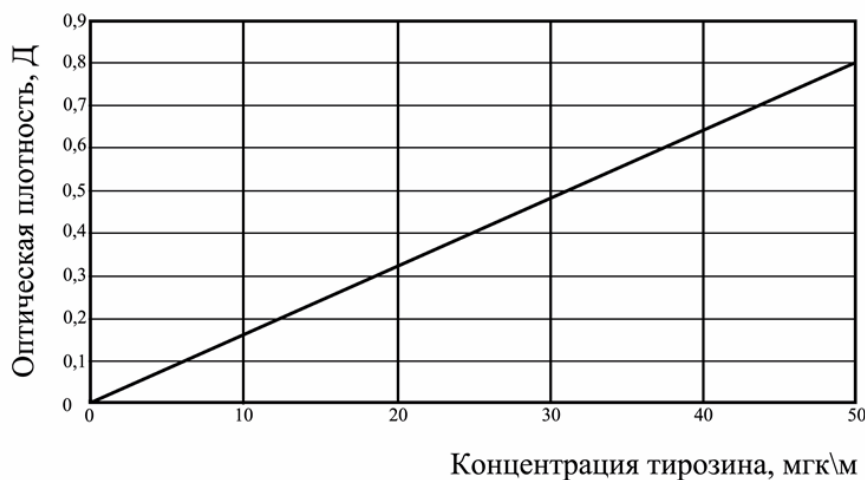


Рис. 5. Градуировочный график для определения тирозина

Результаты работы представляют в виде графика, в котором по оси ординат откладывают концентрацию тирозина в пробах в мкг/мл, а по оси абсцисс — время отбора проб, мин.

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. Что такое метаболизм?
2. В чём суть анаболических и катаболических процессов?
3. Что объединяет обмен углеводов, липидов и жиров?
4. Что образуется в результате метаболизма?
5. Основные принципы рационального питания.
6. Основные 5 классов питательных веществ.
7. Показателем какого качества пищевых белков является скорость их переваривания.

Вопросы к коллоквиуму №6
по теме «Биохимические основы рационального питания»

1. Пища – социальная и экономическая проблема общества.
2. Понятия: пища, пищевые продукты, пищевая, биологическая, энергетическая ценность
3. Пищевое сырьё, пищевые вещества, формула сбалансированного питания
4. Пищевые продукты растительного происхождения
5. Процессы, протекающие при хранении пищевого сырья и пищевых продуктов.
6. Макронутриенты и микронутриенты как классы пищевых веществ.
7. Питание как составная часть процесса формирования здорового образа жизни.
8. Источники и формы пищи.
9. Натуральные, комбинированные и искусственные продукты
10. Основные пищеварительные процессы. Строение пищеварительной системы.
11. Процессы переваривания макронутриентов. Метаболизм макронутриентов. Роль пищевых волокон.
12. Роль печени и поджелудочной железы в пищеварении.

Тема 11.

РАСЧЁТНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ ПРОДУКТОВ

Цель работы: ознакомление с методикой оценки биологической ценности белков.

Общие сведения

В основу определения «пищевая ценность» продуктов положено учение о сбалансированном питании. Пищевая ценность продуктов тем выше, чем в большей степени они удовлетворяют потребности организма в пищевых веществах или чем в большей степени их химический состав соответствует формуле сбалансированного питания. Пищевая ценность продукта может быть выражена методом интегрального сора. В основу расчета этого показателя положено определение процента соответствия каждого из наиболее важных компонентов пищевых продуктов формуле сбалансированного питания.

Интегральный скор продуктов питания может быть обозначен термином «формула пищевой ценности продукта» и выражен как в весовых, так и в энергетических единицах.

Метод интегрального сора способствует выявлению преимуществ и недостатков как традиционных. Так и специализированных продуктов питания.

Термин «пищевая ценность» отражает всю полноту полезных качеств продукта, связанных с оценкой содержаний в нем широкого перечня пищевых веществ. Термин «биологическая» и «энергетическая» ценность являются более частными.

Биологическая ценность белков, жиров и углеводов связана как с их химическим составом, так и с переваримостью в желудочно-кишечном тракте. Показатели биологической ценности могут существенно меняться как при жестких методах технологической обработке, приводящей к изменению структуры самих молекул и взаимодействию их с другими веществами, так и в процессе длительного хранения продуктов

Термин «энергетическая ценность» характеризует ту долю энергии, которая может высвободиться из пищевых веществ в процессе биологического окисления и использоваться для обеспечения физиологических функций организма.

Лабораторная работа 29

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ БЕЛКОВ

Опыт 29.1 Определение биологической ценности белков по расчётному показателю КЭБ

Биологическая ценность белка определяется присутствием в оптимальных соотношениях всех аминокислот, в особенности незаменимых. Если белок не содержит в достаточном количестве хотя бы одной незаменимой аминокислоты, то такой блок считается неполноценным в питательном отношении, т.к. он не может обеспечить нормальный белковый обмен организма человека.

Аминокислотный состав белков меняется в широких пределах. Особенно значительны эти различия у белков растительного и животного происхождения. Белки растительного происхождения бедны лизином, серосодержащими аминокислотами, треонином, триптофаном.

Аминокислотный состав животных белков близок к аминокислотному составу белков человека. Они содержат достаточное количество незаменимых аминокислот и, поэтому, являются полноценными белками.

Для определения биологической ценности белков разработаны химические и биологические методы.

Биологическими методами целесообразно оценивать готовые белковые продукты, при этом учитывается биологическая ценность суммарных белков, входящих в продукт.

Все возрастающая тенденция использования новых источников белка на пищевые цели ставит задачу быстрого определения биологической ценности отдельных белков при многовариантном планировании белковых смесей, не прибегая к эксперименту на животных. В этих случаях чаще всего используют химический метод аминокислотных шкал или химических скоров.

Он основан на сравнении аминокислотного состава изучаемого белка с аминокислотным составом эталонного образца (белок ФАО) или высококачественного белка яйца, молока.

Биологическая ценность испытуемого белка определяется по первой лимитирующей аминокислоте. В эталонном белке химический скор каждой из 8 незаменимых аминокислот принимается за

100%.

Метод химических скоров дает возможность в первом приближении установить вероятную эффективность утилизации исследуемого белка или белкового продукта. Однако этот метод предполагает 100%-ную усвояемость каждой незаменимой аминокислоты. Но доступность аминокислот для усвоения зависит от многих факторов и, прежде всего, от степени их высвобождения из белков в пищеварительном тракте.

Таким образом, степень утилизации белка организмом зависит от соотношения содержания в нем аминокислот, в первую очередь, незаменимых, и от степени их высвобождения из белка (перевариваемость).

Степень утилизации белков биологическими методами при тех-

нологических исследованиях обычно определяют ростовым методом по коэффициенту эффективности белка (КЭБ или PER). Сравнение производят со стандартным белком, в качестве которого применяют казеин. КЭБ казеина равен 2,5.

Хсю с соавторами предложил расчетный метод определения КЭБ, объединив этапы расчета аминокислотных чисел (химических скоров) и степень перевариваемости белков. Хсю исходит из того, что на биологическую ценность белка влияет только недостаток той или иной незаменимой аминокислоты, поэтому вводят поправочные

коэффициенты на те незаменимые аминокислоты, химический скор которых меньше 100. Но хорошо известно, что чрезмерный избыток любой незаменимой аминокислоты приводит также к понижению биологической ценности белка в целом. В полноценных белках молока, мяса, яиц максимальные значения химических скоров не превышают 150, в то же время белки из новых источников, вовлекаемых в пищу, могут характеризоваться значительным дисбалансом аминокислот. В связи с этим мы предлагаем модификацию расчетного метода определения КЭБ, учитывающую введение поправочных коэффициентов и для тех незаменимых аминокислот, химический скор которых превышает 150.

Определение степени переваривания белков ускоренным методом

Степень переваривания белков (СПБ) характеризует скорость атакуемости белков ферментами желудочно-кишечного тракта – *пепсином* и *трипсином*. В эксперименте моделируются условия пищеварительного тракта. Классической является методика определения перевариваемости по Покровскому и Ертанову. Существует и ускоренный метод определения СПБ.

Степень переваривания белка выражают как отношение белка переваренного к общему содержанию белка в продукте:

$$\text{СПБ}\% = \frac{B_{\text{перев}}}{B_{\text{общ}}} \cdot 100 \quad (1)$$

Известно, что содержание белка определяется через содержание в нем азота, тогда формула (1) примет вид:

$$\text{СПБ}\% = \frac{N_{\text{перев}}}{N_{\text{общ}}} \cdot 100 \quad (2)$$

Содержание азота переваренной части белка определяем как разницу между $N_{\text{общ}}$ и азотом в остаточной, непереваренной части белка, т.е.

$$\text{СПБ}\% = \frac{N_{\text{общ}} - N_{\text{ост}}}{N_{\text{общ}}} \cdot 100$$

Определение азота общего и азота непереваренного белка проводим ускоренным методом по Джаромилло. Сущность этого метода состоит в том, что навеску сырого вещества минерализуют в специальной металлической гильзе при нагревании со смесью уксуснокислого и едкого натра. Выделяющийся при этом аммиак количественно (в закрытой системе) поглощается 0,1 н раствором серной кислоты.

Определение общего азота

Методика выполнения работы

Навеску 0,1 г тщательно гомогенизированной пробы помещают в гильзу из алюминиевой фольги или ручки (пишущей). При взятии навески необходимо соединить жидкую и плотную части и тщательно перемешать. На навеску в гильзу насыпают 45 мг пепсина, 15 мг трипсина, 3 г уксуснокислого натрия и 1,5 г порошкообразного едкого натра. Фольговую гильзу закрывают и опускают в специальную сухую латунную гильзу, завинчивают герметично крышкой. Гильза имеет отводную трубку, к которой присоединяют стеклянную трубку с расширением.

Конец трубки помещают в химический стакан, в который предварительно наливают 15 мл 0,1 н нормального раствора серной кислоты и добавляют (4–5) капель смешанного индикатора. Содержимое приобретает фиолетовую окраску. После латунную гильзу помещают на электроплитку.

Процесс минерализации продолжается 1,5 часа. Поглотительный раствор серной кислоты несколько мутнеет, т.к. в него выделяются газы в результате минерализации белка. Сжигание считается законченным тогда, когда пузырьки газа перестанут выделяться из трубки. Систему разъединяют, стеклянную трубку промывают водой, собирая промывные воды в тот же приемник. Содержимое титруют 0,1 н раствором едкого натра до момента перехода фиолетового цвета раствора в зеленый.

Расчет по формуле:

$$N = \frac{(A - a) \cdot 1,4}{H \cdot 1000} \cdot 100\%$$

где N – количество азота в граммах на 100 г продукта;

A – объем 0,1 н. раствора H_2SO_4 , взятого для поглощения аммиака, мл;

a – количество 0,1 н $NaOH$, израсходованного на титрование оставшейся 0,1 н. H_2SO_4 , мл;

1,4 – коэффициент пересчета на азот;

H – навеска, взятая для анализа, г.

Определение азота непереваренного

Техника выполнения. Берут в пробирку 0,1 г тщательно гомогенизированного продукта, добавляют 7,5 мл 0,1 н HCl и 45 мг кристаллического пепсина. Помещают в термостат при температуре 37°C и инкубируют 1 час при постоянном легком встряхивании. Затем к содержимому приливают 7,5 мл 20% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и центрифугируют, надосадочную жидкость сливают, а осадок разводят в 5 мл фосфатного буфера (pH = 8), добавляют 15 мг кристаллического трипсина и вновь ставят в термостат при тех же условиях на 6 ч. Затем осаждают непереваренные белки равным объемом 20% ТХУ, содержимое пробы центрифугируют и в осадке определяют содержание непереваренного азота методом Джаромилло, описанного выше для анализа общего азота, при этом в гильзу для сжигания не вносят ферменты пепсин и трипсин.

Расчет КЭБ

Этап 1. Содержание незаменимых аминокислот в исследуемом белке вносим в табл. 9.

Таблица 9

Аминокислоты	Содержание в г 100 г белка	
	Белок ФАО	Исследуем. белок
Лизин	5,5	
Треонин	4,0	
Метионин-цистеин	3,5	
Валин	5,0	
Изолейцин	4,0	
Лейцин	7,0	
Тирозин-фенилаланин	6,0	
Триптофан	1,0	

Этап 2. Устанавливают химический скор каждой незаменимой аминокислоты (НАК) с учетом степени переваривания белка:

$$\text{НАК} = \frac{\text{содержание НАК в исслед образце, г}}{\text{содержание НАК в эталонном образце, ФАО}} \cdot X$$

где X – степень перевариваемости, %.

Данные представляют в таблице 10.

Таблица 10

Аминокислоты	НАК, % для исследуем образца

Придают вес каждому значению НАК %, пользуясь приведенной ниже табл. 11 коэффициентов (y).

Таблица 11

НАК, %	Коэффициент (y)	НАК, %
100	1	100-150
99-91	2	151-200
90-81	2,83	201-250
80-71	4	251-300
70-61	5,66	301-350
60-51	8	350
50-41	11,31	
40-31	16	
30-21	22,63	
20-11	32	
10-0	45-25	

Этап 3. По данным табл. 10 и 11 устанавливают «вес» для каждого значения сора и сумму веса « y ». Данные представляют таблице 12

Таблица 12

Аминокислоты	«Вес» НАК, %

Этап 4. Вычисляют «ассоциируемый вес» и находят его сумму « x ». Ассоциируемый вес:

- для НАК от 100 до 150% равен 0,01;
- НАК 100% ассоциируемый вес равен $(1/\text{НАК } \%)y$;
- НАК 150% ассоциируемый вес равен $(y^2/\text{НАК } \%)$, где y – коэффициент пересчета (из табл. 2.3).

Этап 5. Находят отношение суммы веса « y » к сумме ассоциируемого веса « x » для исследуемых образцов.

Этап 6. Вычисляют отношение счета НАК исследуемого образца к казеиновому стандарту:

$$ОКС = \frac{\text{счёт НАК образца}}{\text{счёт НАК казеинового стандарта}} \cdot X$$

Этап 7. Расчет КЭБ ведут по формуле:

$$КЭБ_r = -2,1074 + 7,1312 \cdot (ОКС) - 2,5188 \cdot (ОКС)^2$$

Примечание: модель расчета предназначена для белков, КЭБ которых лежит в диапазоне 0,67–3,22.

Пример расчета КЭБ.

Задание: вычислить $КЭБ_{расч}$ белкового образца, имеющего степень переваривания 72,1% и следующее содержание незаменимых аминокислот в г/100 г белка.

Этап 1 задан.

Этап 2. Находим табличные данные содержания незаменимых аминокислот в образце ФАО/ВОЗ. Рассчитываем НАК% для каждой незаменимой аминокислоты.

Например:

НАК% лизина = $(8,6/5,5) \times 72,15 = 112,5$. Все полученные значения сводим в табл. 12

Этап 3. Придаем «вес» каждому значению НАК%, пользуясь таблицей 11 и находим сумму весов «у».

Этап 4. Вычисляем ассоциируемый вес и находим его сумму «х».

Этап 5. Счет НАК = $(17,49/0,2318) = 75,45$.

Этап 6. Для определения счета НАК казеинового стандарта пользуемся литературными данными аминокислотного состава и перевариваемости. Степень переваривания казеина равна 90,03%. Исходя из содержания аминокислот, рассчитываем требуемые па-

раметры для казеина (табл. 14).

$$\text{Этап 7. КЭБр} = -2,1074 + 7,1312 \times 0,8802 - 2,5188 \times 0,8802 = 1,95$$

Ответ: Коэффициент эффективности исследуемого белкового продукта составил 1,95 или 77,6% по сравнению со стандартным образцом, т.е. усваивается организмом хуже казеина.

По результатам проведенных исследований и соответствующих расчетов сделать выводы.

Таблица 13

Аминокислоты	Содержание а/к г/100г бел-ка+АО/ВОЗ	Содержание а/к в образце г/100г	НАК %	«Вес» (y)	Ассоциир. вес (x)
Лизин	5,5	8,6	112,5	1	0,01
Треонин	4,0	7,2	62,0	5,66	(1:62)-5,66
Метионин-цистин	3,5	3,0	129,8	1	0,01
Валин	5,0	7,1	74,3	4	(1:74,3)+4
Изолейцин	4,0	4,1	125,5	1	0,01
Лейцин	7,0	12,2	103,2	1	0,01
Тирозин-фенилаланин	6,0	9,6	115,4	1	0,01
Триптофан	1,0	3,0	216,5	2,83	2,83+216,5

Таблица 14

Аминокислоты	г/100г белка	НАК %	Вес (Y)	Ассоциируемый вес (X)
Лизин	7,51	123,2	1	0,01
Треонин	3,43	77,0	4	(1:77)*4
Метионин-цистеин	2,96	76,0	4	(1:76)*4
Валин	5,42	98,0	2	(1:98)*2
Изолейцин	5,01	113,0	1	0,01
Лейцин	9,20	118,0	1	0,01
Тирозин-фенилаланин	9,81	145,0	1	0,01
Триптофан	1,21	113,0	1	0,01

$$Y=15,0x=0,1750$$

$$\text{Счёт НАКказ} = 15,0/0,175 = 88,72$$

$$\text{ОКС} = 75,45/88,72 = 0,8802$$

Опыт 29.2 Определение биологической ценности белковых продуктов (химический скор)

Методика выполнения работы

Для выражения биологической ценности белковых продуктов используется метод, основанный на сравнении аминокислотного состава исследуемого продукта с идеальными шкалами аминокислот, например, метод аминокислотного скор.

В 1973 году объединённый экспертный комитет ФАО/ ВОЗ для определения аминокислотного сора предложил стандартную шкалу аминокислот, отвечающую современным представлениям о потребностях человека в аминокислотах (табл. 15)

Таблица 15

**Аминокислотная шкала, рекомендованная комитетом ФАО/ВОЗ
для расчёта аминокислотного сора**

Аминокислоты	Г на 100 г белка	Мг на 1 г белка
Изолейцин	4,2	42
Лейцин	4,8	48
Лизин	4,2	42
Метионин	2,2	22
Метионин+Цистеин	4,2	42
Фенилаланин	2,8	28
Треонин	2,8	28
Триптофан	1,4	14
Валин	4,2	42

Для подсчёта химического сора сопоставляют содержание каждой незаменимой аминокислоты в исследуемом продукте (табл. 9) с её содержанием в эталонной аминокислотной смеси, принимаемой за стандарт (эталон ФАО-см. табл. 8):

$$\text{химический сор} = \left(\frac{A_x}{A_{\text{ст}}} \right) * 100\%,$$

где A_x - содержание аминокислоты в исследуемом продукте, г/100г белка,
 $A_{\text{ст}}$ - содержание незаменимой аминокислоты в эталоне ФАО, г/100г белка.

Аминокислота, сор которой имеет минимальное значение, называется лимитирующей (минорной). На практике для обработки обогащённых белковых продуктов определяют сор для важнейших аминокислот: лизина, триптофана и суммы серосодержащих аминокислот (цистина, цистеина и метионина).

Если определить сор для эссенциальных аминокислот белка яиц и/или женского молока, то он окажется близок к 100%.

Контрольные вопросы для самоподготовки

1. В чём состоит принцип определения степени перевариваемости белков?
2. Какое химическое соединение – продукт гидролиза белков количественно определяется в пробирках из внешнего стакана?
3. Чем определяется пищевая ценность продуктов питания?
4. Каким методом можно выразить пищевую ценность продуктов?
5. Что такое биологическая и энергетическая ценность компонентов пищи?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пищевая химия: Учеб. для вузов / Под ред. А.П.Нечаева.- 2-е изд., перераб. и испр.- СПб.:ГИОРД, 2007. – 635 с.
2. Рогов, И.А. Химия пищи [Текст]: учеб.; рек. УМО по образ. / И.А. Рогов, Л.В. Антипова, Н.И. Дунченко.- М.: КолосС, 2007.- 856 с.
3. Химия пищи: В 2-х кн. Кн.1: Белки: структура, функции, роль в питании /И.А.Рогов, Л.В.Антипова, Н.И.Дунченко - М.:Колос, 2000
4. Воронцова, Л.А. Пищевая химия [Текст]: курс лекций / Л.А. Воронцова; ДальГАУ. ТИ.- Благовещенск: ДальГАУ, 2009.- 172 с.
5. Методические разработки к лабораторным занятиям по пищевой химии для Студентов технологического института /сост.: Н.Ф.Иванкина, Л.А.Воронцова, А.П.Пакурина, М.В.Чернышев; ДальГАУ.ТИ.- Благовещенск: ДальГАУ, 2007
6. Журнал «Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий» 2014-2015 гг. / www.e.lanbook.com.
7. Журнал «Известия Тимирязевской с/х академии» 2014-2015 гг. / www.e.lanbook.com.
8. Журнал: «Молодежь и наука» 2014-2015 гг. / www.e.lanbook.com.
9. Пищевая химия [Электронный ресурс] / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова [и др].; под общ. ред. Профессора А.П. Нечаева; Изд-во: «ГИОРД», 2012. – 672 с. / www.e.lanbook.com.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1

Формула сбалансированного питания

Пищевая вещества	Дневная потребность	Пищевые вещества	Дневная потребность
Вода, г	1750-2200	Фосфолипиды	5
Питьевая(вода, чай)	800-1000	Минеральные вещества, г	
Продукты питан	700	Кальций	800-1000
Белки, г	80-100	Фосфор	100-1500
Животные	50	Натрий	4000-6000
Незаменимые		Калий	2500-5000
аминокислоты, г		Хлориды	5000-7000
Триптофан	1	Магний	300-500
Лейцин	4-6	Железо	15
Изолейцин	3-4	Цинк	10-15
Валин	3-4	Марганец	5-10
Треонин	2-3	Хром	0,20-0,25
Лизин	3-5	Медь	2
Метионин	2-4	Кобальт	0,1-0,2
Фенилаланин	2-4	Молибден	0,5
Заменимые		Селен	0,5
аминокислоты, г		Фториды	0,5-1,0
Гистидин	1,5-2	Иодиды	0,1-0,2
Аргинин	5-6	Витамины, мг	
Цистин	2-3	Витамин С	50-70
Тирозин	3-4	Тиамин (В ₁)	1,5-2,0
Аланин	3	Рибофлавин (В ₂)	2.0-2.5
Серин	3	Пантотеновая кислота (В ₃)	5-10
Глутаминовая кислота	16	Витамин В ₆	2-3
Аспарагиновая кислота	6	Витамин В ₁₂	0,002-0,005
Пролин	5	Ниацин (РР)	15-25
Глицин	3	Биотин	0,15-0,30
Углеводы,г	400-500	Холин	500-1000
Крахмал	400-450	Рутин (Р)	25
Моно- и дисахариды	50-100	Холацин (В ₀)	0.2-0.4
Органические кислот, г		Витамин Д	0,025-0,10
Лимонная		Каротиноиды	3,0-5,0
Молочная и т.д	2	Витамин Е	10-20
Балластные вещ, г		Витамин К	0,2-3,0
Клетчатка		Липоевая кислота	0,5
Пектин	25	Инозин,г	0,5-1,0
Жиры,г	80-100	Энергетическая ценность	
Растительные незамен	20-25	Ккал 2850	
Полинасыщенные жирные		КДж 11900	
кислоты	2-6		
Холестерин	0,3		

Таблица 2

Химический состав пищевых продуктов (на 100г продукта)

Химические вещества	Продукт								
	Говядина 1 кат	Свинина жирная	Колбаса отдельная	Колбаса любит	Колбаса чайная	Сосиски молоч	Ветчина в форме	Куры 1 кат	Утки 1 кат
Вода, г	57,5	38,7	64,8	57,0	65,8	60,0	53,5	61,9	45,6
Белок, г	18,9	11,4	10,01	12,2	10,7	12,3	22,6	18,2	15,8
Жиры, г	12,4	49,3	21	28,0	18,4	25,3	20,9	18,4	38
Углеводы, г	-	-	1,8	-	1,9	-	-	0,7	-
Минеральные вещ, мг									
Na	60	40	1047	900	1057	745	903	110	58
K	315	189	255	211	219	237	400	1.94	165
Ca	9	6	7	7	6	29	12	16	23
M	21	17	19	17	15	20	35	27	25
P	198	130	167	146	133	161	268	228	200
Fe	2.6	1,3	2,1	1,7	1,8	1,7	2,6	3,0	3,0
Витамины, мг									
C									
B ₁	Следы	Следы	-	-	-	-	-	-	-
B ₂	0.06	0.40	0.12	0.25	0.10	-	-	0.07	0.12
PP	0.15	0.10	0.16	0.18	0.16	-	-	0.15	0.17
A	2.8	2.2	1.88	2.47	1.83	-	-	3.70	2.80
	следы	-	-	-	-	-	-	0,07	0,05
Энергетическая ценность									
Ккал	187	489	288	301	216	277	279	241	405
кДж	782	2046	954	1259	904	1159	1167	1008	1695

Продолжение табл.2

Химические вещества	Продукт								
	Картофель	Яблоки	Сыр Российский	Масло подсолнечное	Хлеб пшеничный	Крупа рисовая	Горошек зелёный	Томаты без кожицы	Баклажаны
Вода,г	12,0	86,5	40,0	0,1	39,5	14,0	87,1	912	71
Белок,г	6,6	0,4	23,4	-	7,6	7,0	3,1	1,2	1,6
Жиры,г	0,3	-	30,0	99,9	0,9	0,6	0,2	следы	15,4
Углеводы,г	75,7	11,3	-	-	49,7	77,3	7,1	43	9,1
Минеральные вещ,мг									
Na									
K	98	26	1000	-	488	26	360	320	610
Ca	1988	248	116	-	127	54	135	260	253
M	35	16	1000	-	26	24	16	30	31
P	80	9	47	-	35	21	21	15	31
Fe	203	321	554	-	83	97	53	35	50
Витамины, мг									
C	4	23	0,6	-	1,6	1,8	0,7	0,8	2,9
B ₁	7,0	13	1,6	-	-	-	10,0	15,0	3,9
B ₂	0,10	0,01	0,04	-	0,16	0,08	0,11	0,01	0,04
PP	0,10	0,03	0,30	-	0,08	0,04	0,05	0,04	0,07
A	3,7	0,30	0,30	-	1,54	1,60	0,70	0,40	-
Энергетическая ценность									
Ккал	307	46	371	899	226	323	41	22	180
кДж	1284	192	1552	3761	945	1351	172	92	753

Продолжение табл. 2

Химические вещества	Продукт								
	Яйца куриные	карп	Лосось (сёмга)	Сайра крупная	Треска	Молоко пастер	Творог жирный	Кефир жирный	Масло сливочное
Вода,г	74,0	79,1	62,9	59,8	80,7	88,5	64,7	88,3	15,8
Белок,г	12,7	16,0	20,8	18,6	17,5	2,8	14,0	2,8	0,6
Жиры,г	11,5	3,6	15,1	20,8	0,6	3,2	18,0	3,2	82,5
Углеводы,г	0,7	-	-	-	-	41	1,3	4,1	0,9
Минеральные вещ,мг									
Na	71	-	-	-	78	50	41	50	74
K	153	101	-	285	338	146	112	146	23
Ca	55	12	-	11	39	121	150	120	22
M	54	13	-	12	23	14	23	14	3
P	185	-	-	-	222	91	217	95	19
Fe	2,7	-	-	0,8	0,6	0,1	0,4	0,1	0,2
Витамины, мг									
C									
B ₁	-	следы	-	-	следы	1,0	0,5	0,7	-
B ₂	0,07	0,14	-	-	0,09	0,03	0,05	0,03	следы
PP	0,44	0,13	-	-	0,16	0,13	0,30	0,17	0,01
A	0,19	1,5	-	-	2,3	0,10	0,30	0,14	0,10
	0,35	0,02	-	-	0,01	0,02	0,10	0,02	0,5
Энергетическая ценность									
Ккал	157	96	219	262	75	58	226	59	7,48
кДж	657	402	916	1096	314	243	945	247	31,3

Таблица 3

**Формула пищевой ценности говядины 1 категории
в энергетическом выражении на 300 ккал (1255кДж)**

Химические вещества	Содержание веществ в 100 г продукта	Содержание вещества в массе продукта соответствующей 300 ккал(160г)	Степень удовлетворения формуле сбалансированного питания, %
Белки, г	19,0	30,4	33
животные	19,0	30,4	33
Жиры, г	12,4	20,0	22
растительные	-	-	0
Углеводы, г	0	0	0
Минеральные вещества, мг			
Na	60,0	96,0	2
K	315,0	504,0	14
Ca	9,0	14,4	2
M	21,0	33,6	9
P	198,0	617,0	25
Fe	2,6	4,2	28
Витамины, г			
C	Следы	Следы	6
B1	0,06	0,09	11
B2	0.15	0.24	22
PP	2.8	4.5	0
A	следы	следы	
Калорийность			
кКал	187	300	10
кДж	782	1255	

Воронцова Лилия Анатольевна

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Лабораторный практикум

В редакции составителя

Лицензия ЛР 020427 от 25.04.1997 г.

Подписано к печати 29.06.2015 г. Формат 60×90/16.

Уч.-изд.л. – 6,7. Усл.-п.л. – 9,3.

Тираж 100 экз. Заказ 106.

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии издательства ДальГАУ
675005, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86