

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Калининградский государственный технический университет»**

Л. С. Байдалинова, Н. Ю. Романенко

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Учебно-методическое пособие по лабораторным работам
для студентов бакалавриата по направлению подготовки
19.03.01 «Биотехнология» (профиль «Пищевая биотехнология»)

Калининград
Издательство ФГБОУ ВО «КГТУ»
2023

УДК 664/662

Рецензент

доцент кафедры пищевой биотехнологии, канд. техн. наук, доцент
Е. С. Землякова

Байдалинова, Л. С.

Пищевая химия: учебно-методическое пособие по лабораторным работам для студентов бакалавриата по направлению подготовки 19.03.01 Биотехнология (профиль «Пищевая биотехнология») по дисциплине «Пищевая химия» /Л. С. Байдалинова, Н. Ю. Романенко – Калининград: Изд-во ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2023. – 97 с.

Учебно-методическое пособие содержит методические указания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Пищевая химия». Лабораторные работы посвящены изучению процессов биокатализа и биоконверсии при производстве пищевых продуктов, основных принципов применения ферментных препаратов в пищевой биотехнологии.

Рис. – 6, табл. – 13, список лит. – 14 наименований

Учебно-методическое пособие рассмотрено и рекомендовано к опубликованию кафедрой пищевой биотехнологии 26 января 2023 г., протокол № 6

Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Пищевая химия» рекомендовано к изданию в качестве локального электронного методического материала методической комиссией института агроинженерии и пищевых систем ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» 28 февраля 2023 г., протокол № 2

УДК 664-4

© Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Калининградский государственный
технический университет», 2023 г.
© Байдалинова Л.С., Романенко Н.Ю.,
2023 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
<i>Лабораторная работа № 1</i>	
ХИМИЯ ПИЩЕВЫХ ЗЕРНОПРОДУКТОВ (4 ч)	6
<i>Лабораторная работа № 2</i>	
ХИМИЯ СОЧНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ – ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ (4 ч)	20
<i>Лабораторная работа № 3</i>	
ХИМИЯ ПИЩЕВЫХ ДРОЖЖЕЙ И ПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ (4 ч)	32
<i>Лабораторная работа № 4</i>	
ХИМИЯ МЯСА И МЯСОПРОДУКТОВ (4 ч)	43
<i>Лабораторная работа № 5</i>	
ХИМИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ (4 ч)	54
<i>Лабораторная работа № 6</i>	
ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ПИЩЕВЫХ МАСЕЛ И ЖИРОВ (4 ч)	71
<i>Лабораторная работа № 7</i>	
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ГИДРОЛИЗУЕМОСТЬ МЫШЕЧНОЙ ТКАНЕЙ РЫБ (6 ч)	88
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	96

Введение

Настоящее учебно-методическое пособие предназначено для студентов бакалавриата, обучающихся по направлению подготовки 19.03.01 Биотехнология (профиль «Пищевая биотехнология»), выполняющих лабораторные работы по дисциплине «Пищевая химия». Знания, приобретенные по данной дисциплине, являются базовыми при подготовке биотехнологов, ориентированных на профессиональную деятельность в пищевой промышленности.

В результате освоения дисциплины обучающийся должен:

знать:

- состав, свойства и характеристики сырья растительного, животного происхождения и гидробионтов, готовых пищевых продуктов;
- взаимосвязи физических, химических и биохимических превращений компонентов сырья в процессе хранения и технологической обработки;
- физиологические аспекты питания и основы рационального и оптимального питания;

уметь:

- обеспечивать сохранение биологически ценных компонентов сырья при технологическом воздействии на сырье и полуфабрикаты;
- подбирать оптимальные параметры процессов при производстве продуктов;
- эффективно использовать имеющиеся химико-технологические и технические средства для управления качеством продукции;

владеть:

- системным подходом, способностью объективно оценивать состав, свойства и биологический потенциал сырья, методами расчета пищевой и энергетической ценности продуктов;
- методами определения простейших функциональных свойств макронутриентов и их превращений в процессе обработки и хранения сырья.

Представленные лабораторные работы являются важной частью дисциплины «Пищевая химия». Их выполнение позволит обучающимся приобрести необходимые знания и навыки для практической деятельности.

Отчеты о выполнении лабораторных работ формируются студентами в рабочей тетради. Отчет должен включать:

- название лабораторной работы;
- цель;
- порядок действий при проведении каждого опыта (ход работы), формулы для расчета;
- таблицы и рисунки с полученными в ходе лабораторной работы данными;

– вывод по лабораторной работе.

Преподаватель проверяет усвоение студентами теоретического материала, знание методов анализа, оценивает уровень оформления работы и при его соответствии подписывает отчет. Лабораторные работы должны выполняться с соблюдением требований техники безопасности при работе в химической лаборатории.

ХИМИЯ ПИЩЕВЫХ ЗЕРНОПРОДУКТОВ (4 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по анализу и определению важнейших показателей качества зерновых продуктов и муки.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 1.2;
- 2) изучить превращения углеводов и белков при хранении и обработке зернопродуктов путем определения сахарообразующей способности и автолитической активности муки;
- 2) оценить функциональные свойства белков зернопродуктов по количеству и качеству клейковины;
- 3) определить кислотность муки;
- 4) оценить амилолитическую активность муки.

1.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Определение сахарообразующей способности муки

Косвенное определение сахарообразующей способности состоит из трех этапов: ферментативное образование сахара из крахмала муки при определенных условиях в течение одного часа, инактивация ферментов, количественное определение в вытяжке йодометрическим методом сахара с пересчетом на мальтозу.

Метод основан на реакции восстановления окиси меди в жидкости Фелинга (щелочной раствор сегнетовой соли с раствором сульфата меди) при взаимодействии ее с сахарами исследуемой жидкости. Количество сахара определяют по разности между количеством взятой окисной меди и оставшейся после реакции с сахарами. Окисную медь определяют йодометрически: после добавления йодистого калия и серной кислоты в присутствии раствора крахмала (индикатора) проводят титрование тиосульфатом натрия.

Сахарообразующая способность нормальной муки первого и второго сортов составляет около 210–280 единиц, т.е. столько миллиграммов мальтозы образуется из 10 г муки за один час настаивания с водой при температуре 27 °С.

Ход работы. На подгруппу студентов выдают 5–7 образцов муки разного качества (высшего, 1-го и 2-го сортов), разных способов приготовления (с отбором отрубей, обойная, из цельного зерна) и сроков хранения (свежая и после отлежки).

Навеску муки массой 10 г с точностью до 0,05 г количественно переносят в мерную колбу на 100 см³. Колбу с навеской муки помещают на 10–15 мин для прогревания на водяную баню или в термостат при температуре 27 °С. Затем к муке в колбе приливают пипеткой 50 см³ воды с температурой 27 °С, хорошо размешивают и выдерживают в водяной бане (или в термостате) 1 ч при температуре 27°С, взбалтывая содержимое колбы через каждые 15 мин.

После осахаривания крахмала муки при выдержке в термостате в течение 1 ч колбу вынимают, добавляют цилиндром 15 см³ 15%-ного раствора сульфата цинка и 15 см³ раствора гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 1 моль/дм³. Смесь тщательно перемешивают и доводят водой до метки, хорошо взбалтывают в течение 3 мин для инактивации ферментов. Затем колбу выдерживают еще 3–5 мин для отстаивания осадка и фильтруют.

В колбочку емкостью 50 см³ отмеривают пипеткой 3 см³ вытяжки (можно 1 см³ + 2 см³ воды, см. ниже), 1 см³ 6,9 %-ного раствора сульфата меди, 1 см³ щелочного раствора сегнетовой соли (346 г сегнетовой соли и 100 г едкого натра в 1 л раствора). Колбу с вытяжкой ставят на плитку, кипятят 2 мин и охлаждают. Избыток окисной меди оттитровывают. Для этого в колбу вносят 1 см³ 30 %-ного раствора йодистого калия и 1 см³ 25 %-ной серной кислоты и титруют выделившийся йод раствором тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм³ до светло-желтого окрашивания. Затем прибавляют 3–4 капли 1%-ного раствора растворимого крахмала и продолжают титрование до исчезновения синей окраски.

Одновременно с теми же реактивами проводят контрольный опыт, но вместо вытяжки берут 3 см³ дистиллированной воды. Разность в результатах титрования, полученных при определении сахара и в контрольном опыте (А), умноженная на поправку к титру, показывает количество восстановленной меди, выраженное в кубических сантиметрах раствора тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм³. Желательно, чтобы эта разность была в пределах 0,7–1,2.

Если анализируется более концентрированная, трудно фильтрующаяся вытяжка, то для анализа берут не 3 см³ вытяжки, а 1 см³ или 2 см³, доводят их дистиллированной водой до 3 см³. Количество сахара во взятой вытяжке вычисляют путем умножения (А) на фактор пересчета на данный вид сахара, который равен: для мальтозы 5,4; для сахарозы 3,4; для глюкозы 3,3; для фруктозы 3,7. Затем делают пересчет сахара на 10 г муки (делят на *a* и умножают на 100).

Содержание мальтозы (мг) вычисляют по формуле (1):

$$X = \frac{A \times K \times 5,4 \times 100}{a}, \quad (1)$$

где A – разность в результатах титрования при контрольном опыте и при определении сахара, см^3 раствора тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией $0,1 \text{ моль/дм}^3$; K – поправка к титру раствора тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией $0,1 \text{ моль/дм}^3$; $5,4$ – фактор пересчета для мальтозы, мг; a – объем вытяжки, взятый для титрования, см^3 ; 100 – объем вытяжки в мерной колбе с навеской муки 10 г , см^3 .

Процентное содержание мальтозы (C , г/100 г муки) вычисляют по формуле (2):

$$C = \frac{X}{100}, \%. \quad (2)$$

Данным методом определяют не только сахара, образующиеся при ферментативном расщеплении крахмала, но и собственные редуцирующие сахара муки. Поэтому в них вводят поправку. Для этого 10 г муки для инактивации ферментов нагревают в колбе вместимостью 100 см^3 с 20 см^3 96 %-ного спирта на водяной бане при температуре $78 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 10 мин , затем повышают температуру до $100 \text{ }^\circ\text{C}$, выпаривают спирт и определяют сахар. Введение такой поправки целесообразно только для муки из проросшего зерна.

2 Определение автолитической активности муки

Метод определения автолитической активности в водомучной суспензии (болтушке) после клейстеризации и автолиза при постепенном прогреве в кипящей водяной бане является условным. На результаты определения большое влияние оказывают условия опыта. В ходе нагревания активность ферментов возрастает, достигает оптимума, а затем снижается до полной их инактивации. Поэтому с целью получения сравнимых результатов необходимы, по возможности, одинаковые скорость и условия прогрева, размеры стаканчиков и водяной бани, определенная глубина погружения стаканчиков в воду, длительность прогрева и т.д.

Ход работы. Во взвешенный на технических весах стаканчик со стеклянной палочкой (остается в нем до конца анализа) отвешивают 1 г муки с точностью до $0,01 \text{ г}$, добавляют 10 см^3 дистиллированной воды и тщательно перемешивают палочкой. Стаканчики с пробами погружают в кипящую водяную баню, первые $2\text{--}3 \text{ мин}$ содержимое стаканчиков перемешивают палочкой $3\text{--}4$ раза для равномерной клейстеризации крахмала муки, причем перемешивают одновременно во всех стаканчиках. По окончании клейстеризации для предохранения от испарения воды стаканчики накрывают стеклянными воронками.

После 15 мин прогрева от момента погружения стаканчики вынимают из бани, и в каждый из них немедленно вливают по 20 см^3 дистиллированной воды, энергично перемешивают и охлаждают до комнатной температуры.

Затем содержимое стаканчика доводят на весах дистиллированной водой до 30 г с точностью до 0,01 г, для чего доливают по каплям еще около 0,2–0,5 г дистиллированной воды.

После тщательного перемешивания до появления пены содержимое стаканчика фильтруют через складчатый фильтр диаметром около 8 см из среднефильтрующей бумаги. Так как масса плохо фильтруется из-за высокой вязкости, то на фильтр не рекомендуется переносить осадок. Первые 2 капли фильтрата отбрасываются, а последующие 2–3 капли стеклянной палочкой наносятся на призму рефрактометра. Фильтрация осуществляется непосредственно перед рефрактометрированием. Концентрацию водорастворимых веществ определяют прецизионным рефрактометром. Отсчет показаний (в %) должен быть проведен при 20 °С. В случае отклонения от этой температуры вносится соответствующая поправка. Результат выражают в процентах на 100 г абсолютно сухой муки (100 – влажность муки в %). Влажность каждой пробы муки определяется заранее, стандартная влажность муки – 14 %. Для муки стандартной влажности результат делят на 0,86 и умножают на 30.

При необходимости получения более точных результатов содержание водорастворимых веществ контролируют массовым способом. Для этого содержимое стаканчиков после охлаждения смывают дистиллированной водой в мерную колбу на 100 см³, тщательно взбалтывают и доводят до метки. После фильтрования через беззольный фильтр отбирают 10 см³ фильтрата в сухую взвешенную фарфоровую чашечку, выпаривают на водяной бане и затем высушивают при 105 °С в течение 1 ч 15 мин. По разности в массе узнают о содержании водорастворимых веществ, пересчитывая их на 100 г абсолютно сухой муки. Разница между параллельными определениями не должна быть больше 3 %.

3 Определение количества сырой клейковины в муке

При определении количества сырой клейковины из навески муки замешивают крутое тесто с добавлением определенного количества воды и после набухания из него вымывают небелковые вещества водой. Остаток сырой клейковины взвешивают и вычисляют содержание ее в процентах к массе.

Ход работы. Из образца исследуемой муки отвешивают 25 г с точностью до 0,1 г, высыпают в фарфоровую ступку и пипеткой приливают 13 см³ водопроводной воды комнатной температуры (16–20 °С). При помощи шпателя или пестика замешивают тесто до тех пор, пока оно не станет однородным. Приставшие к пестик и ступке частицы теста снимают шпателем или ножом и добавляют их к куску теста, который хорошо проминают руками, скатывают в виде шара и кладут в ступку. Для предотвращения заветривания тесто в ступке прикрывают стеклом и оставляют

на 20 мин в покое при температуре 16–20 °С. После этого в большую чашку или тазик наливают 1–2 л недистиллированной воды той же температуры и начинают отмывать крахмал и оболочки зерен, опуская тесто в воду и разминая его пальцами. Отмывание ведут без перерыва таким образом, чтобы вместе с крахмалом не отрывались частицы клейковины. Промывную воду по мере накопления в ней отмытого крахмала надо процеживать через густое шелковое сито для улавливания случайно оторвавшихся кусочков клейковины. В процессе отмывания клейковины воду меняют полностью 3 раза, каждый раз процеживая через густое сито, собирая на нем кусочки клейковины для присоединения к общей массе. Когда бóльшая часть крахмала будет отмыта и клейковина, сначала мягкая и рвущаяся, станет более связанной и упругой, разминание и промывание можно вести энергичнее до тех пор, пока промывная вода перестанет быть мутной и все частички оболочек зерна будут отмыты (допускается отмывать клейковину под слабой струей воды с температурой 16–20 °С над густым ситом).

Для проверки на полноту отмывания к капле воды, выжатой из отмытой клейковины, добавляют каплю раствора йода в йодистом калии (0,2 г йодистого калия и 0,1 г кристаллического йода в 100 см³ воды) на часовом стекле. Отсутствие синего окрашивания указывает на полное удаление крахмала. Отмытую клейковину хорошо отжимают от воды руками, пока она не начнет прилипать к ним, и взвешивают с точностью до 0,01 г. Затем ее повторно промывают в течение 5 мин под струей воды, отжимают и вновь взвешивают. Промывание заканчивают, когда разница между двумя взвешиваниями будет менее 0,1 г. Полученное количество клейковины выражают в процентах к массе муки, допускаемое отклонение при параллельных определениях $\pm 2\%$.

Оцените визуально расплываемость клейковины (способность к изменению формы в течение 0,5 ч), а также упругость и растяжимость путем формирования из нее жгута. Клейковина низкого качества расплывается и легко рвется (крошится) при растяжении.

4 Определение титруемой кислотности муки по болтушке

Ход работы. Из испытуемой пробы берут навеску массой 5 г с погрешностью не более 0,01 г, переносят ее в сухую коническую колбу вместимостью 100–150 см³ и приливают цилиндром 50 см³ дистиллированной воды. Содержимое колбы перемешивают до исчезновения комков муки и добавляют три капли 3%-ного раствора фенолфталеина, а в болтушку из ржаной муки – 5 капель индикатора. Затем болтушку титруют раствором гидроксида натрия эквивалентной концентрации 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.

Если исходная болтушка интенсивно окрашена, то для сравнения готовят другую болтушку из испытуемой пробы муки и при титровании постоянно сравнивают получаемый оттенок с начальным цветом болтушки.

Кислотность муки в градусах кислотности вычисляют по формуле (3):

$$X = \frac{V \times 100 \times K}{m \times 10}, \quad (3)$$

где V – количество раствора гидроксида натрия эквивалентной концентрации 0,1 моль/дм³, пошедшее на титрование, см³; m – масса навески муки, г; K – коэффициент пересчета раствора гидроксида натрия эквивалентной концентрации 0,1 моль/дм³ на раствор гидроксида натрия эквивалентной концентрации 1 моль/дм³.

Вычисления 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° кислотности.

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 муки при снижении ее сортности повышается. Так, показатель титруемой кислотности по болтушке не должен превышать для пшеничной муки высшего сорта 3°, для муки 1-го и 2-го сорта – 3,5° и 4,5° соответственно, для ржаной сеяной муки – 4°, для обдирной – 5°, обойной – 5,5°.

Результаты лабораторной работы необходимо оформить в виде общего заключения.

1.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Зерновые продукты составляют основную часть пищевого рациона населения России, являясь главным и относительно недорогим источником углеводов и белков растительного происхождения. Рекомендуемое потребление зернопродуктов в виде хлебобулочных изделий, круп и другой продукции в пересчете на муку составляет в среднем 120 кг/год (330 г/ день).

Из зернопродуктов в нашем питании преобладают пшеница и продукты ее переработки, химический состав которых представлен в таблице 1.1. С увеличением глубины переработки зерна возрастает содержание крахмала и уменьшается количество пищевых волокон (клетчатки и пентозанов), а также зольность зернопродуктов. Ближе всего по химическому составу к цельному зерну обойная мука, получаемая простым помолом без отбора отрубей.

Таблица 1.1 – Химический состав зерна пшеницы и продуктов его переработки, %

Продукт	Вода	Белки	Жиры	Углеводы				Зола
				общие	моно- и дисахариды	крахмал	клетчатка	
Пшеница мягкая	14,0	12,7	1,6	66,6	2,6	53,7	2,4	1,7
Мука пшеничная высшего	14,0	10,3	0,9	74,2	1,8	67,7	0,1	0,5
Мука пшеничная первого	14,0	10,6	1,3	73,2	1,7	67,1	0,2	0,7
Мука пшеничная второго	14,0	11,7	1,6	70,8	1,8	62,8	0,6	1,1
Мука пшеничная	14,0	12,5	1,6	68,2	2,4	55,8	1,9	1,5
Манная крупа	14,0	11,3	0,7	73,3	1,3	70,3	0,2	0,5
Пшеничная крупа	14,0	12,5	1,1	70,6	2,5	68,1	0,7	0,9
Макароны высшего	13,0	10,4	0,9	75,2	1,8	68,5	0,1	0,5
Хлеб пшеничный	39,5	7,6	0,9	47,1	1,5	37,7	0,2	1,8

От зерна больше всего по составу отличается мука высшего сорта, при производстве которой применяются сложные повторительные помолы с удалением отрубей (пленок, оболочек, алейронового слоя и зародышей зерна).

Основным критерием качества такой муки является исключительно белый цвет. В некоторых случаях муку подвергают даже специальному отбеливанию.

Белки зернопродуктов содержат все незаменимые аминокислоты, однако некоторые из них (чаще лизин и треонин) являются лимитирующими (таблица 1.2).

Таблица 1.2 – Содержание белков и скор лимитирующих аминокислот в белках зерновых культур

Вид зерна	Содержание белков, %	Лимитирующая аминокислота, скор, %
Пшеница мягкая озимая	11,2	Лиз.- 58, тре.- 87
Пшеница твердая	12,5	Лиз.- 48, тре.- 71
Рожь	9,9	Лиз.- 48, тре.- 76
Овес	10,1	Лиз.- 70, тре.- 83
Ячмень	10,3	Лиз.- 65, тре.- 85
Кукуруза	9,2-1,9	Лиз.- 44, тре.- 60
Рис	7,5	Лиз.- 70, тре.- 87
Гречиха	10,8	Лиз.- 77, тре.- 88
Просо	11,2	Лиз.- 49, вал.- 79
Горох	23,0	Мет.+ цис. - 64

У белков большинства видов зерна первая лимитирующая аминокислота лизин (лиз.), а вторая – треонин (тре.). Более сбалансирован состав незаменимых аминокислот белков овса и риса, однако у последнего самое низкое содержание белков из всех злаковых сельхозкультур (всего 7,5 %). Из крупяных культур выделяются гречиха, у которой наиболее высокое содержание лизина, а также просо с двумя лимитирующими аминокислотами – лизином и валином. Горох (относится к зернобобовым) содержит в 2 раза больше белков, чем большинство зерновых культур, но лимитирующими являются серосодержащие аминокислоты (сумма метионина и цистина). При составлении пищевых рационов дефицит лизина и треонина, имеющийся в основных зернопродуктах, компенсируется путем комбинирования зернопродуктов с продуктами животного происхождения, обладающими сбалансированным составом незаменимых аминокислот. Сочетание различных белков, взаимно дополняющих друг друга, в целом обеспечивает потребности организма человека.

Недостатком растительных белков является также более низкая усвояемость их в организме человека. Из животных белков после переваривания в кишечнике всасывается более 90 % аминокислот, а из растительных – только 60–80 %. Причиной этого является взаимодействие растительных белков с полисахаридами, затрудняющими доступ пищеварительных протеаз к пептидным связям. В смешанной пище (растительной и животной) показатель усвояемости белков сравнительно постоянен и достигает 85 %.

В результате более низкая биологическая ценность растительных белков повышается в смешанных рационах или требует избыточного употребления растительных белков (в вегетарианском питании). Но при избытке в рационе белков и достаточном количестве углеводов и жиров возникает опасность синтеза из них липидов и ожирения организма человека.

При производстве хлебопродуктов под действием комплекса ферментов дрожжевой клетки сахара в бродящем тесте превращаются в спирт и диоксид углерода. Образующийся диоксид углерода (углекислый газ) обеспечивает пористость мякиша и создание объема готового изделия. При равенстве всех условий (количества и качества дрожжей, температуры) диоксида углерода выделяется больше в том тесте, в котором больше сбраживаемых сахаров (мальтозы, глюкозы). Для приготовления высококачественного хлеба в тесте должно быть примерно 5,0–5,5 % сахара от сухой массы муки. За период брожения расход сахаров составляет 1,5–3,0 % массы муки.

Для получения хлеба с приятным вкусом, запахом и румяной корочкой к моменту выпечки тесто должно иметь еще некоторый запас сахаров для осуществления реакции меланоидинообразования. Минимальное количество остаточных сахаров в тесте перед выпечкой должно составлять 2–3 % сухого вещества муки.

Реакция меланоидинообразования (реакция Майяра) – это взаимодействие между восстанавливающими сахарами, а также образующимися из них фурфуролом и оксиметилфурфуролом, с одной стороны, и аминокислотами или белками – с другой. В результате образуются различные альдегиды, обуславливающие аромат хлеба, и вещества – меланоидины, придающие окраску и специфический аромат корке хлеба.

Негативные последствия реакции Майяра – частичные потери некоторых незаменимых аминокислот (лизина) и снижение степени усвоения белков.

Потребность в необходимом количестве сахаров покрывается за счет собственных сахаров муки и сахаров, получаемых из крахмала путем ферментативного расщепления. Собственными называются сахара, перешедшие в муку из зерна: сахароза, глюкоза, фруктоза, мальтоза. Содержание их в обычной пшеничной муке невелико – менее 2 %. Эти сахара, кроме сахарозы, обладают редуцирующими (восстанавливающими) свойствами. Так как содержание собственных сахаров в муке недостаточно и они сбраживаются в самом начале брожения теста, то для всего хода процесса большое значение имеют ферментативные реакции осахаривания крахмала в тесте. Это сахарообразующая способность муки, под которой понимается способность образовывать при определенных условиях мальтозу (солодовый сахар, состоящий из двух остатков глюкозы). Она зависит от активности амилолитических ферментов и их вида, а также от состояния крахмала муки.

В нормальном зерне находится только β -амилаза, которая отщепляет мальтозу с концов глюкозидных цепей без разрушения остатков молекулы крахмала. Крахмальные зерна муки в нативном состоянии поддаются осахариванию β -амилазой с большим трудом. В муке нормального качества количества β -амилазы вполне достаточно для осахаривания всего крахмала. Поэтому данный процесс лимитируется не количеством фермента, а состоянием крахмала. Скорость расщепления крахмала (атакуемость амилазой) повышается с уменьшением размеров крахмальных зерен. Более сильное действие оказывает амилаза на оклейстеризованный крахмал.

В муке из проросшего зерна присутствует α -амилаза, которая в отличие от β -амилазы расщепляет внутренние связи углеводной цепи, гидролизуя молекулы крахмала на декстрины низкой молекулярной массы. При этом образуется незначительное количество мальтозы и глюкозы. Но декстрины представляют собой хороший субстрат для действия β -амилазы, и осахаривание крахмала протекает во много раз интенсивнее. Поэтому мука из проросшего зерна (солоделая) обладает повышенной сахарообразующей и газообразующей способностью. Подобную муку называют «слабой на жар», т.е. хлеб из нее получается с темноокрашенной коркой и липким, заминающимся мякишем.

Мука с пониженной сахарообразующей способностью характеризуется как «крепкая на жар». Хлеб из нее не румянится даже при повышенной температуре выпечки. Недостаточное количество сахаров в тесте влечет за собой медленное выделение диоксида углерода, тесто плохо подходит, и хлеб получается малого объема. В качестве улучшителя для такой муки используют солод и солодовые экстракты, препараты амилазы плесневых грибов и бактерий.

Сахарообразующую способность муки условно выражают числом миллиграммов мальтозы, образующейся из 10 г муки за 1 ч настаивания с водой при температуре 27 °С.

При прорастании зерна ржи и пшеницы при повышенной влажности (в поле – на корню или в валках, при хранении зерна на открытых токах или в хранилищах) происходит ухудшение его хлебопекарных свойств. Это происходит из-за повышенного содержания в зерне водорастворимых веществ, образующихся при прорастании в результате биохимического распада запасных питательных веществ и, в первую очередь, перехода крахмала в более простые соединения – сахара. При глубоком развитии процессов прорастания происходит распад белков клейковины и липидов.

До последнего времени степень пророслости зерна в нашей стране определяли простым подсчетом числа проросших зерен с явным наличием ростков в 50-граммовой навеске, результаты выражали в процентах. Это очень неточный метод, поскольку во время уборки зерна при прохождении через

механизированные средства (комбайн, сепарирующие машины и т.д.) ростки обрываются и распознать проросшее зерно трудно. Кроме того, известно, что процесс прорастания начинается задолго до появления ростка, о чем свидетельствует повышение амилазной активности. Чем глубже процесс прорастания зерна, тем сильнее степень разжижения крахмала α -амилазой. В связи с этим в большинстве стран мира используется метод, характеризующий состояние углеводного комплекса пшеницы и ржи по α -амилазной активности с помощью числа падения.

Автолитической активностью муки называют ее способность образовывать водорастворимые вещества при прогреве водомучной суспензии. Эта способность зависит от активности ферментов и гидролизуемости субстрата, на который они действуют. Содержащиеся в муке ферменты – амилолитические, протеолитические, липолитические и другие – расщепляют высокомолекулярные вещества муки на простые соединения, растворимые в воде. Образующиеся при этом сахара, декстрины, водорастворимые белки, аминокислоты, глицерин, кислые фосфаты, минеральные соли и составляют основную массу водорастворимых веществ. Сюда входят и нативные водорастворимые вещества муки, перешедшие в нее из зерна до прогрева водомучной суспензии (болтушки).

Повышенным содержанием водорастворимых веществ обладает мука с высокой активностью ферментов. Повышенная активность ферментов, как правило, проявляется в муке из незрелого, проросшего, морозобойного или поврежденного вредителями зерна. Поэтому данный показатель, косвенно характеризуя активность ферментов, дает возможность судить о состоянии зерна и о технологических свойствах муки, получаемой из этого зерна. Более высокая автолитическая активность муки обычно приводит к расплыванию теста и получению хлеба с липким заминающимся мякишем. Пониженное содержание водорастворимых веществ свидетельствует о низкой атакуемости компонентов муки (крахмала, белков и др.) ферментами.

Содержание водорастворимых веществ для пшеничной муки в зависимости от сорта должно составлять в процентах на сухое вещество 16–20 %. В ржаной муке автолитическая активность значительно больше: 41–55 %. Это обусловлено большим содержанием в ней собственных сахаров и водорастворимых белков, а также присутствием более активных ферментов (например, α -амилазы).

Белки муки глиадин и глютенин способны образовывать с водой клейкую и упругую массу коллоидного характера – клейковину. Состав клейковины сильно колеблется и зависит как от сортовых и природных свойств зерна, из которого получена мука, так и от самой техники выделения клейковины. В среднем клейковина состоит из следующих веществ (в % на сухую массу клейковины): белковые вещества 80–85; жир 2–4; минеральные соли 1–2; клетчатка 1–2; углеводы (кроме клетчатки) 7–9.

Кроме того, в состав клейковины входят ферменты, витамины и другие вещества. Содержание сырой клейковины в муке зависит от сорта и составляет 25–30 %.

От содержания и качества клейковины зависят хлебопекарные свойства муки, определяемые общим понятием «сила» муки. Под «силой» муки понимают ее способность образовывать тесто, обладающее после замеса при последующем брожении, разделке и расстойке определенными физическими свойствами. По этому показателю муку делят на три группы: сильная, слабая и средняя.

Сильная мука при замесе теста обычной консистенции поглощает относительно большее количество воды, причем такое тесто устойчиво сохраняет свои физические свойства, обладает высокой газодерживающей способностью. Выпеченный хлеб хорошо сохраняет форму.

Слабая мука при замесе поглощает меньше воды, тесто из нее к концу брожения становится мажущимся, при расстойке и при выпечке расплывается. Она обладает пониженной газо- и формодерживающей способностью, дает хлеб небольшого объема.

Средняя по «силе» мука по свойствам теста занимает промежуточное положение между сильной и слабой.

Таким образом, «сила» муки включает в себя понятие водопоглотительной, газодерживающей и формодерживающей способности. «Сила» муки в основном обусловлена белково-протеиновым комплексом муки и взаимодействием белковых веществ, протеолитических ферментов и активаторов протеолиза. Интенсивность протеолиза зависит от гидролиземости белков, активности ферментов и усиливается в присутствии активаторов. Интенсивный протеолиз приводит к ухудшению физических свойств клейковины.

Свойствами типично слабой муки обладает мука из зерна, пораженного вредителем – клопом-черепашкой.

Слабое тесто получается даже из муки удовлетворительного качества, если оно приготовлено на дрожжах, хранившихся длительное время. Такие дрожжи содержат большое количество восстановленного глутатиона, являющегося активатором протеолитических ферментов.

Важным показателем качества муки, свидетельствующим о ее свежести, является кислотность. Кислотность муки 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, в результате которой в муке возрастает количество органических кислот.

Мука, полученная из проросшего, морозобойного, самосогревавшегося 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. Такая мука должна тщательно контролироваться по органолептическим показателям, особенно по вкусу.

Различают титруемую кислотность (общую) и активную (рН). Титруемая кислотность характеризует общее количество в муке свободных кислот и кислых солей. Ее принято выражать в градусах. Под градусом кислотности понимают количество 1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия, требующееся для нейтрализации кислот и кислых солей, содержащихся в 100 г муки.

ГОСТ 27493-87 предусматривает определение титруемой кислотности муки по болтушке (по водно-мучной суспензии). Кроме того, существуют другие методы определения титруемой кислотности: титрование водного экстракта из муки (вытяжки), титрование спиртового или водно-спиртового экстракта из муки. Во всех методах в качестве индикатора применяется фенолфталеин. Если полученная вытяжка темноокрашенная, что затрудняет фиксирование конца титрования, то можно применять метод потенциометрического титрования.

При определении кислотности по болтушке оттитровывают все кислореагирующие соединения, но результаты получаются несколько завышенными, так как вследствие адсорбционной способности крахмала и белка последние связывают некоторое количество гидроксида натрия. Определение кислотности по водному экстракту дает заниженные результаты, так как жирные кислоты не растворимы в воде, они остаются на фильтре и не участвуют в реакциях нейтрализации.

Располагая величинами кислотности муки, определенными этими двумя методами, можно косвенно судить о доле свободных жирных кислот в общем количестве кислореагирующих соединений.

При экстрагировании муки спиртом в экстракт не переходят фосфаты, поэтому, сравнивая результаты титрования водно-мучной суспензии и спиртового экстракта, можно судить о доле кислых фосфатов.

Наиболее точные результаты по содержанию кислореагирующих соединений муки дает метод титрования водно-спиртового экстракта, в котором оттитровывают как растворимые в воде, так и растворимые в спирте вещества кислой природы. Кроме того, в этом методе исключена адсорбция гидроксида натрия частицами муки.

Контрольные вопросы

- 1) Как влияет глубина переработки зерна на химический состав зернопродуктов?
- 2) В чем особенности аминокислотного состава белков зернопродуктов?
- 3) Какие биохимические процессы вызывают осахаривание муки?
- 4) Что понимается под термином «сила» муки?
- 5) На чем основан принцип определения сахарообразующей способности муки?
- 6) Какое значение имеют реакции меланоидинообразования при выпечке хлеба?
- 7) Что называют автолитической способностью муки?
- 8) Какая связь автолитической способности муки с качеством хлебопродуктов?
- 9) Как определяется количество клейковины в муке?
- 10) Что такое кислотность муки? Что характеризует кислотность муки?
- 11) Как влияют количество и качество клейковины на хлебопекарные свойства муки?

ХИМИЯ СОЧНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ – ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ (4 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по анализу и определению важнейших показателей качества плодов и овощей.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 2.2;
- 2) определить содержания дубильных и красящих, пектиновых веществ, клетчатки, кислот в сочном растительном сырье и продуктах его переработки;
- 3) ознакомиться с химическим составом и пищевой ценностью плодов и овощей;
- 4) освоить методики, получение навыков определения химических показателей сочного растительного пищевого сырья.

2.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Определение дубильных и красящих веществ методом Нейбауэра - Левенталья

Дубильные вещества содержатся в клеточном соке различных растений и по химическому составу делятся на 2 большие группы: гидролизуемые и негидролизуемые (конденсированные). Наиболее изученным соединением первой группы является танин - глюкозид дигалловой кислоты. Вещества второй группы, встречающиеся главным образом в плодах и овощах, не способны расщепляться при гидролизе. Самый распространенный представитель этой группы - катехин. Выделение дубильных веществ из растительных объектов очень сложно, поэтому количественное определение их связано с большими трудностями.

Метод Нейбауэра-Левенталья основан на способности перманганата калия (KMnO_4) окислять дубильные и красящие вещества. Так как перманганат калия способен окислять и некоторые другие вещества в растительных продуктах, то проводят два определения: первое до обработки и второе после обработки фильтрата животным или активным углем. При первом титровании на окисление требуется больше перманганата, чем при втором, на такое же количество фильтрата. Это объясняется тем, что во втором случае в реакции не принимают участия дубильные и красящие вещества, адсорбированные углем и, следовательно, количество титранта расходуется только на недубильные вещества.

Ход работы. Плоды или овощи измельчают в фарфоровой ступке, в мясорубке или на терке. В стаканчик на технических весах (с точностью до 0,1 г) отвешивают 25 г полученной мезги (5 г черного или зеленого чая) и количественно переносят навеску через воронку в мерную колбу вместимостью 250 см³, остатки вещества на стенках стаканчика, воронки и горлышке колбы смывают струей воды из промывалки, доводя дистиллированной водой содержимое колбы до 3/4 объема.

Поместив термометр в колбу, нагревают её на водяной бане до температуры содержимого 80 °С. После этого колбу извлекают из бани, термометр ополаскивают водой из промывалки, и воду сливают в колбу во избежание потерь. Колбу охлаждают под струей воды из крана и доводят ее содержимое до метки дистиллированной водой, перемешивают содержимое взбалтыванием и фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу.

В фарфоровую чашку вместимостью около 2 л приливают пипеткой 10 см³ фильтрата, 20 см³ раствора индигокармина (30 г в 1 дм³ воды), 10 см³ разбавленной серной кислоты H₂SO₄ (1:4) и 1 л дистиллированной или чистой водопроводной воды. Помешивая содержимое чашки круговыми движениями стеклянной палочки, титруют его раствором перманганата калия (1,333 г в 1 дм³ воды), добавляя титрант из бюретки по каплям. Переход окраски происходит постепенно от синей через темно-зеленую, светло-зеленую и зеленовато-желтую до желтой.

Титрование считают окончанным, когда прибавляемые капли перманганата калия оставляют за движущейся палочкой след красноватого, а не желтого цвета, общий же оттенок жидкости остается без изменений. При данном титровании перманганат калия расходуется на окисление дубильных и красящих веществ, а также всех других, способных окисляться.

Для второго титрования в фарфоровую чашечку наливают 10 см³ фильтрата, добавляют примерно 2 г животного (активного угля), нагревают содержимое на водяной бане до появления паров над жидкостью (но не до кипения) и фильтруют через небольшой двойной или тройной фильтр, смоченный водой. Жидкость фильтруют до тех пор, пока не получится совершенно чистый, прозрачный фильтрат.

Остаток угля, адсорбировавший дубильные и красящие вещества, промывают не менее пяти раз теплой дистиллированной водой. Полученный фильтрат выливают в большую фарфоровую чашку, приливают в нее 20 см³ раствора индигокармина, 10 см³ разбавленной серной кислоты (1:4), 1 дм³ воды и титруют раствором перманганата калия до появления желтой окраски, как при первом титровании.

Исходя из того, что 0,3163 г перманганата калия окисляют 0,4157 г танина, количество дубильных и красящих веществ в пересчете на танин (в %) вычисляют по формуле (4):

$$X = \frac{(V-V_1) \times 0,001333 \times K \times 0,4157 \times V_2 \times 100}{0,3163 \times m \times V_3}, \quad (4)$$

где V – количество раствора перманганата калия, которое пошло на первое Титрование (всех окисляемых в фильтрате веществ), см³; V_1 – количество раствора перманганата калия, которое пошло на второе титрование после адсорбции дубильных и красящих веществ, см³; V_2 – объем водной вытяжки в мерной колбе, см³; V_3 – объем фильтрата, взятый на титрование, см³; K – поправка к титру раствора перманганата калия; m – навеска продукта, г.

2 Определение содержания дубильных веществ по ГОСТ 3318-74 «Плоды черемухи обыкновенной»

Ход работы. Для определения содержания дубильных веществ берут измельченный чай, просеянный сквозь сито по ГОСТ 214-70 с отверстиями диаметром 1 мм, взвешивают навеску массой около 2 г с погрешностью не более 0,001 г. Навеску помещают в заранее взвешенную коническую колбу вместимостью 100 см³. Затем в колбу вливают 50 см³ кипящей дистиллированной воды и нагревают на водяной бане в течение 30 мин при частом перемешивании. Жидкость отстаивают в течение нескольких минут и осторожно процеживают через вату в мерную колбу вместимостью 250 см³, чтобы частицы сырья не попали на вату.

Извлечение кипящей водой повторяют несколько раз до отрицательной реакции на дубильные вещества, каждый раз фильтруя жидкость в ту же мерную колбу. Полноту извлечения дубильных веществ определяют смешиванием на часовом стекле нескольких капель извлечения с 1–2 каплями 0,2%-ного раствора железоаммонийных квасцов; при этом не должно появляться черно – зеленого окрашивания.

Объем извлечения в мерной колбе, охлажденной до комнатной температуры, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Затем отбирают пипеткой 25 см³ полученного жидкого извлечения и помещают в коническую колбу вместимостью 1000 см³, добавляют туда же 750 см³ дистиллированной воды, 25 см³ раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании раствором марганцовокислого калия (перманганата калия) с концентрацией 0,1 моль/дм³ до золотисто-желтого окрашивания, сравнивая его с окраской раствора контрольного опыта.

Для проведения контрольного анализа в коническую колбу вместимостью 1000 см³ помещают 750 см³ дистиллированной воды, добавляют 25 см³ раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании тем же раствором марганцовокислого калия (перманганата калия) с концентрацией 0,1 моль/дм³ до золотисто-желтого окрашивания.

Содержание дубильных веществ в пересчете на абсолютно сухую массу сырья (X) в процентах вычисляют по формуле (5):

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 25 \times (100 - m_1)}, \quad (5)$$

где V – количество раствора марганцовокислого калия (перманганата калия) с концентрацией 0,1 моль/дм³, израсходованное на титрование исследуемого извлечения, см³; V_1 – количество раствора марганцовокислого калия (перманганата калия) с концентрацией 0,1 моль/дм³, израсходованное на титрование в контрольном опыте, см³; 0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 см³ раствора марганцовокислого калия (перманганата калия) с концентрацией точно 0,1 моль/дм³ (в пересчете на танин), г; m – масса навески, г; m_1 – потеря в массе при высушивании сырья, %; 250 – вместимость мерной колбы, см³; 25 – объем жидкого извлечения, взятый для титрования, см³.

3 Определение пектиновых веществ методом Мелитца

Метод основан на способности пектиновых веществ, находящихся в клеточном соке и в тканях плодов и овощей, извлекаться водой. Протопектин извлекается водой со слабой кислотой, а свободная пектиновая кислота и ее кальциевые и магниевые соли – кипячением. Извлеченные пектиновые вещества вновь переводятся добавлением CaCl₂ в пектат кальция, который определяется весовым методом. Метод позволяет определить общее количество пектиновых веществ.

Ход работы. Навеска плодов или овощей должна быть подготовлена с таким расчетом, чтобы масса осадка пектата кальция в фильтрате, взятом для обработки гидроксидом натрия и уксусной кислотой, не превышала 0,03 г. В противном случае затрудняется промывание и высушивание осадка, а результаты получаются завышенными. Поэтому, зная примерное содержание пектиновых веществ в продукте, общий объем вытяжки и количество фильтрата, взятое для омыления, расчет необходимой величины навески делают следующим образом (формула (6)):

$$X = \frac{0,03 \times V \times 100}{V_1 \times П}, \quad (6)$$

где 0,03 – заданное содержание пектиновых веществ в 10 см³ фильтрата; V – общий объем фильтрата (500 см³); V_1 – объем фильтрата, взятый для омыления (10 см³); $П$ – условное содержание пектиновых веществ в продукте, %.

Например, для продукта с содержанием пектиновых веществ $П = 2$ % максимальная расчетная навеска продукта $X = 75$ г.

Существует несколько модификаций методики определения пектиновых веществ. В данной работе дается методика Мелитца, по которой определяют сумму пектиновых веществ, растворимых в воде при кипячении.

Среднюю пробу свежих плодов и овощей или продуктов их переработки нужно измельчить на терке или в ступке, сушеные продукты предварительно разрезать ножом на кусочки размером 2–3 мм. При этом нужно удалить семена, веточки, плодоножки, косточки (и т.п.), чтобы средняя проба была однородной.

Навеску продукта 50–100 г (сушеного 5–10 г, концентрированного 15–30 г) помещают в химический стакан вместимостью 400–500 см³, прибавляют 150 см³ дистиллированной воды и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч для гидролиза протопектина и получения водной вытяжки пектиновых веществ, поддерживая жидкость в стакане на постоянном уровне. После этого горячую массу переносят через воронку, укрепленную в кольце штатива, в мерную колбу вместимостью 500 см³, смывая остатки дистиллированной водой из промывалки в мерную колбу. Мерную колбу доливают теплой водой ниже метки и оставляют настаиваться. Когда содержимое охладится примерно до 20 °С, в колбу приливают холодную воду до метки, перемешивают содержимое и фильтруют сначала через вату, а затем через бумажный фильтр несколько раз.

Переносят пипеткой в стакан вместимостью 400–500 см³ 10 см³ прозрачного фильтрата, прибавляют 100 см³ раствора гидроксида натрия NaOH с концентрацией 0,1 моль/дм³ и оставляют на 5–7 ч в покое для омыления пектина (при упрощенном варианте на 0,5 ч). После этого к смеси приливают 50 см³ раствора уксусной кислоты с концентрацией 0,1 моль/дм³, а через 5 мин – 50 см³ 1 моль/дм³ раствора CaCl₂ и оставляют на 1 ч. При этом в растворе появляется хлопьевидный беловатый осадок пектата кальция. Содержимое стакана кипятят около 5 мин и фильтруют через заранее высушенный до постоянной массы и взвешенный бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают кипящей водой до тех пор, пока промывная вода перестанет давать положительную реакцию с раствором AgNO₃ с концентрацией 0,1 моль/дм³, свидетельствующую о присутствии хлор-иона. Для проведения качественной реакции на отсутствие хлора в пробирку отбирают 1–2 см³ стекающей жидкости и добавляют несколько капель азотнокислого серебра. При наличии в промывной воде ионов хлора образуется белая муть.

Осадок пектата кальция, не содержащий хлор-ионов, помещают вместе с фильтром в бюкс и сушат при 105 °С до постоянной массы. Если масса осадка превышает 0,03 г, то анализ нужно повторить, причем вместо 10 см³ фильтрата взять 5 см³.

Содержание пектиновых веществ (в %) вычисляют по формуле (7):

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 0,9235 \times V \times 100}{V_1 \times m}, \quad (7)$$

где m – масса навески продукта, г; m_1 – масса фильтра с высушенным осадком, г; m_2 – масса бумажного фильтра, г; V – объем мерной колбы, см³; V_1 – объем фильтрата, взятого для омыления, см³; 0,9235 – коэффициент для перевода пектата кальция в пектиновую кислоту.

4 Определение количества клетчатки

Под пищевой или сырой клетчаткой понимают целлюлозу с небольшой примесью лигнина и гемицеллюлозы. Сырая клетчатка относится к неусвояемым полисахаридам. Однако она как пищевые волокна (в небольших количествах) нормализует работу кишечника.

Методика определения клетчатки основана на гидролизе легкорастворимых углеводов растворами кислоты и гидроксида натрия с последующим их удалением, промывке и очистке нерастворимого осадка. Для более точного определения предусматриваются экстракция жира петролейным эфиром и поправка на зольные вещества, содержащиеся в клетчатке. В данной работе используется упрощенная методика определения клетчатки.

Ход работы. Измельченную навеску плодов или овощей от 5 до 10 г из средней пробы (в зависимости от предполагаемого содержания клетчатки) взвешивают на технических весах в стаканчике и без потерь переносят в коническую колбу вместимостью 200–300 см³. Отмеривают цилиндром 50 см³ раствора серной кислоты с концентрацией 1,25 % и часть раствора используют для переноса навески и для ополаскивания стаканчика, оставшийся раствор выливают в колбу с навеской. В течение 30 мин содержимое колбы кипятят, после чего дают осесть осадку и осторожно декантируют жидкость, не трогая осадка, 2–3 раза осадок промывают водой, каждый раз осторожно сливая надосадочную жидкость. Затем добавляют 50 см³ раствора гидроксида натрия с концентрацией 1,25 % и снова кипятят 30 мин, декантируют надосадочную жидкость и промывают осадок 10 см³ 1,25%-ного раствора серной кислоты, а потом дважды небольшими порциями дистиллированной воды. Переносят количественно осадок на сухой взвешенный бумажный фильтр, высушивают при 105 °С в сушильном шкафу и взвешивают на аналитических весах. Содержание клетчатки вычисляют в процентах к массе сырой навески.

5 Определение титруемой кислотности в плодах или овощах

Титруемой кислотностью называют количество свободных органических кислот и их кислых солей, содержащихся в растительном продукте. Определение кислотности методом титрования основано на способности раствора гидроксида натрия количественно нейтрализовать находящиеся в водной вытяжке из продукта свободные кислоты и их кислые соли.

Ход работы. Измельченную навеску 25 г из средней пробы взвешивают на технических весах в стаканчике и без потерь переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³ горячей дистиллированной водой (80 °С) до 3/4 объема колбы. Содержимое колбы хорошо перемешивают и помещают на 0,5 ч на водяную баню, нагретую до 80–85 °С, периодически встряхивая колбу. По истечении времени настаивания содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки и, закрыв пробкой колбу, тщательно перемешивают. Полученную вытяжку фильтруют через складчатый фильтр, отбирают 50 см³ фильтрата пипеткой в коническую колбу, добавляют индикатор и титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³.

При бесцветных или слабоокрашенных фильтратах используют 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина (3–5 капель). Сильно окрашенные вытяжки разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:1 и титруют в присутствии фенолфталеина не до розового окрашивания, а до изменения цвета вытяжки. При использовании 0,1%-ного спиртового раствора тимолфталеина (10 капель) конец титрования устанавливают по появлению синей окраски, не исчезающей в течение одной минуты.

Титруемую кислотность X (в %) вычисляют по формуле (8):

$$X = \frac{V \times K \times K_T \times 100}{m \times V_2}, \quad (8)$$

где V – количество раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³, пошедшего на титрование, см³; K – коэффициент пересчета на соответствующую кислоту: яблочную – 0,0067; лимонную – 0,0064; винную – 0,0075; K_T – поправка к титру раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³; V_1 – объем вытяжки из продукта в мерной колбе, см³; V_2 – количество фильтрата, взятого для титрования, см³; m – масса навески продукта для анализа, г.

При исследовании семечковых и косточковых плодов, а также томатопродуктов титруемую кислотность вычисляют в пересчете на яблочную кислоту, ягод и цитрусовых – на лимонную, винограда – на винную. Разница между двумя параллельными определениями не должна превышать 0,02 %. Конечный результат выражают как среднее арифметическое из двух параллельных определений, и результат вычисляют с точностью до 0,01 %.

По результатам лабораторной работы необходимо сделать общее заключение по всем образцам плодов или овощей.

2.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Плоды и овощи характеризуются высоким содержанием воды (от 75 до 96 %) и относятся к сочному растительному сырью. Удельный вес плодов и овощей в питании человека значителен по сравнению с другими пищевыми продуктами. Рекомендуемое потребление овощей и бахчевых культур составляет 146 кг, картофеля («второго хлеба») – 96,7 кг, свежих фруктов – 94,9 кг, а сухофруктов – 3,6 кг в год. В сумме годовое потребление плодов и овощей с учетом пересчета сушеных фруктов на свежие (1:4) должно быть 352 кг/год или примерно 1 кг в день. Плоды и овощи являются основными источниками усвояемых минеральных веществ, витаминов (особенно «С», каротина, биофлавоноидов и др.), органических кислот, пищевых волокон (пектиновых веществ и клетчатки), а также моно-, дисахаридов и других углеводов.

Важным для здорового питания является то обстоятельство, что фрукты, бахчевые и большинство овощей употребляются в пищу без кулинарной обработки, натуральные свежие фруктовые соки укрепляют биоэнергетический потенциал организма, очищают и минерализуют кровь.

Плоды и овощи после отделения их от материнских растений (после уборки) представляют собой живые биологические объекты. В них протекают разнообразные сложные физиологические, биохимические и микробиологические процессы. От направленности, скорости и глубины этих процессов зависит химический состав сочного растительного сырья и его пищевая ценность.

Химический состав наиболее распространенных плодов и овощей представлен в таблице 2.1.

Важнейшим показателем пищевой ценности сочного растительного сырья является содержание сухих веществ (суммарное содержание всех плотных веществ, кроме воды). Чем больше воды содержится в плодах и овощах, тем меньше в них сухих веществ, и наоборот. Минимальное содержание сухих веществ отмечается в огурцах, листовых овощах (3–5 %), парниковых томатах. Наибольшее количество сухих веществ содержится в бананах, картофеле, чесноке и хрене. Количество сухих веществ в плодах и ягодах колеблется от 10 до 20 %, в большей части овощей от 5 до 14 %.

Содержание сухих веществ зависит от вида и сорта растений, климатических условий их выращивания, условий перевозки и хранения. Основная часть сухих веществ плодов и овощей представлена углеводами (до 90 %). К углеводам в сочном растительном сырье относятся моно- и дисахара, крахмал, целлюлоза, гемицеллюлоза и пектиновые вещества. Наибольшее содержание сахаров в винограде, бананах, яблоках, хурме, черешне и землянике. Овощи содержат до 4% сахаров, в картофеле больше всего крахмала.

Таблица 2.1 – Химический состав некоторых плодов и овощей, %

Виды плодов и овощей	Вода	Крахмал	Сахароза	Моносахара (глюкоза и фруктоза)	Пектин	Клетчатка	Кислотность	Минеральные вещества
Картофель	76,0	17,7	0,6	0,7	0,5	1,0	0,1	1,1
Капуста белокочанная	90,0	0,5	0,1	4,2	0,6	1,0	0,1	0,7
Морковь	88,0	0,2	3,7	3,5	0,6	1,2	0,1	1,0
Свекла	86,0	0	8,6	0,4	1,1	0,9	0,1	1,0
Томаты грунтовые	92,0	0,3	0,7	2,8	0,3	0,8	0,5	0,7
Лук репчатый	86,0	0	6,5	2,5	0,4	0,7	0,1	1,0
Арбуз	89,0	0	2,0	6,7	0,5	0,5	0,1	0,6
Яблоки	87,0	0,8	1,5	7,5	1,0	0,6	0,7	0,5
Земляника	85,0	0	1,1	5,1	0,7	4,0	1,3	0,4
Виноград	80,0	0	0,5	14,5	0,6	0,6	0,6	0,4
Лимоны	88,0	0	1,0	2,0	0,5	1,3	5,7	0,5
Смородина черная	85,0	0	1,0	5,7	1,1	3,0	2,3	

Свойства сахаров и их изменения при переработке плодов и овощей влияют на выбор технологических режимов обработки и качество готовых продуктов. Сахара хорошо растворяются в воде, поэтому возможны их потери при мойке и тепловой обработке овощей и фруктов. Гигроскопичность сахаров, особенно фруктозы, вызывает поглощение влаги при негерметичной упаковке продукции (сухофруктов, джема, повидла, пастилы и др.).

Плоды, овощи и продукты их переработки необходимо защищать от воздействия микрофлоры, в основном дрожжевых и плесневых грибов, хорошо развивающихся в условиях высокого содержания влаги при наличии сахаров.

Процессы брожения сахаров в присутствии дрожжей лежат в основе квашения и соления овощей.

При нагревании растительного сырья может происходить карамелизация сахаров, реакция их с аминокислотами и образование темноокрашенных веществ (неферментативное покоричневение) с изменением вкуса и цвета продукта. Если нагревание сахарозы происходит в присутствии кислот, то протекает инверсия. Образующиеся при этом глюкоза и фруктоза задерживают процесс засахаривания варенья.

Крахмал запасается главным образом в клубнях картофеля (12–18 %), а также в зеленом горошке и сахарной кукурузе. В других плодах и овощах содержание крахмала не превышает 1 %, а в ягодах и цитрусовых крахмал практически отсутствует.

Свойства крахмала зависят, главным образом, от соотношения амилозы и амилопектина, так как амилоза в горячей воде растворяется, амилопектин ограниченно набухает. Поэтому крахмал растительного сырья имеет разную температуру клейстеризации (от 62 до 73 °С).

Целлюлоза (клетчатка) содержится в плодах и овощах в пределах 0,2–2,0 %. Меньше ее в бахчевых, тыквенных и некоторых фруктах (сливе, хурме). Больше клетчатки в ягодах (до 4,0 %), однако микрофибриллы целлюлозы в них гораздо тоньше и мякоть имеет нежную консистенцию. Повышенное содержание «грубой» клетчатки значительно увеличивает механическую прочность тканей, делает их менее доступными для ферментов, затрудняет проведение технологических операций (протирание, уваривание).

Пектиновые вещества содержатся в плодах и овощах в количестве до 1,0–1,5 %. Они играют большую роль в размягчении тканей при дозревании сырья, оказывают влияние на развариваемость при тепловом консервировании, образование желе, суфле, мармелада, осветление плодовых соков, на отходы при дроблении сырья и т.д. Вместе с клетчаткой пектины несут большую нагрузку в организме человека по очищению желудочно-кишечного тракта, удалению вредных и загрязняющих веществ, созданию нормальных условий для функционирования полезной эндофлоры в толстом кишечнике.

Содержание белков и азотистых веществ в плодах и овощах незначительно и, как правило, не превышает 1,5–2,0 %. Однако они играют определенную роль в питании, так как плоды и овощи употребляются в больших количествах. Например, 1 кг картофеля содержит столько белков, сколько 100 г говядины (лимитирующие аминокислоты – мет. + цис., скор – 70 %). Максимальное содержание белков отмечено в овощных бобовых культурах - зеленом горошке, стручковой фасоли (до 4,5–5,5 %).

Содержание липидов в плодах и овощах незначительно. Они входят в состав покровных тканей, клеточных мембран и репродуктивных органов семячковых и косточковых культур. Большое количество липидов отмечено в ядрах орехов (свыше 50 %).

Свежие плоды и овощи всегда имеют кислую реакцию, так как содержат ряд органических кислот. В зависимости от величины рН их делят на кислотные (рН 2,5–4,2) и некислотные (рН 4,3–6,5). Общая кислотность тканей плодов и овощей не превышает 1,0 %, но у цитрусовых, алычи, кизила и смородины она может быть в несколько раз выше. Из органических кислот доминируют яблочная, лимонная и янтарная, иногда винная и щавелевая.

Кислоты придают специфический вкус плодам, способствуют инверсии сахарозы, процессам желирования пектиновых веществ, повышают стойкость продукции при хранении.

Органические кислоты (в основном яблочная и лимонная) могут служить источником энергии в организме, как и углеводы. Кроме того, они участвуют в регулировании рН среды и способствуют снижению уровня холестерина и общих липидов в крови человека. Винная и щавелевая кислоты практически не усваиваются, а щавелевая к тому же образует с кальцием нерастворимые оксалаты. При избытке щавелевой кислоты возможно образование камней в почках. В виноградных винах винная кислота практически отсутствует, так как выпадает в процессе приготовления в виде винного камня. Янтарная кислота и ее щелочные соли применяются как активная биологическая добавка с целью активизации мышечной работы. В целом потребности организма в органических кислотах составляют 2 г в день.

Плоды и овощи являются уникальным источником полифенолов (биофлавоноидов), представленных дубильными (катехины, танины и их комплексы) и красящими веществами (антоцианами), а также флавонами и флавонолами (рутин, кверцетин, гесперидин и др.). Рутин (гликозид кверцетина, витамин Р) близок по строению к катехинам, которые также обладают Р-витаминной активностью. Полифенолы в организме человека укрепляют стенки кровеносных сосудов, обладают антиокислительным и радиозащитным действием, повышают эффективность использования аскорбиновой кислоты (восстанавливают окислительную форму). Они играют важную роль в процессах устойчивости растений к фитопатогенной микрофлоре. Кроме того, танины обладают сильным вяжущим действием (через свободные ОН-группы), связывая в организме микробные токсины, ядовитые соли ртути и свинца.

Полифенолы, находящиеся в свободной форме, придают незрелым плодам терпкий, вяжущий вкус. При созревании плодов полифенолы переходят в связанное состояние, и терпкий вкус исчезает. При разрушении тканей (разрезании) плодов полифенолы подвергаются ферментативному окислению в присутствии полифенолоксидазы, образуя коричневые и красно-коричневые вещества – флобафены. Для защиты плодов от потемнения осуществляют инактивацию окислительных ферментов путем бланширования (яблоки перед сушкой) или обрабатывают сернистым ангидридом. Потемнение плодов может быть следствием химического взаимодействия дубильных веществ с оксидом железа, а с солями олова они дают розовую окраску. При взаимодействии с белками дубильные вещества образуют нерастворимые соединения, плохо усваиваемые организмом. Больше полифенолов содержится в чае и винограде.

Красящие вещества плодов и овощей представлены хлорофиллом (зеленый цвет), антоцианами (от розового до фиолетового) и каротиноидами (от

желтого до красно-оранжевого цвета). Превращения пигментов влияют на цвет продукта, придавая иногда ему неестественную окраску. Так, при нагреве в кислой среде зеленый хлорофилл становится бурым, антоцианы вишни и черешни дают фиолетовый цвет. Антоцианы винограда изменяют окраску в присутствии железа, олова, меди. В кислой среде они дают красную окраску, а при подщелачивании – голубую.

Эфирные масла локализируются в покровных тканях. Особенно богаты ароматическими веществами пряные овощи (от 0,05 до 1,00 % эфирных масел) и цитрусовые. В кожуре мандаринов содержится до 2,50 % эфирных масел, в луке и чесноке только 0,05–0,10 %. Эфирные масла летучи и легко теряются при обработке сырья.

Плоды и овощи богаты витаминами, и для их сохранения переработку сочного растительного сырья необходимо осуществлять в сжатые сроки, без доступа кислорода, исключая контакт с легко окисляющимися металлами при минимальном тепловом воздействии.

Контрольные вопросы

- 1) Дайте общую характеристику пищевой ценности плодов и овощей.
- 2) Какие виды сырья входят в группу сочного растительного? Что объединяет их?
- 3) Какие изменения пищевых веществ плодов и овощей происходят при обработке?
- 4) Какие химические соединения относятся к дубильным и красящим веществам? На чем основана методика их определения?
- 5) Назовите основные свойства и особенности полифенолов плодов.
- 6) Как определяется содержание пектиновых веществ?
- 7) Почему при анализе пектиновых веществ образуется пектат кальция?
- 8) Каков принцип методики определения содержания клетчатки?
- 9) Какие химические вещества образуют сырую клетчатку в сочном растительном сырье?
- 10) Назовите основные пищевые органические кислоты в плодах и овощах. В чем сущность определения кислотности?

ХИМИЯ ПИЩЕВЫХ ДРОЖЖЕЙ И ПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ (4 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по анализу и определению важнейших показателей качества пищевых дрожжей и продуктов брожения.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 3.2;
- 2) определить химический состав и биохимические показатели пищевых дрожжей и некоторых продуктов брожения;
- 3) ознакомиться с превращениями пищевых веществ при брожении теста, приготовлении пива и виноградных вин;
- 4) освоить методики и получить навыки определения содержания сухих веществ, кислотности, подъемной силы и осмочувствительности дрожжей.

3.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Определение массовой доли влаги в дрожжах

Массовая доля влаги в дрожжах – один из важнейших показателей их качества. Чем она выше, тем дрожжи менее стойки при хранении. Влажность прессованных стандартных дрожжей не должна превышать 75 %.

ГОСТ рекомендует два метода определения массовой доли влаги – высушиванием до постоянной массы и ускоренным методом с помощью прибора марки ВЧМ (влагомер Чижовой модернизированный). Первый метод более точный и является арбитражным, второй используется для внутрипроизводственного контроля.

Ход работы. При определении массовой доли влаги высушиванием до постоянной массы 1,5 г измельченных дрожжей (протертых через сетку с отверстиями диаметром 2–3 мм или раскрошенных ножом) взвешивают на аналитических весах и помещают в сухой, предварительно высушенный и взвешенный бюкс с крышкой. Навеску дрожжей высушивают до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре 105 °С. Первое взвешивание проводят через 4 ч с начала высушивания, последующие – через час. Перед взвешиванием бюкс закрывают крышкой и охлаждают в эксикаторе около 30 мин. Постоянная масса считается достигнутой, если разница между двумя взвешиваниями не превышает 0,001 г.

Содержание влаги в дрожжах вычисляют (в %) по формуле (9):

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m}, \quad (9)$$

где m_1 – масса бюкса с дрожжами до высушивания, г; m_2 – масса бюкса с дрожжами после высушивания, г; m – масса навески дрожжей, г.

Для определения массовой доли влаги ускоренным методом дрожжи высушивают в приборе ВЧМ в пакетах, приготовленных из газетной или ротаторной бумаги размером 20x15 см. Предварительно пустые пакеты сушат в течение 3 мин при температуре 160 °С, помещают в эксикатор на 2–3 мин для охлаждения и взвешивают с погрешностью $\pm 0,001$ г. Массу пакета записывают. Часть средней пробы дрожжей (не менее 20 г) протирают через сетку с отверстиями 2–3 мм и отбирают в каждый пакет навеску массой 5 г с погрешностью $\pm 0,001$ г, закрывают пакеты, помещают в прибор и высушивают при температуре 160–162 °С в течение 7 мин. После высушивания пакеты помещают на 2–3 мин в эксикатор для охлаждения, взвешивают.

Массовую долю влаги (в %) определяют по формуле (10):

$$X = \frac{m_1 - m_3}{m_1 - m_2} \times 100, \quad (10)$$

где m_1 – масса пакета с навеской до высушивания, г; m_2 – масса пустого пакета, г; m_3 – масса пакета с навеской после высушивания, г.

Содержание сухих веществ равно $(100 - X)$, %.

2 Определение кислотности дрожжей

Повышение кислотности дрожжей, прежде всего, свидетельствует о зараженности их кислотообразующими бактериями. Кислотность выражают в миллиграммах уксусной кислоты на 100 г дрожжей. Кислотность кондиционных дрожжей в момент выпуска с завода не должна превышать 120, а после 10 сут хранения или транспортировки при температуре от 0 до 4п °С – 360 мг уксусной кислоты на 100 г дрожжей.

Ход работы. Отвешивают 10 г дрожжей на технических весах с погрешностью $\pm 0,01$ г, в фарфоровой чашке их растирают с 50 см³ дистиллированной воды до получения однородной массы и титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ в присутствии 3–5 капель 1%-ного раствора индикатора фенолфталеина до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение нескольких секунд.

Кислотность дрожжей (в миллиграммах уксусной кислоты в 100 г дрожжей) вычисляют по формуле (11):

$$X = \frac{a \times 6 \times 100 \times K}{10}, \quad (11)$$

где a – объем раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³, израсходованный на титрование, см³; b – количество уксусной кислоты, соответствующее 1 см³ раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³, мг; 10 – навеска дрожжей, г; K – поправочный коэффициент к раствору гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³.

3 Определение подъемной силы дрожжей

Подъемная сила дрожжей характеризует их способность разрыхлять и поднимать тесто. Чем быстрее дрожжи поднимают тесто, тем выше их качество. На подъемную силу дрожжей оказывают влияние многие факторы: свойства данной расы дрожжей, чистота их, полноценность питательной среды, на которой они выращивались, условия выращивания (температура, рН среды, концентрация затора, степень аэрации и т.д.), химический состав дрожжей – с уменьшением содержания белка понижается подъемная сила дрожжей и др.

ГОСТ 171 предусматривает два метода определения подъемной силы дрожжей: по скорости подъема в термостате теста, замешенного по определенной рецептуре и помещенного в формочку определенных размеров, и ускоренный метод – по скорости всплывания шарика теста, предложенный А. И. Островским. Хорошие дрожжи поднимают шарик за 14–20 мин. Если подъем шарика происходит через 24 мин, дрожжи считаются неудовлетворительного качества.

Ход работы. Для определения подъемной силы дрожжей ускоренным методом отвешивают 0,31 г дрожжей с погрешностью до $\pm 0,01$ г и переносят их в фарфоровую чашку, приливают 4,8 см³ нагретого до температуры 35 °С водного раствора хлорида натрия с массовой долей NaCl 2,5 % и тщательно перемешивают шпателем или пестиком. К полученной смеси добавляют 7 г муки, замешивают тесто и придают ему форму шарика. Шарик опускают в стакан с водой, нагретой до температуры 35 °С, и помещают в термостат с той же температурой. Подъемная сила дрожжей характеризуется временем, прошедшим с момента опускания шарика в воду до момента его всплытия. Всплытие происходит тем скорее, чем быстрее увеличивается его объем в результате накопления углекислого газа дрожжами. Плотность свежзамешенного теста – около 1,4. В процессе брожения она уменьшается, и когда плотность шарика станет меньше плотности воды, он всплывает.

4 Определение осмочувствительности дрожжей

Осмочувствительность – это свойство дрожжей не снижать ферментативную активность в средах с повышенным осмотическим давлением. Осмочувствительные хлебопекарные дрожжи медленнее

поднимают тесто с повышенным содержанием сахара или соли. Метод определения осмочувствительности основан на сравнительной оценке подъемной силы в тесте без соли и с повышенным содержанием соли.

Примерные величины осмочувствительности дрожжей (мин):

Хорошая – 1...10

Удовлетворительная – 10...20

Плохая – более 20

Ход работы. На технических весах отвешивают две навески дрожжей по 0,31 г каждая с погрешностью до $\pm 0,01$ г. К первой навеске добавляют 4,8 см³ дистиллированной воды с температурой 35 °С и 7 г муки. Замешивают тесто и формуют его в форме шарика. Шарик опускают в стакан с водой температурой 35 °С. Время опускания шарика в воду записывают.

Ко второй навеске дрожжей добавляют 4,8 см³ раствора хлористого натрия с концентрацией 3,35 % и температурой 35 °С. Отмечают время всплытия шарика. Быстроту подъема каждого шарика, выраженную в минутах, умножают на коэффициент 3,5. Разница между полученными значениями подъемной силы для теста без соли и с повышенным содержанием соли характеризует степень осмочувствительности дрожжей.

5 Определение содержания этилового спирта в винах пикнометром

Исследуемое вино подвергают перегонке. Плотность полученного дистиллята определяют с помощью пикнометра. По плотности дистиллята в специальных таблицах находят содержание этилового спирта в вине в объемных процентах.

Ход работы. Совершенно сухой пикнометр вместимостью 50 см³ взвешивают, находя его «водное число», наполняют исследуемым вином и доводят до метки при температуре 20 °С после выдерживания в водяной бане при этой температуре в течение 30 мин. Для регулирования температуры можно пользоваться термостатом. Затем вино переливают в перегонную колбу вместимостью 500–750 см³. Соединенную с вертикально поставленным холодильником через каплеуловитель. При этом пикнометр необходимо ополаскивать небольшими порциями дистиллированной воды не менее трех раз и сливать воду в перегонную колбу.

Общий объем воды не должен превышать 1/3 взятого для анализа вина. Аппарат для перегонки соединяют тщательно, чтобы избежать потери паров спирта в процессе перегонки, и медленно начинают перегонку.

Для сбора дистиллята используют тот же пикнометр, которым отмеривали испытуемый напиток. Нижний конец конденсационной трубки холодильника соединяют с аллонжем, имеющим в верхней части шариковое расширение. До начала перегонки в пикнометр необходимо налить немного

дистиллированной воды так, чтобы конец аллонжа погружался в воду, создавая водяной затвор, задерживающий пары спирта в начале перегонки вина. Во время перегонки дистиллят периодически перемешивают вращением пикнометра.

После отгонки более половины объема взятого вина дальнейшую перегонку ведут без водяного затвора. При этом конец аллонжа смывают 5 см³ дистиллированной воды. Отгонку прекращают, когда пикнометр наполнится на 4–5 см³ ниже метки.

Содержимое пикнометра тщательно перемешивают вращательным движением, выдерживают в термостате или в водяной бане в течение 30 мин при 20 °С, доводят до метки дистиллированной водой, выдерживают, вытирают досуха и взвешивают.

Относительную плотность дистиллята определяют по формуле (12):

$$d = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}, \quad (12)$$

где m – масса пустого пикнометра, г; m_1 – масса пикнометра с водой при 20 °С; m_2 – масса пикнометра с дистиллятом, г.

Плотность выражают числом с четырьмя десятичными знаками. По относительной плотности при помощи таблицы 3.1 находят содержание спирта в вине в объемных процентах (с точностью до 0,1 %).

Например, если относительная плотность дистиллята 0,9785, то содержание этилового спирта в вине будет 17,0 % по объему. При несовпадении экспериментальных данных с приведенными в таблице 3.1 промежуточные значения необходимо вычислять методом интерполяции.

Если температура дистиллята отклоняется от 20 °С не более чем на ±3 °С, крепость дистиллята и, следовательно, крепость вина можно подсчитать приближенно, пользуясь следующими поправками: при содержании спирта в вине до 9 % по объему поправка на 1 °С составляет 0,1 %; от 9 до 12,5 % – 0,12 %; от 12 до 15 % – 0,15 %. Если температура при измерении выше 20 °С, то поправку вычитают, при температуре ниже 20 °С – прибавляют.

Таблица 3.1 – Зависимость содержания этилового спирта в объемных процентах от относительной плотности дистиллята

Относительная плотность дистиллята	Содержание этанола, % по объему	Относительная плотность дистиллята	Содержание этанола, % по объему
0,9847	11,51	0,9796	16,00
0,9841	12,02	0,9791	16,45

Относительная плотность дистиллята	Содержание этанола, % по объему	Относительная плотность дистиллята	Содержание этанола, % по объему
0,9835	12,54	0,9785	17,01
0,9829	13,06	0,9780	17,47
0,9824	13,50	0,9774	18,03
0,9818	14,03	0,9769	18,50
0,9813	14,48	0,9758	19,55
0,9807	15,01	0,9753	20,02
0,9802	15,46	0,7937	абсолютный спирт

3.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Дрожжи применяются при производстве хлеба и хлебобулочных изделий, пива, вина и спирта. Важнейшим процессом при производстве хлеба и хлебобулочных изделий является брожение теста. Брожение начинается от замеса теста и заканчивается в начале выпечки. Цель брожения – разрыхление теста, придание ему необходимых структурно-механических свойств и накопление в нем веществ, обеспечивающих вкус, аромат и цвет готового изделия. Дрожжами осуществляется спиртовое брожение, в результате которого сахара превращаются в этиловый спирт и углекислый газ. Дрожжи сбраживают собственные сахара муки, а также мальтозу, которая получается в тесте из крахмала под действием содержащейся в муке β -амилазы. Мальтоза сбраживается после ее гидролиза α -глюкозидазой, имеющейся в дрожжах.

Скорость брожения зависит от температуры, кислотности среды, качества дрожжей и повышается при увеличении их дозировки, возрастании активности, а также достаточном содержании моно- и дисахаров, аминокислот, фосфорнокислых солей для питания дрожжей. В некоторых случаях для интенсификации брожения вносят промышленные амилолитические ферментные препараты типа амилооризина.

Вместе со спиртовым происходит и молочнокислое брожение, вызываемое молочнокислыми бактериями (попадают с мукой, из воздуха и т.д.). При снижении влажности и температуры теста с большой скоростью развиваются гетероферментативные молочнокислые бактерии, которые, кроме молочной кислоты образуют уксусную, винную, лимонную и другие кислоты. Поэтому резко возрастает кислотность теста и ухудшается вкус хлеба. В пшеничном тесте преобладает спиртовое, а в ржаном –

молочнокислое брожение. Оптимальная температура для спиртового брожения в тесте 35 °С, а для молочнокислого – от 35 до 40 °С. Повышение температуры брожения ведет к значительному росту кислотности теста. Для предотвращения этого брожение рекомендуется проводить при температуре в пределах от 26 до 32 °С. В начале выпечки изделий спиртовое брожение внутри теста ускоряется, достигает максимума и при 50 °С прекращается в связи с отмиранием дрожжевых клеток. При 60 °С останавливается жизнедеятельность кислотообразующих бактерий, а повышение объема хлеба происходит за счет теплового расширения газов внутри пропекаемого теста. Денатурированные белки уплотняются и закрепляют достигнутую хлебом форму.

Дрожжи прессованные вырабатываются специализированными предприятиями – дрожжевыми заводами для хлебопекарной промышленности, витаминной промышленности для получения витаминов D и B₂, медицинской – для получения ряда лекарственных препаратов, нуклеиновых кислот и ферментов и микробиологической – для приготовления питательных сред.

Дрожжи – это почкующиеся или делящиеся одноклеточные микроорганизмы, относящиеся к классу грибов. В производстве хлебопекарных дрожжей культивируют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, называемые сахаромецетами. Такие дрожжи сбраживают и усваивают глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу. Один грамм прессованных дрожжей содержит около 15 млрд дрожжевых клеток.

Основным сырьем для получения дрожжей на специальных заводах является кормовая патока (меласса), образующаяся как отход при свеклосахарном производстве. Меласса представляет собой сиропообразную жидкость темно-бурого цвета со специфическим запахом. Содержит 20–25 % воды, около 9 % азотистых веществ (преимущественно амидов), 58–60 % углеводов, главным образом сахаров, и 7–10 % минеральных веществ.

Процесс производства прессованных дрожжей сводится к размножению дрожжевых клеток в строго определенных условиях в разведенном маточном сусле, отделению сепаратором дрожжевых клеток от бражки, промыванию их водой, прессованию и формовке в пачки стандартной массы.

Химический состав дрожжей колеблется в широких пределах и определяется расой дрожжей, составом питательной среды, условиями выращивания. В среднем в состав дрожжей входит 67–75 % воды и 25–33 % сухих веществ. Часть воды находится внутри, в цитоплазме дрожжей, другая часть – в межклеточных пространствах.

В сухих веществах дрожжей содержатся азотсодержащие белковые и небелковые вещества. Около 45–50 % сухого вещества представлено азотистыми веществами, 7,6–8,5 % составляют минеральные вещества, 1,6–2,0 % – сырой жир. Остальное количество – 40–41 % сухого вещества составляют главным образом углеводы: гликоген, клетчатка, гемицеллюлоза. Углеводы входят в состав протоплазмы и оболочек дрожжевых клеток.

Основная часть азотистых веществ дрожжей (64–65 %) является белками, нуклеопротеиды составляют 26 %, амиды и пептоны (10 %). Белки дрожжей полноценны, так как содержат все незаменимые аминокислоты (лимитирующие – мет. + цис., скор – 84 %). Среди небелковых азотистых веществ дрожжей содержится трипептид глутатион (глю-цис-гли). Глутатион имеет сульфгидрильную группу и способен к окислительно-восстановительным превращениям. В восстановленной форме глутатион активирует протеиназы. В процессе хранения дрожжей в неблагоприятных условиях, особенно при повышенной температуре, возрастает количество восстановленного глутатиона, легко переходящего в водный раствор. Благодаря этому усиливается действие протеиназ дрожжей, и дрожжи разжижаются. Восстановленная форма глутатиона переходит в тесто, протеолиз теста возрастает, и физические свойства его ухудшаются.

Дрожжи содержат 35–40 % углеводов в пересчете на сухие вещества. Углеводы входят в состав протоплазмы и оболочек дрожжевых клеток. Из полисахаридов это гликоген, маннан, глюкан.

Гликоген – запасное вещество. В дрожжах содержатся несколько фракций гликогена. Растворимая в растворах гидроокисей фракция входит в состав цитоплазмы, кислоторастворимая является структурным компонентом оболочки и связана с маннаном. Маннан составляют 30 % общего числа углеводов. Это опорный полисахарид клетки, он входит в состав стенки клетки дрожжей и состоит в основном из маннозы. Глюкан – это полиглюкозид, он также является компонентом стенки клеток, ответственным за ее форму.

Дрожжи содержат дисахарид трегалозу, используемую клеткой, как и гликоген, в качестве энергетического материала.

Около 2 % сухих веществ составляет жир. Жир входит в состав протоплазмы клеток в виде сложных комплексов, представляющих собой основной структурный материал клетки. Жир необходим клетке и как запасное вещество для получения энергии. В состав жиров входят такие жирные кислоты, как пальмитиновая, стеариновая, олеиновая. Из жироподобных веществ дрожжи содержат липоиды, фосфатиды и эргостерин.

Минеральные вещества дрожжей представлены фосфором, калием, кальцием, магнием, железом, натрием, серой и другими элементами. Примерно половина всей золы приходится на P_2O_5 и около одной трети – на K_2O . В составе дрожжевых клеток содержатся многие витамины, прежде всего водорастворимые: B_1 (тиамин), B_2 (рибофлавин), B_6 (пиридоксин), витамин PP (никотиновая кислота), пантотеновая кислота, витамин H (биотин), инозит, фолиевая кислота. Дрожжи также содержат провитамин D, который при действии ультрафиолетового облучения образует витамин D_2 . Дрожжевую клетку можно сравнить с очень сложным и своеобразным химическим производством, в котором протекают от 500 до 1000 различных реакций,

обеспечивающих весь её метаболизм, получение необходимых веществ и энергии из окружающей среды. Во всех этих реакциях участвуют ферменты, многие из которых (инвертаза, мальтаза, карбоксидаза, гликогеназа, фосфатаза и др.) входят в состав зимазного комплекса, вызывающего спиртовое брожение. Активность ферментов дрожжей условно выражается мальтазной и зимазной активностью.

Мальтазная активность – время в минутах, необходимое для выделения 10 см³ углекислого газа в процессе сбраживания 10–20 см³ 5%-ного раствора мальтозы при 30 °С дрожжами, взятыми в количестве 2,5 % к объему среды. Этот показатель учитывается при подборе рас хлебопекарных дрожжей для производства хлебобулочной продукции.

Зимазная активность – время в минутах, требующееся для образования 10 см³ углекислого газа в процессе сбраживания 10–20 см³ 5%-ного раствора глюкозы при 30 °С дрожжами, взятыми в количестве 2,5 % к объему среды.

Дрожжи хорошего качества должны иметь мальтазную активность не более 100 мин, а зимазную – не более 60 мин.

Для производства пива используются специальные расы дрожжей – сахаромицеты низового и верхового брожения. Дрожжи низового брожения широко используются в пивоварении для приготовления стандартного и сортового пива. Для темных и специальных сортов пива применяют дрожжи верхового брожения. Дрожжи в производстве пива используют до 10–12 раз, перед повторным использованием их специально подготавливают (промывают и активируют). В процессе брожения биомасса дрожжей обычно повышается в 3–4 раза. Активное размножение их нежелательно, так как приводит к быстрому расходу экстракта сусле и к образованию в больших количествах побочных продуктов.

Пивоваренные дрожжи для получения высококачественного пива должны обладать высокой бродильной активностью, флокуляционной способностью (медленно и полно оседать на дно бродильных аппаратов), умеренной способностью к размножению, стойкостью к неблагоприятным условиям и к инфицированию, стабильностью морфологических и физиологических свойств и придавать пиву в результате брожения характерные вкус и аромат.

Технология пива включает производство солода, приготовление пивного сусле, брожение пивного сусле, осветление и розлив пива.

Для производства солода ячмень пивоваренных сортов замачивают, проращивают в определенных условиях и сушат. В процессе солодоращения в зерне накапливаются активные амилалитические и протеолитические ферменты. Свежепроросший солод сушат при повышенной температуре для накопления в нем ароматических веществ, придающих пиву характерные вкус и запах.

Приготовление суслу – сложная технологическая операция. Дробленый солод смешивают с теплой водой, при этом происходит ферментативное расщепление крахмала, белков и других веществ, а также экстрагирование растворимых веществ водой. Приготовление суслу производят в несколько приемов, регулируя температуру и создавая лучшие условия для действия амилолитических и протеолитических ферментов. Под их действием 75 % сухого вещества солода переходит в раствор.

Отфильтрованное пивное суслу кипятят с хмелем. При этом происходит коагуляция белков, инактивация ферментов, стерилизация суслу, а также его хмеление – экстрагирование горьких и ароматических веществ из хмеля, которые обладают бактерицидным действием.

Спиртовое брожение сахаров суслу под действием ферментов дрожжей – основной процесс в производстве пива, подразделяемый на главное брожение и дображивание. Низовое брожение протекает при температуре 6–10 °С в течение 7–10 сут. После главного брожения получают так называемое молодое «зеленое» пиво – напиток со своеобразным вкусом и ароматом, с содержанием небольшого количества дрожжей (основная их масса оседает). Дображивание и созревание молодого пива происходят в герметично закрытых танках при температуре 0–2 °С под избыточным давлением (0,03–0,07 МПа) в течение 21–90 сут. При дображивании и созревании в молодом пиве протекают сложные биохимические и физико-химические процессы, после которых пиво приобретает товарные свойства. Готовое пиво осветляют сепарированием (фильтрованием), охлаждают, дополнительно насыщают диоксидом углерода и разливают в тару. Обычное пиво содержит от 1,2 до 6,0 % спирта.

Виноградные вина получают сбраживанием виноградного суслу с мезгой или без нее. Содержание спирта в виноградных винах колеблется от 9 до 20 %. Химический состав вина довольно сложный и, кроме этилового спирта, сахаров и органических кислот, в вине содержатся дубильные (катехины, танины), красящие (антоцианы), ароматические вещества, витамины, минеральные соли. Энергетическая ценность 1 г этанола – 7,0 ккал. Алкогольные напитки не рекомендуются детям, беременным женщинам и пожилым людям.

Контрольные вопросы

- 1) Какие виды дрожжей применяются в пищевой технологии? Объясните химизм действия дрожжей.
- 2) Как получают дрожжи в промышленности? Назовите химический состав хлебопекарных дрожжей.
- 3) Как влияют дрожжи на пищевую ценность хлеба?
- 4) Что понимают под мальтазной и зимазной активностью дрожжей?
- 5) Чем отличается и какое значение имеет молочнокислое брожение?

- 6) Как определяется влажность и кислотность дрожжей? Каково значение этих показателей для качества дрожжей?
- 7) Что называют подъемной силой дрожжей? Каков принцип определения подъемной силы ускоренным методом?
- 8) На чем основано определение осмочувствительности дрожжей?
- 9) Как определить содержание спирта в продуктах?

ХИМИЯ МЯСА И МЯСОПРОДУКТОВ (4 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по анализу и определению важнейших показателей качества мяса и мясопродуктов.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 4.2;
- 2) ознакомление с методиками и приобретение навыков анализа показателей, определяющих технологические свойства, свежесть, качество и пищевую ценность мяса;
- 3) сделать заключение о качестве представленных образцов мяса на соответствие нормативным документам.

4.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Реакция на аммиак

Аммиак находится в вытяжке из мяса бóльшей частью в виде солей (например, хлористого аммония). Установлено, что вытяжка из свежего мяса после прибавления к ней десяти капель реактива Несслера совершенно не изменяется или наблюдается слабое пожелтение, но вытяжка остается прозрачной. Слабое помутнение и пожелтение вытяжки после действия шести и более капель реактива с появлением осадка на дне пробирки после 20 мин – показатель сомнительной свежести мяса. Помутнение и пожелтение вытяжки от первых капель реактива, сильное пожелтение или появление красноватой окраски с одновременным помутнением после добавления десяти капель реактива и последующим образованием обильного осадка при отстаивании – показатель испорченного мяса.

Ход работы. Для приготовления вытяжки 5 г фарша помещают в коническую колбу, заливают 50 см³ воды и настаивают 10 мин, трижды встряхивая, затем фильтруют через бумажный фильтр. В пробирку наливают 1 см³ водной вытяжки из мяса и добавляют реактив Несслера по каплям, вплоть до десяти капель. После добавления каждой капли пробирку взбалтывают и наблюдают за изменением цвета и прозрачности, сравнивая с контрольной пробиркой, в которой содержится 1 см³ вытяжки без реактива Несслера.

2 Реакция с бензидином

Ход работы. Данная реакция показывает активность пероксидазы. В пробирку наливают 2 см³ водной вытяжки из мяса и добавляют к ней пять капель 0,2%-ного спиртового раствора бензидина и две капли 0,5%-ного раствора перекиси водорода. Вытяжка из свежего мяса дает синюю окраску в течение 1 мин, а затем переходит в коричневую. Вытяжка из мяса сомнительной свежести дает менее интенсивную окраску и значительно позже (через 2–3 мин), после чего окраска переходит в коричневую.

Вытяжка из испорченного мяса не дает синей окраски, и цвет ее непосредственно переходит в коричневый.

3 Реакция на сероводород

Ход работы. В маленький стаканчик помещают 10 г мяса, покрывают листом плотной белой бумаги, на нижнюю поверхность которого нанесена капля щелочного раствора уксуснокислого свинца (ацетата свинца, реактив № 8). При наличии в мясе сероводорода через 5–15 мин капля темнеет вследствие образования сернистого свинца.

4 Реакция с сернокислой медью в бульоне

Ход работы. В бульоне, приготовленном из мяса, белки коагулируют и удаляются фильтрованием. В фильтрате остаются продукты распада белков, которые осаждаются сернокислой медью, причем интенсивность образования осадка зависит от количества продуктов распада белков. При порче мяса в приготовленном из него бульоне при взаимодействии с раствором сернокислой меди наблюдается помутнение, затем образование хлопьев. В бульоне из мяса с явными признаками порчи наблюдается значительное накопление продуктов распада белков, при взаимодействии с раствором сернокислой меди выпадает окрашенный желеобразный осадок. Поэтому реакция с сернокислой медью является объективным показателем свежести мяса.

В коническую колбу емкостью 150–200 см³ помещают 20 г фарша и наливают 60 см³ дистиллированной воды, содержимое тщательно перемешивают. Колбу закрывают часовым стеклом и ставят на кипящую водяную баню на 10 мин. Горячий Бульон фильтруют в пробирку через фильтровальную бумагу. В пробирку наливают 2 см³ остывшего бульона и добавляют три капли 5%-ного водного раствора сернокислой меди. Пробирку встряхивают 2–3 раза и ставят в штатив. Через 5 мин отмечают результаты реакции.

Если бульон остается прозрачным или в нем образуется легкое помутнение, то мясо свежее. Если в бульоне образуются хлопья – мясо сомнительной свежести, а при выпадении желеобразного сине-голубого или зеленоватого осадка мясо считается испорченным.

5 Определение содержания аминокислотного азота

Ход работы. Навеску образца мяса 20 г растирают в ступке и количественно переносят водой в мерную колбу вместимостью 200 см³, доливая до 2/3 объема. Содержимое колбы встряхивают на механической мешалке 15 мин, затем помещают в кипящую водяную баню на 10 мин для коагуляции белков. После извлечения из бани колбу охлаждают холодной водой, доводят содержимое дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу.

В коническую колбу берут 25 см³ фильтрата для титрования. Добавляют 5 капель раствора фенолфталеина и осторожно по каплям нейтрализуют раствором гидроксида натрия (0,1 моль/дм³) до слабо-розового окрашивания.

К нейтрализованному фильтрату добавляют 10 см³ формалина, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину. Содержимое колбы хорошо перемешивают и титруют раствором гидроксида натрия (0,1 моль/ дм³) до слабо-розового окрашивания.

Параллельно проводят точно так же контрольный опыт, но вместо фильтрата берут 25 см³ воды.

Содержание аминного азота (азота конечных аминогрупп) вычисляют (в мг%) по формуле (13):

$$AA = \frac{(V_1 - V_2) \times 1,4 \times K \times V_3 \times 100}{m \times V_4}, \quad (13)$$

где V_1 – количество 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия, израсходованное на титрование в рабочей пробе после добавления формалина, см³; V_2 – количество раствора гидроксида натрия, пошедшее на титрование в контрольной пробе, см³; 100 – количество воды, взятой для экстракции, см³; V_3 – объем мерной колбы, см³; V_4 – объем фильтрата, взятый для титрования, см³; K – коэффициент нормальности 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия; 1,4 – количество аминного азота, соответствующее 1 см³ точно 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия, мг; m – масса навески образца мяса, г.

6 Определение влагопоглощаемости мяса

Ход работы. Для определения влагопоглощаемости применяются среднефильтрующие (с белой полосой) или медленно фильтрующие (с синей полосой) беззольные фильтры диаметром 9–11 см, которые доводят до содержания влаги в них 8–9 %. Для этого фильтры в слабосвязанных пачках помещают на 3 сут в эксикатор над насыщенным раствором хлорида калия. При более продолжительном хранении в эксикаторе фильтры переувлажняются. Затем фильтры упаковывают в полимерную пленку и хранят в холодильнике.

Перед анализом фильтр помещают на плексигласовую пластинку размером 11x11 см. Навеску мясного фарша 0,3 г отвешивают на кружке из полиэтиленовой пленки и переносят ее на фильтр так, чтобы навеска оказалась внизу под кружком полиэтилена. Сверху навеску накрывают такой же пластиной, как и нижняя, устанавливают на ней груз массой 1 кг и продолжают прессование 10 мин. После этого фильтр с навеской освобождают от нагрузки и нижней пластины, а затем карандашом очерчивают контур пятна вокруг спрессованного мяса. Контур всего пятна вырисовывается сам при высыхании фильтровальной бумаги на воздухе. Контуров пятен переводят через копировальную бумагу на миллиметровку и определяют их площадь (в см²). Размер влажного пятна вычисляют по разности между общей площадью пятна от выделившейся влаги и площадью внутреннего пятна, образованного отпрессованным мясом (характеризует нежность мяса).

Экспериментально установлено, что 1 см² площади влажного пятна соответствует 8,4 мг воды. Содержание связанной воды (в % к массе мяса) находят по формуле (14):

$$X = \frac{(a-8,4 \times b) \times 100}{m}, \quad (14)$$

где a – общее содержание влаги в навеске, мг; b – площадь влажного пятна, см²; m – навеска мяса, мг.

7 Определение летучих жирных кислот

Метод основан на выделении летучих жирных кислот, накопившихся при хранении мяса, и определении их количества титрованием дистиллята раствором гидроксида натрия или калия. Для вытеснения летучих жирных кислот из солей применяют серную кислоту, одновременно связывающую основания, в том числе и летучие.

В 25 г свежего мяса содержится летучих жирных кислот до 4 мг КОН, в мясе сомнительной свежести – от 4,1 до 9 мг КОН, в несвежем мясе – свыше 9 мг.

В 25 г свежего мяса тушек нежирной птицы содержится летучих жирных кислот до 4,5 мг КОН, в мясе сомнительной свежести – от 4,51 до 9 мг КОН, а в несвежем мясе – свыше 9 мг КОН.

Мясо кролика считают свежим, если в 25 г охлажденного мяса содержится летучих жирных кислот до 2,25 мг КОН, в замороженном – до 4,50 мг КОН. Мясо считают сомнительной свежести, если в 25 г охлажденного мяса содержится летучих жирных кислот 2,25–9,00 мг КОН, в замороженном – 4,50–13,50 мг КОН; в несвежем – соответственно более 9,00 и 13,50 мг КОН.

Ход работы. Для анализа используют прибор для отгонки летучих веществ с помощью водяного пара (рисунок 4.1). Навеску мясного фарша массой $(25 \pm 0,01)$ г помещают в круглодонную колбу (3). Туда же приливают 150 см^3 раствора серной кислоты массовой долей 2 %. Содержимое колбы перемешивают и колбу закрывают пробкой (2). Под обратный холодильник (4) подставляют коническую колбу (5) вместимостью 250 см^3 , на которой отмечают объем 200 см^3 . Дистиллированную воду в плоскодонной колбе (1) доводят до кипения и паром отгоняют летучие жирные кислоты до тех пор, пока в колбе (5) не соберется 200 см^3 дистиллята. Во время отгона колбу (3) с навеской подогревают. Весь объем дистиллята титруют в колбе (5) раствором гидроксида калия (натрия) молярной концентрацией $0,1 \text{ моль/дм}^3$ с индикатором (раствором фенолфталеина) до появления исчезающей малиновой окраски.

Параллельно при тех же условиях проводят контрольный опыт для определения расхода раствора гидроксида натрия, пошедшего на титрование дистиллята с реактивом без мяса.

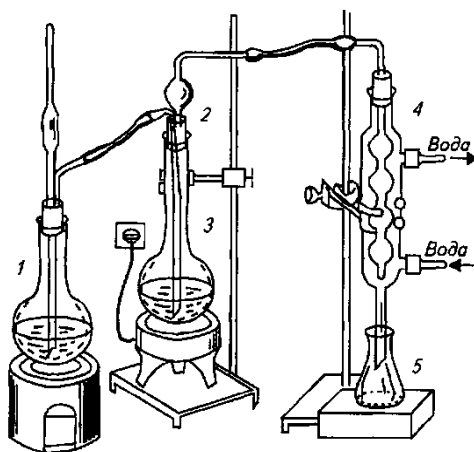


Рисунок 4.1 – Прибор для отгонки летучих веществ из мяса с помощью водяного пара: 1, 3 – круглодонные колбы; 2 - пробка; 4 – обратный холодильник; 5 – плоскодонная колба

Содержание летучих жирных кислот (мг КОН на 100 г мяса) вычисляют по формуле (15):

$$X = \frac{(V - V_1) \times K}{2}, \quad (15)$$

где V – объем раствора гидроксида калия (натрия) молярной концентрацией $0,1 \text{ моль/дм}^3$, израсходованного на титрование 200 см^3 дистиллята из мяса, см^3 ; V_1 – объем раствора гидроксида калия (натрия)

молярной концентрацией $0,1 \text{ моль/ дм}^3$, израсходованного на титрование 200 см^3 дистиллята – контроля, см^3 ; K – поправка к титру раствора гидроксида калия (натрия) молярной концентрации $0,1 \text{ моль/дм}^3$.

За результат исследования принимают среднее арифметическое двух параллельных определений. Вычисления проводят с точностью до $0,01 \text{ мг КОН}$.

По результатам лабораторной работы сделайте общее заключение по всем образцам.

4.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Мясо представляет собой тушу или части туши, полученные от убоя скота, представляющие собой совокупность мышечной, жировой, соединительной и костной (или без нее) тканей. В состав мяса входят также хрящевая и нервная ткани, кровь и лимфа, однако нервная ткань и лимфа содержатся в весьма незначительных количествах и практически не влияют на свойства мяса.

Содержание тканей в мясе и их свойства зависят от вида животного, его породы, пола, возраста, упитанности и хозяйственного назначения.

Органолептические свойства (нежность, вкус, запах, цвет), пищевая ценность (морфология, химический состав, энергетическая ценность, усвояемость) и технологические свойства готовых изделий из мяса разных видов животных различны.

Мясо и мясопродукты являются основным компонентом нашего рациона питания. Пищевая ценность мяса заключается в его повышенной энергетической ценности, сбалансированности аминокислотного состава белков, наличии биологически активных веществ, высокой усвояемости.

Пищевую ценность любого продукта питания в первую очередь определяют питательные свойства его составных частей, их биологическая ценность, доступность к усвоению.

Количественно преобладающими компонентами мясных продуктов являются белки, липиды (преимущественно триглицериды) и вода. Кроме того, в их состав входят витамины, вещества, стимулирующие секреторно-моторную деятельность пищеварительного аппарата, а также другие природные и искусственно вводимые вещества.

Мясные продукты являются, прежде всего, источником необходимых организму белковых веществ. Биологическая роль белковых веществ состоит в том, что они являются материалом для синтеза структурных элементов белков организма человека, ферментов и гормонов. На этом основании белковые вещества подразделяют на полноценные и неполноценные. К полноценным относят белки, в состав молекул которых входят и радикалы так называемых незаменимых аминокислот (аргинина, гистидина, валина, лейцина, изолейцина,

триптофана, метионина, лизина, фенилаланина, треонина). Годовая потребность человека в полноценном белке – 20 кг. Мясо – это один из основных источников полноценного белка.

Вторым компонентом, преобладающим количественно в составе мяса, является жир, представленный в основном триацилглицеринами (триглицеридами). Биологическая роль триацилглицеринов, во-первых, состоит в том, что они являются в организме источником энергии. Правда, в этом отношении они вполне заменимы углеводами. Но калорийность триглицеридов примерно вдвое выше, чем углеводов, и, кроме того, триацилглицерины могут откладываться в организме в виде запасов. При этом триацилглицерины образуют буферные прослойки, предохраняющие некоторые внутренние органы от повреждений при резких изменениях положения тела. Кроме того, триацилглицерины содержат не синтезируемые в организме человека высоконепредельные жирные кислоты и жирорастворимые витамины.

Роль углеводов мяса (гликогена и глюкозы) определяется их участием в биохимических процессах созревания мяса, формировании вкуса, аромата, изменений консистенции, величины pH, нежности.

В составе сырого мяса имеется полный набор водорастворимых (В1, В2, РР, В6, пантотеновая кислота, биотин, фолиевая кислота, холин) и жирорастворимых (А, Д, Е, К,) витаминов, регулирующих рост и физиологические процессы.

Минеральные вещества мышечной ткани (соединения К, Na, Са, Mg, Fe, Zn и др.) участвуют во многих обменных процессах и в образовании буферных систем, влияют на степень растворимости и набухания белков.

Азотистые экстрактивные вещества участвуют в создании специфического аромата и вкуса мяса, способствуют улучшению органолептических показателей и стимулируют секреторную деятельность пищеварительного аппарата.

В составе мяса и большинства мясных продуктов вода является преобладающим компонентом и связана с остальными веществами мяса. Для различных видов мясных изделий количество воды, формы ее связи и их прочность существенно отличаются. Количество воды в мясных продуктах не только обуславливает интенсивность переваривания компонентов мяса, но и продолжительность хранения в связи с возможным развитием в ее присутствии микрофлоры.

В то же время мясо и мясопродукты могут служить источником веществ, оказывающих вредное влияние на организм человека. Внедрение в производство интенсивных технологий выращивания животных с использованием стимулирующих препаратов приводит к увеличению остаточного содержания ветеринарных препаратов в мясе и мясопродуктах, которые неблагоприятно влияют на здоровье человека.

Применяемые в животноводстве корма и растительный фураж содержат остатки пестицидов, попадающие по пищевым цепям в мясо и мясопродукты и через них в организм человека.

Кроме этого, ухудшение экологической обстановки в целом в стране приводит к загрязнению пищевых продуктов, в том числе мясных, тяжелыми металлами, нитрозаминами и другими токсикантами.

В силу важности и глобального характера проблемы контроля за содержанием в мясных продуктах различных токсикантов особое значение приобретает товароведная, гигиеническая и ветеринарно-санитарная экспертиза мяса и мясных продуктов.

Мясо и мясопродукты – основной источник полноценных белков животного происхождения, а также животных жиров, минеральных веществ и некоторых витаминов. Рекомендуемое потребление мяса и мясопродуктов составляет 74,8 кг/год или 205 г/день. Мясные продукты – одни из самых дорогих в продуктовой корзине (в ней 25 наименований), но не всегда содержание белков в них коррелирует с ценами. Имеется ряд недорогих мясных полуфабрикатов и мясопродуктов, не уступающих по содержанию белков высокоценной гастрономической продукции. Необходимо учесть, что мясом называют часть туши животного, состоящую из мышечной ткани (39–62 %), жировой (3–45 %), нервной и соединительной (6–12 %), хрящевой и костной (10–35 %) тканей в их естественном соотношении с остаточным (0,8–1,0 %) количеством крови. В зависимости от упитанности, возраста животных, места отруба и содержания мышечной ткани мясо делят на I и II категории и вырезки (поясничная часть, тазобедренная и т.д.).

Химический состав (в %) различных видов и категорий мяса и некоторых мясных отрубов представлен в таблице 4.1.

Мясо молодых животных и мясные отруба из них содержат меньше жира. Самое нежирное мясо, с высоким содержанием белков отмечается у диких животных (лося, косули). Больше всего жира содержится в свинине, а также в тушках гусей. Как правило, мясо II категории отличается более высоким содержанием белков по сравнению с мясом I категории. Меньше всего воды в мясе свиней и в тушках гусей, их мясо обладает самой высокой энергетической ценностью – более 300 ккал на 100 г.

Самым ароматным после кулинарной обработки является мясо свиней, баранина (от молодых животных) и созревшая говядина от яловых коров и взрослых телок (до трех лет). Свинина переваривается дольше, чем говядина и баранина, но имеет более высокую степень усвоения белков. Лучшим вкусом обладает так называемое «мраморное мясо» крупного рогатого скота, которое содержит межмышечный жир.

Белое мясо (грудки) у птицы имеют только куры и индейки, мясо гусей и уток имеет темную окраску и в основном подкожный жир, вытапливающийся при жарке.

Таблица 4.1 – Химический состав различных видов и категорий мяса

Вид мяса	Влага, %	Белок, %	Жиры, %	Зола, %
Говядина I категории	64,5	18,6	16,0	0,9
Говядина II категории	69,2	20,0	9,8	1,0
Говядина - тазобедренный	72,4	20,2	6,4	1,0
Телятина I категории	77,3	19,7	2,0	1,0
Свинина мясная	51,5	14,3	33,3	0,9
Свинина жирная	38,4	11,7	49,3	0,6
Свинина беконная	54,2	17,0	27,8	1,0
Окорок	53,9	15,0	30,3	0,8
Мясо поросят	75,4	20,6	3,0	1,0
Баранина I категории	67,3	15,6	16,3	0,8
Баранина II категории	69,7	19,8	9,6	0,9
Баранина – лопаточный отруб	71,3	17,1	10,7	0,9
Ягнятина	68,9	16,2	14,1	0,8
Мясо лося	75,8	21,4	1,7	1,1
Мясо косули	71,8	21,1	6,0	1,1
Мясо кролика	65,3	20,7	12,9	1,1
Цыплята (бройлеры)	69,0	17,6	12,3	0,8
Гуси I категории	45,0	13,2	39,0	0,8
Индейки I категории	57,3	19,5	22,0	0,9

На начальных стадиях изменения мяса в результате распада белков образуются альбумозы и полипептиды, позднее расщепляющиеся до аминокислот. В мясе с признаками гниения в значительных количествах имеются летучие основания: триметиламин, пиридин, пиперидин и др.

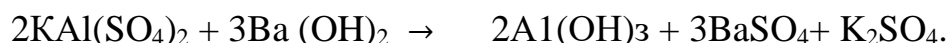
При разложении белков могут образовываться вещества, обладающие ядовитыми свойствами (токсальбумины). В процессе гниения под воздействием микроорганизмов аминокислоты распадаются на различные органические кислоты и другие вещества. Конечными продуктами гнилостного разложения являются углекислый газ, аммиак, азот, водород, вода и другие низкомолекулярные вещества.

Мясо с признаками гниения опасно для здоровья людей, особую опасность оно представляет на начальных стадиях развития процесса.

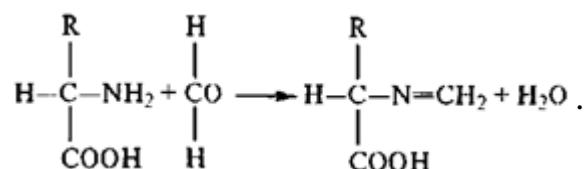
Интенсивность автолитических и микробиологических процессов обуславливает глубину распада преимущественно азотистых веществ. При исследовании мяса в лабораторных условиях выполняют качественные реакции на аммиак, сероводород, с бензидином, с сернокислой медью в бульоне. В процессе длительного хранения мяса при положительных температурах в нем под действием ферментов самого мяса и ферментов гнилостной микрофлоры происходит распад органических компонентов тканей. Микроорганизмы при соответствующих температурных и влажностных условиях развиваются с большей скоростью, и действие ферментов микрофлоры может значительно

опережать автолиз, из-за чего мясо подвергается гнилостной порче. Клетки микроорганизмов не способны всасывать нерасщепленные нативные молекулы белков, являющиеся высокомолекулярными коллоидными веществами. Микрофлорой усваиваются только продукты распада белков, образующихся под воздействием выделяемых ими ферментов. Белки распадаются до альбумоз, полипептидов, которые гидролизуются до аминокислот. Аминокислоты в результате дезаминирования и сбраживания микрофлорой преобразуются в летучие жирные кислоты (муравьиную, уксусную, масляную, валерьяновую, капроновую, а также изомеры трех последних кислот) и аммиак.

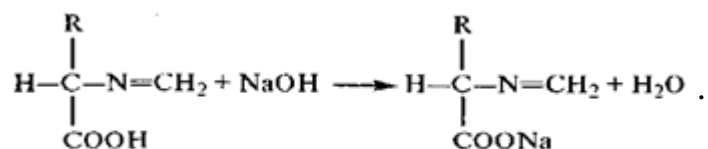
По количеству свободных аминокислот и соединений аммиака в виде его солей можно судить о глубине порчи мяса. Методика определения аминоаммиачного азота основана на том, что в водном экстракте из мяса последовательно осаждают белки раствором алюминиевых квасцов и затем насыщенным раствором едкого бария. Одновременно раствор алюминиевых квасцов нейтрализуют едким барием:



Полученный раствор титруют 0,1 моль/дм³ раствором гидроксида натрия до нейтральной реакции (рН 7,5) по первому индикатору (смесь равных объемов 0,1%-ных спиртовых растворов нейтрального красного и метиленового синего), затем свободные аминогруппы блокируют формалином. Сущность этой реакции в том, что аминогруппы в аминокислотах связываются формальдегидом по следующему уравнению:



Затем раствор, который приобрел кислотные свойства благодаря образованию метиленаминокислот, титруют раствором гидроксида натрия по второму индикатору до рН 9,0–9,5 (смесь одного объема 0,1%-ного раствора тимолсинего и трех объемов 1%-ного раствора фенолфталеина в 50%-ном этаноле):



По количеству пошедшего на второе титрование раствора гидроксида натрия вычисляется содержание аминоаммиачного азота.

Количество оттитрованных гидроксидом карбоксильных групп метиленаминокислот эквивалентно количеству связанных формальдегидом

аминогрупп. Помимо этого, формалин вступает в реакцию с солями аммония с выделением эквивалентного количества свободной кислоты. При этом образуется гексаметилентетраамин и кислота, которая также оттитровывается раствором гидроксида натрия. Объектами титрования являются также молочная, фосфорная и угольная кислоты. Точка эквивалентности при титровании метиленаминокислот соответствует рН 9,0–9,5. Поэтому в качестве индикатора пользуются тимолфталейном, изменяющим свою окраску в указанных пределах. В связи с возможным преобладанием в отдельных аминокислотах аминных или карбоксильных групп полученные результаты методом формольного титрования не вполне точны.

Накопление летучих жирных кислот в мясе при хранении также характеризует процесс его порчи. Анализ основан на отгоне с водяным паром из навески мяса летучих жирных кислот и титровании их растворами гидроксидов. Количество летучих жирных кислот условно выражают объемом 0,2 моль/дм³ раствора едкого натра (в см³), пошедшего на титрование 200 см³ отгона из 25 г мяса или в миллиграммах КОН на 100 г мяса.

Определение влагопоглощаемости мяса основано на фиксировании количества воды, выделяемой из мяса при легком прессовании и впитывающейся фильтровальной бумагой в виде влажного пятна. Размер этого пятна зависит от способности мяса связывать воду, т.е. от содержания в нем связанной воды.

От способности мяса связывать (удерживать) воду зависят сочность мяса и продуктов, полученных из него при технологической обработке, а также уровень технологических потерь, расход сырья на единицу готовой продукции. Особенно большое значение водоудерживающая способность мяса имеет при производстве колбас, так как в измельченном виде нарушенная структура тканей мяса требует определенных мер по предотвращению вытекания сока (выдержка для созревания, применение стабилизаторов).

Контрольные вопросы

- 1) Охарактеризуйте пищевую ценность мяса.
- 2) В чем состоит различие химического состава различных видов мяса?
- 3) На чем основано применение качественных реакций на аммиак, сероводород для оценки свежести мяса?
- 4) Какие вещества являются предшественниками летучих жирных кислот в мясе при его хранении?
- 5) Почему рост содержания аминокислотного азота в мясе связан с процессом порчи?
- 6) Как определить количество аминокислотного азота в мясе методом формольного титрования?
- 7) Какое значение имеет показатель влагопоглощаемости мяса?
- 8) Какой механизм связывания воды в мясе?

ХИМИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ (4 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по анализу и определению важнейших показателей качества молока.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 5.2;
- 2) ознакомиться с методиками и получить навыки определения кислотности, содержания белков и казеина, молочного сахара, ферментов молока;
- 3) сделать заключение о качестве представленных образцов молока на соответствие нормативным документам.

5.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Определение кислотности молока

Кислотность молока и молочных продуктов выражают в градусах Тернера (число кубических сантиметров 0,1 моль/дм³ раствора гидроксида натрия на 100 мл молока). Кислотность свежего молока 16–19 °Т, т.е. при титровании с фенолфталеином проявляется кислая реакция молока, обусловленная присутствием казеина, кислых солей фосфорной и лимонной кислот, а также растворенной в молоке углекислоты. Из общей титруемой кислотности молока на долю казеина приходится 6–8 °Т, кислых солей 5–7 °Т, углекислоты около 2 °Т.

Ход работы. Отмеривают пипеткой 10 см³ хорошо перемешанного молока в небольшой стаканчик или коническую колбу, прибавляют 20 см³ воды, 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и тщательно перемешивают. Колбу помещают на лист белой бумаги и для установления конца титрования рядом располагают эталон (10 см³ молока и 20 см³ воды с 1 см³ 2,5%-ного раствора сернокислого кобальта). Титруют молоко 0,1 моль/дм³ раствором гидроксида натрия. Начиная титрование, приливают сразу около 1 см³ раствора гидроксида натрия, перемешивают, затем раствор гидроксида натрия добавляют медленно и в конце титрования по каплям, все время помешивая содержимое, до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего эталону и не исчезающего в течение 1 мин.

Количество раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию 10 см³ молока, умноженное на 10, дает кислотность в градусах Тернера.

2 Определение массовой доли белка в молоке методом формольного титрования

Данный титриметрический метод основан на нейтрализации карбоксильных групп моноаминодикарбоновых кислот белков раствором гидроксида натрия. Объем раствора гидроксида натрия, затраченный на нейтрализацию, пропорционален массовой доле белка в молоке.

Известно, что в состав белков молока входят моноаминомонокарбоновые (нейтральные), моноаминодикарбоновые (кислые) и диаминомонокарбоновые (основные) кислоты. На долю кислых аминокислот – аспарагиновой и глутаминовой – приходится до 30 %, а на долю основных – лизина, аргинина – до 9 % от общего количества аминокислот. Поэтому в целом белки молока кислые.

Карбоксильные и аминные группы аминокислот способны к ионизации, в связи с чем белки молока несут отрицательные и положительные заряды.

В методе формольного титрования массовую долю белка в молоке определяют по количеству ионизированных аминных групп, находящихся на поверхности мицелл казеина и молекул сывороточных белков.

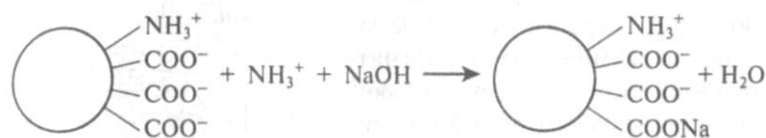
Ионизированные аминные группы способны разрушаться формальдегидом с выделением ионов водорода в раствор. Количество последних определяют, оттитровывая их гидроксидом натрия.

Поскольку исходное молоко имеет слабокислую реакцию среды ($pH = 6,7 \dots 6,8$), то, во избежание ошибок при определении массовой доли белка, молоко вначале нейтрализуют.

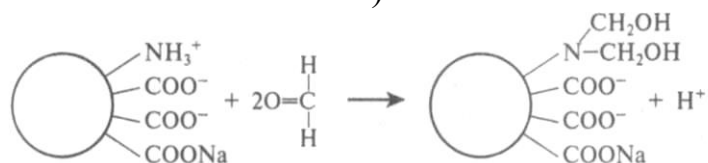
Основные реакции, характеризующие сущность метода, представлены на рисунке 5.1.

Таким образом, титриметрический метод определения массовой доли белка основан на измерении объема титранта (раствора гидроксида натрия), вступающего в реакцию с определяемым ионом (H^+). Момент окончания реакции (точку эквивалентности) устанавливают с помощью потенциометрического анализатора или в упрощенной методике – по изменению окраски индикатора (индикаторный способ).

Примечание. В качестве источника формальдегида используют раствор формалина, имеющий, как правило, кислую реакцию среды. Поэтому для устранения ошибки, связанной с кислотностью реактива, его нейтрализуют или учитывают объем раствора гидроксида натрия, необходимый для доведения его pH до точки эквивалентности ($pH = 9,0$).



а)



♦ Повторная нейтрализация раствора:



б)

Рисунок 5.1 – Основные реакции, характеризующие сущность метода формольного титрования: а) нейтрализация молока; б) взаимодействие ионизированных аминных групп с формальдегидом с образованием дигидроксиметилпроизводных белка

Ход работы. В качестве индикатора используют фенолфталеин, приобретающий окраску в нейтральной и щелочной среде.

В колбу вместимостью 100 см³ отмеривают 20 см³ молока, 0,25 см³ (10...12 капель) 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ до появления розовой окраски, соответствующей цвету эталона (смешивают 20 см³ молока и 0,5 см³ 2,5%-ного раствора сульфата кобальта). Эталон пригоден для работы в течение одной смены. Затем вносят прибором для автоматического отмеривания 4 см³ (4 объема) нейтрализованного 40%-ного формалина и вновь титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ до появления окраски эталона. Количество гидроксида натрия, пошедшее на второе титрование (при первом титровании расходуется на нейтрализацию веществ, обуславливающих кислотность молока), умножают на коэффициент 0,959 и получают массовую долю белков в молоке в процентах.

Для перевода количества раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ в проценты белка можно пользоваться таблицей 5.1.

Таблица 5.1 – Зависимость массовой доли белков от объема раствора гидроксида натрия ($C = 0,1$ моль/дм³), затраченного на титрование проб молока в присутствии формалина

Расход раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %	Расход раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %	Расход раствора NaOH, см ³	Массовая доля белков в молоке, %
2,45	2,35	2,95	2,83	3,45	3,31
2,50	2,40	3,00	2,88	3,50	3,35
2,55	2,44	3,05	2,93	3,55	3,40
2,60	2,49	3,10	2,98	3,60	3,45
2,65	2,54	3,15	3,03	3,65	3,50
2,70	2,59	3,20	3,07	3,70	3,55
2,75	2,64	3,25	3,12	3,75	3,60
2,80	2,69	3,30	3,16	3,80	3,65
2,85	2,73	3,35	3,21		
2,90	2,78	3,40	3,25		

В том случае, когда требуется определить в молоке массовую долю казеина, пользуются измененной методикой. Так, для контроля берут не 20, а 10 см³ молока, добавляют 10...12 капель 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ до слабо-розовой окраски, но без применения эталона окраски. Затем вносят 2 см³ формалина и титруют раствором гидроксида натрия до слабо-розовой окраски, аналогичной окраске пробы после первого титрования. Содержание казеина устанавливают, умножая количество раствора гидроксида натрия, пошедшее на титрование пробы после добавления формалина, на коэффициент 1,51 (при подсчете общего количества белков в этом случае используют коэффициент 1,94).

2 Определение массовой доли казеина в молоке методом кислотного осаждения

Казеин молока обладает кислыми свойствами и поэтому способен взаимодействовать со щелочью. Вот почему массовую долю казеина можно определить по разнице объемов раствора гидроксида натрия, пошедшего на нейтрализацию молока и безказеиновой сыворотки.

В основе получения безказеиновой сыворотки лежит кислотная коагуляция казеина в изоэлектрической точке, соответствующей $pH = 4,6...4,7$. Механизм процесса заключается в том, что при подкислении молока происходит постепенная нейтрализация отрицательных групп (карбоксылных и фосфатных) казеина и удаление из состава казеиновых мицелл коллоидного фосфата кальция. При $pH = 4,9$ наступает потеря частицами всего коллоидного фосфата кальция и полное разрушение

мицеллярной структуры. Дальнейшее понижение рН раствора до изоэлектрической точки приводит к нейтрализации казеиновых частиц и снижению степени их гидратации. Изоэлектрическое состояние сопровождается конформационными изменениями полипептидных цепей макромолекул казеина внутри субмицелл, а это приводит к частичной гидрофобизации их поверхности и образованию не растворимых в водной среде агрегатов.

Дальнейшее объединение субмицелл за счет гидрофобных, водородных и, в меньшей степени, ионных связей приводит к образованию геля.

Примечание. Следует помнить, что казеин осаждается только в изоэлектрической точке. Так, при недостатке кислоты мицеллы имеют отрицательный заряд и, следовательно, гидратированы, что препятствует их осаждению. Избыток кислоты приводит к перезарядке частиц казеина, их гидратации и повторному растворению.

Схемы поверхности казеиновых частиц при рН выше, ниже и в ИТ представлены на рисунке 5.2.

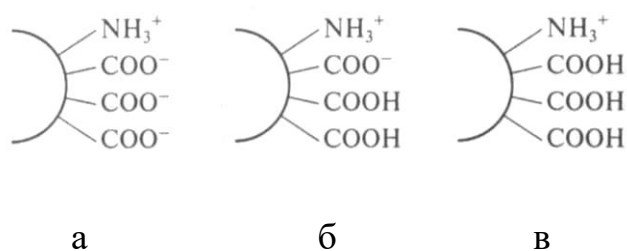


Рисунок 5.2 – Схема поверхности казеиновых частиц при различных значениях рН: а) выше изоэлектрической точки; б) в изоэлектрической точке; в) ниже изоэлектрической точки

Ход работы. I этап. В коническую колбу вместимостью 200 см³ пипеткой вносят 20 см³ молока и цилиндром 80 см³ дистиллированной воды с температурой 20 °С; содержимое колбы перемешивают и титруют из бюретки раствором серной кислоты с концентрацией 0,05 моль/дм³ при слабом постоянном помешивании до тех пор, пока казеин не выпадет в осадок большими хлопьями. Для контроля полноты выпадения казеина определяют рН, пользуясь индикаторной бумажкой. ИТ казеина соответствует рН = 4,6...4,7. Объем раствора серной кислоты (V_k), пошедшей на осаждение казеина, записывают.

Через 3–5 мин после образования осадка казеина жидкость фильтруют через сухой складчатый фильтр в коническую колбу вместимостью 200 см³. Далее 50 см³ фильтрата мерной пипеткой переносят в коническую колбу вместимостью 100 см³; добавляют сюда 3–5 капель 1%-ного раствора

фенолфталеина и титруют раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/дм³ до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с.

Объем раствора гидроксида натрия (V_1), пошедшего на титрование, записывают.

II этап. В коническую колбу вместимостью 200 см³ пипеткой вносят 20 см³ молока, цилиндром – 80 см³ дистиллированной воды температурой 20 °С, из бюретки – столько же раствора серной кислоты с концентрацией 0,05 моль/дм³, сколько потребовалось на осаждение казеина на первом этапе, и 3–5 капель 1%-ного раствора фенолфталеина. Содержимое колбы перемешивают и титруют раствором гидроксида натрия так же, как описано выше.

Объем раствора гидроксида натрия (V_2), пошедшего на титрование, записывают.

Поскольку на первом этапе работы берут только 50 см³ фильтрата, то вначале рассчитывают объем щелочи (X), который пошел бы на титрование всего раствора (молоко + вода + кислота). Пользуются расчетной формулой (15):

$$X = \frac{(100+V_k) \times V_1}{50}, \quad (15)$$

где V_k – объем раствора серной кислоты, израсходованной на осаждение казеина, см³; V_1 – объем раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование 50 см³ фильтрата, см³; 50 – исходный объем раствора, см³.

Массовую долю казеина K (в %) рассчитывают по формуле (16):

$$K = \frac{(V_2 - X) \times 0,1131 \times 100}{m} = (-X) \times 0,5655, \quad (16)$$

где V_2 – объем раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование на втором этапе работы, см³; X – рассчитанный объем раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование на первом этапе, см³; 0,1131 – масса казеина, соответствующая 1 см³ раствора гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм³, г; m – объем молока, взятого на исследование, см³ ($m = 20$ см³).

3 Определение массовой доли лактозы в молоке рефрактометрическим методом

Метод основан на определении показателя преломления (рефракции) безбелковой сыворотки. Показатель преломления молока колеблется при 20 °С от 1,344 до 1,348. Он складывается из показателей преломления воды (1,3330) и составных частей обезжиренного остатка молока: лактозы, казеина, сывороточных белков, солей и прочих компонентов. Молочный жир находится в молоке в виде эмульсии и на показатель преломления не влияет. В среднем приращение показателя преломления при увеличении массовой доли отдельных компонентов на один процент составляет: для казеина – 0,00207, для сывороточных белков – 0,00187, для лактозы – 0,0014. Условно принимают, что доля показателя преломления, приходящаяся на минеральные соли и другие соединения, величина постоянная, поэтому его изменения в молоке обусловлены наличием белков и лактозы. Отсюда следует, что в безбелковой сыворотке этот показатель обуславливается лишь массовой долей лактозы.

Поскольку величина показателя преломления зависит от температуры, то отсчет показаний необходимо проводить при строго определенной температуре.

Получение безбелковой сыворотки основано на термокальциевой коагуляции белков.

В этом случае последовательно протекает ряд физико-химических процессов, сопровождающихся выделением белков из раствора. Так, нагревание до 35–40 °С вызывает дегидратацию белков и, как следствие, их частичную агрегацию. Нагревание выше 70 °С стимулирует активность ионов кальция, которые начинают взаимодействовать с мицеллами казеина и молекулами других белков. В результате снижается как их заряд, так и степень дисперсности, что приводит к коагуляции белков. Дополнительное агрегирующее действие на казеин могут оказывать взаимодействующие с ним денатурированные сывороточные белки, в частности β-лактоглобулин, и продукты реакции Майяра.

Получение безказеиновой сыворотки основано на кислотной коагуляции казеина в изоэлектрической точке (рН = 4,6–4,7).

Для приготовления безбелковой сыворотки в три пенициллиновых флакона пипеткой отмеряют по 5 см³ молока, добавляют по 6 капель 4%-ного раствора хлорида кальция. Флаконы закрывают пробками, несколько раз переворачивают для перемешивания содержимого и помещают в водяную баню. В баню наливают холодную воду так, чтобы ее уровень был выше уровня молока во флаконе, закрывают крышкой и помещают на электроплитку. Доводят воду до кипения и кипятят не менее 10 мин. Далее, не открывая баню, сливают воду через отверстия в крышке, наливают холодную

воду из-под крана и выдерживают не менее 2 мин, после чего воду вновь сливают.

Открывают крышку бани и достают флаконы. Для выделения сыворотки из образовавшегося сгустка флаконы энергично встряхивают и помещают в центрифугу без пробок на 10 мин. Частота вращения барабана центрифуги 17 с^{-1} (1000 об/мин).

Для получения безбелковой сыворотки можно воспользоваться следующей упрощенной методикой. В толстостенную пробирку отмеривают около 5 см^3 исследуемого молока и добавляют пять капель 4%-ного раствора хлорида кальция. Пробирку плотно закрывают корковой или резиновой пробкой и для полного осаждения белков ставят в кипящую водяную баню. Через 10 мин пробирку вынимают из бани и охлаждают до $18\text{--}20 \text{ }^\circ\text{C}$, опуская в холодную воду. Затем берут стеклянную трубку или пипетку с ватным тампоном в нижней части и набирают сыворотку, фильтруя ее через вату.

Общий вид рефрактометра ИРФ-454 изображен на рисунке 5.3.

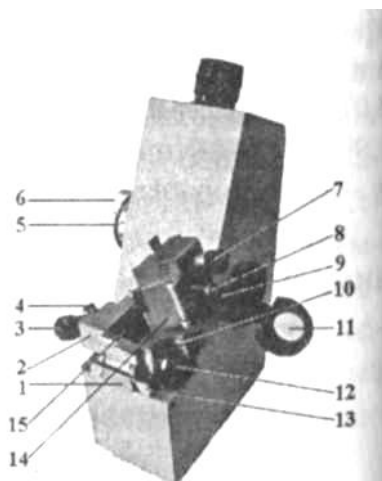


Рисунок 5.3 – Общий вид рефрактометра ИРФ-454-Б2М: 1, 13 – направляющие; 2 – блок рефрактометрический; 3, 7, 9, 12 – штангеры; 4 – крючок; 5 – шкала; 6 – нобиус; 8 – рукоятка; 10 – шарнир; 11, 15 – зеркала; 14 – заслонка

Лучи света падают на грань A_1B_1 осветительной призмы, преломляются и попадают на матовую поверхность АВ. Она рассеивает лучи и в измеряемую жидкость входят лучи различных направлений. Они проходят через слой жидкости, преломляются и попадают на поверхность ВС измерительной призмы.

С увеличением угла падения α увеличивается и угол преломления β . При $\beta = 90^\circ$ луч света не проходит через поверхность АВ, а скользит по ней. Это явление называют полным внутренним отражением, а угол $\beta = 90^\circ$ – предельным углом.

При $\beta < 90^\circ$ лучи света преломляются поверхностью АВ, проходят на грань ВС, вновь преломляются и попадают на поворотное зеркало. На зеркале появляется граница, разделяющая освещенное поле (внизу) и неосвещенное (вверху). Ее называют границей светотени.

Ход работы. Перед началом работы проверяют правильность настройки приборов по воде. Измерения проводят при 20°C . Для этого камеру призм присоединяют штуцерами к ультратермостату и пропускают воду температурой 20°C в течение 10–15 мин. Затем открывают осветительную призму рефрактометра ИРФ-454, откинув ее приблизительно на 100° . На чистую поверхность измерительной призмы стеклянной палочкой наносят несколько капель дистиллированной воды так, чтобы была смочена вся поверхность. Опускают осветительную призму и прижимают ее к измерительной призме крючком. Окно осветительной призмы должно быть открыто, а окно измерительной – закрыто зеркалом, так как измерения прозрачных жидкостей проводят в проходящем свете. С помощью бокового зеркала освещают поле зрения, устанавливают окуляр «по глазу» так, чтобы отчетливо было видно перекрестие, и с помощью компенсатора проводят ахроматизацию границы светотени (убирают дисперсию).

Наблюдая в окуляр, подводят границу светотени точно на перекрестке с помощью специального маховика. Отсчитывают показатель преломления.

При правильной установке прибора на шкале показателей преломления появится число 1,3330, так как для воды $n_D^{20}=1,33299$. В противном случае производят юстировку прибора.

Для проверки нулевой точки рефрактометра РЛ-2 на открытую нижнюю призму наносят 1–2 капли дистиллированной воды; закрывают верхнюю призму, устанавливают окуляр рукояткой 5 на резкость видимости по шкале и визирной линии (представляющей собой три штриха). Окуляр перемещают для совмещения визирной линии с границей светотени (при 20°C должно совпадать с делением $n_D^{20} = 1,333$ шкалы показателей преломления).

Затем призмы насухо вытирают мягкой тканью. Поскольку таблица для перевода показателя преломления безбелковой сыворотки на массовую долю лактозы рассчитана на температуру $17,5^\circ\text{C}$, то через камеру призм пропускают воду с температурой $17,5^\circ\text{C}$ в течение 10–15 мин.

На поверхность измерительной призмы стеклянной палочкой наносят несколько капель сыворотки. Опускают осветительную призму, прижимают ее к измерительной при помощи крючка и далее поступают так же, как и в случае с водой. Измерения сыворотки проводят 3–5 раз и берут среднее значение. Массовую долю лактозы в молоке (в процентах) находят по таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Зависимость массовой доли молочного сахара (лактозы) в молоке от показателя преломления безбелковой сыворотки

Коэффициент преломления	Содержание молочного сахара, %	Коэффициент преломления	Содержание молочного сахара, %
1,3400	3,52	1,3420	4,49
1,3401	3,57	1,3421	4,54
1,3402	3,61	1,3422	4,59
1,3403	3,65	1,3423	4,64
1,3404	3,69	1,3424	4,69
1,3405	3,73	1,3425	4,74
1,3406	3,77	1,3426	4,79
1,3407	3,82	1,3427	4,84
1,3408	3,87	1,3428	4,89
1,3409	3,93	1,3429	4,95
1,3410	3,98	1,3430	5,00
1,3411	4,03	1,3431	5,05
1,3412	4,08	1,3432	5,10
1,3413	4,13	1,3433	5,15
1,3414	4,18	1,3434	5,20
1,3415	4,23	1,3435	5,25
1,3416	4,28	1,3436	5,30
1,3417	4,33	1,3437	5,35
1,3418	4,38	1,3438	5,40
1,3419	4,44	1,3439	5,45

4 Определение массовой доли жира в молоке кислотным методом

Массовую долю жира в молоке определяют после разрушения оболочек жировых шариков под действием концентрированной серной кислоты и изоамилового спирта, выделения жира в виде сплошного слоя и измерения его объема.

Молочный жир образует в молоке устойчивую эмульсию и находится в нем в виде мелких жировых шариков, окруженных оболочкой или мембраной. Средний диаметр шариков составляет 2,0–2,6 мкм, с колебаниями от 0,1 до 10 мкм. На долю жировых шариков с диаметром 2,6 мкм приходится 94 % жира.

Оболочка жирового шарика представляет собой сложный комплекс структурных белков, ферментов, фосфолипидов, холестерина, жирорастворимых витаминов и других липидных компонентов, а также металлов (Cu, Fe, Mo, Zn и др.).

Электрофоретические исследования с использованием полиакриламидного геля показали наличие в мембране жировых шариков 40 различных белков. Среди них преобладают гликопротеиды, содержащие от 15 до 50 % углеводов, таких как галактоза, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин и сиаловая кислота. Многие белковые компоненты (более десяти) являются ферментами: ксантиноксидаза, кислая и щелочная фосфатаза, 5'-нуклеотидаза, плазмин, фосфодиэстераза и др.

На рисунке 5.4 представлена модель мембраны жирового шарика, предложенная Мак Ферсоном и Китченом.



Рисунок 5.4 – Модель оболочки жирового шарика по Мак Ферсону и Китчену: 1 – фосфолипиды; 2, 3 – гликопротеиды; 4 – интегральный гидрофобный белок; 5 – ксантиноксидаза; 6 – 5'-нуклеотидаза; 7 – слой высокоплавких триглицеридов

Согласно этой модели непосредственно к поверхности жирового шарика примыкает сильно гидрофобный гликопротеид – бутирофилин. Он относится к внутренним (интегральным), т.е. встроенным во внутренний слой мембраны, структурным белкам.

Другие интегральные белки имеют гидрофобную и гидрофильную части. Гидрофобные части молекул вступают во взаимодействие с углеводородными цепями жирных кислот липидных компонентов жирового шарика, а гидрофильные, к которым прикреплены углеводы, располагаются в поверхностном слое мембраны, контактируют с полярными группами фосфолипидов и ориентированы к водной фазе.

В слое фосфолипидов располагается белковый компонент, составляющий около 8–10 % оболочечных белков и являющийся, по-видимому, ксантиноксидазой.

Остальные ферменты, относящиеся к периферическим мембранным белкам, связаны с молекулами поверхностного слоя оболочек жировых шариков силами электростатического взаимодействия.

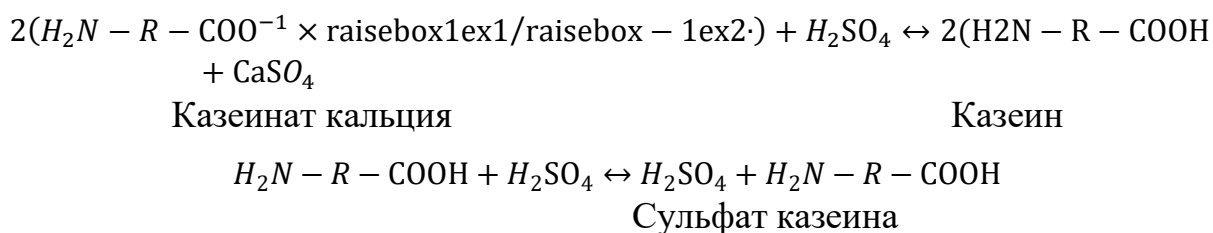
Наличие белков в поверхностном слое мембраны обуславливает появление отрицательного заряда и гидратной оболочки вокруг жировых шариков.

Очевидно, что для выделения молочного жира необходимо разрушение оболочек жировых шариков, что достигается с помощью концентрированной серной кислоты и изоамилового спирта. Для облегчения слияния жировых шариков, лишенных оболочек, применяют подогревание смеси и центрифугирование.

Серная кислота и изоамиловый спирт обладают сильными водоотнимающими свойствами, поэтому при добавлении их к молоку вначале происходит дегидратация оболочек жировых шариков и белковых частиц в растворе.

Далее изоамиловый спирт, а также образующийся в присутствии кислоты серный эфир, являясь более капилляроактивными поверхностно-активными веществами, чем оболочечный белок и фосфолипиды, вытесняют их с поверхности жировых шариков.

Процесс разрушения казеина под действием серной кислоты носит ступенчатый характер. Вначале казеин теряет кальций с образованием нерастворимого казеина и сульфата кальция, затем выпавшие хлопья казеина растворяются в избытке кислоты:



Для определения жира в заготавливаемом молоке применяют жиромеры с пределами измерения от 0 до 6 и от 0 до 7 % и ценой деления 0,1 %. Объем рабочей части жиромера должен составлять $(21,5 \pm 0,5)$ см³, допускаемые отклонения шкалы жиромера $\pm 0,05$ %.

Примечание. При возникновении сомнения в правильности показаний жиромера необходима его поверка. Жиромеры для молока поверяют путем сравнения показаний массовой доли жира в одной и той же пробе молока поверяемых жиромеров с контрольным или поверенными ранее. Контрольным считается жиромер, поверенный в лаборатории Комитета стандартов, мер и измерительных приборов и снабженный свидетельством. Каждый жиромер поверяют двукратно, шкалу поверяют в верхней и нижней части (после перемещения столбика жира по шкале жиромер помещают в водяную баню). Жиромеры считаются правильными, если отклонения от показаний контрольного не превышают $\pm 0,05$ %.

Общий вид центрифуги и водяной бани для жиромеров представлен на рисунке 5.5.

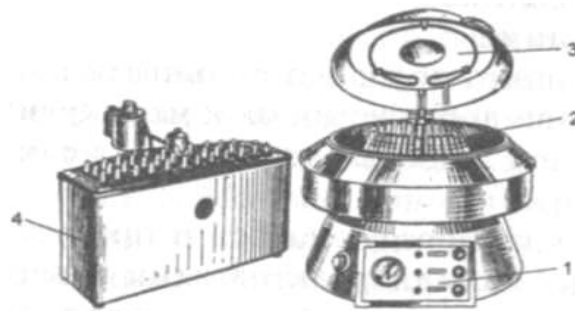


Рисунок 5.5 – Общий вид центрифуги и водяной бани для жиромеров:
1 – панель управления; 2 – барабан; 3 – крышка; 4 – водяная баня для жиромеров

Ход работы. В чистый молочный жиромер автоматом на 10 см^3 наливают 10 см^3 концентрированной серной кислоты плотностью $1810\text{--}1820 \text{ кг/м}^3$, стараясь не смочить горлышко, и осторожно, чтобы жидкости не смешивались, пипеткой добавляют $10,77 \text{ см}^3$ молока, приложив кончик пипетки к стенке жиромера под углом 45° .

Молоко из пипетки должно вытекать медленно. После стекания пипетку отнимают от стенки жиромера не ранее чем через 3 с. Выдувание молока из пипетки не допускается. Затем в жиромер автоматом добавляют 1 см^3 изоамилового спирта.

Жиромер закрывают специальной резиновой пробкой, вводя ее в горлышко немногим более чем наполовину. Затем жиромер встряхивают до полного растворения белковых веществ, переворачивая 4–5 раз, чтобы содержимое в нем полностью перемешалось. Следует иметь в виду, что при растворении белков жиромер сильно нагревается. Поэтому его необходимо обернуть куском ткани. Далее жиромер пробкой вниз ставят в водяную баню с температурой $(65 \pm 2)^\circ\text{C}$ на 5 мин.

Вынув из бани, жиромеры вставляют в патроны центрифуги градуированной частью к центру, располагая их симметрично, один напротив другого. При нечетном числе жиромеров в центрифугу помещают жиромер, наполненный водой вместо молока, серной кислотой и изоамиловым спиртом в том же соотношении, что и для анализа.

Закрыв крышку центрифуги, жиромеры центрифугируют 5 мин при скорости вращения барабана 17 с^{-1} (1000 об/мин). Затем их вынимают из центрифуги и движением резиновой пробки регулируют столбик жира так, чтобы он находился в шкале жиромера. Жиромеры вновь погружают пробками вниз в водяную баню с температурой $(65 \pm 2)^\circ\text{C}$. Уровень воды в бане должен быть несколько выше уровня жира в жиромере. Через 5 мин жиромеры вынимают из бани и быстро производят отсчет жира. При отсчете жиромер держат вертикально, граница жира должна находиться на уровне глаз. Граница раздела жира и кислотной жидкости должна быть резкой, а столбик

жира прозрачным. При наличии «пробки», а также различных примесей в жировом столбике или размытой нижней границы анализ повторяют.

Примечания: 1. Необходимо обращать внимание на плотность серной кислоты. При использовании кислоты с меньшей плотностью не происходит полного выделения жира, границу жира получают нечеткой, часто наблюдают большую «пробку» молочного цвета. Применение кислоты с большей плотностью приводит к обугливанию белков, почернению жидкости, что мешает отсчету жира;

2. Необходимо использовать изоамиловый спирт в объеме, рекомендуемом методикой. Недостаток его ведет к образованию «пробки», состоящей из жировых шариков с неразрушенными оболочками, а его избыток переходит в жир и приводит к получению завышенных результатов.

Показание жиромера соответствует массовой доле жира в молоке в процентах. Объем десяти малых делений шкалы молочного жиромера соответствует 1 % жира. Отсчет производят с точностью до одного малого деления.

Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 1 %. За окончательный результат принимают среднее значение двух параллельных определений.

5 Определение ферментов в молоке

Пероксидаза, а также фосфатаза, присутствующие в сыром молоке, при нагревании его разрушаются, пероксидаза практически мгновенно при температуре 82–85 °С, фосфатаза при 72 °С в течение 20 с и при более высоких температурах моментально. Для контроля эффективности пастеризации используются свойства этих ферментов давать цветные реакции со специальными реактивами.

Ход работы. Реакция на пероксидазу. При окислении кислородом в присутствии пероксидазы из йодистого калия освобождается йод, дающий с крахмалом синее окрашивание.

Берут пипеткой 5 мл молока, прибавляют в пробирку пять капель раствора йодисто-калиевого крахмала (1,5 г крахмала кипятят 1–2 мин с 50 мл воды и после охлаждения вносят 1,5 г йодистого калия) и 5 капель 0,5%-ного раствора перекиси водорода. Содержимое пробирки перемешивают вращательными движениями после добавления каждого реактива. В пастеризованном молоке пероксидаза разрушена, цвет содержимого пробирки не изменяется. При исследовании сырого молока моментально появляется синее окрашивание, так как в нем пероксидаза не разрушена.

Реакция на фосфатазу. Фосфатаза гидролизует паранитрофенилфосфат бария, освобождая паранитрофенол желтого цвета. В пробирке из

бесцветного стекла отмеривают пипеткой 2 см³ молока и прибавляют по 1 см³ буферной смеси и 1 см³ 0,8%-ного раствора паранитрофенилфосфата бария в 0,001 моль/дм³ растворе соляной кислоты. Пробирки закрывают резиновыми пробками и тщательно перемешивают их содержимое. Затем пробирки помещают в водяную баню с температурой 38–40 °С. В сыром молоке уже через 3–5 мин после внесения реактивов появляется слабо-желтая окраска, постепенно усиливающаяся.

Реакция на липазу. Качественная проба. В две пробирки наливают по десять капель молока. В первую пробирку добавляют пять капель 5%-ного раствора панкреатина (реактив № 29), во вторую – пять капель воды. Затем в обе пробирки вносят по одной капле 1%-ного раствора фенолфталеина и по каплям 1%-ный раствор углекислого натрия до появления бледно-розовой окраски. Пробирки помещают в водяную баню или термостат при температуре 38 °С на 30 мин, после чего наблюдают изменение окраски.

В присутствии липазы молочный жир гидролизуеться, образующиеся жирные кислоты понижают рН и вызывают обесцвечивание фенолфталеина.

По результатам лабораторной работы сделайте общее заключение.

5.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Рекомендуемое потребление молока и молочных продуктов (в переводе на молоко) 433,6 кг/год, в том числе питьевого молока 164,2 кг, творога 7,3 кг, сметаны 6,6 кг, сыра 6,6 кг и масла сливочного 5,5 кг. Молоко и молочные продукты – источники полноценных белков, легкоусвояемых углеводов, жиры и водорастворимых витаминов (14 наименований), основных макро- и микроэлементов (калия, кальция, фосфора, железа, йода, селена, цинка и др.).

Молоко содержит все необходимые организму вещества и является уникальным продуктом как по составу, так и усвояемости и сбалансированности содержащихся пищевых веществ.

Молоко коровье – полидисперсная система, в которой вода является дисперсионной средой. В ней содержатся сахара и неорганические соли в виде истинных растворов, белки – в коллоидном состоянии, липиды – в виде эмульгированных шариков. Свежее молоко содержит газы (около 70 см³/л), в том числе 50–70 % углекислого газа, 20–30 % азота и 5–10 % кислорода.

Химический состав молока зависит от породы животных, их возраста, условий содержания, стадии лактации, других факторов и может быть разным в различных географических районах (средняя полоса, степная зона, предгорье и т.д.).

В среднем коровье молоко содержит (в %): воды 85–89, жира 2,8–6,0, белков 2,7–3,8, молочного сахара 4,4–5,1, минеральных веществ 0,6–0,85, а также многие витамины, ферменты, гормоны, пигменты, газы.

Первые 2,0–2,5 ч свежесвыдоенное молоко обладает иммунными свойствами. Из всего многообразия составных частей молока важнейшую роль с позиций пищевой ценности играют белковые вещества.

Белки, содержащиеся в молоке, сложны по составу, разнообразны по строению, свойствам, биологической ценности. Различают четыре фракции белков молока: казеиновую (85–87 %), лактоальбуминовую (11–13 %), лактоглобулиновую (1,5–1,7 %) и протеазно-пептоновую (0,3–0,5 %).

Основной белок молока казеин коагулирует при pH 4,6–4,7. Белки, остающиеся после отделения казеина, называются сывороточными (α -лактоальбумин, β -лактоглобулин, иммуноглобулины и др.).

Молочный жир состоит из комплекса сложных эфиров глицерина и монокарбоновых жирных кислот, фосфолипидов (лецитина, кефалина и др.), стеринов, жирорастворимых витаминов и др.

Молочный жир отличается значительным содержанием (7,4–9,5 %) низкомолекулярных летучих жирных кислот – масляной, капроновой, каприловой, каприновой и низким содержанием (не более 5 %) биологически ценных полиненасыщенных жирных кислот: линолевой, линоленовой, арахидоновой.

В процессе хранения молока из всех его компонентов жир наиболее подвержен нежелательным изменениям: гидролизу, окислительному прогорканию (в том числе кетонному), осаливанию, полимеризации. Такие изменения придают молочным продуктам неприятные вкус и запах, сокращают срок их хранения.

Углеводы в молоке представлены на 90 % лактозой (молочным сахаром) и небольшим количеством глюкозы и галактозы. Различают α - и β -формы лактозы, последняя лучше растворяется в воде. В молоке лактоза содержится в основном (на 60 %) в β -форме. Обе формы лактозы существуют в динамическом равновесии и при определенной температуре могут переходить друг в друга. При сгущении молока лактоза кристаллизуется в β -форме.

Сладость лактозы в 5–6 раз меньше сахарозы, в воде она растворяется меньше. При нагревании выше 100 °C в водном растворе лактоза превращается в лактулозу, содержащую в молекуле фруктозный остаток вместо глюкозного. Лактулоза более сладкая на вкус, хорошо растворима в воде.

При длительном нагревании молока (выше 90 °C) лактоза образует со свободными азотистыми соединениями меланоидины, придающие молоку кремовый оттенок, изменяется вкус и снижается биологическая ценность, так как при этом образуется неусвояемый фруктолизин. При нагревании выше 160 °C лактоза карамелизуется, придавая продукту коричневую окраску.

Под действием ферментов молочнокислых бактерий лактоза сбраживается, что используется при производстве кисломолочных продуктов.

В молоке содержатся **ферменты** оксидоредуктазы (редуктаза, пероксидаза, каталаза и др.); гидролазы (протеаза, лактаза, амилаза, липаза, фосфатаза и др.) и трансферазы. Всего из молока выделено 20 ферментов, большая часть которых попадает в молоко из молочной железы. Остальные ферменты образуются в молоке при действии микрофлоры. Так, редуктаза накапливается в молоке за счет развития различных бактерий, поэтому редуктазная проба используется для оценки бактериальной обсемененности молока.

Пероксидаза имеет температуру инактивации около 80 °С при выдержке менее 1 мин или около 75 °С – в течение 2 мин. Присутствие пероксидазы контролируют при стерилизации молока.

Содержание каталазы также характеризует качество молока: если оно получено от больных животных (при мастите и других заболеваниях), количество каталазы будет завышенным.

Липаза способствует гидролизу жира молока, и поэтому сливки для приготовления масла пастеризуют при температуре не ниже 80 °С.

Фосфатаза разрушается при 73 °С в течение 3 мин или при 60 °С за 15 мин. Проба на фосфатазу – наиболее чувствительная при контроле качества пастеризованного молока.

Контрольные вопросы

- 1) Охарактеризуйте пищевую ценность молока.
- 2) В чем проявляются особенности белков и липидов молока?
- 3) Назовите основные свойства углеводов и ферментов молока.
- 4) В чем состоит принцип определения содержания белка в молоке формольным титрованием?
- 5) На сколько отличается содержание белка в молоке от других видов животного сырья?
- 6) Как определяется содержание казеина в молоке?
- 7) Как характеризуется кислотность молока и на чем основано определение кислотности?
- 8) В чем состоит сущность методики определения молочного сахара с помощью рефрактометрии? Какие вещества входят в состав молочного сахара?
- 9) Для чего проводят качественные реакции на присутствие пероксидазы и фосфатазы в молоке?
- 10) Как контролируется активность липазы в молоке?

ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ПИЩЕВЫХ МАСЕЛ И ЖИРОВ (4 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по анализу и определению важнейших показателей качества пищевых масел и жиров.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 6.2;
- 2) освоить методики и получить навыки определения кислотного, пероксидного, альдегидного (бензидинового) и анизидинового чисел;
- 3) определить стойкость пищевых масел и жиров к гидролизу и окислительному прогорканию по изменению кислотных, пероксидных и альдегидных чисел.

6.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Определение стойкости пищевых масел и жиров к гидролизу и окислительному прогорканию

В зависимости от продолжительности индукционного периода можно судить о стойкости различных жиров и масел к гидролизу и окислению. Наиболее часто стойкость жиров и масел к окислению выражают через длительность окисления в часах при стандартных условиях до достижения пероксидного числа 0,5 % йода для растительных масел и 0,1 % йода для животных жиров.

На подгруппу студентов выдают 4–5 образцов масел и жиров.

В 4 стеклянных бюкса (с крышками) берут навески по 3–4 г образца жира или масла и помещают в сушильный шкаф, прогретый предварительно до 100 °С. Температуру снижают до 80 °С. И при этом значении выдерживают бюксы без крышек: первую – 0 ч, вторую – 2 ч, третью – 4 ч.

Через указанное время вынимают бюксу из термостата, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и определяют кислотные и пероксидные числа находящегося в ней жира (масла). На основании полученных данных строят кривую изменения пероксидного числа во времени и по ней определяют длительность инкубационного периода в часах.

2 Определение кислотного числа

Кислотное число (КЧ) – количество миллиграммов гидроксида калия КОН, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира (масла). 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.

Ход работы. В коническую колбу взвешивают 3–5 г образца жира с погрешностью не более 0,01 г, приливают отмеренные цилиндром 30 см³ предварительно приготовленной и нейтрализованной по фенолфталеину смеси диэтилового эфира и 96%-ного этилового спирта (спирто-эфирная смесь 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 раствором гидроксида натрия NaOH до слабо-розовой окраски, устойчивой в течение 30 с.

Кислотное число (мг КОН на 1 г жира) вычисляют по формуле (17):

$$КЧ = \frac{5,611 \times K \times V}{m} \quad (17)$$

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

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

Пользуясь коэффициентами пересчета на (для подсолнечного, соевого масел и кондитерского жира) и пальмитиновую (для пальмового масла) кислоты, равными 0,503 и 0,456 соответственно, определяют примерное содержание свободных жирных кислот в процентах в исследуемых образцах жиров.

3 Определение перекисного (пероксидного) числа

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

Метод основан на реакции взаимодействия активного пероксидного или гидропероксидного кислорода с йодисто-водородной кислотой при титровании. Выделившийся свободный йод оттитровывают 0,01 моль/дм³ раствором тиосульфата натрия.

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

Ход работы. В коническую колбу с пришлифованной пробкой 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 см³ 50%-ного раствора КJ (не должно быть расслоения, в противном случае необходимо увеличить количество смеси). Колбу выдерживают 20 мин 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.

Перекисное число в миллимолях активного кислорода на 1000 г (1 кг) вычисляют по формуле (18):

$$\text{ПЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 1000}{m}, \quad (18)$$

где V_1 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в основном опыте, см³; V_2 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в контрольном опыте, см³; C – концентрация раствора тиосульфата натрия, моль/дм³; m – масса исследуемого образца масла или жира, г; 1000 – коэффициент, учитывающий пересчет результата измерения в миллимоли активного кислорода на 1 кг.

Перекисное число в процентах йода вычисляют по формуле (19):

$$\text{ПЧ} = \frac{(V_1 - V_2) \times K \times 0,001269 \times 100}{m}, \quad (19)$$

где V_1 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в основном опыте, см³; V_2 – количество 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование в контрольном опыте, см³, в котором используются те же реактивы, но без навески; K – коэффициент нормальности 0,01 моль/дм³ раствора гипосульфита натрия; 0,001269 – количество йода, соответствующее 1 см³ точно 0,01 моль/дм³ раствора тиосульфата натрия, г; M – масса исследуемого образца масла или жира, г; 100 – коэффициент, учитывающий пересчет результата измерения в проценты.

4 Определение содержания альдегидов (бензидинового числа)

Ход работы. В сухую мерную колбу вместимостью 25 см³ берут навеску 1 г жира (масла) с погрешностью не более 0,01 и в начале растворяют, затем доводят до метки смесью хлороформа и этилового спирта 1:1. Полученный раствор колориметрируют на фотоэлектроколориметре

(кювета толщиной 1 см) при длине волны 360 нм в ультрафиолетовой области спектра по отношению к чистому растворителю (спирт : хлороформ в соотношении 1:1). Значение оптической плотности D_1 характеризует собственную окраску жира.

Затем берут две колбы с притертыми пробками вместимостью 20–25 см³ и вносят в одну из них 10 см³ хлороформенно-спиртового раствора жира, а в другую – 10 см³ чистого растворителя (смеси равных объемов спирта и хлороформа).

В обе колбы добавляют по 1 см³ свежеприготовленного 0,5%-ного раствора бензидина в смеси этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (1:1). Раствор используют только после исчезновения возникающего при его приготовлении красноватого оттенка. Колбы с содержимым энергично встряхивают и выдерживают в течение 15 мин, после чего определяют оптическую плотность D_2 по отношению к обработанному бензидином растворителю.

Полученное значение оптической плотности является суммарным, так как обусловлено окраской самого жира и окраской, развивающейся при взаимодействии альдегидов с бензидином.

Кюветы (шириной 1 см) после каждого определения нужно промывать чистым растворителем (спирт-хлороформ в соотношении 1:1) и тщательно протирать снаружи марлевым тампоном.

Содержание альдегидов или бензидиновое число (в мг % коричневого альдегида) определяют по формуле (20):

$$X = \frac{(1,1 \times D_2 - D_1) \times \Phi \times A \times 100}{m}, \quad (20)$$

где D_1 – оптическая плотность раствора жира до обработки бензидином; D_2 – то же после обработки бензидином; Φ – фактор – постоянная величина, показывающая количество миллиграммов коричневого альдегида в 1 см³ реакционной смеси, приходящейся на единицу оптической плотности при длине волны 360 нм и ширине кюветы 1 см, $\Phi = 0,0094$ мг; A – объем хлороформно-спиртового раствора жира, см³; $1,1$ – поправка на изменение объема при добавлении к 10 см³ раствора жира 1 см³ раствора бензидина; M – навеска жира (масла), г.

При бензидиновом числе более 14 мг% коричневого альдегида масло (жир) считается непригодным в пищу.

На основании полученных результатов сделайте вывод о стойкости масла (жира) к окислению и степени его окислительной порчи после прогрева.

5 Определение относительной плотности жира пикнометром

Метод основан на определении отношения массы жира к массе воды при установленных для них температурах.

Ход работы. Пикнометр тщательно промывают хромовой смесью, водой, спиртом, просушивают и взвешивают на аналитических весах.

Для определения массы воды (водного числа) взвешенный пикнометр наполняют выше метки дистиллированной водой. Температуру воды доводят до 20 °С погружением пикнометра в водяную баню данной температуры на 20–30 мин, после чего доводят уровень воды в пикнометре до метки удалением избытка ее с помощью полосок фильтровальной бумаги.

Пикнометр вынимают из бани, тщательно вытирают и взвешивают.

После удаления воды пикнометр высушивают, вновь взвешивают, наполняют профильтрованным жиром (с небольшим избытком), доводят температуру до 20 °С погружением в водяную баню, имеющую ту же температуру, и выдерживают в ней пикнометр до тех пор, пока уровень мениска не перестанет меняться. Избыток жира отбирают фильтровальной бумагой, свернутой в тонкую трубочку. После этого пикнометр с жиром тщательно вытирают и взвешивают.

Относительную плотность жира (ρ_{20}^{20}) вычисляют по формуле (21):

$$\rho_{20}^{20} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}, \quad (21)$$

где m – масса пустого пикнометра, г; m_1 – масса пикнометра с водой, г; m_2 – масса пикнометра с жиром, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,001 условных единиц.

Вычисление проводят до четвертого десятичного знака.

6.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Липиды – необходимые компоненты пищи, которые в сочетании с другими полимерами продуктов обеспечивают нормальную жизнедеятельность организма и здоровье человека. Роль пищевых липидов в технологии продуктов питания и пищи велика. Они достаточно распространены в источниках пищи животного, растительного и микробиологического происхождения. Многие из них накапливаются в процессе жизнедеятельности растений и животных, что позволило создать промышленные технологии их получения в концентрированном и очищенном виде.

Липиды существуют в протоплазме клеток и мембранах, а также образуют специализированные ткани – резервный жир. Протоплазматический и резервный жир составляют основную часть липидов, на которые, например, у человека приходится 10–20 % массы тела. Протоплазматический (конститутивный) жир входит в состав всех структур клеток органов и тканей и в течение всей жизни остается практически на одном уровне – около 25 % общего жира организма. Количество резервного жира зависит от возраста, пола, условий питания, характера деятельности. Уровень потребления липидов человеком должен в среднем составлять, так же как белков, 80–100 г в сутки. Выработаны определенные требования и к качественному составу липидов, поскольку многие из них могут способствовать росту заболеваний или, наоборот, служить профилактическим и лечебным средством. Липиды обладают и функционально-технологическими свойствами: способностью образовывать эмульсии – основу многих пищевых продуктов, в которых они улучшают консистенцию, повышают биологическую ценность.

Наиболее изучены пластические и энергетические функции липидов. Первое – они являются составной частью структуры многих важных соединений – гормонов, сложных белков, витаминов. Они составляют главные компоненты клеточных мембран, образуют клеточный покров, отделяющий содержимое клетки от окружающей среды, обеспечивают пространственное разделение метаболических процессов внутри клетки. В мембранах липиды обеспечивают работу многочисленных ферментных и транспортных систем, распознавание участков, связывающих определенные гормоны и воспринимающих иные сигналы из внешнего окружения.

Второе – энергетическая функция липидов. Они обеспечивают 25–30 % всей энергии организма. При полном сгорании 1 г липидов выделяется более чем в два раза больше энергии по сравнению с белками и углеводами (9 ккал). Запасные (резервные) липиды играют роль энергетического депо и локализуются в виде специализированных тканей (подкожная клетчатка, сальник, околопочечная капсула и т. д.). Они участвуют в процессах терморегуляции, предохраняют кожу от высыхания, защищают органы от сотрясений, обеспечивают всасывание из кишечника жирорастворимых витаминов, являются потенциальным резервом эндогенной воды в организме (при окислении 100 г жира образуется 107 см³ воды) и др. Некоторые липиды обладают биологической активностью. Многие из них связаны со структурной и функциональной организацией нервной системы, органов кроветворения и коммуникационных систем высших организмов.

Липиды отличаются сложным составом входящих в эту группу веществ, относящихся к различным классам органических соединений. Липиды – сложная смесь жироподобных органических веществ в объектах растительного, животного и микробиологического происхождения. Большинство

исследователей относят к липидам природные производные высших жирных кислот, спиртов и альдегидов, связанные сложноэфирной, простой эфирной, амидной и гликозидной связями. К ним также относят сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высокомолекулярных жирных кислот, в том числе сфинголипиды, ацилглицерины (глицериды), воски, фосфолипиды и гликолипиды.

В группу липидов включают жирорастворимые пигменты (каротиноиды, хлорофиллы), стеринны (стеролы), жирорастворимые витамины (А, D, Е, К), а также вещества, образовавшиеся в результате разнообразных превращений липидов.

Современная классификация липидов основывается на химической природе их, биологических функциях, способности к растворению при взаимодействии с некоторыми реагентами, например, гидроксидами металлов. К липидам относят природные органические соединения, не растворимые в воде, но растворимые в органических растворителях (бензоле, бензине, петролейном эфире, диэтиловом эфире, ацетоне, хлороформе, сероуглероде, метиловом и этиловом эфирах и т. д.). Пищевые липиды легко утилизируются животными организмами.

Обеспеченность организма витаминами связана с наличием липидов в пище. За счет них в организме поддерживается уровень жизненно важных компонентов – некоторых жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой). Линолевая (С182) и линоленовая (С18) кислоты не синтезируются в организме человека. Арахидоновая (С20) синтезируется из линолевой кислоты. Они называются незаменимыми или эссенциальными кислотами. Отсутствие их в пище ведет к развитию дерматитов, потере массы тела, замедлению роста, поражению почек, молочных желез и других органов. Эти кислоты относят к витаминоподобным веществам (фактор F).

В липидной фракции пищевого сырья и продуктов содержится ряд веществ, присутствующих в небольшом количестве, но обладающих высокой биологической активностью наряду с витаминами – стероидные гормоны, простагландины, некоторые коферменты. Их часто называют низкомолекулярными биорегуляторами.

Итак, класс липидов подразделяют на жиры и жироподобные вещества липоиды. По химической структуре липиды делят на простые и сложные. Некоторые авторы выделяют еще и производные липидов.

Простые липиды состоят из эфиров жирных кислот и глицерина, а также высших или полициклических спиртов. Простые липиды не содержат азота, фосфора или серы.

Сложные липиды имеют многокомпонентные молекулы. К ним относят главным образом фосфолипиды и гликолипиды. Фосфолипиды – наиболее разнообразная и важная группа сложных липидов. Их структура образована

фосфорной кислотой, насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами, альдегидами и спиртами (глицерин, диолы, сфингозин), азотистыми основаниями (холин, этаноламин), аминокислотами, связанными между собой сложной или простой эфирной или амидной связью.

Фосфолипиды – обязательная составная часть всех живых организмов. В обычных тканях они входят в основном в структуру мембран (фосфолипиды часто называют мембранными липидами) и не накапливаются в больших количествах, в нервной и мозговой тканях их около 30 %. Их роль в жизнедеятельности чрезвычайно велика: кроме мембран, они участвуют в построении субклеточных структур, выполняя роль «несущих конструкций», способствуют переносу химических веществ и выполнению других функций. Фосфолипиды разделяются на несколько групп в зависимости от строения центрального структурного фрагмента – полиола: глицерин образует глицерофосфолипиды, диолы – диольные фосфолипиды, сфингозин – сфинголипиды. Последние имеют достаточно сложное и специфическое строение, благодаря чему их часто выделяют в самостоятельную группу сложных липидов.

Гликолипиды, наряду с многоатомным спиртом и высшей жирной кислотой, имеют в своем составе углеводы.

С практической и экспериментальной точек зрения весьма важно учитывать, что многие липиды относятся в той или иной степени к бифильным веществам из-за одновременного наличия полярных (гидрофильных) и неполярных (гидрофобных) группировок. С этим обстоятельством связывают их исключительно важные биологические функции, например, способность одностороннего поступления и активный перенос веществ через мембраны. Бифильность липидов обуславливает их применение в качестве эмульгаторов в пищевой, масложировой, косметической промышленности; на их основе разработаны пищевые и биологически активные добавки, улучшающие структуру пищевых систем и обеспечивающие улучшение здоровья человека.

По функциям в организме липиды разделяют на структурные, запасные и защитные. К структурным относят главным образом фосфолипиды, которые, образуя сложные комплексы с белками (липопротеины) и углеводами, участвуют в разнообразных процессах живой клетки. К ним также относят глико-, сульфо- и некоторые другие липиды. Запасные образуются в основном ацилглицеринами, которые в растениях накапливаются большей частью в плодах и семенах, а у животных и рыб – в подкожных тканях и тканях, окружающих внутренние органы, а также в печени, мозговой и нервной тканях. Содержание их зависит от вида, возраста, питания (и т. д.) и в отдельных случаях составляет 95–97 % всех выделяемых липидов. Защитные липиды – воски и их производные – у растений покрывают поверхность листьев, семян и плодов, предохраняя их от воздействия внешних факторов. Значительное

количество липидов содержится в молоке животных (%): дельфин – 46, кит – 45, слон – 20, коза – 4,8, корова – 3,6.

Привлекают внимание и активные «создатели» липидов микробного происхождения, в биомассе которых их содержание может достигать 20–50 %. В настоящее время им как источникам полезных и биологически активных липидов придается большое значение.

Известна классификация липидов по их способности реагировать с гидроксидами металлов. По отношению к гидроксидам их делят на две группы: омыляемые и неомыляемые. К группе омыляемых относятся простые и сложные липиды, которые при взаимодействии с гидроксидами металлов гидролизуются с образованием солей высокомолекулярных кислот, получивших название мыла. В природных липидах идентифицированы вещества, обладающие такой же растворимостью, как и липиды, но не способные омыляться. Это свободные высшие жирные кислоты, высшие и полициклические спирты (стеролы), их производные (стероиды), жирорастворимые витамины, высшие гомологи предельных и непредельных углеводов и другие соединения.

Липиды являются важными компонентами пищи, во многом определяют ее пищевую ценность и вкусовые качества. Велика роль липидов в разнообразных процессах пищевой технологии. Порча зерна и продуктов его переработки при хранении в первую очередь связана с изменением липидного состава. Это характерно и для продукции животного происхождения и рыб. Липиды, выделенные из растений и животных, – важнейшее сырье для получения пищевых и технических продуктов – растительного масла, животных жиров, в том числе сливочного масла, маргарина, глицерина, жирных кислот и др. Весьма развито в настоящее время выделение и самостоятельное применение бифильных липидных фракций, обладающих свойствами поверхностно-активных веществ. На этом основано производство ряда коммерческих препаратов отечественного и зарубежного производства.

Из разных источников выделено свыше 600 различных видов липидов, среди которых насчитывается 420 видов жиров растительного происхождения, 80 видов жиров наземных животных и более 100 видов липидов обитателей различных водоемов.

Простые липиды

Жиры и масла (нейтральные липиды, глицеролипиды, триацилглицерины). Они составляют основную массу липидов (в отдельных случаях свыше 95 %). Глицериды (ацилглицерины) – сложные эфиры глицерина – наиболее распространенный и важный компонент нейтральных липидов.

В состав природных жиров и масел они входят в виде смесей моно-, ди- и триацилглицеринов, в которых доля последних значительно превалирует.

Основная функция триацилглицеринов состоит в запасании энергии и углерода, с чем и связана их роль в питании. Если они имеют твердую консистенцию при комнатной температуре, их называют жирами, а если жидкую – маслами. В их состав входят насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Триацилглицерины различаются природой и расположением остатков жирных кислот, соединенных с глицерином сложноэфирной связью:

Если в структуре жира находится во всех положениях одна и та же жирная кислота, его относят к простым, а если разные – к смешанным. Например, состав жиров зависит от различных факторов. Например, в составе липидов морских животных преобладают насыщенные жирные кислоты с большим числом углеродных атомов и ненасыщенные с числом атомов углерода 18–22, особенно пальмитиновая; жировым депо служит печень. В составе жира наземных животных в значительном количестве содержится стеариновая кислота, а ненасыщенные жирные кислоты имеют 14–16 углеродных атомов; для них роль жирового депо выполняют подкожная клетчатка, околопочечная область, брыжейка, сальник. Жир человека имеет в своем составе значительные количества стеариновой, пальмитиновой, олеиновой, линолевой, лауриновой, миристиновой и других кислот.

В составе природных триацилглицеринов найдено свыше четырехсот различных органических кислот. Однако большинство из них присутствуют лишь в очень небольших количествах. Наиболее распространенные в жирах кислоты (основные) содержат 12–18 атомов углерода, их называют жирными. Кислоты с малым числом С-атомов встречаются крайне редко, а с числом С-атомов свыше 24 – присутствуют в восках. В природных жирах, за исключением микробных, жирные кислоты присутствуют в виде неразветвленных углерод-углеродных цепей, содержащих четное число атомов.

Большинство природных липидов содержат ненасыщенные кислоты, содержащие 1–3 ненасыщенные связи. В жирах рыб найдены жирные кислоты с пятью, шестью и более ненасыщенными связями.

Таким образом, большинство природных жиров и масел представляет собой смесь глицеридов, отличающихся сочетанием относительно небольшого числа жирных кислот, соединенных с глицерином. Очевидно, что свойства масла или жира обуславливаются их качественным составом и расположением. Однако, несмотря на относительно небольшое число основных кислот (5–8), участвующих в образовании глицеридов, число последних может быть значительным (таблица 6.1).

Этим и объясняется огромное число открытых глицеридов, список которых постоянно пополняется.

Природные жиры представляют собой жиры смешанного типа, в структуре которых чаще всего положения 1 и 3 заняты предпочтительно остатками насыщенных, а положение 2 – остатками ненасыщенных жирных кислот.

Таблица 6.1 – Возможные варианты сочетаний жирных кислот с глицерином

Количество жирных кислот	5	6	7	8	9	10
Количество возможных вариантов глицеридов	75	126	196	285	405	550

Особенностью химического строения триацилглицеринов является изомерия, связанная с различным положением (1, 2, 3) ацилов в молекуле, их различным строением, положением двойных связей, пространственным расположением функциональных групп (цис- и транс-изомерия), а также (оптическая изомерия) с появлением в молекуле глицерида асимметрического углеродного атома в положении 2 при наличии различных заместителей в положениях 1 и 3.

Таким образом, многочисленные комбинации, которые могут быть осуществлены за счет перестановки ацильных группировок в смешанных триацилглицеринах, дают начало огромному семейству структурных изомеров, различающихся не только свойствами, но и формой молекул.

Суточная потребность организма в жирах в соответствии с формулой сбалансированного питания по А. А. Покровскому составляет 80–100 г для взрослого человека), из них полиненасыщенные жирные кислоты 3–6 г, фосфолипиды, холестерин 0,3–0,6 г. Оптимальное соотношение растительных и животных жиров по последним данным должно быть 7:3. Энергетическая ценность 1 г жира – 9,0 ккал. Рекомендуемый уровень потребления пищевых жиров: растительного масла – 7,3 кг/год (20 г/день), сливочного масла 5,5 кг/год (15 г/день). Остальное количество жира употребляется в составе пищевых рационов (молока, сметаны, сыра, рыбы, мяса, яиц и растительных гарниров). При умеренном потреблении жиров за их счет обеспечивается 30–35 % энергозатрат организма. Жиры перевариваются медленнее углеводов, способствуя бóльшему насыщению. Но чрезмерное употребление жиров, особенно насыщенных (животного происхождения), приводит к развитию атеросклероза и ишемической болезни сердца, ожирению человека. Особенно опасно бесконтрольное употребление тортов, пирожных, мороженого, шоколада, жирной ветчины, грудинки, колбасы и других вкусных продуктов, в которых жиры подвергаются промышленной обработке и могут содержать первичные и вторичные окислительные соединения, отсутствующие в свежих природных жирах (маслах).

В состав растительных масел, полученных из семян, входит 95–98 % триглицеридов (триацилглицеринов), 1–2 % свободных жирных кислот, 1–2 % фосфолипидов, 0,3–1,0 % стероидов, а также каротиноиды и витамины.

Жирнокислотный состав триацилглицеринов оказывает решающее влияние на физические свойства жиров. Жиры, содержащие триацилглицерины полиненасыщенных жирных кислот, являются по своим физическим свойствам жидкими при комнатной температуре. Это характерно для растительных масел.

Жиры с преобладающим содержанием триацилглицеринов насыщенных кислот – твердые при комнатной температуре. Это в основном животные жиры.

Из ненасыщенных жирных кислот в составе масел преобладают олеиновая, линолевая, линоленовая, которые обычно составляют от 80 до 90 % от общего содержания жирных кислот, причем в определенном виде масел преобладают отдельные кислоты. Так, в подсолнечном масле содержится 55–71 % линолевой кислоты и 20–40 % олеиновой кислоты; в оливковом масле на долю олеиновой кислоты приходится 80–90 %.

В состав некоторых масел входят специфические жирные кислоты. Так, рицинолевая кислота, оказывающая влияние на функции кишечника, присутствует в масле клещевины (касторовом). Содержание насыщенных жирных кислот в растительных маслах приблизительно 15 %, преобладает пальмитиновая (до 60 % от содержания насыщенных кислот) и стеариновая.

В состав жиров наземных животных входят ненасыщенные жирные кислоты (обычно составляют 40–60 % от общего количества жирных кислот животных жиров), а из полиненасыщенных встречается линолевая.

Характеристика жирнокислотного состава некоторых животных жиров и растительных масел (в %) приведена в таблице 6.2.

Таблица 6.2 – Жирнокислотный состав и характеристика некоторых животных жиров и растительных масел (%)

Жиры и масла	Содержание жирных кислот, %			Температура застывания, °С	Число омыления	Йодное число, % йода
	насыщенных	ненасыщенных	главных (по массовой доле)*			
1	2	3	4	5	6	7
Масла						
Соевое	14-20	75-86	C ₁₈ ² 46-65	-18	191-193	120-140
Арахисовое	20-21	79-80	C ₁₈ ¹ 39-70	-2....-3	185-186	90-95,5
Хлопковое	22-30	75-78	C ₁₈ ² 45-56 C ₁₈ ¹ 16-35	-2....-4	191-198	101-116
Подсолнечное	10-12	До 90	C ₁₈ ² 46-70	-16....18	186-194	119-136
Рапсовое	2-6	94-98	Эруковая C ₁₂ ¹ 11-56	0....10	167-181	94-103
Оливковое	9-18	82-91	C ₁₈ ¹ 70-82	0....6	185-200	72-89

Жиры и масла	Содержание жирных кислот, %			Темпера- тура застыва- ния, °С	Число омыле- ния	Йодное число, % йода
	насы- щенных	нена- сыщен- ных	главных (по массо- вой доле)*			
1	2	3	4	5	6	7
Кокосовое	до 90	10	C ₁₂ ⁰ 44-52 C ₁₄ ⁰ 13-18	-16...-25	251-264	7-12
Пальмовое	44-57	43-56	C ₁₆ ⁰ 39-47 C ₁₈ ⁰ 45-50	-31...-41	196-210	52-58
Пальмоядрово	79-83	17-21	C ₁₆ ⁰ 10-19	-19...-24	240-257	15-20
Масло какао	58-60	40-42	C ₁₈ ¹ 23-25 C ₁₆ ⁰ 31-34	-21...-27	192-196	34-38
Льняное	6-9	91-94	Линоленов ая и др. 41-	-18...-27	191-195	175-190
Касторовое	до 0,6	94-97	Рициноле- вая	-10...-18	176-186	92-90
Тунговое	3-10	90-97	Элеостеа- риновая C ₁₈ ³ 66-82	-2...-17	185-197	145-176
Животные жиры						
Говяжий	45-60	43-52	C ₁₈ ¹ 43-44 C ₁₆ ⁰ 24-29	30-38	190-200	32-47
Бараний	52-62	38-48	C ₁₈ ¹ 36-42 C ₁₆ ⁰ 25-31	44-50	192-198	31-46
Свиной	33-49	48-64	C ₁₈ ¹ 34-44 C ₁₈ ⁰ 25-32	22-46	193-200	46-66
Китовый	10-22	78-90	-	-	181-193	100-161
Кашалотовый	-	-	-	17-20	125-150	62-92

*- Верхний индекс (0,1,2,3) показывает количество двойных связей в молекуле кислоты.

Триглицериды (триацилглицерины) – вещества бесцветные, без запаха и вкуса. Характерные цвет и вкус жирам придают сложные липиды и другие вещества – свободные жирные кислоты, липохромы, токоферолы, витамины и др. Соевое, кукурузное масла содержат до 100 мг% токоферолов, подсолнечное, хлопковое – до 60 мг%. Наибольшей витаминной ценностью обладает подсолнечное масло, в котором токоферолы представлены Е-витаминной формой, в соевом и кукурузном маслах 90 % токоферолов представлены антиоксидантной формой. Из животных жиров высокое содержание витаминов А и D характерно для жиров рыб.

В отдельных видах масличного сырья содержатся вещества, переход которых в масла нежелателен. Это, например, эруковая кислота, которая содержится в рапсе. В семенах хлопчатника находится ядовитый пигмент госсипол ($C_{30}H_{30}O_8$), который по своей структуре является полифенолом.

Масличные семена (плоды и орехи), зародыши зерна, клетки других видов растительного сырья содержат активные ферменты: липоксигеназу и липазу, катализирующие гидролиз и прогоркание тканевых липидов. Жировые ткани животного происхождения, как правило, липоксигеназу не содержат. Поэтому окисление растительных масел считают ферментативным, а животных жиров – химическим процессом.

При длительном хранении масличного и жирового сырья, а также их переработке возможны окислительные изменения липидов, которые могут осуществляться с различной скоростью, глубиной, иметь различную направленность в зависимости от природы жира и условий окисления. Эти превращения могут привести к наиболее опасному виду порчи жиров – окислительному прогорканию. Окисление жиров и масел – так называемое автоокисление – протекает даже при низких температурах в присутствии газообразного кислорода по цепному пути с вырожденным разветвлением.

Первичным продуктом окисления, обнаруживаемым аналитическим путем, являются пероксиды. В начальной стадии цепной реакции образуются свободные радикалы, появляющиеся в жире под воздействием энергии (тепла, света, радиации и др.). Активные в химическом отношении свободные радикалы вступают во взаимодействие с кислородом с образованием очень реактивных перекисных (пероксидных) радикалов. Пероксидный радикал реагирует с новыми молекулами окисляемого вещества (жирными кислотами), образуя гидропероксид и новый свободный радикал.

Быстрее окисляются жирные кислоты с большим количеством ненасыщенных связей. Так, линолевая кислота окисляется в 27 раз быстрее олеиновой. Еще быстрее (в 77 раз) окисляется линоленовая кислота. Установлено, что гидропероксиды образуются не по месту двойных связей, а преимущественно у соседнего с двойной связью более активного атома углерода.

Образующиеся пероксиды не имеют запаха и вкуса, поэтому на ранней стадии окисления жиров органолептические изменения не обнаруживаются. Однако пероксиды оказывают токсическое действие на организм человека и способствуют уменьшению пищевой и биологической ценности жиров, так как в окислительные превращения вовлекаются в первую очередь ненасыщенные жизненно необходимые жирные кислоты и фосфолипиды.

Гиперпероксиды являются реакционноспособными неустойчивыми веществами и легко распадаются с образованием карбонильных соединений, сообщающих окисленным жирам прогорклый вкус («царапание» в горле,

ощущение жжения) и резкий неприятный запах. Группа вторичных продуктов окисления на основе карбонильных соединений включает альдегиды, альдегидо- и кетокислоты, кетоны, а также продукты распада жирных кислот. Дальнейшее превращение низкомолекулярных альдегидов в низкомолекулярные летучие спирты и жирные кислоты, не свойственные данному жиру, создает ощущение прогорклого запаха жира (масла).

Установлена прямая связь между накоплением карбонильных соединений и органолептическими изменениями качества жира. Чем больше содержание альдегидов, тем значительнее степень окислительной порчи жира. Для количественного определения альдегидов применяют фотоколориметрию и спектрофотометрию с применением 2-тиобарбитуровой кислоты, 2,4-динитрофенилгидразина и бензидина (диаминодифенила). В последнем случае (определение альдегидного числа) метод основан на измерении интенсивности желтой окраски, образующейся в ходе реакции бензидина с карбонильными соединениями.

Переокисное (пероксидное) число является чувствительным показателем, по величине которого можно судить о начале и глубине окисления жира (масла). В свежем жире пероксиды практически отсутствуют. На начальной стадии окисления в течение некоторого времени химические и органолептические показатели жиров почти не изменяются. Взаимодействие кислорода с жиром в это время либо еще не происходит, либо протекает в незначительной мере. Данный период времени, имеющий разную продолжительность в зависимости от природы жира, называют индукционным периодом. После завершения индукционного периода жир начинает быстро окисляться. Это обнаруживается по росту перекисных (пероксидных) чисел и изменению органолептических свойств (запаха и вкуса) жира. Существование индукционного периода объясняется тем, что в начале процесса окисления в жире очень мало молекул с повышенной кинетической энергией (возбужденных или свободных радикалов), а также присутствием в жире естественных антиоксидантов – каротиноидов, токоферолов, лецитина, полифенолов, которые более активно реагируют со свободными радикалами и с кислородом воздуха и тем самым препятствуют окислению жиров. Длительность индукционного периода зависит от содержания природных антиоксидантов, состава жира и условий его хранения.

Животные жиры, содержащие меньше непредельных жирных кислот, более устойчивы в процессе хранения. Однако свиной жир менее стоек, так как в нем содержится больше непредельных кислот и очень мало каротиноидов и токоферолов. Поэтому индукционный период свиного жира значительно короче, чем говяжьего. Еще быстрее подвергаются окислительной порче жиры рыб, в составе которых преобладают непредельные жирные кислоты, в том числе полиненасыщенные (пента- и гексаеновые).

Триацилглицерины (триглицериды) в присутствии воды, при повышенной температуре, под действием микрофлоры и ферментов подвергаются гидролизу, глубина которого измеряется кислотным числом.

Пероксидным числом называют число граммов йода, выделяемого в кислой среде из йодистого калия при действии перекисей, содержащихся в 100 г жира. Пероксидное число выражают обычно в процентах йода или в миллимолях активного кислорода на 1000 г (1 кг). В таблице 4.3 приведены пероксидные числа некоторых жиров и масел в зависимости от их свежести.

Таблица 4.3 – Перекисные числа некоторых жиров и масел различной свежести

Жиры и масла	Пероксидные числа, % йода (не более)		
	Свежие	Сомнительной свежести	Прогорклые
Сливочное масло	0,02	0,06	0,10
Топленое масло	0,02	0,08	0,50
Свиной жир	0,08	0,15	3,00
Говяжий жир	0,02	0,08	0,15
Бараний жир	0,08	0,15	3,00
Подсолнечное масло:			
- нерафинированное	0,16	0,40	3,50
- рафинированное	0,15	0,50	6,00
Гидрожир	0,10	-	0,50

Гидролизу и прогорканию жиров способствуют: повышенная температура, наличие влаги, света, присутствие микрофлоры и ферментов (липоксигеназа, каталаза, липаза и др.), контакт с металлами, особенно переменной валентности (кобальт, марганец, железо и др.).

Контрольные вопросы

- 1) Какова химическая природа липидов? Охарактеризуйте состав пищевых жиров (масел).
- 2) Что служит источником жиров? В чем заключается пищевая ценность жира (масла)?
- 3) Объясните химизм гидролиза и окислительной порчи липидов. Какие химические вещества в жире (масле) окисляются в первую очередь?
- 4) Почему ухудшается пищевая и биологическая ценность жиров (масел) при окислении?
- 5) Какие показатели применяются для оценки степени гидролиза и окисления жиров и масел? Какой из них характеризует раннюю стадию окисления?

6) Дайте обоснование связи между содержанием карбонильных соединений в жире (масле) и устойчивыми органолептическими признаками его окислительного прогоркания.

7) Что называется пероксидным (перекисным) числом? Приведите примерную величину его для свежего и испорченного жира или масла.

8) Что такое индукционный период с точки зрения процесса окисления жиров или масел? Как он определяется?

9) На чем основано количественное определение альдегидов в масле или жире?

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ГИДРОЛИЗУЕМОСТЬ МЫШЕЧНОЙ ТКАНЕЙ РЫБ (6 ч)

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по определению гидролизуемости ткани рыбы под действием собственного комплекса протеолитических ферментов.

Задания:

- 1) освоить теоретический материал, представленный в разделе 7.2;
- 2) освоить методики по определению протеолитической активности (гидролизуемости) тканей рыбы и содержания в них продуктов гидролиза белков и азотистых летучих оснований.

7.1 МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1 Определение гидролизуемости тканей рыбы под действием собственного комплекса протеолитических ферментов

Ход работы. Свежую или размороженную рыбу (5–10 экз., в зависимости от размеров) разделать на тушку, аккуратно отделить внутренние органы, тщательно зачистить брюшную полость, отделить мышечную ткань от костей и кожи.

Пищеварительные органы (желудок, пилорические придатки, кишечник, печень) освободить от остатков пищи, ожирков, гонад. Промыть водой, подсушить на марле или фильтровальной бумаге.

Мышечную ткань и пищеварительные органы взвесить отдельно на технических весах с точностью до 0,05 г. Определить соотношение массы и пищеварительных органов, полученных при разделке рыбы. С учетом полученного соотношения рассчитать, какая масса пищеварительных органов (М) приходится на 20 г мышечной ткани.

Мясо рыбы пропустить два раза через мясорубку и хорошо перемешать. Внутренние органы как можно мельче разрезать ножом или ножницами и растереть в ступке. Измельченные ткани (фарш и пищеварительные органы) положить раздельно в два бокса с крышкой и палочкой для взятия навесок.

В шесть стаканчиков по 50 см³ взять навески по 20 г мышечной ткани (фарша) и М пищеварительных органов с точностью до 0,05 г (в каждый стаканчик).

Если при определении соотношения массы мышц и пищеварительных органов получилось 10:1, то в этом случае навеску внутренностей взять в количестве 2 г.

Навески тканей количественно (без потерь) перенести с помощью 50 см³ буферного раствора с заданным рН в мерные колбы на 200 см³, распределив их согласно таблице 7.1.

Таблица 7.1 – Распределение смеси из рыбных тканей и буферных растворов в опытных и контрольных колбах

Маркировка колб	Навеска, г		рН	
	фарша	пищеварительных органов	буферного раствора	смеси
1 К	20,0	М (или 2г)	7,0	6,7
1 Т	20,0	М -«-	7,0	6,7
2 К	20,0	М -«-	10,0	8,0
2 Т	20,0	М -«-	10,0	8,0
3 К	20,0	М -«-	1,8	3,1
3 Т	20,0	М -«-	1,8	3,1

Для ускорения работы в колбы 3К и 3Т можно взять навески по 20 г фарша и проводить опыт при рН смеси 6,7.

Все колбы встряхивают на механической мешалке в течение 15 мин. После этого в каждую колбу добавляют по 1 см³ толуола в качестве антисептика, подогревают. Затем контрольные образцы с индексом «К» помещают в кипящую водяную баню на 10 минут для инактивации ферментов. После прогрева на водяной бане контрольные образцы (колбы с маркировкой 1К, 2К и 3К) используют для определения начального содержания азота конечных аминогрупп ($N_{ам}$) методом формольного титрования.

Колбы с активным комплексом ферментов (1Т, 2Т и 3Т) помещают в термостат и выдерживают при температуре 37 °С в течение 1,5–2,0 ч.

После термостатирования колбы 1Т, 2Т и 3Т помещают в кипящую водяную баню на 10 мин и инактивируют ферменты так же, как и в контрольных пробах. При определении активности комплексов протеиназ в кислой среде (колба 3Т) при плохой коагуляции белка можно добавить 1н раствора едкого натра в количестве 10 % в массе содержимого.

После нагревания колбы охлаждают под струей водопроводной воды, доводит до метки дистиллированной водой (до 200 см³) тщательно перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр в чистые и сухие конические колбы.

В фильтрах как контрольных, так и опытных проб определяют формольно титруемый азот. В коническую колбу на 100 см³ приливают 25 см³

фильтрата и добавляют 5 капель фенолфталеина и осторожно по каплям нейтрализуют 0,1 н раствором едкого натра до слабого розового окрашивания. При избытке раствора щелочи пробу вначале оттитровывают 0,1 н раствором соляной кислоты.

К нейтрализованному фильтрату добавляют 10 мл 37–40%-ного раствора формалина, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину. После перемешивания содержимое колбы титруют 0,1 н раствором едкого натра

Для определения кислотности формалина проводят холостой опыт. В коническую колбу приливают 25 см³ дистиллированной воды, 10 см³ формалина и титруют в присутствии фенолфталеина до слабо-розового окрашивания.

Азот конечных аминогрупп ($N_{ам}$, мг/г) вычисляют по формуле (22):

$$N_{ам} = \frac{(V_1 - V_2) \times 1,4 \times K \times V_3}{m \times V_4}, \quad (22)$$

где V_1 – количество 0,1 н раствора щелочи, израсходованной на титрование в рабочей пробе после добавления формалина, см³; V_2 – количество щелочи, пошедшей на титрование в холостой пробе, см³; V_3 – объем мерной колбы, см³; V_4 – объем фильтрата, взятый для титрования, см³; K – коэффициент поправки к титру 0,1 н раствора щелочи; 1,4 – количество аминного азота, соответствующее 1 см³ точно 0,1 н раствора едкого натра, мг; m – масса навески (фарша и внутренностей), г.

Количество аминного азота (конечных аминогрупп) в пробах до ($N_{амк}$) и после термостатирования ($N_{амт}$) определить как среднее из трех параллельных результатов титрования. Рассчитать активность комплексов протеиназ в кислой среде, щелочной среде и при естественном значении рН (6,7) по приросту азота конечных аминогрупп за 1 час гидролиза на 1 г мышечной ткани по формуле (23) или (24):

$$АКП = \frac{N_{амт} - N_{амк}}{\tau}, \text{ мг } N_{ам} / \text{ г} \times \text{час}; \quad (23)$$

$$АКП = \frac{N_{амт} - N_{амк}}{\tau \cdot 0,014}, \text{ ед} / \text{ г} \times \text{час}. \quad (24)$$

По результатам экспериментов, проведенных студентами всей группы, составить сводную таблицу и сделать выводы об активности комплекса протеиназ (АКП) различных видов рыб в зависимости от рН среды.

7.2. Определение азота летучих оснований

10 г фарша рыбы (с точностью до 0,05 г) количественно перенести 250 см³ дистиллированной воды в отгонную колбу прибора для перегонки с

водяным паром. Туда же добавить 1 г окиси магния и, во избежание вспенивания, кусочек чистого парафина. Колбу плотно закрыть пробкой с каплеуловителем, соединить с холодильником и парообразователем. Отгонку проводят в течение 30 мин, считая с момента появления первых капель дистиллята в холодильнике. Дистиллят собирают в приемник (коническая колба на 200 см³), в который предварительно добавлено точно по бюретке 15–25 см³ 0,1 н раствора серной кислоты. Перед отгонкой конец трубки холодильника должен быть погружен в раствор кислоты.

За 5–10 мин до окончания отгонки конец трубки холодильника извлекают из раствора и промывают дистиллированной водой из промывалки. Каплю дистиллята из холодильника проверяют бумажным универсальным индикатором на отсутствие щелочи.

По окончании отгонки избыток кислоты в приемной колбе оттитровывают 0,1 н раствором едкого натра в присутствии 5 капель метилового красного до перехода окраски от розовой до слабо-желтой.

Параллельно с рабочим провести контрольный опыт без навески с теми же реактивами.

Содержание азота летучих оснований (X_1 , мг%) вычисляют по формуле (25):

$$X_1 = \frac{(a-b) \times K \times 1,4 \times 100}{m}, \quad (25)$$

где a – количество 0,1 н раствора едкого натра, израсходованное на титрование серной кислоты в контрольном опыте, см³; b – количество 0,1 н раствора щелочи, пошедшее на титрование избытка серной кислоты в рабочем опыте, см³; K – коэффициент нормальности раствора щелочи; 1,4 – количество азота, эквивалентное 1 см³ точно 0,1 н раствора едкого натра, мг; m – масса навески фарша рыбы, г.

7.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

В отличие от других видов пищевого животного сырья ткани рыбы характеризуются значительной протеолитической активностью, так как обмен белков в организме рыб протекает при более низкой температуре по сравнению с теплокровными животными. Холодноводные рыбы приполярных морей способны переваривать и усваивать белковый корм при температуре около 0 °С, в то время как у сельскохозяйственных животных обменные процессы осуществляются в диапазоне 36–38 °С. Высокая протеолитическая активность тканей гидробионтов (в 3–6 раз выше, чем в мясе сельхозживотных) обуславливает повышенную гидролизуемость тканевых белков, интенсивные

автолитические изменения и низкую стойкость водного сырья при хранении до обработки. В результате ферментативного гидролиза белков происходит постепенное разрушение структуры мышечной ткани и накопление промежуточных и конечных продуктов распада белков (пептонов, полипептидов и аминокислот). Уменьшаются упругость и механическая прочность, размягчается, ослабевает консистенция мяса, ломается брюшко у некрупных рыб.

Протеолиз способствует повышению проницаемости оболочек мышечных волокон, что облегчает выделение сока при технологической обработке и понижает водоудерживающую способность тканей. Ослабляется связь между структурными элементами мышечной ткани, снижается их устойчивость к механическому и тепловому воздействию. После кулинарной обработки мясо рыбы расслаивается и крошится, значительно изменяется вкус рыбы.

Возрастает доля небелкового экстрактивного азота в мясе, из которого 25 % и более приходится на свободные аминокислоты и небольшие пептиды определяемые формольным титрованием. При этом отмечается рост показателя буферности.

Протеолиз в тканях рыбы ускоряется после завершения посмертного окоченения благодаря повышению проницаемости клеточных мембран, разрушению лизосом и изменению рН среды. Наиболее активно протеолиз протекает в частях тела с высокой концентрацией ферментов: с густой сетью кровеносных сосудов (в жабрах и в области позвоночника), бурой мускулатуре и пищеварительных органах. После переваривания желудочно-кишечного тракта пищеварительные ферменты легко проникают в брюшную полость рыбы и позвоночную область мышц, ускоряют процесс гидролиза белков. В мышечных волокнах в первую очередь гидролизуются белки саркоплазмы, так как имеют глобулярную структуру и легче контактируют с катепсинами.

Содержание азотистых небелковых веществ, в том числе конечных продуктов гидролиза белков в тканях рыбного сырья в несколько раз больше, чем в тканях теплокровных животных. По этой причине сокращается адаптационный начальный период и ускоряется непосредственное развитие гнилостной микрофлоры. При ее участии дезаминируются продукты расщепления белков и полипептидов. Пептидгидролазы включают в себя аминопептидазы, карбоксипептидазы, дипептидазы и протеиназы. Последние относятся к эндопептидазам, дающие при гидролизе белков пептоны и полипептиды. Из протеиназ в рыбном сырье наибольшее значение имеют три комплекса ферментов, представленные в таблице 7.2.

Таблица 7.2 – Характеристика протеиназных комплексов

Название комплексов и место локализации	pH-оптимум	Вид протеиназ
Мышечная ткань: - кислый	3,0-4,5	Катепсины (пепсины, трипсиноподобные протеиназы)
Пищеварительные органы: - кислый - щелочной	2,0-3,5 7,0-8,5	Пепсин (кислая, сильная протеиназа) Трипсин, химотрипсин (экзопептидазы)

В развитии исследований ферментных систем рыбного сырья в технологии рыбы и рыбных продуктов крупный вклад внесли труды А. П. Черногорцева, И. П. Леванидова, Л. С. Левиевой, В. И. Шендерюка, Т. Н. Слуцкой и других ученых.

Протеолитическую активность определяют по приросту продуктов расщепления белка (тирозина, азота конечных аминокрупп, небелкового азота и др.) в строго определенных условиях (концентрация фермента и субстрата, длительность термостатирования, температура, pH и др.). Скорость гидролиза белка только в начальной стадии ферментативных превращений описывается линейным уравнением первого порядка, а затем начинает уменьшаться. Поэтому протеолитическую активность определяют только в начале ферментативного гидролиза, когда количество гидролизованного белка прямо пропорционально времени реакции. В исследовательской работе в качестве субстрата применяют казеинат натрия, гемоглобин и другие белковые препараты. В технологической практике обычно используется гомогенат целой рыбы или мышечная ткань и пищеварительные органы (отдельно и вместе, при их естественном соотношении).

Для выражения единицы активности ферментов существует несколько определений. В редакции комиссии по ферментам Международного биохимического союза за единицу активности (Стандартная единица активности – «Е») принимается такое количество фермента, которое катализирует превращение одного микромоля данного субстрата в минуту при заданных стандартных условиях. Если субстратом служит белок, полисахарид или иная макромолекула, то за меру скорости реакции (вместо микромоля субстрата) принимается число расщепленных пептидных, глюкозидных или других связей. Удельная активность фермента выражается числом единиц активности («Е») на 1 мг белка в ферментном препарате.

В промышленности за единицу активности принимается такое количество фермента, которое катализирует расщепление 1 г субстрата за 1 ч (1 мин) в принятых условиях.

В рыбной промышленности активность комплексов протеиназ рыбного сырья выражают в мг (микромольях) азота конечных аминогрупп на один грамм мышечной ткани или её смеси с пищеварительными органами за 1 ч гидролиза при определенной температуре. Один микромоль азота конечных аминогрупп равен 0,014 мг. Азот конечных аминогрупп находят методом формольного титрования. Величина активности комплексов протеиназ некоторых видов рыб приведена в таблице 7.3.

Таблица 7.3 – Значение активности комплексов протеиназ некоторых видов рыб

Вид рыбы	Активность комплекса протеиназ, $0,014 \cdot 10^{-3}$ азота/ 1 г		
	мышечной ткани рН 3,6	пищеварительных органов	
		рН 3,6	рН7,5
Ставрида ЦВА	4,8-6,9	100-300	800-3700
Ставрида СВА	6,1-8,4	200-1200	1000-4400
Скумбрия СВА	12,9-17,2	100-200	3000-10200
Скумбрия ЦВА	7,2-11,4	200-1500	2400-8000
Сардина атлантическая	6,7-12,4	300-1500	1700-3200
Сардинелла	3,7-11,6	300-2700	100-4800
Сельдь СВА	4,3-7,1	300-1100	1600-3600
Килька североморская	4,8-5,3	100-400	400-1000
Мойва	13,0-17,2	400-700	600-1500
Макрурус	0,1-0,3	200-300	600-1000

Как видно из табличных данных, активность данных протеиназ пищеварительных органов рыб на несколько порядков больше, чем мышечной ткани. Самую высокую активность имеет трипсиновый комплекс пищеварительных органов. По величине протеолитической активности можно прогнозировать стойкость рыбного сырья при хранении.

Образующиеся в период автолиза под действием комплексов протеиназ аминокислоты, являются питательной средой для развития гнилостных микроорганизмов. Содержание свободных аминокислот в мясе свежей скумбрии при хранении возрастает, например, с 180–200 до 250–370 мг%. Дезаминирование ферментами микрофлоры приводит к образованию в мясе рыбы свободного аммиака. Общее содержание аммиака и моно-, ди-, триметиламина в мясе доброкачественной пресноводной рыбы не должно превышать 20–25 мг%, а морской – 35–40 мг%. Доля триметиламина и его производных (триметиламинооксида) в мышечной ткани морских рыб значительно больше, чем у пресноводных, так как содержание триметиламинооксида в мясе свежего океанического сырья составляет от 100 до 1000 мг%. У пресноводных рыб в общем количестве азотистых летучих

оснований преобладает аммиак, а содержание триметиламина редко превышает 3–5 мг%.

Для предотвращения нежелательных изменений, вызванных автолизом, рыбу необходимо разделать (удалить голову и внутренности), обескровить, зачистить брюшную полость и быстро охладить или направить на переработку.

Контрольные вопросы

- 1) Какие комплексы протеиназ присутствуют в тканях рыбы? Назовите их основные свойства.
- 2) Как влияют комплексы протеиназ на качество рыбного сырья?
- 3) В каких единицах выражается активность протеолитических ферментов?
- 4) Как образуются азотистые летучие основания в тканях рыбы?
- 5) В чем состоит принцип определения активности комплекса протеиназ рыбного сырья?
- 6) На чем основано применение методики формольного титрования при определении азота конечных аминок групп
- 7) Как определить содержание азота летучих оснований в мясе рыбы?
- 8) Какие процессы обуславливают рост азота летучих оснований?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антипова, Л. В. Методы исследования мяса и мясных продуктов / Л. В. Антипова, И. А. Глотова, И. А. Рогов. – Москва: Колос, 2001. – 566 с.
2. Байдалинова, Л. С. Биохимия сырья водного происхождения: учеб. пособие / Л. С. Байдалинова, А. А. Яржомбек. – Москва: Моркнига, 2011. – 504 с.
3. Биохимия растительного сырья: учеб. / В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова и др.; ред. В. Г. Щербаков. – Москва: Колос, 1999. – 376 с.
4. Горбатова, К. К. Биохимия молока и молочных продуктов: учебник / К. К. Горбатова. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: Колос, 1997. – 288 с.
5. Крахмалева, Т. М. Пищевая химия [Электронный ресурс]: учеб. пособие / Т. М. Крахмалева, Э. Ш. Манеева; Министерство образования и науки Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет». – Оренбург: ОГУ, 2012. – 154 с. (ЭБС «Университетская библиотека онлайн»).
6. Нечаев, А. П. Пищевые добавки: учеб. / А. П. Нечаев, А. А. Кочеткова, А. Н. Зайцев. – Москва: Колос, 2001. – 256 с.
7. Пищевая химия / А. П. Нечаев, С. Б. Траубенберг, А. А. Кочеткова [и др.]. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2001. – 592 с.
8. Павловский, П. Е. Биохимия мяса / П. Е. Павловский, В. В. Пальмин. – Москва: Пищевая промышленность, 1975. – 344 с.
9. Пищевая химия: Лабораторный практикум: пособие для вузов / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова [и др.]; под ред. А. П. Нечаева. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2006. – 304 с.
10. Пищевая химия: учеб. / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова, В. В. Колпакова; под ред. А. П. Нечаева. – 3-е изд., испр. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2004. – 633 с.
11. Рогов, И. А. Химия пицци / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко. – Москва: КолосС, 2007. – 853 с.
12. Терещенко, В. П. Пищевая химия: учеб. пособие для студ. механико-технологич. фак.: в 2 ч. / В. П. Терещенко. – Калининград: КГТУ, 2004. – Ч.1: Химия пищевого сырья. – 149 с.
13. Теплов, В. И. Физиология питания: учеб. пособие / В. И. Теплов, В. Е. Боряев. – Москва: Дашков и К°, 2006. – 451 с.
13. Химический состав российских пищевых продуктов: справ. / под ред. И. М. Скурихин, В. А. Тутельян. – Москва: ДеЛи принт, 2002. – 236 с.
14. Методические рекомендации МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 22 июля 2021 г.).

Локальный электронный методический материал

Лариса Степановна Байдалинова
Наталья Юрьевна Романенко

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Редактор Е. Билко

Уч.-изд. л. 7,3. Печ. л. 6,1.

Издательство федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Калининградский государственный технический университет».
236022, Калининград, Советский проспект, 1