

**ФГБОУ ВО НОВОСИБИРСКИЙ ГАУ
БИОЛОГО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Биохимия сельскохозяйственной продукции

Методические разработки по выполнению лабораторных работ

Новосибирск 2017

УДК 577.1:633/635+637(07)
ББК 28.072:41/42+45/46, я7

Кафедра ветеринарной генетики и биотехнологии

Составитель: Короткевич О.С., д.б.н., профессор

Рецензент: Бокова Т.И., д.б.н., профессор, зав. кафедры химии НГАУ

Биохимия сельскохозяйственной продукции: методические разработки по выполнению лабораторных работ / сост. Короткевич О.С., Себежко О.И.; Новосибир. гос. аграр. ун-т. Биолого-технологический факультет.- Новосибирск, 2017. - 55 с

Методические рекомендации предназначены для бакалавров очной и заочной форм обучения Биолого-технологического факультета, обучающихся по направлению подготовки 35.03.07. Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции

Представлены лабораторные работы по основным разделам курса «Биохимии сельскохозяйственной продукции», вопросы для контроля и библиографический список.

Методические разработки по выполнению лабораторных работ утверждены и рекомендованы к изданию на заседании учебно-методического совета БТФ (протокол № 2 от 1.03. 2017)

Содержание

| | |
|---|----|
| 1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОЛОКА | |
| 1.1.Работа №1. Казеин..... | 6 |
| 1.2.Работа №2. Альбумины и глобулины..... | 6 |
| 1.3.Работа №3. Высаливание белков молока..... | 6 |
| 1.4.Работа №4. Осаждение белков молока солями тяжелых металлов..... | 7 |
| 1.5.Работа №5. Определение в молоке массовой доли белков..... | 7 |
| 1.6.Работа №6. Молочный сахар..... | 10 |
| 2.ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОКА..... | 14 |
| 2.1.Работа №7. Плотность молока | 17 |
| 2.2.Работа № 8. Кислотность молока (ГОСТ 3624-92)..... | 20 |
| 3. ФЕРМЕНТЫ МОЛОКА..... | 22 |
| 3.1. Работа №9. Реакция на каталазу..... | 23 |
| 3.2. Работа №10. Реакция на пероксидазу..... | 23 |
| 3.3.Работа №11. Определение пероксидазы по реакции с йодисто-калиевым крахмалом (ГОСТ 3623-73)..... | 23 |
| 3.4.Работа №12. Определение фосфатазы по реакции с фенолфталеинфосфатом натрия (ГОСТ 3623-73)..... | 24 |
| 3.5. Работа №13. Реакция на редуктазу..... | 26 |
| 4. СОЛЕВАЯ СИСТЕМА МОЛОКА..... | 27 |
| 4.1. Работа №14. Определение кальция..... | 27 |
| 4.2. Работа №15. Определение общего фосфора..... | 28 |
| 5.ВИТАМИНЫ МОЛОКА..... | 31 |
| 5.1. Работа №16. Определение содержания аскорбиновой кислоты в молоке (стандартный упрощенный метод)..... | 31 |
| 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОСТОРОННИХ ВЕЩЕСТВ В МОЛОКЕ..... | 33 |
| 6.1.Работа №17. Определение добавления воды..... | 33 |
| 6.2. Работа №18. Проба Йохельсона..... | 33 |
| 6.3. Работа №19. Нитратная проба..... | 34 |
| 6.4. Работа №20. Определение примеси соды (ГОСТ 24065-80)..... | 34 |
| 6.5. Работа №21. Определение примеси перекиси водорода (ГОСТ 24067-80)..... | 35 |
| 6.6. Работа №22. Определение содержания аммиака (ГОСТ 24066-80)..... | 36 |
| 6.7. Работа №23. Определение примеси крахмала..... | 37 |
| 6.8. Работа №24. Определение формальдегида..... | 37 |
| 6.9. Работа №25. Определение двуххромовокалиевой соли..... | 37 |
| 7. ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ..... | 39 |
| 7.1.Работа №26. Выделение альбуминовой фракции..... | 39 |
| 7.2. Работа №27. Выделение глобулиновой фракции..... | 40 |
| 7.3.Работа №28. Выделение склеропотеинов..... | 41 |
| 8.УГЛЕВОДЫ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ..... | 43 |

| | |
|---|----|
| 8.1.Работа №29. Определение гликогена (качественная реакция)..... | 43 |
| 8.2.Работа № 30. Качественное обнаружение молочной кислоты в экстрактах из скелетных мышц (реакция Уффельмана)..... | 44 |
| 9.ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЕЖЕСТИ МЯСА..... | 44 |
| 9.1.Работа № 31. Формольная проба (по Колоболотскому Г.В. и Киселеву Е.В)..... | 48 |
| 9.2. Работа № 32. Определение продуктов первичного распада белков в бульоне (реакция с сернокислой медью)..... | 48 |
| 9.3.Работа № 33. Определение степени обескровленности туши (по Загаевскому)..... | 49 |
| 10.МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ ЖИРОВ (ГОСТ 8285 -74)..... | 52 |
| 10.1.Работа № 34. Качественная реакция на перекиси (по Винтилеску и Понеску)..... | 53 |
| 10.2.Работа № 35. Реакции с нейтральным красным (на наличие свободных жирных кислот)..... | 53 |

1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОЛОКА

1.1. Работа №1. Казеин

Оборудование:

1. Стаканы или колбочки;
2. Воронки;
3. Фильтры.

Реактивы:

1. Едкий натрий, 1%-й раствор;
2. Уксусная кислота, 0,1%-й раствор;
3. Сода в растворе.

Ход работы

Разбавляют в стакане или колбе 25-30 мл молока 3-4 объемами воды и при помешивании добавляют по каплям 0,1%-ю уксусную кислоту до прекращения выделения хлопьевидного белого осадка казеина. Казеин легко растворяется при избытке кислоты, поэтому кислоту нужно добавлять очень осторожно.

Образовавшийся осадок отфильтровывают и промывают 2-3 раза водой. Фильтрат с промывными водами и осадок сохраняют для дальнейшей работы.

Обрабатывают 1%-м раствором едкого натрия или раствором соды небольшую часть осадка (казеин + жир). При этом казеин растворяется, жир остается во взвешенном состоянии. Через влажный фильтр жидкость фильтруют, жир задерживается на фильтре. С фильтратом проводят реакции на белки (биуретовую, ксантопротеиновую, нингидриновую)

1.2. Работа №2. Альбумины и глобулины

Оборудование:

1. Стаканы или колбы;
2. Воронки, фильтры.

Реактивы:

NaCl (насыщенный раствор).

Ход работы

Смешивают фильтрат от первого осадка с насыщенным раствором хлористого натрия и кипятят. При этом молочные альбумины и глобулины выпадают в осадок. Исследуемую жидкость фильтруют. Полученный осадок промывают, растворяют и проводят цветные реакции на белки (биуретовую, ксантопротеиновую).

1.3. Работа №3. Высаливание белков молока

Оборудование:

1. Стаканы и колбы;
2. Воронки, фильтры.

Реактивы:

1. Аммоний серно-кислый (насыщенный раствор);
2. Аммоний серно-кислый (кристаллический).

Ход работы

Смешивают равные объёмы молока и насыщенного раствора серно-кислого аммония. Наблюдается осаждение казеина и молочных глобулинов. Их отфильтровывают и фильтрат насыщают кристаллическим серно-кислым аммонием. При этом молочные альбумины выпадают в осадок.

1.4.Работа №4. Осаждение белков молока солями тяжелых металлов

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Воронки, фильтры.

Реактивы:

1. Аммоний серно-кислый (концентрированный раствор);
2. Аммоний серно-кислый (кристаллический);
3. Сулема в растворе.

Ход работы

К небольшому количеству молока приливают раствор сулемы. Наблюдают осаждение белков молока. Применение молока в качестве противоядия при отравлении солями тяжелых металлов основано на этом свойстве.

1.5.Работа №5. Определение в молоке массовой доли белков

Так как содержание белка в молоке постоянно варьирует, то, следовательно, меняется и его ценность не только для питания, но и для выработки различных молочных продуктов. В настоящее время для определения массовой доли белка в молоке применяют следующие методы:

- по Кьельдалю;
- формольного титрования;
- рефрактометрический;
- колориметрический;
- спектрофотометрический;
- с применением анализаторов (ИК-спектроскопия, ультразвуковые анализаторы и т.д.).

Метод по Кьельдалю является самым старым и самым достоверным. Он был предложен в 1883 г. для определения белка в муке и зерновых продуктах. Сущность метода основана на разрушении органических соединений под действием кипящей серной кислоты. При этом происходит окисление органических веществ до воды и диоксида углерода. Из азота аминокислот получается аммиак, который с серной кислотой образует сульфат аммония. Чтобы сжигание произошло более быстро и полно, вводят катализаторы – селен, оксид ртути, сульфат меди и др. Объем аммиака определяют титрованием кислотой, а количество общего азота устанавливают умножением объема аммиака на коэффициент молочного белка 6,38 и находят концентрацию общего белка в молоке. Однако, кроме белка, молоко содержит небольшое количество соединений азота, которые не являются белками (например, мочевины). Установлено, что в среднем процент небелкового азота составляет 0,03. Таким образом, для определения истинного содержания белка по методу Кьельдаля следует из общего количества вычесть в среднем $6,38 \cdot 0,03\% = 0,19\%$. Из-за

сложности исполнения метод Кьельдаля считается малопригодным для массового контроля при приемке молока-сырья, однако как наиболее достоверный (точность $\pm 0,01\%$) он применяется в качестве арбитражного метода (ГОСТ 23327-98).

Метод формольного титрования (ГОСТ 25179-90) основан на нейтрализации карбоксильных групп моноаминодикарбоновых кислот белков раствором гидроксида натрия, количество которого, затраченное на нейтрализации, пропорционально массовой доле белка в молоке. Этот метод используют при входном контроле молока-сырья, потому что он хорошо воспроизводим, не требует сложного оборудования, высокой квалификации персонала, и время, затраченное на одно определение, не превышает 20 мин. Однако при фальсификации молока-сырья, а также молока, подвергнутого термической обработке или восстановленного, погрешность определения белка при этом методе возрастает.

Рефрактометрический метод (ГОСТ 25179-90) основан на измерении показателей преломления молока и безбелковой молочной сыворотки, полученной из того же образца молока, разность между которыми прямо пропорциональна массовой доле белка. Метод прост в воспроизведении, и время его проведения составляет не более 30 мин. Недостатком этого метода является низкое качество приборов, что приводит к расхождению по значениям массовой доли белка с арбитражным методом до 0,4%. Кроме того, фальсификация молока-сырья различными добавками (сода, соли, сухое молоко и т.д.) мешает воспроизведению результатов измерений.

Оборудование:

1. Рефрактометр АМ-2 или ИРФ-464;
2. Водяная баня;
3. Центрифуга;
4. Электроплитка;
5. Пипетки на 1,2 и 5 мл;
6. Пробки резиновые;
7. Колбы на 1000 мл;
8. Стеклянные флаконы вместимостью 10 мл.

Реактивы:

1. Вода дистиллированная;
2. 4%-й раствор хлористого кальция (40,0 г хлористого кальция помещают в колбу на 1000 мл и приливают 500 мл воды. Тщательно перемешивают до полного растворения соли. Затем содержимое колбы нагревают до $20\pm 2^\circ\text{C}$ и доводят водой до метки).

Ход работы

В три флакона наливают по 5 мл молока, добавляют по 6 капель раствора хлорида кальция. Флаконы закрывают пробками и содержимое перемешивают путем переверачивания флаконов.

На водяную баню помещают флаконы и наливают воду так, чтобы ее уровень достигал половины высоты флаконов. Баню закрывают, помещают на электроплитку, доводят воду в бане до кипения и кипятят не менее 10 мин. Не

открывая бани, сливают горячую воду через отверстия в крышке, наливают в баню холодную воду и выдерживают в ней не менее 2 мин.

Открывают баню, извлекают флаконы и разрушают белковый сгусток путем энергичного встряхивания флаконов. Флаконы помещают в центрифугу и центрифугируют не менее 10 мин. Образовавшуюся прозрачную сыворотку отбирают пипеткой и наносят на измерительную призму рефрактометра 1-2 капли. Закрывают измерительную призму осветительной.

Наблюдая в окуляр рефрактометра, специальным корректором убирают окрашенность границы света и тени. Для улучшения резкости границы измерение проводят через 1 мин после нанесения сыворотки на призму, так как за это время из пробы удаляется воздух и лучше смачивается поверхность осветительной призмы.

Проводят по шкале «Белок» не менее 3 наблюдений. Удаляют сыворотку с призмы рефрактометра, промывают ее водой и вытирают фильтровальной бумагой.

Помещают на измерительную призму 2 капли исследуемого молока и проводят по шкале «Белок» не менее 5 наблюдений, так как резкость границы света и тени у молока хуже, чем у сыворотки.

Вычисляют среднеарифметические результаты наблюдений для сыворотки и молока.

Массовую долю белка в молоке X_1 , % вычисляют по формуле

$$X_1 = X_2 - X_3,$$

где X_2 - среднеарифметическое значение наблюдения по шкале «Белок» для молока, %;

X_3 - среднеарифметическое значение наблюдения по шкале «Белок» для сыворотки, %.

Колориметрический метод (ГОСТ 25179-90) основан на способности белков молока при рН ниже изоэлектрической точки связывать кислый краситель, образуя с ним нерастворимый осадок, после удаления которого измеряют оптическую плотность исходного раствора красителя относительно полученного раствора, которая уменьшается пропорционально массовой доле белка. Этот метод прост, но ошибки в исследованиях обусловлены тем, что белок молока по своей природе резко отличается от белка-стандарта (бычий сывороточный альбумин). Погрешность определения данным методом составляет около 0,1%.

Спектрофотометрический метод (метод Варбурга и Христиана) основан на определении соотношения величин поглощения (коэффициента молярной экстинкции) при длинах волн 280 и 260 нм. С его помощью можно определить содержание белка до 0,5%, но из-за высокой стоимости оборудования и отсутствия стандартизированных методов спектрофотометрический метод на территории РФ практически не применяют.

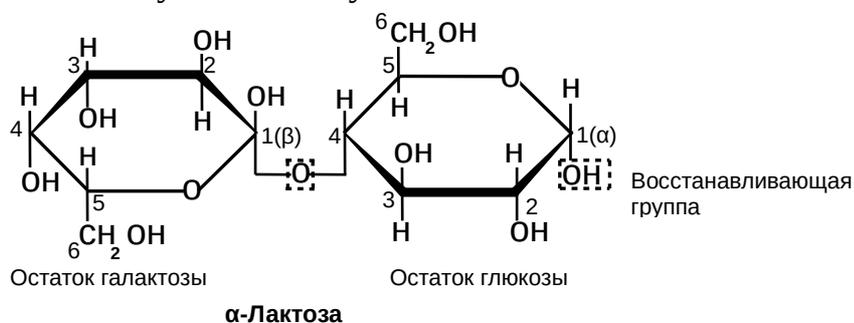
Инфракрасная спектроскопия – метод анализа химических соединений, при котором поглощается энергия в пределах инфракрасного излучения (тепловое излучение), т.е. избирательное поглощение на определенных длинах волн.

Обычно ИК-анализаторы для контроля состава молока работают в диапазоне волн 2,5 - 12 мкм. Максимум поглощения жира отмечается при длине волн 3,5 - 5,75 мкм, белка – 6,46, лактозы – 9,6. Современный ИК-анализатор «Милко-Скан FT120» позволяет проводить измерения до 120 проб в час, погрешность его анализа составляет 0,12%.

Ультразвуковой метод основан на измерении изменения скоростей ультразвуковых колебаний в зависимости от массовых долей жира и сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО), которые определяются при температурах 41 и 65°C. С помощью этого метода не проводят измерения массовой доли белка. Этот показатель вычисляют путем математической обработки массовой доли жира и СОМО.

1.6.Работа №6. Молочный сахар

Лактоза (молочный сахар) – дисахарид, который при гидролизе расщепляется на глюкозу и галактозу:



Производство лактозы в мире составляет около 27 млн т, в том числе в молочной сыворотке – 4,5 млн т. Лактоза – типичный углевод молока, присутствует в молоке всех видов животных. Кроме нее в молоке обнаружены только следы других углеводов. Лактоза истинно растворимая присутствует в молоке в виде молекулярной дисперсии. Структура лактозы определена достоверно, и ее типичное химическое название следующее: 4 – β – D – галакто–пиренозил-D-глюкоза. В молоке присутствуют три различных вида молекул лактозы: гидратная лактоза, лактоза и незначительное количество молекул лактозы в альдегидной форме. Получают лактозу традиционно из молочной сыворотки, образующейся при производстве сыров, творога и казеина. Однако лучшим сырьем для лактозы считается подсырная (сладкая сыворотка) не разбавленная водой и несоленая.

Оборудование:

Воронки, фильтры.

Реактивы:

1. Хлористый натрий (концентрированный раствор);
2. Фенилгидразин.

Ход работы

Используют безбелковый фильтрат, оставшийся от предыдущего анализа после осаждения альбуминов и глобулинов. Фильтрат делят на две части. Проводят реакцию Троммера с одной частью фильтрата и пробу с фенилгидразином с получением озона – с другой. Исследование кристаллов проводят под

микроскопом.

Установлено, что на органолептическую оценку сгущенного молока с сахаром существенное влияние оказывают размер и количество кристаллов лактозы (табл. 12). Так, консистенция продукта характеризуется как «бархатистая», если размер кристаллов лактозы менее 10 мкм.

Таблица 12

Органолептическая оценка консистенции продукта в зависимости от размеров кристаллов лактозы

| Количество кристаллов лактозы в 1 мм ³ сгущенного молока с сахаром | Средний размер кристаллов, мкм | Органолептическая оценка консистенции продукта |
|---|--------------------------------|--|
| $4 \cdot 10^5 \div 3 \cdot 10^5$ | 11 | Однородная |
| $3 \cdot 10^5 \div 1 \cdot 10^5$ | 12-15 | Слабомучнистая |
| $1 \cdot 10^5 \div 5 \cdot 10^4$ | 16-20 | Мучнистая |
| $5 \cdot 10^4 \div 25 \cdot 10^3$ | 21-25 | Сильномучнистая |
| $25 \cdot 10^3$ и более | 25 | Песчаная |

Для контроля процесса гидролиза лактозы в молочных продуктах функционального назначения с повышенной массовой долей сухих веществ используют криоскопический и йодометрический методы.

Криоскопический метод основан том, что в процессе гидролиза лактозы в молочной смеси, измеряют температуру замерзания. Так как этот показатель зависит от осмотического давления прямо пропорционального концентрации растворенных в смеси веществ, то при полном гидролизе лактозы молока будет образовываться смесь равных количеств моноз – глюкозы и галактозы. Доля осмотического давления, которая будет приходиться на лактозу, увеличивается в 2 раза.

Учитывая температуру замерзания молока или молочной смеси, в которой произошел полный гидролиз лактозы, можно рассчитать в любой контролируемый промежуток времени степень ее гидролиза (C_t).

Массовая доля остаточной лактозы ($w_{\text{лакт ост}}$) будет вычисляться по следующей формуле:

$$w_{\text{лакт ост}} = w_{\text{лакт исх}} - \frac{C_t(w_{\text{лакт исх}})}{100}, \%$$

где $w_{\text{лакт исх}}$ – массовая доля лактозы в исходном молоке или молочной смеси, %.

Йодометрический метод базируется на способности альдоз окисляться щелочным раствором йода, который с избытком вносится в реакционную смесь. Массовую долю лактозы в исследуемой молочной смеси рассчитывают по разнице объемов тиосульфата натрия, пошедшего на титрование избытка йода в контрольной (водный раствор, не содержащий лактозу) и опытной пробах.

Принимая во внимание, что количество альдегидных групп увеличивается вдвое при полном гидролизе лактозы, то, следовательно, вдвое увеличивается и разность между объемами тиосульфата натрия в контрольной и опытной

пробах.

Расчет массовой доли остаточной лактозы в молочной смеси в любой контролируемый промежуток времени вычисляют по формуле:

$$W_{\text{лакт ост}} = W_{\text{лакт исх}} - \frac{1 - (V_{\text{кон}} - V_t)}{2(V_{\text{кон}} - V_o)}, \%$$

где $V_{\text{кон}}$ – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование избытка йода в контрольной пробе, см³;

V_t – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование избытка йода в пробе с фильтратом молочной смеси, ферментированной в течение контролируемого времени (t, ч), см³;

V_o – объем раствор тиосульфата натрия, израсходованный на титрование избытка йода в пробе с фильтратом исходной молочной смеси см³. Учитывая возрастающее производство низколактозных молочных продуктов в мире, представленные формулы являются универсальными для расчета степени гидролиза лактозы и массовой доли этого углевода в различных смесях.

Международная молочная федерация уделяет постоянное внимание лактозе и ее производным. Это связано с уникальными физико-химическими и биотехнологическими свойствами лактозы, которые позволяют ее рассматривать в качестве компонента для продуктов функционального питания, кормовых добавок нового поколения и медицинских препаратов (табл. 13).

Таблица 13

Способы получения продуктов из лактозы и ее производных (по данным Храмцова А.Г., 2005)

| Способы преобразования лактозы | Производные соединения |
|---------------------------------|---|
| Изомеризация | Лактулоза, неолактоза (Gal-Alt), 2-эпилактоза (Gal-Man), 3-эпилактоза (Gal-All) |
| Гидролиз | Глюкозо-галактозный сироп |
| Восстановление | Лактитол |
| Окисление | Лактибионовая кислота |
| Реакции гликозидного гидроксила | Лактозилмочевина, O-, N-, S-, Se- и другие лактозиды |
| Биотрансформация | Молочная, лимонная, уксусная кислоты, этанол, метан. Липиды, ферменты, протеины, витамины, антибиотики, лактосахароза, галактоолигосахариды |

Принимая во внимание, метаболизм лактозы, ее место и роль в процессах жизнедеятельности живых систем необходимо рассмотреть:

биотрансформацию этого углевода в молочном сырье при производстве всех видов кисломолочных продуктов – напитков, сыров и творога с выходом на безотходную технологию;

процессы кристаллизации лактозы в сгущенных и сухих молочных продуктах;

механизмы непереносимости лактозы у млекопитающих и человека; технологии получения, определения и использования лактозы и ее производных в соответствии с запросами пользователей.

Контрольные вопросы

1. Назовите структурные компоненты молока.
2. Дайте характеристику молочных белков.
3. Каково их значение для организма животных и человека?
4. Как тепловая обработка молока изменяет физико-химические свойства белков?
5. Что является основным энергетическим веществом молока?
6. В какие вещества могут преобразовывать лактозу микроорганизмы, и где это используется?
7. С чем связана интолерантность к лактозе в организме у животных и человека?
8. Какие методы используются для исследования лактозы?
9. Объясните механизм образования лактулозы?
10. Как влияет этот пробиотик на организм животных и человека?
11. Дайте характеристику состава молочного жира.
12. Какие вещества формируют вкус и запах молочных продуктов?
13. Перечислите основные минеральные вещества молока и укажите их питательное и технологическое значение.
14. Что является основным источником витаминов в молоке животных?
15. Расскажите о ферментах молока и их свойствах.
16. Какие методы определения в молоке массовой доли белков вы знаете? В чем их преимущества и в чем недостатки?

2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОКА

Молоко представляет собой коллоидный раствор молочного белка и коллоидного фосфата кальция в молочной сыворотке (рис. 5, 6).

Коллоидно-дисперсная система молока

| | |
|---|--|
| <h4>Коллоидно-дисперсные вещества</h4> <p>Белки молока: казеиновые мицеллы альбумины глобулины Соли: фосфат кальция $[Ca_3(PO_4)_2]$</p> | <h4>Дисперсионная среда</h4> <p>Молочная сыворотка: водный раствор истинно растворимых частей молока</p> |
|---|--|

Рис. 5. Молоко как коллоидно-дисперсная система

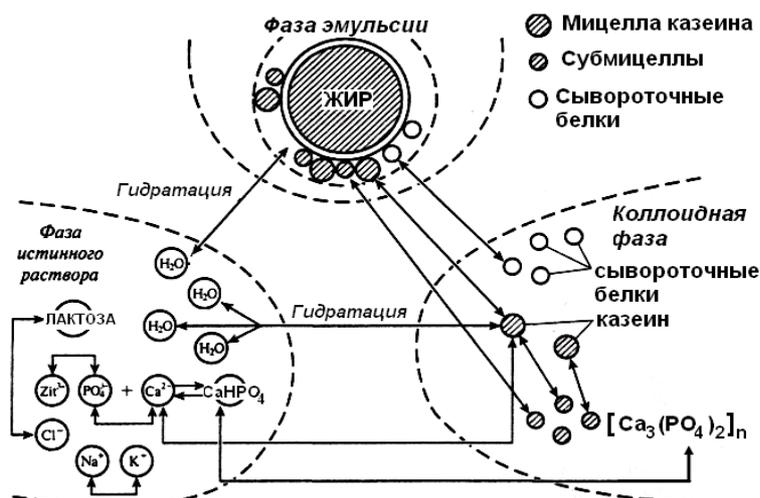


Рис. 6. Изображение равновесной системы молока (по Балларину)

Изменения в молоке наиболее заметны при нарушении коллоидного состояния, так как при этом происходит коагуляция белков. Основным интересом представляет величина частиц важнейшего компонента коллоидной системы – казеина. Коллоидные частицы казеина состоят из мицелл, которые построены из субмицелл. Мицеллы имеют шарообразную форму, диаметр их колеблется от 0,03 до 0,30 мкм. При уменьшении содержания ионов кальция распределение частиц по размерам сдвигается в сторону более мелких мицелл при значительном увеличении субмицелл казеина. Коллоидные частицы казеина имеют гидратную оболочку, которая существенно влияет на их стабильность (рис. 7, 8).

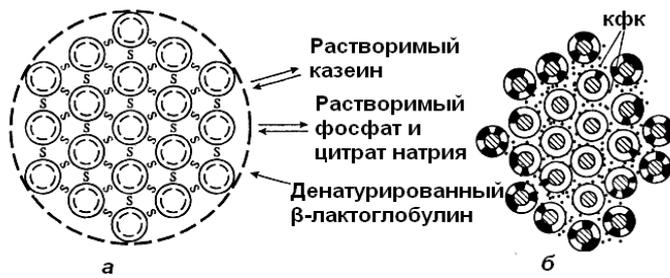


Рис. 7. Схема казеиновой мицеллы (а – по Мору; б - по Шмидту); КФК-коллоидный фосфат кальция

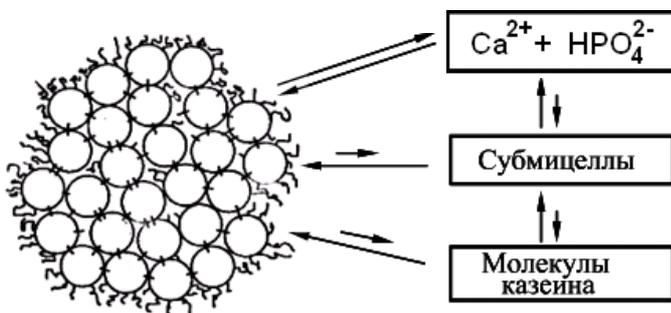


Рис. 8. Модель казеиновой мицеллы, которая состоит из сферических субмицелл, связанных друг с другом коллоидным фосфатом кальция

Альбумины и глобулины молока представляют собой гидрофильные коллоиды. В нативном состоянии они, благодаря своей прочной гидратной оболочке и высокой степени дисперсности, образуют относительно устойчивые коллоидные растворы. Этими свойствами объясняется их способность стабилизировать суспензии и крупные коллоидные частицы. Эти белки действуют как защитные коллоиды.

Молоко является золей. При соответствующих условиях молоко переходит из коллоидного состояния золя в коллоидное состояние геля. Этот переход называется свертыванием. Таким образом, существуют две различные формы коллоидного состояния (рис. 9):



Рис. 9. Формы коллоидного состояния молока

По механическим свойствам гели занимают промежуточное положение между жидкостями и твердыми телами, а по молекулярному строению – между

гетерогенными и гомогенными системами. Практически они представляют собой переходное состояние между коллоидным раствором и суспензией. Молочные гели относятся к лиогелям.

После удаления жира и белков из молока получается молочная сыворотка. Она представляет собой истинный раствор, которым называется гомогенная смесь, состоящая из растворенных веществ и растворителя (см. рис. 10). В истинных растворах растворенные вещества находятся либо в молекулярно-дисперсном, либо в ионно-дисперсном состоянии. В молочной сыворотке лактоза и водорастворимые витамины присутствуют в молекулярном распределении, в то время как соли электрически диссоциированы и образуют гидратированные ионы.

Истинно растворимые частицы обуславливают осмотическое давление, осмотические явления снижения температуры замерзания и повышения температуры кипения, а также электропроводность молока.

Присутствующие в различных фазах молока его составные части, а также взаимодействия между ними обуславливают физико-химические свойства молока. Частицы всех дисперсных фаз оказывают влияние на плотность, кислотность и окислительно-восстановительный потенциал.

ИСТИННЫЙ РАСТВОР

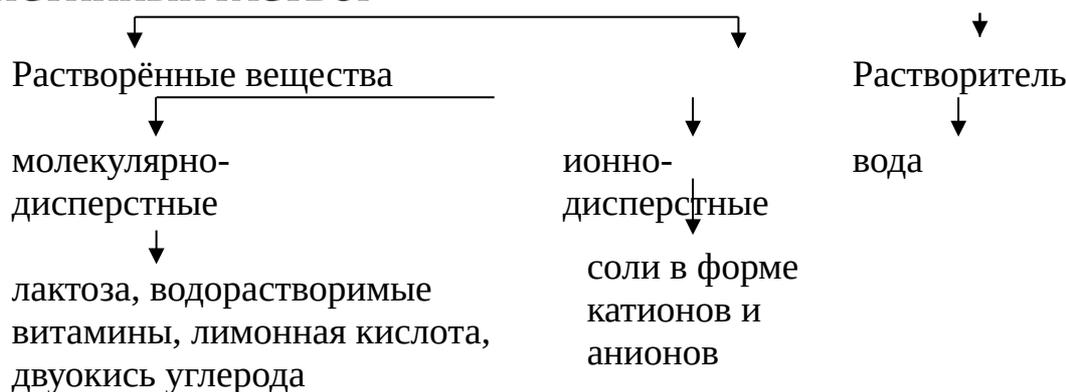


Рис. 10. Молочная сыворотка как истинный раствор

Физико-химические показатели молока должны соответствовать нормам ГОСТ Р 52054-2003, указанным в табл. 14.

Таблица 14

Физико-химические показатели молока

| Наименование показателя | Норма для молока сорта | | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|
| | высшего | первого | второго | несортového |
| Кислотность, °Т | От 16,00 до 18,00 | От 16,00 до 18,00 | От 16,00 до 20,99 | Менее 15,99 или более 21,00 |
| Группа | I | I | II | III |

| | | | | |
|---|---------------------|--------|------------------|--------------|
| чистоты не ниже | | | | |
| Плотность, кг/м ³ , не менее | 1028,0 | 1027,0 | 1027,0 | Менее 1026,9 |
| Температура замерзания, °С* | Не выше минус 0,520 | | Выше минус 0,520 | |
| * Может использоваться взамен определения плотности молока. | | | | |

2.1.Работа №7. Плотность молока

Плотность – такое свойство вещества, которое делает возможным сравнение массы определяемого объема различных веществ или массы данного вещества при различных условиях. Определяют ее как массу, деленную на единицу объема.

Плотность = масса/объем.

Для определения плотности существуют различные методы. В лабораторных условиях применяют пикнометрический и ареометрический методы.

Пикнометрический метод

Оборудование:

1. Пикнометр;
2. Аналитические весы.

Ход работы

Пикнометрическим методом плотность определяют следующим образом.

Чистый сухой пикнометр взвешивают и наполняют измеряемой жидкостью, не допуская засасывания воздуха. Затем лёгким нажимом вставляют капиллярную пробку до обозначенного меткой положения, термостатируя прибор в течение 20 мин при 20⁰ С. Выступающую через капилляры жидкость промокают чистой не волокнистой фильтровальной бумагой, насухо вытирают пикнометр куском льняной ткани и оставляют на весах на 20 мин, а затем взвешивают. После взвешивания выливают из пикнометра жидкость, тщательно промывают и повторно взвешивают его, но с водой. Удельный вес (τ_L) рассчитывают по формуле:

масса пикнометра с исследуемой жидкостью –
масса пустого пикнометра

масса пикнометра с исследуемой жидкостью –

$$\tau_L \frac{20^0}{20^0} = \frac{\text{масса пикнометра с исследуемой жидкостью} - \text{масса пустого пикнометра}}{\text{масса пикнометра с водой} - \text{масса пустого пикнометра}}$$

масса пикнометра с водой – масса пустого пикнометра

Путем умножения $\tau_L \frac{20^0}{20^0}$ на численную величину плотности воды при 20⁰С пересчитывают на воду с максимальной плотностью ($\rho_{4^0\text{C}} = 1,000000$) и

получают $\tau_L \frac{20^0}{4^0}$ с.

Поправку на возможное попадание воздуха делают путем введения в уравнение дополнительного члена 0,0012, так как плотность воздуха при комнатной температуре и средней влажности составляет $0,0012 \text{ г мл}^{-1}$. Следовательно, плотность исследуемой жидкости будет равна:

$$(20^0\text{C} = \tau_L \frac{20^0}{20^0} * 0,99703 + 0,00120).$$

Пример.

Масса пикнометра,

заполненного воздухом, г - 24,3252;

наполненного водой, г - 74,3504;

наполненного молоком, г - 75,8898.

$$\tau_L \frac{20^0}{20^0} \text{C} = \frac{75,8898 - 24,3252}{74,3504 - 24,3252} = \frac{51,5646}{50,0252}$$

$$\rho_{20^0\text{C}} = 1,03077: 0,99703 + 0,00120$$

$$\rho_{20^0\text{C}} = 1,0289 [\text{г}\cdot\text{мл}^{-1}]$$

Плотность молока при 20^0C составляет $1,0289 \text{ г}\cdot\text{мл}^{-1}$.

Удельный вес $\tau_L \frac{20^0}{20^0}$ с можно не пересчитывать на плотность 20^0C в том случае, если требуется плотность выразить только с точностью до трех знаков после запятой. Если же необходимо установить плотность в виде десятичной дроби с четырьмя знаками после запятой, то нужно внести поправку.

Выражения величины плотности в виде десятичной дроби с пятью знаками после запятой не допускаются, так как взвешивание и поправка на попавший воздух на основании средней массы воздуха не позволяют получить такой высокой точности вычислительной плотности.

Пикнометрический метод применяют для нахождения точной плотности и определения коэффициента теплового расширения молока.

Ареометрический метод (ГОСТ3625-84)

Оборудование:

Ареометр

Ход работы

Ареометрический метод позволяет быстро и просто вычислять плотность с помощью ареометра. Этот метод основан на измерении объема известной массы и на зависимости подъемной силы плавающего тела от плотности жидкости, в которую это тело погружено.

Следовательно, подъёмная сила, действующая на плавающее тело, тем больше, чем выше плотность жидкости. В жидкость с высокой плотностью тело будет погружаться не столь глубоко, как в жидкость с меньшей плотностью.

Ареометр состоит из стеклянной полой трубки с более плотной нижней частью (металлическими шариками) и стеклянного поплавка, который в верхней части имеет тонкую стеклянную трубку с делением. Металлические шарики нужны для того, чтобы ареометр погружался в жидкость ровно до шкалы, показывающей плотность исследуемой жидкости. Вследствие адгезии на шкале ареометра образуется плотный ободок жидкости, высота которого зависит от поверхностного натяжения данной жидкости. Плотность прозрачных жидкостей отсчитывают по уровню поверхности, а непрозрачных, например молока, – по верхнему краю ободка (рис. 11).

Для различных жидкостей существуют специальные ареометры, которые можно использовать только для измерения плотности в определенном диапазоне. К ним относятся лактоденсиметр для молока, которым можно измерять плотность в диапазоне от 1,020 до 1,045 г·мл⁻¹.

Величину плотности выражают в градусах лактоденсиметра Id.

Пример.

Плотность - 1,0285;

градус лактоденсиметра Id- 28,5;

следовательно, 1000ρ – 1000;

$$\rho_t = \frac{1000 + 1}{1000} \cdot$$

Для точного определения требуется поддержание заданной температуры молока. На практике достаточно, если температура отклоняется от 20⁰С не более чем на ± 5⁰С, так как в этом диапазоне можно вводить поправку измеренной по шкале лактоденсиметра плотности. При температурах ниже 20⁰С на каждый градус вычитают 0,2·Id, а при температурах выше 20⁰С прибавляют 0,2·Id.

Пример. Исследуемое молоко при температуре 18⁰С имеет плотность 31,0. При 18⁰С плотность молока выше, поэтому лактоденсиметр будет погружаться не так глубоко, как при 20⁰С. Это доказывает более высокую плотность молока при 18⁰С. Следовательно, из значения измеренной плотности следует вычесть 2 · 0,2 = 0,4 Id.

Таблица 15

Таблица пересчета плотности молока

| Показание ареометра, °А | Плотность, приведенная к температуре 20°С (в °А) при температуре молока, °С | | | | | | | | | | |
|-------------------------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 |
| 25,0 | 24,0 | 24,2 | 24,4 | 24,6 | 24,8 | 25,0 | 25,2 | 25,4 | 25,6 | 25,8 | 26,0 |
| 25,5 | 24,5 | 24,7 | 24,9 | 25,1 | 25,3 | 25,5 | 25,7 | 25,9 | 26,1 | 26,3 | 26,5 |
| 26,0 | 25,0 | 25,2 | 25,4 | 25,6 | 25,8 | 26,0 | 26,2 | 26,4 | 26,6 | 26,8 | 27,0 |
| 26,5 | 25,4 | 25,6 | 25,8 | 26,0 | 26,3 | 26,5 | 26,7 | 26,9 | 27,1 | 27,3 | 27,5 |
| 27,0 | 25,9 | 26,1 | 26,3 | 26,5 | 26,8 | 27,0 | 27,2 | 27,5 | 27,7 | 27,9 | 28,1 |
| 27,5 | 26,3 | 26,6 | 26,8 | 27,0 | 27,3 | 27,5 | 27,7 | 28,0 | 28,2 | 28,4 | 28,6 |
| 28,0 | 26,5 | 27,0 | 27,3 | 27,5 | 27,8 | 28,0 | 28,2 | 28,5 | 28,7 | 29,0 | 29,2 |

| | | | | | | | | | | | |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 28,5 | 27,3 | 27,5 | 27,8 | 28,0 | 28,3 | 28,5 | 28,7 | 29,0 | 29,2 | 29,5 | 29,7 |
| 29,0 | 27,8 | 28,0 | 28,3 | 28,5 | 28,8 | 29,0 | 29,0 | 29,5 | 29,7 | 30,0 | 30,2 |
| 29,5 | 28,5 | 28,5 | 28,8 | 29,0 | 29,3 | 29,5 | 29,7 | 30,0 | 30,2 | 30,5 | 30,7 |
| 30,0 | 28,8 | 29,0 | 29,3 | 29,5 | 29,8 | 30,0 | 30,2 | 30,5 | 30,7 | 31,0 | 31,2 |
| 30,5 | 29,3 | 29,5 | 29,8 | 30,0 | 30,3 | 30,5 | 30,7 | 31,0 | 31,2 | 31,5 | 31,7 |
| 31,0 | 29,8 | 30,1 | 30,3 | 30,5 | 30,8 | 31,0 | 31,2 | 31,5 | 31,7 | 32,0 | 32,2 |
| 31,5 | 30,2 | 30,5 | 30,7 | 31,0 | 31,3 | 31,5 | 31,7 | 32,0 | 32,3 | 32,5 | 32,7 |
| 32,0 | 30,7 | 31,0 | 31,2 | 31,5 | 31,8 | 32,0 | 32,3 | 32,5 | 32,8 | 33,0 | 33,3 |
| 32,5 | 31,2 | 31,5 | 31,7 | 32,0 | 32,3 | 32,5 | 32,8 | 33,0 | 33,3 | 33,5 | 33,7 |
| 33,0 | 31,7 | 32,0 | 32,2 | 32,5 | 32,8 | 33,0 | 33,3 | 33,5 | 33,8 | 34,1 | 34,3 |
| 33,5 | 32,2 | 32,5 | 32,7 | 33,0 | 33,3 | 33,5 | 33,8 | 33,9 | 34,3 | 34,6 | 34,7 |

Плотность по лактоденсиметру 31,0;
 Температура молока, °С 18;
 Заданная температура, °С 20;
 Измеренная температура, °С -;
 Разность - 2°С;
 Поправка - 2 · 0,2 = 0,4;
 Величина плотности с поправкой 30,6 Id;
 Величина плотности с поправкой составляет 30,6 Id, или
 1,0306 г·мл⁻¹.

Ареометрический метод простой и быстрый, он широко применяется в лабораториях.

2.2.Работа № 8. Кислотность молока (ГОСТ 3624-92)

Биохимические изменения в молоке вызывают повышение содержания в нем кислоты. Превращение лактозы в молочную кислоту происходит под действием молочно-кислых бактерий:



Кислый характер молока обусловлен ионами водорода, которые возникают вследствие электролитической диссоциации содержащихся в молоке кислот и кислых солей. Значение активности водородных ионов было установлено значительно позднее, поэтому кислотное действие приписывали молекулам молочной кислоты. Концентрацию составных частей, имеющих кислотный характер, в настоящее время называют потенциальной или титруемой кислотностью, фактическую активность ионов водорода – активной кислотностью.

В молоке активность ионов водорода остается примерно постоянной вследствие связи ее с равновесием диссоциации присутствующих в молоке слабых электролитов при незначительном повышении концентрации ионов водорода. Это связано с буферной емкостью молока. Кислотный характер молока создают все эти величины.

Кислотность молока определяется в градусах. Градус – это количество

миллилитров децинормального раствора щелочи, необходимое для нейтрализации 100 мл молока. Свеженадоенное молоко коровы имеет 15-18⁰T, стоявшее молоко – 20-22⁰T, не свернувшееся, но свертывающееся при кипячении – 24-27⁰T.

Оборудование:

1. Бюретка;
2. Конические колбы;
3. Пипетки емкостью 10 и 20 мл.

Реактивы:

1. Едкий натрий, 0,1н раствор;
2. Фенолфталеин, 0,1%-й спиртовой раствор;
3. Молоко.

Ход работы

Наливают в коническую колбу 10 мл исследуемого молока. К нему приливают 20 мл дистиллированной воды и 2-3 капли фенолфталеина. Тщательно перемешивают, содержимое колбы титруют из бюретки 0,1н раствором щелочи до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 2 мин (рис. 12). Показателем кислотности молока является количество щелочи, пошедшей на титрование, умноженное на 10 (пересчет на 100). Например, на титрование 10 мл молока идет 2,2 мл едкого натра. Значит, кислотность молока будет $2,2 \cdot 10 = 22,0^0$.

Контрольные вопросы

1. Перечислите основные физико-химические свойства молока, контролируемые на молочных заводах.
2. Назовите приборы, используемые для определения плотности молока.
3. Что такое кислотность молока и как она определяется?
4. Дайте характеристику коллоидно-дисперсной системе молока.
5. Каковы основные формы коллоидного состояния молока?

3. ФЕРМЕНТЫ МОЛОКА

Поразительное многообразие биохимических реакций отличает обмен веществ в живом организме. Они протекают при больших скоростях и при температуре тела благодаря ферментам, оказывающим каталитическое действие. Энзимы, катализирующие обменные процессы у лактирующих животных, частично переходят в молоко и выделяются вместе с ним в оригинальных ферментах молока. К двум основным классам ферментов – оксидоредуктазам и гидролазам - относятся молочные энзимы, имеющие важное значение.

В молоке встречаются ферменты различного происхождения, они либо образуются в клетках, которые участвуют в секреции молока, либо попадают в него с бактериями. В свеженатянутом молоке содержатся нативные энзимы, образованные в крови и паренхиме железы и выделенные вместе с молоком в процессе секреции. Их количество превалирует за 20. Кроме того, в таком молоке могут быть и ферменты бактериального происхождения, представляющие собой продукты жизнедеятельности микроорганизмов. Их насчитывают более 50.

Для оценки качества молока и молочных продуктов исследуют активность таких ферментов, как каталаза, оксидоредуктаза и пероксидаза.

Каталаза расщепляет перекись водорода, являющуюся сильнейшим клеточным ядом, на воду и кислород. Реакция идет по уравнению:



В молоке находится нативная и бактериальная каталаза. В коровьем молоке она содержится в незначительном количестве, в женском и кобыльем молоке ее довольно много. Микроорганизмы продуцируют каталазу в различной степени. Энергичными каталазообразователями являются, например, бактерии группы кишечной палочки (*Escherichia coli*). Высокий уровень каталазы в цельном молоке может указывать на примесь молозива или маститного молока, поэтому этот фермент используют для контроля молока, получаемого от больных животных. Редуктаза является гемосодержащим ферментом, железо входит в состав ее простетической группы. Нативный фермент находится в молоке в незначительном количестве. Концентрация микробиальной редуктазы резко возрастает с увеличением числа бактерий в молоке. Редуктазы, которые вырабатываются молочнокислыми бактериями и дрожжами, применяются в производстве кисломолочных продуктов при молочнокислом и спиртовом брожении. Функция пероксидазы заключается в том, что она отщепляет от перекисей кислород и переносит его на легкоокисляемые вещества. Пероксидаза называется еще лактопероксидазой, как нативный фермент молока. Она находится в молоке в значительном количестве по сравнению с другими ферментами. Высокое содержание пероксидазы найдено в молозиве. Пероксидаза переходит в альбуминовую фракцию при фракционировании белков молока.

В молоке содержится большой набор важнейших гидролитических ферментов, катализирующих расщепление составных частей молока. К ним относятся: протеазы, расщепляющие белки и продукты их распада до аминокислот;

липазы, катализирующие расщепление эфирных связей триглицеридов молочного жира с высвобождением свободных жирных кислот; лактаза, гидролизующая лактозу с образованием глюкозы и галактозы и другие. Например, в нем обнаружена мощная амилаза (диастаза). Кроме того, имеются каталаза, трипсин, фосфатаза. Особенность фосфатазы заключается в том, что она не выдерживает повышенных температур. Даже в мягких режимах пастеризации она разрушается. Определение активности фосфатазы в молоке является тестом на недостаточную пастеризацию.

Натуральное молоко содержит нативные (неповрежденные) ферменты.

В настоящее время в молоке сельскохозяйственных животных обнаружено около 10 витаминов (в женском молоке – 17).

Мало в молоке витамина D и C, поэтому на определенной стадии вскармливания нужно вводить эти витамины.

В технологии производства сыра и кисломолочных продуктов ферменты играют важную роль.

3.1. Работа №9. Реакция на каталазу

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Электроплитка.

Реактивы:

Перекись водорода (1%-й раствор).

Ход работы

Наливают 2-3 мл молока в одну пробирку, доливают в нее такое же количество 1%-го раствора перекиси водорода. Наблюдается выделение пузырьков кислорода при действии каталазы. С кипяченым молоком проводят контрольную пробу.

3.2. Работа №10. Реакция на пероксидазу

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Термометр.

Реактивы:

1. Перекись водорода 2%-й раствор;
2. Гваяколовая смола, 3%-й раствор.

Ход работы

В пробирку наливают 2-3 мл свежего молока, приливают 0,5 мл 3%-го раствора гваяколовой смолы и 0,5 мл 2%-го раствора перекиси водорода. С кипяченым молоком проводят контрольную пробу. Содержимое пробирок перемешивают и ставят на водяную баню (40°C). Результаты реакции в первой и второй пробирках сравнивают и делают вывод.

3.3. Работа №11. Определение пероксидазы по реакции с йодисто-калиевым крахмалом (ГОСТ 3623-73)

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;

2. Весы лабораторные аналитические;
3. Весы лабораторные технические;
4. Пипетки на 2, 5, и 10 мл;
5. Воронки стеклянные;
6. Фильтры бумажные диаметром 11 см.

Реактивы:

1. 0,5%-ый раствор перекиси водорода свежеприготовленный;
2. Йодистокалиевый крахмал (3 г крахмала смешивают с 5-10 мл дистиллированной холодной воды до получения однородной массы. Отдельно в колбе доводят до кипения 100 мл дистиллированной воды и при непрерывном помешивании приливают воду к разведенному крахмалу, не допуская комков. Полученный раствор доводят до кипения. После охлаждения к раствору крахмала прибавляют 3 г йодистого калия, перемешивая до растворения его кристаллов).

Ход работы

В пробирку с 5 мл молока приливают 5 капель раствора йодисто-калиевого крахмала и 5 капель 0,5%-го раствора перекиси водорода, вращательными движениями перемешивают содержимое пробирки после добавления каждого реактива. Затем определяют наличие пероксидазы по изменению окраски. При наличии пероксидазы в молоке содержимое пробирок приобретает темно-синее окрашивание. Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 5% непастеризованных молочных продуктов.

Сущность метода основана на разложении перекиси водорода ферментом пероксидазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся при разложении перекиси водорода активный кислород окисляет йодистый калий, освобождая йод, образующий с крахмалом соединение синего цвета.

Пероксидаза инактивируется при температуре пастеризации не ниже 80°C с выдержкой 20-30 с.

3.4. Работа №12. Определение фосфатазы по реакции с фенолфталеинфосфатом натрия (ГОСТ 3623-73)

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Весы лабораторные аналитические;
3. Весы лабораторные технические;
4. Пипетки на 2 и 5 мл;
5. Воронки стеклянные;
6. Водяная баня;
7. Колбы на 100 мл.

Реактивы:

1. 1н раствор аммиака;
2. 1н раствор хлористого аммония;
3. Смесь буферная аммиачная (80 мл 1н. раствора аммиака смешивают с 20 мл 1н. раствора хлористого аммония (рН 9,8));

4. 0,1%-й раствор фенолфталеинфосфата натрия (0,1 г порошкообразного фенолфталеинфосфата натрия растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл с небольшим количеством буферной смеси, затем доливают буферную смесь до метки и перемешивают);

5. Дистиллированная вода.

Ход работы

В пробирку отмеривают анализируемый продукт, дистиллированную воду и реактив. Количество анализируемого продукта, дистиллированной воды и реактива должно соответствовать указанному в табл. 16.

Таблица 16

Подготовка проб к исследованию

| Наименование продуктов | Количество продукта, мл | Количество дистиллированной воды, мл | Количество раствора фенолфталеинфосфата натрия, мл |
|---|-------------------------|--------------------------------------|--|
| Молоко пастеризованное | 2 | - | 1 |
| Сливки | 2 | 2 | 1 |
| Кисло-молочные напитки: кефир, ацидофильное молоко, ацидофилин, кумыс, йогурт и др. | 2 | 2 | 2 |
| Простокваша | 2 | 2 | 2 |

После добавления дистиллированной воды и реактива содержимое пробирки закрывают пробкой и взбалтывают.

Затем пробирку помещают в водяную баню с температурой от 40 до 45°C и определяют окраску.

При отсутствии фермента фосфатазы в молоке и молочных продуктах окраска содержимого пробирки не изменяется. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре не ниже 63°C. При наличии фосфатазы в молоке и молочных продуктах содержимое пробирки приобретает окраску от светло-розовой до ярко-розовой. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре ниже 63°C, или были смешаны с непастеризованными продуктами. Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 2% непастеризованных молочных продуктов к пастеризованным.

Метод основан на гидролизе фенолфталеинфосфата натрия ферментом фосфатазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся

при гидролизе фенолфталеин в щелочной среде дает розовое окрашивание.

3.5. Работа №13. Реакция на редуктазу

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Спиртовка.

Реактивы:

1. Метиленовая синь, спиртовой раствор;
2. Формальдегид, 0,5%-й раствор или уксусный альдегид;
3. Формалин.

Ход работы

Наливают в одну пробирку 2-3 мл свежего молока, во вторую – кипяченого. Приливают в обе пробирки по 1 мл 0,5%-го раствора формальдегида или уксусного альдегида и по 1 мл спиртового раствора метиленовой сини. Пробирки ставят на водяную баню, нагретую до 70⁰С, и следят за ходом реакции. Наблюдается обесцвечивание смеси в пробирке со свежим молоком. Смесь не обесцвечивается в пробирке с кипяченым молоком, так как при кипячении фермент разрушается.

Доливать можно и реактив Шардингера, который готовится следующим образом: 5 мл насыщенного спиртового раствора метиленовой сини плюс 5 мл формалина плюс 190 мл воды.

Таблица 17

Оценка качества молока в зависимости от бактериальной обсемененности по продолжительности обесцвечивания метиленового синего

| Класс | Качество | Продолжительность обесцвечивания | Количество микроорганизмов в 1 мл |
|-------|--------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| I | Хорошее | Свыше 5 ч 30 мин | Менее 500 тыс. |
| II | Удовлетворительное | От 2 до 5 ч | От 500 тыс. до 4 млн |
| III | Плохое | От 20 мин до 2 ч | От 4 до 20 млн |
| IV | Очень плохое | 20 мин и менее | Свыше 20 млн |

Контрольные вопросы

1. Какие ферменты чаще всего встречаются в молоке?
2. Для оценки качества молока и молочных продуктов какие ферменты вы порекомендовали бы исследовать и почему?
3. Чем отличается молоко нативное от пастеризованного или стерильного?

4. СОЛЕВАЯ СИСТЕМА МОЛОКА

4.1. Работа №14. Определение кальция

К солям молока относятся ионы металлов, а также неорганические и органические анионы молока. Учитывая взаимовлияние катионов и анионов, можно говорить также о солевой системе молока. Кальций, фосфаты и нитраты находятся в молоке как в истинном растворе, так и в коллоидной форме. В большинстве случаев можно исходить из того, что примерно 33% кальция и 53% фосфатов (от их общего количества) в свежем сыром молоке находятся в истинном растворе. Солевым равновесием молока обусловлено распределение составных частей его солей между истинно растворимыми, коллоидно-растворимыми и связанными с белком формами.

Установлено, что ионы кальция входят в состав казеинового комплекса. Адсорбируясь на поверхности, они укрепляют гидратную оболочку и тем самым повышают устойчивость коллоидного казеина. Величина казеиновых мицелл зависит от содержания ионов кальция в молоке. Если удалить кальций из молока, то казеиновые мицеллы распадутся на субмицеллы. Излишек ионов кальция приводит к укреплению казеиновых частиц с последующей их коагуляцией. На долю кальция приходится до 20% из общего количества минеральных веществ молока. Количество кальция зависит от вида животного, характера кормления, сезона года и других факторов.

Содержание кальция в молоке сельскохозяйственных животных: коровы – 140 мг%, кобылы – 83, козы – 142.

Рост и развитие костяка у молодняка обусловлены поступлением кальция с молоком. Кальций в молоке находится в оптимальном соотношении с фосфором (1,5:1,0), поэтому он хорошо усваивается организмом. Определяют кальций в молоке по методу де Ваарда.

Принцип метода

В молоке кальций осаждают насыщенным раствором щавелево-кислого аммония, при этом щавелево-кислый кальций выпадает в осадок. Его изолируют, промывают аммиаком и растворяют в серной кислоте. Оттитровывают перманганатом калия освободившуюся щавелевую кислоту. Зная количество израсходованного на титрование перманганата калия, определяют содержание щавелевой кислоты и связанного с ней кальция.

Можно заключить из реакции, что количество пошедшего на титрование перманганата калия эквивалентно количеству кальция: 1 мл 0,01н перманганата калия соответствует 0,2 мг кальция.

Оборудование:

1. Центрифуга;
2. Центрифужные весы;
3. Мерный цилиндр (10 мг);
4. Пипетки на 1 и 2 мл;
5. Пипетка на 10 мл;
6. Стеклянные палочки;
7. Микробюретка;

8. Водяная баня.

Реактивы:

1. Аммиак, 2%-й раствор;
2. Щавелево-кислый аммоний, 4%-й раствор;
3. Серная кислота, 1н раствор;
4. Марганцово-кислый калий, 0,01н раствор;
5. Молоко.

Ход работы

Наливают 1 мл молока и 9 мл дистиллированной воды в цилиндр емкостью 10 мл. Тщательно перемешивают содержимое цилиндра. В одну центрифужную пробирку наливают 1 мл разведенного молока. В другую пробирку (контрольный опыт) наливают 1 мл дистиллированной воды. Добавляют в обе пробирки по 0,5 мл щавелево-кислого аммония. Тщательно перемешивают содержимое пробирок и оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Затем содержимое пробирок центрифугируют 10-15 мин при 2500-3000 оборотов в минуту. Осторожно, не взбалтывая осадка, сливают надосадочную жидкость. Приливают к осадку 4 мл 2%-го раствора аммиака. Вновь центрифугируют содержимое пробирок. Сливают надосадочную жидкость. Повторяют еще раз промывание осадка аммиаком. Как можно полнее сливают последнюю порцию надосадочной жидкости, осадок используют в дальнейших реакциях.

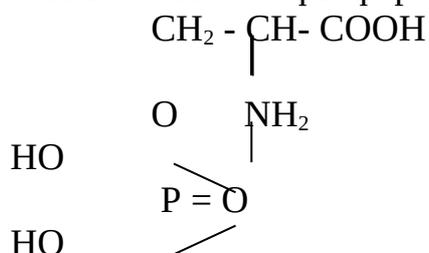
Растворяют осадок в 1 мл нормального раствора H_2SO_4 , пробирки ставят на горячую водяную баню и через 5 мин горячий раствор титруют 0,01н раствором перманганата калия при постоянном помешивании стеклянной палочкой до появления бледно-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Для исследования берут 1 мл разведенного молока (в действительности в 1 мл смеси содержится 0,1 мл молока). Например, на титрование опытной пробы пошло 0,81 перманганата калия, а на титрование контрольной пробы – 0,20 мл, тогда:

$$\text{Содержание Са} = \frac{0,2(0,81) - 0,20}{0,1} \cdot 100 = 122,0 \text{ мг\%}$$

4.2. Работа №15. Определение общего фосфора

В состав казеина фосфор входит в виде серинфосфорной кислоты:



Важную роль фосфор играет в обмене веществ и формировании костяка.

Фосфор молока является единственным источником этого элемента у молодых животных.

Содержание фосфора в молоке сельскохозяйственных животных: коровы – 80

мг%, кобылы – 54, козы – 110.

Оборудование:

1. Мерные колбы емкостью 50 мл;
2. Колба Кьельдаля;
3. Пипетки емкостью 1,2 и 10 мл;
4. Песочная баня;
5. Фотоэлектроколориметр;
6. Капельницы.

Реактивы:

1. Молибденово-кислый аммоний, 2,5%-й раствор в 5н растворе серной кислоты;
2. Серная кислота (концентрированная);
3. Эйкоген;
4. Фосфорно-кислый калий, стандартный раствор, содержащий 0,04 мг в 1 мл.

Ход работы

Наливают 0,5 мл молока в колбу Кьельдаля, приливают 2 мл концентрированной серной кислоты. В другую колбу Кьельдаля (контрольную) наливают 2 мл серной кислоты и 0,5 мл воды. Ставят колбы на песочную баню. При нагревании раствор темнеет. Затем начинают выделяться тяжелые пары окислов серы. В это время колбы накрывают насадками. Дальнейшая минерализация проводится обычным путем.

Из каждой колбы прозрачный бесцветный фильтрат переносят в мерные колбы емкостью 100 мл, объем доводят до метки. Переносят из колбы 5 мл раствора в другую мерную колбу емкостью 50 мл. С контрольной колбой поступают аналогично, при этом в колбу вносят 1 мл стандартного раствора (KH_2PO_4).

Доливают в обе колбы по 1 мл молибденово-кислого аммония и 0,5 мл эйкогена. Объем колб доводят до метки и 15 мин спустя содержимое колориметрируют.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{0,04 \cdot H_1 \cdot 100}{H_2 \cdot a},$$

где X – содержание фосфора в исследуемом растворе, мг%;

0,04 - содержание фосфора, мг/мл;

H_1 – высота столба жидкости стандартного раствора;

H_2 – высота столба опыта;

a – навеска;

100 – пересчет, мг%.

Например, в данных условиях величина H_1 равнялась 10,0, H_2 – 10,8, a – 0,05.

Для исследования берут 0,5 мл молока, после минерализации объем раствора доводят до 0,5 мл. В 1 мл разведенного молока фактическая навеска молока составляла 0,01 мл. Количество молока в 5 мл взятого для исследования раствора составляло 0,05 мл, следовательно:

$$P = \frac{0,04 \times 10 \times 100}{10,8 \times 0,05} = 74,0 \text{ мг\%}$$

Химический состав молока может меняться под влиянием различных факторов. Например, при употреблении лекарств. Давать лекарства во время

вскармливания нежелательно, потому что печень новорожденного не способна обезвреживать токсины или слабо обезвреживает их (в частности, лекарства тоже являются токсинами).

Контрольные вопросы

1. Что называется солевой системой молока?
2. Какова функция ионов кальция в молоке?
3. Опишите метод определения количественного содержания кальция в молоке.
4. В чем заключается основная роль фосфора в молоке животных?

5. ВИТАМИНЫ МОЛОКА

5.1. Работа №16. Определение содержания аскорбиновой кислоты в молоке (стандартный упрощенный метод)

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Микробюретка;
3. Колбы или стаканы на 50 мл;
4. Пипетки на 2, 5, и 10 мл;
5. Воронки стеклянные;
6. Фильтры бумажные диаметром 11 см.

Реактивы:

1. 2%-й раствор соляной кислоты;
2. 0,001н раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола.

Ход работы

Разводят 5 мл молока в 15 мл воды в колбе. К 5 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 2%-й соляной кислоты и доводят водой до объема 15 мл. Осторожно взбалтывая содержимое колбы, титруют из микробюретки 0,001н раствором 2,6- дихлорфенолиндофенола до появления слабо-розового окрашивания, сохраняющегося 0,5-1 мин.

Содержание аскорбиновой кислоты (С) вычисляют по следующей формуле:

$$C = A \cdot K \cdot 5,28,$$

где С – содержание аскорбиновой кислоты, мг%;

А- количество рабочего раствора 2,6- дихлорфенолиндофенола, затраченное на титрование, мл;

К – поправка к титру индикатора;

5,28 – постоянный коэффициент.

В среднем концентрация витамина С в сыром молоке составляет 0,3-2 мг%, однако при хранении и последующей переработке продукта уровень аскорбиновой кислоты резко снижается. Для повышения ее содержания молоко витаминизируют, но если происходит его хранение в открытой упаковке, то витамин быстро окисляется кислородом воздуха. Чтобы замедлить процесс окисления аскорбиновой кислоты, в молоко вводят антиоксиданты, одним из которых является биофлавоноид «Аква-прополис» (ГОСТ 28886-90) в концентрации 0,0008-0,004 об.%. Обычно «Аква-прополис» вносится после тепловой обработки молока в дозе 0,004 об.%, что способствует замедлению снижения витамина С в готовом продукте почти в 2 раза (табл. 18).

Интерес к использованию биофлавоноидов в последнее время объясняется прежде всего широким спектром их биологической активности: Р-витаминная активность, антимикробное и антиоксидантные действия.

Таблица 18

Снижение концентрации витамина С при добавлении к стерилизованному молоку раствора «Аква-прополиса»

| Концентрация «Аква- | Концентрация витамина С, мг% | | | | |
|---------------------|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0-е и 1-е сутки | 2-е сутки | 3-и сутки | 7-е сутки | 9-е сутки |
| | | | | | |

| | | | | | |
|---|-----|------|------|------|-----|
| прополиса », об.% | | | | | |
| Хранение в холодильнике | | | | | |
| 0(контроль) | 8,7 | 4,6 | 2,3 | 1,9 | 1,0 |
| 0,0008 | 8,7 | 4,6 | 3,07 | 1,89 | 1,0 |
| 0,0016 | 8,7 | 4,1 | 2,8 | 2,3 | 1,3 |
| 0,0032 | 8,7 | 6,7 | 3,3 | 2,5 | 1,3 |
| 0,0040 | 8,7 | 7,2 | 3,3 | 2,5 | 1,5 |
| Хранение на свету при комнатной температуре | | | | | |
| 0 (контроль) | 8,7 | 5,12 | 2,5 | - | - |
| 0,0008 | 8,7 | 5,6 | 3,3 | - | - |
| 0,0016 | 8,7 | 5,12 | 3,6 | - | - |
| 0,0032 | 8,7 | 5,6 | 3,8 | - | - |
| 0,0040 | 8,7 | 6,14 | 5,12 | - | - |

Контрольные вопросы

1. Какие витамины содержатся в молоке?
2. Как влияют технологические процессы переработки молока на содержание в нем витаминов?
3. Назовите витамины, количество которых увеличивается в результате деятельности микроорганизмов закваски при производстве молочно-кислых продуктов.
4. Какие витамины наиболее чувствительны к световому воздействию и почему?
5. Наличием какого витамина обусловлен цвет молока?
6. От действия какого витамина зависят вкусовые качества молока?
7. Какие витамины обладают антиоксидантным действием, и как это используется в технологическом процессе?
8. Чем объясняется растущая популярность в применении биофлавоноидов в молочной промышленности?

6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОСТОРОННИХ ВЕЩЕСТВ В МОЛОКЕ

6.1. Работа №17. Определение добавления воды

Оборудование:

лактоденсиметр.

Реактивы:

молоко.

Ход работы

Прибавление воды к молоку одновременно снижает плотность молока, количество жира, сухого обезжиренного остатка и кислотность. Каждые 10% прибавленной воды снижают плотность молока приблизительно на 3° молочного ареометра. По некоторым данным, снижение плотности молока на 1° свидетельствует о том, что прибавлено воды около 2,5%.

Количество воды, прибавленной к молоку, можно определить по следующей формуле:

$$X = \frac{(D_1 - D_2) \cdot 100}{D_1},$$

где X – количество прибавленной воды, %;

D_1 – плотность кондиционного молока в градусах лактоденсиметра (в среднем по нашей стране он равен 30 °);

D_2 – плотность исследуемого молока в градусах лактоденсиметра.

Более объективный показатель – количество сухих обезжиренных веществ. Установлено, что в молоке сразу же после выдаивания их не менее 8%.

Количество добавленной воды (%) рассчитывают по формуле:

$$V = [(C_{OMO} - C_{OMO_1}) / C_{OMO}] \cdot 100,$$

где C_{OMO} – сухой обезжиренный остаток натурального молока, %;

C_{OMO_1} – сухой обезжиренный остаток исследуемого молока, %.

6.2. Работа №18. Проба Иохельсона

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Пипетки емкостью 5 и 10 мл.

Реактивы:

0,5%-й раствор азотно-кислого серебра.

Ход работы

Данная реакция является качественной на содержание большого количества воды (20-25%) в молоке. При меньшем количестве прилитой воды эта проба менее точна.

В пробирку наливают 2 мл исследуемого молока, прибавляют 2 капли 10%-го раствора хромово-кислой соли и 2 мл 0,5%-го раствора азотно-кислого серебра. Кондиционное молоко коровы окрашивается в лимонно-желтый цвет, разбавленное водой – в кирпично-красный цвет различной интенсивности.

6.3. Работа №19. Нитратная проба

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Пипетки емкостью 5 и 10 мл;
3. Плитка;
4. Колба емкостью 200 мл;
5. Стеклянные воронки и фильтры;
6. Фарфоровая чашечка.

Реактивы:

1. 0,5%-й раствор хлорида кальция;
2. Кристаллы дифениламина;
3. Концентрированная серная кислота.

Ход работы

При разбавлении молока водой, взятой из колодца или из речки можно различить данную фальсификацию качественной реакцией на нитраты (соли азотной кислоты), так как натуральное молоко и водопроводная вода нитритов не содержат.

В коническую колбу наливают 100 мл молока, прибавляют 0,5 мл 20%-го раствора кальция хлорида и кипятят; молоко свертывается, его фильтруют через бумажный фильтр. Полученный фильтрат испытывают следующим образом: в фарфоровую чашечку (белую и чистую) кладут кристаллик дифениламина, прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты (плотностью 1,84), не содержащей примеси азотной кислоты, и осторожно с края приливают 3-5 капель фильтрата от свернувшегося молока. Появление синего окрашивания указывает на присутствие нитратов, а следовательно, и примеси воды, взятой из колодца или речки. Однако не всякая такая вода дает положительную нитратную реакцию. Например, молоко с прилитой к нему водой артезианских колодцев, дождевой, снеговой, водопроводной не давало положительной реакции, хотя нитраты в ней имелись.

6.4. Работа №20. Определение примеси соды (ГОСТ 24065-80)

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Пипетки емкостью 5 мл и 10 мл;
3. Колбочки емкостью 50 мл и 100 мл.

Реактивы:

1. 0,1%-й раствор фенолрота (0,1 мл фенолрота, 20 мл спирта-ректификата и 80 мл дистиллированной воды);
2. 0,2%-й спиртовой раствор розоловой кислоты;
3. 0,04%-й спиртовой раствор бромтимолблау;
4. Насыщенный спиртовой раствор кристаллического аспирина;
5. Дистиллированная вода.

Ход работы

При добавлении в молоко соды реакция его становится щелочной. Для определения этого вида фальсификации к молоку добавляют индикатор

(фенолрот, розоловая кислота, бромтимолблау и др.), который в кислой и щелочной средах имеет различия в окраске.

1. Проба с фенолротом. В пробирку наливают 2 мл молока и добавляют 2-4 капли 0,1%-го раствора фенолрота (индикатор готовят на 20%-м растворе спирта). При наличии соды молоко становится ярко-красным. В натуральном молоке цвет желто-оранжевый.

2. Проба с розоловой кислотой. В пробирку наливают 3-5 мл молока и добавляют такое же количество 0,2%-го спиртового раствора розоловой кислоты. При наличии соды появляется малиново-красный цвет, в натуральном молоке оранжевый.

3. Проба с бромтимолблау. В пробирку наливают 5 мл молока и добавляют осторожно по стенке 5 капель 0,04%-го спиртового раствора бромтимолблау. Через 2 мин в месте соприкосновения индикатора и молока определяют цвет (табл. 19).

Таблица 19

Процентное содержание соды в молоке в зависимости от окраски реакции

| Содержание в молоке соды, % | Окраска кольца |
|-----------------------------|----------------|
| Нет соды | Желтая |
| 0,03 | Желто-зеленая |
| 0,05 | Светло-зеленая |
| 0,07-0,1 | Зеленая |
| 0,2 | Темно-зеленая |
| 0,3 | Сине-зеленая |

4. Проба с аспирином. Эту пробу считают наиболее точным методом обнаружения соды в молоке.

В колбочку к 10 мл молока прибавляют 10 мл дистиллированной воды и 2 мл насыщенного спиртового раствора кристаллического аспирина. После этого смесь фильтруют и к прозрачному фильтрату добавляют 8-10 капель 10%-го хлорного железа. Наличие соды в молоке показывает появление окраски от темно-розовой до красновато-желтой. Сущность реакции состоит в том, что при наличии соды аспирин омыляется с образованием уксусно-кислого и салицилово-кислого натрия, которые при прибавлении 10%-го хлористого железа образуют эти цвета, а в дальнейшем и осадок такого же цвета.

6.5. Работа №21. Определение примеси перекиси водорода (ГОСТ 24067-80)

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Пипетки глазные;
3. Пипетки емкостью 1, 5 и 10 мл;
4. Весы.

Реактивы:

1. Йодистый крахмал;
2. Серная кислота (1 объем серной кислоты плотностью 1,84 смешивают с 3 объемами дистиллированной воды).

Йодистый крахмал готовят следующим образом: 3 г крахмала смешивают с небольшим количеством холодной воды до образования однородной массы. В отдельной колбе доводят до кипения 100 мл воды и при постоянном помешивании приливают воду к разведенному крахмалу, не допуская появления комков. Полученный раствор доводят до кипения и после охлаждения добавляют к нему 3 г йодистого калия, перемешивая до растворения его кристаллов. Реактив не обладает большой стойкостью, поэтому его следует готовить в небольшом количестве, хранить в темном прохладном месте и периодически контролировать.

Перед использованием реактив проверяют. Для этого в пробирку наливают 5 мл молока, кипятят и после охлаждения проводят реакцию с йодистокалиевым крахмалом по методике, указанной выше. При положительной реакции на пероксидазу (появление темно-синей окраски) реактив не пригоден.

Ход работы

1. Чтобы молоко стало более устойчивым к свертыванию при нагревании, к нему иногда добавляют перекись водорода, что считается грубой фальсификацией. Чтобы определить это, в пробирку наливают 1 мл молока и 0,5 мл йодисто-калиевого крахмала. При содержании перекиси водорода появляется синее окрашивание.
2. В пробирку наливают 1 мл молока, 1 каплю серной кислоты и 0,2 мл раствора йодисто-калиевого крахмала. Быстрое посинение содержимого в пробирке указывает на наличие в молоке перекиси водорода. Если синяя окраска не появляется в течение 10 мин, реакцию считают отрицательной.

6.6. Работа №22. Определение содержания аммиака (ГОСТ 24066-80)

Оборудование:

1. Водяная баня;
2. Стакан стеклянный;
3. Цилиндры на 25 и 50 мл;
4. Штатив с пробирками;
5. Пипетки емкостью 1 и 5 мл.

Реактивы:

1. Реактив Несслера;
2. 10%-й раствор уксусной кислоты.

Ход работы

Метод основан на изменении цвета молочной сыворотки при взаимодействии с реактивом Несслера. Метод чувствителен при содержании 6-9 мг% аммиака в молоке. Количество аммиака определяют не ранее чем через 2 ч после доения. В стакан отмеривают 20 мл молока, нагревают на водяной бане до 40... 45 °С и добавляют 1 мл 10%-й уксусной кислоты для осаждения белка. Смесь оставляют в покое 10 мин до выделения сыворотки. Пипеткой отбирают в пробирку 2 мл сыворотки и 1 мл реактива Несслера, содержимое перемешивают

и наблюдают за появлением окраски в течение 1 мин. Появление оранжевой окраски различной интенсивности указывает на наличие в молоке аммиака.

6.7. Работа №23. Определение примеси крахмала

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Глазные пипетки;
3. Пипетки емкостью 5 и 10 мл;
4. Мерная колба емкостью 100 мл;
5. Весы;
6. Микроскоп;
7. Предметные и покровные стекла.

Реактивы:

1. 3-5%-й раствор йода;
2. Дистиллированная вода.

Ход работы

В пробирку наливают 5 мл молока и добавляют 2-3 капли 3-5%-го раствора йода. При наличии крахмала молоко окрашивается в синий цвет.

Наличие крахмала в молоке можно установить также путем микроскопирования окрашенной капли молока. Для этого на предметное стекло наносят небольшую каплю молока, накрывают ее покровным стеклом, под которое вводят каплю спиртового раствора йода. Под микроскопом хорошо видны окрашенные в синий цвет зерна крахмала.

6.8. Работа №24. Определение формальдегида

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Пипетки емкостью 5 и 10 мл.

Реактивы:

Смесь серной кислоты с азотной (к 100 мл серной кислоты прибавить одну каплю азотной кислоты, плотность 1,30).

Ход работы

В пробирку наливают 2-3 мл смеси серной кислоты с азотной и осторожно наслаивают поверх столько же молока.

Появление через 1-2 мин на месте соприкосновения реактива с молоком фиолетового или темно-синего кольца свидетельствует о наличии формальдегида в молоке. При отсутствии его кольцо будет слабо окрашено в желто-бурый цвет.

6.9. Работа №25. Определение двуххромокалиевой соли

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Пипетки емкостью 5 и 10 мл.

Реактивы:

2%-й раствор азотно-кислого серебра.

Ход работы

В пробирку наливают 2-3 мл молока и прибавляют такое же количество 2%-го раствора азотно-кислого серебра. Появление желтого или красновато-желтого окрашивания свидетельствует о наличии в молоке двуххромовокалиевой соли ($K_2Cr_2O_7$ – хромпик).

Контрольные вопросы

1. Какие виды фальсификации молока Вы знаете?
2. С какой целью добавляют в молоко соду и как это определить?
3. От чего зависят изменения, происходящие в молоке при его фальсификации?
4. Какие посторонние вещества, добавляемые в молоко, обладают консервирующим действием?

7. ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Белки мышц можно разделить на ряд фракций с помощью последовательной экстракции водой, солевыми и щелочными растворами.

Таблица 20

Органические вещества мышц

| Белки | | | Небелковые экстрактивные азотсодержащие вещества | Безазотистые вещества |
|--|--|---|--|---|
| сарколемма | саркоплазма | миофибриллы | | |
| Коллаген Эластин Нейроке- ратин | Миоген Миоглобин Глобулин«х » | Миозин Актин Тропо- миозин Тропонин | Аминокислоты Полипептиды Мочевина Креатин и креатинин, креатинфосфат и др. | Углеводы Липиды Промежуточные продукты обмена углеводов и липидов |

Известно, что в экстракт из свежего мяса переходит от 41,5 до 51,5 г/л белков, а если продукт несвежий, то только от 34,5 до 35,5 г/л (по данным Авшалумовой А.Д., (1971).

Отмечено, что при хранении мяса постепенно изменяется абсолютное содержание белковых фракций. Их количество значительно уменьшается в мясе различных категорий свежести, вероятно, это обусловлено распадом белковых фракций под действием ферментов гнилостных микроорганизмов.

Следует отметить, что биохимический состав мяса зависит не только от его качества, но и от состояния животных перед убоем. Уменьшение растворимости белков является характерным показателем мяса больных животных. Так, в мясе здоровых свиней общего белка в экстракте содержится около 45 г/л, а в мясе больных – 24,0-37,3 г/л.

Биохимические изменения при некоторых патологиях в мышечных тканях, связанные с нарушением их сократительной функции (прогрессивная атрофия, параличи мышц на почве их денервации, некрозы и т.д.), характеризуются резким снижением в мышцах миозина и актомиозина, увеличением количества белков стромы и некоторых саркоплазматических белков, в частности, миоальбумина, а также уменьшением концентрации в мышечной ткани АТФ и фосфокреатина, снижением АТФ-азной активности контрактильных белков, низким уровнем дипептидов – карнозина и ансерина и т.д.

7.1. Работа №26. Выделение альбуминовой фракции

Приборы: шутель-аппарат, стаканы химические, ножницы, воронка, пробирки стеклянные химические, пипетки на 2 мл, марля.

Реактивы: 10%-й раствор гидроксида натрия, 1%-й раствор сульфата меди, кристаллический сульфат аммония, 6%-й раствор трихлоруксусной кислоты.

Ход работы. В химический стакан помещают 8-10 г измельченной мышцы,

заливают тройным объемом дистиллированной воды и, взбалтывая на шутель-аппарате в течение 20 мин, экстрагируют. Вытяжку отделяют фильтрованием через три слоя марли в другой химический стакан, а оставшуюся мышечную кашицу сохраняют для последующей солевой экстракции. В водный экстракт переходят белки саркоплазмы – миоген, миоальбумин и миоглобин, с которыми проводят следующие реакции.

Наливают в четыре пробирки по 2 мл полученного экстракта. **В первой пробирке**, для определения белка в экстракте, проводят биуретовую реакцию (т.е. к 2 мл исследуемой жидкости прибавляют 4 мл 10% -го раствора гидроксида натрия, перемешивают и затем добавляют 2-3 капли 1%-го раствора сульфата меди). Появление сине-фиолетового окрашивания свидетельствует о наличии белка. **Во вторую пробирку** добавляют до насыщения порошок сульфата аммония. В осадок при этом выпадают альбумины. **В третьей пробирке** проводят реакцию на осаждение белков солями тяжелых металлов (к 2 мл исследуемой жидкости добавляют по каплям 1%-й раствор сернокислой меди и наблюдают выпадение осадков белков). Для полного удаления белков из биологических жидкостей используют трихлоруксусную кислоту, поэтому **в четвертую пробирку** к 2 мл экстракта прибавляют 2-3 капли 6%-го раствора трихлоруксусной кислоты, встряхивают и наблюдают осаждение белка. **З а п о м н и т е!** Трихлоруксусная кислота может осаждать только белки, а продукты их распада (мочевина, мочева кислота, амиды аминокислот, аминокислоты, низкомолекулярные пептиды и др.) остаются в растворе. Это необходимо для отдельного определения белкового и небелкового (остаточного) азота в тканях.

7.2. Работа №27. Выделение глобулиновой фракции

Приборы: шутель-аппарат, стаканы химические, воронки, штатив с пробирками, пробирки на 2 мл, марля.

Реактивы: насыщенный раствор сульфата аммония, 10%-й раствор хлорида аммония, 10%-й раствор гидроксида натрия, 1%-й раствор сульфата меди.

Ход работы. После экстракции водой остаток мышечной кашицы помещают в стаканчик и заливают 20 мл 10%-го раствора хлорида аммония, затем экстрагируют, встряхивая в течение 30 мин.

Через три слоя марли отфильтровывают солевой экстракт. Следует учесть, что в него переходят белки глобулиновой фракции – миозин и актомиозин. Для дальнейшего исследования сохраняют остаток мышечной ткани на фильтре. Полученный солевой экстракт мышц наливают в три пробирки по 2 мл. С целью установления наличия белка **в первой пробирке** проводят биуретовую реакцию (т.е. к 2 мл исследуемой жидкости прибавляют 4 мл 10% -го раствора гидроксида натрия, перемешивают и затем добавляют 2-3 капли 1%-го раствора сульфата меди). Появление сине-фиолетового окрашивания свидетельствует о наличие белка. К 2 мл солевого экстракта **во второй пробирке** добавляют 2 мл насыщенного раствора сульфата аммония. Отмечают выпадение в осадок миозина и актомиозина. **В третью пробирку** постепенно приливают дистиллированную воду до появления нерастворимых в воде осадков миозина и

актомиозина.

7.3.Работа №28. Выделение склеропротеинов

Приборы: плитка, стаканы химические, штатив с пробирками, воронки, марля.

Реактивы: 10%-й раствор гидроксида натрия, 1%-й раствор сульфата меди, 6%-й раствор трихлоруксусной кислоты.

Ход работы. После экстракции водными и солевыми растворами в остатке мышечной ткани содержатся склеропротеины (коллаген и эластин).

В химический стакан помещают остаток мышечной ткани, который заливают тройным объемом воды и кипятят в течение 30 мин, сохраняя объем жидкости в стакане периодическим добавлением горячей воды. Коллаген при кипячении подвергается неглубокому гидролизу и превращается в растворимую в воде желатину.

Отфильтровывают горячий раствор в пробирку и с помощью биуретовой реакции в фильтрате устанавливают наличие желатины. К 2 мл исследуемой жидкости прибавляют 4 мл 10% -го раствора гидроксида натрия, перемешивают и затем добавляют 2-3 капли 1%-го раствора сульфата меди. Появление сине-фиолетового окрашивания свидетельствует о наличие белка. Желатина не дает положительной реакции на триптофан и тирозин.

Тонкие волокна и пленки эластина остаются на фильтре.

8. УГЛЕВОДЫ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Гликоген является основным резервом углеводов мышечной ткани. Его содержание колеблется от 0,5 до 2 % и чаще всего зависит от упитанности, функционального состояния и степени тренированности организма. О работоспособности и энергетических ресурсах живого организма судят по количеству этого полисахарида. Следует отметить, что на содержание гликогена в мышцах влияют скудное питание, высокое напряжение метаболических процессов в тканях, в результате чего концентрация этого полисахарида снижается.

В процессе созревания мяса происходят изменения в углеводной системе под действием ферментов гликогенолиза, в то время как протеиназы не проявляют активность. При созревании мяса процесс превращения углеводов является необратимым. Через ряд промежуточных реакций гликоген превращается в молочную кислоту, которая накапливается в мышечной ткани.

Таблица 21

Изменение содержания гликогена, глюкозы, молочной и фосфорной кислот при созревании мяса

| Продолжительность созревания мяса, ч | рН | Содержание, мг % | | | |
|--------------------------------------|-----|------------------|---------|------------------|-------------------------|
| | | гликогена | глюкозы | молочной кислоты | неорганического фосфора |
| 1 | 6,2 | 634 | 160 | 319 | 52 |
| 12 | 5,9 | 462 | 171 | 609 | 92 |
| 24 | 5,6 | 274 | 202 | 700 | 107 |
| 48 | 5,6 | 183 | 222 | 692 | 114 |
| 120 | 5,6 | 121 | 219 | 661 | 137 |

8.1. Работа №29. Определение гликогена (качественная реакция)

Приборы: штатив с пробирками, колба на 100-150 мл, весы, пипетки градуированные на 2 и 5 мл, воронки, фильтровальная бумага, плитка.

Реактивы: мышца свежая, дистиллированная вода, раствор Люголя.

Ход работы. Берут навеску мяса около 15 г, измельчают, помещают в колбу и приливают 60 мл дистиллированной воды. Смесь кипятят 30 мин. Полученный бульон фильтруют через бумажный фильтр и охлаждают. В пробирку наливают 5 мл фильтрата и добавляют 5-10 капель раствора Люголя. Если реакция положительная, то раствор окрашивается в вишнево-красный цвет, при отрицательной – в желтый, при сомнительной – в оранжевый. Эта реакция позволяет выявить гликоген в мясе, если его концентрация составляет около 1%.

Положительную реакцию на гликоген в большинстве случаев дает мясо собаки, лошади, верблюда, медведя и кошки (экстракт из мяса кошки может окрашиваться как в вишнево-красный, так и в оранжевый цвета). Отрицательную реакцию дает мясо овцы, козы, крупного рогатого скота, кролика и свиньи.

Необходимо учесть, что мясо молодых животных дает положительную реакцию независимо от вида животного, у старых и больных животных отмечается отрицательная реакция на гликоген, для чего необходимо проводить дополнительную идентификацию.

8.2.Работа № 30. Качественное обнаружение молочной кислоты в экстрактах из скелетных мышц (реакция Уффельмана)

Приборы: штатив с пробирками, пипетки.

Реактивы: фенол, экстракт из мышечной ткани, насыщенный раствор хлорного железа.

Ход работы. Вначале готовят рабочий реактив. Для этого в пробирку наливают 15 мл раствора фенола и добавляют несколько капель хлорного железа. Отмечают фиолетовое окрашивание жидкости. Затем в первую пробирку наливают 2 мл приготовленного реактива и по каплям добавляют экстракт из мышечной ткани, а во вторую пробирку вносят 2 мл реактива и раствор молочной кислоты. Наблюдают появление зелено-желтого окрашивания в обеих пробирках.

Это можно объяснить тем, что при смешивании хлорного железа с фенолом появляется фиолетовое окрашивание благодаря образованию комплекса фенолята железа. Если в исследуемой жидкости присутствует молочная кислота, то образуется соль железа, и окраска становится зелено-желтой.

9.ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЕЖЕСТИ МЯСА

Отбор образцов

В соответствии с требованиями ГОСТ 7269-79, который распространяется на мясо всех видов убойного скота (исключая печень, мозги, легкие, селезенку и почки), образцы отбирают от туши или ее части, а также от замороженных или охлажденных блоков мяса и субпродуктов целым куском массой не менее 200 г из следующих мест:

- зареза, против 4-го и 5-го шейных позвонков;
- в области лопатки;
- в области бедра и толстых частей мышц.

Каждый образец упаковывают в пергамент (ГОСТ 1341-97), в целлюлозную пленку (ГОСТ 7730-89) либо в полиэтиленовую пленку (ГОСТ 10354-82). Наименование отобранного образца и номер туши обозначают простым карандашом на пергаменте или пергаментном ярлыке, вложенном под пленку. Затем образцы упаковывают в один бумажный пакет (оберточную бумагу по ГОСТ 8273-75) и укладывают в металлический ящик, который печатывают и пломбируют.

Направляя образцы в лабораторию, их снабжают сопроводительным документом (актом отбора) с указанием:

- даты и места отбора образцов;
- вида скота;
- номера туши, присвоенного при приемке;

- причины и цели испытания;
- подписи отправителя.

Органолептическая оценка свежести мяса

Методы органолептического исследования предусматривают определение:

- внешнего вида и цвета;
- консистенции;
- запаха;
- состояния жира;
- состояния сухожилий;
- прозрачности и аромата бульона.

Внешний вид и цвет поверхности мяса определяют при естественном освещении.

Оценивая мышцы, их смотрят на свежем разрезе мяса, а также в глубинных слоях мышечной ткани. Для определения липкости мясо ощупывают. Прикладывая к образцу мяса кусочки фильтровальной бумаги, оценивают его увлажненность. Консистенцию мяса устанавливают надавливанием на его поверхность пальцем, а затем наблюдают за выравниванием ямки.

Запах определяют обнюхиванием исследуемых проб при температуре 15...20°C, потому что при более низких температурах труднее устанавливать запах мяса. Различают следующие виды запаха мяса: нормальный (специфический для мяса), запах сырости или затхлый, гнилостный, прогорклый, острокислый. Испорченное мясо приобретает сильно выраженный ненормальный, чаще всего гнилостный запах вследствие накопления продуктов гниения. Прогорклый запах свидетельствует о распаде жира и накоплении альдегидов и кетонов. Иногда мясо при порче приобретает резко кислый запах прокисшей капусты или огурцов.

Очень часто при исследовании большого количества проб мяса на запах могут быть ошибки. Поэтому, чтобы их избежать, необходимо предварительно рассортировать пробы, исследуя в первую очередь менее испорченные, а затем уже более испорченные. При оценке запаха допускается анализ не менее трех проб, после чего делают перерыв на 10 мин. Если возникают сомнения в определении запаха, то используют приемы по его усилению.

Проба шпилькой. Гладко обструганную острую шпильку, приготовленную из дерева лиственных пород, втыкают в мясо, вынимают и тотчас определяют запах.

Проба нагретым ножом. Чистый остроконечный нож или скальпель нагревают путем погружения в горячую воду, быстро втыкают в мясо, вынимают и определяют запах.

Проба варкой. Мелко нарезанные кусочки мяса (желательно фарш, полученный при пропускании мяса через мясорубку с отверстиями решеток диаметром 2мм) в количестве 20 г помещают в колбу (100 мл) и заливают 60 мл дистиллированной воды в соотношении 1:3. После этого колбу закрывают часовым стеклом и содержимое ее нагревают до кипения. Когда бульон закипит, стекло поднимают и нюхают пар. Аромат бульона лучше определять в момент появления паров (80...85°C). Прозрачность устанавливают визуально, наливая

20 мл бульона в мерный цилиндр объемом 25 мл диаметром 20 мм.

Для свежего мяса характерен ароматный, прозрачный бульон, на поверхности которого в виде крупных блесков плавает жир. Бульон из мяса в начальной стадии порчи не имеет специфического ароматного запаха, цвет мутноватый, капли жира на поверхности мелкие. Из испорченного мяса бульон затхлый, грязно-мутный, с хлопьями, капли жира на поверхности бульона почти отсутствуют.

При исследовании мяса на обнаружение запаха лекарств или дезинфицирующих веществ также используют пробу варкой.

Состояние сухожилий определяют ощупыванием для установления упругости, плотности и состояния суставных поверхностей.

Таблица 22

Органолептическая оценка свежести мяса (по ГОСТ 7269-79)

| Показатель | Характерный признак мяса или субпродуктов | | |
|--------------------------------|---|--|--|
| | свежих | сомнительной свежести | несвежих |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Внешний вид и цвет поверхности | Имеет корочку подсыхания бледно-розового или бледно-красного цвета, у размороженных туш – красного цвета; жир мягкий, частично окрашен в ярко-красный цвет | Местами увлажнена, слегка липкая, потемневшая | Сильно подсохшая, покрытая слизью серо-вато-коричневого цвета или плесенью |
| Мышцы на разрезе | Слегка влажные, не оставляют влажного пятна на фильтровальной бумаге; цвет, свойственный данному виду мяса: для говядины – от светло- до темно-красного, для свинины – от светло-розового до красного, для баранины – от красного до красновышневого, для ягнят – розовый | Влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, слегка липкие, темно-красного цвета; у размороженного мяса с поверхности разреза стекает сок, слегка мутноватый | Влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, липкие, красновато-коричневого цвета; у размороженного мяса с поверхности разреза стекает мутный мясной сок |
| Консистенция | На разрезе мясо плотное, упругое; образующаяся при надавливании | На разрезе мясо менее плотное и менее упругое; образующаяся | На разрезе мясо дряблое; образующаяся при на- |

| | | | |
|-------------------------------|--|--|--|
| | пальцем ямка быстро выравнивается | при надавливании пальцем ямка выравнивается медленно (в течение 1 мин), жир мягкий, у размороженного мяса слегка разрыхлен | давлении пальцем ямка не выравнивается, жир мягкий, у размороженного мяса жир рыхлый, осадившийся |
| Запах | Специфический, свойственный данному виду свежего мяса | Слегка кисловатый или с оттенком затхлости | Кислый, или затхлый, или слабогнилостный |
| Состояние жира | Говяжий – имеет белый, желтоватый или желтый цвет, консистенция твердая, при раздавливании крошится; свиной – белого или бледно-розового цвета, мягкий эластичный; бараний – имеет белый цвет, консистенция плотная. Жир не должен иметь запаха осаливания или прогоркания | Имеет сероватоматовый оттенок, слегка липнет к пальцам; может иметь легкий запах осаливания | Имеет сероватоматовый оттенок, при раздавливании мажется. Свиной жир может быть покрыт небольшим количеством плесени. Запах прогорклый |
| Состояние сухожилий | Сухожилия упругие, плотные, поверхность суставов гладкая, блестящая. У размороженного мяса сухожилия мягкие, рыхлые, окрашенные в ярко-красный цвет | Сухожилия менее плотные, матово-белого цвета. Суставные поверхности слегка покрыты слизью | Сухожилия размягчены, сероватого цвета. Суставные поверхности покрыты слизью |
| Прозрачность и аромат бульона | Прозрачный, ароматный | Прозрачный или мутный, с запахом, не свойственным свежему бульону | Мутный, с большим количеством хлопьев, с резким, неприятным |

Следует запомнить, что если один из показателей органолептического анализа свидетельствует о сомнительной свежести, то продукцию направляют на химические или микробиологические исследования.

9.1. Работа № 31. Формольная проба (по Колоболотскому Г.В. и Киселеву Е.В)

Приборы: фарфоровая ступка с пестиком, изогнутые ножницы, 2 колбы на 150 мл, химические стаканчики по 25 мл, весы, воронки, марля, бумажные фильтры, штатив с пробирками, пипетки, стеклянная палочка.

Реактивы: мышечная ткань, физиологический раствор (0,85 г поваренной соли растворяют в 100 мл дистиллированной воды), 0,1 н. раствор гидроксида натрия, 5%-й раствор щавелевой кислоты, нейтральный формалин (так как формалин имеет кислую среду, то его нейтрализуют 0,1 н. раствором гидроксида натрия по индикатору, состоящему из равной смеси 0,2%-х водных растворов нейтральрота и метиленового голубого для перехода цвета из фиолетового в зеленый, до рН 7 или за несколько суток в формалин вносят чистый мел на 1/3 высоты столба формалина в сосуде).

Ход работы. Готовят водную вытяжку из мяса в соотношении 1:1. Берут 10 г чистой мышечной ткани, освобожденной от жирной и соединительной тканей, измельчают изогнутыми ножницами и помещают в ступку, где тщательно растирают, понемногу приливая 10 мл физиологического раствора и 10 капель 0,1 н. раствора гидроксида натрия. С помощью стеклянной палочки полученную кашицу переносят в колбу и нагревают до кипения, чтобы осадить белки. Затем колбу охлаждают под струей холодной воды и нейтрализуют ее содержимое, добавляя 5 капель 5%-го раствора щавелевой кислоты. Полученную смесь фильтруют через фильтровальную бумагу. Если в результате фильтрат оказывается мутным, то его фильтруют повторно или центрифугируют.

Наливают 2 мл вытяжки в пробирку и приливают 1 мл нейтрального формалина. Наблюдают за реакцией.

Вытяжка превращается в плотный сгусток, если она получена из мяса животного, убитого в агонии, тяжело больного или разделанного после падежа. Выпадение хлопьев отмечается в вытяжке из мяса больного животного. Если мясо получено от здорового животного, то вытяжка остается жидкой и прозрачной или слабо мутнеет.

Суть формольной пробы заключается в том, что при тяжело протекающих заболеваниях у животного в мышцах в значительных количествах накапливаются промежуточные и конечные продукты белкового обмена – полипептиды, пептид, аминокислоты и др. Эти метаболиты осаждаются формальдегидом.

9.2. Работа № 32. Определение продуктов первичного распада белков в бульоне (реакция с серноокислой медью)

Приборы: штатив с пробирками, 2 конические колбы на 100-150 мл, воронки, бумажные фильтры, химический стакан на 500 мл, гигроскопическая вата, водяная баня.

Реактивы: мясной фарш, дистиллированная вода, 5%-й раствор сернокислой меди.

Ход работы. Из исследуемой пробы мяса готовят 20 г фарша и помещают его в коническую колбу на 100 мл, добавляют 60 мл воды, перемешивают, затем закрывают часовым стеклом и нагревают в течение 10 мин на кипящей водяной бане. Фильтруют горячий бульон через плотный слой гигроскопической ваты (0,5 см) или через 3-4 слоя бумажного фильтра в колбочку, помещенную в химический стакан с холодной водой. При наличии в фильтрате бульона хлопьев белка его дополнительно фильтруют через фильтровальную бумагу.

Наливают 2 мл фильтрата в пробирку и добавляют 3 капли 5%-го раствора сернокислой меди, перемешивают и оставляют на 5 мин. По прошествии указанного времени читают реакцию.

Если бульон остается прозрачным при добавлении сернокислой меди, то мясо и мясные продукты считаются свежими. Помутнение бульона указывает на сомнительную свежесть мясных продуктов, а интенсивное помутнение с образованием хлопьев наблюдается в бульоне из размороженного мяса. Несвежим считается мясо, когда после добавления раствора сернокислой меди в бульоне образуется желеобразный осадок, а в бульоне из размороженного мяса появляются крупные хлопья.

Цель данного метода заключается в осаждении белков нагреванием и образовании в фильтрате комплексов сернокислой меди с оставшимися продуктами первичного распада белков, которые выпадают в осадок.

9.3.Работа № 33. Определение степени обескровленности туши (по Загаевскому)

Приборы: гемометр Сали, штатив с пробирками, пипетки, фарфоровая ступка с кварцевым песком, марлевая салфетка.

Реактивы: мышечная ткань, 0,5 н. раствор соляной кислоты.

Ход работы. Берут 25 г мышечной ткани из глубины мышц задней части туши, измельчают и растирают в ступке с кварцевым песком. Затем приливают 5 мл 0,5 н. раствора соляной кислоты и растирают до появления вытяжки кирпично-красного цвета. После этого содержимое отжимают через марлевую салфетку и 0,5 мл вытяжки наливают в градуированную пробирку гемометра Сали. Постепенно по каплям добавляют 0,5 н. раствор соляной кислоты до тех пор, пока цвет раствора не станет таким же, как окраска стандартного раствора эталона шкалы гемометра. Процент гемоглобина в 0,5 мл мясной вытяжки записывают по показаниям шкалы в пробирке:

- 30-40 ед. – выход крови 4,2-4,5% к живой массе животного, отличное обескровливание;
- 41-50 ед. – выход крови 3,6-4,1%, хорошее обескровливание;
- 51-65 ед. – выход крови 2,5-3,5%, удовлетворительное обескровливание;
- 85 ед. и выше – выход крови ниже 1,5%, неудовлетворительное

обескровливание (вынужденно убитые животные);

- 100 ед. и выше – у мяса павших животных.

Необходимо учитывать, что для мяса молодняка до 3 лет показатели на 8-12 ед. ниже, а старых (больше 10 лет) – на 5-10 выше, чем средние данные.

10.МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ ЖИРОВ (ГОСТ 8285 -74)

Животные жиры, получаемые в промышленных условиях: говяжьи, бараньи, свиные и костные, – представляют собой смесь триглицеридов высших жирных кислот, которые содержат некоторое количество сопутствующих жирам веществ: фосфатиды, стеролы, токоферолы, пигменты, а также продукты гидролиза глицеридов и других сложных соединений.

Таблица 23

Показатели пищевых животных жиров

| Показатели | Вид и сорт жира | | | | | |
|--|--|--------|--|--------|-------------------------------------|---|
| | говяжий | | бараний | | свиной | |
| | высший | первый | высший | первый | высший | первый |
| Цвет при 15-20°С | От бледно-желтого до желтого | | От белого до бледно-желтого | | Белый, допускается бледно-голубой | Белый, допускаются желтоватый или сероватый оттенки |
| Запах и вкус | Характерные для данного вида жира, вытопленного из свежего сырья. Для высших сортов – без постороннего запаха, для первых допускается приятный поджаристый | | | | | |
| Прозрачность в расплавленном состоянии | Прозрачный | | Прозрачный | | Прозрачный | |
| Консистенция при 15... 20°С | Плотная или твердая | | Плотная или твердая, курдючного мазеобразная | | Мазеобразная или зернистая, плотная | |
| Содержание влаги, % (не более) | 0,20 | 0,30 | 0,20 | 0,30 | 0,25 | 0,30 |
| Кислотное число (не более) | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 2,2 | 1,1 | 2,2 |

Некоторые физико-химические показатели различных видов пищевых топленых жиров

| Жир | Температура | Плотность, г/см ³ (при температуре, | Коэффициент рефракции (при | Йодное число |
|-----|-------------|---|----------------------------|--------------|
|-----|-------------|---|----------------------------|--------------|

| | плавления, °С | °С) | температуре, °С) | |
|---------------|---------------|-----------------|------------------|--------|
| Говяжий | 48...50 | 0,937-0,953, 20 | 1,451-1,458, 40 | 32-47 |
| Бараний | 49...54 | 0,932-0,961, 20 | 1,450-1,452, 60 | 31-46 |
| Свиной | 37...45 | 0,915-0,938, 20 | 1,458-1,461, 40 | 46-66 |
| Конский | 28...32 | 0,916-0,920, 15 | 1,459-1,466, 20 | 74-84 |
| Верблюжий | 36...48 | | 1,447 | |
| Лосиный | 46...48 | | | 62-66 |
| Медвежий | 30...36 | | 1,454, 20 | |
| Барсучий | 8...9 | 0,903, 20 | 1,456-1,466, 40 | 92-102 |
| Нутриевый | | | 1,458-1,461, 40 | 60-74 |
| Заячий | | | 1,454, 20 | |
| Кроличий | 20...25 | | 1,462, 40 | 70 |
| Сурковый | 9...10 | 0,901, 20 | 1,467-1,468, 40 | |
| Козий | 46...48 | | | |
| Собачий | 23...27 | | 1,451, 20 | 56-67 |
| Олений | 48...52 | | | |
| Гусиный | | | 1,451, 20 | 59-71 |
| Куриный | | | 1,451, 20 | 58-80 |
| Крысиный | | | | |
| Китовый | | 0,922-0,923, 15 | 1,456-1,458, 20 | 94-145 |
| Кошачий | 39 | | | |
| Утиный | 35...36 | | | |
| Индейки | 32...33 | | | |
| Сайгачий | 43...44 | | | |
| Дикого кабана | 30...35 | | | |

10.1.Работа № 34. Качественная реакция на перекиси (по Винтилеску и Понеску)

Приборы: штатив с пробирками, пипетки, водяная баня, термометр.

Реактивы: жир, 5%-й водный раствор свежей крови, 5%-й спиртовой раствор гваяковой смолы, дистиллированная вода.

Ход работы. 3-5 г расплавленного жира (температура не выше 50...55°C) помещают в пробирку и добавляют последовательно 5 капель 5%-го водного раствора крови (можно и неразбавленную кровь), 6-8 капель 5%-го спиртового раствора гваяковой смолы и 5 мл теплой воды. Перемешивают и наблюдают за изменением цвета смеси в пробирке. Интенсивно-голубой цвет указывает на наличие перекисей в жире.

10.2.Работа № 35. Реакции с нейтральным красным (на наличие свободных жирных кислот)

Приборы: фарфоровая ступка с пестиком, химические стаканы, штатив с пробирками, пипетки.

Реактивы: жир, 0,01%-й водный раствор нейтрального красного (рН 7,0-7,2).

Ход работы. Берут 0,5-1,0 г исследуемого жира и помещают его в фарфоровую ступку, заливают 0,01%-м водным свежеприготовленным раствором нейтрального красного (рН 7,0-7,2), растирают пестиком в течение 1 мин, после чего раствор сливают, а оставшиеся капли жидкости смывают водой и определяют окраску жира по табл. 24.

Таблица 24

Показатели свежести жира по реакции с нейтральным красным

| Жир свиной и бараний | | Жир говяжий | |
|---|------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| окраска | свежесть | окраска | свежесть |
| От желтой с зелено-ватым оттенком до желтой | Свежий | От желтой до коричне-вой | Свежий |
| От темно-желтой до коричневой | Свежий, не подлежит хранению | От коричневой до коричнево-розовой | Свежий, не подлежит хранению |
| От коричневой до розовой | Сомнительной свежести | От коричнево-розовой до розовой | Сомнительной свежести |
| От розовой до красной | Испорченный | От розовой до красной | Испорченный |

Следует учесть, что нейтральный красный – это кислотно-основный и окислительно-восстановительный индикатор. В кислой среде его цвет красный, в щелочной – желтый, в окисленном состоянии – красно-фиолетовый, в восстановительном – бесцветный. Отмечено, что в испорченных жирах накапливается значительное количество кислых продуктов: перекисей, свободных высоко- и низкомолекулярных жирных кислот, углекислоты и др. Именно низкомолекулярные жирные кислоты легко диссоциируют и сдвигают рН жира в кислую сторону. Однако остальные соединения (перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы и др.) способны переводить нейтральный красный в окисленное состояние, вызывая соответствующее изменение его цвета.

Контрольные вопросы.

1. Перечислите основные отличительные признаки жиров различных видов животных.
2. Какие существуют методы по установке видовой принадлежности мяса животного?
3. Как отличить доброкачественный продукт от испорченного?

Составитель
Короткевич Ольга Сергеевна,
Себежко Ольга Игоревна

Биохимия сельскохозяйственной продукции

методические разработки по выполнению лабораторных работ

Формат 60x84 1/16 2.0 усл.печ.л.

В авторской редакции
Компьютерная вёрстка О.С. Короткевич