

Д.С. Сальников, Е.А. Власова, С.В. Макаров

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Лабораторный практикум



Иваново 2019

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Ивановский государственный химико-технологический университет

Д.С. Сальников, Е.А. Власова, С.В. Макаров

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Лабораторный практикум

Иваново 2019

УДК 664:577.1

Сальников, Д.С.

Пищевая химия: лаб. практикум / Д.С. Сальников, Е.А. Власова, С.В. Макаров; Иван. гос. хим.-технол. ун-т. – Иваново, 2019. – 86 с.

Лабораторный практикум является руководством к лабораторным занятиям и самостоятельной работе по дисциплине «Пищевая химия» и предназначен для студентов, обучающихся по направлению 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья» (бакалавриат).

Лабораторные работы включают цель, общие положения, порядок проведения работы, включающий аппаратуру, материалы и реактивы, схемы устройства необходимых установок, порядок проведения анализа, порядок оформления отчета и контрольные вопросы.

Табл. 17. Рис. 20. Библиогр.: 27 назв.

Печатается по решению редакционно-издательского совета Ивановского государственного химико-технологического университета.

Рецензенты

доктор химических наук, профессор Д. Б. Березин

(Ивановский государственный химико-технологический университет);

кафедра технологии виноделия и бродильных производств

Кубанского государственного технологического университета

© Сальников Д.С., Власова Е.А., Макаров С.В., 2019

© ФГБОУ «Ивановский государственный

химико-технологический университет», 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. УГЛЕВОДЫ	7
1.1. Титриметрическое определение содержания сахаров в плодах и овощах	10
1.2. Определение сахарозы рефрактометрическим методом.....	14
1.3. Определение «сырой» клетчатки в растительном сырье	16
1.4. Получение картофельного крахмала и определение его влажности.....	18
1.5. Гидролиз крахмала до сахаров	20
1.6. Выделение пектина и исследование его свойств.....	21
2. БЕЛКИ	24
2.1. Осаждение казеина из молока с использованием уксусной кислоты	26
2.2. Ферментативная коагуляция казеина из молока с помощью ренина	26
2.3. Коагуляция белков из соевого молока с использованием сульфата магния	27
2.4. Определение "сырого" протеина в растительном сырье.....	28
2.5. Цветная реакция миоглобина	30
3. ЛИПИДЫ.....	36
3.1. Количественное определение жиров в продуктах питания настоящим способом.....	38
3.2. Экстракция жиров на аппарате Сокслета	39
3.3. Исследование физико-химических свойств пищевых жиров	41
4. ВИТАМИНЫ И ПРОВИТАМИНЫ	48
4.1. Определение каротина в пищевых продуктах.....	48
4.1.1. Определение каротина в плодах, овощах и консервах.....	51
4.1.2. Определение каротина в сухом растительном материале (овощи, плоды, ягоды, пищевые концентраты и другие продукты).....	53
4.2. Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в плодах и овощах...	53
5. ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА	56
5.1. Определение дубильных и красящих веществ в растительном сырье	57
6. ВОДА	60

6.1. Определение массовой доли влаги в продуктах.....	60
6.1.1. Термогравиметрический метод	60
6.1.2. Метод Дина-Старка	61
7. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА	63
7.1. Определение золы и ее щелочности в плодах и овощах.....	64
7.1.1. Определение содержания золы в продукте.....	65
7.1.2. Определение щелочности золы	65
7.2. Определение зольности муки	66
8. НИТРАТЫ И НИТРИТЫ.....	68
8.1. Определение содержания нитратов и нитритов в пищевых продуктах ...	70
9. ЭТАНОЛ	74
9.1. Определение содержания этилового спирта в плодах и овощах бихроматным методом.....	74
10. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ.....	76
10.1. Аминокислотный скор	78
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	84

ВВЕДЕНИЕ

“Пищевая химия” входит в число базовых дисциплин и основана на результатах изучения курсов общей и неорганической химии, органической, аналитической химии, биохимии, физики, математики, информатики.

Целями освоения дисциплины являются ознакомление студентов с основными свойствами макро- и микронутриентов, их превращениями при производстве продуктов питания, химией пищеварения, основными принципами здорового питания.

Цель лабораторных работ – ознакомить студентов с методами выделения и анализа различных веществ, содержащихся в продуктах питания.

Лабораторный практикум представляет единое целое с теоретическим курсом «Пищевая химия» и является важной составляющей частью учебной программы по подготовке бакалавров для пищевой промышленности. Цель практикума - закрепить теоретические знания, которые студенты получают на лекциях и в процессе самостоятельной работы. В практикуме приведены основные понятия и термины, необходимые для изучения строения и свойств важнейших нутриентов, основных процессов, протекающих при пищеварении, принципов здорового питания. Обсуждаются методики выделения и анализа различных веществ, содержащихся в продуктах питания. Знания, полученные студентами на лабораторных занятиях, позволят глубже изучить основы дисциплины, закрепить фактический материал, освоить физико-химические методы исследования пищевых продуктов.

Порядок выполнения и оформления лабораторных работ

Студент должен иметь лабораторный журнал, который состоит из титульного листа и выполненных лабораторных работ. Каждую лабораторную работу оформляют отдельно. Лабораторные работы выполняются по следующей схеме:

- получение задания;
- подготовка к выполнению работы;
- собеседование по работе;
- выполнение практической части работы;
- оформление отчета;
- сдача работы.

Для повышения эффективности лабораторных занятий к ним допускаются только теоретически подготовленные студенты с планом проведения той или иной экспериментальной работы. К выполнению лабораторной работы допускаются студенты, получившие инструктаж по технике безопасности.

По окончании выполнения лабораторной работы студенты оформляют ее в виде отчета, который проверяется и подписывается преподавателем.

Отчет по лабораторной работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;

- краткое теоретическое введение;
- ход выполнения;
- экспериментальные данные;
- необходимые расчеты;
- выводы;
- список использованной литературы.

Вычисления значений физических величин необходимо выполнять, используя Международную систему единиц (СИ).

Отчет оформляется в лабораторном журнале. Текст отчета размещается с обеих сторон листа, при этом на странице оставляются поля шириной не менее 4 см. Отчет по каждой работе начинается с новой страницы с титульного листа. Содержание выводов определяется заданием, полученным на данную работу. Список литературы должен быть оформлен в соответствии с ГОСТ 7.1-2003. Отчет по лабораторной работе должен быть представлен преподавателю на следующем после выполнения данной работы занятии.

До начала выполнения лабораторного практикума студенты обязаны ознакомиться с правилами внутреннего распорядка в лаборатории и правилами техники безопасности и в дальнейшем неукоснительно их соблюдать.

Правила техники безопасности при работе в лаборатории

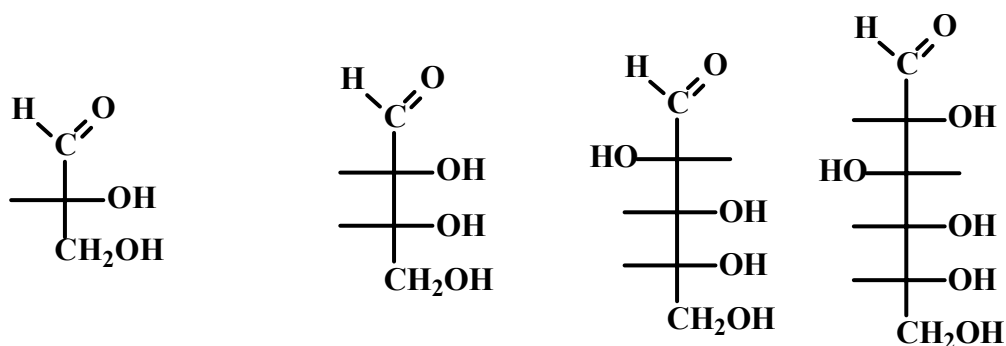
При работе в химической лаборатории каждый студент должен соблюдать следующие правила:

- работать в халате, застегнутом на все пуговицы;
- подготовить рабочее место перед началом работы, убрав все лишнее со стола;
- проверять чистоту и целостность посуды, исправность приборов до начала работы;
- проводить эксперимент в соответствии с инструкцией;
- не пробовать на вкус или неосторожно нюхать какие-либо вещества, пить воду из химической посуды;
- при нагревании жидкостей и использовании разъедающих растворов надеть защитные очки;
- работу с концентрированными щелочами и кислотами проводить под тягой, не сливать их в канализацию;
- работу с легковоспламеняющимися жидкостями (ЛВЖ) проводить под тягой и вдали от нагревательных приборов; отработанные ЛВЖ сливать в специальную тару;
- не набирать едкие вещества в пипетку ртом; использовать для этого резиновую грушу;
- при попадании кислоты на кожу быстро промыть пораженный участок большим количеством воды и обработать слабым раствором соды.

1. УГЛЕВОДЫ

Углеводы – наиболее широко распространенные в природе органические соединения. Они играют центральную роль в метаболизме животных и растений [1,2]. Известны три класса углеводов: моносахариды, олигосахариды и полисахариды [2,3]. Отдельную группу составляют углеводсодержащие смешанные биополимеры.

Моносахариды (монозы) имеют общую формулу $C_n(H_2O)_n$ и представляют собой полигидроксиальдегиды и полигидроксикетоны, которые называются альдозами и кетозами соответственно. В зависимости от числа углеродных атомов в цепи моносахариды делятся на триозы, тетрозы, пентозы, гексозы и высшие сахара (рис. 1.1). Характерная особенность этих соединений состоит в наличии асимметрических атомов углерода, число которых растет по мере удлинения цепи.



D-глицериновый альдегид D-эритроза D-арабиноза D-глюкоза

Рис. 1.1. Примеры линейных форм моносахаридов

Наличие в молекуле асимметрических атомов углерода делает моносахариды оптически активными соединениями, причем величина удельного вращения является характеристическим параметром моносахарида. Левовращающие изомеры обозначают буквой L, правовращающие – буквой D. В природе распространены D-изомеры моносахаридов.

Углеродные атомы в линейных формах углеводов нумеруют таким образом, чтобы карбонильный углерод имел наименьший номер. Заместители (атомы, функциональные группы) получают тот же номер, что и углеродный атом, с которым они соединены. Если в молекуле имеется более одной функциональной группы, они перечисляются в алфавитном порядке. Отсутствие OH-группы отражается префиксом «дезокси».

Циклические формы и таутомерия моносахаридов. Приведенные выше структуры являются линейными (ациклическими); в действительности, моносахариды находятся главным образом в полуацетальных циклических формах, которые возникают в результате взаимодействия карбонильной группы моносахарида с одной из его гидроксильных групп.

Хеурс У. предложил называть сахара с шестичленным циклом *пиранозами*, а с пятичленным – *фуранозами*. Большинство пентоз и гексоз образуют пиранозный цикл в результате взаимодействия карбонильной группы с гидро-

ксиллом при С-5. У альдоз фуранозный цикл образуется с участием гидроксила при С-4.

Для обозначения циклических форм моносахаридов используются формулы Хеуорса.

В результате взаимодействия карбонильной и гидроксильной групп альдозы образуется новый асимметрический центр при С-1, что сопровождается появлением еще одной пары стереомеров (аномеров) для каждого моносахарида. Стереомер, имеющий одинаковую конфигурацию при С-1 и последнем асимметрическом атоме, называется α -аномером, стереомер с противоположной конфигурацией при этих двух атомах - β -аномером. В соответствии с данным правилом производные альдоз по С-1 относят к α - или β -аномерам.

Обычно в растворах одновременно присутствуют различные таутомерные формы одного и того же моносахарида, находящиеся в динамическом равновесии друг с другом; при нарушении соотношения форм система возвращается в состояние равновесия (явление мутаротации), что можно заметить по изменению величины удельного вращения раствора. В обычных условиях равновесие существенно смещено в сторону α - и β -пираноз; относительное содержание α - и β -аномеров в значительной степени определяется конформацией пиранозного кольца.

Олигосахариды составляют промежуточную группу между моно- и полисахаридами [2]. Как правило, к ним относят биополимеры, содержащие до 10 моносахаридных остатков.

В образовании гликозидной связи олигосахаридов участвуют полуацетальный гидроксил одного, и любой гидроксил, в том числе и полуацетальный, другого моносахаридного остатка. Если один из концевых моносахаридных остатков олигосахарида содержит полуацетальный гидроксил, олигосахарид называется восстанавливающим. Примером может служить лактоза (молочный сахар, рис. 1.2).

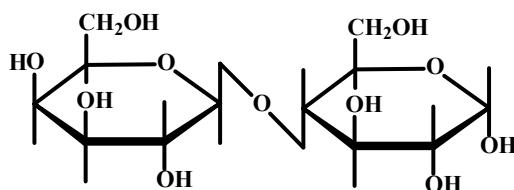


Рис. 1.2. Лактоза

Если гликозидная связь образуется с полуацетальным гидроксильным группой другого моносахарида, как у сахарозы (рис. 1.30), олигосахарид называется невосстанавливающим.

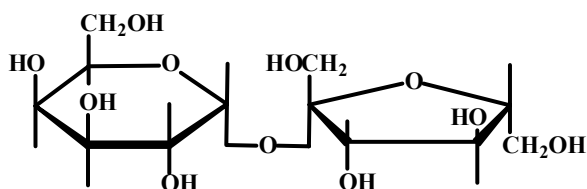


Рис. 1.3.Сахароза

К разветвленным углеводам относятся олигосахариды, в которых имеют-ся моносахаридные звенья, несущие более одного гликозильного остатка (рис. 1.40).

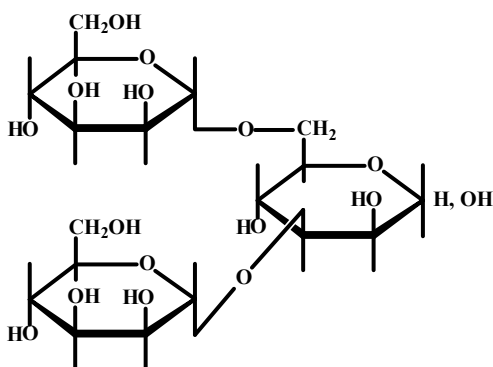


Рис. 1.4. α -D-маннозил-(1 - 6) [α -D-маннозил-(1 - 3)]-D-манноза

Краткое написание структуры олигосахаридов предусматривает написание гликозильных остатков подряд, начиная с невозстанавливающего конца, с использованием буквенных обозначений моносахаридных остатков. В случае сложных разветвленных олигосахаридов применяется более наглядная форма записи.

Полисахариды (гликаны) представляют собой высокомолекулярные соединения, образующиеся при поликонденсации моносахаридов [2]. В состав гомополисахарида входит один, а гетерополисахарида - несколько типов моносахаридных остатков. Чаще всего в составе полисахаридов встречается D-глюкоза, но широко распространены также полисахариды, содержащие D-маннозу, D-галактозу, D-фруктозу, D-глюкозамин. Нередко полисахариды имеют заместители неуглеводной природы - остатки серной, фосфорной или органических кислот.

Молекулярная масса полисахаридов колеблется в широких пределах - от нескольких тысяч до нескольких миллионов. Любой образец полисахарида представляет собой смесь полимергомологов.

Полисахариды, в отличие от моно- и олигосахаридов, плохо растворяются в воде, не имеют сладкого вкуса и являются достаточно инертными соединениями.

1.1. Титриметрическое определение содержания сахаров в плодах и овощах

В отличие от моносахаридов, лактозы и мальтозы сахароза не обладает восстановительными свойствами. Ее определение возможно после разложения в кислой среде с образованием восстановителей (редуцирующих сахаров) - глюкозы и фруктозы [4]. Для раздельного определения глюкозы и фруктозы используют способность йода в щелочной среде окислять глюкозу, в то время как фруктоза в этой реакции не участвует.

Техника выполнения

Вариант 1

Реактивы и материалы: исследуемый продукт, насыщенный раствор ацетата свинца, насыщенный раствор сульфата или фосфата натрия, 1%-й раствор гексацианоферрата (III) калия, 2,5 н. раствор гидроксида калия или натрия, 1 %-й раствор метиленового синего, концентрированный раствор соляной кислоты, фильтровальная бумага.

Химическая посуда и оборудование: химический (стеклянный) стакан объемом 50 мл, мерная колба объемом 200 мл, конические колбы объемом 100...150 мл, стеклянная воронка, бюретка, термометр, водяная баня, электроплитка.

Метод основан на свойстве редуцирующих моносахаров восстанавливать в щелочной среде гексацианоферрат (III) калия ($K_3[Fe(CN)_6]$) в гексацианоферрат (II) калия ($K_4[Fe(CN)_6]$). В качестве индикатора при реакции используется метиленовая синь. Об окончании реакции сахаров и гексацианоферрата (III) калия свидетельствует обесцвечивание синего раствора.

Выполнение анализа

2 г измельченной и тщательно перемешанной пробы исследуемого продукта помещают в мерную колбу емкостью 50-100 мл, смывая остатки продукта дистиллированной водой. Колба должна быть заполнена примерно наполовину. Если анализируют кислые продукты (плоды, ягоды, щавель, ревень, томаты, солено-квашенные и маринованные продукты), содержимое взбалтывают и нейтрализуют 10-15 %-м раствором щелочи или соды по лакмусовой бумажке. Молочнокислые овощи (капуста, корнеплоды, бахчевые и др.) не нейтрализуют.

Следующая операция - перевод сахаров в раствор (выщелачивание). В колбу опускают термометр, помещают ее на водяную баню, нагревают 15 - 20 минут до температуры около $80^{\circ}C$, часто взбалтывая. Затем колбу охлаждают под струей водопроводной воды до комнатной температуры, термометр вынимают, обмывая его в колбе дистиллированной водой.

Затем осветляют вытяжку, т.е. удаляют из нее белковые, пектиновые и другие вещества, присутствие которых может помешать точному определению сахаров. Осаждение их проводят насыщенным раствором ацетата свинца $Pb(CH_3COO)_2$. Для этого в колбу с исследуемой вытяжкой добавляют по каплям

ацетат свинца. После добавления каждой порции образуется "облачко" белого осадка. Содержимое колбы взбалтывают, дают отстояться. В мутных и окрашенных вытяжках ацетат свинца вводят по стенке наклоненной колбы, иначе трудно заметить выпадение осадка. Быстрое отслаивание над осадком прозрачной жидкости свидетельствует о том, что ацетата свинца добавлено достаточно и осветление закончено.

Затем удаляют избыток ацетата свинца, осаждая его насыщенным раствором сульфата или фосфата натрия (Na_2SO_4 или Na_3PO_4). Чтобы избежать внесения избытка осадителя, сульфат натрия вносят небольшими порциями, каждый раз после этого взбалтывая вытяжку. После этого ей дают отстояться и проверяют полноту осаждения по одной капле реактива: если при этом раствор над осадком больше не мутнеет, то осветление вытяжки считают законченным.

Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой, взбалтывают и фильтруют через складчатый фильтр. В фильтрате (растворе А) определяют редуцирующие (восстанавливающие) сахара.

Раствор А наливают в бюретку. В две малые конические колбы вносят пипеткой по 1 мл 1 %-го раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и по 0,25 мл 2,5 н. раствора KOH или NaOH . Содержимое первой колбы доводят до кипения, ставя ее на асбест сетки над нагревательным прибором, добавляют каплю 1 %-го раствора метиленовой сини. Не прекращая кипения, титруют из бюретки раствором А до исчезновения синей окраски. После охлаждения раствор становится фиолетовым.

Во вторую колбу добавляют на 1 мл меньше раствора А, чем пошло на титрование в первой колбе, нагревают до кипения и кипятят 1 минуту, добавляют 1 каплю метиленовой сини и титруют раствором А до исчезновения синей окраски. В течение всего определения кипение в колбе не должно прекращаться.

Содержание редуцирующих сахаров X , %, рассчитывают по формуле (1.1):

$$X = \frac{T (1,006 + 1,00175 V_1) V_0}{10 V_1 m}, \quad (1.1)$$

где V_1 - количество раствора А, пошедшее на титрование, мл;

T - поправка к титру 1 %-го раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$;

V_0 - объем вытяжки до фильтрования, мл;

m - навеска, г.

В том случае, когда содержание сахаров в растворе А велико, используют другие объемы реактивов. В колбы для титрования вносят по 2 мл 1 %-го раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и по 0,5 мл 2,5 н. раствора KOH или NaOH . В этом случае для расчета используют другую формулу (1.2):

$$X = \frac{T (2,012 + 0,0035 V_1) V_0}{10 V_1 m}, \quad (1.2)$$

Коэффициенты $(1,006 + 0,00175)$ и $(2,012 + 0,0035)$ в расчетных формулах установлены эмпирически.

Для определения суммы сахаров в растворе А проводят инверсию сахарозы. Пипеткой отбирают 50 мл раствора А и переносят его в мерную колбу на 100 мл, добавляют 3 мл концентрированного раствора HCl, опускают в колбу термометр и нагревают на водяной бане до температуры $68 - 73^{\circ}\text{C}$ в течение 8 минут. После этого термометр вынимают и ополаскивают дистиллированной водой. Раствор в колбе нейтрализуют сухой содой, добавляя ее малыми порциями, чтобы избежать вспенивания. Нейтрализацию заканчивают после прекращения выделения пузырьков углекислого газа.

Содержимое колбы доводят водой до метки дистиллированной водой. В полученном растворе В определяют сумму сахаров таким же способом, как и редуцирующие сахара. Содержание суммы сахаров (глюкоза + фруктоза + инвертный сахар, образовавшийся в результате инверсии сахарозы) вычисляют по вышеприведенным формулам, но результат следует умножить на коэффициент 2, так как 50 мл раствора А, взятого для инверсии, довели до объема 100 мл, то есть разбавляли в два раза.

Согласно химической реакции инверсии сахарозы, 1 г инвертного сахара образуется из 0,95 г сахарозы и 0,05 г воды.

Таким образом, проведенный анализ дает возможность рассчитать содержание:

- редуцирующих сахаров (глюкоза + фруктоза) по формуле для раствора А;
- суммы сахаров (глюкоза + фруктоза (инвертный сахар) по формуле для раствора В умножением расчетной величины на коэффициент 2;
- инвертного сахара (сумма сахаров минус редуцирующие сахара);
- сахарозы (инвертный сахар, умноженный на коэффициент 0,95);
- истинной суммы сахаров (глюкоза + фруктоза + сахароза).

Вариант 2

Для определения используют раствор А, приготовление которого описано в варианте 1. В коническую колбу отбирают 10 мл исследуемого раствора. Другой пипеткой в ту же колбу вносят 2,5 мл 0,1 н. раствора йода. Затем осторожно при постоянном перемешивании добавляют 3 мл 0,1 н. раствора NaOH. Колбу накрывают часовым стеклом и оставляют на 10...15 минут при комнатной температуре в темноте.

После этого часовое стекло омывают небольшим количеством дистиллированной воды и вносят в колбу 3,5 мл 0,1 н. раствора H_2SO_4 . Избыток йода оттитровывается 0,1 н. раствором тиосульфата натрия до полного обесцвечивания раствора в присутствии индикатора - 1 %- го раствора крахмала.

Содержания глюкозы X, %, рассчитывается по формуле (1.3):

$$X = \frac{(V_1 T_1 - V_2 T_2) V_0 \cdot 0,009}{m} 100, \quad (1.3)$$

где V_1 - количество взятого для реакции 0,1 н. раствора йода, мл;
 T_1 - поправка к титру 0,1 н. раствора йода;
 V_2 - количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование, мл; T_2 - поправка к титру 0,1 н. раствора тиосульфата натрия;
 V_0 - общий объем водной вытяжки, взятой для реакции, мл;
 m - навеска, г; 0,009 - коэффициент пересчета раствора йода на глюкозу (1 мл 0,1 н. раствора йода окисляет 0,009 г глюкозы).

Приготовление реактивов

1%-й раствор гексацианоферрата (III) калия $K_3[Fe(CN)_6]$

10 г гексацианоферрата (III) калия растворяют в мерной колбе (100 мл) в небольшом количестве воды и доводят водой до метки.

Поправка к титру этого раствора устанавливается следующим образом. В коническую колбу отбирают пипеткой 5 мл приготовленного раствора, прибавляют 0,3 г KI и 0,15 г $ZnSO_4$ (химически чистого без примеси железа). Смесь взбалтывают и оттитровывают выделившийся йод в присутствии 1 - 2 капель 1%-го раствора крахмала 0,1 н. раствором тиосульфата натрия до обесцвечивания.

Поправка к титру T равна (1.4):

$$X = \frac{V_1 \cdot 0,03292}{0,05}, \quad (1.4)$$

где V_1 - количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование, мл;

0,03293 - коэффициент пересчета тиосульфата натрия на гексацианоферрат (III) калия (1 мл 0,1 н. раствора тиосульфата натрия соответствует 0,03293 г гексацианоферрата (III) калия);

0,05 - количество гексацианоферрата (III) калия, содержащееся в 5 мл его 1%-го раствора, г.

2,5 н. раствор гидроксида натрия NaOH

1 г NaOH растворяют в воде в мерной колбе объемом 10 мл.

Поправку к титру определяют титрованием 0,1 н. раствором соляной или серной кислот. На 0,1 мл щелочи должно пойти 2,5 мл кислоты.

Нейтральный раствор ацетата свинца $Pb(CH_3COO)_2$

3 г ацетата свинца растирают с 0,5 г оксида свинца (глета) и 0,5 мл воды в фарфоровой ступке. Закрывают смесь стеклом и на водяной бане выдерживают до осветления. Разбавляют смесь 9,5 мл горячей воды, переносят в бутылку, дают отстояться, фильтруют. Хранят в емкости с плотно притертой пробкой.

Насыщенный раствор сульфата натрия Na_2SO_4

1,65 г кристаллического реактива растворяют в 10 мл воды.

0,1 н. раствор тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$

0,25 г $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$ растворяют в прокипяченной и охлажденной дистиллированной воде. Добавляют 0,02 г соды, доводят объем до 10 мл и хранят в бутылки из темного стекла. Титр проверяют по 0,1 н. раствору $KMnO_4$.

0,1 н. раствор йода I_2

0,25 г йодида калия растворяют в 5 мл воды и вносят в раствор 0,13 г металлического йода. Взбалтывают содержимое до полного растворения йода, доводят объем до 10 мл в мерной колбе.

Титр раствора устанавливают по 0,1 н. раствору тиосульфата натрия. Для этого 2,5 мл раствора йода, разбавленного до 10 мл, титруют 0,1 н раствором тиосульфата натрия до появления желтоватого окрашивания. Затем прибавляют несколько капель 1 %-го раствора крахмала и титруют до исчезновения синего окрашивания.

Титр раствора йода T вычисляют по формуле (1.5):

$$X = \frac{VK}{2,5}, \quad (1.5)$$

где V - количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование, мл;

K – титр раствора 0,1 н. раствора тиосульфата натрия;

2,5 - поправка к титру 0,1 н. раствора тиосульфата натрия.

0,1 н. раствор гидроксида натрия $NaOH$

0,45 г щелочи растворяют в 10 мл прокипяченной, но охлажденной воды. Для полного осаждения углекислых солей добавляют 5%-й раствор хлорида бария. Осадку дают отстояться, прозрачный раствор сливают, не взмучивая осадка, в бутылку с притертой пробкой.

Титр раствора проверяют по 0,1 н. раствору соляной или серной кислот, приготовленным из фиксажей, или по 0,1 н. раствору щавелевой кислоты (0,63 г реактива в 10 мл воды).

1%-й раствор крахмала

0,1 г крахмала взмучивают небольшим количеством воды и вливают 9 мл кипящей воды. После 1-2 минут кипения раствор в горячем состоянии фильтруют.

1.2. Определение сахарозы рефрактометрическим методом

Метод основан на определении показателя преломления исследуемого раствора.

Оборудование: рефрактометр типа Аббе или РПЛ-2, шкала которого градуирована в единицах массовой доли сахарозы с ценой деления 0,5 %.

Техника выполнения

Подготовка пробы продукта

Жидкие продукты, не содержащие большого количества взвешенных частиц, непосредственно используют для испытания.

Жидкие продукты, содержащие большое количество взвешенных частиц и пюреобразные продукты, фильтруют через несколько слоев марли или бумажный фильтр. Первые порции фильтрата отбрасывают, остальную часть используют для испытания.

Густые продукты, у которых трудно отделить жидкую фазу, готовят следующим образом: измельченную навеску густого продукта массой не менее 40 г разбавляют дистиллированной водой не более чем в 2 раза, выдерживают не менее 15 минут на кипящей водяной бане, смесь охлаждают, взвешивают и фильтруют.

Темноокрашенные жидкие продукты разбавляют дистиллированной водой не более чем в 2 раза, определяя массу навески и массу смеси.

Подготовка рефрактометра к работе

Перед началом работы протирают призмы рефрактометра марлей, смоченной дистиллированной водой или спиртом, сушат и проверяют установку нуля по дистиллированной воде при температуре $20 \pm 0,1$ °С.

Проведение испытаний

Небольшое количество раствора (2...3 капли) помещают на рабочую неподвижную призму рефрактометра и сразу же накрывают подвижной призмой. Хорошо осветив поле зрения с помощью регулировочного винта, переводят линию, разделяющую темное и светлое поля в окуляре, точно на перекрестие в окошке окуляра и считывают показания прибора. За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допустимые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %.

Обработка результатов

Результаты измерения приводят к температуре 20 °С, пользуясь таблицей температурных поправок. Если продукт разбавляли водой, то массовую долю сухих веществ в продукте X , %, вычисляют по формуле (1.6):

$$X = a \left[1 + \frac{100 m_1}{(100 - e) m_2} \right], \quad (1.6)$$

где a - значение массовой доли растворимых сухих веществ, полученных для разбавленного водой продукта, %;

m_1 - масса добавленной воды, г;

m_2 - масса навески продукта, г;

e - массовая доля нерастворимых в воде сухих веществ в продукте, % (5,5 % для томатной пасты, 5,0 % для сушеного винограда, 1,8 % для джемов и повидла, 0 % для темно окрашенных прозрачных жидких продуктов).

1.3. Определение «сырой» клетчатки в растительном сырье

Данное определение основано на обработке растительного материала слабым раствором серной кислоты и щелочи, водой, спиртом и эфиром [4].

Под действием серной кислоты при нагревании происходит гидролиз нерастворимых углеводов, крахмала. В раствор переходят амидные соединения, а также частично извлекаются минеральные вещества.

Под действием щелочи в раствор переходят белковые вещества, частично омыляется жир.

При последующей промывке спиртом и эфиром извлекаются остатки жира, воски, пигменты и смолы. Однако указанные вещества не полностью удаляют сопутствующие клетчатке соединения: лигнин, гемицеллюлозу, пектиновые вещества и ряд других компонентов, поэтому остаток и называют "сырой" клетчаткой.

Реактивы и материалы: 1,25 %-й раствор серной кислоты, 28 %-й раствор едкого натра, этиловый спирт, серный эфир.

Химическая посуда и оборудование: аналитические весы, сушильный шкаф, бюксы, эксикатор, воронки диаметром 6 - 8 см, стеклянные палочки, фильтры, установка для промывки клетчатки, химические стаканы емкостью 50...60 мл.

Техника выполнения

На аналитических весах взвешивают 0,5 - 0,75 г исследуемого вещества. Навеску количественно переносят в стакан и приливают 50 мл 1,25 %-го раствора серной кислоты, при этом замечают уровень жидкости в стакане. Затем его ставят на электрическую плитку, доводят до кипения и кипятят 30 минут, приливая кипящую дистиллированную воду до отмеченного ранее уровня жидкости в стакане. Во время кипения содержимое стакана периодически помешивают стеклянной палочкой, которую обычно не вынимают из стакана.

После кипячения стакан снимают с плитки, давая исследуемому веществу осесть на дно стакана, затем в него вводят 5,5 мл 28 %-го раствора NaOH, вновь замечая уровень жидкости, и нагревают до кипения. Кипятят 30 минут, подливая кипящую дистиллированную воду для поддержания постоянного уровня жидкости. При кипячении со щелочью необходимо внимательно следить за содержимым стакана, так как возможна его вибрация и падение с плитки.

Потом стакан вновь снимают с плитки и фильтруют его содержимое с помощью воронки Бюхнера через заранее взвешенный фильтр. Осадок на фильтре промывают горячей водой, спиртом, эфиром для удаления остатков жира.

Фильтр с осадком помещают в бюкс, в котором сушился пакетик, и сушат его в сушильном шкафу до постоянной массы с приоткрытой крышкой бюкса при температуре 100 – 105 °С около 3...4 часов.

Количество "сырой" клетчатки X , %, определяют по формуле (1.7):

$$X = \frac{m_2}{m_1} 100, \quad (1.7)$$

где m_2 - масса сырой клетчатки в навеске (разность между массой бюкса с крышкой, фильтром с осадком и массой пустого бюкса с крышкой и чистого фильтра без осадка), г;

m_1 - навеска исследуемого вещества, г;

100 - коэффициент перевода искомой величины в проценты.

Расчет содержания "сырой" клетчатки в исследуемом сырье (с учетом его первоначальной влажности) X_1 , %, проводят по формуле (1.8):

$$X_1 = \frac{X(100 - B)}{100}, \quad (1.8)$$

где B - первоначальная влажность сырья, %.

Определение первоначальной влажности (ПВ) сырья основано на испарении воды при высушивании навески в сушильном шкафу при температуре 60...65 °С.

Определение ПВ можно проводить с использованием фарфоровых чашек на технических весах. Обычно делают два параллельных измерения, поэтому чашки перед измерением нумеруют, высушивают при температуре 90...100 °С, охлаждают и взвешивают. В чашки помещают по 6 - 7 г исследуемого сырья и вновь взвешивают. Затем чашки помещают в сушильный шкаф и сушат при температуре 60 - 65 °С до тех пор, пока разница между двумя последовательными взвешиваниями будет меньше 0,5 г.

После высушивания чашки с образцами оставляют на 4...6 часов в эксикаторе. Это необходимо для того, чтобы при хранении образца влажность его не изменялась.

Затем чашки с образцами вновь взвешивают и рассчитывают первоначальную влажность (ПВ).

Расчет проводят по формуле (1.9):

$$\text{ПВ} = \frac{m_{\text{H}_2\text{O}}}{m_c} 100, \quad (1.9)$$

где $m_{\text{H}_2\text{O}}$ - масса испарившейся воды, г;

m_c - навеска образца до высушивания, г.

1.4. Получение картофельного крахмала и определение его влажности

Клубни картофеля используют в качестве сырья для производства крахмала, его содержание в них колеблется от 15 до 18 % [4]. Сырые клубни картофеля содержат в среднем 17,7 % крахмала, 0,9 % сахаров, 0,7 % пектиновых веществ, 1,0 % клетчатки и 0,2 % кислот; калорийность 100 г - 86 ккал; рН картофельного сока составляет 6,1.

Картофельный крахмал служит сырьем для многих производств, при переработке плодов и овощей его используют для выработки сухих киселей.

Для извлечения крахмала клубни измельчают как можно тоньше, стараясь повредить как можно больше клеток. Измельченную массу взмучивают в холодной воде. Крахмал вымывается водой и осаждается в первую очередь благодаря большей плотности. Затем его промывают и отделяют от примесей.

Реактивы и материалы: картофель, вода.

Химическая посуда и оборудование: мерный цилиндр объемом 250 мл, тёрка, приемная емкость, весы технические.

Техника выполнения

Клубни картофеля измельчают на ручных кухонных тёрках или на лабораторных терочных машинах. Измельченную массу собирают на чистом сите и промывают ее холодной водой, собирая промывные воды в посуду большой емкости. На сите остается картофельная мезга, в промывных водах - крахмальные зерна. Если необходимо, можно пропустить массу через два сита: первое - с большим диаметром отверстий, второе - с малым.

Крахмал осаждается на дне сборной емкости. После отстаивания сливают мутную воду, добавляют новую порцию холодной воды, крахмал взмучивают и снова дают ему осесть. Таким образом, промывают крахмал несколько раз, пока он не станет почти белым. Остатки воды удаляют, раскладывая полученный крахмал на фильтровальной бумаге, сложенной в несколько слоев. После такой обработки получается сырой крахмал с влажностью примерно 50 %. Его взвешивают и определяют выход сырого крахмала X в процентах к весу, взятых на переработку клубней по формуле (1.10):

$$X = \frac{m_{\text{крахмал}}}{m_c} 100, \quad (1.10)$$

где $m_{\text{крахмала}}$ - масса полученного крахмала, г;
 m_c - масса взятого сырья, г.

Для определения выхода крахмала нужно предварительно определить в нем содержание влаги. Сырой крахмал с большим содержанием влаги плохо хранится и закисает. При высушивании крахмал может разлагаться, поэтому для определения его влажности применяют следующие расчеты. Плотность абсолютно сухого крахмала равна 1,65 г/мл, объем 100 г такого крахмала равен: $100 : 1,65 = 60,6$ мл. Если 100 г сухого крахмала поместить в колбу определен-

ного объема, например, 250 мл, то для того, чтобы наполнить ее водой до метки, потребуется добавить $250 - 60,6 = 189,4$ мл или г воды. Содержимое колбы в этом случае будет весить 289,4 г.

Если крахмал имеет влажность, например, 20 %, то в 100 г сухого крахмала содержится 80 г, которые займут объем $80 : 1,65 = 48,5$ мл. Вместе с содержащейся в нем водой 100 г такого крахмала займут объем $48,5 + 20 = 68,5$ мл. Для заполнения колбы емкостью 250 мл со 100 г такого крахмала до метки потребуется добавить $250 - 68,5 = 181,5$ мл воды. Содержимое колбы в этом случае будет иметь массу 281,5 г. На основании подобных расчетов составлена специальная таблица для определения влажности крахмала (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Определение влажности крахмала по массе

Масса содержащего колбы, г	Влажность крахмала, %	Масса содержащего колбы, г	Влажность крахмала, %	Масса содержащего колбы, г	Влажность крахмала, %	Масса содержащего колбы, г	Влажность крахмала, %
289,40	0	283,50	15	277,80	30	271,65	45
289,00	1	283,10	16	277,20	31	271,25	46
288,60	2	282,70	17	276,80	32	270,90	47
288,20	3	282,30	18	276,30	33	270,50	48
287,80	4	281,90	19	276,00	34	270,10	49
287,40	5	281,50	20	275,60	38	204,70	50
287,05	6	281,10	21	275,20	36	269,30	51
286,65	7	280,75	22	274,80	37	268,90	52
286,25	8	280,35	23	274,40	38	268,50	53
285,85	9	279,95	24	274,05	39	268,10	54
285,45	10	279,55	25	273,65	40	267,75	55
285,05	11	279,15	26	273,25	41	267,35	56
284,65	12	278,75	27	272,85	42	266,95	57
284,25	13	278,35	28	272,45	43	266,55	58
283,90	14	277,95	29	272,05	44	266,15	59
						265,75	60

Пример

Взвешивают 100 г исследуемого крахмала с небольшим количеством дистиллированной воды (17,5 °С) и переносят в предварительно взвешенную колбу объемом 250 мл, которую доливают дистиллированной водой до метки и снова взвешивают. По разнице массы колбы с содержимым и пустой находят массу содержащего и по табл. 1.1 определяют влажность крахмала.

1.5. Гидролиз крахмала до сахаров

Реактивы и материалы: крахмал, концентрированная серная кислота плотностью 1,84 г/мл, 3%-й раствор йода, сода кальцинированная Na_2CO_3 , фильтровальная бумага.

Химическая посуда и оборудование: трехгорлая колба объемом 250 мл, обратный холодильник, термометр, мешалка, водяная баня, мерный цилиндр, градуированная пипетка объемом 10 мл, фарфоровая чашка, 10 пробирок, пипетка, технические весы.

Техника выполнения

Отвешивают 30 г крахмала с точностью до 0,1 г в фарфоровой чашке и размешивают его стеклянной палочкой с 90 мл водопроводной воды, отмеренной мерным цилиндром. В трехгорлую колбу объемом 280 мл с обратным холодильником наливают 150 мл воды и 30 мл концентрированной серной кислоты и ставят ее на кипящую водяную баню. Когда раствор нагреется до 80...85 °С, в него при работающей мешалке тонкой струей вливают крахмальную взвесь. Остаток крахмала в чашке ополаскивают 20 мл воды и также выливают в колбу.

Для осуществления контроля гидролиза крахмала наполняют 10 пробирок на 2/3 объема водой, добавляют в каждую 1...2 капли 3 %-го раствора йода и в процессе проведения гидролиза через каждые 15 минут отбирают пробы стеклянной палочкой, внося их последовательно в приготовленные пробирки. Наблюдают изменение окраски в пробирках. Последовательные пробы обнаруживают постепенное изменение окраски при реакции с йодом (синюю, синефиолетовую, красно-фиолетовую, красновато-оранжевую, оранжевую, желтую). Гидролиз крахмала заканчивают, когда окраска в последней пробирке не будет изменяться от внесения сиропа. Отмечают общую продолжительность гидролиза.

В гидролизате проводят нейтрализацию с целью прекращения гидролиза и перевода вредных минеральных кислот в нейтральные соли. Нейтрализацию полученного продукта при использовании в качестве катализатора серной кислоты проводят содой, рассчитывая ее количество по реакции нейтрализации. При работе с картофельным крахмалом соды берут на 25 % больше рассчитанного количества.

Рассчитанную навеску соды небольшими порциями добавляют в колбу с гидролизатом, не допуская бурного вспенивания. Контроль за нейтрализацией ведут по активной кислотности с помощью индикаторной лакмусовой бумаги. Оптимальное значение рН, до которого должен быть нейтрализован продукт из картофельного крахмала, равно 4,5...4,8. Полученный раствор отфильтровывают через бумажный фильтр.

1.6. Выделение пектина и исследование его свойств

Пектиновые вещества (ПВ) – высокомолекулярные углеводы растительного происхождения, главным структурным компонентом которых является D-галактуроновая кислота; встречаются в тканях наземных растений и в некоторых водорослях. В тканях некоторых растений содержание ПВ достигает 30% сухого веса (например, в белой части кожуры цитрусовых), в других – их содержание не превышает и долей процента.

В зависимости от растворимости и степени метоксилирования галактуроновой кислоты пектиновые вещества делятся на [5]:

- пектовую кислоту – это полностью деметоксилированная полигалактуроновая кислота, мало растворимая в воде (рис. 1.5).

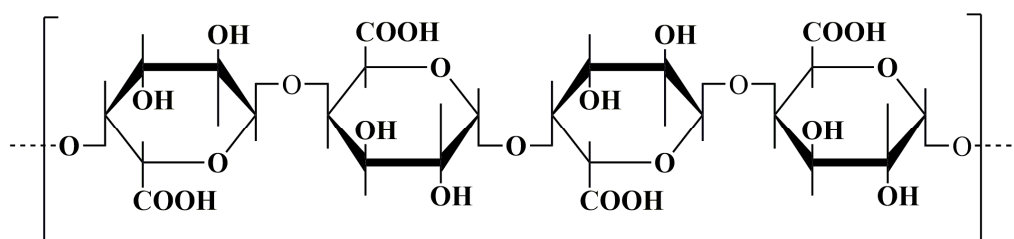


Рис. 1.5. Пектовая кислота

- пектиновую кислоту – высокомолекулярная полигалактуроновая кислота, часть карбоксильных групп которой этерифицированы метиловым спиртом, хорошо растворимая в воде (рис. 1.6).

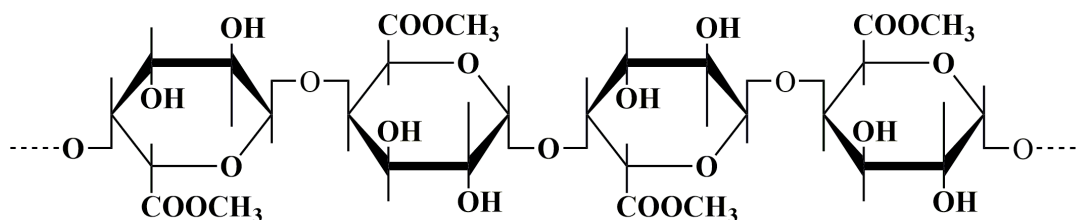


Рис. 1.6. Пектиновая кислота

- пектаты – соли пектовой кислоты;
- пектины – водорастворимые вещества, свободные от целлюлозы и состоящие из полигалактуроновой кислоты, карбоксильные группы которой в различной степени метоксилированы и нейтрализованы ионами кальция;
- пектинаты - соли пектинов;
- протопектин – условное название соединений, характеризующихся в основном нерастворимостью в воде и способностью при осторожном гидролизе образовывать пектиновые кислоты. Состоит из сети пектиновых цепей, образованных в результате соединения ионов многовалентных металлов с неэтерифицированными карбоксильными группами, с помощью эфирных мостиков с фосфорной кислотой.

В растениях пектиновые вещества присутствуют преимущественно в виде нерастворимого протопектина, который содержится главным образом в стенках

растительной клетки, в межклеточном цементирующем материале, играя роль опорных элементов тканей; в клеточном соке содержатся пектины и их соли пектинаты.

Наибольшее количество ПВ находится в плодах и корнеплодах. Они предохраняют их от высыхания, влияют положительно на засухоустойчивость. При созревании и хранении плодов нерастворимые формы пектина переходят в растворимые. Растворимые ПВ содержатся в клеточном соке. Получают ПВ из яблочных выжимок, свеклы, корзины подсолнечника, цитрусовых и других отходов переработки растительного сырья.

В зависимости от количества метоксильных групп и степени полимеризации различают высоко- (этерифицировано более 50% карбоксильных групп) и низкоэтерифицированные (этерифицировано менее 50% карбоксильных групп) пектины.

Высокоэтерифицированные пектины способны образовывать гели в присутствии кислот и сахара при соблюдении определенного соотношения. Низкоэтерифицированные пектины способны образовывать гели лишь в присутствии ионов кальция. На этом основано их использование в качестве студнеобразующего вещества в кондитерской и консервной промышленности для производства мармелада, пастилы, желе и джемов, а также в хлебопечении, сыроделии.

Цель работы: провести экстракцию и качественный анализ растворенного пектина.

Реактивы и материалы: 0,1 н. раствор гидроксида натрия, 1 н. раствор уксусной кислоты, 1% раствор ацетата свинца, растворы Фелинг I и Фелинг II; пектиносодержащее сырье.

Химическая посуда и оборудование: конические колбы на 100 мл, стеклянные воронки, капельницы, фильтровальная бумага, пробирки, пипетки, водяная баня, центрифуга, термостат.

Техника выполнения

Выделение растворимого пектина. К 20 г свежеразмолотого пектинсодержащего материала (яблоки, морковь, сахарная свекла, лимонные корки) добавляют теплой воды (не выше 40 °С), помещают в термостат и выдерживают при периодическом встряхивании и температуре 40 °С в течение 30 минут. Полученный раствор пектина отфильтровывают, к осадку повторно добавляют 12,5 мл теплой воды и повторяют экстракцию. Новую порцию экстракта отфильтровывают, фильтраты объединяют.

Для доказательства нередуцирующих свойств пектинов делают следующее: к 5...6 каплям раствора растворимого пектина добавляют 5...6 капель смеси растворов Фелинг I и Фелинг II до образования легкой исчезающей мути и греют на кипящей водяной бане 2...3 минуты.

Щелочной гидролиз по эфирной и гликозидной связям. Щелочной гидролиз растворимого пектина по сложно эфирной связи ведут при комнатной температуре. Для этого в коническую колбу вносят 5 мл раствора растворимого пектина и приливают 10 мл 0,1 н. раствора гидроксида натрия. Раствор остав-

ляют на 30 минут для достижения полноты реакции. Приблизительно 1 мл щелочного гидролизата помещают на 30 минут в кипящую водяную баню для прохождения гидролиза по гликозидным связям до образования галактуроновой кислоты.

Качественная реакция на пектин. К оставшемуся от предыдущего опыта щелочному гидролизату растворимого пектина приливают 2,5 мл 1н. раствора уксусной кислоты и переводят пектат натрия в свободную пектовую (полигалактуроновую) кислоту, добавляют 0,5 мл 1% раствора ацетата свинца и нагревают на кипящей водяной бане. При наличии полигалактуроновой кислоты наблюдают образование кирпично-красного осадка пектата свинца.

Контрольные вопросы

1. Углеводы: классификация, строение.
2. Моносахариды: классификация, строение, свойства.
3. Дисахариды: строение, свойства.
4. Полисахариды: строение, свойства.
5. Методы определения содержания сахаров в плодах и овощах.
6. На чем основано определение «сырой» клетчатки в растительном сырье?
7. Крахмал: получение, использование в пищевой промышленности.
8. Пектиновые вещества: классификация, строение, свойства, применение в пищевой промышленности.

2. БЕЛКИ

Белки – это природные полимеры, построенные из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидной связью [5]. Каждый белок характеризуется специфичной аминокислотной последовательностью. По составу белки делятся на простые (протеины), которые состоят только из остатков аминокислот, и сложные (протеиды), в которых полипептидная цепь соединена с небелковым компонентом – простетической группой. Сложные белки могут включать ионы металла (металлопротеины или металлопротеиды), пигмент (хромопротеины или хромопротеиды), образовывать прочные комплексы с липидами (липопротеины), нуклеиновыми кислотами (нуклеопротеины), а также ковалентно связывать остаток фосфорной кислоты (фосфопротеины), углевода (гликопротеины) или нуклеиновой кислоты (геномы некоторых вирусов).

Белки представляют собой основу структуры всех живых организмов [3,5]. Функции белков:

1. Каталитическая. Биологические катализаторы (ферменты) являются белками.

2. Транспортная. Перенос кислорода крови осуществляется молекулами гемоглобина, являющегося белком эритроцитов. Альбумины сыворотки крови принимают участие в транспорте липидов, образуют комплексы с органическими и неорганическими веществами и обеспечивают их доставку к органам-мишеням.

3. Защитная. В ответ на поступление в организм веществ, несущих на себе отпечаток генетической чужеродности, синтезируются специфические защитные белки-антитела. Защитная функция белков проявляется также в способности их к свертыванию (фибриногену), что защищает организм от потери крови при ранениях.

4. Сократительная. Специфические белки мышечной ткани (актин и миозин) играют главную роль в акте мышечного сокращения и расслабления. Сократительной способностью обладают также белки цитоскелета, обеспечивающие расхождение хромосом в процессе митоза.

5. Структурная. Первое место по количеству среди белков тела человека занимают структурные белки (коллаген, кератин, эластин и др.). Белки участвуют в образовании клеточных мембран, межклеточного вещества соединительной ткани, в комплексе с углеводами входят в состав ряда секретов (муцина, мукоидов и др.).

6. Гормональная. Гормональная регуляция занимает важное место в регуляции обмена веществ, а ряд гормонов представлен белками, полипептидами или производными аминокислот.

7. Резервная. Существуют специальные резервные белки, осуществляющие питание плода (овальбумины) и ребенка (альбумины и казеин).

Белки образуются путем связывания нескольких аминокислот через амидную (пептидную) связь (рис. 2.10). Определенная последовательность различных аминокислот называется первичной структурой белка [2].

Практически все белки построены из 20 α-аминокислот (их называют протеиногенными). Восемь из них являются незаменимыми, поскольку они не синтезируются в организме человека.

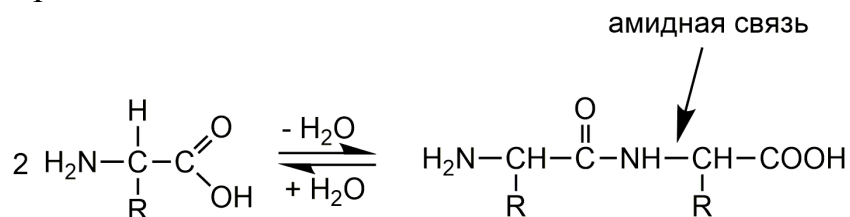


Рис. 2.1. Образование белка

Радикал R представляет собой группу атомов, не участвующих в образовании пептидной связи. Различные по химической природе радикалы R определяют свойства и вторичную структуру белковых молекул. Вторичная структура белка - укладка полипептидной цепи белка в альфа-спиральные участки и бета-структурные образования с участием водородных связей.

α-Аминокислоты в водных растворах при нейтральных pH существуют преимущественно в виде дипольных ионов (цвиттер-ионов), у которых аминогруппы протонированы (-NH₃⁺), а карбоксильные группы депротонированы (-COO⁻). Ионизация молекул аминокислот зависит от pH раствора (рис. 2.20).

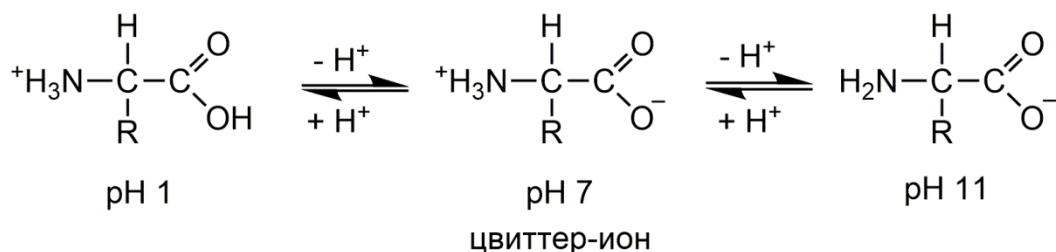


Рис. 2.2. Кислотно-основное равновесие аминокислот

Ионизированные аминокислоты в молекуле белка стремятся образовывать новые связи с ближайшими ионами с противоположным зарядом, т.е. противоположно заряженные аминокислоты одной молекулы белка будут взаимодействовать друг с другом с образованием дополнительных связей. Это приводит к упаковыванию белка в трехмерные структуры. Такие структуры называют третичной упаковкой белка, которая частично определяет свойства белка как катализатора, структурных материалов, химических рецепторов [2]. Способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой (или разной) первичной, вторичной или третичной структурой, и формирование единого в структурном и функциональном отношениях макромолекулярного образования называют четвертичной структурой белка.

При разрушении таких структур (данный процесс называется денатурацией) заряженные остатки могут образовывать новые связи с другими заряженными частицами (коагуляция или осаждение). Осаждение белков широко применяется при производстве энзимов, сыров.

Белки играют важную роль в производстве продуктов питания. Благодаря их способности набухать, образовывать гели, выступать в качестве поверхностно-активных веществ, они широко применяются при производстве колбас, сыров, майонезов, в хлебопечении и т.д. Белки способны улучшать текстуру и вкус кондитерских изделий.

2.1. Осаждение казеина из молока с использованием уксусной кислоты

Молочный белок состоит из казеина (80 %) и сывороточных белков (20 %). Существует 4 типа молекул казеина: α - s₁, α - s₂, β и κ . Казеин в молоке находится в диспергированном виде. При добавлении в молоко кислоты протоны нейтрализуют отрицательный заряд казеиновых мицелл. Когда молоко подкисляется до pH 4,7, происходит коагуляция последнего в форме кислого казеина. Производство домашних и сливочных сыров включает коагуляцию казеина с помощью молочной кислоты. Кислотный казеин используется и в химической промышленности (например, при производстве бумаги).

Реактивы и материалы: 5%-й раствор уксусной кислоты, пастеризованное цельное молоко.

Химическая посуда и оборудование: химические стаканы емкостью 250 мл, технические весы, мерный цилиндр, электроплитка, термометр, pH-метр, марля.

Техника выполнения

В предварительно взвешенный стакан наливают 120 мл молока и определяют вес молока. Стакан с молоком помещают на электрическую плитку и подогревают до 21 °С. После этого прекращают нагрев и добавляют к молоку 11 мл 5%-го раствора уксусной кислоты, перемешивают полученную смесь стеклянной палочкой в течение 2 минут. Затем оставляют смесь в покое на 5 минут (или более) и наблюдают за образованием осадка. На другой стакан помещают марлю, сложенную в 2 – 3 слоя. На марлю перемещают смесь молока с кислотой. Коагулированный казеин остается на марле, а кислота и сыворотка стекают внутрь стакана. Казеин вместе с марлей промывают холодной водой путем погружения в другой стакан с водой. Затем отжимают казеин до прекращения отделения воды, разворачивают марлю и оставляют для окончательной сушки на 5 минут. Взвешивают казеин без марли и записывают результат.

2.2. Ферментативная коагуляция казеина из молока с помощью реннина

Казеин может быть скоагулирован с помощью фермента – реннина (сычужного фермента), получаемого экстракцией из желудка телят. Оптимальная температура для реннина 37 °С. Если температура намного ниже, реакция протекает медленно, если температура слишком высокая - происходит денатурация

реннина и его деактивация. Коагуляция казеина под действием реннина протекает в два этапа. На первом этапе реннин расщепляет связь в аминокислотной цепи к-казеина, при этом образуется два новых соединения: пара-каппа-казеин и гликомакропептид. В отличие от исходного к-казеина, образовавшийся пара-каппа-казеин не способен стабилизировать мицеллярную структуру и предотвращать коагуляцию нерастворимых в воде кальциевых комплексов казеина. На втором этапе происходит коагуляция нерастворимых в воде кальциевых комплексов казеина с образованием осадка, который состоит из сывороточных белков, молочного жира, лактозы и минеральных веществ. Данный осадок является более взбитым и пористым по сравнению с таковым, полученным с помощью кислоты.

Реактивы и материалы: сычужный фермент (может быть заменен пепсином), пастеризованное цельное молоко.

Химическая посуда и оборудование: химические стаканы емкостью 250 мл, технические весы, мерный цилиндр, электрическая плитка, ступка с пестиком, термометр, рН-метр, марля.

Техника выполнения

В три предварительно пронумерованных и взвешенных стакана наливают по 120 мл молока и определяют вес молока. Первый стакан помещают в холодильник и охлаждают содержимое до 4 °С, второй стакан ставят на электрическую плитку и нагревают молоко до 43 °С, молоко в третьем стакане нагревают до 70 °С. После этого к каждому образцу добавляют полтаблетки сычужного фермента, предварительно измельченной в ступке, перемешивают полученную смесь стеклянной палочкой в течение 2 минут. Затем оставляют смесь в покое на 5 минут (или более) и наблюдают за образованием осадка. На другой стакан помещают марлю, сложенную в 2 – 3 слоя. На марлю перемещают смесь молока с ферментом. Коагулированный казеин остается на марле, а сыворотка стекает внутрь стакана. Казеин вместе с марлей промывают холодной водой путем погружения в другой стакан с водой. Затем отжимают казеин до прекращения отделения воды, разворачивают марлю и оставляют для окончательной сушки на 5 минут. Взвешивают казеин без марли и записывают результат.

2.3. Коагуляция белков из соевого молока с использованием сульфата магния

Примерно 90% соевого белка относится к глобулинам. Тофу («соевый творог» - пищевой продукт из соевых бобов) производится путем коагуляции протеинов соевого молока с помощью сульфата магния. Коагуляция происходит за счет образования связей между положительно заряженными ионами магния и отрицательно заряженными анионными группами белка.

Реактивы и материалы: сульфат магния, пастеризованное цельное молоко.

Химическая посуда и оборудование: химические стаканы емкостью 250 мл, технические весы, мерный цилиндр, электрическая плитка, ступка с пестиком, термометр, рН-метр, марля.

Техника выполнения

В предварительно взвешенный стакан наливают 120 мл молока и определяют его вес. Стакан с молоком помещают на электрическую плитку и доводят до слабого кипения. После этого прекращают нагрев и добавляют к молоку 1,6 г сульфата магния, перемешивают полученную смесь стеклянной палочкой в течение 2 минут. Затем оставляют смесь на 5 минут (или более) и наблюдают за образованием осадка. На другой стакан помещают марлю, сложенную в 2 – 3 слоя. На марлю перемещают смесь соевого осадка и воды. Коагулированный соевый белок остается на марле, а вода стекает внутрь стакана. Далее осадок отжимают до прекращения отделения воды, разворачивают марлю и оставляют для окончательной сушки на 5 минут. Взвешивают соевый белок без марли и записывают результат.

Дополнительно

а) Можно оценить свертывающую способность сычужного фермента по отношению к соевому молоку. Для этого соевое молоко нагревают до 43⁰С и добавляют сычужный фермент. Наблюдают за изменениями.

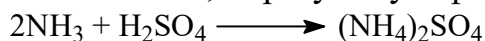
б) Можно оценить способность казеина коагулировать под действием сульфата магния. Для этого коровье молоко нагревают до кипения и добавляют 1,6 г сульфата магния. Наблюдают за изменениями.

в) Биуретовый тест. Сыворотку, полученную в экспериментах, подщелачивают с помощью гидроксида натрия и добавляют 5 капель раствора сульфата меди. Наблюдают за изменениями и объясняют результаты.

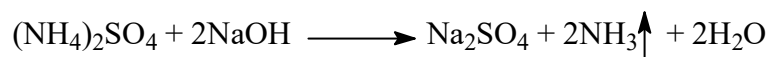
2.4. Определение "сырого" протеина в растительном сырье

Количество протеина в растительном сырье существенно изменяется в зависимости от различных условий, поэтому его содержание необходимо контролировать.

Определение «сырого» протеина основано на определении содержания азота в исследуемом сырье [4]. Для высвобождения азота органические вещества разлагают нагреванием с концентрированной серной кислотой. При этом безазотистые органические вещества обугливаются и разрушаются до углекислого газа и воды, а азотистые соединения разрушаются с образованием аммиака, который, реагируя с серной кислотой, образует сульфат аммония:



Затем на сульфат аммония действуют 35 %-м раствором щелочи при нагревании. Выделяющийся при этом аммиак отгоняется и поглощается определенным объемом 0,1 н. раствора серной кислоты:



При этом часть серной кислоты остается свободной; ее количество определяется титрованием 0,1 н. раствором щелочи.

По количеству аммиака, связанного 0,1 н. раствором серной кислоты, определяют количество азота, которое содержится в навеске сырья.

Протеин, определенный по этому методу, называют "сырым", потому что определяется не только белковый азот, но и азот аминокислот и их амидов, а также азот солей азотной и азотистой кислот.

Реактивы и материалы: концентрированная серная кислота с плотностью 1,82... 1,84 г/мл, 0,1 н. раствор серной кислоты, сульфат меди, 35 %-й и 0,1 н. растворы едкого натра, индикатор метиловый красный.

Химическая посуда и оборудование: колбы Кьельдаля, коническая пробирка с резиновой трубкой, аналитические весы, прибор для отгона по Кьельдалю, электроплитки, химические стаканы емкостью 500...1000 мл.

Техника выполнения

0,2 г исследуемого материала взвешивают в пробирке на аналитических весах и переносят с помощью резиновой трубочки в колбу Кьельдаля. Пробирку с остатками материала вновь взвешивают и по разности между первым и вторым взвешиванием определяют массу навески.

В колбу с навеской приливают пипеткой 4 мл концентрированной серной кислоты. Реакция разложения начинается вследствие происходящего обугливания органического вещества. Для ускорения окислительных процессов в колбу вносят небольшое количество сульфата меди. Колбу закрывают стеклянной шаровидной крышкой и переносят на плитку. Нагревание должно быть вначале осторожным, т.к. может образоваться большое количество пены, и некоторые кусочки анализируемого продукта могут попасть в верхнюю часть колбы. Постепенно, усиливая нагревание содержимого колбы, доводят его до кипения и поддерживают в таком состоянии до тех пор, пока оно не станет прозрачным (~ 2 часа). В том случае, когда в пробе присутствует железо, окраска может быть желтоватой.

После просветления содержимое колбы охлаждается на воздухе, а затем в колбу вносят 30-35 мл дистиллированной воды. Жидкость в колбе становится зеленовато-голубой, т.к. сульфат меди поглощает воду и восстанавливает голубой цвет медного купороса. В приемник (стакан или коническую колбу) берут 10 мл 0,1 н. раствора серной кислоты и 2-3 капли индикатора метилового красного. Приемник ставят к аппарату Кьельдаля, опустив стеклянную трубку с шарообразным расширением в раствор серной кислоты.

Раствор из колбы Къельдаля вместе с осадком осторожно переносят в колбу для отгонки, тщательно обмывая первую колбу несколько раз дистиллированной водой. В колбу с раствором осторожно вносят 14... 16 мл 33 %-го раствора едкого натра, плотно закрывают пробкой с каплеуловителем и ставят на плитку аппарата Къельдаля. Равномерно размешивают содержимое колбы. Включают холодильник аппарата, а затем плитку и отгоняют аммиак с водяным паром. Образующийся аммиак поглощается 0,1 н. раствором серной кислоты. Конец отгонки определяют по красной лакмусовой бумажке, которую подставляют под стекающую каплю отгона. Если лакмус не синееет, то отгонка аммиака закончена.

По окончании отгонки аммиака отключают плитку и осторожно вынимают шарообразную трубку. Трубку пускают в стакан, промывают ее дистиллированной водой и оттитровывают раствор 0,1 н. едким натром. По количеству связанной серной кислоты определяют количество азота, которое содержится в анализируемом образце (1 мл 0,1 н. раствора серной кислоты соответствует 0,0014 г азота). Содержание "сырого" протеина вычисляют по формуле (2.1):

$$X = \frac{0,0014 V \cdot 100 \cdot 6,25}{C}, \quad (2.1)$$

где X - содержание "сырого" протеина в пробе, %;

V - объем связанного 0,1 н. раствора серной кислоты, мл;

C - навеска образца, г;

6,25 - коэффициент пересчета в "сырой" протеин.

В связи с тем, что содержание азота в разных белках колеблется, то коэффициент 6,25, соответствующий содержанию азота 16 %, является усредненным.

Количество "сырого" протеина в анализируемом образце с влажностью Y (%) рассчитывают по формуле (2.2):

$$Y = \frac{X (100 - ПВ)}{100}, \quad (2.2)$$

где X - содержание "сырого" протеина в образце исследуемого материала, %;

ПВ - первоначальная влажность материала, %.

2.5. Цветная реакция миоглобина

Сухая мышечная ткань содержит в среднем 1% белка миоглобина, окрашенного в пурпурно-красный цвет [6]. Однако его количество в белом и красном мясе значительно изменяется.

Миоглобин (Mb) состоит из пептидной цепи (глобина) с молекулярной массой 16,8 кдал, а также простетической группы - гема (Fe^{2+} - протопорфирина) (рис. 2.3) [6].

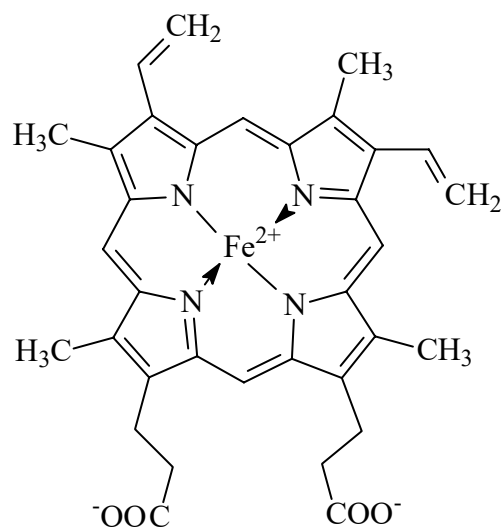


Рис. 2.3. Октаэдрическое окружение Fe^{2+} - протопорфирина

Главной функцией миоглобина в организме является перенос кислорода [7].

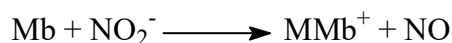
Миоглобин является основным пигментом мяса. Чистый миоглобин окрашен в пурпурный цвет (длина волны максимума поглощения ($\lambda_{\text{макс}}$) = 550 нм), оксимиоглобин (MbO_2 , комплекс кислорода с двухвалентным железом миоглобина, обладает ярко-красным цветом ($\lambda_{\text{макс}}$ = 542 и 580 нм), продукт окисления миоглобина, содержащий трехвалентное железо, метмиоглобин, ($MetMb^+$) имеет коричневый цвет ($\lambda_{\text{макс}}$ = 505 и 635 нм).

Цвет свежего мяса определяется соотношением миоглобина (Mb), оксимиоглобина (MbO_2) и метмиоглобина ($MetMb^+$) [6].

Стабильный MbO_2 образуется только при высоком давлении кислорода. Разрез свежего мяса на глубину около 1 см приобретает яркий вишнево-красный цвет, который является показателем качества мяса. Медленное окисление миоглобина до метмиоглобина протекает в области низкого давления кислорода. Изменение степени окисления железа с 2^+ до 3^+ приводит к изменению цвета миоглобина с красного на коричневый. Поскольку Fe^{3+} является более слабым π -донором по сравнению с Fe^{2+} , метмиоглобин не образует аддукт с кислородом. Однако с более сильными, чем кислород, донорами (CN^- , NO , N_3^-) метмиоглобин образует комплексы красного цвета.

Придание красного цвета мясу

Стабилизация красного цвета мяса за счет добавления нитрита играет важную роль при производстве мясных продуктов. Вначале нитрит окисляет миоглобин до метмиоглобина:



Выделившийся NO реагирует с миоглобином и метмиоглобином с образованием стабильных и окрашенных в яркий красный цвет комплексов: $MbNO$, MMb^+NO (рис. 2.4):

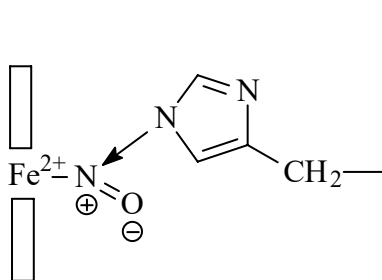


Рис. 2.4. Нитрозилмиоглобин

Восстановители (аскорбиновая кислота, тиолы и др.) значительно ускоряют указанный процесс за счет восстановления нитрита до NO, метмиоглобина до миоглобина. Нитрозилмиоглобин (MbNO) стабилен только в инертной атмосфере. В присутствии кислорода NO окисляется до NO₂.

Красный цвет мяса в присутствии нитрита сохраняется при тепловой обработке за счет накопления денатурированного нитрозилмиоглобина (MbNO) или за счет комплекса гема с двумя молекулами NO (рис. 2.5).

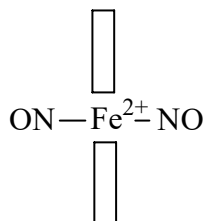
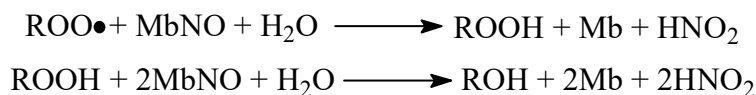


Рис. 2.5. Комплекс гема с двумя молекулами NO

Нитрозилмиоглобин реагирует с пероксидными радикалами жирных кислот с образованием миоглобина и нитрита и, тем самым, может препятствовать окислительной порче мяса. MbNO заново образуется в присутствии восстановителей:



Изменение цвета мяса на коричневый наблюдается при тепловой обработке мяса без нитрита. Это связано с образованием Fe³⁺ [6].

Реакции миоглобина, связанные с изменением цвета мяса, представлены на рис. 2.6.

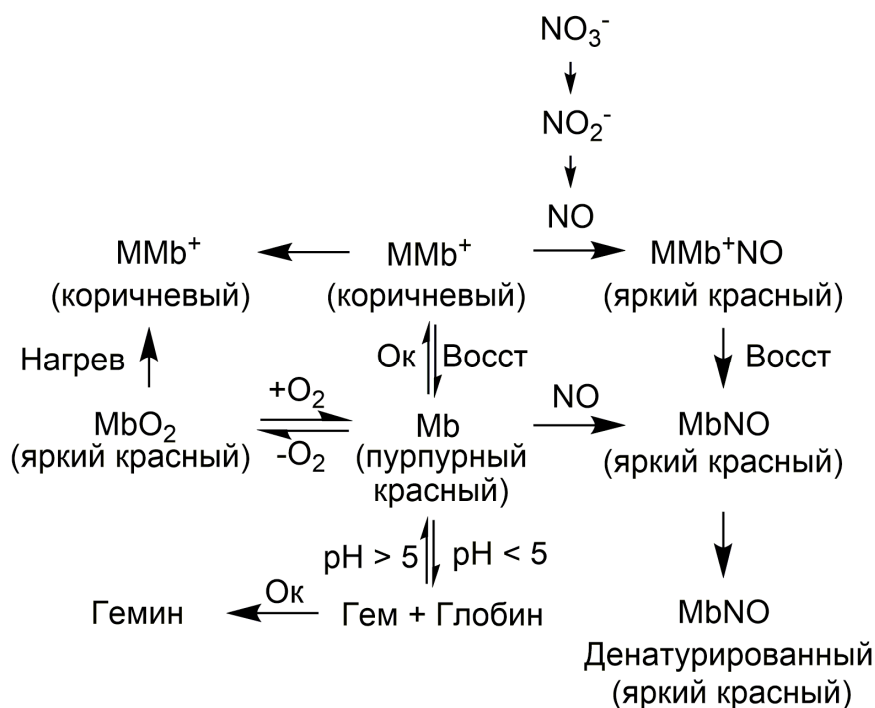


Рис. 2.6. Реакции миоглобина, связанные с изменением цвета мяса

Как было отмечено выше, основной причиной исчезновения красной окраски мяса является окисление миоглобина до коричневого метмиоглобина. Эта же реакция протекает при стабилизации окраски мяса с помощью нитрита, окисляющего двухвалентное железо в миоглобине до трехвалентного. Для ускорения образования устойчивого красного пигмента используются различные соединения, способные восстанавливать трехвалентное железо до двухвалентного и нитрит до NO (например, дитионит натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ или аскорбиновая кислота).

Реактивы и материалы: Свежая говядина (25 г), нитрит натрия (100 мг), дитионит натрия (100 мг), аскорбиновая кислота (100 мг), кубики льда.

Химическая посуда и оборудование: пробирки цилиндрические, пипетки мерные, весы технические, весы лабораторные, водяная баня, лабораторная груша, защитные очки, спектрофотометр Cary 50.

Техника выполнения

25 г мяса помещают в электрический смеситель, добавляют 50 мл воды и два кубика льда. Гомогенизированную смесь центрифугируют при 1000 об/мин в течение 10 мин. Жидкость декантируют в стакан. Если раствор мутный, его необходимо отфильтровать.

Отбирают по 5 мл образца в 12 пробирок и разделяют их на шесть групп по два цилиндра. В первую группу добавляют 30 мг дитионита натрия, во вторую добавок не вносят, в третью добавляют 15 мг нитрита натрия, в четвертую – 50 мг нитрита натрия, в пятую – 30 мг аскорбиновой кислоты, в шестую – 15 мг нитрита натрия и 30 мг аскорбиновой кислоты. Каждую пробирку встряхи-

вают до полного растворения реактивов. Затем из каждой группы отбирают по одной пробирке и помещают на водяную баню при температуре 65-75 °С на 1 час, а другие оставляют при комнатной температуре. Записывают цвет исходного раствора, раствора после внесения добавок и нагревания. По окончании эксперимента записывают электронный спектр поглощения полученных растворов. Определяют максимумы поглощения полученных растворов и сопоставляют с таковыми для разных форм миоглобина (0).

Таблица 2.1

Положение максимумов поглощения различных форм миоглобина

Формы миоглобина	Видимая область		γ - полоса
	β-полоса	α - полоса	
1	2	3	4
Mb (Fe ²⁺)	560		435
MbO ₂ (Fe ²⁺)	542	580	418
MbCO (Fe ²⁺)	540	579	424
MbNO (Fe ²⁺)	543	575	
Mb ⁺ H ₂ O (pH = 6,4) (Fe ³⁺)	630	502	408
Mb ⁺ (OH ⁻) (Fe ³⁺)	585	539	411
Mb ⁺ (CN ⁻) (Fe ³⁺)	540		422
Mb ⁺ (N ₃ ⁻) (Fe ³⁺)	570	540	420
Mb ⁺ (NO) (Fe ³⁺)	572	530	

Контрольные вопросы

1. Строение и аминокислотный состав белков. Пептидная связь.
2. Классификация белков.
3. Функции белков.
4. Структуры белковых молекул.
5. Состав молочного белка.
6. Способы коагуляции белков.
7. Влияние температуры на коагуляцию казеина из молока.
8. На чем основано определение "сырого" протеина в растительном сырье?
9. Миоглобин: строение, свойства, функции.
10. Реакции миоглобина, связанные с изменением цвета мяса.
11. Использование белков в производстве продуктов питания.

3. ЛИПИДЫ

Липиды широко распространены в природе и являются обязательной составной частью рационального питания. К липидам относятся разные по составу и строению соединения (жиры, воски, стерины, стероиды), извлекаемые из природных объектов органическими растворителями, и нерастворимые в воде [2,3,5].

Энергетическая ценность жиров равна 9 ккал/г и вдвое превосходит энергетическую ценность белков и углеводов.

Жиры и масла составляют примерно 95% от общего количества липидов. Вместе с восками они относятся к так называемым простым липидам, состоящим только из атомов углерода, водорода и кислорода. Природные жиры и масла представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и жирных кислот (рис.3.1) [5].

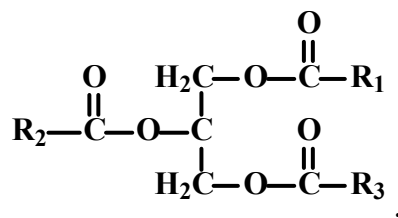


Рис. 3.1. Триацилглицерин
(R₁, R₂ и R₃ - остатки одинаковых или различных жирных кислот)

Термин «жир» обычно используется для обозначения липидов животного происхождения, а термин «масло» - для растительных липидов. Животные жиры присутствуют в мясе, молочных продуктах, яйцах, морских продуктах (рыбий жир). Растительные масла получают в основном из семян растений.

Структурное многообразие жиров в основном обусловлено наличием в их составе различных жирных кислот.

Жирные кислоты являются алифатическими одноосновными карбоновыми кислотами. Жирные кислоты, как правило, содержат неразветвленную цепь из четного числа атомов углерода (4-24, включая карбоксильный углерод) и могут быть насыщенными, ненасыщенными и полиненасыщенными. Наиболее распространенные жирные кислоты представлены в табл. 3.1.

Таблица 3.1

Наиболее распространенные природные жирные кислоты

Кодовое обозначение	Структура	Систематическое название	Тривиальное название
Насыщенные			
C _{4:0}	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	н-Бутановая	Масляная
C _{6:0}	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	н-Гексановая	Капроновая
C _{8:0}	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	н-Октановая	Каприловая
C _{10:0}	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	н-Декановая	Каприновая
C _{12:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	н-Додекановая	Лауриновая
C _{14:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	н-Тетрадекановая	Миристиновая
C _{16:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	н-Гексадекановая	Пальмитиновая
C _{18:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	н-Октадекановая	Стеариновая
C _{20:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	н-Эйкозановая	Арахидиновая
C _{22:0}	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	н-Докозановая	Бегеновая
Мононенасыщенные			
C _{14:1}	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	цис-9-Тетрадеценная	Миристолеиновая
C _{16:1}	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	цис-9-Гексадеценная	Пальмитолеиновая
C _{18:1}	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	цис-9-Октадеценная	Олеиновая
C _{22:1}	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH	цис-13-Докозеновая	Эруковая
Полиненасыщенные			
C _{18:2}	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₂ (CH ₂) ₆ COOH	цис, цис-9,12-Октадекадиеновая	Линолевая
C _{18:3}	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₆ COOH	цис, цис, цис-9,12,15-Октадекатриеновая	Линоленовая
C _{20:4}	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₄ (CH ₂) ₃ COOH	цис, цис, цис, цис-5,8,11,14-Эйкозатетраеновая	Арахидоновая

Большая часть жирных кислот относится к так называемым «эссенциальным жирным кислотам», т.к. они не синтезируются в организме человека.

Сложные липиды, помимо атомов С, Н и О, содержат атомы фосфора, азота, серы. Важнейшими для пищевой промышленности сложными липидами являются фосфолипиды, включающие остаток фосфорной кислоты и аминок спирта или аминокислоты. Наибольшее значение имеет фосфолипид лецитин (рис. 3.2).

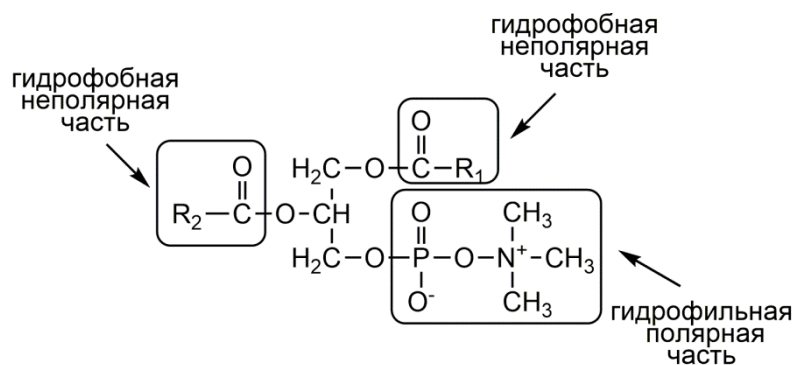


Рис. 3.2. Общая структура лецитина

Поскольку в его состав входят гидрофобные (жирнокислотные) и гидрофильный (фосфатный) фрагменты, он проявляет поверхностно-активные свойства и используется в качестве эмульгатора в майонезе, шоколаде и других продуктах питания. Источником лецитина являются яйца, молоко, сыр и соевое масло.

Определение «сырого» жира в продуктах питания

Метод основан на извлечении жира из продуктов органическими растворителями. Последние экстрагируют из навески продукта не только нейтральные жиры, но и воскообразные вещества, фосфолипиды, смолы, дубильные и красящие вещества. Такой экстракт носит название «сырого» жира.

3.1. Количественное определение жиров в продуктах питания настойным способом

Реактивы и материалы: анализируемые продукты, растворитель для экстракции (серный эфир, бензин, петролейный эфир, ацетон), фильтровальная бумага.

Химическая посуда и оборудование: чашки Петри, стаканы на 100 и 600 мл, мерный цилиндр, аналитические весы, молоток, защитные очки, резиновые перчатки.

Техника выполнения

Экстракция жиров из шоколада

Предварительно измельченные 5 г шоколада помещают в предварительно взвешенный стакан. Записывают общую массу. Добавляют 10 мл органического растворителя и перемешивают 1 мин. Затем аккуратно декантируют растворитель в чашку Петри с известной массой. К оставшейся части снова добавляют 10 мл органического растворителя и повторяют процедуру 5-6 раз. Для удаления растворителя чашку Петри и стакан с шоколадом оставляют на ночь в хорошо проветриваемом помещении или вытяжном шкафу. После этого определяют массу чашки Петри и стакана с шоколадом.

Экстракция жиров из картофельных чипсов и семян подсолнечника осуществляется аналогичным способом.

Количество липидов в продукте определяют по формуле (3.1):

$$\text{количество липидов в продукте} = \frac{\text{убыль массы продукта}}{\text{масс исходного образца}} 100. \quad (3.1)$$

Результаты измерений заносят в табл. 3.2 и 3.3.

Таблица 3.2

Результаты по определению жиров в продуктах

Продукт	Масса исходного образца	Масса образца после обработки ацетоном	Убыль массы продукта	Масса жира в чашке Петри	Количество липидов в продукте, %
Шоколад					
Картофельные чипсы					
Семена подсолнечника					

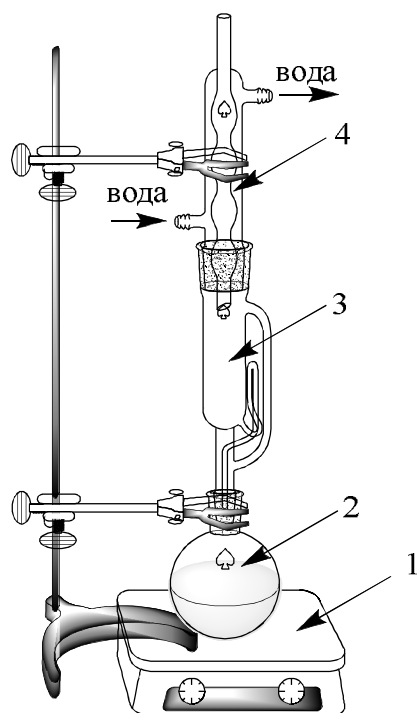
Таблица 3.3

Основные показатели жиров

Продукт	Цвет	Текстура	Запах	Вязкость
Шоколад				
Картофельные чипсы				
Семена подсолнечника				

3.2. Экстракция жиров на аппарате Сокслета

Высушенные до постоянной массы патроны с навеской исследуемого продукта помещают в аппарат Сокслета (0), заливают подходящий для экстракции растворитель. Растворитель вводят в таком количестве, чтобы произошло его сливание из экстрактора в колбу, а в колбе остался бы его избыток в количестве 40-60 мл. Процесс экстрагирования продолжают до 8-10 кратного переливания растворителя из экстрактора в колбу.



- 1 - электрическая плитка;
- 2 - круглодонная колба;
- 3 - аппарат Сокслета;
- 4 - обратный холодильник.

Рис. 3.3. Аппарат Сокслета

Контроль за полнотой извлечения жира из пробы проводят по растворителю, взятому из нижнего шлифа экстрактора и нанесенному на стекло или фильтровальную бумагу. Отсутствие жирного пятна на стекле или бумаге после испарения растворителя свидетельствует о полноте извлечения жира.

По окончании экстракции патроны с оставшейся пробой извлекают из экстрактора, подсушивают на часовом стекле в вытяжном шкафу. Затем патроны помещают в бюксы, в которых они высушивались до экстрагирования, и оставляют в сушильном шкафу при температуре 100-105 °С до установления постоянной массы жира.

Содержание сырого жира X , %, вычисляют по формуле (3.2):

$$X = \frac{(a - b)}{c} 100, \quad (3.2)$$

где a - масса бюкса и патрона с навеской до экстрагирования и высушивания, г;
 b - масса бюкса и патрона с навеской после экстрагирования и высушивания, г;
 c - масса навески исследуемого продукта, г.

Процент сырого жира Y , %, с учетом натуральной влажности определяют по формуле (3.3):

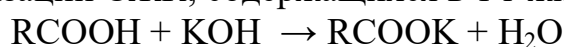
$$Y = \frac{X (100 - ПВ)}{100}, \quad (3.3)$$

где ПП - первоначальная влажность, %.

3.3. Исследование физико-химических свойств пищевых жиров

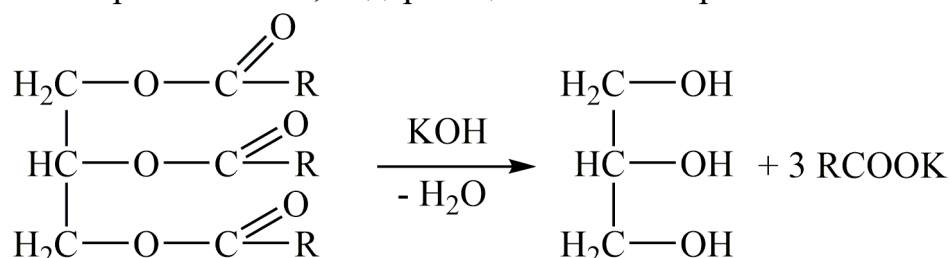
Процессы, происходящие в липидах при их хранении и переработке, характеризуются так называемыми константами, или химическими, или физическими числами жира. Определение этих констант позволяет контролировать не только качество жиров и масел, но и в какой-то степени его натуральность, регулировать технологические режимы получения продуктов. Как факторы регулирования производственных процессов широко используются следующие числа жира: кислотное число, число омыления, эфирное число, йодное и перекисное числа [5].

Кислотное число характеризует присутствие свободных жирных кислот (СЖК) в жире и выражается количеством миллиграммов гидроксида калия, необходимым для нейтрализации СЖК, содержащихся в 1 г жира:



Кислотное число является важнейшим показателем качества пищевых жиров, показывает глубину гидролитического распада и нормируется ГОСТ и техническими условиями. При несоблюдении условий сроков хранения жиров кислотное число увеличивается, что обусловлено в основном гидролизом триацилглицеринов. Кислотное число нерафинированных масел выше, чем рафинированных.

Число омыления характеризует общее число свободных и связанных жирных кислот в жире и выражается количеством миллиграммов гидроксида калия, необходимым для омыления глицеридов и дальнейшей нейтрализации свободных и связанных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира:



Число омыления зависит от молекулярной массы жирных кислот, входящих в глицериды, содержания неомыляемых веществ, СЖК, моно- и диацилглицеринов.

Число омыления совместно с кислотным числом является показателем степени окислительной порчи жира, сопровождающейся накоплением низкомолекулярных кислот.

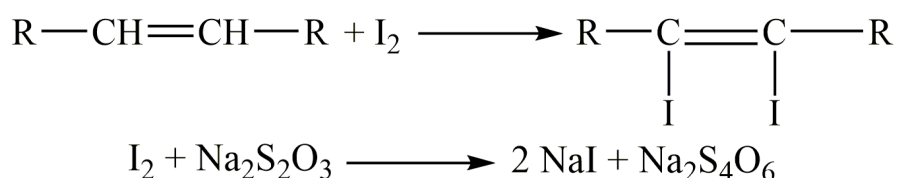
Эфирное число характеризует общее количество сложноэфирных связей в жире и определяется как разность между числом омыления и кислотным числом. Эфирное число выражается количеством миллиграммов гидроксида калия, необходимым для нейтрализации связанных жирных кислот в 1 г жира.

Йодное число, или так называемый коэффициент неопределенности, характеризует степень ненасыщенности жира и выражается количеством йода в граммах, которое требуется для полного насыщения жирных кислот, содержа-

щихся в 100 г жира. По величине этого показателя судят о преобладании в жирах насыщенных или ненасыщенных жирных кислот. Чем выше в жире содержание ненасыщенных жирных кислот, тем выше йодное число.

Йодное число является показателем консистенции сливочного масла и должно учитываться при выборе температурных режимов обработки сливок в процессе их созревания и перемешивания. Определять йодное число сливочного масла необходимо при подозрении на наличие в нем примесей растительных масел.

Метод основан на способности йода присоединяться по кратным связям. Непрореагировавший йод оттитровывают тиосульфатом натрия:



Перекисное число служит количественным показателем присутствия первичных продуктов окисления жиров – пероксидов, т.е. окислительных изменений, происходящих в жирах, и выражается количеством йода (в граммах), выделенного перекисями из 100 г жира.

По величине перекисного числа можно судить о свежести жира задолго до появления неприятного вкуса и запаха. Концентрацию пероксидных соединений в жирах следует контролировать, т.к. они токсичны, способны разрушать жирорастворимые витамины и полиненасыщенные жирные кислоты.

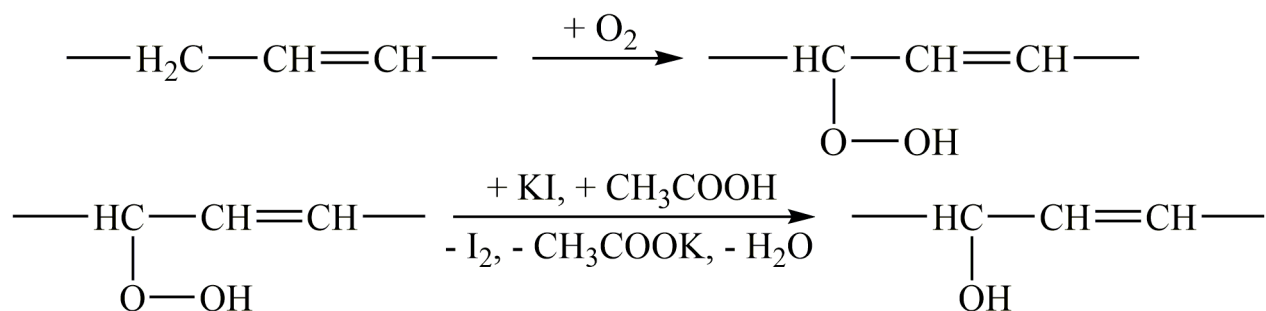
В табл. 3.4 приведены данные зависимости степени окисленности жира от величины перекисного числа.

Таблица 3.4

Зависимость степени окисленности жира от перекисного числа

Перекисное число в 100 г жира	Степень порчи жира
До 0,03	Свежий
0,03...0,06	Свежий, но не подлежит хранению
0,06...0,1	Сомнительной свежести
Более 0,1	Испорченный

Метод определения перекисного числа основан на способности пероксидов в кислой среде окислять йодид калия:



Выделившийся йод оттитровывают тиосульфатом натрия.

Цель работы: освоить методы контроля качества жиров на основе физико-химических показателей.

Реактивы и материалы: 0,1 н; 0,5 н. спиртовые растворы гидроксида калия, спиртово-эфирная смесь (2:1), 1 % спиртовой раствор фенолфталеина, 1 % раствор крахмала (индикатор), 0,1 н. раствор йода, 0,1 н; 0,01 н. растворы тиосульфата натрия, хлороформ, 95 % этиловый спирт, ледяная уксусная кислота (95 %), насыщенный раствор йодида калия, 0,5 н. раствор соляной кислоты, 96 % этиловый спирт, животные и растительные жиры.

Химическая посуда и оборудование: колбы для титрования объемом 100 мл со шлифом, мерные цилиндры, пипетки, капельницы, воздушные холодильники, бюретки, водяные бани.

Техника выполнения

Определение кислотного числа жира. В 4 колбы объемом 100 мл помещают по 1 г жира: в первую колбу свежего животного масла, во вторую – прогорклого животного масла, в третью – растительного масла, в четвертую – растительного масла после жарки. В каждую из этих колб добавляют по 10 мл спиртово-эфирной смеси (2:1) и осторожно растворяют жир при небольшом нагреве. После растворения масла колбы с анализируемой пробой охлаждают до комнатной температуры и вносят в каждую по 1...2 капли спиртового раствора фенолфталеина. Анализируемые растворы осторожно титруют 0,1 н. раствором гидроксида калия до слабо-розового окрашивания. Кислотное число (К.Ч, мг/г) определяют по формуле (3.4):

$$\text{К. Ч.} = \frac{V_{\text{кон}} \cdot 5,61 k}{m}, \quad (3.4)$$

где $V_{\text{кон}}$ – объем 0,1 н. раствора гидроксида калия, пошедшего на титрование навески жира, мл;

5,61 - титр 0,1 н. раствора гидроксида калия, мг/мл;

k - поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора гидроксида калия;

m - навеска жира, г.

По кислотному числу рассчитывают примерное содержание свободных жирных кислот ($T_{\text{жк}}$, %) в жире. Расчет ведут по олеиновой кислоте как наиболее распространенной кислоте в подсолнечном, соевом маслах и кондитерском жире по формуле (3.5):

$$T_{\text{жк}} = \text{К. Ч.} \cdot \frac{282,47 \cdot 100}{56,11 \cdot 1000} = 0,5034 \cdot \text{К. Ч.}, \quad (3.5)$$

где 56,11 – молекулярная масса гидроксида калия;
1000 – коэффициент пересчета в граммы;
100 – коэффициент пересчета в проценты;
0,5034 - коэффициент пересчета на олеиновую кислоту;
282,47 - молекулярная масса олеиновой кислоты.

Определение числа омыления жира. В 4 колбы объемом 100 мл отвешивают на аналитических весах по 0,5 г жира. В первую колбу вносят свежее сливочное масло, во вторую – прогорклое, в третью – растительное, в четвертую – прокаленное растительное масло. Во все колбы добавляют для проведения гидролиза по 10 мл 0,5 н. спиртового раствора гидроксида калия (пипеткой), соединяют их с воздушными холодильниками и ставят в кипящую водяную баню. По истечении одного часа колбы с анализируемыми пробами вынимают из бани, слегка охлаждают и отсоединяют от холодильников. В каждую колбу с теплым раствором добавляют по 1...2 капли раствора фенолфталеина. При этом цвет анализируемого раствора изменяется в розовый из-за присутствия гидроксида калия. Избыток гидроксида калия оттитровывают 0,5 н. раствором соляной кислоты до исчезновения окраски (опыт).

Контрольный опыт проделывают с тем же количеством реагентов. Отбирают пипеткой в коническую колбу 10 мл 0,5 н. спиртового раствора гидроксида калия и оттитровывают его 0,5 н. раствором соляной кислоты в присутствии фенолфталеина. По разности объемов, полученных от титрования опыта и контроля, рассчитывают число омыления (Ч.О, мг/г) по формуле (3.6):

$$\text{Ч. О.} = \frac{(V_k - V_0) K_1 K_2 \cdot 28,055}{m}, \quad (3.6)$$

где V_0 – количество 0,5 н. раствора соляной кислоты, пошедшего на титрование опытного образца, мл;

V_k – количество 0,5 н. раствора соляной кислоты, пошедшего на титрование контрольного образца, мл;

m – навеска масла, г;

K_1, K_2 – поправочные коэффициенты к титру растворов гидроксида калия и соляной кислоты соответственно;

28,055 – титр раствора гидроксида калия, мг/мл.

Сравнивают полученные в ходе эксперимента результаты со стандартными данными. Число омыления подсолнечного масла – 189,9...190,6; пальмового масла – 196...210; соевого масла – 191,6...192,1; сливочного масла – 220...230.

Число омыления косвенно характеризует среднюю молекулярную массу смеси жирных кислот: чем больше в жире содержится низкомолекулярных кислот, тем выше число омыления. На основании числа омыления расчетным путем определяют среднюю молекулярную массу триацилглицеринов ($M_{\text{ТАГ}}$) и

среднюю молекулярную массу смеси жирных кислот ($M_{\text{ЖК}}$), входящих в состав исследуемого жира, по формулам (3.7) и (3.8):

$$M_{\text{ТАГ}} = \frac{3 \cdot 56,11 \cdot 1000}{\text{Ч. О.}} ; \quad (3.7)$$

$$M_{\text{ЖК}} = \frac{M_{\text{ТАГ}} - 38,01}{3} . \quad (3.8)$$

Определение эфирного числа жира. Определение эфирного числа жира (Э. Ч, мг/г) вычисляют по формуле (3.9):

$$\text{Э.Ч.} = \text{Ч.О.} - \text{К.Ч.} \quad (3.9)$$

На основании эфирного числа рассчитывают процентное содержание триацилглицеринов ($T_{\text{ТАГ}}$, %) и связанного глицерина (Γ , %) в жире по формулам (3.10) и (3.11):

$$T_{\text{ТАГ}} = \frac{M_{\text{ТАГ}} \cdot \text{Э.Ч.}}{3 \cdot 56,11 \cdot 1000} ; \quad (3.10)$$

$$\Gamma = \frac{92,10 \cdot \text{Э.Ч.} \cdot 100}{3 \cdot 56,11 \cdot 1000} = 0,0547 \cdot \text{Э.Ч.} , \quad (3.11)$$

где 92,10 – молекулярная масса глицерина;
56,11 – молекулярная масса гидроксида калия;
3 – основность глицерина.

Определение йодного числа жира. В 4 плоскодонные колбы взвешивают на аналитических весах по 0,1 г жира. В первую колбу вносят свежее сливочное масло, во вторую - прогорклое, в третью – растительное, в четвертую – прокаленное растительное масло. Во все колбы вносят по 10 мл смеси этилового спирта и хлороформа (10:1) для растворения навески и слегка подогревают на водяной бане. После охлаждения вносят пипеткой по 20 мл 0,1 н. раствора йода и оставляют полученные растворы в темном месте на 5...10 минут. Растворы оттитровывают 0,1 н. раствором тиосульфата натрия до перехода коричневой окраски в желтую. Затем добавляют индикатор – 1% раствор крахмала и продолжают титрование до исчезновения фиолетовой окраски (опыт).

Контрольный опыт делают с теми же реагентами, вместо масла в колбу вместимостью 100 мл вносят воду, 20 мл 0,1 н. раствора йода, 10 мл смеси этилового спирта и хлороформа и титруют 0,1 н. раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала. Йодное число (Й.Ч, г/100г) вычисляют по формуле (3.12):

$$\text{Й. Ч.} = \frac{(V_k - V_0) K \cdot 0,01269 \cdot 100}{m}, \quad (3.12)$$

где V_k – количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольного образца, мл;

V_0 – количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование опытного образца, мл;

0,01269 - титр 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, мг/мл;

m – навеска жира, г;

K – поправочный коэффициент к титру 0,1 н раствора тиосульфата натрия.

Определение перекисного числа жира. На аналитических весах в 4 колбы взвешивают по 1 г жира. В первую колбу вносят свежее сливочное масло, во вторую - прогорклое, в третью – растительное, в четвертую – прокаленное растительное масло. Жир расплавляют на водяной бане и по стенке, смывая следы жира, вливают 10 мл спирта и 10 мл ледяной уксусной кислоты. Затем вносят 0,5 мл свежеприготовленного раствора йодида калия. Смесь тщательно перемешивают и оставляют на 3 минуты в темном месте.

Через 3 минуты в колбу вливают 5 мл воды, в которую заранее было добавлено 2...3 капли 1% раствора крахмала и титруют выделившийся 0,01 н. раствором тиосульфата натрия до исчезновения синей окраски (опыт).

Для проверки чистоты реактивов проводят контрольный опыт аналогичным способом, только без жира (вместо жира вносят 1 мл воды). К 10 мл спирта и 10 мл ледяной уксусной кислоты добавляют 0,5 мл раствора йодида калия, 1 мл воды и оттитровывают полученную смесь в присутствии крахмала 0,01 н. раствором тиосульфата натрия. Перекисное число (П.Ч, г/100г) испытуемого жира определяют по формуле (3.13):

$$\text{П. Ч.} = \frac{(V_0 - V_k) K \cdot 0,00127 \cdot 100}{m}, \quad (3.13)$$

где V_k – количество 0,01 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольного образца, мл;

V_0 – количество 0,01 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование опытного образца, мл;

0,00127 - титр 0,01 н. раствора тиосульфата натрия, мг/мл;

m – навеска жира, г;

k – поправочный коэффициент к титру 0,01 н. раствора тиосульфата натрия.

Определяют степень порчи жира, сравнив результаты анализа с данными табл. 3.4.

По результатам анализа делают заключение о качестве исследуемых жиров, оценить степень их окисленной порчи, результаты оформляют в виде табл. 3.5.

Таблица 3.5

Экспериментальные данные о качестве жиров

Показатели жира	Номер образца			
	1	2	3	4
Кислотное число, К.Ч, мг/г				
Содержание свободных жирных кислот, Т _{ЖК} , %				
Число омыления, Ч.О, мг/г				
Содержание триацилглицеринов, Т _{ТАГ} , %				
Средняя молекулярная масса триацилглицеринов, М _{ТАГ}				
Средняя молекулярная масса жирных кислот, М _{ЖК}				
Эфирное число, Э.Ч, мг/г				
Процентное содержание жирных кислот, Т _{ЖК} , %				
Перекисное число, П.Ч, г/100 г				
Йодное число, Й.Ч, г/100 г				

Контрольные вопросы

1. Строение липидов.
2. Классификация жирных кислот.
3. Фосфолипиды: строение, свойства.
4. Определение «сырого» жира в продуктах питания.
5. Методы определения жиров в продуктах питания.
6. Основные числа жира, характеризующие процессы, происходящие в липидах при их хранении и переработке.

4. ВИТАМИНЫ И ПРОВИТАМИНЫ

Витамины (от лат. *vita* – жизнь) – группа низкомолекулярных органических соединений различной химической природы, объединенных по признаку абсолютной необходимости для осуществления жизненно важных биохимических процессов человека, животных, некоторых растений и микроорганизмов [2,3,5].

К витаминам не относятся неорганические соли и микроэлементы, необходимые для жизни. Ряд незаменимых аминокислот (лизин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, треонин, триптофан, валин, аргинин и гистидин) также не принято относить к витаминам.

В настоящее время известно более 30 групп веществ, которые могут быть отнесены к витаминам. Они делятся на жирорастворимые (А, D, Е, К, Q, F) и водорастворимые (В₁, В₂, В₃, В₆, РР, С и т.д.) [3,8].

Природные соединения, не являющиеся витаминами, но легко превращающиеся в них в организме, называют провитаминами. Такими примерами являются каротины и витамин А, стерины и витамин D.

Отсутствие или недостаток в организме витаминов вызывает гиповитаминозы (в случае длительного недостатка витаминов) и авитаминозы (в случае отсутствия или резко выраженного дефицита витаминов) соответственно.

Недостаток одного витамина называют моногиповитаминозом, нескольких – полигиповитаминозом. При гиповитаминозах наблюдается утомляемость, потеря аппетита, раздражительность, нестойкость к заболеваниям, кровоточивость десен. При авитаминозах проявляются болезни, вызванные значительным дефицитом витаминов (бери–бери, цинга, пеллагра и др.). Основная причина нехватки витаминов в организме человека – недостаточное их поступление с пищей (первичные, экзогенные авитаминозы), однако в отдельных случаях наблюдаются эндогенные или вторичные авитаминозы, связанные с нарушением процессов усвоения витаминов в организме [9].

4.1. Определение каротина в пищевых продуктах

При выделении жиров из масличного сырья в масло переходит большая группа сопутствующих им жирорастворимых соединений: стероиды, пигменты, витамины и др. Эти соединения играют большую роль в пищевой технологии, влияя на пищевую и физиологическую ценность получаемых продуктов питания. Среди жирорастворимых пигментов наиболее распространены каротиноиды и хлорофиллы.

Каротиноиды – это растительные красно-желтые пигменты, придающие окраску многим овощам, фруктам, желтку яиц и др. К ним относятся углеводороды состава C₄₀H₅₆, каротины и их кислородсодержащие производные. Наиболее важным из них является β-каротин.

Каротиноиды обладают провитаминами свойствами: в живом организме они превращаются в витамин А (0). Молекула β-каротина образует две молекулы витамина А.

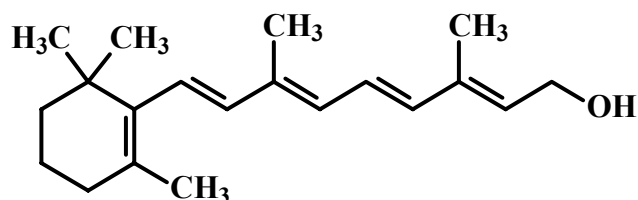


Рис. 4.1. Витамин А (ретинол)

Витамин А нерастворим в воде, но растворяется в жирах и жировых растворителях. Он участвует во многих биохимических процессах, особенно связанных с функционированием мембран клеток.

Содержание витаминов в некоторых пищевых продуктах показано в табл. 4.1 [10].

Таблица 4.1

Содержание витаминов в пищевых продуктах

Пищевой продукт	Содержание витаминов на 100 г съедобной части продукта		
	β -каротин (мг)	витамин С (мг)	витамин В ₁₂ (мкг)
<i>Молоко и молочные продукты:</i>			
- коровье молоко	0,018	1,7	0,4
- человеческое молоко	0,003	6,5	0,05
- сыр	0,29	0,5	3,0
- сливочное масло	0,38	0,2	-
<i>Куриные яйца:</i>			
- яичный желток	0,29	0,3	2,0
- яичный белок	-	0,3	0,1
<i>Мясо и мясные продукты:</i>			
Говядина	-	5	3
Свинина	0,006	-	0,8
Печень	-	35	40
Рыба (селедка)	0,04	0,5	8,5
<i>Злаковые и злаковые продукты:</i>			
Пшеница	0,02	-	-
Рожь	-	-	-
Кукуруза	0,17	-	-
Рис	-	-	-
<i>Овощи:</i>			
Свекла	0,01	10	-
Томаты	0,59	25	-
Чеснок	-	10	-
Капуста поздняя	-	45	-

Картофель	0,05	17	-
Морковь	12	7,1	-
<i>Фрукты:</i>			
Яблоки	0,05	12	-
Лимон	0,01	40	-
Апельсин	0,01	50	-

Реактивы и материалы: раствор азобензола или бихромата калия, 5 %-й раствор КОН, этиловый спирт или ацетон, бензин или петролейный эфир, дистиллированная вода, обезвоженный сульфат натрия, измельченное стекло или прокаленный песок, бумажный фильтр.

Химическая посуда и оборудование: мерная колба объемом 1000 см³, фарфоровая ступка, коническая колба с притертой пробкой, делительная воронка, термометр, водяная баня, электроплитка, адсорбционная колонка с оксидом магния или алюминия, фотоэлектроколориметр ФЭК-М.

Техника выполнения

Приготовление стандартных растворов

Стандартная шкала из чистого каротина очень редко используется, так как химически чистый каротин получается с большими трудностями. Кроме того, он быстро окисляется кислородом воздуха и становится непригодным для колориметрирования. Поэтому для построения калибровочных графиков используют имитирующие растворы более стойких реактивов - раствор азобензола или раствор бихромата калия.

Раствор азобензола

Вместо чистого каротина для приготовления стандартного раствора в последнее время применяют раствор чистого азобензола в 96 %-м этиловом спирте с концентрацией 145 мг/л. Такой раствор азобензола по интенсивности окраски совпадает с раствором каротина в бензине ($T_{\text{кип}} = 70...80 \text{ }^\circ\text{C}$) с концентрацией 2,35 мг/л.

Раствор бихромата калия

Иногда стандартный раствор готовят на основе бихромата калия. Интенсивность окраски раствора бихромата калия - 360 мг трижды перекристаллизованного в 1 л воды - соответствует окраске раствора, содержащего 2,08 мг каротина в 1 л воды.

4.1.1. Определение каротина в плодах, овощах и консервах

Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика готовят стандартный раствор азобензола или бихромата калия, а из него - серию рабочих растворов, у которых измеряют экстинкцию (оптическую плотность) при длине волны 450 нм (при исследовании петролейно-эфирных растворов каротина) или 465 нм (при исследовании хлороформных растворов каротина). По этим данным строят калибровочный график, по оси абсцисс которого откладывают концентрацию азобензола или бихромата калия, соответствующую концентрации каротина, а по оси ординат - экстинкцию раствора.

Определив экстинкцию испытуемого раствора, по графику находят соответствующее показанию прибора содержание каротина в миллиграммах на 1 мл.

Первый способ

Каротин извлекают из растительного масла после обезвоживания его спиртом или ацетоном, а затем омыляют вещества, перешедшие в экстракт, спиртовым раствором щелочи. Повторно извлекают каротин, фильтрат пропускают через адсорбционную колонку и затем определяют интенсивность окраски фильтрата.

Навеску от 1 до 50 г подготовленной средней пробы (в зависимости от содержания каротина) растирают в фарфоровой ступке с небольшим количеством промытого и прокаленного песка или измельченного стекла.

Растертую пробу в ступке обезвоживают, приливая пятикратное количество спирта или ацетона, растирают, а затем экстрагируют каротин, добавляя порциями по 20...30 мл бензина ($T_{кип} = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$) или петролейного эфира ($T_{кип} = 55...70\text{ }^{\circ}\text{C}$). Смесь снова растирают, экстракт фильтруют через бумажный фильтр, не перенося осадка на фильтр. Экстрагирование и фильтрование проводят до тех пор, пока последние порции экстракта не станут бесцветными.

Отфильтрованный экстракт переносят в делительную воронку, добавляют несколько миллилитров дистиллированной воды для разделения слоев: верхний - бензиновый, нижний - водно-спиртовой или ацетоновый.

Нижний водно-спиртовой или ацетоновый слой сливают в другую делительную воронку и промывают дважды бензином или петролейным эфиром порциями по 10 мл.

Эти вытяжки присоединяют к остальному фильтрату, переносят в колбу и концентрируют до объема 20...30 мл на водяной бане при температуре не более 50 °С, лучше под вакуумом.

К экстракту добавляют приблизительно равный объем 5 %-го спиртового раствора КОН и омыляют в колбе на водяной бане с обратным холодильником при температуре 80-85 °С в течение 1 часа. После омыления раствор переносят в делительную воронку, туда же прибавляют несколько миллилитров воды для разделения слоев. Смесь взбалтывают и от спиртового слоя отделяют бензино-

вый слой, который затем в делительной воронке промывают 8-10 раз дистиллированной водой до полного удаления спирта.

Отмытый от спирта бензиновый экстракт переносят в колбу и сушат обезвоженным сульфатом натрия при взбалтывании до исчезновения мутности, затем отфильтровывают и концентрируют до объема 5...10 мл.

Сконцентрированный экстракт пропускают при небольшом разрежении (насос пускают не сильно) через адсорбционную колонку, наполненную оксидом магния или оксидом алюминия.

Во избежание окисления каротина кислородом воздуха верхний столбик адсорбента должен быть покрыт бензином. Каротин, адсорбированный на колонке, элюируют петролейным эфиром или бензином, пропуская эти растворители через адсорбент до тех пор, пока при выходе из колонки они не станут бесцветными.

Полученный элюат собирают в мерную колбу, доводят объем жидкости до метки петролейным эфиром или бензином и колориметрируют на фотоэлектроколориметре ФЭК-М в сравнении со стандартным раствором азобензола или бихроматом калия.

При исследовании бензиновых или петролейно-эфирных растворов каротина пользуются светофильтром с максимальной адсорбцией при длине волны 450 нм, а для хлороформных растворов - 465 нм.

Второй способ

Вначале проводят омыление исследуемого продукта, затем экстрагирование каротина, адсорбцию и колориметрирование. Навеску измельченного продукта от 1 до 50 г растирают в ступке, переносят в колбу, прибавляют 20...40 см³ 5 %-го раствора спиртовой щелочи, омыляют в течение 0,5..1 часа. Дальнейший ход анализа аналогичен ходу анализа, применяемому в первом способе.

Третий способ (сокращенный)

В том случае, если анализируемый продукт не содержит жир, омыление исключается. Ход анализа аналогичен ходу анализа, применяемому в первом способе.

Полученные экстракты промывают водой, сушат над серноокислым натрием, концентрируют до малых объемов, пропускают через колонку с адсорбентом и колориметрируют. При определении каротина в моркови можно исключить применение адсорбционной колонки, так как в моркови содержится незначительное количество других каротиноидов, мало влияющих на результат определения.

4.1.2. Определение каротина в сухом растительном материале (овощи, плоды, ягоды, пищевые концентраты и другие продукты)

Навеску измельченного продукта берут в количестве от 2 до 10 г, каротин извлекают бензином или петролейным эфиром без предварительной обработки спиртом.

Полученные экстракты сгущают до объема 20-30 мл и омыляют спиртовым раствором КОН. Дальнейший ход анализа аналогичен ходу анализа, применяемому при исследовании свежих плодов и овощей. Содержание каротина (X , мг %), в исследуемом продукте рассчитывают по формуле (4.1):

$$X = \frac{a M}{A} 100, \quad (4.1)$$

где a - количество каротина в 1 мл исследуемого раствора; найденное по калибровочному графику;

M - масса исследуемого раствора с учетом всех разведений, г;

A - навеска вещества, г.

4.2. Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в плодах и овощах

Аскорбиновая кислота (рис. 4.2) представляет собой γ -лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты [2]. Она содержит группировку «редуктона» [-C(OH)=C(OH)-CO], способную легко окисляться с образованием дегидроаскорбиновой кислоты, и имеет необычную для углеводов L-конфигурацию хирального центра.

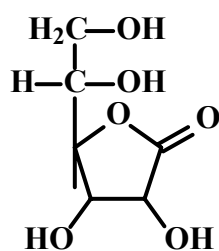


Рис. 4.2. L-аскорбиновая кислота

Аскорбиновая кислота является сильным восстановителем и участвует во многих биохимических процессах транспорта электронов. Образующаяся при ее окислении дегидроаскорбиновая кислота легко восстанавливается специальной редуктазой.

Главными природными источниками витамина С являются свежие овощи и фрукты, но довольно много его и в животных тканях, так как большинство животных могут синтезировать этот витамин [10]. Исключение составляют только некоторые птицы, морские свинки, обезьяны и человек, нуждающийся в

ежедневном поступлении 25 - 75 мг аскорбиновой кислоты. В промышленности аскорбиновую кислоту получают химическим путем. Содержание витамина С в некоторых растительных продуктах приводится в табл. 4.1.

При определении аскорбиновой кислоты используется ее реакция с окрашенным 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия, который при восстановлении образует бесцветное соединение - 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия, имеет синюю окраску в щелочной и розовую в кислой среде.

Реактивы и материалы: проба анализируемого продукта, 2 %-й раствор соляной кислоты, 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия.

Химическая посуда и оборудование: фарфоровая ступка, мерный цилиндр, коническая колба объемом 25 - 50 мл, бюретка, технические весы.

Техника выполнения

Приготовление стандартного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия

Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4) в количестве 0,91 г растворяют в 100 мл воды. Моногидрофосфат натрия ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) в количестве 0,12 г растворяют в 100 мл воды.

Растворы хранят отдельно. Для приготовления буферной смеси полученные растворы смешивают перед применением в соотношении $\text{KH}_2\text{PO}_4:\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 2:3$. Проверяют величину рН буферного раствора, которая должна составлять 6,9.. 7,0.

Отвешивают 0,025 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, приливают 70 мл воды, взбалтывают и добавляют 30 мл буферного раствора. На следующий день раствор перемешивают и отфильтровывают. Такой раствор хранят в холодильнике не более 10 дней.

Перед использованием необходимо установить нормальность или титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия по стандартному раствору аскорбиновой кислоты.

Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в плодах и овощах

5 - 15 г продукта растирают в ступке и добавляют 45 мл 2 %-го раствора соляной кислоты. Содержимое ступки фильтруют в коническую колбу. 15 мл фильтрата титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до слабо-розового окрашивания, удерживающегося не менее 30 секунд.

Массовую долю витамина С (X,%) в исследуемом образце вычисляют по формуле (4.2):

$$X = \frac{M_{\text{экв}} \cdot V_1 \cdot N_{\text{инд}} \cdot V_{\text{инд}}}{m_{\text{обр}} \cdot V_2} 100 , \quad (4.2)$$

где $M_{\text{экв}}$ – молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты (88 г экв/моль);

V_1 - объем водной вытяжки с пробой продукта, л;

$N_{\text{инд}}$ – нормальность раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, взятого на титрование, N (определяется перед проведением эксперимента);

$V_{\text{инд}}$ - объем 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедший на титрование, мл;

V_2 - количество водной вытяжки, взятой для титрования, мл;

$m_{\text{обр}}$ - навеска, мг.

В случае большого расхода раствора для титрования количество водной вытяжки, взятой для титрования, можно уменьшить.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятию «витамин». Классификация витаминов.
2. Какие вещества не относятся к витаминам?
3. Последствия недостатка витаминов в организме человека.
4. Каротиноиды: строение, свойства.
5. Методы определения β -каротина в пищевых продуктах.
6. Основные природные источники витамина С. Строение аскорбиновой кислоты.
7. На чем основан метод определения витамина С?

5. ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Дубильные вещества – группа фенольных соединений растительного происхождения с молекулярной массой от 500 до 30 000 Да, содержащих большое количество гидроксильных групп [11, 12]. Они способны поглощаться кожей с образованием труднопроницаемой для воды и газов массы, т. е. превращать недубленую шкуру в дубленую кожу.

Дубильные вещества содержатся в коре, древесине, листьях, плодах (иногда семенах, корнях, клубнях) многих растений — дуба, каштана, акации, ели, лиственницы, тсуги канадской, эвкалипта, чая, какао, гранатового дерева, черёмухи, хурмы и других [13].

Дубильные вещества обладают массой полезных свойств: антибактериальных, антиоксидантных, кровоостанавливающих, противовоспалительных, ранозаживляющих, противодиарейных [14-17]. Активно применяются для выведения солей тяжелых металлов, токсинов. Танины подавляют рост патогенных для многих растений микроорганизмов, защищают растения от поедания животными [18].

Дубильные вещества легко растворимы в воде (некоторые образуют коллоидные растворы), имеют сильно вяжущий вкус, дают с солями окиси железа черное или зеленое окрашивание, с солями свинца - нерастворимые осадки, вызывают коагуляцию белковых веществ.

Дубильные вещества подразделяют на две группы [8,9]:

1) гидролизуемые, т.е. способные присоединять воду под действием кислот или особых энзимов (например, танназы) и распадаться на соединения с меньшим молекулярным весом. Основа гидролизуемых дубильных веществ - сложные эфиры галловой кислоты или родственных ей дигалловой и тригалловой кислот с многоатомным спиртом. Примеры таких соединений представлены на рис. 5.1;

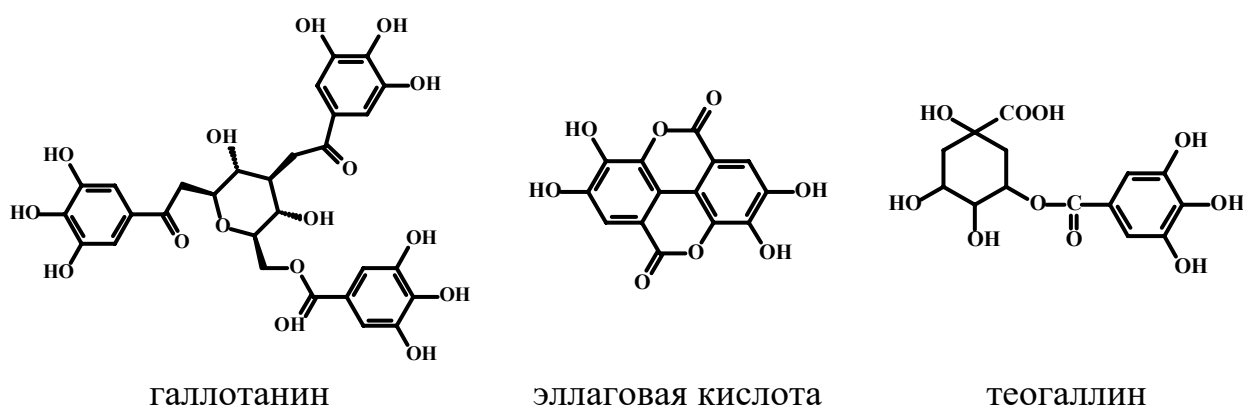


Рис. 5.1. Примеры гидролизуемых танинов

2) конденсированные (негидролизуемые), т.е. неспособные подвергаться гидролитическому расщеплению. Конденсированные дубильные вещества представляют собой производные флавоноидов, главным образом, димеры 3,4-

флавандиола или 3-флаванола. Примеры таких соединений представлены на рис. 5.2.

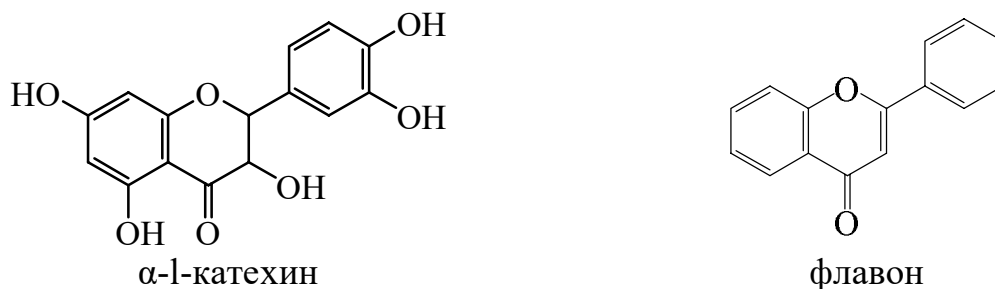


Рис. 5.2. Примеры конденсированных танинов

5.1. Определение дубильных и красящих веществ в растительном сырье

Содержание дубильных и красящих веществ является показателем качества свежих плодов и овощей. Большое значение они имеют при переработке: от них зависит терпкий, вяжущий вкус, яркость и привлекательность окраски. Установлено, что при повышенном содержании этих веществ растения более устойчивы к болезням. Нежелательные изменения окраски при переработке плодов и овощей (потемнение нарезанных плодов, окрашивания сиропов и заливок) связаны с ферментативным окислением и реакциями с солями металлов этой группы веществ.

В основу качественной реакции на дубильные вещества положено их свойство давать с солями Fe^{3+} черно-синее или черно-зеленое окрашивание. Обычно применяют 3 - 5 %-й раствор хлорного железа, к 5... 10 мл которого в пробирке прибавляют небольшое количество сока плодов (по каплям). По появлению и интенсивности окрашивания судят о наличии и количестве дубильных веществ.

Метод количественного определения дубильных и красящих веществ (по Нейбауэру и Левенталю) основан на способности их окисляться в кислой среде перманганатом калия. Но этим реактивом окисляются и некоторые другие вещества. Поэтому окисляют сначала все вещества, способные реагировать с KMnO_4 , а затем дубильные вещества отделяют, пользуясь их свойством адсорбироваться активированным углем, и снова проводят окисление. По разности количества перманганата, пошедшего на окисление в первый и второй раз, рассчитывают количество дубильных и красящих веществ.

Реактивы и материалы: исследуемый продукт, 0,1 н. раствор KMnO_4 , серная кислота (1:4), раствор индигокармина, активированный уголь, фильтровальная бумага.

Химическая посуда и оборудование: мерная колба объемом 200 или 250 мл, стеклянные стаканы объемом 100 и 250 мл, термометр, стеклянная воронка,

установка для титрования, электроплитка, фарфоровая чашка или химический стакан объемом 200 мл, технические весы, водяная баня.

Техника выполнения

Приготовление первичной вытяжки

В химический стакан из измельченной средней пробы берут навеску 2,5 г с точностью 0,01 г и без потерь переносят в мерную колбу объемом 25 или 50 мл. Остатки вещества на стенках стакана, воронки и горлышка смывают струей дистиллированной воды из промывалки. Содержимое должно занимать $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{4}$ объема колбы. В колбу опускают термометр и ставят на водяную баню, нагревают до 80 °С и выдерживают в этих условиях 10 - 15 минут. Потом снимают колбу с бани, вынимают термометр, омывают его дистиллированной водой в колбу. Колбу охлаждают до комнатной температуры (под струей водопроводной воды), доводят водой до метки, взбалтывают и оставляют в покое на 5 минут, чтобы осели на дно нерастворимые частицы, которые при фильтрации будут забивать фильтр. Фильтруют в сухую колбу или стакан емкостью 100 мл.

Окисление первичной вытяжки

Окисление всех веществ, способных окисляться (в том числе дубильных и красящих) проводят при титровании KMnO_4 . Титрование проводят в фарфоровой чашке или химическом стакане емкостью 200 мл, в который прибавляют 2 мл первичной вытяжки, 2 мл раствора индигокармина в качестве индикатора, 1 мл раствора H_2SO_4 (1:4) и 95 мл воды. При постоянном круговом перемешивании содержимого чаши (стакана) стеклянной палочкой добавляют из бюретки по каплям 0,01 н. раствор KMnO_4 . Окраска из синей переходит через зеленоватую к желтой. Титрование считают законченным, когда прибавляемые капли раствора перманганата калия оставляют не желтый, а красный цвет, а общий оттенок жидкости остается без изменения.

Приготовление вторичной вытяжки адсорбированием дубильных и красящих веществ

Из первичной вытяжки отбирают пипеткой 4 мл и переносят в мерную колбу на 10 мл, добавляют 0,5 - 1 г активированного угля и перемещают в горячую водяную баню на 10 - 15 минут. Затем колбу снимают с бани, охлаждают водой, доводят до метки и фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу или стакан.

Окисление вторичной вытяжки

В колбу на 200 мл берут 5 мл фильтрата вторичной вытяжки и 2 мл раствора индигокармина, 1 мл H_2SO_4 (1:4) и 92 мл воды. Титруют аналогично первой вытяжке. При этом титровании перманганат расходуется на окисление веществ, кроме дубильных и красящих (адсорбированных углем).

Результаты первого и второго титрования соизмеримы, т.к. относятся к 2 мл первоначальной вытяжки (во второй раз взятые 4 мл первоначальной вытяжки разведены до 10 мл, из них взято на титрование половина, т.е. 5 мл). Содержание дубильных веществ вычисляют по формуле (5.1):

$$X = \frac{(V_1 - V_2) T \cdot 0,0004157 \cdot V_0}{m V_3}, \quad (5.1)$$

где X - содержание дубильных и красящих веществ, %;

V_1 - объем 0,1 н. раствора KMnO_4 , пошедший на первое титрование, мл;

V_2 - объем 0,1 н. раствора KMnO_4 , пошедший на второе титрование, мл;

V_0 - общий объем водной вытяжки, мл; m - навеска образца, г;

V_3 - объем водной вытяжки, взятой на титрование (2 мл);

T - поправка к титру 0,1 н раствора KMnO_4 ;

0,004157 - коэффициент пересчета миллилитров раствора KMnO_4 на граммы дубильных веществ (1 мл 0,01 н раствора KMnO_4 окисляет 0,004157 г дубильных и красящих веществ).

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятию «дубильные вещества».
2. Природные источники дубильных веществ.
3. Полезные свойства дубильных веществ.
4. Классификация дубильных веществ.
5. Роль дубильных веществ в продуктах питания.
6. На чем основан метод определения дубильных веществ в растительном сырье?

6. ВОДА

Вода – самое важное вещество для всего живого на Земле. Она - участник всех биохимических процессов, протекающих в живых организмах. Вода является главным компонентом многих продуктов питания [5]. В воде, как среде, протекают химические реакции, и она является непосредственным участником в гидролитических процессах. Поэтому, удаление воды из продуктов питания или связывание ее за счет увеличения содержания в продуктах солей или сахаров замедляет и ингибирует рост микроорганизмов, тем самым увеличивая срок хранения продуктов питания. За счет физического взаимодействия с белками, полисахаридами, липидами и солями, вода влияет на текстуру продуктов питания [3].

Количество воды в продуктах может колебаться в пределах от 0,1 до 99 масс.%. В продуктах питания вода содержится в двух основных формах: в свободной и в виде гидроксилсодержащих соединений (спиртов, фенолов и др.) [4].

Для анализа содержания воды широко используют термогравиметрический и спектральный методы. В отдельных случаях применяют и другие методы, например, метод Дина-Старка и титрометрию.

6.1. Определение массовой доли влаги в продуктах

6.1.1. Термогравиметрический метод

Реактивы и материалы: образцы исследуемых продуктов.

Химическая посуда и оборудование: фарфоровые чашки, весы технические с точностью взвешивания до 0,01 г, сушильный шкаф, эксикатор.

Техника выполнения

В чистую, сухую, взвешенную фарфоровую чашку помещают предварительно хорошо размельченную навеску исследуемого продукта в количестве 3...5 г. Массу чашки с продуктом вновь взвешивают и помещают в сушильный шкаф с температурой 100...120 °С на один час, после чего чашку с продуктом вынимают из шкафа, охлаждают в эксикаторе и взвешивают на тех же весах.

Повторно ставят взвешенные чашки с продуктом в шкаф на 30 минут, вновь вынимают, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Расхождение между результатами взвешивания не должны превышать 0,05 г, в противном случае процесс сушки необходимо продолжить.

Для увеличения точности эксперимента проводят два параллельных опыта.

По результатам работы рассчитывают содержание сухих веществ (СВ,%) в анализируемом продукте по формуле (6.1) и содержание в нем влаги (X, %) по формуле (6.2):

$$СВ = \frac{m_1}{m_2} 100, \quad (6.1)$$

где m_1 - масса навески после сушки, г;
 m_2 - масса навески до сушки, г.

$$X = 100 - СВ \quad . \quad (6.2)$$

По каждому из параллельных опытов рассчитывают указанные показатели, а затем среднее арифметическое значение СВ и X.

6.1.2. Метод Дина-Старка

Сущность данного метода заключается в отгонке воды, входящей в состав продукта, в виде азеотропной смеси с ароматическими растворителями и последующем разделении и измерении объема воды в градуированном приемнике.

Реактивы и материалы: образец продукта, толуол или ксилол.

Химическая посуда и оборудование: круглодонная колба, обратный холодильник, градуированный приемник, фарфоровая ступка, колбообогреватель, технические весы.

Техника выполнения

Собирают установку, изображенную на рис.6.1. Через внутреннюю трубку холодильника пропускают медную проволоку, нижний конец которой образует спираль малого диаметра с тем, чтобы она могла свободно перемещаться внутри холодильника.

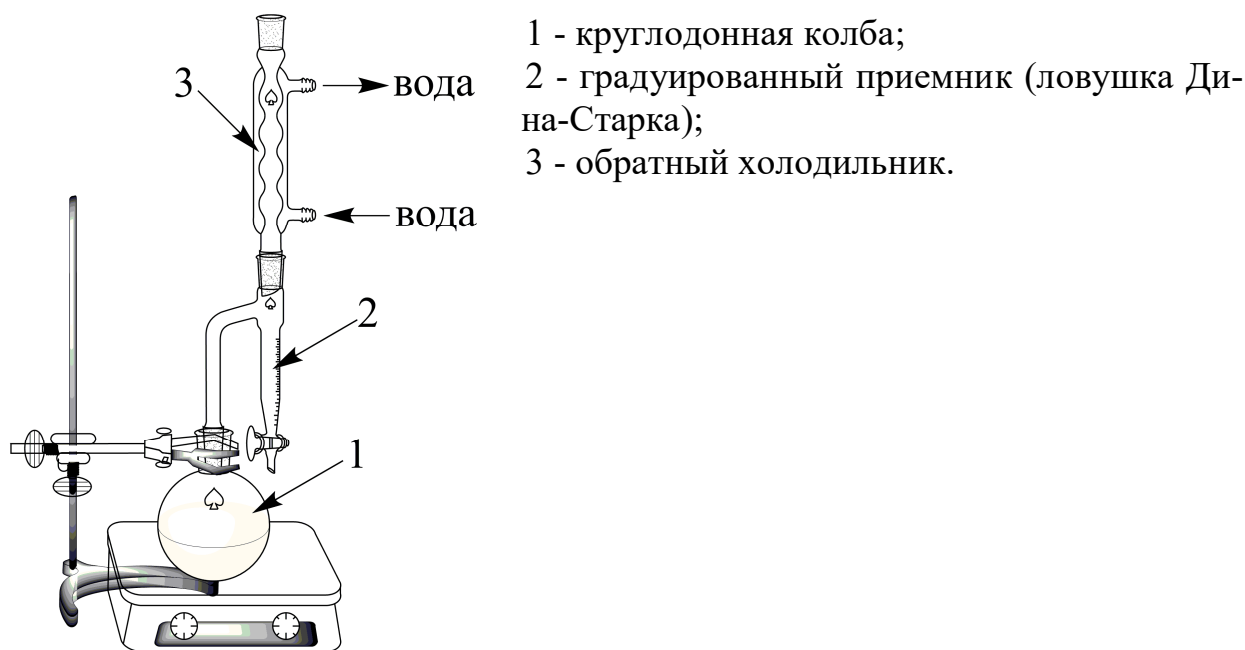


Рис. 6.1. Установка для отгонки

В круглодонную колбу (поз. 1) помещают 20...25 г анализируемого продукта. Перед загрузкой продукт тщательно растирают в фарфоровой ступке, разводят водой (1...2 мл) до пастообразного состояния и количественно переносят в колбу, ополаскивая чашку растворителем (100 мл).

Приемник (поз. 2) заполняют растворителем, приливая его до тех пор, пока растворитель не начнет перетекать из приемника в перегонную колбу. Холодильник (поз. 3) можно закрыть хлоркальциевой трубкой. Содержимое колбы нагревают так, чтобы скорость отгонки составляла 180...200 капель в минуту. Нагревание прекращают, когда уровень воды в приемнике не поднимается в течение 5...8 минут. Проволочной спиралью, перемещая ее вверх и вниз несколько раз, удаляют прилипшие к внутренней стенке холодильника и верхней части приемника капли воды и смывают их через верх холодильника 5 мл растворителя. Выдерживают приемник до полного расслоения жидкостей (около 15 - 20 минут), пока слой растворителя не станет прозрачным, измеряют объем выделившейся воды и ее температуру. Содержание воды X , %, вычисляют по формуле (6.3):

$$X = \frac{(V_2 - V_1) \rho}{m} 100 , \quad (6.3)$$

где V_2 - объем воды в приемнике, мл;

V_1 - объем воды, внесенный в анализируемый продукт при подготовке пробы к работе (1 - 2 мл), мл;

ρ - плотность воды при температуре измерения объема, г/мл;

m - навеска, г.

Контрольные вопросы

1. Вода в пищевых продуктах: виды, функции.
2. Методы определения содержания воды в пищевых продуктах.

7. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Минералы - вещества, которые остаются после сжигания растительных и животных тканей в виде золы [2]. Минеральные вещества являются составной частью структурных элементов клеток и тканей, и без них существование человека невозможно. Они участвуют в важнейших обменных процессах - водно-солевом, кислотно-щелочном, во многих ферментативных реакциях [5].

Минеральные вещества делят на главные (макроэлементы), следовые (микроэлементы) и ультра-следовые элементы [5,10].

Главные элементы (Na, K, Ca, Mg, Cl, P, S) необходимы организму человека в количестве > 50 мг/день. Следовые элементы (Fe, I, F, Zn, Se, Cu, Mn, Cr, Mo, Co, Ni, Ba) необходимы в количестве < 50 мг/день. Биохимическая роль главных и следовых элементов установлена. Ультра-следовые элементы (Al, As, Bi, B, Br, Cd, Cs, Ge, Hg, Li, Pb, Rb, Sb, Si, Sm, Sn, Sr, Tl, Ti, W) – элементы, необходимость в которых доказана экспериментами над животными в течение нескольких поколений.

Главные и следовые элементы выполняют разнообразные функции в организме человека, например, функции электролитов, компонентов ферментов и строительных материалов в костях и зубах [3].

В табл. 7.1 приведен примерный минеральный состав продуктов питания. Минеральный состав одного сырья может сильно изменяться в зависимости от генетических и климатических факторов, сельскохозяйственных процедур, состава почвы, степени созревания собранного урожая и многих других факторов. Это правило применимо как к главным, так и следовым элементам [10].

Таблица 7.1

Примерный минеральный состав некоторых продуктов питания

Продукт питания	Na	K	Ca	Fe	P
<i>Молочные продукты:</i>					
Коровье молоко	48	157	120	0,046	92
Сливочное масло	5	16	13	0,02–0,2	21Ch
Сыр	669	120	600	0,17	385
<i>Куриные яйца:</i>					
желток	51	138	140	7,2	590
белок	170	154	11	0,2	21
<i>Мясо:</i>					
Говядина	66	342	5,7	2,6	190
Свинина	69	397	5	1,0	192

<i>Рыба:</i>					
Сельдь	117	360	34	1,1	250
Угорь	65	259	17	0,9	334
<i>Злаковые:</i>					
Пшеница	7,8	381	33	3,3	341
Рожь	3,8	530	37	2,8	337
Кукуруза	6	294	8	1,5	213
<i>Овощи:</i>					
Картофель	3,2	418	6,4	0,43	50
Морковь	60	321	37	0,39	35
Томат	3,3	242	9,4	0,3	22
<i>Фрукты:</i>					
Яблоко	1,2	122	5,8	0,25	12
Апельсин	1,4	165	42	0,19	23
Абрикос	2	278	16	0,65	21

Изменения в минеральном составе также протекают при переработке сырья в продукты питания, например, при термической обработке или сепарации.

Потребление пищи не является достаточным для пополнения организма человека минеральными веществами. Первичным фактором является биодоступность минеральных веществ, которая определяется составом продуктов питания. Редокс потенциал и значение рН определяют степень окисления, растворимость и, как следствие, абсорбцию минеральных веществ в организме человека. Компоненты пищи, такие как белки, пептиды, аминокислоты, полисахариды, сахара, лигнин, фитин и органические кислоты, связывают минеральные вещества и усиливают или ингибируют их абсорбцию.

Важность минеральных веществ, как компонентов пищи, определяется не только их физиологической и питательной ролями. Они влияют на запах пищевых продуктов, ингибируют реакции, в том числе, катализируемые ферментами, изменяют текстуру продуктов питания.

7.1. Определение золы и ее щелочности в плодах и овощах

В золе плодов и овощей преобладают элементы щелочного характера, поэтому включение плодов и овощей в рацион питания необходимо для компенсации элементов кислотного характера, таких как хлеб, крупы, мясные и рыбные продукты [10]. Принцип определения щелочности золы - титриметрический.

7.1.1. Определение содержания золы в продукте

Реактивы и материалы: образцы исследуемых плодов или овощей, 0,1 н. растворы соляной кислоты и гидроксида натрия, насыщенный раствор хлорида кальция, 1 %-й раствор фенолфталеина.

Химическая посуда и оборудование: коническая колба, фарфоровый тигель, электроплитка, аналитические весы, сушильный шкаф, муфельная печь, установка для титрования.

Техника выполнения

В высушенный до постоянной массы и предварительно взвешенный с точностью до 0,001 г фарфоровый тигель берут навеску исследуемого продукта (0,5 - 1,0 г), который предварительно высушен до постоянной массы. Можно брать навеску сырого материала в количестве 3...5 г, но в этом случае он должен быть высушен перед озолением до постоянной массы в тигле.

Озоление проводят осторожно на плитке, не допуская воспламенения продукта и образования копоти, так как ее частицы могут улетучиться, что приведет к неточности результатов анализа. Обугленный остаток несколько раз обрабатывают горячей дистиллированной водой, жидкость фильтруют через беззольный фильтр. Фильтрат собирают в конической колбе, а фильтр с осадком переносят в тот же тигель, высушивают, вновь озоляют, после чего снова прокаливают в муфельной печи. Зола должна быть светло-серого цвета без обугленных частиц. К полученной золе приливают ранее собранный в колбе фильтрат, выпаривают на водяной бане, высушивают в сушильном шкафу и прокаливают при температуре 400...450 °С, не допуская сплавления золы. После этого тигель охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

7.1.2. Определение щелочности золы

Работу начинают с перенесения золы в коническую колбу, последовательно промывая тигель с золой дистиллированной водой, не допуская потерь. Затем в колбу добавляют 20...30 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты и нагревают до слабого кипения в течение одной минуты. После охлаждения в раствор добавляют несколько капель насыщенного раствора хлористого кальция для осаждения фосфорной кислоты, 2...3 капли 1%-го раствора фенолфталеина в качестве индикатора и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до появления устойчивой, не исчезающей в течение минуты розовой окраски.

Щелочность золы выражается объемом 0,1 н. раствора щелочи (мл) в расчете на 100 г продукта.

7.2. Определение зольности муки

Сущность метода заключается в сжигании муки с последующим определением массы несгораемого остатка.

Реактивы и материалы: мука хлебопекарная.

Химическая посуда и оборудование: муфельная печь, технические весы, эксикатор, 2 стеклянные пластинки, совочки, 2 тигля.

Техника выполнения

Подготовка пробы к анализу

Из пробы, предназначенной для испытания, выделяют 20...30 г продукта, переносят на стеклянную пластинку и двумя плоскими совочками смешивают. Затем продукт разравнивают, придавливают другим стеклом такого же размера с тем, чтобы он распределился ровным слоем толщиной 3...4 мм.

Удалив верхнее стекло, отбирают не менее чем из 10 разных мест две навески массой по 1,5...2,0 г в предварительно прокаленные до постоянной массы и охлажденные в эксикаторах тигли.

Проведение анализа

Взвешенные тигли с навесками помещают у дверцы муфельной печи (или на дверцу, если она открывается), нагретой до 400...500 °С и обугливают навеску, не допуская воспламенения продуктов сухой перегонки. После прекращения выделения продуктов сухой перегонки тигли задвигают в муфельную печь и закрывают дверцу, затем муфельную печь нагревают до 600...900 °С. Озоление ведут до полного исчезновения черных частиц, пока цвет золы не станет белым или слегка сероватым.

После охлаждения в эксикаторе тигли взвешивают, затем вторично прокаливают в течение не менее 20 минут. Озоление считают законченным, если масса тиглей с золой после повторного взвешивания изменилась не более чем на 0,0002 г. Если же масса тиглей с золой уменьшилась более чем на 0,0002 г, прокаливание повторяют. В случае увеличения массы тиглей с золой после повторного прокаливания берут меньшее значение массы.

Зольность X , %, в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле (7.1):

$$X = \frac{m_3}{m_H (100 - W)} 100 \quad (7.1)$$

где m_3 - масса золы, г;

m_H - масса навески муки, г;

W - влажность муки, %.

Вычисления проводят до третьего десятичного знака. За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 0,025 %.

Контрольные вопросы

1. Минеральные вещества: понятие, функции.
2. Классификация минеральных веществ.
3. Факторы, влияющие на изменение минерального состава продуктов питания.
4. Чем определяется важность минеральных веществ, как компонентов пищи?
5. Принцип определения щелочности золы.
6. Сущность метода определения зольности муки.

8. НИТРАТЫ И НИТРИТЫ

Нитраты и нитриты — химические неорганические соединения, попадающие в организм с пищей, водой, соками и молоком. Нитраты образуются и в нашем собственном организме, выполняя роль антимикробного агента в слюне, а также участвуя в работе сердечно-сосудистой системы, регулируя кровяное давление.

Нитраты и нитриты традиционно используются при производстве мясных полуфабрикатов. Благоприятным эффектом от добавления нитратов и нитритов к мясным продуктам является улучшение качественных характеристик, а также микробиологической безопасности. Нитраты и нитриты в основном ответственны за развитие отчетливого вкуса, стабильность красного цвета, а также защиту от окисления липидов в мясных продуктах. Нитриты проявляют важную бактериостатическую и бактерицидную активность против нескольких бактерий, вызывающих порчу, а также пищевых патогенов, обнаруженных в мясных продуктах. Нитриты предотвращают рост и выработку токсинов *Clostridium botulinum* [19]. Поэтому их часто применяют в производстве нестерилизованных мясных продуктов для предотвращения их заражения *Clostridium botulinum* и, как следствие, против накопления их токсинов. Активность нитратов и нитритов зависит от pH и пропорциональна уровню свободной HNO_2 . 5-20 мг нитрита на килограмм продукта достаточно для сохранения красного цвета мяса, 50 мг/кг — для придания характерного вкуса и 100 мг/кг — для достижения антимикробного эффекта. Высокая токсичность нитрита была найдена только при высоких концентрациях последнего (образование метгемоглобина). Проблемой при использовании нитрита является возможность образования нитрозаминов - канцерогенов, способных вызывать рак желудка [20].

Однако, несмотря на 40 лет интенсивных исследований, так и не удалось установить прямую связь между количеством потребляемого нитрата или нитрита и раком желудка [21]. В опубликованном в 2001г. в США докладе, посвященном токсикологии и канцерогенным свойствам NO_2^- , говорится, что доказательства канцерогенной активности нитрита в количествах, не вызывающих метгемоглобинемию, отсутствуют [22]. Таким образом, если применять нитрит в дозах, необходимых для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, риск возникновения рака минимален.

Нанотехнологические исследования тоже не обошли стороной нитрит. Нанотехнологии занимаются созданием систем, которые позволяли бы контролировать скорость выделения оксида азота (II) из какого-либо его источника. А им может служить, например, нитрит натрия — твердое и дешевое вещество, пригодное для изготовления имплантантов. В качестве наноплатформ специалисты рекомендуют применять, в частности, композитный материал гидрогель-стекло или нитритсодержащие стекла. Платформы второго типа содержат углеводы (вещества нетоксичные и не вызывающие нежелательных эффектов) — невосстанавливающие дисахариды (трегалозу или сахарозу) с добавками восстанавливающих моносахаридов (глюкозы или тагатозы). В результате реакции нитрита с восстанавливающим сахаром образуется оксид азота (II), который

выделяется из сухой матрицы при ее взаимодействии с водой и проявляет свой мощный антимикробный эффект [21].

В настоящее время считается, что нитрат, содержащийся в зеленых листовых овощах, является важным источником оксид азота (II), образующегося по маршруту нитрат-нитрит-NO. Такой нитрат оказывает благотворное влияние на сердечно-сосудистую систему (кровеное давление, тромбоциты, эндотелиальную функцию, митохондриальную эффективность). Установлено [23], что нитрат является важным компонентом «здоровых диет», таких как диета DASH для снижения кровяного давления и средиземноморская диета, способствующих снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний. Всемирный фонд исследования злокачественных опухолей опубликовал данные о том, что овощи с высоким содержанием нитратов, прежде всего шпинат и салат, снижают риск развития рака рта, глотки, гортани, пищевода и желудка. Овощная пища с высоким содержанием нитратов рекомендована космонавтам, отправляющихся в долгосрочные космические полеты [23].

Допустимая суточная доза нитратов для человека принимается равной 300 - 325 мг (ср. 312,5 мг). Допустимые нормы содержания нитратов в пищевых продуктах приведены в табл. 8.1 (согласно СанПиН № 42-123-4619-88).

Таблица 8.1

Допустимые нормы содержания нитратов
в пищевых продуктах (мг NO₃⁻/кг)

Продукт	Норма	Продукт	Норма
Картофель	250	Лук репчатый	80
Капуста белокочанная ранняя (до 1.09)	900	Лук-перо	600
Капуста белокочанная поздняя	500	Листовые овощи (салат, петрушка, укроп и др.) в открытом грунте	2000
Морковь ранняя (до 1.09)	400	Листовые овощи в защищенном грунте	3000
Морковь поздняя	250	Перец сладкий в открытом грунте	200
Томаты в открытом грунте		Перец сладкий в защищенном грунте	400
Томаты в защищенном грунте	150	Дыни	90
Огурцы в открытом грунте	300	Арбузы	60

Огурцы в защищенном грунте	150	Яблоки, груши	60
Свекла столовая	1400	Виноград столовых сортов	60

8.1. Определение содержания нитратов и нитритов в пищевых продуктах

Одним из оперативных лабораторных методов контроля содержания нитратов в пищевых продуктах является ионометрический метод. Сущность определения нитратов ионометрическим методом состоит в извлечении их из анализируемого материала раствором алюмокалиевых квасцов $KAl(SO_4)_2$ и последующем измерении концентрации ионов NO_3^- в полученной вытяжке ионоселективным электродом.

Метод применим для анализа сырого растительного сырья, которое не содержит ионы Br^- , I^- . Допускается применение электрода в средах, которые образуют легко смываемые осадки, при условии его периодической промывки. Температура анализируемой среды может находиться в интервале от 5 до 50 °С.

Предел определения нитратов в сухой пробе 300 мг/кг, во влажной - 24 мг/кг; чувствительность метода - 6 мг/л. Относительная погрешность метода (сходимость результатов) - 12 %, воспроизводимость результатов - 16 %.

Реактивы и материалы: экстрагирующий раствор - 1 %-й водный раствор алюмокалиевых квасцов $KAl(SO_4)_2$, стандартные растворы нитрата калия KNO_3 или нитрата натрия $NaNO_3$ - 0,1 М, 0,01 М, 0,001 М, 0,0001 М; эти растворы используются для проверки работоспособности ионоселективного электрода и построения калибровочного графика.

Химическая посуда и оборудование: иономер ИПЛ-311; измерительный электрод – ионоселективный нитратный электрод типа ЗМ- NO_3 -01, ЭИМ-1, ЭИМ-11 и т.п.; электрод сравнения - хлорсеребряный типа ЭВЛ-1МЗ.

Техника выполнения

Подготовка пробы продукта

Пробу продукта (картофель, свекла, морковь и др.) массой 40...50 г тщательно моют водой и обсушивают чистой тканью. От каждого корнеплода в направлении от вершины к основанию отрезают 1/4 - 1/3 часть. Выделенную пробу измельчают на пластмассовой терке до получения однородной массы, которую тщательно перемешивают.

10 г измельченного образца продукта взвешивают с точностью $\pm 0,1$ г, помещают в стакан гомогенизатора, приливают 50 мл 1 %-го раствора $KAl(SO_4)_2$ и гомогенизируют в течение 1 минуты при числе оборотов 6000 $мин^{-1}$. При отсутствии гомогенизатора образец можно растереть в фарфоровой ступке с кварцевым песком или толченым стеклом. Доведенную до однородного состояния

пробу переносят с помощью 50 мл раствора алюмокалиевых квасцов в химический стакан и встряхивают там в течение 5 минут.

Настройка иономера

Для проверки работоспособности электродов перед началом измерений нитратный электрод помещают на 10 минут в дистиллированную воду и обсушивают фильтровальной бумагой. Затем нитратный и хлорсеребряный электроды погружают поочередно в три стандартных раствора KNO_3 ($NaNO_3$) с концентрациями $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$, $1 \cdot 10^{-1}$ и измеряют величины потенциалов E (э.д.с.), заносят их в табл. 8.2 и строят графики зависимости $E = f[NO_3^-]$ и $E = f(pNO_3)$, ($pNO_3 = -\log[NO_3^-]$) в программе Excel.

Таблица 8.2

Калибровка нитратного электрода

Концентрация нитрита, М	pNO_3	ЭДС, мВ
$1 \cdot 10^{-5}$	5	
$1 \cdot 10^{-4}$	4	
$1 \cdot 10^{-3}$	3	
$1 \cdot 10^{-2}$	2	
$1 \cdot 10^{-1}$	1	

При использовании универсального иономера ИПЛ-311 необходимо придерживаться следующего порядка работы:

- подсоединить к соответствующим гнездам измерительный и вспомогательный электроды, проверить надежность заземления иономера. Включить иономер в электрическую сеть;
- промыть электроды 2...3 раза дистиллированной водой, осторожно удалить остатки воды чистой и сухой фильтровальной бумагой;
- опустить электроды в стаканчик со стандартным раствором KNO_3 ($NaNO_3$), который имеет наименьшую концентрацию;
- измерить и записать величину ЭДС (мВ). Для этого надо перевести иономер ИПЛ 311 в режим измерения ЭДС нажатием клавиши «ввод» (в верхнем левом углу должен мигать значок «E», см. инструкцию к прибору);
- после измерения надо выйти в исходное меню иономера;
- снять стаканчик с раствором с поворотного столика и повторить операции, измеряя при этом величину ЭДС серии стандартных растворов KNO_3 ($NaNO_3$) в порядке возрастания их концентрации. Провести не менее 3-х параллельных измерений величины ЭДС для серии стандартных растворов KNO_3 ($NaNO_3$);
- по построенному графику $E = f(pNO_3)$ или аналитическим способом вычислить крутизну характеристики ионоселективного электрода по формуле (8.1):

$$S_t = \Delta E / \Delta pNO_3 \text{ (мВ/} pNO_3 \text{)} \quad (8.1)$$

Для работоспособного электрода типа 3М-NO₃-01 величина крутизны характеристики должна составлять не менее 90 % от расчетного значения, которое вычисляется по формуле (8.2):

$$S_t = -(54,2 + 0,2 \cdot t_p), \text{ мВ/рNO}_3, \quad (8.2)$$

где t_p - температура раствора, °С.

Внимание! При работе на иономере необходимо очень осторожно обращаться с электродами.

Нитратный электрод имеет линейную функцию в диапазоне $\text{рNO}_3 = 1 \dots 4$ с крутизной $+ 50 \dots - 60$ мВ на 1 рNO_3 . Если характеристика электрода отличается от заданной, то электрод находится в нерабочем состоянии или требуется провести настройку иономера по стандартным растворам (см. инструкцию по работе с иономером).

Измерение величины рNO_3 исследуемого раствора

Измерительные электроды тщательно промывают дистиллированной водой, высушивают фильтровальной бумагой и опускают в подготовленный раствор (суспензию) анализируемого продукта. Снимают показания иономера и по калибровочному графику вычисляют рNO_3 .

Для расчета массовой доли нитратов в исследуемом продукте используют данные, приведенные в табл. 8.3. Она составлена для продуктов с содержанием влаги 70...80 % (картофель, морковь, свекла, лук-репка).

Таблица 8.3

Определение массовой доли нитратов по величине рNO_3

рNO_3	1,60	1,65	1,70	1,75	1,80	1,85	1,90	1,95	2,00	2,05
$C_{\text{NO}_3^-}$, мг/кг	9033	8050	7175	6375	5699	5079	4527	4035	3596	3205
рNO_3	2,10	2,15	2,20	2,25	2,30	2,35	2,40	2,45	2,50	2,55
$C_{\text{NO}_3^-}$, мг/кг	2856	2546	2269	2022	1802	1606	1432	1276	1137	1013
рNO_3	2,60	2,65	2,70	2,75	2,80	2,85	2,90	2,95	3,00	3,05
$C_{\text{NO}_3^-}$, мг/кг	903	805	717	639	570	508	453	403	360	320
рNO_3	3,10	3,15	3,20	3,25	3,30	3,35	3,40	3,45	3,50	3,55
$C_{\text{NO}_3^-}$, мг/кг	286	255	227	202	180	161	143	128	114	101
рNO_3	3,60	3,65	3,70	3,75	3,80	3,88	3,90	3,95	4,00	4,05
$C_{\text{NO}_3^-}$, мг/кг	90,3	80,5	71,7	63,9	57,0	50,8	45,3	40,3	36,0	32,0

В выводе по работе необходимо дать заключение о соответствии содержания нитратов в исследованном продукте требованиям СанПиН № 42-123-4619-88.

Контрольные вопросы

1. Основные источники нитратов и нитритов.
2. Роль нитратов и нитритов в пищевых продуктах.
3. Влияние нитратов и нитритов на организм человека.
4. Сущность метода определения нитратов в пищевых продуктах.

9. ЭТАНОЛ

Этанол (этиловый спирт) содержится в продуктах по двум причинам:

- этанол в той или иной форме входит в состав продуктов по рецептуре (коньяк в конфетах и других кондитерских изделиях, спирт в настойках и т.д.);
- этиловый спирт в продуктах выделяется в процессе брожения (кисломолочные продукты, квас, натуральные забродившие соки и фрукты, квашеная капуста и проч.) [24-26].

Содержание этилового спирта в некоторых продуктах переработки, например, в моченых яблоках, нормируется стандартами, а в свежих плодах и овощах накопление спирта свидетельствует о развитии анаэробных процессов при хранении, например, в полиэтиленовой упаковке [4].

9.1. Определение содержания этилового спирта в плодах и овощах бихроматным методом

Для определения малых количеств этилового спирта используется бихроматный метод. Он основан на окислении спирта бихроматом калия в уксусной кислоте в присутствии серной кислоты. Бихромат калия берется в избытке, и та часть его, которая не прореагирует со спиртом, окисляет прибавленный в смесь в качестве реактива йодид калия до йода. Количество же выделившегося йода, соответствующее непрореагировавшему количеству бихромата калия, определяется титрованием тиосульфатом натрия.

Реактивы и материалы: образцы плодов, овощей или соков, 0,2 н. раствор бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$), концентрированная серная кислота (H_2SO_4), йодид калия (KI), 0,1 н. раствор тиосульфата натрия ($Na_2S_2O_3$), 1%-й раствор крахмала.

Химическая посуда и оборудование: установки для титрования и перегонки, мерная колба объемом 100 мл, конические колбы, стеклянная палочка.

Техника выполнения

Размельченную навеску анализируемого продукта массой 10 г или объем сока 10 мл переносят без потерь в перегонную колбу емкостью не менее 300 мл. Химический стакан и пипетку ополаскивают дистиллированной водой. Перегонку ведут через водяной холодильник, собирая отгон в мерную колбу объемом 100 мл. Отгонку заканчивают, когда сборная колба наполнится до метки.

Затем в малой конической колбе проводят реакцию окисления спирта. В нее вносят 1 мл 0,2 н. раствора бихромата калия, 5 мл концентрированной серной кислоты, перемешивают и приливают по каплям, постоянно взбалтывая колбу, 1 мл отгона. Колбу с реакционной смесью накрывают часовым стеклом и нагревают на электроплитке с асбестовой сеткой до слабого кипения в течение 10 минут.

После этого количественно переносят раствор в большую коническую колбу, омывая малую коническую колбу и часовое стекло дистиллированной водой (все водные смывы вводятся в большую коническую колбу). Объем раствора в большой колбе должен быть около 30 мл. Сюда же вносят 0,1 г йодистого калия и, закрыв колбу пробкой, ждут окончания реакции 2 минуты. Выделившийся йод титруют 0,1 н. раствором тиосульфата натрия. В конце титрования, когда вытяжка приобретает желтый цвет, в колбу вносят в качестве индикатора 5...7 капель 1 %-го раствора крахмала. Титрование заканчивают, когда синяя окраска раствора перейдет в изумрудно-зеленую.

Содержание этилового спирта X , %, вычисляют по формуле (9.1):

$$X = 0,00115 (V_1 T_1 - V_2 T_2) 100, \quad (9.1)$$

где V_1 - объем 0,2 н. раствора бихромата калия, взятого для реакции, мл;

T_1 - поправка к титру 0,2 н. раствора бихромата калия (умножается на 2 для пересчета на 0,1 н. раствор);

V_2 - количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, затраченного на титрование, мл;

T_2 - поправка к титру 0,1 н. раствора тиосульфата натрия;

0,00115 - коэффициент пересчета объема раствора бихромата калия на 1 г спирта.

Приготовление реактивов 0,2 н. раствора бихромата калия $K_2Cr_2O_7$

0,981 г перекристаллизованного бихромата калия растворяют в воде, доводя объем до 100 мл в мерной колбе.

0,1 н. раствор тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$

2,5 г $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ растворяют в прокипяченной и охлажденной дистиллированной воде. Добавляют 0,2 г соды, доводят объем до 100 мл и хранят в бутылки из темного стекла.

Титр проверяют по 0,1 н. раствору $KMnO_4$.

Контрольные вопросы

1. Причины содержания этанола в продуктах питания.
2. На чем основан метод определения этилового спирта в пищевых продуктах?

10. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Важную роль в понимании биохимических процессов пищеварения, предупреждения и лечения некоторых болезней при разработке новых полноценных продуктов питания имеют данные об их энергетической и пищевой ценности [5, 27].

Эти показатели должны также учитываться при составлении сбалансированных рационов питания для различного контингента населения. Поэтому в соответствии с современными требованиями этикетирования энергетическая и пищевая ценность пищевых продуктов обязательно должны указываться на упаковке готовых продуктов питания.

Энергетическая ценность характеризует ту долю энергии, которая может высвободиться из пищевых продуктов в процессе биологического окисления и использоваться для обеспечения физиологических функций организма.

Зная химический состав пищевых продуктов, можно рассчитать энергетическую ценность по формуле (10.1):

$$\mathcal{E} = 4,0 \cdot B + 9,0 \cdot Ж + 4,0 \cdot У + k \cdot K_{\text{кис}}, \quad (10.1)$$

где \mathcal{E} - энергетическая ценность пищевого продукта, ккал/100 г;

B - масса белка в 100 г продукта, г;

Ж - масса жира в 100 г продукта, г;

У - масса углеводов в 100 г продукта, г;

$K_{\text{кис}}$ - массовая доля органической кислоты в 100 г продукта, г;

4,0; 9,0; 4,0; k - коэффициенты энергетической ценности соответственно белков, жиров, углеводов и органических кислот, входящих в состав продукта, ккал/г (табл. 10.1).

Таблица 10.1

Коэффициенты энергетической ценности основных нутриентов
продуктов питания

Пищевые вещества	Коэффициент энергетической ценности, ккал/г
Белки	4,0
Жиры	9,0
Углеводы «по разности»	4,0
Сумма моно- и дисахаридов	3,8
Крахмал, определенный экспериментально	4,1
Клетчатка	0,0
Органические кислоты:	
уксусная	3,5
яблочная	2,4
молочная	3,6
лимонная	2,5

Суточная физиологическая потребность человека в энергии зависит от многих факторов: образа жизни, физической активности, климата, пола и возраста. Для России общая потребность среднего жителя в энергии составляет 2500 ккал в сутки (или 25...35 ккал/кг массы тела). Она складывается из энергетических затрат на поддержание физиологических процессов, выполнение социальных функций и может быть рассчитана по формуле (10.2):

$$\text{ПЭ} = \text{ВОО} \cdot \text{КФА}, \quad (10.2)$$

где ПЭ — потребность организма в энергии, ккал/сут;
ВОО — величина основного обмена, ккал/сут;
КФА — коэффициент физической активности (1 ...7,9).

Важнейшей частью затрат энергии являются энергозатраты на основной обмен (около 60...70 %). Эта минимальная энергия, необходимая для осуществления дыхания, кровообращения, работы желез внутренней секреции и других жизненно важных процессов, измеряется у человека в состоянии полного физического покоя. При нормальном телосложении ВОО соответствует 1 ккал/ч на 1 кг массы тела у мужчин, 0,9 ккал/ч - у женщин и зависит от возраста, роста человека. Уравнение Харриса - Бенедикта позволяет рассчитать ВОО у мужчин, начиная с 10-летнего возраста и женщин любого возраста (10.3):

$$\text{ВОО} = 66,5 + 13,5 \cdot \text{Масса (кг)} + 5,0 \cdot \text{Рост (см)} - 6,75 \cdot \text{Возраст (лет)} \quad (10.3)$$

Биологическая ценность обусловлена главным образом наличием незаменимых факторов питания, не синтезируемых в организме или синтезируемых в ограниченном количестве и с малой скоростью, и определяется как процент удовлетворения суточной физиологической потребности человека в незаменимых аминокислотах.

Пищевая ценность - понятие, отражающее всю полноту полезных свойств пищевого продукта, включая степень обеспечения физиологических потребностей человека в основных пищевых веществах, энергии, и органолептические свойства.

Расчетная физиологическая потребность в основных пищевых веществах и энергии приведена в табл. 10.2 и составлена для условного «среднего» человека с учетом «Норм физиологической потребности в пищевых веществах и энергии» (1991 г.) и рекомендаций ВОЗ [5].

Расчетная физиологическая потребность человека
в основных пищевых веществах и энергии

Пищевое вещество	Суточная потребность
Витамины:	
В ₁ мг	1,5
В ₂ , мг	1,8
РР (на ниациновый эквивалент), мг	20
В ₆ , мг	2,0
В ₉ , мкг	200
В ₁₂ , мкг	3
Д, мкг	5
А (на ретиноловый эквивалент), мкг	1000
Е (на токофероловый эквивалент), мкг	10
С, мг	70
Энергетическая ценность, ккал/100 г	2500

10.1. Аминокислотный скор

Цель работы: освоить методы определения биологической ценности продуктов расчетным путем.

Каждый живой организм синтезирует свои белки, обусловленные генетическим кодом, сформированным в процессе эволюции. Отсутствие хотя бы одной аминокислоты (АК) вызывает отрицательный азотистый баланс, нарушение деятельности нервной системы, остановку роста. Нехватка одной аминокислоты приводит к неполному усвоению других.

Если в данном белке все незаменимые аминокислоты (НАК) находятся в необходимых пропорциях, то биологическая ценность такого белка равна 100. Для полностью перевариваемых белков с неполным содержанием аминокислот или белков с полным содержанием АК, но не полностью перевариваемых, это значение будет ниже 100. Если белок характеризуется низкой биологической ценностью (содержит неполный набор НАК), то он должен присутствовать в рационе в большом количестве, чтобы обеспечить физиологические потребности в НАК, содержащихся в белке в минимальном количестве. При этом остальные аминокислоты будут поступать в организм в излишнем количестве, превышающем потребности. Лишние АК будут подвергаться в печени дезаминированию и превращаться в гликоген или жир.

По биологической ценности белки можно разделить на четыре группы [5, 27]:

1. Белки, обладающие алиментарной специфичностью (куриное яйцо, свежее и сквашенное молоко). По биологической ценности эти белки уступают белкам мяса, рыбы, сои, но организм человека способен выправлять соотношение НАК (аминограмму) этих белков за счет фонда НАК.

2. Белки говядины, рыбы, сои, рапса отличаются наилучшей аминокраммой и соответственно наибольшей биологической ценностью. Однако их аминокрамм не идеальна, и организм человека не способен ее компенсировать.

3. Белки зерновых обладают худшим балансом НАК.

4. Неполноценные белки, в некоторых из них отсутствуют НАК (желатин и гемоглобин).

Для биологической оценки исследуемого белка его сравнивают с эталонным белком. В качестве *эталонного белка* используют грудное молоко, казеин, цельное яйцо и другие. В 1973 г. решением Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, или WFO) и Всемирной продовольственной организации (ВПО, или FAO) введен показатель биологической ценности пищевых белков — *аминокислотный скор* (АКС) (C_i , %) (10.4):

$$C_i = \frac{\text{мг АК в 1 г белка}}{\text{мг АК в 1 г эталона}} \quad (10.4)$$

Пищевая ценность любого белка сравнивается с эталонным (абстрактным) белком, АКС которого сбалансирован и идеально соответствует потребностям человеческого организма в каждой НАК (табл. 10.3).

Таблица 10.3

Рекомендуемая суточная потребность человека в НАК

Незаменимые аминокислоты	ФАО/ВОЗ (1985 г.), мг/г белка				мг/кг массы тела
	Дети 2...5 лет	Дети 10...12 лет	Подростки	Взрослые	
Валин	50	35	25	13	10
Изолейцин	40	28	28	13	10
Лейцин	70	66	44	19	14
Лизин	55	58	44	16	12
Метинин + цистин	35	25	22	17	13
Фенилаланин + тирозин	60	63	22	19	14
Треонин	40	34	28	9	7
Триптофан	10	11	9	5	3,5

При расчете АКС содержание аминокислоты в конкретном белке выражается в процентном отношении к ее содержанию в эталоне. Аминокислота, АКС которой имеет самое низкое значение, называется *первой лимитирующей кислотой*. Эта аминокислота будет определять степень использования данного белка. В основу данного аналитического расчета биологической ценности белка положена гипотеза о доминирующем влиянии первой лимитирующей аминокислоты.

Другой метод определения биологической ценности белков заключается в определении *индекса незаменимых аминокислот* (ИНАК) (10.5):

$$\text{ИНАК} = \sqrt[n]{\frac{\text{Лиз}_n \cdot \text{Три}_n \cdot \dots \cdot \text{ГИС}_n}{\text{Лиз}_n \cdot \text{Три}_n \cdot \dots \cdot \text{ГИС}_n}}, \quad (10.5)$$

где n — число аминокислот;

И, Э — содержание аминокислот в исследуемом белке и эталоне, соответственно.

К недостаткам метода аминокислотного сора относится отсутствие учета степени реутилизации эндогенных НАК.

Помимо химических методов определения биологической ценности применяют биологические методы с использованием микроорганизмов и животных. Основные показатели - привес за определенное время, расход белка и энергии на единицу привеса, коэффициент перевариваемости и отложения азота в теле, доступности аминокислот. Показатель, определяемый отношением привеса животных (в кг) к количеству потребляемого белка (в г), разработан П. Осборном и назван *коэффициентом эффективности белка (КЭБ)*. Для сравнения используют контрольную группу животных со стандартным белком казеином в количестве, обеспечивающем в рационе 10% белка. В опытах на крысах эффективность казеинового белка составляет 2,5. Каждый из методов имеет недостатки.

В соответствии с АКС наименьшей биологической ценностью обладают белки зерновых (пшеницы), первая лимитирующая АК - лизин, вторая - треонин; белки кукурузы - первая лимитирующая кислота - лизин, вторая - триптофан. Более того, количество лизина при термообработке уменьшается за счет реакции меланоидинообразования. Белки кукурузы содержат мало лизина, но сравнительно много триптофана, тогда как белки бобовых богаты лизином, но содержат мало триптофана. Смесь бобов и кукурузы содержит достаточно НАК. Примером такого же удачного сочетания может служить хлеб и молоко, рис с соевым соусом, кукурузные хлопья с молоком.

В качестве исходных данных для расчета биологической ценности используют экспериментальные данные аминокислотного состава продуктов питания.

Расчет АКС. Расчет АКС (C_i %) ведут для каждой НАК по формуле (10.6):

$$C_i = \frac{A_i}{A_{\text{Э}_i}} 100, \quad (10.6)$$

где A_i - содержание незаменимой i -й аминокислоты в 1 г исследуемого белка, мг/г;

$A_{\text{Э}_i}$ - содержание i -й аминокислоты в 1 г «эталонного» белка, мг/г;

100 - коэффициент пересчета в проценты.

Лимитирующей НАК считается та кислота, чей аминокислотный скор наименьший.

Расчет коэффициента различия аминокислотных скоров. Коэффициент различия аминокислотных скоров (КРАС, %) показывает избыточное количество НАК, не используемых на пластические нужды. Его определяют по формуле (10.7):

$$\text{КРАС} = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - 100)}{n}, \quad (10.7)$$

где n — количество НАК.

По величине КРАС оценивают биологическую ценность (БЦ, %) белоксодержащего продукта по формуле (10.8):

$$\text{БЦ} = 100 - \text{КРАС} \quad . \quad (10.8)$$

При оценке биологической ценности многокомпонентных продуктов учитывают не только содержание всех незаменимых аминокислот, но и комплекс показателей, рекомендуемых Н.Н.Липатовым: минимальный скор, коэффициент рациональности аминокислотного состава, показатель сопоставимой избыточности.

Расчет коэффициента рациональности аминокислотного состава (R_c , доли ед.). Данный коэффициент характеризует сбалансированность НАК по отношению к физиологически необходимой норме (эталону). В случае $C_{min} < 1$ коэффициент рациональности рассчитывается по формуле (10.9):

$$R_c = \frac{\sum_{i=1}^k (A_i \cdot k_i)}{\sum_{i=1}^n A_i}, \quad (10.9)$$

где k_i - коэффициент утилитарности 1-й НАК по отношению к лимитирующей аминокислоте, доли ед.

Коэффициент утилитарности является численной характеристикой, отражающей сбалансированность НАК по отношению к эталону. Расчет ведут по формуле (10.10):

$$k_i = \frac{C_{min}}{C_i}, \quad (10.10)$$

где C_{min} - минимальный скор НАК оцениваемого белка по отношению к эталонному белку, доли ед.

Расчет показателя сопоставимой избыточности содержания НАК (σ , мг/г белка эталона). Общее количество незаменимых аминокислот в белке

оцениваемого продукта, которое из-за несбалансированности не может быть утилизировано организмом, служит для оценки сбалансированности состава НАК по показателю «сопоставимой избыточности». Данный показатель характеризует суммарную массу НАК, не используемых на анаболические нужды, в таком количестве оцениваемого продукта, которое эквивалентно по их потенциально утилизируемому содержанию 1 г белка эталона, и расчет ведут по формуле (10.11):

$$\sigma = \frac{\sum_{i=1}^n (A_i - C_{min} \cdot A_{эi})}{C_{min}} . \quad (10.11)$$

Задание. Провести полный расчет биологической ценности продукта исходя из его аминокислотного состава (табл. 10.4) в соответствии с вариантом, предложенным преподавателем. Результаты занести в табл. 10.5.

Таблица 10.4

Биологическая ценность продуктов питания и содержание в них АК (мг/100г)

Пищевые продукты	Белок, %	Содержание незаменимых аминокислот										Лимитирующие аминокислоты	
		Иле	Лей	Лиз	Мет	Цис	Фен	Тир	Тре	Трп	Вал	первая	вторая
Молоко	3,2	189	283	261	83	26	175	184	153	50	191		
Говядина	21,6	939	1624	1742	588	310	904	800	875	273	1148		
Куры	18,2	693	1412	1588	471	224	744	641	885	126	877		
Треска	16,0	700	1300	1500	500	200	800	600	900	210	900		
Яйцо (белок)	11,1	628	917	683	413	277	673	397	483	169	735		
Картофель	2,0	86	128	135	26	97	98	90	97	28	122		
Соя	34,9	1810	2670	2090	520	550	1610	1060	1390	450	2090		
Мука:													
пшеничная	10,3	430	806	250	153	200	500	250	311	100	471		
ржаная	10,7	400	690	360	150	210	600	290	320	130	520		
Крупа:													
рисовая	7	330	620	260	160	137	370	290	240	100	420		
гречневая	12,6	460	745	530	320	330	592	430	400	180	590		

Пример расчета АКС. По данным табл. 10.4, в 100 г молока (содержание белка - 3,2 г) присутствует 83 мг метионина, 26 мг цистеина, в сумме 109 мг метионина + цистеина. Тогда 1 г молочного белка содержит метионина и цистеина (10.12):

$$\frac{109}{3.2} = 34,06 \text{ мг.} \quad (10.12)$$

В 1 г эталонного белка содержится 35 мг метионина и цистеина, следовательно, АКС для метионина (10.13):

$$\text{Смет} = \frac{34,06 \cdot 100}{35} = 97,3 \% \quad (10.13)$$

Таблица 10.5

Биологическая ценность исследуемого белка

Аминокислоты	Содержание, мг/г белка						
	в эталонном белке	в исследуемом белке	АКС, %	КРАС, %	БЦ, %	Rc	σ
Изолейцин	40						
Лейцин	70						
Лизин	55						
Метионин+цистеин	35						
Фенилаланин+тирозин	60						
Треонин	40						
Триптофан	10						
Валин	50						
Всего	360						

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятиям «энергетическая ценность», «биологическая ценность», «пищевая ценность» продуктов.
2. Последствия отсутствия одной аминокислоты в живых организмах.
3. В каком случае биологическая ценность белка равна 100?
4. Классификация белков по биологической ценности.
5. Методы определения биологической ценности продуктов.

Библиографический список

1. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия / Ю.А. Овчинников - М.: Просвещение, 1987. - 815 с.
2. Химия пищевых продуктов / ред-сост. Ш. Дамодаран, К.Л. Паркин, О.Р. Феннема. – СПб.: Профессия, 2012. – 1040 с.
3. Пищевая химия / А.П. Нечаев и [др.]. – СПб.: ГИОРД, 2015. – 672 с.
4. Степычева, Н.В. Пищевая химия и научные основы производства продуктов питания: лабораторный практикум / Н.В. Степычева, Г.Н. Беспалова, А.Н. Ларин; Иван. гос. хим.-технол. ун-т. – Иваново, 2000. - 80 с.
5. Гамаюрова В.С. Пищевая химия: лаб. практикум / В.С. Гамаюрова, Л.Э. Ржещичкая. - СПб.: ГИОРД, 2006. – 136 с.
6. Suman S.P., Joseph P. Myoglobin chemistry and meat color // Annu. Rev. Food Sci. Technol. 2013. V. 4. P. 79-99.
7. Gros G., Wittenberg B.A., Jue T. Myoglobin's old and new clothes: from molecular structure to function in living cells // J. Experim. Biol. 2010. V. 213. P. 2713-2725.
8. Волобуева В.Ф. Практикум по биохимии овощных, плодовых, ягодных, эфироносных и лекарственных культур / В.Ф. Волобуева, Т.И. Шатилова; Рос. гос. аграрн. ун-т. - Москва, 2008. - 135 с.
9. Биологически активные вещества, входящие в состав лекарственного растительного сырья: учебно-методическое пособие для вузов / И.М. Коренская и [др.]; Воронежский гос. ун-т – Воронеж, 2010. - 66 с.
10. Шапаренко Е.Ю. Витамины и минералы из продуктов питания / Е. Ю. Шапаренко. – М.: Эксмо, 2015. – 288 с.
11. Montes-Ávila J., López-Angulo G., Delgado-Vargas F. Tannins in fruits and vegetables: chemistry and biological function // Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry and human health (in ed. E.M. Yahia): Wiley & Sons, Ltd. 2017. P. 221-268.
12. Serrano J., Puupponen-Pimiä R., Dauer A., Aura A.-M. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects // Mol. Nut. Food Res. 2009. V. 53. P. S310-S329.
13. Manuja R., Sachdeva S., Jain A., Chaudhary J. A Comprehensive review on biological activities of P-hydroxy benzoic acid and its derivatives // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 2013. V. 22. P. 109-115.
14. Souza-Moreira T. M., Geisiany M. Queiroz-Fernandes, Rosemeire C. Pietro L.R. Stryphnodendron species known as “Barbatimão”: a comprehensive report // Molecules. 2018 V. 23, N4. P. 910-935.

15. Ricardo L.M., Dias B.M., Mügge F.L.B., Leite V.V., Brandão M.G.L. Evidence of traditionality of Brazilian medicinal plants: the case studies of *stryphnodendron adstringens* (mart.) coville (barbatimão) barks and *copaifera* spp. (copaíba) oleoresin in wound healing // *J. Ethnopharmacol.* 2018 V. 219. P. 319-336.
16. Setti L., Faulds C., Giuliani S. Hydroxycinnamic acids as natural antioxidants // *Sci. Technol.* 2001. P. 1-5.
17. Baldivia D.D.S., Leite D.F., Castro D.T.H., Campos J.F., Santos U.P.D., Paredes-Gamero E.J., Carollo C.A., Silva D.B., de Picoli Souza K., Dos Santos E.L. Evaluation of *in vitro* antioxidant and anticancer properties of the aqueous extract from the stem bark of *stryphnodendron adstringens* // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19, N8. P. E2432-E2455.
18. Adamczyk B., Simon J., Kitunen V., Adamczyk S., Smolander A. Tannins and their complex interaction with different organic nitrogen compounds and enzymes: old paradigms versus recent advances // *Chem. Open.* 2017, V. 6, 610-614.
19. Govari M., Pexara A. Nitrates and nitrites in meat products // *J. Hellenic Vet. Med. Soc.* 2015. V. 66. P. 127-140.
20. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids // *Free Rad. Res.* 2005. V. 39. P. 797-815.
21. Макаров С.В. Нитрит и нитрат – новый взгляд на малые молекулы / С.В. Макаров // *Природа.* 2010. № 7. С. 34-37.
22. Lundberg J.O., Weitzberg E., Gladwin M.T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics // *Nature Rev. Drug Discovery.* 2008. V. 7. P. 156-167.
23. Mills C.E., Khatri J., Maskell P., Odongerel C., Webb A.J. It is rocket science – why dietary nitrate is hard to ‘beet’! Part II: further mechanisms and therapeutic potential of the nitrate-nitrite-NO pathway // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2017. V. 83. P. 140–151.
24. Logan B.K., Distefano S. Ethanol content of various foods and soft drinks and their potential for interference with a breath-alcohol test // *J. Anal. Toxicol.* 1998. V. 22. P. 181-183.
25. Gorgus E., Hittinger M., Schrenk D. Estimates of ethanol exposure in children from food not labeled as alcohol-containing // *J. Anal. Toxicol.* 2016. V. 40, N7. P. 537-542.
26. Alzeer J., Hadeed K. A. Ethanol and its halal status in food industries // *Food Sci. Technol.* 2016. V. 58. P. 14-20.
27. Химический состав и энергетическая ценность пищевых продуктов: справочник Р.А. МакКанса и Э.М. Уиддоусон / пер. с англ. под ред. А.К. Батурина. — СПб.: Профессия, 2006. — 416 с.

Учебное издание

САЛЬНИКОВ Денис Сергеевич

ВЛАСОВА Елена Александровна

МАКАРОВ Сергей Васильевич

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Лабораторный практикум

Редактор В.Л. Родичева

Подписано в печать 17.02.2019. Формат 60x84 ¹/16. Бумага писчая.

Усл. печ. л. 5,12. Тираж 50 экз. Заказ

ФГБОУ ВО «Ивановский государственный
химико-технологический университет»

Отпечатано на полиграфическом оборудовании
редакционно-издательского центра ФГБОУ ВО «ИГХТУ»

15300, г. Иваново, Шереметевский пр., 7