



Филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» в Ташкентской области Республики Узбекистан

Факультет высшего образования

Кафедра ВБиТ

**ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПЕРЕРАБОТКИ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ВОДНЫХ БИОРЕСУРСОВ И
ОБЪЕКТОВ АКВАКУЛЬТУРЫ**

**Методические указания к лабораторным работам
для магистров, обучающихся по образовательной программе
19.04.03 «Продукты питания животного происхождения»
направленность «Технология продуктов из сырья животного происхож-
дения»**

Ташкентская область, Кибрайский район – 2025

Составил: Аверьянова Н.Д., к.т.н., доцент кафедры ВБиТ

Рецензент: Цибизова М.Е., д.т.н., проф. кафедры ВБиТ

Методические указания «Основные принципы переработки сырья животного происхождения, водных биоресурсов и объектов аквакультуры» по лабораторным работам для магистров, обучающихся по образовательной программе 19.04.03 Продукты питания животного происхождения направленность «Технология продуктов из сырья животного происхождения»

Лабораторные работы реализуются для аспирантов в форме УИРС. В методических указаниях по лабораторным работам приводятся научные основы разработки технологий новых видов пищевой продукции из сырья животного происхождения, рекомендации по выбору объектов исследований и методам их выполнения.

Методические указания рассмотрены и одобрены кафедрой ВБиТ протокол № 7 от 21 февраля 2025 года.

© Филиал ФГБОУ ВО «АГТУ» в Ташкентской области Республики Узбекистан

Содержание	Стр.
Введение	4
Порядок допуска к лабораторным занятиям	5
Порядок проведения эксперимента	5
Требования к оформлению лабораторных работ	5
Правила техники безопасности	7
Первая помощь при возможных несчастных случаях в лаборатории	8
Лабораторная работа № 1. Научные основы способов консервирования сырья при заготовке промышленного сырья воздействием низких температур	9
Лабораторная работа № 2. Научно-практические основы производства соленой, копченой продукции из сырья животного происхождения, ВБР и формованных продуктов (колбасных изделий)	27
Лабораторная работа № 3. Научно-практические основы переработки молочного сырья в белковые продукты	38
Лабораторная работа № 4. Изучение способов экстрагирования органолептических веществ	59
Список рекомендуемой литературы	114

Введение

В настоящее время специалисты пищевой промышленности особое внимание уделяют разработке рациональных технологий изготовления продукции пищевого назначения улучшенного качества из сырья животного происхождения и водных биоресурсов. Повышению качества продукции способствует внедрение в технологический процесс новых или дополнительных операций, направленных на облагораживание сырья, улучшение его органолептических и физико-химических показателей, повышающих биологическую ценность.

Нарушение принципов рационального питания, неблагоприятные и экстремальные экологические и профессиональные факторы и стрессовые нагрузки приводят к снижению иммунного статуса человека, повышению риска развития некоторых заболеваний. Следовательно, на повестку дня выдвигается вопрос об организации обеспечения населения адекватными лечебно-профилактическими продуктами питания, что отвечает требованиям сбалансированного питания. В мировой практике получила развитие разработка продуктов питания для групп населения, испытывающих нарушения функций жизнедеятельности организма.

Для создания лечебно-профилактических продуктов возможно использование традиционного и нетрадиционного сырья, их модификации, а также ингредиенты лечебного назначения, обладающие способностью восстанавливать свободные радикалы, для придания продуктам определенных функциональных свойств, способные снизить риск возникновения в организме человека отдельных заболеваний, повысить его иммунитет и устойчивость.

Проблема выпуска продуктов повышенного качества всегда актуальна и зависит от целого ряда факторов: качество исходного сырья, соблюдение и контроль технологических параметров и термических режимов, качество упаковочных материалов, тары. Но выпуск высококачественной продукции, вариативность ее ассортимента обеспечивается также использованием различных биологически активных веществ, полифункциональных ингредиентов.

Таким образом, в мясной и рыбной промышленности есть возможность получения новых пищевых композиций из вторичного сырья, адаптация их к сырью для создания новых видов белковых продуктов, лекарственных препаратов, животных и рыбных жиров и кормовой продукции.

Курс дисциплины «Основные принципы переработки сырья животного происхождения, водных биоресурсов и объектов аквакультуры» предназначен для ознакомления студентов с методами, которые способствуют улучшению качества сырья и полуфабрикатов, технологиями изготовления из них пищевых продуктов новых форм.

Курс включает в себя лабораторный практикум по исследованию качества сырья, изменению его органолептических, физико-химических показателей в процессе облагораживания и получения новых видов пищевой продукции, способов ее изготовления.

Порядок допуска к лабораторным занятиям

К лабораторным занятиям допускаются обучающиеся, подготовленные по соответствующим теоретическим материалам в соответствии с методическими указаниями настоящего сборника.

При подготовке к занятиям необходимо:

- изучить теоретические вопросы по теме предстоящих занятий по литературным источникам, приведённым в сборнике и по прочитанным лекциям;
- изучить методику выполнения лабораторных занятий, сущность основных методов определения химических показателей;
- ознакомиться с основными методами и способами переработки сырья в пищевые продукты;
- освоить методы выполнения необходимых расчетов, относящихся к обработке полученных результатов;
- составить план выполнения работы, с выделением основных этапов постановки эксперимента.

Степень подготовки обучающихся к выполнению очередных лабораторных занятий контролируется преподавателем в форме краткого собеседования. В случае недостаточной подготовленности обучающийся не может быть допущен к занятиям. При этом обучающийся не уходит из лаборатории, а использует время занятий, предназначенное для выполнения очередной темы, на теоретическую подготовку к не допущенной работе.

Порядок постановки эксперимента

Лабораторные занятия обучающиеся выполняют в виде учебно-исследовательской работы (УИРС).

Перед началом постановки эксперимента обучающийся одевает халат и подготавливает рабочее место, отведённое в лаборатории, проверяет наличие необходимого оборудования, аппаратуры и химической посуды с реактивами, а также знакомится с устройством приборов и порядком измерений.

После каждого этапа лабораторной работы, предусмотренного в методических указаниях, полученные данные обучающийся фиксирует в журнале исследований по рекомендованной форме. Результаты анализирует и обсуждает с преподавателем.

Лабораторное занятие считается выполненным при предъявлении обучающимся преподавателю полученных результатов и приведении рабочего места в надлежащий порядок.

Требования к оформлению лабораторных занятий

Лабораторная работа оформляется в форме отчёта, состоящего из:

- номера и наименования темы лабораторной работы;
- цели и задач проведения работы;
- объекта исследований;

- методов исследования;
- методики постановки эксперимента;
- результатов исследований
- выводов.

Перед началом лабораторного занятия преподавателем излагаются общие понятия, цель и задачи и краткие теоретические сведения по изучаемой теме, распределяются объекты исследования по группам обучающихся. В ходе проведения лабораторных занятий преподаватель проверяет правильность постановки эксперимента, отвечает на возникшие вопросы и оказывает помощь в обсуждении полученных результатов и формированием выводов.

В пункте «объект исследования» приводится наименование образца, взятого для исследования.

В пункте «методика постановки эксперимента» последовательно описывается порядок проведения всех научных исследований по разработке технологии изготовления белковой продукции из сырья животного происхождения с указанием основных этапов, выбранного способа обработки сырья, параметров проведения экспериментов.

В пункте «методы исследования» приводится описание основных методов исследования, которые были использованы в работе. Описание методов исследований, которые осуществляются в соответствии с требованиями стандартов (ГОСТ), приводится в краткой форме.

В пункте «результаты исследований» приводятся полученные результаты, которые оформляются в табличной и графической форме, сопровождаемые выводами. Выводы должны содержать критический анализ качества сырья, влияния выбранных технологических параметров основных процессов на изменения его свойств, которые протекают при переработке, а также качества готовой продукции и её энергетической ценности. При этом следует полученные результаты сравнивать с действующими нормами отходов и потерь при переработке сырья животного и водного происхождения, требованиями соответствующей технической документации на сырьё и готовую пищевую продукцию, проводить анализ возможных расхождений между стандартными данными и полученными опытным путём.

На основании полученных результатов выполняются необходимые расчеты. Применяемые формулы расшифровываются с указанием характеристик используемых коэффициентов и показателей. Приводится разработанная модель технологической схемы изготовления опытного образца пищевой продукции.

В пункте «выводы» приводятся выводы по всей работе. Выводы должны содержать конкретно сформулированные основные результаты, полученные в ходе проведения работы. При написании выводов используют следующие формулировки: установлено, определено, выявлено, исследовано, изучено и т.д.

Определение органолептических и физико-химических показателей проводят с использованием стандартных методов исследований, приведенных в соответствующей технической документации или по методикам, раз-

работанным и применяемым в исследованиях. Перед определением качества обучающемуся необходимо ознакомиться с соответствующей ТД для выяснения перечня показателей, приведенных в данном стандарте. Определяемые показатели качества вносят в таблицу, установленные значения которых сравнивают с требованиями соответствующего стандарта и на основании сравнения делают заключение о качестве исследуемого образца.

При проведении анализов образца с применением химических соединений обучающемуся необходимо использовать реактивы со степенью чистоты и отвечающие требованиям соответствующих стандартов, указанных в каждой лабораторной работе. В зависимости от степени чистоты и области применения химические вещества маркируют согласно требованиям стандартов и технических условий в следующем порядке (по повышению чистоты реактива):

- чистый (ч.);
- чистый для анализа (ч.д.а.);
- химически чистый (х.ч.);
- особой чистоты (ос.ч.).

Отчет по лабораторной работе оформляется на листах формата А4 в печатном варианте. При этом необходимо применять шрифт Times New Roman 14 пт, в таблицах — шрифт 12 пт, интервал одинарный, абзацный отступ 1 см.

Правила техники безопасности работы студентов в лаборатории

При прохождении лабораторного практикума обучающиеся работают с различными реактивами, используют разнообразные электроприборы, поэтому от них требуется особая внимательность, аккуратность и осторожность в работе.

Перед началом лабораторных работ обучающиеся проходят инструктаж по технике безопасности, после чего расписываются в соответствующем журнале. Кроме того, по ходу лабораторной работы они получают устный инструктаж от преподавателя, ведущего занятие.

С целью обеспечения безопасной работы в лаборатории необходимо соблюдать следующие условия:

- работать в спецодежде (бязевых или хлопчатобумажных халатах);
- избегать попадания химических реактивов на обнаженные участки тела, не трогать лицо и глаза руками, не принимать пищу, после окончания работы тщательно мыть руки;
- не пробовать химические реактивы на вкус;
- не допускается набирать в пипетку ртом кислоты, щелочи или растворы вредных веществ, с этой целью используют грушу;
- определять запах веществ крайне осторожно, не наклоняясь над сосудом и не вдыхая полной грудью, а направляя к себе пары или газы движением руки;
- работать с едкими, ядовитыми и легколетучими веществами в вытяжном шкафу, оборудованном приточно-вытяжной вентиляцией;

- не наклоняться над сосудом, в котором происходит кипение или куда наливают жидкость во избежание попадания брызг на лицо или в глаза;
- запрещается нагревать низкокипящие жидкости на открытом огне и электронагревательных приборах вне вытяжного шкафа с работающей вентиляцией;
- не допускается сливать в систему канализации концентрированные растворы кислот и щелочей, а также растворы солей тяжелых металлов, легковоспламеняющиеся жидкости (эфир, органические растворители и т.п.);
- запрещается пользоваться поврежденной лабораторной посудой, перед использованием в работе стеклянной посуды необходимо удостовериться в ее целостности, отсутствии трещин;
- не допускается нагревать или охлаждать воду или растворы в герметически закрытых сосудах;
- перед работой с повышенной температурой необходимо убедиться в наличии на лабораторной посуде соответствующего разрешающего знака;
- не допускается смешивать различные химические реактивы и их растворы между собой, если данные смеси не предусмотрены при проведении занятия.
- по окончании работы необходимо выключить электроприборы, закрыть воду и убрать рабочее место.

Первая помощь при возможных несчастных случаях в лаборатории

1. В случае пореза рану следует обработать 5 %-ным спиртовым раствором йода или 3 %-ным раствором перекиси.
2. При термических ожогах промыть пораженный участок раствором перманганата калия или этиловым спиртом.
3. При попадании на кожу концентрированной кислоты промыть пораженный участок водой, а затем обработать слабым раствором бикарбоната натрия (содой) или аммиака.
4. При попадании на кожу щелочи промыть пораженный участок водой, а затем обработать слабым раствором уксусной кислоты.

Лабораторная работа № 1.

Научные основы способов консервирования сырья при заготовке промышленного сырья воздействием низких температур

Цель работы: изучить научные основы способов консервирования сырья при заготовке промышленного сырья воздействием низких температур.

Задачи:

1. Установление отходов и потерь при разделывании сырья животного происхождения и гидробионтов.
2. Определение органолептических показателей сырья и их изменение в процессе дальнейшей обработки.
3. Определение химического состава и содержания азотистых веществ, водоудерживающей способности сырья и установления их изменения в процессе обработки объекта исследования.
4. Осуществить консервирование сырья воздействием низких температур: $0\div-1^{\circ}\text{C}$; $-3\div-5^{\circ}\text{C}$; $-8\div-10^{\circ}\text{C}$; $-18\div-20^{\circ}\text{C}$.
4. Моделирование технологической схемы.

Объекты исследования: рыба, птица, мясо, фарш, модифицированный фарш.

Методы исследования.

Определение органолептических показателей качества сырья, полуфабриката, готового продукта проводятся в соответствии с требованиями ГОСТ 7631, ГОСТ 21784, ГОСТ 9959, ГОСТ 25011 [4,5,6,7].

Определение физико-химических показателей — содержание воды, белка, жира, минеральных веществ, водоудерживающей способности фарша (ВУС) осуществляется в соответствии с требованиями с ГОСТ 7636, ГОСТ 25011 [5].

При определении содержания НБА, АЛО применяют методику Лазаревского [9].

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска разделочная;
- нож разделочный;
- линейка;
- мясорубка бытовая по ГОСТ 4025-78;
- ножницы;
- фильтровальная бумага по ГОСТ 12026-76;
- гири массой 1 кг;

- бумага калечная (калька);
- пластины из плестиглаза или стеклопластика;
- часы;
- шкаф сушильный по ГОСТ 13474-79;
- весы аналитические класса 4 с пределом измерения от 0 до 100 г по ТУ 25-06-1131-75;
- весы технические лабораторные класса 1 с пределом измерения от 0 до 1000 г;
- установка для минерализации органических веществ;
- аппарат для отгонки паров аммиака;
- аппарат экстракционный (аппарат Сокслета);
- перекись водорода (х. ч.) по ТУ 6-09-4211-85;
- смешанный индикатор (Таширо);
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, 0,02 н раствор;
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, 20 г/дм³ раствор;
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, конц.;
- NaOH ч. д. а. по ГОСТ 4328-77, прокипяченный 33 %-ный раствор;
- KOH ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0,02 н раствор;
- KOH ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0,1 н раствор;
- MgO ч. по ГОСТ 4526-75, 5 %-ный раствор (магнезиальное молоко)
- нейтральный красный (нейтральрот) х. ч. по ТУ 6-09-1704-89 и метиловый синий х. ч. по ТУ 6-09-07-1341-87 (индикатор № 1);
- тимоловый синий ч. д. а. по ТУ 6-09-5437-90 и фенолфталеин ч. д. а. по ГОСТ 5850-72 (индикатор № 2);
- альбумин фармацевтический или пищевой;
- биуретовый реактив;
- формалин х. ч. или ч., 40 %-ный раствор;
- трихлоруксусная кислота х. ч., 5 %-ный раствор;
- растворитель (диэтиловый эфир х. ч. по ГОСТ 22300-76, петролейный эфир х. ч. по ГОСТ 11992-66 или 1,2-дихлорэтан х. ч. по ТУ 2631-085-44493179-02);
- спирт этиловый пищевой по ГОСТ Р 51652-2000;
- вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

2. Определение отходов, потерь, выхода полуфабриката при разделывании сырья.

При разделывании сырья определяют массы составляющих частей тела рыбы, птицы. Отдельно, в процессе разделывания, определяют массу промытой тушки и обесшкуренного филе без прирезей мяса. Результаты определений представляют в виде табл. 1-3

**Отходы, потери, выход полуфабриката при разделывании рыбы в сравнении
с нормативными данными**

Наименование	Обозначение	Масса, г	Доля, % от общей массы	
			опытные данные	нормативные данные
Неразделанный образец	M ₀			
Чешуя (при наличии)	M ₁			
Голова, в т.ч.:	M ₂			
- жабры	M ₃			
Хвостовой плавник	M ₄			
Внутренности, в т.ч.:	M ₅			
- икра (молоки)	M ₆			
- плавательный пузырь	M ₇			
- печень	M ₈			
Плавники (кроме хвостового)	M ₉			
Тушка (до промывки)	M ₁₀			
Тушка (после промывки)	M ₁₁			
Филе с кожей	M ₁₂			
Филе без кожи	M ₁₃			
Кожа	M ₁₄			
Фарш-сырец	M ₁₅			
Фарш модифицированный	M ₁₆			
Потери при разделке	П ₁	—		
Потери при мойке тушки	П ₂	—		
Потери при измельчении	П ₃	—		
Выход тушки	В ₁	—		
Выход филе со шкурой	В ₂	—		
Выход филе без шкуры	В ₃	—		
Выход фарша-сырца	В ₄	—		
Выход фарша модифицированного	В ₅	—		
Итого отходов	M _{отх}			
Итого потерь	П ₀	—		

Таблица 2

Отходы, потери, выход полуфабриката при разделывании потрошенной птицы в сравнении с нормативными данными

Наименование	Обозначение	Масса, г	Доля, % от общей массы	
			опытные данные	нормативные данные
Тушка (до промывки)	M ₁			
Тушка (после промывки)	M ₂			
Филе с кожей	M ₃			
Филе без кожи	M ₄			
Кожа	M ₅			
Фарш-сырец	M ₆			
Фарш модифицированный	M ₇			
Потери при мойке тушки	П ₁	—		
Потери при измельчении	П ₂	—		
Выход филе со шкурой	B ₁	—		
Выход филе без шкуры	B ₂	—		
Выход фарша-сырца	B ₃	—		
Выход фарша модифицированного	B ₄	—		
Итого отходов	M _{отх}			
Итого потерь	П ₀	—		

Таблица 3

Отходы, потери, выход полуфабриката при измельчении мясного сырья в сравнении с нормативными данными

Наименование	Обозначение	Масса, г	Доля, % от общей массы	
			опытные данные	нормативные данные
Филе	M ₅			
Фарш-сырец	M ₆			
Фарш модифицированный	M ₇			
Потери при мойке мяса	П ₁	—		
Потери при измельчении	П ₂	—		
Выход фарша-сырца	B ₁	—		
Выход фарша модифицированного	B ₂	—		
Итого отходов	M _{отх}			
Итого потерь	П ₀	—		

При расчете процента частей тела рыбы, птицы и т.д., отходов, потерь, выхода полуфабриката необходимо использовать пропорции. Например:

$$D_1 = \frac{M_1 \cdot 100}{M_0} \quad (1)$$

б) потери при разделывании и мойке

$$П_1 = \frac{(M_0 - M_1 - M_2 - M_4 - M_5 - M_9 - M_{10}) * 100}{M_0} \quad (2)$$

в) выход тушки

$$В_1 = \frac{M_{11} * 100}{M_0} \quad (3)$$

3. Консервирование сырья животного и водного происхождения, птицы низкими температурами

Охлаждение - процесс, при котором путем отвода тепла от сырья его температуру понижают до температуры близкой к криоскопической, но не ниже ее. Криоскопическая точка находится в пределах температур от -0,6 до - 2,2 °С и зависит от концентрации солей в клеточном соке. Температура охлажденной продукции должна быть в пределах от -1 до +5 °С.

Для охлаждения рыбы используют лед, воздух, раствор поваренной соли или льдосоляную смесь.

Варианты индивидуального задания:

- охлаждение чешуйчатым льдом
- охлаждение блочным льдом мелкодробленным
- охлаждение воздухом
- охлаждением в растворе поваренной соли
- охлаждение в льдосоляной смеси
- охлаждение в льдосоляной смеси

Охлаждение рыбы льдом

В сырье вводят термометр и замеряют начальную температуру. Затем сырье помещают в емкость, засыпают льдом. Емкость с сырьем помещают в холодильную камеру.

Каждые 5-10 минут измеряют температуру в сырье. Охлаждение ведут до температуры 0 °С.

Охлаждение воздухом

При охлаждении холодным воздухом сырье после измерения начальной температуры переносят в холодильную камеру (температура в камере +2÷-4 °С и выдерживают до достижения температуры 0°С, снимая показания температуры каждые 5-10 минут.

Охлаждение в растворе поваренной соли

Готовят 1,2,3,4,5-% растворы поваренной соли, охлаждают его до температуры +2÷-4 °С. Измерив начальную температуру сырья, его помещают в охлажденный солевой раствор в соотношении сырья и раствора 1:5. Емкость с сырьем помещают в холодильную камеру.

Каждые 5- 10 минут измеряют температуру в сырье. Охлаждение ведут до температуры 0 °С.

Охлаждение в льдоловодной смеси

В холодную воду (+2÷+4 °С) добавляют лед в соотношении 1:1. В сырье вводят термопару и измеряют начальную температуру. Затем сырье помещают в емкость с льдоловодной смесью. Емкость с сырьем помещают в холодильную камеру.

Каждые 5-10 минут измеряют температуру в сырье. Охлаждение ведут до температуры 0 °С.

Охлаждение льдосолевой смесью

Готовят льдосолевою смесь с содержанием соли 5,10,15% к массе льда. Сырье помещают в льдосолевою смесь и выдерживают до достижения температуры 0 °С, снимая показания температуры каждые 5-10 минут.

Результаты измерения температуры сырья в процессе охлаждения оформляют в виде таблицы 4.

Таблица 4

Изменения температуры сырья в процессе охлаждения

τ, мин						
t, °С						

На основании полученных данных строят график динамики процесса охлаждения.

Замораживание - процесс полного или частичного превращения в лед содержащейся в сырье влаги вследствие отвода тепла при понижении температуры ниже криоскопической до температуры при которой вымерзает основная масса свободной воды.

При замораживании сырья холодным воздухом его помещают в морозильную камеру холодильника.

При замораживании в льдосолевой смеси готовят смесь льда и соли заданного соотношения в таком количестве, которое достаточно для замораживания рыбы и на компенсацию теплопритоков из окружающей среды. Сырье помещают в приготовленную смесь и переносят в холодильную камеру.

При замораживании в холодном рассоле сырье помещают в заранее приготовленный и охлажденный раствор поваренной соли, обеспечив соотношение сырья и солевого раствора 1:5, с дальнейшим переносом в холодильную камеру.

В процессе замораживания регистрируют температуру теплоотводящей среды и сырья. Замораживание ведут до достижения температуры в сырье близкой к температуре теплоотводящей среды.

Результаты измерения температуры сырья в процессе охлаждения оформляют в виде таблицы 4. На основании полученных данных строят график динамики процесса замораживания.

Для образцов охлажденных или замороженных с использованием солевого раствора, льдосолевой смеси установить содержание соли в сырье.

4. Определение органолептических показателей качества сырья в сравнении с требованиями соответствующей ТД.

Определение качества сырья является ответственной и трудоемкой операцией во всех технологических процессах, так как его качество во многом предопределяет питательную ценность, вкусовые свойства, товарный вид, а часто и безвредность производимого из данного сырья продукта. Основными показателями качества согласно требованиям стандартов являются его органолептические свойства, влагоудерживающая способность (ВУС), химические показатели.

4.1. Органолептические показатели

При определении органолептических показателей изучают:

- внешний вид фарша;
- цвет;
- консистенцию;
- запах.

Полученные данные вносят в табл. 5 и сравнивают с требованиями ТД.

Таблица 5

Сравнительная характеристика показателей качества

Показатель	Характеристика показателя	
	по стандарту	исследуемого образца
Внешний вид		
Консистенция		
Цвет		
Запах		
Значение ВУС, %		

4.2. Определение ВУС мышечной ткани

ВУС мышечной ткани определяют методом прессования. Филе измельчают на мясорубке, полученный фарш тщательно перемешивают. Навеску фарша массой 0,3 г, взвешенную с точностью до 0,001 г (m_1), помещают на предварительно взвешенный кружок (m_2) из полиэтиленовой пленки диаметром $2 \div 2,5$ см.

На пластину размерами 10x10 см укладывают лист фильтровальной бумаги с аналогичными размерами, на лист в центр помещают кружок с навеской таким образом, чтобы навеска фарша лежала на фильтровальной бумаге, а полиэтиленовый кружок над пробой. На кружок укладывают вторую пластину и сверху устанавливают груз массой 1 кг.

Продолжительность прессования 10 минут. По окончании прессования необходимо очертить на кальке контур пятна вокруг прессованного мяса и контур общего пятна распространения воды (рис. 1.1).

Фильтр освобождают от навески, контур влажного пятна переносят на

кальку, вырезают и взвешивают с точностью до 0,0001 г (m_3). С целью определения площади «влажного» пятна взвешивают лист кальки (m_4) размерами 100x100 мм.

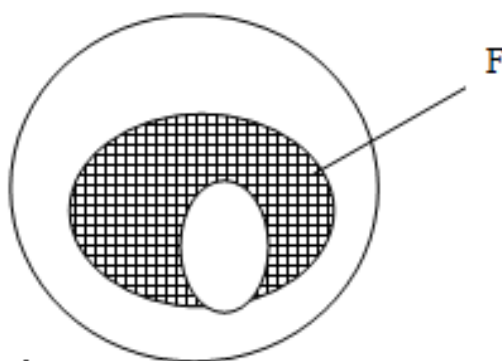


Рис. 1.1 — Изображение контура «влажного» пятна

Площадь пятна рассчитывают по формуле 4 (в см^2):

$$P = \frac{m_3 * 100}{m_4} \quad (4)$$

Одновременно определяют массовую долю воды в образце, ВУС рыбного фарша вычисляют по формуле 5 (в %):

$$\text{ВУС} = \frac{(A - 0,0084 * P) * 100}{A} \quad (5)$$

где: A - количество воды в навеске фарша, взятой на прессование, г;
0,0084- количество воды в 1 см^2 «влажного» пятна, г;

$$A = (m_1 - m_2) * X_{\text{в}} \quad (6)$$

Где: $X_{\text{в}}$. массовая доля воды в исследуемом образце, доли единицы

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5. Определение химических показателей качества

5.1. Определение массовой доли воды в образце стандартным (арбитражным) методом по ГОСТ 7636-85

Исследуемую рыбу разделяют на тушку и отделяют мясную часть. Мясо рыбы измельчают на мясорубке с диаметром отверстий решетки 3÷5 мм. В предварительно высушенную до постоянной массы и взвешенную с точностью до 0,001 г бюксу (m_1) с песком и стеклянной палочкой отбирают 1,5÷2 г измельченного мяса (в случае определения массовой доли жира в высушенной пробе отбирают 5 г), навеску при помощи стеклянной палочки равномерно тонким слоем распределяют по дну бюксы, затем бюксу взвешивают.

вают (m_2). Бюксу с пробой помещают в сушильный шкаф и высушивают при температуре $100 \div 105$ °С до постоянной массы. Первое взвешивание проводят через 3 часа после начала сушки, последующие — через $30 \div 40$ минут.

Постоянная масса считается достигнутой, если разница между двумя взвешиваниями не превышает 0,001 г.

Перед каждым взвешиванием бюксу с пробой помещают в эксикатор и охлаждают в течение 30 минут.

Бюксу с высушенной пробой охлаждают в эксикаторе и затем взвешивают (m_3). Массовую долю воды вычисляют по формуле 7 (в %):

$$X_E = \frac{(m_2 - m_3) \cdot 100}{(m_2 - m_1)} \quad (7)$$

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5.2. Определение содержания общего азота методом Кьельдаля по ГОСТ 7636-85 на установке «Vapodest-3»

Навеску исследуемой пробы массой $0,3 \div 0,4$ г, взвешенной с точностью до 0.0005, помещенную в закрытую с одной стороны трубочку из фильтровальной бумаги, переносят в колбу для минерализации, приливают 10 мл концентрированной серной кислоты и добавляют таблетку-катализатор на основе сернокислой меди или 1 мл пергидроля. Колбу помещают в гнездо установки по минерализации «Vapodest-30».

ВНИМАНИЕ: установку включают только после заполнения всех 6 гнезд колбами с пробами.

Процесс минерализации заканчивают, когда в колбе образуется прозрачная жидкость голубого цвета или бесцветная (в случае использования в качестве катализатора перекиси водорода). Колбы с минерализатом выдерживают в гнездах до полного охлаждения, затем минерализат через стеклянную воронку осторожно переносят в мерную колбу объемом 100 мл. Колбу омывают $25 \div 30$ мл дистиллированной воды, которую затем также переливают в мерную колбу. Мерную колбу доливают водой до метки и выдерживают $3 \div 4$ часа для равномерного распределения минеральных веществ по всему ее объему.

Из мерной колбы в отгонную колбу пипеткой переносят $20 \div 25$ мл рабочего раствора и устанавливают в аппарат для отгонки. Предварительно в аппарат устанавливают колбу-приемник объемом 250 мл, куда заранее вносят 30 мл 0,02 н раствора серной кислоты и 5 капель смешанного индикатора. В колбу-приемник опускают конец трубки холодильника аппарата и осуществляют отгонку паров аммиака по установленной в аппарате программе.

По окончании отгонки конец трубки холодильника обмывают дистил-

лированной водой в колбу-приемник и содержащийся в ней избыток серной кислоты оттитровывают 0,02 н раствором КОН до перехода синей окраски до сине-зеленой (цвет морской волны).

Массовую долю общего азота вычисляют по формуле 8 (в %):

$$X_{\text{oa}} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot K \cdot 0,00028 \cdot V_3 \cdot 100}{m \cdot V_4} \quad (8)$$

Где : V_1 - количество 0,02 н раствора NaOH, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

V_2 - количество 0,02 н раствора NaOH, израсходованного на титрование в рабочем опыте, мл;

V_3 - объем мерной колбы с рабочим раствором, мл;

V_4 - объем рабочего раствора, взятого на отгонку, мл;

0,00028- количество азота, эквивалентное 1 мл 0,02 н раствора КОН, г/мл;

m- масса навески, гр;

K- поправочный коэффициент для 0,02 н раствора КОН.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 % для кормовой муки и 0,2 % для остальной продукции.

Вычисление проводят до второго десятичного знака.

5.3. Определение содержания белкового азота

Белковый азот (БА) равен разности общего и небелкового азота и вычисляется по формуле 9 (в %):

$$X_B = (X_{\text{OA}} - X_{\text{HBA}}) \cdot 6,25 \quad (9)$$

где 6,25 — коэффициент пересчета общего азота на сырой протеин;

5.4. Определение содержания формольнотитруемого азота (ФТА) методом титрования по ГОСТ 7636-85

Приготавливают 10 %-ную вытяжку: 10÷25 г фарша, взвешенного с точностью до 0.01 г, растирают в фарфоровой ступке с небольшим количеством воды, переносят в мерную колбу объемом 100÷250 мл, колбу заливают дистиллированной водой до 2/3 объема. Содержимое колбы быстро прогревают до кипения на сильном огне. После прогрева колбу взбалтывают на перемешивающем устройстве с частотой колебаний 40÷60 кол/мин в течение 20 минут, охлаждают до 20 °С, доводят до метки водой, вытяжку фильтруют через складчатый фильтр в коническую колбу объемом 100 мл.

Для определения ФТА необходимо три колбы на 100 мл. В колбу № 1 пипеткой вносят 20÷25 мл фильтрата, 0.8÷1 мл индикатора № 2, 10 мл 40 %-ного раствора формалина, затем титруют 0,1 н раствором КОН до перехода окраски от желтой до сине-розовой. В колбу № 2 пипеткой вносят 20÷25 мл

фильтрата, 0,8÷1 мл индикатора № 2, 0,4÷0,5 мл индикатора № 1, затем титруют 0,1 н раствором КОН до перехода окраски от синей до цвета морской волны (зеленоватого оттенка). В колбу № 3 пипеткой вносят 20÷25 мл воды, 0,8÷1 мл индикатора № 2, 10 мл 40 %-ного раствора формалина, затем титруют 0,1 н раствором КОН до перехода окраски от желтой до сине-розовой.

Расчет количества ФТА проводят по формуле 10 (мг/100 г):

$$X_{\text{фта}} = \frac{(V_1 - V_2 - V_3) \cdot K \cdot 1,4 \cdot V_4 \cdot 100}{m \cdot V_5} \quad (10)$$

Где : V_1 - количество 0,1 н раствора КОН, израсходованного на титрование колбы № 1, мл;

V_2 - количество 0,1 н раствора КОН, израсходованного на титрование колбы № 2, мл;

V_3 - количество 0,1 н раствора КОН, израсходованного на титрование колбы № 3, мл;

V_4 - объем мерной колбы, мл;

V_5 -объем фильтрата, взятого на титрование, мл;

m- масса навески, гр;

1,4 - количество азота, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора КОН;

K- поправочный коэффициент для 0,1 н раствора щелочи;

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2 %.

Вычисление проводят до третьего десятичного знака.

5.5. Определение содержания небелкового азота (НБА)

Водную вытяжку готовят также, как для определения ФТА (п. 4.3). В коническую колбу объемом 100 мл пипеткой вносят 10÷20 мл фильтрата, добавляют 10÷20 мл 5 %-ного раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают и через 15 минут фильтруют через складчатый фильтр в колбу объемом 100 мл.

В колбу для минерализации пипеткой вносят 10÷20 мл фильтрата, приливают 10 мл концентрированной серной кислоты и добавляют таблетку-катализатор на основе серноокислой меди или 1 мл пергидроля. Колбу помещают в гнездо установки по минерализации. Далее проводят определение содержания НБА согласно описанию.

Содержание НБА вычисляют по формуле 11 (в %):

$$X_{\text{НБА}} = \frac{2 \cdot 100 \cdot (V_1 - V_2) \cdot K \cdot 0,00028 \cdot V_3 \cdot V_4}{m \cdot V_5 \cdot V_6} \quad (11)$$

Где : V_1 - количество 0,1 н раствора КОН, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

V_2 - количество 0,1 н раствора КОН, израсходованного на титрование в рабочем опыте, мл;

V_3 - объем мерной колбы, в которой готовилась вытяжка, мл;
 V_4 - общий объем минерализата (10÷20), мл;
 V_5 - объем минерализата, взятого на отгонку, мл;
 V_6 - объем фильтрата, взятого на титрование, мл;
0,00028- количество азота, эквивалентное 1 мл 0,1 н раствора КОН,
г/мл;

2- коэффициент, учитывающий разведение трихлоруксусной кислотой;

м- масса навески, гр;

К- поправочный коэффициент для 0,1 н раствора КОН.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0.5 %.

Вычисление проводят до второго десятичного знака.

5.6. Определение содержания азота летучих оснований методом титрования

Одним из результатов порчи сырья является расщепление белка, сопровождающееся образованием летучих азотистых соединений, придающих мясу специфический запах и привкус. Содержание азотистых летучих оснований (АЛО) как показатель может быть использовано для оценки степени свежести сырья.

Вытяжку для определения АЛО подготавливают аналогично определению ВА. Для отгона АЛО собирают установку, изображенную на рис. 1.2.

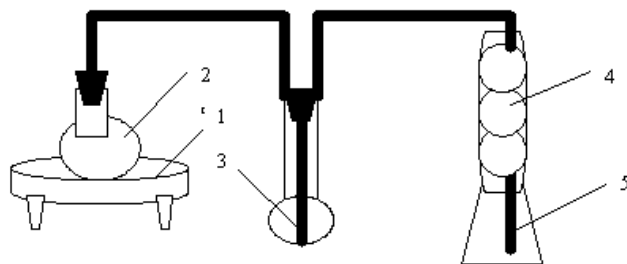


Рис. 1 — Схема отгоночной установки: 1 — электроплитка, 2 — парообразователь, 3 — дистилляционная колба-реактор, 4 — холодильник, 5 — колба-приемник.

В колбу-приемник (коническая или круглая колба емкостью 250 мл) вносят 20 мл 0,02 н раствора серной кислоты и 5-6 капель смешанного индикатора. Колбу-приемник устанавливают под холодильник таким образом, чтобы кончик трубки холодильника был погружен в раствор кислоты.

ВНИМАНИЕ: перед проведением анализа необходимо подключить проточную воду к холодильнику.

В дистилляционную колбу-реактор вносят 25-50 мл вытяжки фарша, 15-20 мл 5 %-ого раствора $Mg(OH)_2$ (магнезиальное молоко) для разрушения солей аммония. Колбу закрепляют на штативе.

В парообразователь (круглая плоскодонная колба емкостью 500 мл) вносят 250-350 мл дистиллированной воды и его устанавливают на электро-

плитку.

Отгонку проводят до объема дистиллята в колбе-приемнике 100 мл. По окончании отгона избыток кислоты оттитровывают 0,02 н раствором КОН до перехода окраски из фиолетовой в грязно-голубую (цвет морской волны).

Для проведения контрольного опыта необходимо 20 мл 0,02 н раствора серной кислоты в присутствии 5-6 капель смешанного индикатора оттитровать 0,02 н раствором КОН. Количество АЛО вычисляют по формуле 12 (в мг/100 г):

$$X_{\text{АЛО}} = \frac{100 \cdot (V_1 - V_2) \cdot K \cdot 0,00028 \cdot V_3}{m \cdot V_4} \quad (12)$$

Где : V_1 - количество 0,02 н раствора КОН, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

V_2 - количество 0,02 н раствора КОН, израсходованного на титрование в рабочем опыте, мл;

V_3 - объем мерной колбы, в которой готовилась вытяжка, мл;

V_4 - объем минерализата, взятого на отгонку, мл;

0,00028- эквивалентное количество азота, соответствующее 1 мл 0,02 н раствора КОН;

m- масса навески, гр;

K- поправочный коэффициент для 0,02 н раствора КОН.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5.7. Определение содержания водорастворимого азота (ВА)

Соединения, содержащие пептидную связь, дают сине-фиолетовое окрашивание при действии сульфата меди в щелочном растворе (биуретовая реакция).

Фарш в количестве 20 г взвешивают с точностью до 0.01 г, гомогенизируют или растирают в фарфоровой ступке с 40 мл холодной дистиллированной воды, количественно переносят в мерную колбу объемом 200 мл, доливают холодной дистиллированной водой до 3/4 объема колбы и перемешивают на перемешивающем устройстве в течение 30 минут. После перемешивания объем мерной колбы доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют через 3-4 слоя марли.

К 2 мл полученного фильтрата добавляют 8 мл биуретового реактива и выдерживают при комнатной температуре 30 минут. Затем на фотокалориметре при длине волны $\lambda=540$ нм определяют оптическую плотность подготовленной смеси по отношению к контрольной пробе. Контрольную пробу подготавливают следующим образом: к 2 мл дистиллированной воды добавляют 8 мл биуретового реактива.

Содержание ВА определяют по формуле 13 (в %):

$$X_{BA} = 100 \cdot V \cdot C / m \cdot V_1 \cdot 1000 \quad (13)$$

- где V — объем мерной колбы, мл;
 V_1 — объем фильтрата, взятого на биуретовую реакцию;
 C — концентрация белка, определенная по калибровочному графику, мг/мл;
100 — пересчет на проценты;
1000 — пересчет концентрации белка в г.

Калибровочный график строят следующим образом: 1 г альбумина растворяют в 100 мл дистиллированной воды (в 1 мл раствора содержится 10 мг белка), из полученного раствора в отдельные пробирки отбирают 0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2,0 мл, добавляют по 8 мл биуретового реактива и выдерживают в течение 30 минут. Затем на фотокалориметре ($\lambda=540$ нм) определяют оптическую плотность полученных растворов. По результатам измерений строят график зависимости оптической плотности от концентрации белка.

5.8 Определение массовой доли жира экстракционным методом в аппарате Сокслета по ГОСТ 7636-85

Измельченную пробу массой $2 \div 5$ г, отвешенную с точностью не более 0,001 г, высушивают при температуре $100 \div 105$ °С (см, работа № 1, п, 3,2) и количественно переносят в пакет из фильтровальной бумаги размерами 8x9 см. Стенки бюксы протирают кусочком ваты, смоченном в растворителе, вату присоединяют к навеске в пакет. Пакет с навеской закрывают сгибанием открытого конца и перевязывают ниткой. Снаружи пакет нумеруют графитовым (простым) карандашом, помещают в ту же бюксу и высушивают до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре $100 \div 105$ °С. Высушенный пакет с пробой помещают в экстрактор 1 аппарата Сокслета. В экстрактор можно поместить несколько пакетов при условии, что в процессе экстракции все пакеты будут погружены в растворитель и хорошо им омыты. В колбу со шлифом 2 объемом 500 мл заливают растворитель в количестве $1,2 \div 1,3$ от емкости экстрактора, но не более 300 мл, колбу с растворителем соединяют с нижней частью экстрактора. Верхнюю часть экстрактора соединяют с холодильником 3 с водяным охлаждением. Конструкцию устанавливают на нагревательную поверхность, закрепляют на штативе, включают вентилем подачу холодной воды и нагревательное оборудование (электроплитку).

Экстракцию жира проводят в течение $10 \div 12$ часов. Интенсивность нагрева должна быть такой, чтобы в течение одного часа происходило не менее $5 \div 6$ и не более $8 \div 10$ сливаний растворителя. Окончание экстракции проверяют нанесением капли стекающего из экстрактора растворителя на часовое стекло. После испарения растворителя на стекле не должно остаться жирного пятна.

По окончании экстракции пакет помещают в ту же бюксу и в течение $20 \div 30$ минут выдерживают в вытяжном шкафу для удаления растворителя. Затем высушивают в шкафу в течение $1 \div 3$ часов при температуре $100 \div 105$

°С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,001 г.

Массовую долю жира вычисляют по формуле 14 (в %):

$$X_{\text{Ж}} = \frac{(M_1 - M_2) * 100}{m} \quad (14)$$

где: M_1 - масса высушенных бюксы, пакета и образца до экстракции, г;

M_2 - масса высушенных бюксы, пакета и образца после экстракции, г;

m - масса исследуемого образца, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5.9. Определение содержания летучих жирных кислот

Летучие жирные кислоты (ЛЖК) характеризуют степень свежести мяса. Мясо считается свежим, если содержание ЛЖК менее 16 мг КОН/100 г, сомнительной свежести при содержании ЛЖК от 16 до 36 мг КОН/100 г, не-свежим при содержании ЛЖК более 36 мг КОН/100 г.

Анализ осуществляют на установке для перегонки (рис. 1.2). Под холодильник подставляют пустую коническую колбу-приемник объемом 250 мл. В парообразователь (колба емкостью 500 мл) приливают 250-300 мл дистиллированной воды и устанавливают на электроплитку. В круглодонную колбу-реактор вносят навеску фарша массой 25 г, приливают 150 мл 20 г/дм³ раствора серной кислоты и колбу реактор закрепляют на штативе.

ВНИМАНИЕ: перед проведением анализа необходимо подключить проточную воду к холодильнику.

Отгонку проводят до образования дистиллята в колбе-приемнике 150 мл. Образовавшийся дистиллят титруют 0.1 н раствором КОН в присутствии 3-4 капель индикатора фенолфталеина до появления малиновой окраски, не исчезающей в течение 30 с. Параллельно при тех же условиях проводят контрольный опыт.

Количество ЛЖК вычисляют по формуле 15 (в мг КОН/100 г):

$$X_{\text{ЛЖК}} = 4 * (V - V_1) * K * 5.61 \quad (15)$$

где V — объем 0.1 н раствора КОН, пошедшего на титрование в рабочем опыте, мл;

V_1 — объем 0.1 н раствора КОН, пошедшего на титрование в контрольном опыте, мл;

K — поправочный коэффициент к титру 0.1 н раствора КОН;

4 — пересчет количества ЛЖК на 100 г фарша;

5,61 — количество КОН, содержащееся в 1 мл 0.1 н раствора, мг.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5.10 Определение содержания минеральных веществ

Метод определения содержания минеральных веществ основан на полном сжигании органических соединений, удалении продуктов их сгорания и установлении оставшейся минеральной составной части.

Навеску исследуемого образца массой 5-7 г взвешивают в предварительно прокаленном до постоянной массы и взвешенном фарфоровом тигле с точностью до 0,0001 г. Тигель с навеской устанавливают на электроплитку, обугливают до полного прекращения выделения дыма, затем помещают в муфельную печь и прокаливают при температуре 500-550 °С.

Прокаливание продолжают до тех пор, пока зола, окрашенная в белый, сероватый или желтоватый цвет, не будет иметь темных частиц несгоревшего угля.

Прокаленный тигель с золой охлаждают и взвешивают на аналитических весах с точностью до 0,0001 г.

Массовую долю минеральных веществ вычисляют по формуле 16 (в %):

$$X_{\text{в}} = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 100}{(m - m_1)} \quad (16)$$

где: m_1 - масса пустого тигля, г;

m_2 - масса тигля с золой после прокаливания, г;

m - масса тигля с образцом до прокаливания, г;

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5.11. Определение содержания поваренной соли аргентометрическим методом по ГОСТ 13830-84

Для определения содержания поваренной соли в продукте предварительно готовят 10 %-ную водную вытяжку: 2÷3 г измельченного исследуемого образца помещают в предварительно взвешенную мерную колбу объемом 200÷300 мл (m_1), колбу с пробой взвешивают (m_2), заполняют на 2/3 объема дистиллированной водой и устанавливают на перемешивающее устройство с периодом колебаний 40÷60 кол/мин при температуре нагрева 40÷50 °С. перемешивают в течение 20÷25 минут, охлаждают до температуры окружающего воздуха и колбу доливают дистиллированной водой до метки. Полученную вытяжку фильтруют через бумажный фильтр. В коническую колбу объемом 100 мл мерной пипеткой отбирают 10÷25 мл фильтрата в зависимо-

сти от предполагаемой солености, добавляют 2÷3 капли насыщенного раствора хромовокислого калия и титруют 0,1 н раствором нитрата серебра до появления осадка красно-бурого цвета. При необходимости фильтрат нейтрализуют 0,01 н раствором бикарбоната калия в присутствии индикатора фенолфталеина до обесцвечивания или 0,01 н раствором уксусной кислоты в присутствии индикатора паранитрофенола до появления слабо-желтой окраски. Содержание поваренной соли вычисляют по формуле 17 (в %):

$$X = \frac{100 \cdot V_1 \cdot B \cdot K \cdot V_2}{(M_2 - M_3) \cdot V_3} \quad (17)$$

где: V_1 - количество 0,1 н раствора $AgNO_3$, израсходованного на титрование, мл;

V_2 - объем мерной колбы, мл;

V_3 - объем фильтрата, взятого на титрование, мл;

B- количество NaCl, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора $AgNO_3$, B = 0,00585 г/мл;

K - поправочный коэффициент для 0,1 н раствора $AgNO_3$.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2 %.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

5.12 Анализ результатов исследований химических показателей

Анализ изучения химического состава объектов исследования оформляется в виде сводной таблицы 1.5.

После табл. 1.5 приводится вывод, в котором анализируются полученные данные и указывается к какому виду рыб (низкобелковым, белковым, высокобелковым, маложирным, жирным, высокожирным) относится данный вид рыбы.

Таблица 5

Химический состав и энергетическая ценность исследуемых объектов

Объект исследования	Содержание, %				Энергетическая ценность	
	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	минеральных веществ (Мв)	ккал	кДж

Энергетическую ценность или калорийность определяют по формуле 18:

$$Q = B \cdot K_1 \cdot x + Ж \cdot K_2 \cdot y + У \cdot K_3 \cdot z \quad (18)$$

где: Б,Ж,У - содержание белка, жира, углеводов в сырье или продукте, %;

K_1, K_2, K_3 - количество энергии, выделяемой при окислении 1 г белка —

16,7 кДж/г (4,0 ккал/г), 1 г жира — 37,7 кДж/г (9,0 ккал/г), 1 г углеводов — 16,7 кДж/г (4,0 ккал/г) соответственно;

х, у, z - коэффициенты усвояемости: белка — 0,96, жира — 0,91, углеводов — 0,95 (в долях) соответственно.

Результаты исследований химических показателей исходного и модифицированного фаршей вносят в таблицу 1.6.

Таблица 6

Изменение содержания азотистых веществ в процессе консервации

Наименование показателя	Ед. измерения	Значение показателя	
		в исходном сырье	в консервированном сырье
ОА	%		
НБА	%		
БА	%		
ФТА	мг/100 г		
ВА	%		
АЛО	мг/100 г		
НБА/ОА	—		
ФТА/ОА	—		

На основании результатов исследований делают выводы. Лабораторная работа заканчивается моделированием технологической схемы.

6. Вопросы для самоконтроля

1. Способы охлаждения, техника и режимы процесса охлаждения. Совершенствование технологии охлаждения мясного сырья?

2. Анализ способов и режимов замораживания с точки зрения влияния на качество мясного сырья?

3. Процесс размораживания?

4. Процессы, протекающие в мясе при охлаждении, замораживании, размораживании?

5. Классификация сырья животного происхождения, ВБР и пищевых продуктов по группам и назначениям?

6. Пищевая и биологическая ценность сырья животного происхождения, ВБР, птицы?

7. Посмертные изменения мяса теплокровных животных, ВВБР? Биохимические изменения, протекающие при этом?

Лабораторная работа № 2.

Научно-практические основы производства соленой, копченой продукции из сырья животного происхождения, ВБР и формованных продуктов (колбасных изделий)

Цель работы: изучить научно-практические основы производства соленой, копченой продукции из сырья животного происхождения, ВБР и формованных продуктов (колбасных изделий).

Задачи:

1. Определить органолептические и физико-химические показатели сырья (химический состав и содержание азотистых веществ, водоудерживающей способности);
2. Изготовить опытный образец продукции (вяленой, соленой, копченой, формованной и т.п.);
3. Установить отходы и потери при изготовлении готовой продукции из сырья животного происхождения и ВБР;
4. Определить органолептические и физико-химические показатели готовой продукции (химический состав и содержание азотистых веществ, водоудерживающей способности);
5. . Моделирование технологической схемы.

Объекты исследования: рыба, птица, мясо, фарш, готовая продукция

Методы исследования.

Определение органолептических показателей качества сырья, полуфабриката, готового продукта проводятся в соответствии с требованиями ГОСТ 7631, ГОСТ 21784, ГОСТ 9959, ГОСТ 25011 [4,5,6,7].

Определение физико-химических показателей — содержание воды, белка, жира, минеральных веществ, водоудерживающей способности фарша (ВУС), ФТА, ОА осуществляется в соответствии с требованиями с ГОСТ 7636.

При определении содержания НБА, АЛО применяют методику Лазаревского.

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- - доска разделочная;
- - нож разделочный;
- - линейка;
- - мясорубка бытовая по ГОСТ 4025-78;
- - ножницы;

- - фильтровальная бумага по ГОСТ 12026-76;
- лакмусовая бумага;
- - гири массой 1 кг;
- - бумага калечная (калька);
- - пластины из плестиглаза или стеклопластика;
- - часы;
- - шкаф сушильный по ГОСТ 13474-79;
- - весы аналитические класса 4 с пределом измерения от 0 до 100 г по ТУ 25-06-1131-75;
- - весы технические лабораторные класса 1 с пределом измерения от 0 до 1000 г;
- - установка для минерализации органических веществ;
- - аппарат для отгонки паров аммиака;
- - аппарат экстракционный (аппарат Сокслета);
- - перекись водорода (х. ч.) по ТУ 6-09-4211-85;
- - смешанный индикатор (Таширо);
- - H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, 0,02 н раствор;
- - H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, 20 г/дм³ раствор;
- - H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, конц.;
- - NaOH ч. д. а. по ГОСТ 4328-77, прокипяченный 33 %-ный раствор;
- - KOH ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0,02 н раствор;
- - KOH ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0,1 н раствор;
- - MgO ч. по ГОСТ 4526-75, 5 %-ный раствор (магнезиальное молоко)
- - нейтральный красный (нейтральрот) х. ч. по ТУ 6-09-1704-89 и метиловый синий х. ч. по ТУ 6-09-07-1341-87 (индикатор № 1);
- - тимоловый синий ч. д. а. по ТУ 6-09-5437-90 и фенолфталеин ч. д. а. по ГОСТ 5850-72 (индикатор № 2);
- - биуретовый реактив;
- фенолфталеин;
- - формалин х. ч. или ч., 40 %-ный раствор;
- - трихлоруксусная кислота х. ч., 5 %-ный раствор;
- - вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- - вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

2. Определение органолептических показателей качества сырья, п/ф, готовой продукции в сравнении с требованиями соответствующей ТД.

Определение качества сырья является ответственной и трудоемкой операцией во всех технологических процессах, так как его качество во многом предопределяет питательную ценность, вкусовые свойства, товарный вид, а часто и безвредность производимого из данного сырья продукта. Основными показателями качества согласно требованиям стандартов являются

его органолептические свойства, влагоудерживающая способность фаршей (ВУС), химические показатели. Органолептические, физико-химические показатели сырья установить в соответствии с пунктом 4 и 5 лабораторной работы № 1. Результаты исследований представить в виде таблиц 1-2.

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей качества сырья

Показатель	Характеристика показателя	
	по стандарту	исследуемого образца
Внешний вид		
Консистенция		
Цвет		
Запах		
Значение ВУС фарша (для колбас), %		

На основании данных таблицы делают выводы.

Таблица 2

Химический состав и энергетическая ценность исследуемых объектов

Объект исследования	Содержание, %			
	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	минеральных веществ (Мв)

Энергетическую ценность или калорийность определяю как в лабораторной работе № 1 пункт 5.12.

На основании данных таблицы делают выводы.

При изготовлении образцов готовой продукции исследуют органолептические показатели солевых растворов, используемых для производства готовой продукции, данные представить в виде таблицы 3.

Таблица 3

Органолептические показатели качества солевого раствора

Наименование показателя	Солевой раствор
цвет	
запах	
содержание соли, %	
плотность солевого раствора, г/м ³	

На основании данных таблицы делают выводы.

При изготовлении образцов готовой продукции устанавливают показатель – буферность, характеризующие степень созревания продукта или п/ф, по ниже следующее методике.

2.1 Определение буферности

10 гр фарша, взвешенного с точностью до 0,01гр, тщательно растирают в ступке пестиком с холодной дистиллированной водой(5-10 мл).

Смесь количественно переносят кипящей дистиллированной водой в мерную колбу на 100 мл и доливают той же водой до 2/3 объема. Содержимое колбы хорошо перемешивают и выдерживают в кипящей водяной бане в течении 5 минут, охлаждают, доводят до метки холодной дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют.

В две колбы отбирают по 10 мл фильтрата. В одну колбу приливают 3 капли 1 % раствора фенолфталеина и жидкость титруют 0,1 н раствором едкой щелочи до слабо-розовой окраски. В другую приливают 10 капель 1 % раствора тимолфталеина и титруют той же щелочью до ярко-голубой окраски.

Буферность в градусах вычисляют:

$$X=(V1-V2)*K*100, \quad (1)$$

где: V1- объем щелочи, пошедшей на титрование с фенолфталеином, мл;

V2- объем щелочи, пошедшей на титрование с тимолфталеином, мл;

K- поправочный коэффициент к щелочи;

100- условный коэффициент для перевода в градусы.

2. Изготовление опытных образцов готовой продукции

Изготовление опытных образцов готовой вяленой, копченной продукции выполняют в соответствии с заданием руководителя согласно технической документации (ТИ) для данного ассортимента продукции.

При изготовлении соленой, вяленой или копченной продукции в процессе посола устанавливают содержание соли в п/ф каждые 15 минут, с целью установления продолжительности посола. Данные представить в виде графика зависимости содержания соли в сырье от продолжительности посола. Также устанавливают значение буферности соленого п/ф.

В процессе частичного обезвоживания или термической обработки п/ф в зависимости от ассортимента продукции (вяление, копчение и т.п.) устанавливают содержание воды в п/ф каждые 15 минут, с целью установления продолжительности обработки. Данные представить в виде графика зависимости содержания воды в сырье от продолжительности обработки.

В процессе обработки соленого п/ф устанавливают изменения содержания азотистых вещества в процессе консервирования солью и термической обработкой и/или обезвоживанием и оформляют в виде таблицы 4.

Таблица 4

Изменение содержания азотистых веществ в процессе консервации

Наименование показателя	Ед. измерения	Значение показателя		
		в исходном сырье	в соленом п/ф	в готовом продукте
ОА	%			
НБА	%			
ФТА	мг/100 г			
АЛО	мг/100 г			
НБА/ОА	—			
ФТА/ОА	—			

Органолептические, физико-химические показатели готовой продукции установить в соответствии с пунктом 4 и 5 лабораторной работы № 1. Результаты исследований представить в виде таблиц 5-6.

Таблица 5

Сравнительная характеристика показателей качества готовой продукции

Показатель	Характеристика показателя	
	по стандарту	исследуемого образца

На основании данных таблицы делают выводы.

Таблица 6

Химический состав и энергетическая ценность исследуемых объектов

Объект исследования	Содержание, %				Энергетическая ценность	
	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	минеральных веществ (Мв)	ккал	кДж

Энергетическую ценность или калорийность определяю как в лабораторной работе № 1 пункт 5.12.

На основании данных таблицы делают выводы.

Далее представлена технологическая схемы производства сырокопченых колбас.



Рисунок 1 - Технологическая схема изготовления сырокопченой колбасы

В качестве сырья для изготовления сырокопченой колбасы используют мороженные пищевые фарши из сырья животного происхождения, ВБР и птицы, мороженные субпродукты (печень и сердце), и вспомогательные материалы.

Размораживание сырья проводят при температуре окружающей среды до достижения температуры в центре блока не ниже -1°C .

Субпродукты промывают в чистой проточной воде с температурой не выше 15°C .

Бланширование субпродуктов осуществляют паром при температуре 80°C продолжительностью 10 минут. Бланширование субпродуктов осуществлялось без измельчения. Затем бланшированные субпродукты измельчают до фаршеобразного состояния.

Все компоненты рецептуры (табл. 7) тщательно перемешивались для равномерного их распределения.

**Рецептура фаршевой смеси с добавлением бланшированных куриных субпродуктов
для изготовления сырокопченой рыбной колбасы**

Наименование компонента	Соотношение ингредиентов	
	%	г
фаршевая смесь с добавлением куриных субпродуктов	94,52	1214,26
соль поваренная	2,8	35,97
перец чёрный молотый	0,1	1,28
перец красный	0,05	0,64
мускатный орех	0,03	0,38
салями Star №2	1,6	20,55
итого	100	1284,65

Натуральные оболочки (солёные говяжьи кишки) промывают в холодной воде, затем для придания эластичности, ополаскивались тёплой водой с температурой 35-40⁰С.

Приготовленную колбасную смесь аккуратно шприцуют, для придания необходимой плотности, затем каждый батон перевязывают капроновой ниткой.

В дальнейшем осуществляют процесс осадки, который способствуют восстановлению химических связей между молекулами составных частей фаршевой смеси, разрушенных при измельчении и шприцевании, что обычно сопровождается увеличением доли прочносвязанной воды в системе. Для уплотнения фаршевой смеси процесс осадка в оболочке осуществляют продолжительностью 4 часа.

Для созревания опытных образцов колбасных изделий, батоны выдерживают при специальных температурных условий (26 ⁰С), при влажности в камере 94 %. В процессе созревания колбасных батонов контролируют снижение рН, до уровня не выше 5,0, после чего батоны были перевешивают в копильную камеру с температурой 18 ⁰С при влажности дымовоздушной смеси 82 % на срок 5 суток. Затем полуфабрикаты были направляют на сушку. Температура воздуха в сушильных камерах поддерживают 14 ⁰С влажностью 76 % продолжительностью 5 суток.

Хранение готовых колбасных изделий осуществлялось при температуре не выше 8 ⁰С с момента завершения технологического процесса.

Для изготовления образцов колбас варено-копченых фарш пищевой размораживают на воздухе до достижения температуры в центре блока -1 ⁰С.

Вспомогательные ингредиенты (маргарин, яйца, чеснок и т.д) согласно рецептуре (табл.8) , используемые при изготовлении колбас подготавливались в соответствии с «Общей технологической инструкцией №2 по подготовке материалов для кулинарных изделий».

Рецептура образца колбасы рыбной варено-копченой рыбной

Наименование компонента	Соотношение ингредиентов
фарш пищевой рыбный из серебряного карася двукратной промывки	99,7
маргарин	5,5
яйца	5,0
чеснок	0,5
мука	4,0
соль пищевая поваренная	1,5
перец черный горький	0,08
перец душистый	0,06
фосфаты	0,18
вода	9,0

Тщательно перемешанную фаршевую смесь загружают в устройство, оснащенное шприцем. Один конец подготовленной оболочки плотно завязывались шпагатом, другой надевался на конец шприца. Наполнение оболочки фаршевой смесью проводилось медленно и аккуратно во избежание разрыва оболочки.

Для осадки фаршевой смеси в оболочке, образцы колбас выдерживают в течение 30 минут при температуре 15 °С.

Подготовленные таким образом батоны колбасы направляют на подсушивание при температуре 30 °С продолжительностью 30 минут. Затем образцы колбас проваривают при температуре 50 °С продолжительностью 30 минут. при этом устанавливают содержание воды и изменение содержания. Копчение осуществляют в коптильной камере при температуре 70 °С продолжительностью 30 минут. При этом устанавливают содержание воды и изменение содержания азотистых веществ в процессе термической обработки, данные заносят в таблицу 9. Готовые образцы колбас были охлаждены до температуры не выше 8 °С.

Таблица 9

Изменение содержания азотистых веществ и воды п/ф колбас в процессе термической обработки

Наименование показателя	Ед. измерения	Значение показателя	
		в исходном сырье	в готовом продукте
ОА	%		
НБА	%		
ФТА	мг/100 г		
АЛО	мг/100 г		
НБА/ОА	—		
ФТА/ОА	—		

Органолептические, физико-химические показатели готовой продукции установить в соответствии с пунктом 4 и 5 лабораторной работы № 1. Результаты исследований представить в виде таблиц 5-6.

3. Установление отходов и потерь при изготовлении готовой продукции из сырья животного происхождения и ВБР

К видам пищевых продуктов физико-химического консервирования относится соленая, вяленая и холодно-копченая продукция. Исходя из заданного вида сырья, ассортимента готового продукта и сменной (суточной) производительности выбирают технологическую схему производства, составляют карту движения сырья и полуфабриката, продуктовый баланс, определяют потребное количество вспомогательных материалов, подбирают и рассчитывают необходимое количество технологического оборудования и выполняют агрегатные расчеты основного оборудования. Материальные расчеты, подбор и расчет количества оборудования осуществляют, руководствуясь утвержденными или установленными в ходе исследований нормами отходов и потерь

После выбора технологической схемы, составляют карту движения сырья и полуфабриката по технологическим операциям, для чего необходимо знать коэффициент расхода сырья на единицу готового продукта утвержденную норму отходов и потерь заданного ассортимента, а также сменное (суточное) задание. Определение движения сырья и полуфабриката по технологическим операциям в час позволяет произвести расчет необходимого количества оборудования. Для проведения расчета данные о нормах отходов и потерь обрабатываемого сырья на каждой технологической операции необходимо взять из действующего приказа или полученные в результате исследовательской работы по разработке нового ассортимента продукта с установлением норм отходов и потерь. Расчет сводится к установлению образующихся отходов и потерь на операциях при выпуске единицы готовой продукции (100 кг, туб), в час, в смену (в сутки).

При расчете необходимо учитывать, что нормы отходов и потерь приведены в про- центах по отношению к массе сырья (полуфабриката), поступившего на данную операцию, а истинное количество потерь (отходов) в кг определяется по формуле 2:

$$M_i = M_{i-1} \Pi / 100 \quad (2)$$

где M_{i-1} — количество поступившего на операцию сырья, кг;

M_i — истинное количество потерь или отходов, кг;

Π — норма потерь (отходов), %.

Количество поступившего на следующую операцию сырья (полуфабриката) тогда будет равен (формула 3):

$$M_{i+1} = M_{i-1} - M_i \quad (3)$$

С использованием данных составленной карты (табл.10) определяется продуктовый баланс сырья, поступившего в производство, и готового продукта, отходов, суммы потерь, образуемых в процессе производства (табл. 11), на основании полученных результатов составить нормы отходов, потерь, выхода готовой продукции и расхода сырья при производстве готового продукта.

Таблица 10

Карта движения сырья (полуфабриката) при производстве сома мороженого разделанного на кусок

Наименование технологической операции	% отходов и потерь	Движение сырья и п/фабриката по операциям, кг							
		на 100 кг		в час		в смену		в сутки	
		поступило	отходы, пот.	поступило	отходы, пот.	поступило	отходы, пот.	поступило	отходы, пот.

Таблица 11

Продуктовый баланс производства сома мороженого разделанного на кусок на 100 кг готового продукта

Движение сырья	кг	%	Движение сырья	кг	%
Поступило в производство		100.0	Выход готового продукта		
			Сумма потерь		
			Сумма отходов		
Итого		100.0	Итого		100.0

На основании результатов исследований делают выводы. Лабораторная работа заканчивается моделированием технологической схемы.

4. Вопросы для самоконтроля

1. Виды и способы посола мяса, применяемые при производстве колбасных изделий и цельномышечных продуктов?
2. Цветообразование мяса при посоле?
3. Посол сырья животного происхождения и ВБР для производства колбас рассолом, с применением вибровоздействий и других интенсифицирующих факторов?
4. Влияние температуры на скорость проникновения посолочных веществ. Способы шприцевания сырья рассолом?
5. Виды, характеристика и свойства колбасных оболочек.
6. Виды и способы тепловой обработки мясопродуктов?
7. Процессы, протекающие в продукте при термообработке?
8. Изменения белков и других компонентов мяса, рыбы, птицы при термической обработке?
9. Обоснование выбора способа и режимов термообработки в зависимости от вида продукции?
10. Копчение мясопродуктов. Способы копчения. Их сущность и назначение?
11. . Факторы, влияющие на состав коптильного дыма. Основные группы коптильных веществ, и их влияние на качество продукции?
12. Хранение готовых продуктов, процессы протекающие при хранении?

Лабораторная работа № 3.

Научно-практические основы переработки молочного сырья в белковые продукты

Цель работы: изучить научно-практические основы переработки молочного сырья в белковые продукты.

Задачи:

1. Изучить органолептические показатели молока, как сырье для производства готовой продукции;
2. Установить физико-химические показатели сырья;
3. Изготовить готовый молочный продукт (творог, сыр, молочные напитки и т.п.);
4. Изучить органолептические показатели готовой продукции;
5. Установить физико-химические показатели готового продукта;
6. Моделирование технологической схемы производства готового продукта.

Объекты исследования: молоко, готовый молочный продукт, творог, сыр.

Методы исследования.

Отбор проб и подготовка их к испытанию осуществлять по ГОСТ 3622.

Определение органолептических показателей качества сырья, полуфабриката, готового продукта проводятся в соответствии с требованиями ГОСТ 31450; ГОСТ 28283; ГОСТ 26809.1; ГОСТ Р ИСО 22935-2; ГОСТ 52054; ГОСТ 31453.

Определение физико-химических показателей в соответствии с требованиями по ГОСТ 3626 определение влаги и сухого вещества; ГОСТ 23327 измерение массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка; ГОСТ 3624- методы определения кислотности; ГОСТ 3625- определение плотности; ГОСТ 5867-определения жира; ГОСТ 8218-определение чистоты; ГОСТ 3627- определение хлористого натрия

Порядок выполнения работы.

1 Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- весы лабораторные 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104;
- центрифуга по ТУ 27-32-26-77;
- шкаф сушильный с терморегулятором, позволяющий поддерживать температуру $(50 \pm 5) ^\circ\text{C}$;

- баня водяная;
- термометр ртутный стеклянный с диапазоном измерения 0-100 °с и ценой деления 0,1 °с по ГОСТ 28498;
- колбы 1-100-2, 2-100-2, 1-1000-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770;
- колбы п-2-50-34 тс, п-2-100-34 тс, п-2-250-34 тс, п-2-250-50 по ГОСТ 25336;
- стаканы в-1-100 тс, в-1-250 тс по ГОСТ 25336;
- воронки в-36-80 хс по ГОСТ 25336;
- жироскопы стеклянные 1-40; 2-0,5 по ГОСТ 23094 или ТУ 25-2024.019;
- пипетки 1-2-1, 2-2-1, 4-2-1, 2-2-5, 2-2-10, 2-2-20 по ГОСТ 29169;
- цилиндр 1-1-100 по ГОСТ 1770;
- бюретки 6-1-10-0,02, 6-2-10-0,02, 7-1-10-0,02, 7-2-10-0,02 по ГОСТ 29251;
- ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 9147;
- палочки стеклянные;
- штатив лабораторный.;
- пробки для жироскопов;
- бумага фильтровальная по ГОСТ 12026;
- натрия гидроокись стандарт-титр по ту 6-09-2540 раствор молярной концентрации 0,1 моль/дм³;
- фенолфталеин по ту 6-09-5360, 70%-ный спиртовой раствор массовой концентрации фенолфталеина 10 г/дм³;
- кобальт сернокислый, раствор массовой концентрации сернокислого кобальта 25 г/дм по ГОСТ 4462;
- эфир диэтиловый для наркоза по государственной фармакопее ссср х.;
- вода дистиллированная по ;
- спирт этиловый ректификованный;
- ареометры для молока типа ам с ценой деления шкалы 0,5 кг/м³ или типа амт с ценой деления шкалы 1,0 кг/м (далее ареометры) по ГОСТ 18481;
- цилиндры стеклянные для ареометров исполнения 1, наружным диаметром 31, 39 и 50 мм; высотой 215, 265 и 415 мм, соответственно, по ГОСТ 18481;
- термометры ртутные стеклянные лабораторные с диапазоном измерений 0-55°с, ценой деления 0,5 и 1,0°с, группы 4, типов а и б по ГОСТ 28498;
- жироскопы (бутирометры) стеклянные исполнения 1-6, 1-7, 1-40, 2-0,5, 2-1,0 по ГОСТ 23094или ту 25-2024.019;
- пробки резиновые для жироскопов по ту 38-105-1058;
- пипетки 2-1-5, 3-1-5, 6-1-10, 7-1-10 и 2-1-10, 77 ПО ГОСТ 29169;

- груша резиновая;
- центрифуга для измерения массовой доли жира молока и молочных продуктов по нормативно-технической документации; кислота серная по ГОСТ 4204 ;
- спирт изоамиловый по ГОСТ 5830 или спирт изоамиловый технический, сорт а;
- кислота серная концентрированная, плотностью 1,83-1,84 г/см ПО ГОСТ 4204;
- кислота соляная по ГОСТ 3118, раствор концентрации 0,1 моль/дм³;
- кислота борная по ГОСТ 9656;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328;
- калия бромид по ГОСТ 4160;
- калия карбонат по ГОСТ 4221;
- калия гидрокарбонат по ГОСТ 4143;
- калия сульфат по ГОСТ 4145;
- калия перманганат по ГОСТ 20490;
- медь сернокислая, 5-водная по ГОСТ 4165;
- перекись водорода по ГОСТ 10929, раствор с массовой долей 30%;
- ацетон по ГОСТ 2603;
- метиленовый голубой по НД или аналогичный производства индии;
- бриллиантовый зеленый по НД;
- метиловый красный по НД;
- бромкрезоловый зеленый по НД;
- серебро азотнокислое по ГОСТ 1277-75, ч.д.а. $c(\text{AgNO}_3) = 0,1$ моль/дм³;
- калий марганцовокислый (KMnO_4) по ГОСТ 20490-75, ч.д.а. насыщенный раствор (около 75 г/дм).

2. *Определение органолептических показателей качества сырья, п/ф, готовой продукции в сравнении с требованиями соответствующей ТД.*

Определение качества сырья является ответственной и трудоемкой операцией во всех технологических процессах, так как его качество во многом предопределяет питательную ценность, вкусовые свойства, товарный вид, а часто и безвредность производимого из данного сырья продукта. Основными показателями качества согласно требованиям стандартов являются его органолептические свойства и физико-химические показатели. Органолептические показатели устанавливают в соответствии с требованиями ГОСТ и/или другой технической документацией. Результаты исследований представить в виде таблицы 1.

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей качества сырья

Показатель	Характеристика показателя	
	по стандарту	исследуемого образца
Внешний вид		
Консистенция		
Цвет		
Запах		

На основании данных таблицы делают выводы о соответствии сырья требования ТД.

3. Установление физико-химических показателей сырья, п/ф, готовой продукции

3.1 Метод определения кислотности с применением индикатора фенолфталеина

Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором гидроокиси натрия в присутствии индикатора фенолфталеина.

Молоко, молокосодержащий продукт, молочный составной продукт, сливки, простокваша, ацидофилин, кефир, кумыс и другие кисломолочные продукты: в колбу вместимостью 100 до 250 см³ отмеривают дистиллированную воду и анализируемый продукт в объемах, указанных в табл.2, и три капли фенолфталеина. При анализе сливок и кисломолочных продуктов переносят остатки продукта из пипетки в колбу путем промывания пипетки полученной смесью 3-4 раза.

Смесь тщательно перемешивают и титруют раствором гидроокиси натрия до появления слаборозового окрашивания, для молока и сливок, соответствующего контрольному эталону окраски, не исчезающего в течение 1 мин.

Для молочного составного продукта для более точного установления конца титрования рядом с титруемой пробой ставят контрольную колбу с 10 см³ той же пробы молока и 40 см³ дистиллированной воды.

Таблица 2

Наименование продукта	Объем продукта, см ³	Объем дистиллированной воды, см ³
Молоко, молокосодержащий продукт	10	20
Молочный составной продукт	10	40
Сливки	10	20
Простокваша, ацидофилин, кефир, кумыс и другие кисломолочные продукты	10	20

Мороженое, сметана: в неокрашенном мороженом и сметане кислотность определяют следующим образом: в колбе вместимостью 100 или 250 см³ отвешивают 5 г продукта, добавляют 30 см³ воды и три капли фенол-

фталейна. Смесь тщательно перемешивают и титруют раствором гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность окрашенного мороженого определяют следующим образом: отвешивают в колбе вместимостью 250 см³ 5 г мороженого, добавляют 80 см³ воды и три капли фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивают и титруют раствором щелочи до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Для определения конца титрования окрашенного мороженого колбу с титруемой смесью помещают на белый лист бумаги и рядом помещают колбу со смесью: 5 г данного образца мороженого и 80 см³ воды.

Творог и творожные продукты: в фарфоровую ступку вносят 5 г продукта. Тщательно перемешивают и растирают продукт пестиком. Затем прибавляют небольшими порциями 50 см³ воды, нагретой до температуры 35-40 °С и три капли фенолфталеина. Смесь перемешивают и титруют раствором щелочи до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

. Определение кислотности сливочного масла и масляной пасты: в колбе вместимостью 50 и 100 см³ отвешивают 5 г сливочного масла и масляной пасты, нагревают колбу в водяной бане или сушильном шкафу при температуре (50±5) °С до расплавления масла, вносят 20 см³ нейтрализованной смеси спирта с эфиром, три капли фенолфталеина и титруют раствором щелочи при постоянном перемешивании до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность, в градусах Тернера (°Т), находят умножением объема, см³, раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию кислот, содержащихся в определенном объеме продукта, на следующие коэффициенты: 10 - для молока, молочного составного продукта, сливок, простокваши, ацидофильного молока, кефира, кумыса, других кисломолочных продуктов, а также плазмы сливочного масла и масляной пасты; 20 - для мороженого, сметаны, творога и творожных изделий.

Кислотность сливочного масла и масляной пасты и их жировой фазы в градусах Кеттстофера (°К) находят умножением на два объема раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию кислот, содержащихся в 5 г продукта.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округляя результат до второго десятичного знака.

3.2 Ареометрический метод определения плотности

Плотность заготавливаемого коровьего молока, пастеризованного (цельного, белкового, витаминизированного, обезжиренного) и стерилизованного, кисломолочных продуктов определяют при 20°С. Пробу объемом 0,25 или 0,50 дм³ тщательно перемешивают и осторожно, во избежание образования пены, переливают по стенке в сухой цилиндр, который следует

держат в слегка наклонном положении. Цилиндр с исследуемой пробой устанавливают на ровной горизонтальной поверхности и измеряют температуру пробы. Отсчет показаний температуры проводят не ранее, чем через 2-4 мин после опускания термометра в пробу. Сухой и чистый ареометр опускают медленно в исследуемую пробу, погружая его до тех пор, пока до предполагаемой отметки ареометрической шкалы не останется 3-4 мм, затем оставляют его в свободно плавающем состоянии. Ареометр не должен касаться стенок цилиндра.

Первый отсчет показаний плотности проводят визуально со шкалы ареометра через 3 мин после установления его в неподвижном положении. После этого ареометр осторожно приподнимают на высоту до уровня балласта в нем и снова опускают, оставляя его в свободно плавающем состоянии. После установления его в неподвижном состоянии, проводят второй отсчет показаний плотности. При отсчете показаний плотности глаз должен находиться на уровне мениска. Отсчет показаний проводят по верхнему краю мениска.

За среднее значение показаний ареометра при температуре исследуемой пробы молока принимается среднеарифметическое значение результатов двух показаний

3.3 Кислотный метод определения жира

Метод основан на выделении жира под действием концентрированной серной кислоты и изоамилового спирта с последующим центрифугированием и измерении объема выделившегося жира в градуированной части жироскопа.

В два молочных жироскопа (типов 1-6 или 1-7), стараясь не смочить горло, наливают дозатором по 10 см³ серной кислоты (плотностью от 1810 до 1820 кг/м³) и осторожно, чтобы жидкости не смешивались, добавляют пипеткой по 10,77 см³ молока, приложив кончик пипетки к горлу жироскопа под углом. Уровень молока в пипетке устанавливают по нижней точке мениска.

Молоко из пипетки должно вытекать медленно. После опорожнения пипетку отнимают от горловины жироскопа не ранее чем через 3 с. Выдувание молока из пипетки не допускается. Дозатором добавляют в жироскопы по 1 см³ изоамилового спирта.

Уровень смеси в жироскопе устанавливают на 1-2 мм ниже основания горловины жироскопа, для чего разрешается добавлять несколько капель дистиллированной воды.

Жироскопы закрывают сухими пробками, вводя их немного более чем наполовину в горловину жироскопов. Жироскопы встряхивают до полного растворения белковых веществ, переворачивая не менее 5 раз так, чтобы жидкости в них полностью перемешались.

Устанавливают жироскопы пробкой вниз на 5 мин в водяную баню при температуре $(65 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Вынув из бани, жироскопы вставляют в стаканы центрифуги градуированной частью к центру. Жироскопы располагают симметрично, один против другого. При нечетном числе жироскопов в центрифугу помещают жироскоп, наполненный водой вместо молока, серной кислотой и изоамиловым спиртом в том же соотношении, что и для анализа.

Жироскопы центрифугуют 5 мин. Каждый жироскоп вынимают из центрифуги и движением резиновой пробки регулируют столбик жира так, чтобы он находился в градуированной части жироскопа.

Жироскопы погружают пробками вниз на 5 мин в водяную баню при температуре $(65 \pm 2)^\circ\text{C}$, при этом уровень воды в бане должен быть несколько выше уровня жира в жироскопе.

Жироскопы вынимают по одному из водяной бани и быстро производят отсчет жира. При отсчете жироскоп держат вертикально, граница жира должна находиться на уровне глаз. Движением пробки устанавливают нижнюю границу столбика жира на нулевом или целом делении шкалы жироскопа. От него отсчитывают число делений до нижней точки мениска столбика жира с точностью до наименьшего деления шкалы жироскопа.

Граница раздела жира и кислоты должна быть резкой, а столбик жира прозрачным. При наличии "кольца" (пробки) буроватого или темно-желтого цвета, различных примесей в столбике жира или размытой нижней границы измерение проводят повторно.

За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных наблюдений.

Показания жироскопа при измерениях в молоке, в т.ч. нежирном; кисломолочных продуктах, в т.ч. сметане, твороге; сливках (с массовой долей жира не более 40%), сливочном мороженом, пломбире, пахте и сыворотке соответствуют массовой доле жира в этих продуктах в процентах.

Массовую долю жира X %, в молочном мороженом и сыре вычисляют по формуле

$$X = \frac{P \cdot 11}{M}, \quad (1)$$

в сливках с массовой долей жира более 40% и в масле с наполнителями по формуле:

$$X = \frac{P \cdot 5}{M}, \quad (2)$$

Массовую долю жира в сыре и сырном продукте в пересчете на сухое вещество X_1 %, вычисляют по формуле:

$$X_1 = \frac{X \cdot 100}{100 - B}, \quad (3)$$

где М - массовая доля влаги в сыре и сырном продукте, определенная в соответствии с ГОСТ 3626, %; 100 - коэффициент пересчета массовой доли жира на 100 г продукта.

3.4 Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка

В колбу Кьельдаля или пробирку помещают несколько отрезков стеклянных трубок и 10 г смеси солей.

В стаканчик для взвешивания отмеряют 1 см³ продукта, крышку закрывают и взвешивают. Продукт переливают в колбу Кьельдаля или пробирку. Пустой стаканчик с крышкой вновь взвешивают и по разнице между массой стаканчика с молоком и массой пустого стаканчика устанавливают массу взятого продукта.

В колбу Кьельдаля или пробирку добавляют 10 см³ серной кислоты и 10 см³ перекиси водорода или 0,5 г перманганата калия.

. Колбу помещают в гнездо установки по минерализации «Vapodest-30».

ВНИМАНИЕ: установку включают только после заполнения всех 6 гнезд колбами с пробами.

Процесс минерализации заканчивают, когда в колбе образуется прозрачная жидкость голубого цвета или бесцветная (в случае использования в качестве катализатора перекиси водорода). Колбу Кьельдаля или пробирку с полученным минерализатом охлаждают на воздухе до комнатной температуры.

Измерение массовой доли общего азота химическим способом с индикацией точки эквивалентности по изменению окраски индикатора проводят в следующей последовательности.

В колбу Кьельдаля или пробирку с минерализатом добавляют 20 см³ дистиллированной воды и тщательно перемешивают круговым движением до растворения осадка.

Нагревают воду в колбе-парообразователе до кипения. Колбу Кьельдаля или пробирку присоединяют к перегонному аппарату.

В коническую колбу вместимостью 250 см³ отмеривают мерным цилиндром 20 см³ смеси раствора борной кислоты с раствором индикатора.

Отмеряют мерным цилиндром 50 см³ раствора гидроокиси натрия и осторожно, не допуская выбросов, переливают его через делительную воронку в колбу Кьельдаля или пробирку.

Перегонку ведут до достижения объема конденсата 90-120 см³ (время перегонки - 5-10 мин). Температура воды на выходе из холодильника не должна превышать 25 °С.

Содержимое конической колбы с раствором индикатора, борной кислоты и конденсатом титруют раствором соляной кислоты концентрацией 0,2 моль/дм³ до изменения цвета, указанного в таблице 3.

Изменение цвета раствора при титровании с различными индикаторами

Индикатор	Цвет раствора		
	Исходный	В точке эквивалентности	При избытке титранта
Метиленовый голубой	Зеленый	Серый	Фиолетовый
Бромкрезоловый зеленый и бриллиантовый зеленый	Зеленый	Серо-желтый	Красный

Массовую долю общего азота X , %, при химическом способе измерения вычисляют по формуле

$$X = \frac{1,4 \cdot (V_1 - V_2) \cdot c}{m}, \quad (4)$$

где V_1 - объем кислоты, затраченный на титрование, см^3 ;

V_2 - объем кислоты, затраченный на титрование при контрольном измерении, см^3 ;

c - концентрация соляной кислоты, $\frac{\text{моль}}{\text{дм}^3}$;

m - масса навески продукта, г;

1,4 - коэффициент пересчета объема кислоты в массовую долю общего азота,

$\frac{\% \cdot \frac{\text{г} \cdot \text{дм}^3}{\text{моль} \cdot \text{см}^3}}$.

Массовую долю белка Y , %, определяют по формуле

$$Y = 6,38X, \quad (5)$$

где 6,38 - масса молочного белка, эквивалентная единице массы общего азота.

3.5 Определение сухого вещества и влаги

Стеклянную бюксу с 20-30 г хорошо промытого и прокаленного песка и стеклянной палочкой, не выступающей за края бюксы, помещают в сушильный шкаф и выдерживают при 102 ± 2 °C в течение 30-40 мин. После этого бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе 40 мин и взвешивают с погрешностью не более 0,001 г. В эту же бюксу пипеткой вносят 10 см^3 молока, эмульсионного ликера, или 5-10 г мороженого или 3-5 г сыра, творога, творожных изделий, взвешенных с погрешностью не более 0,001 г, закрывают крышкой и немедленно взвешивают.

Затем содержимое тщательно перемешивают стеклянной палочкой и открытую бюксу нагревают на водяной бане, при частом перемешивании содержимого до получения рассыпающейся массы. Затем открытую бюксу

и крышку помещают в сушильный шкаф с температурой (102 ± 2) °С. По истечении 2 ч бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе 40 мин и взвешивают.

Последующие взвешивания производят после высушивания в течение 1 ч до тех пор, пока разность между двумя последовательными взвешиваниями будет равна или менее 0,001 г. Если при одном из взвешиваний после высушивания будет найдено увеличение массы, для расчетов принимают результаты предыдущего взвешивания.

Массовую долю сухого вещества $C, \%$, вычисляют по формуле:

$$C = \frac{(m_1 - m_0) \cdot 100}{m - m_0}, \quad (6)$$

где m_0 - масса бюксы с песком и стеклянной палочкой, г;

m - масса бюксы с песком, стеклянной палочкой и навеской исследуемого продукта до высушивания, г;

m_1 - масса бюксы с песком, стеклянной палочкой и навеской исследуемого продукта после высушивания, г.

3.6 Определение хлористого натрия

На часовом стекле или в бюксе взвешивают от 1,8 до 2,2 г сыра, брынзы или соленых творожных изделий с погрешностью не более 0,001 г и переносят в коническую колбу.

В колбу пипеткой добавляют 25 см³ раствора азотнокислого серебра, затем при помощи градуированного цилиндра приливают 25 см³ азотной кислоты и тщательно перемешивают.

Смесь нагревают в вытяжном шкафу до кипения, добавляют 10 см³ раствора марганцовокислого калия и поддерживают реагирующую смесь в слабокипящем состоянии.

Если реагирующая смесь изменяет окраску от темно-коричневой до светло-желтой или бесцветной, то добавляют еще раствор марганцовокислого калия в объеме от 5 до 10 см³. Наличие излишнего количества марганцовокислого калия (коричневая окраска смеси) показывает, что произошло полное разложение органического вещества. Удаляют избыточное количество марганцовокислого калия, добавляя щавелевую кислоту или глюкозу до исчезновения коричневой окраски.

Затем в колбу со смесью приливают 100 см³ дистиллированной воды и 2 см³ раствора железоаммонийных квасцов и тщательно перемешивают.

Избыточное количество азотнокислого серебра титруют раствором роданистого калия или аммония до тех пор, пока не появится окраска красно-коричневого цвета, не исчезающая в течение 30 с.

Параллельно проводят контрольный опыт при использовании 2 см³ дистиллированной воды вместо 2 г изделия.

Массовую долю хлористого натрия в сыре, брынзе или соленых творожных изделиях X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{5,85 \cdot c \cdot (V_0 - V_1)}{m}, \quad (7)$$

где 5,85 - коэффициент для выражения результатов в виде процентного содержания хлористого натрия;

C - молярная концентрация титрованного раствора роданистого калия или роданистого аммония моль/дм³;

V₀ - объем раствора роданистого калия, использованный в контрольной пробе, см³;

V₁- объем раствора роданистого калия, использованный при анализе продукта, см ; m - масса навески калия, г.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,07%.

Результаты исследований заносят в таблицу 4.

Таблица 4

Химический состав и энергетическая ценность исследуемых объектов

Объект исследования	Содержание, %				Энергетическая ценность	
	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	углеводов (Ув)	ккал	кДж

Энергетическую ценность или калорийность определяю как в лабораторной работе № 1 пункт 5.12.

4. Изготовление готового молочного продукта

Изготовление молочных продуктов осуществляется в соответствии с требованиями технической документации (ТИ) на данный ассортимент продукта, заданный преподавателем. Ниже представлены технологические схемы изготовления некоторых видов молочных продуктов.

В состав белка творога входят незаменимые аминокислоты, метионин и холин – рекомендуются при заболевании сердечно-сосудистой системы. Молочный жир творога усваивается на 95%.

Способы производства творога.

1 Кислотный.

2 Кислотно-сычужный.

3 Раздельный (добавление к творогу высокожирных сливок).

При кислотном: коагуляция казеина происходит под действием молочной кислоты. При этом способе сгусток имеет хорошую консистенцию, однако, при производстве жирного творога тяжелее отделяется сыворотка. Наиболее экономически выгодный.

Кисотно-сычужный - коагуляция происходит под действием молочной кислоты и сычужного фермента и ли пепсина. Сычужный фермент усиливает процесс выделения сыворотки из сгустка.

Производство творога осуществляется по следующей технологической схеме (рис.1):

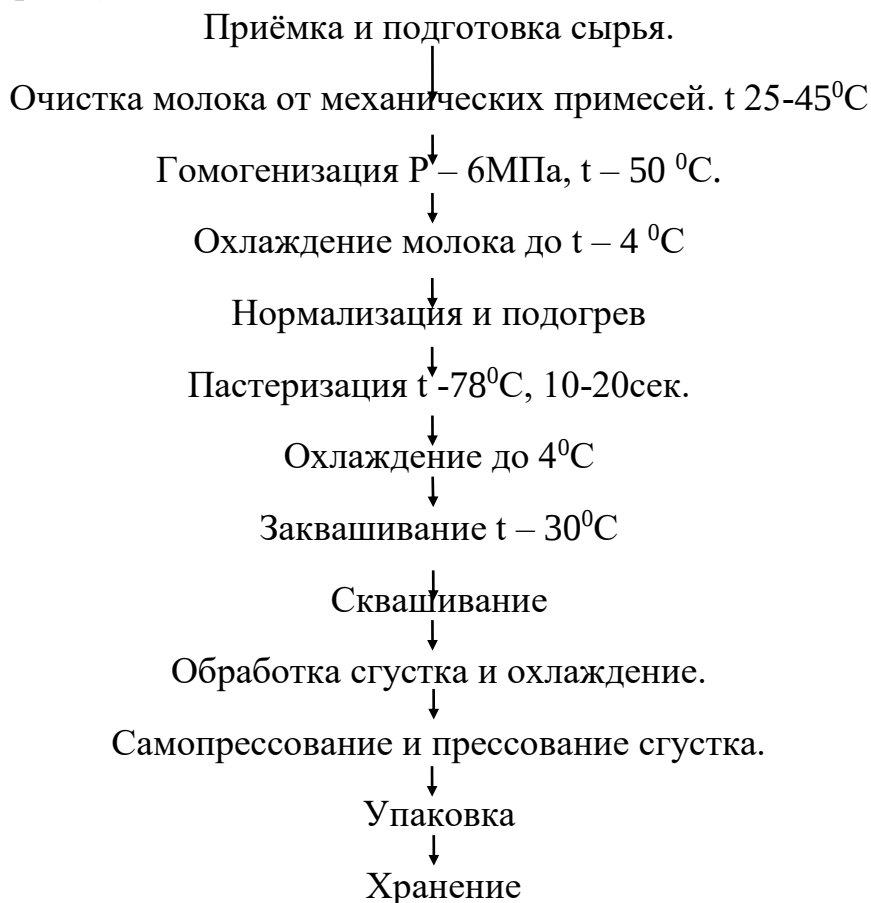


Рис.1 –Технологическая схема производства творога

Охлажденное молоко хранить не более 6 часов

Нормализацию и подогрев проводят с учетом массовой доли белка, в зависимости от коэффициента нормализации для каждого вида творога.

Повышенные режимы пастеризации будут способствовать денатурации белка, это увеличивает плотность, и ухудшает отделение сыворотки.

(Кислотный). Заквашивание $t - 30^{\circ}\text{C}$ в летнее время, $32-35^{\circ}\text{C}$ – зимой. Используются мезофильные молочнокислые стрептококки. При использовании симбиотических заквасок сквашивание при $t - 32^{\circ}\text{C}$.

(Кисотно-сычужный). Добавление в молоко хлористого кальция и молокосвертывающих ферментов. Хлористый кальций вносится: 400г

безводной соли хлористого кальция на 1т молока, в виде 40% раствора. После этого вносим сычужный фермент из расчета 1г на 1т молока.

Окончание сквашивания определяем по кислотности сгустка. Для 18% и 9% творога – кислотность 61⁰Т, для нежирного 65⁰Т, сквашивание 6-10 часов (для кислотно-сычужного). Для кислотного 18% и 9% — 75градТ, нежирного – 85⁰Т, продолжительность сквашивания 8 – 12 часов.

Обработка сгустка: разрезание на творожное зерно, при этом начинает отделяться сыворотка (синерезис), при этом сыворотка отводится из творожной ванны.

Прессование проводя т при достижении массовой доли влаги 65 – 73%. Для прессования творожное зерно помещают в лавсановые мешки, завязывают и помещают на престележку. Под действием собственной массы продолжает выделяться сыворотка, этот процесс длится не более часа при t – 15-17⁰С. Окончание процесса определяют визуально по исчезновению блеска с поверхности сгустка. Затем творог прессуют с помощью различных установок, где происходит охлаждение и прессование. При этом температура творога – 8 – 10⁰С. Доохлаждение до t – 6-8⁰С.

Хранить готовый продукт не более 36 часов при t < 8градС.

Сухие молочные продукты являются разновидностью молочных консервов. Последние можно разделить на три группы: сгущенные с сахаром, стерилизованные и сухие. Сухие молочные продукты представляют собой порошок из агломерированных частиц молока разных форм и размеров, зависящих от вида продукции и способа сушки.

Сухие молочные продукты имеют высокую пищевую и энергетическую ценность. В сухом цельном молоке содержится 25,6 % белков, 25 % жира, 39,4 % лактозы, а в обезжиренном сухом молоке 37,9 % белков и 50,3 % лактозы. В этих продуктах также высокое содержание витаминов и минеральных веществ. Энергетическая ценность 100 г сухих молочных продуктов составляет 1500 - 2500 ккал. Влажность сухих молочных продуктов не превышает 4 %, что обеспечивает значительную продолжительность их сохранности в герметической упаковке. Одним из основных физико-химических показателей сухих консервов является растворимость, величина которой может составлять от 80 до 99,5 % в зависимости от способа сушки.

Ассортимент сухих молочных продуктов очень разнообразен. Основным видом сухих молочных продуктов, выпускаемых отечественной молочной отраслью, является сухое коровье молоко с массовой долей жира 15, 20, 25 % и обезжиренное молоко, сухие сливки, а также сухие кисломолочные продукты и пахта.

Сырьем для выработки сухих молочных продуктов являются молоко не ниже 2-го сорта и кислотностью не более 20 °Т, сливки с массовой долей

жира не более 40 % и кислотностью не более 26 °Т, обезжиренное молоко и пахта кислотностью не более 20°Т.

Особенности производства сухих молочных продуктов по сравнению с получением питьевого молока предусматривают выполнение дополнительных операций тепловой обработки молока: выпаривания и сушки. Сухое молоко готовится из предварительно обезжиренного молока. Причина тут в высокой скорости окисления жира молока в процессе сушки и последующего хранения. Производство сухого молока осуществляется по следующей технологической схеме (рис.2):

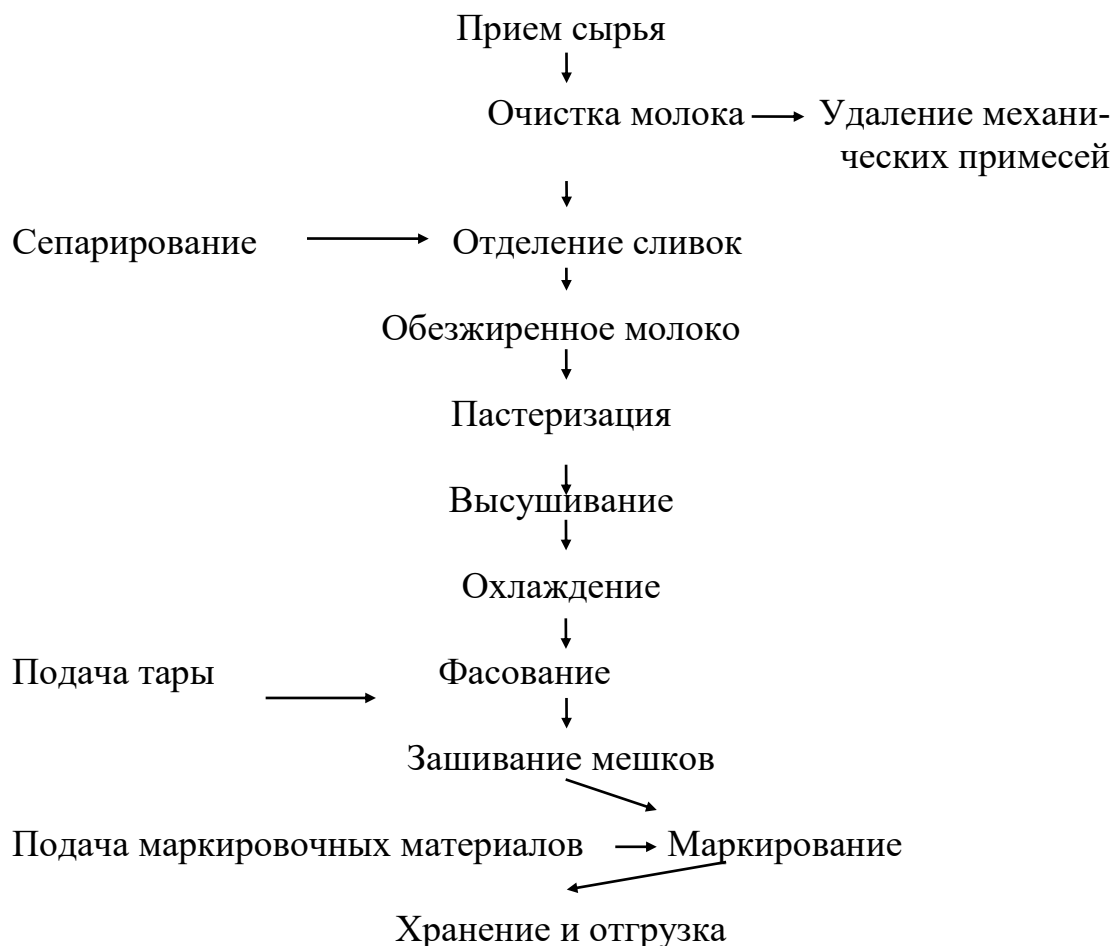


Рис.2 –Технологическая схема производства сухого молока

Выпаривание предназначено для удаления воды и повышения концентрации нелетучих сухих веществ (до 50 %), в результате чего образуется сгущенное молоко.

Такое молоко или молочная смесь представляют собой коллоидную систему. Соли и углеводы содержатся в сгущенном молоке в состоянии молекулярного раствора, белки – в коллоидном, а жир – в виде эмульсии.

Молоко обычно выпаривают под вакуумом, когда температура кипения продукта снижается. Этот способ позволяет улучшить технологические показатели оборудования и уменьшить отрицательное

воздействие высокой температуры на качество сухого молока. В зависимости от числа ступеней выпаривания температуру кипения поддерживают от 70-80 °С до 43-48 °С.

Отношение конечной концентрации какого-либо компонента молока к его начальной концентрации принято называть степенью сгущения. Величина последней зависит от конструкции выпарного оборудования. Степень сгущения молока в циркуляционной вакуум-выпарной установке составляет 43 - 48 %, а в пленочной – 52 - 54 %, продолжительностью сгущения соответственно 50 и 3 - 4 мин.

Сушка предназначена для получения молочного продукта с концентрацией сухих веществ не менее 96 %. Молоко обычно сушат в контактных или в распылительных сушильных установках. В контактных сушилках молоко высыхает при непосредственном контакте с горячей поверхностью барабанов (вальцов). В зависимости от конструкции этих сушилок молоко можно сушить при атмосферном давлении при температуре 110 - 130 °С и в вакууме при температуре 60 - 70 °С. В качестве сушильного агента используют водяной пар, подаваемой во внутреннюю часть барабанов и нагревающий их рабочие поверхности.

В распылительных сушильных установках молоко диспергируется с помощью вращающихся дисков или форсунок до мелких капель. Увеличение удельной поверхности продукта при сушке позволяет интенсифицировать выделение влаги. Вследствие малого размера капель молока (40 - 50 мкм) поверхность влагообмена достигает 150 - 250 м² на один кубометр сушильной камеры. Поэтому продолжительность сушки не превышает 4 - 6 с.

Срок хранения сухого цельного молока в герметичной упаковке при температуре 1 -10 °С составляет не более 10 месяцев.

Процесс производства сыра состоит из следующих стадий и технологических операций (рис. 3): созревание молока и его подготовка к свертыванию, получение и обработка сгустка и сырного зерна, самопрессование и прессование сыра, посолка сыра, созревание сыра. Созревание молока заключается в выдержке его при температуре 10-12°С в течение 12-14 часов с добавлением или без добавления закваски молочнокислых бактерий. Во время созревания изменяются состав и свойства молока, которые положительно влияют на свертывание молока, активнее развивается микрофлора закваски, что обеспечивает нормальную обработку сгустка. При этом ускоряется выделение сыворотки из зерна и энергичнее нарастает кислотность, ускоряются процессы выработки и созревания сыра. Предельная кислотность молока после созревания не должна превышать 20°Т. Для свертывания молока в сыр-делии применяют молокосвертывающие ферменты животного происхождения и ферментные препараты на их основе. Препарат вносят в молоко в виде

раствора, для их равномерного распределения по всему объему содержимое тщательно перемешивают в течение 6-7 мин, а затем оставляют в покое до образования сгустка. Продолжительность свертывания молока устанавливают в зависимости от вида сыра, при выработке твердых сыров - 30-35 минут, для сыров пониженной жирности - 35-40 минут, для мягких сыров 50-90 минут. Свертывание молока проводят при температуре от 28 до 35 °С. При пониженной способности молока к свертыванию температуру повышают в допустимых для каждого вида сыра пределах. Готовность сгустка определяют по его плотности и прочности на излом. Цель обработки сгустка заключается в удалении сыворотки с растворенными в ней составными частями молока путем вымешивания. В процессе вымешивания выделяется сыворотка, уменьшается объем зерна, оно становится округлым. В конце вымешивания зерно характеризуется упругостью, достаточной прочностью и потерей первоначальной клейкости. На продолжительность вымешивания влияет температура, при которой вымешивают зерно и определяется температурой свертывания молока, в зависимости от вида выпускаемого сыра. После вымешивания зерна проводят его тепловую обработку, т.е. второе нагревание для ускорения обезвоживания. Чем выше температура второго нагревания, тем лучше обсыхает сырное зерно, предварительно удалив от 20 до 30 % сыворотки. Теплоносителем при втором нагревании используют пар или горячую воду. При нагревании сырного зерна и сыворотки повышается клейкость и легко образуются комки, поэтому в процессе второго нагревания сырную массу постоянно перемешивают, не допуская образования комков, которые обсушиваются значительно медленнее, чем зерно, в результате чего масса обсушивается неравномерно. Процесс нагревания проводят в две стадии: на первой стадии температуру устанавливают 39°С, на второй (в конце обработки) - температуру повышают до установленной для каждого вида сыра. Вымешивание зерна после второго нагревания называется обсушкой. Продолжительность обсушки увеличивается, если требуется больше выделить влаги из сырной массы и зависит от кислотности, с повышением кислотности процесс обсушки ускоряется. По мере вымешивания из зерна удаляется излишняя сыворотка, зерно обсыхает, сжимается, приобретает округлую форму.

Важным моментом в технологии сыра является правильное установление окончания обсушки зерна. Достаточно обсушенное зерно при сжатии склеивается, при легком встряхивании комков рассыпается, а при растирании между ладонями зерна разъединяются. Зерно готово к формованию, т.е. получение плотной массы. Важным фактором формования является температура, поэтому, чтобы сырная масса не охлаждалась, формировать ее надо быстро, а в помещении поддерживать температуру от 18 до 20 °С. Формование и подпрессовывание производится в сыродельных ваннах и продолжается 30-

40 минут. Цель самопрессования и прессования сыра заключается в удаление излишков сыворотки, максимально допустимом для каждого вида сыра уплотнении сырной массы. Самопрессование осуществляется под действием веса сыра, а прессование - под действием внешнего давления. Предварительное самопрессование, а затем прессование с постепенным увеличением давления способствует более полному обезвоживанию сыра. Прессование сыра происходит в специальных формах и начинают с минимальных нагрузок, а затем постепенно повышают до максимального значения и составляет 15-20 минут. Продолжительность прессования различна для отдельных видов сыра. Важным условием, влияющим на процесс прессования сыра, является поддержание температуры сырной массы. Наиболее благоприятная температура воздуха в помещении - от 18 до 20 °С. Отпрессованный сыр должен иметь ровную, гладкую поверхность без морщин, пор и трещин. Посолку сыра можно проводить как несформованного так и сформованного. Самым распространенным способом является посолка в рассоле и осуществляется путем погружения сыра в раствор поваренной соли. В период посолки, когда в сыре протекает интенсивный процесс брожения и возможно избыточное газообразование и вспучивание, сыры выдерживают при низкой температуре - на уровне 8-12°С. Продолжительность посолки зависит от скорости проникновения соли внутрь сыра и его удельной поверхности. На скорость проникновения соли влияют состав и свойства сыра (влажность сырной массы после прессования, плотность наружного слоя) и параметры рассола (концентрация и температура). Мягкие сыры солят менее продолжительное время, твердые несколько суток. После посолки сыр сначала обсушивают на стеллажах в соляном помещении в течение 2-3 суток при температуре 10-12°С. затем помещают в специальные камеры для созревания, где сыр должен достигнуть оптимальной для каждого вида кислотности. Процесс созревания сыра зависит от внешних условий: температуры, относительной влажности воздуха в камере созревания. Температура в камере во время созревания должна быть не ниже 12-15°С, к концу созревания понижая до 10°С, относительная влажность воздуха - 88-94%, снижая до 80%. Уход за поверхностью сыра во время созревания проводят для поддержания поверхности в необходимом для данного вида сыра состоянии, регулирования в нужном направлении микробиологических и биохимических процессов и сокращения потерь продукта. Для равномерной осадки сыры периодически, в зависимости от состояния сыров и условий созревания, переворачивают через 7-15 суток. По мере появления плесени или слизи сыры моют, обсушивают и возвращают на дозревание. Правильный, рациональный уход за поверхностью сыра в процессе созревания способствует не только получению продукта хорошего качества, но и сокращению его потерь. Предупредить разрушение корки сыра и развитие на ней слизи и плесени, снизить потери мас-

сы сыра, повысить качество готового продукта и сократить затраты по уходу за сыром при созревании можно с помощью защитных покрытий поверхности сыров на основе парафина. Для покрытия сыров сплавами используют парафинеры. Поверхность сыра перед нанесением покрытия должна быть сухой. Температура сыра 10-12°C. температуру парафиновоскового сплава поддерживают на уровне 140-150°C. Уход за парафинированным сыром сводится к обтиранию его поверхности сухой салфеткой, переворачиванию через каждые 10-15 суток.

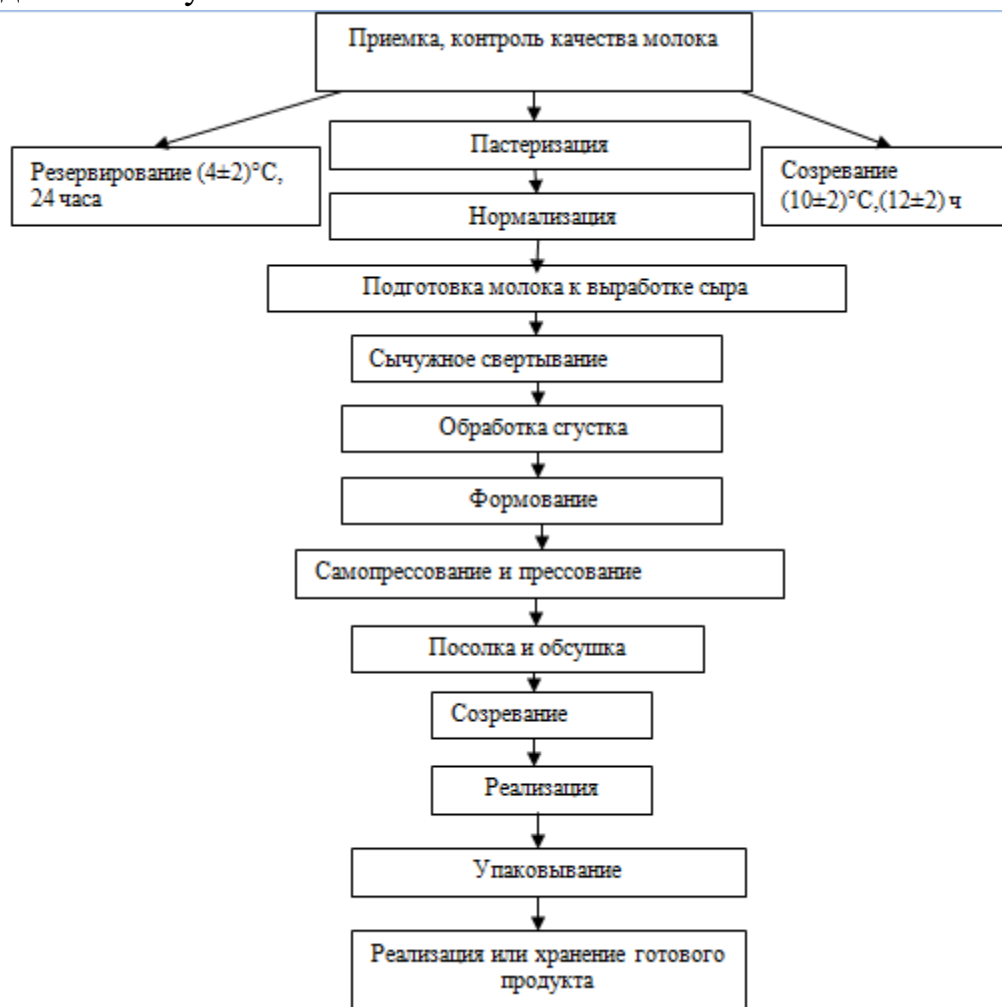


Рис.3 –Технологическая схема производства сыра

Основным сырьем для производства сливочного масла является цельное натуральное коровье молоко, поступающее на маслобойные предприятия от близлежащих молочных ферм. Технологическая схема приготовления сливочного масла выглядит следующим образом (рис.4):

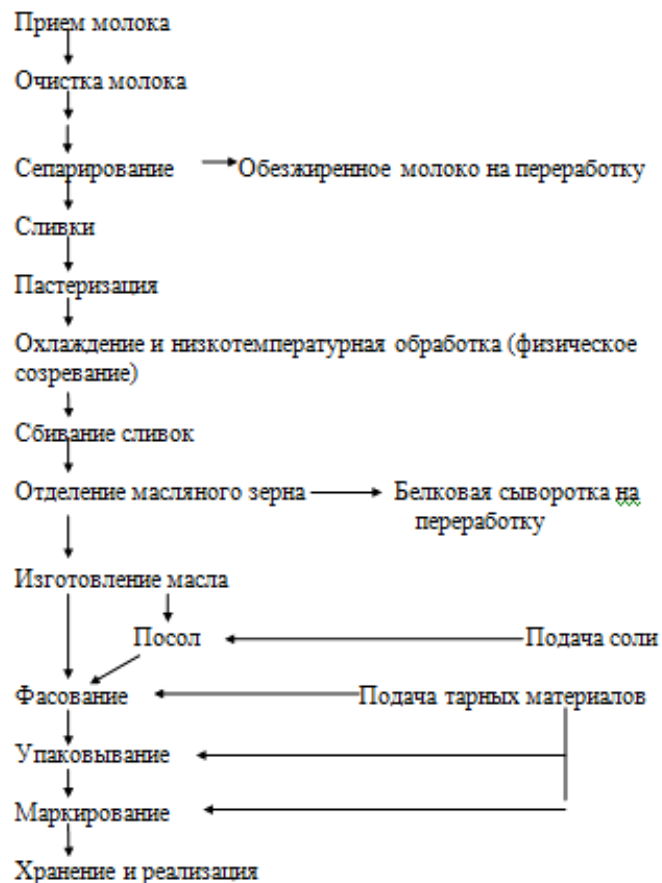


Рис.4 –Технологическая схема производства сливочного масла методом сбивания сливок

При проведении процесса молоко прогоняется через фильтры для выделения из сырья нерастворимых примесей. При понижении температуры в сливках образуются жиросодержащие центры, вокруг которых затем при сбивании растет масляное зерно. Отделяется масляное зерно фильтрованием через грубые фильтры. В дальнейшем зерно промывается холодной водой и прессуется на масляных прессах для отделения от масла излишков влаги и образования крупного масляного кома. Сливочное масло изготавливается без или с добавлением соли. Внесенная поваренная соль смешивается с маслом при фасовании в фасовочных машинах.

Существует технология производства масла методом преобразования высокожирных сливок. Принцип метода основан на преобразовании эмульсии типа «масло в воде» (сливки) в эмульсию «вода в масле» (сливочное масло) с помощью термомеханической обработки. На первом этапе получают высокожирные сливки с жирностью 72,5 % или 82,5 %, которые, проходя через маслообразователь, приобретают структуру, характерную для сливочного масла. До окончательной готовности оно должно пройти стадию созревания – выдержки несколько суток при температуре 12-16 °С, чтобы завершился процесс кристаллизации. Наверное, многие обращали внимание, что иногда сливочное масло «расползается» при комнатной температуре - это следствие нарушения температурного режима на стадии преобразования сливок или созревания масла. Пищевая ценность

при этом нисколько не уменьшается, а порок консистенции не является браковочным признаком.

Независимо от того, каким способом произведено сливочное масло, его структура должна быть однородной и плотной. При температуре 12-14 °С масло не должно крошиться; на срезе допускается появление мельчайших капель воды.

В соответствии с ГОСТ в России производится несколько сортов масла (из свежих или сквашенных сливок, с разной жирностью, соленое или несоленое).

При изготовлении образцов готовой продукции устанавливают показатели качества: органолептические и физико-химические. Результаты представить в виде таблиц 1 и 4.

5. Вопросы для самоконтроля

1. Специфичность белка козеина, его свойства?
2. Характеристика сывороточных белков, молочного жира и углеводов?
3. . Биологическая ценность белков молока?
4. Свойство лактозы, используемое при выработке кисломолочных продуктов: кефира, простокваши, сметаны, творога и сыра?
5. Карамелизация молочного сахара под влиянием высоких температур?
6. Макро- и микроэлементы молока, их связь с молекулой казеина?
7. Вторичное сырье молочного производства, его направления использования?
8. Молочные консервы, способы их изготовления с наполнителями и без них.

Лабораторная работа № 4.

Изучение способов экстрагирования органопрепаратов

Ферменты. Способы получения ферментов и методы определения их активности

Цель работы: изучить эндокринно-ферментное сырье с целью его использования для производства органопрепаратов

Задачи:

1. Получить ферментный препарат - комплекс протеиназ;
2. Определить протеолитическую активность комплекса кислых протеиназ;
3. Установить возможность получения фермента липазы из внутренних органов частиковых рыб;
4. Определить липолитическую активность комплекса ферментов

Объекты исследования: внутренние органы сельскохозяйственных животных, рыб, птицы.

Порядок выполнения работы.

1. *Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:*

- доска для разделки рыб;
- нож
- мясорубка с диаметром отверстий решётки 2-3 мм
- весы влкт-500
- сито лабораторное
- гомогенизатор
- колбы конические с притёртой пробкой вместимостью 250 см³
- термостат
- центрифуга
- рН-метр или другой прибор для определения рН среды в интервале от 1 до 14 с погрешностью не более 0,1.
- весы лабораторные общего назначения по гост 24104, не ниже 3-го класса точности.
- весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по гост 24104
- мешалка магнитная типа мм-3
- секундомер механический по гост 5072.
- баня водяная.
- ультратермостат типа тс-16а с пределом измерений 40°С и погрешностью не более 0,1 %.
- колориметр фотоэлектрический лабораторный, обеспечивающий измерения в интервалах длин волн 630—670 нм, с погрешностью не

более 5 % (по коэффициенту пропускания) или 0,01 д (по оптической плотности).

- термометры ртутные стеклянные лабораторные по гост 215, общего назначения.
- холодильник обратный по гост 25336.
- стаканы по гост 25336, вместимостью 100, 600, 1000 см³.
- стаканчики для взвешивания по гост 25336.
- колбы типов к и ки по гост 25336, вместимостью 100, 250, 500, 1000 см³.
- колбы мерные по гост 1770, вместимостью 50, 100, 200, 250, 500, 1000 см³.
- воронки типа в по гост 25336.
- колбы конические с притертой пробкой по гост 25336, вместимостью 250 см³.
- колба коническая с боковой отводной трубкой.
- капельница по гост 25336.
- цилиндры мерные по гост 1770, вместимостью 50 см³.
- холодильник стеклянный лабораторный (обратный) по гост 25336
- бюретки по гост 20292, вместимостью 25 и 50 см³.
- бумага фильтровальная лабораторная по гост 12026.
- бюретки лабораторные стеклянные по гост 20292.
- пипетки лабораторные стеклянные по гост 20292.
- пробирки типов п1 и п2 по гост 25336.
- натрий казеиновокислый.
- д-тирозин.
- кислота трихлоруксусная.
- кислота соляная по гост 3118.
- кислота ортофосфорная по гост 6552.
- кислота борная по гост 9656.
- кислота уксусная по гост 61.
- натрия гидроокись по гост 4328.
- натрий углекислый по гост 83.
- натрий вольфраматовокислый 2-водный по гост 18289.
- натрий молибденовокислый по гост 10931.
- литий серноокислый 1-водный по гост 10563.
- бром по гост 4109
- фенолфталеин по гост 5850 72
- вода дистиллированная по гост 6709-72.
- фенолфталеин по гост 5850, спиртовой раствор 10 г/дм³ (1%-ный).
- калия гидроокись по гост 24363, раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 н) или натрия гидроокись по гост 4328, раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 н).
- эфир медицинский по госфармакопее ссср.
- спирт этиловый ректифицированный по гост 5962.

- алкалиблау 6б.
- тимолфталейн, спиртовой раствор 10 г/дм³ (1%-ный).

2. Получение ферментного препарата-комплекса протеиназ

На рисунке 1 представлена схема получения ферментного препарата.



Рис. 1. Схема технологического процесса получения ферментного препарата-комплекса протеиназ

Порядок выполнения работы

Внутренности частиковых рыб в количестве 100 г разрезают и тщательно моют в проточной воде для удаления слизи и загрязнений. Затем внутренности выкладывают на сито и выдерживают для стекания воды в течение 20 мин. Подготовленное сырьё измельчают, пропуская через мясорубку с диаметром отверстий 3 мм. Измельчённую массу переносят в колбу на 250 мл, затем смешивают её с водой в количестве 50 г (50% от массы измельчённого сырья) и добавляют 2,5 г (2,5%) концентрированной соляной кислоты. Колбу закрывают притёртой пробкой и проводят гидролиз в течение 4-5 ч. при температуре от 30 до 50°C. Полученную смесь центрифугируют при частоте 3000 об/мин. в течение 20 мин. для отделения плотного негидролизованного остатка от жидкой части-комплекса протеиназ. Плотный остаток высушивают при температуре 50-60°C для получения сухого белкового продукта, используемого в кормовых целях. Полученный комплекс протеиназ (рН 2) хранят при температуре не выше 5°C.

3. Определение органолептических и физико-химических показателей ферментных препаратов

Определение внешнего вида и цвета ферментных препаратов

– для сухого – 1-3 г исследуемого препарата помещают на гладкую чистую поверхность листа белой бумаги и визуально определяют внешний вид и цвет, перемешивая при естественном свете;

– для раствора – 50 см³ фильтруют через бумажный фильтр в колбу, отбирают 10 см³ фильтрата в пробирку и визуально определяют цвет, запах и прозрачность ферментного препарата.

Определение плотности жидких ферментных препаратов

Метод основан на определении относительной плотности исследуемого препарата с помощью ареометра.

Ферментный препарат помещают в цилиндр и при температуре препарата 20°С осторожно опускают в него чистый сухой ареометр. Ареометр не выпускают из рук до тех пор, пока не станет очевидным, что он плавает; при этом необходимо следить, чтобы ареометр не касался стенок и дна цилиндра. Отсчёт проводят через 3—4 мин после погружения по делению на шкале ареометра, соответствующему нижнему мениску жидкости (при отсчете глаз должен быть на уровне мениска). Исследуемая жидкость, должна быть без пузырьков воздуха и пены на поверхности.

Определение содержания сухих веществ в жидком ферментном препарате при помощи рефрактометра:

Метод основан на определении содержания сухих веществ по показателю преломления.

Перед началом работы проверяют нулевую точку рефрактометра по дистиллированной воде (температурой 20 °С). Для этого на нижнюю призму рефрактометра наносят стеклянной палочкой или из капельницы одну каплю дистиллированной воды, закрывают верхней призмой. Если граница светотени проходит по шкале сухих веществ, с делением соответствующим 0%, а по шкале показателя преломления с делением 1,333, то рефрактометр отрегулирован не правильно. При отклонении границы светотени от указанного деления прибор устанавливают на нуль при помощи специального ключа.

Для определения количества сухих веществ в ферментном препарате, стеклянной палочкой или капельницей наносят 1-2 капли исследуемого ферментного препарата на нижнюю призму рефрактометра.

Верхнюю призму опускают и плотно прижимают к нижней, смотрят в окуляр и находят путём его передвижения наиболее резкую границу между темной и светлой половиной поля зрения. После этого перемещают окуляр вдоль прорези, пока резко очерченная граница светотени не совместится с центром пересечения двух линий. Тогда отмечают по шкале деления, через которые проходит граница светотени.

После определения поверхности призмы вытирают ватой, а затем промывают дистиллированной водой и вытирают ватой. Результаты заносят в табл.1 .

Таблица 1

Органолептические и физико-химические показатели качества ферментного препарата

№ п/п	Наименование показателя	
1	Внешний вид	
2	Цвет, запах	
3	Прозрачность раствора	
4	Плотность ферментного препарата,	
5	Содержание сухих веществ, %	

**4. Определение протеолитической активности комплекса
кислых протеиназ, выделенных из внутренностей рыб.**

4.1 Метод определения протеолитической активности (ПА) (модифицированный метод Ансона)

Сущность метода

Метод основан на гидролизе белка казеината натрия препаратом фермента, находящимся в исследуемом растворе, с последующей инактивацией фермента и осаждением непрогидролизованного белка трихлоруксусной кислотой (ТХУ).

Протеолитическая активность (ПА) характеризует способность ферментов катализировать расщепление белка до пептидов и аминокислот и выражается числом единиц протеазы в 1 г препарата. За единицу протеолитической активности (ПА) принимают такое количество фермента, которое за 10 мин при 30 °С превращают в неосаждаемое трихлоруксусной кислотой состояние 1 г белка (казеината натрия).

Протеолитическая активность препарата выражается числом протеолитических единиц на 1 г ферментного препарата, т.е. микромолях тирозина, определенных в гидролизате (ед/г).

Активность грибных и бактериальных протеиназ определяют при следующих значениях pH: от 2,5±0,2 до 5,5±0,2 — кислые протеиназы; 7,2±0,2 — нейтральные протеиназы; 9,5±0,2 — щелочные протеиназы.

Подготовка к испытанию

Приготовление универсального буферного раствора (Уб) концентрацией 0,1 моль/дм³

Приготовление раствора А — раствора уксусной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм³.

5,7 см³ ледяной уксусной кислоты растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1 дм³.

Приготовление раствора В — раствора ортофосфорной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм³.

6,45 см³ ортофосфорной кислоты растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1 дм³.

Приготовление раствора С — раствора борной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм³.

6,18 г борной кислоты, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1 дм³.

Приготовление раствора D — раствора гидроокиси натрия концентрацией 1 моль/дм³.

40,00 г гидроокиси натрия, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1 дм³.

При смешивании равных объемов растворов А, В и С получается буферная смесь с рН 1,8. Добавляя к этой смеси различные количества раствора гидроокиси натрия концентрацией 1 моль/дм³ (раствор D), получают буферные растворы с рН от 1,8 до 12,0.

Приготовление универсального буферного раствора (У₆) концентрацией 0,5 моль/дм³

Для приготовления универсального буферного раствора концентрацией 0,5 моль/дм³ количество исходных реактивов в растворах А, В и С берётся в пять раз больше.

Приготовление универсального буферного раствора концентрацией 0,01 моль/дм³

Универсальный буферный раствор концентрацией 0,01 моль/дм³ готовится смешиванием девяти объемов дистиллированной воды с одним объемом буферного раствора концентрацией 0,1 моль/дм³.

Приготовление раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) концентрацией 0,3 моль/дм³

50 г трихлоруксусной кислоты, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм³, доводят объем дистиллированной водой до метки и фильтруют. Раствор используют для осаждения белков.

Приготовление раствора соляной кислоты концентрацией 1 моль/дм³

82,2 см³ соляной кислоты разбавляют дистиллированной водой до 1 дм³.

Приготовление раствора углекислого натрия концентрацией 0,5 моль/дм³

53 г безводного углекислого натрия, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и доводят объём дистиллированной водой до метки.

Приготовление реактива Фолина (основной раствор)

Для приготовления основного раствора Фолина в круглодонную колбу с шлифованным обратным холодильником вместимостью 1000 см³ наливают 700 см³ дистиллированной воды, добавляют 100 г вольфрамОВОКислого натрия Na₂WO₄·2H₂O и 25,0 г молибденоВОКислого натрия Na₂MoO₄·2H₂O, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г. Затем приливают 50 см³ 85%-ной ортофосфорной кислоты (плотность 1,689 г/см³) и 100 см³ соляной кислоты (НС1). Смесь кипятят на слабом огне на асбестовой сетке в течение 10 ч. Кипячение можно прерывать, а затем снова продолжать.

В охлажденную смесь добавляют 150,0 г сернокислого лития Li₂SO₄, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, 50 см³ дистиллированной воды и пять капель брома (Br₂). Открытую колбу кипятят на слабом огне под тягой 15—20 мин, чтобы удалить избыток паров брома. Раствор должен иметь желтую окраску. После охлаждения раствор доводят дистиллированной водой до 1000 см³ и фильтруют через трубку Аллина, заполненную стеклянной ватой. Приготовленный раствор хранят в склянке из темного стекла в холодильнике. Через 2—3 месяца хранения следует добавить в него одну-две капли брома и снова прокипятить. Показателем непригодности раствора считается его помутнение и изменение окраски из желтой в зеленую.

Концентрацию реактива Фолина проверяют титрованием разбавленного в 10 раз реактива Фолина раствором гидроокиси натрия концентрацией 0,1 моль/дм³ по фенолфталеину. Реактив Фолина должен быть концентрацией 2 моль/дм³ по кислоте. Если кислотность реактива Фолина больше 2 моль/дм³, то его разбавляют дистиллированной водой, если меньше — реактив для работы не пригоден.

Рабочий раствор Фолина готовится разведением основного раствора 1:2 (одна часть реактива Фолина и две части дистиллированной воды) для определения активности модифицированным методом Ансона и 1:3 (одна часть реактива Фолина и три части дистиллированной воды) для определения активности методом ФОЛП.

Приготовление раствора соляной кислоты концентрацией 0,2 моль/дм³

16,45 см³ соляной кислоты разбавляют дистиллированной водой до 1 дм³

Приготовление раствора ферментного препарата

А. Для кислых протеиназ (рН реакционной смеси 2,5±0,2).

1 г исследуемого препарата, взвешенных с погрешностью не более 0,001 г, тщательно растирают в стаканчике стеклянной палочкой с небольшим количеством универсального буферного раствора концентрацией 0,1

моль/дм³ с рН 2,5. Затем количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят этим же универсальным буферным раствором объем жидкости до метки. Последующие разведения производят универсальным буферным раствором концентрацией 0,1 моль/дм³ с рН 2,5.

Б. Для кислых протеиназ (рН реакционной смеси 5,5±0,2).

0,1—1,0 г исследуемого препарата, взвешенных с погрешностью не более 0,001 г, тщательно растирают в стаканчике стеклянной палочкой с небольшим количеством универсального буферного раствора концентрацией 0,1 моль/дм³ с рН 5,5. Затем раствор переносят в мерную колбу вместимостью на 100 см³ и доводят объем раствора до метки универсальным буферным раствором концентрацией 0,1 моль/дм³ с рН 5,5.

Приготовление раствора с массовой долей казеината натрия 2% (субстрат).

А. Для кислых протеиназ (рН 2,5)

2 г воздушно-сухого казеината натрия, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в 90 см³ буферного раствора концентрацией 0,01 моль/дм³ с рН 5,5. Затем раствор доводят до рН 2,5 добавлением 3,0—3,5 см³ раствора соляной кислоты концентрацией 1 моль/дм³.

При подкислении раствора казеината натрия соляной кислотой ниже рН 5,1 наблюдается некоторое помутнение раствора (образование мелких хлопьев), а при рН 4,5 отмечается выпадение крупных хлопьев и резкое разделение раствора на две фазы — осадок и растворитель.

При дальнейшем подкислении раствора казеината натрия соляной кислотой до рН 3,1—3,2 происходит постепенное растворение хлопьев, а при рН 3,05–3,00 опять получается однородный раствор, вид которого не меняется при дальнейшем добавлении кислоты до рН 2,5 и ниже.

Добавление соляной кислоты (до рН 3,0) следует производить быстро, при интенсивном перемешивании раствора. При дальнейшем подкислении раствора до рН 2,5 кислота вносится по каплям

Затем раствор переносят в мерную колбу вместимостью на 100 см³ и доводят объем до метки универсальным буферным раствором концентрацией 0,1 моль/дм³ с рН 2,5.

Б. Для кислых протеиназ (рН 5,5).

2 г воздушно-сухого казеината натрия, взвешенных с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в 90 см³ универсального буферного раствора концентрацией 0,1 моль/дм³ с рН 5,5, после чего раствор доводят до рН 5,5 добавлением нескольких капель раствора соляной кислоты концентрацией 1 моль/дм³. Затем раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем раствора до метки универсальным буферным раствором концентрацией 0,1 моль/дм³ с рН 5,5.

Условия гидролиза

Ферментативный гидролиз проводят, используя раствор с массовой долей белка-субстрата 1 % (после смешивания раствора субстрата и раствора фермента) в течение 10 мин при $(30,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$.

Перед проведением ферментативной реакции растворы фермента и субстрата следует термостатировать.

Для прекращения реакции гидролиза и осаждения непрогидролизованной части субстрата прибавляют раствор трихлоруксусной кислоты концентрацией 0,3 моль/дм³, равный объему реакционной смеси, встряхивают, выдерживают 20 мин при $(30,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ и фильтруют.

Количество взятого фермента должно быть рассчитано так, чтобы присутствовал большой избыток субстрата и чтобы измеряемые величины оптической плотности при колориметрировании в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм лежали в области 0,07—0,45 для кислых протеиназ и 0,2—0,6 для нейтральных и щелочных протеиназ.

Однако в некоторых случаях рабочая область оптической плотности может иметь другие числовые значения, что зависит от вида и качества (степени очистки) исследуемого ферментного препарата.

Для одного и того же препарата рабочая зона оптической плотности может изменяться при различных значениях рН реакционной смеси. Поэтому, приступая к определению протеолитической активности нового препарата, проводят два-три определения его активности при различных разведениях фермента (5 — 10 точек) при заданной величине рН.

Затем определяют, при каких значениях оптической плотности получаются одинаковые величины активности препарата, и в этой области ведут определение активности.

Проведение испытания

По 2 см³ субстрата вливают в две пробирки и помещают в ультратермостат при $(30,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Примерно через 10 мин в каждую пробирку приливают по 2 см³ раствора фермента, пробирки встряхивают и оставляют на гидролиз ровно на 10 мин при $(30,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Через 10 мин добавляют в обе пробирки по 4 см³ раствора трихлоруксусной кислоты концентрацией 0,3 моль/дм³, чтобы прервать ферментативную реакцию и осадить белок и высокомолекулярные продукты гидролиза. Быстро перемешивают смесь и для обеспечения полного осаждения выдерживают пробирки со смесью при $(30,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ ещё 20 мин. Затем фильтруют через маленькие воронки с бумажными фильтрами в сухие пробирки. Фильтрат должен быть совершенно прозрачен. Затем отбирают в пробирки по 1 см³ фильтрата, добавляют по 5 см³ раствора углекислого натрия концентрацией 0,5 моль/дм³, перемешивают и быстро при непрерывном перемешивании приливают по 1 см³ рабочего раствора реактива Фолина. Дают реакционной смеси постоять 20 мин. После реакции растворы приобретают голубую окраску, интенсивность которой определяют фотоэлектрическим колориметром против контрольной пробы.

Контрольный опыт готовят, прибавляя реактивы в обратной последовательности: для этого к 2 см³ ферментного раствора того же разведе-

ния, как и в опыте, добавляют 4 см³ ТХУ, выдерживают в ультратермостате при (30,0 ± 0,2) °С 10 мин, а затем вносят 2 см³ субстрата. Через 20 мин нахождения в термостате раствор фильтруют, отбирают в сухую пробирку 1 см³ фильтрата, при перемешивании вносят 5 см³ раствора углекислого натрия концентрацией 0,5 моль/дм³ и 1 см³ рабочего раствора реактива Фолина. Колориметрирование производят фотоэлектрическим колориметром в диапазоне длин воли 630 — 670 нм в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Построение градуировочной кривой

Для расчета протеолитической активности необходимо построить градуировочную кривую по тирозину. Затем по градуировочной кривой вычислить тирозиновый эквивалент, т. е. ту оптическую плотность, которую бы дал 1 мкмоль тирозина в 1 см³ стандартного раствора. Этот эквивалент необходимо установить для каждой новой партии реактива Фолина и каждого фотоэлектрического колориметра.

Для построения гради ровочной кривой готовят раствор тирозина концентрацией 10⁻³ моль/дм³. Для этого 181,19 мг чистого тирозина, взвешенных с погрешностью не более 0.01 мг, растерают в растворе соляной кислоты концентрацией 0,2 моль/дм³ в мерной колбе вместимостью 1 дм³. Из этого исходного раствора тирозина готовят дальнейшие разведения следующим образом.

Раствор 1. В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят 1 см³ исходного раствора тирозина и доводят объем до метки раствором соляной кислоты концентрацией 0,2 моль/дм³. Концентрация тирозина (С₁) при этом составляет 0,2 · 10⁻⁴ моль/дм³ или 0,02 мкмоль/см³.

Последующие растворы готовят аналогичным образом:

раствор 2—3 см³ исходного раствора С₂ — 0,4 · 10⁻⁴ моль/дм или 0,04 мкмоль/см³;

раствор 3—4 см³ исходного раствора С₃— 0,8 · 10⁻⁴ моль/дм³ или 0,08 мкмоль/см³;

раствор 4—5 см³ исходного раствора С₄— 1,0 · 10⁻⁴ моль/дм³ или 0,10 мкмоль/см³;

раствор 5—7,5 см³ исходного раствора С₅— 1,5 · 10⁻⁴ моль/дм³ или 0,15 мкмоль/см³;

раствор 6—10 см³ исходного раствора С₆—2,0 · 10⁻⁴ моль/дм³ или 0,20 мкмоль/см³;

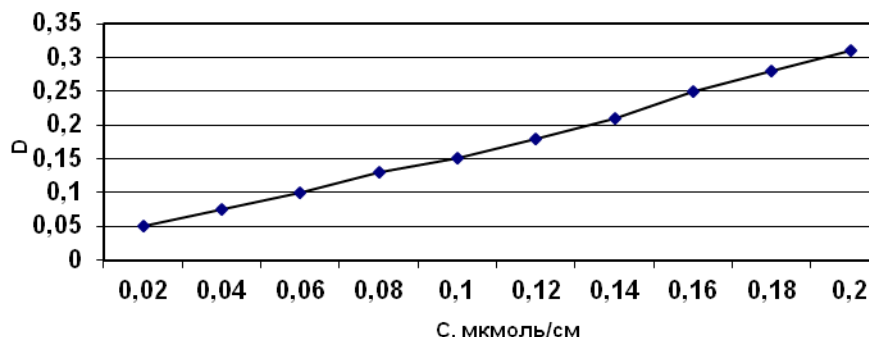
раствор 7—15 см³ исходного раствора С₇—3,0 · 10⁻⁴ моль/дм³ или 0,30 мкмоль/см³;

Затем в пробирки вносят по 1 см³ раствора тирозина разной концентрации. Добавляют в них при постоянном помешивании по 5 см³ раствора углекислого натрия концентрацией 0,5 моль/дм³ и 1 см³ рабочего раствора Фолина.

Контрольный опыт готовят также, но вместо раствора тирозина берут 1 см³ дистиллированной воды. Дают реакционной жидкости постоять 20 мин.

Интенсивность окраски измеряется фотоэлектрическим колориметром против контрольной пробы при длине волны $\lambda = 630\text{—}670$ нм в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. Следует приготовить растворы из двух навесок тирозина и провести описанным выше способом два параллельных опыта.

По средним данным, полученным из двух опытов, строится градуировочная кривая. На оси абсцисс откладывают количество тирозина (C) в мкмоль/см³ на оси ординат — соответствующие значения оптической плотности (D).



Допустим, что:

- 1-й раствор — C_1 — 0,02 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,037
- 2-й раствор — C_2 — 0,04 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,070
- 3-й раствор — C_3 — 0,08 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,127
- 4-й раствор — C_4 — 0,10 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,151
- 5-й раствор — C_5 — 0,15 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,220
- 6-й раствор — C_6 — 0,20 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,310
- 7-й раствор — C_7 — 0,30 мкмоль/см³ имеет D_1 — 0,500

Тогда градуировочная кривая будет иметь вид, представленный на чертеже.

На градуировочной кривой 0,1 мкмоль тирозина в 1 см³ дает оптическую плотность 0,151, 1 мкмоль тирозина даст 1,51. Значит, $TЭ=1,51$.

Обработка результатов

Протеолитическую активность (ПА) в ед/г или ед/см³ вычисляют по формуле 14:

$$ПА = \frac{D \cdot 4}{TЭ \cdot 10 \cdot m} \cdot 1000 \quad (1)$$

где D — оптическая плотность, измеренная на фотоэлектрическом колориметре при толщине поглощающего свет слоя 10 мм;

4 — отношение объемов реакционной смеси и раствора фермента после добавления ТХУ;

$TЭ$ — тирозиновый эквивалент, определяемый по градуировочной кривой;

10 — время гидролиза субстрата, мин;

m — количество ферментного препарата, взятого на протеолиз (в мг на 1 см³ ферментного раствора);

1000 – переводной коэффициент полученных единиц на 1 г ферментного препарата.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое значение активностей, полученных при анализе двух параллельных навесок препарата и получения из каждой не менее трех разведений.

Допускаемое расхождение между значениями активностей не должно превышать 5%. Вычисления производят до первого знака после запятой.

5. Получение ферментного препарата липазы из внутренностей рыб.

Схема технологического процесса получения препарата липазы



5.1. Порядок выполнения работы

Устанавливают степень жирности выбранного объекта (определяют содержание жира) по стандартной методике (ГОСТ 7636).

Выбранный объект (внутренности частиковых рыб) в количестве 20 г с содержанием жира более 10 % пропускают через мясорубку дважды и из-

мельчённую массу переносят в колбу на 250 мл, затем смешивают её с водой, нагретой до 75–80°C (общий объём добавленной воды не должен превышать 100 мл). Колбу закрывают притертой пробкой и настаивают в течение 40 мин. Смесь фильтруют через беззольный фильтр, помещённый на большую воронку или воронку Бюхнера для отделения плотного остатка. Плотный остаток высушивают для получения сухого белкового продукта. Отделённую жидкую часть обезвоживают и обезжиривают с помощью ацетона, охлаждённого ниже минус 12°C (-18°C), взятого в избытке в 3 раза, ориентировочное соотношение 1:3. Образующийся ацетоновый порошок переносят в эксикатор, закрытый притёртой крышкой и помещают в холодильник с температурой 0°C на 12 часов. Выделенную прозрачную жидкую часть сливают. Определяют массу оставшейся части взвешиванием.

Для выделения фермента осуществляют гидролиз концентрированной серной кислотой, взятой в количестве 1,5-2% к установленной массе в течение 1,5-2 часов. Гидролизованную массу обрабатывают поверхностно-активными веществами: карбамидом и аммиачной водой. Карбамид добавляют в количестве 2,5% и аммиачной воды – 50% к массе обрабатываемой пробы. В обработанную поверхностно-активными веществами массу вводят соли магния ($MgSO_3$, $MgCl_2$) в количестве 1% и нагревают на водяной бане в течение 2,5 часов. Липаза выпадает в осадок, который отделяют от жидкой части центрифугированием или фильтрацией. Отделённый осадок помещают в термостат или сушильный шкаф с температурой 45°C для сушки ферментного препарата до влажности не более 13 %. Охлаждают и определяют массу полученного препарата. Изучение органолептических и физико-химических показателей ферментного препарата проводят в соответствии с методическими указаниями, приведёнными в лаб. работе № 4 (п.3).

6. Определение липолитической активности комплекса ферментов

6.1 Метод определения липолитической активности (ЛА)

Сущность метода

Метод основан на гидролизе рыбного жира (с известным кислотным числом) препаратом фермента липаза, с предварительным активированием жира глицерином, водой и последующим определением кислотного числа жира и установлением степени его гидролиза.

Определение кислотного числа основано на взаимодействии свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира, с гидроокисью калия.

Проведение испытания

Для проверки липолитической активности препарата проводят глицеролиз рыбного жира, для чего отвешивают 4 г глицерина, затем добавляют к нему 3,6 г воды и хорошо перемешивают. В полученную смесь вводят 200 мг выделенного препарата (липазы) и добавляют 20 г рыбного жира с извест-

ным кислотным числом. Смесь оставляют для гидролиза при температуре окружающего воздуха, но не выше + 25 °С в течение 48 ч., затем определяют кислотное число хранившегося жира.

Определение кислотного числа.

В коническую колбу вместимостью 250 см³ отвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,01 г (в зависимости от ожидаемого кислотного числа) 2—10 г профильтрованного жира или 1—2 г препарата «Витамин А в жире», или концентрата витамина А, приливают 30—50 см³ нейтрализованной (по тому индикатору, с которым проводится титрование) смеси спирта с этиловым эфиром (1:2) и перемешивают взбалтыванием. Если при этом жир не растворяется, содержимое колбы слегка нагревают на водяной бане с обратным холодильником, а затем охлаждают до температуры 15—20°С. В полученный раствор прибавляют 1 см³ спиртового раствора фенолфталеина 10 г/дм³ и при постоянном взбалтывании быстро титруют раствором гидроокиси калия 0,1 моль/дм³ или натрия до появления слабо-розовой окраски, устойчивой в течение 30 с.

Во избежание гидролиза раствора мыла количество спирта в нейтрализованной смеси должно превышать количество гидроокиси натрия или калия, пошедшее на титрование, в 5 раз.

При исследовании темно-окрашенных жиров титрование лучше вести в конической колбе с боковой отводной трубкой с добавлением 2 см³ спиртового раствора тимолфталеина 10 г/дм³ в качестве индикатора или 20 см³ спиртового раствора 20 г/дм³ алкалиблау 6Б. Наблюдают за изменением окраски смеси во время титрования в тонком слое, находящемся в отводной трубке колбы.

Тимолфталеин в кислой среде бесцветен, а в щелочной дает голубое окрашивание; при титровании темно-окрашенных жиров он принимает голубовато-зеленый или грязно-зеленый цвет.

Обработка результатов

Кислотное число исследуемого жира (Кч) в мг КОН на 1 г жира вычисляют по формуле 15:

$$K_{\text{ч}} = \frac{V \cdot K \cdot 5.61}{m} \quad (2)$$

где V – объем раствора гидроокиси калия или гидроокиси натрия 0,1 моль/дм³, израсходованный на титрование, см³;

K – коэффициент пересчета на точный раствор 0,1 моль/дм³ щёлочи; 5,61 – количество гидроокиси калия, соответствующее 1 см³ точного раствора 0,1 моль/дм³, мг;

m – масса исследуемого жира, г

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1 мг КОН.

Зная кислотное число жира до гидролиза и, определенное после его гидролиза, устанавливают степень гидролиза взятого рыбного жира, что позво-

ляет судить о липолитической (гидролитической) активности ферментного препарата.

Липолитическую активность (ЛА) или степень гидролиза, % вычисляют по формуле 16:

$$ЛА = \frac{Kч_z - Kч_0}{Kч_0} \cdot 100 \quad (3)$$

где $Kч_z$ — объём раствора гидроокиси калия или гидроокиси натрия 0,1 моль/дм³, израсходованный на титрование жира после гидролиза, см³;

$Kч_0$ — объём раствора гидроокиси калия или гидроокиси натрия 0,1 моль/дм³, израсходованный на титрование жира до гидролиза, см³;

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое значение активностей, полученных при анализе двух параллельных навесок препарата, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1 мг КОН.

Допускаемое расхождение между значениями активностей не должно превышать 5%. Вычисления производят до первого знака после запятой.

Установление сравнительных уровней содержания биологически активных веществ (БАВ) белковой природы фермента цитохрома С (порфиринсодержащие хромопротеиды Ц), в мышечной ткани сердец наземных и водных млекопитающих

Цель работы: Определить содержание фермента цитохрома С в мышечной ткани сердец наземных (крупный рогатый скот (КРС), свиньи, лошади) водных (каспийский тюлень) млекопитающих.

Задачи:

1. Изучить органолептические показатели качества сердец наземных и водных млекопитающих в соответствии с требованиями ГОСТ на мясные субпродукты и требования СанПиН 2.3.2.1078 на исследуемый объект.

2. Осуществить при необходимости отделение соединительной, жировой ткани и т.д. от сердечной мышцы и провести её измельчение.

3. Изучить химический состав, характеристику азотистых веществ мышечной ткани сердец наземных и водных млекопитающих.

4. Приготовить экстракт, содержащий цитохром С.

5. Провести обессаливание экстракта, содержащего цитохром С на сефадексе G-25 методом гельфильтрации.

6. Установить уровень содержания Цитохрома С в обессоленном экстракте сердечной мышцы млекопитающих.

7. Исследовать органолептические и физико-химические показатели качества цитохрома С в изотоническом растворе.

8. Оформить полученные данные в табличной форме, проанализировать и сформулировать выводы.

Объекты исследования: мышечная ткань сердца свиньи, крупного рогатого скота (КРС), лошади, каспийского тюленя.

Методы исследований.

Отбор проб сердец каспийского тюленя проводят в соответствии с ГОСТ 31339-2006 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб», сердец КРС, свиньи, лошади по ГОСТ Р 51447-99 «Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб», ГОСТ 7269 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести». Определение органолептических показателей - ГОСТ 9959-91 «Продукты мясные. Общие условия проведения органолептической оценки». ГОСТ 32244-2013 «Субпродукты мясные обработанные. Технические условия». Определение содержания, %: воды, белка, минеральных веществ, липидов в мышечной ткани сердца каспийского тюленя проводят по ГОСТ 7636 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа». Определение содержания в мышечной ткани сердец наземных животных: воды – по ГОСТ Р 51479-99 «Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли влаги», жира - по ГОСТ 23042 «Мясо и мясные продукты. Методы определения жира», белка – по ГОСТ 25011-81 «Мясо и мясные продукты. Методы определения белка», золы – по ГОСТ 31727-2012 «Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли общей золы».

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска для разделки рыб;
- нож
- мясорубка с диаметром отверстий решётки 2-3 мм
- весы влкт-500
- сито лабораторное
- гомогенизатор
- колбы конические с притёртой пробкой вместимость 250 см³
- термостат
- центрифуга
- рН-метр или другой прибор для определения рН среды в интервале от 1 до 14 с погрешностью не более 0,1.
- весы лабораторные общего назначения по гост 24104, не ниже 3-го класса точности.
- весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по гост 24104
- мешалка магнитная типа мм-3
- секундомер механический по гост 5072.
- баня водяная;

- аппарат Сокслета;
- перекись водорода (х. ч.) по ТУ 6-09-4211-85, смешанный индикатор, эфир медицинский по Госфармакопее РФ (серный эфир);
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, NaOH ч. д. а. по ГОСТ 4328-77 (прокипяченный 33 %-ный раствор);
- KOH ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0.02 н раствор; вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72

2. Получение цитохрома С и определение его физико-химических показателей

Описание методов анализа по определению содержания, %: воды, белка, липидов, минеральных веществ, формольно-титруемого азота, азота летучих оснований, водорастворимого азота, фракционного состава белковых веществ приведено в лабораторной работе № 1 данных методических указаний.

2.1 Методика определения цитохрома С (количественный анализ)

Количественное содержание цитохрома С в сердцах наземных и водных млекопитающих определяют по модифицированной методике Тихоокеанского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ТИНРО-центр).

Подготовка к анализу.

Приготовление 3 %-ого раствора уксусной кислоты. Концентрированную (ледяную) уксусную кислоту в количестве 3 г растворяют в 97 мл дистиллированной воды.

Приготовление 10 %-ого раствора NaOH . 10 г сухой щелочи растворяют в 90 мл дистиллированной воды.

Приготовление изотонического раствора поваренной соли. Изотонический раствор NaCl (0.9 %-ный или 0.15 моль/л) готовят следующим образом: 18 г сухой соли (ХЧ) растворяют в 2-ух литрах дистиллированной воды.

Приготовление индикаторного раствора ГБР. В 1 мл дистиллированной воды растворяют 0.2÷0.4 г голубого декстранта (можно заменить гемоглобином или другим окрашивающим соединением с молекулярной массой не менее 50000 дальтон). В 1 мл дистиллированной воды растворяют 0.2÷0.4 г FeCNS или KCNS . Оба полученных растворов смешивают.

Подготовка геля. Навеску сухого сефадекса G-25 массой 10÷12 % от общего объема колонки ($V_{\text{общ}}$), г/см³, вносят в стакан и заливают водой в соотношении 1:10÷1:15. Для ускорения набухания стакан ставят на водяную баню и выдерживают в течение 25÷30 минут. Смесь периодически помешивают. Перемешивать следует осторожно во избежание разрушения гранул сефадекса. В конце процесса смесь еще раз перемешивают, выдерживают

0.5÷1 минуту для осаждения целых гранул и излишек воды (верхний мутноватый слой) сливают, оставив слой воды в 1/3 часть от нижнего слоя образовавшегося геля. Еще раз перемешивают и смесь переносят в колонку. При этом предварительно зажимают трубку 1 колонки (см. рис.). Высота слоя осевшего геля должна составлять 9/10 от высоты колонки. Если остается часть геля в стакане, следует в него добавить порцию воды, перемешать и перелить в колонку. Излишек воды после осаждения геля сливают, ослабив зажим трубки 1. Необходимо оставить слой воды 0.5÷1 см над верхней границей слоя геля.

ВНИМАНИЕ: в нерабочем состоянии над верхней границей слоя геля всегда должен оставаться слой воды или изотонического раствора во избежание пересыхания геля.

Подготовка стеклянного порошка. Стеклянный порошок изготавливают из обломков соединительных стеклянных трубок. Трубки предварительно тщательно промывают и высушивают. Обломки трубок измельчают и растирают до порошкообразного состояния в фарфоровой ступке.

ВНИМАНИЕ: измельчать необходимо в очках. Во избежание разбрасывания осколков стекла ступку накрывают какой-либо тканью.

Приготовление вытяжки.

Навеску массой 10 г, взвешенную с точностью до 0.01 г, переносят в фарфоровую ступку, туда же вносят 5÷6 г стеклянного порошка, смесь тщательно растирают пестиком.

В измельченную массу вносят 3 %-ный раствор уксусной кислоты из расчета 0.4 л/кг, смесь тщательно перемешивают и ставят на экстракцию при температуре 5 °С и значении рН 4.8÷5.5 в течение 2 часов, перемешивая стеклянной палочкой через каждые 20 минут.

В полученный экстракт добавляют по каплям 10 %-ный раствор NaOH до рН 7.2±0.1, экстракт переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют при температуре 6 °С и частоте вращения 5000 об/мин в течение 20 минут. В жидкую часть добавляют сульфат аммония из расчета 450 г/л, полностью растворяют и оставляют на высаливание при температуре 3 °С в течение 30 минут. Затем раствор центрифугируют при температуре 6 °С и частоте вращения 4000 об/мин в течение 15 минут.

Обессаливание вытяжки на сефадексе G-25

Слой изотонического раствора в верхней части колонки доводят до границы геля, приоткрыв зажим в трубке 1 (рис.). Зажим закрывают, по стенке при помощи пипетки осторожно приливают раствор ГБР (граница геля должна оставаться горизонтальной и ровной) и, приоткрыв зажим, дают ему впитаться. Как только раствор ГБР впитался в гель, зажим закрывают, в верхнюю часть колонки приливают порцию изотонического раствора для создания слоя 1÷2 см и вставляют пробку с трубкой, которую подсоединяют другим концом к емкости с изотоническим раствором. Емкость устанавливают уровнем выше колонки для обеспечения самотечной подачи изотонического раствора. Свободный конец трубки 1 опускают в мерный цилиндр объемом, равному общему объему колонки и открывают зажим.

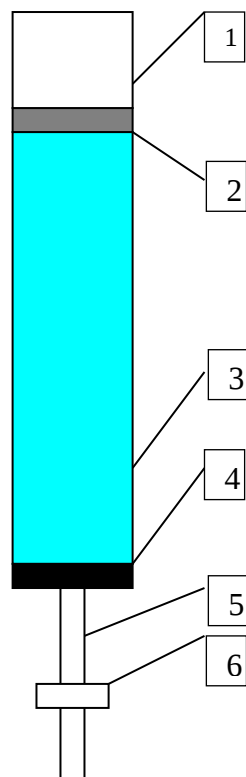


Рис 1. — Схема колонки и распределения в ней слоев: 1 — колонка; 2 — слой раствора; 3 — слой сефадекса (геля); 4 — фильтр полимерный сетчатый; 5 — трубка 1; 6 — зажим.

Наблюдают за перемещением цветных слоев раствора ГБР и прекращают подачу изотонического раствора в мерный цилиндр при появлении из трубки первой капли, окрашенной в голубой цвет. Конец трубки 1 переставляют в другой мерный цилиндр и продолжают подачу изотонического раствора в сефадекс (гель). Подачу во второй мерный цилиндр прекращают при исчезновении голубой окраски в растворе. Зажим закрывают.

Объем раствора, собранного в первый цилиндр, является свободным объемом колонки (V_0), во второй — объемом разведения (V_p).

Приоткрыв зажим, спускают изотонический раствор до верхней границы геля, приливают в верхнюю часть колонки подготовленную для обессаливания пробу, также доводят до полного ее впитывания в гель, затем зажим закрывают. Снова в верхнюю часть осторожно вносят порцию изотонического раствора для создания слоя толщиной $1 \div 2$ см, подключают пробку с трубкой с подачей раствора соли. Конец трубки 1 опускают в мерный цилиндр и открывают зажим.

На штативе устанавливают 10 пробирок, проградуированных по 3 мл. Когда объем изотонического раствора в мерном цилиндре достигнет $3/4$ от V_0 , берут пробу на белок. Для этого на предметное стекло наносят каплю изотонического раствора, вытекающего из трубки 1 и добавляют каплю 20 %-ого раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Появление опалесценции или мутности указывает на присутствие в капле белковых веществ, то есть цитохрома С. Конец трубки 1 поочередно опускают в пронумерованные пробирки, набирая порции раствора по 3 мл. После заполнения 10 пробирок

конец трубки 1 переставляют в мерный цилиндр и осуществляют промывку геля от сульфата аммония ($2\div3$ кратно V_0). Промывка считается законченной, когда в капле изотонического раствора при добавлении капли раствора хлорида бария не образуется осадка.

Порции раствора, собранного в пробирки, проверяют на содержание белка: на предметном стекле проводят капельную реакцию раствором ТХУ, как было описано выше. Порции с белком соединяют.

После промывки геля в колонке оставляют верхний слой изотонического раствора толщиной $2\div3$ см. С целью обеззараживания геля 1 раз в неделю его промывают раствором консерванта (азид натрия, метиолат и др.).

Определение содержания цитохрома С в обессоленном экстракте

В обессоленный экстракт вносят гидросульфат натрия из расчета 1.5 мг/мл, раствор заливают в кювету толщиной 10 мм и измеряют оптическую плотность при длине волны 550 нм. В качестве сравнения используют 0.9 %-ный раствор поваренной соли.

Содержание цитохрома С вычисляют по формуле (1), в мг/мл:

$$X = D_{550} * 12300 * 1000 * p / 27700 * 1000 \quad (1)$$

где D_{550} — оптическая плотность раствора, нм;

12300 — молекулярная масса цитохрома С, Да;

27700 — молярный коэффициент экстинкции, моль⁻¹*см;

p — степень разведения;

1000 — коэффициенты перевода г в мг и л в мл.

Выход солевого раствора цитохрома С (B_{x1} , %) определялся по формуле (2):

$$B_{x1} = m_1 / m * 100\% \quad (2)$$

где m_1 — масса полученного солевого раствора цитохрома С, после гельфильтрации;

m — масса исходного сырья (сердца каспийского тюленя) взятого на получение препарата

Определение содержания сухих веществ и коэффициента преломления раствора. Содержание сухих веществ и коэффициент преломления солевого раствора цитохрома С определяют на рефрактометре типа УРЛ №75-1659.

2.2 Определение pH исследуемого раствора

Метод основан на определении pH раствора специальным прибором — pH-метром. В исследуемый раствор полимера опускают электрод, его выдерживают до установления постоянной величины (5-10 минут).

ВНИМАНИЕ: после каждого определения электрод необходимо ополаскивать дистиллированной водой.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0.1 %.

Методика постановки эксперимента представляет собой краткую запись порядка постановки эксперимента, содержащую выбранный способ обработки, параметры и последовательность технологических операций, использованных при переработке покровной ткани сырья животного и водного происхождения.

3. Результаты исследования

Органолептические показатели качества субпродуктов (сердец) наземных и водных животных рекомендуется оформлять по форме табл. 1.

Таблица 1

Органолептические показатели качества субпродуктов (сердец) наземных и водных животных

Наименование показателя	Характеристика показателя качества	
	по требованию стандарта	исследуемого образца
Внешний вид		
Цвет		
Запах		
Показатели *		

* Показатели качества в соответствии с требованиями действующего стандарта на выданный образец

Данные по химическому составу мышечной ткани сердец наземных и водных животных оформляются по форме табл. 2.

Таблица 2

Сравнительная характеристика химического состава мышечной ткани сердец животного и водного происхождения

Объект исследования	Содержание, %					Энергетическая ценность, ккал
	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	минеральных веществ (М.в.)	углеводов (У)	

Органолептическая и физико-химическая характеристики солевого водного раствора цитохрома С приводятся по форме таблицы 3.

Органолептические и физико-химические показатели качества солевого раствора цитохрома С

Наименование показателя	Характеристика
Внешний вид	
Цвет	
Запах	
Содержание Цитохрома С, мг/л	
рН раствора	
Плотность, г/см ³	
Содержание сухих веществ, %	
Коэффициент преломления раствора	

На основании данных таблиц делают выводы.

4. Вопросы для самоконтроля

1. Сырьевые источники получения препарата Цитохром С.
2. Охарактеризуйте органолептические показатели и химический состав сердец наземных и водных животных.
3. Дайте общую характеристику ферментному препарату Цитохрому С, относящемуся к порфиринсодержащим хромопротеидамЦ (железо-содержащие белки).
4. Приведите суть метода получения экстракта (вытяжки), содержащей Цитохром С.
5. Охарактеризуйте методы выделения и очистки ферментных препаратов белковой природы.
6. Поясните суть метода гельфильтрации при получении препарата Цитохрома С.
7. Приведите характеристику органолептических и физико-химических показателей качества препарата Цитохром С в изотоническом солевом растворе.
8. Практическое применение Цитохрома С.

Установление сравнительных уровней содержания биологически активных веществ (БАВ) белковой природы ДНК в молоках, пробойках объектов рыбного промысла и аквакультуры

Цель работы: Определить содержание ДНК в молоках, пробойках промысловых рыб и объектов аквакультуры.

Задачи:

1. Изучить органолептические показатели качества молок или пробоек промысловых рыб и объектов аквакультуры и требования СанПиН 2.3.2.1078 на исследуемый объект.

2. Осуществить при необходимости отделение соединительной, жировой ткани и т.д. от молок или пробоек рыб и определить их массовый состав.
3. Изучить химический состав, характеристику азотистых веществ молок или пробоек рыб.
4. Установить уровень содержания ДНК в молоках или пробойках рыб.
5. Приготовить экстракт, содержащий ДНК и провести осаждение спиртом.
7. Исследовать органолептические и физико-химические показатели качества ДНК препарата.
8. Исследовать возможность получения протаминсодержащего препарата и исследовать его органолептические и физико-химические характеристики.
9. Оформить полученные данные в табличной форме, проанализировать и сформулировать выводы.

Объекты исследования: молоки, пробойки рыбных объектов промысла и аквакультуры.

Методы исследований.

Отбор проб молок, пробоек проводят в соответствии с ГОСТ 31339-2006 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб». Определение содержания, %: воды, белка, минеральных веществ, липидов, аминного азота, азота летучих оснований, водорастворимого соли в объектах исследования проводят по ГОСТ 7636 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа».

Описание методов анализа по определению содержания, %: воды, белка, липидов, минеральных веществ, формально-титруемого азота, азота летучих оснований, водорастворимого азота, фракционного состава белковых веществ приведено в лабораторной работе № 1 данных методических указаний.

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска для разделки рыб;
- нож
- мясорубка с диаметром отверстий решётки 2-3 мм
- весы влкт-500
- сито лабораторное
- гомогенизатор
- колбы конические с притёртой пробкой вместимость 250 см³
- термостат
- центрифуга
- рН-метр или другой прибор для определения рН среды в интервале от 1 до 14 с погрешностью не более 0,1.

- весы лабораторные общего назначения по гост 24104, не ниже 3-го класса точности.
- весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по гост 24104
- мешалка магнитная типа мм-3
- секундомер механический по гост 5072.
- баня водяная;
- аппарат Сокслета;
- перекись водорода (х. ч.) по ТУ 6-09-4211-85, смешанный индикатор, эфир медицинский по Госфармакопее РФ (серный эфир);
- H_2SO_4 ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, NaOH ч. д. а. по ГОСТ 4328-77 (прокипяченный 33 %-ный раствор);
- KOH ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0.02 н раствор; вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72

2. *Определение содержания ДНК, его выделение и определение его показателей*

2.1 Методика определения содержания ДНК с использованием модифицированного метода Шмидта—Таннгаузера, предложенного Орловым А.С. и Орловой Е.И. и определению нуклеиновых кислот по пентозе с использованием дифениламина по Дише

По данному методу щелочной гидролиз тканевых препаратов проводят без предварительного выделения нуклеиновых кислот и удаления свободных нуклеотидов. ДНК отделяют от белков и осаждают спиртом.

Подготовка к анализу.

Приготовление 1н раствора едкого натра (NaOH). 4 г NaOH взвешивают в мерной колбе объемом 100 см³ и доводят до метки дистиллированной водой.

Приготовление насыщенного раствора хлористого натрия (NaCl), на 20 %-ном растворе уксусной кислоты. 20 г ледяной уксусной кислоты растворяют в 80 см³ воды и к полученному раствору добавляют хлористый натрий пока он не перестанет растворяться и не выпадет в осадок.

Приготовление 0,5 н раствора HClO_4 . Молекулярная масса HClO_4 составляет 100,5. Для приготовления 0,5 н раствора необходимо $100,5 \cdot 0,5 = 50,25$ г HClO_4 растворить в небольшом количестве дистиллированной воды мерной колбе объемом 1000 см³ и полученный раствор довести до метки.

Реактив Дише. 1 г дифениламина растворяют в 100 мл ледяной уксусной кислоты. К полученному раствору добавляют 2,75 мл конц. серной кислоты.

Приготовление гидролизата ДНК.

50—100 мг ткани помещают в центрифужную пробирку, добавляют 1 мл 1 н раствора едкого натра и при помешивании нагревают в кипящей водяной бане в течение 5 мин (нагревание можно заменить инкубацией при 37 °С в течение 18 ч).

Прозрачный, слегка опалесцирующий гидролизат охлаждают до комнатной температуры и погружают в сосуд с тающим льдом. Добавляют 0,5 мл насыщенного раствора хлористого натрия, приготовленного на 20 %-ном растворе уксусной кислоты. Через 3—5 мин выпавший в осадок белок отделяют центрифугированием (4 °С, 600 g, 10 мин). Центрифугат сливают в стакан, осадок белка растворяют на холоде в 1 мл 1 н раствора щелочи и белки вновь осаждают добавлением 0,5 мл NaCl. Раствор центрифугируют. Центрифугаты объединяют и для осаждения ДНК приливают в стакан с тройным объемом охлажденного этанола. Раствор оставляют на 1—2 ч в холодильнике и осадок ДНК собирают центрифугированием на холоде (600 g, 10 мин). К осадку добавляют 5 мл 0,5 н раствора HClO_4 , закрывают пробками с воздушными холодильниками и помещают в кипящую водяную баню на 20 мин. В гидролизате определяют содержание ДНК спектрофотометрически по реакции с дифениламином.

Определение нуклеиновых кислот по пентозеопределению содержания ДНК с дифениламином по Дише

К 1—2 мл кислотного гидролизата ткани добавляют двойной объем реактива Дише. Смесь нагревают в течение 10 мин на водяной бане при 90 °С и охлаждают. Одновременно проводят реакцию со стандартным раствором ДНК, содержащим от 50 до 500 мкг/мл ДНК в пробе. При нагревании развивается устойчивая синяя окраска. Измеряют поглощение растворов на колориметре при 590 нм. Концентрацию ДНК в гидролизате рассчитывают по калибровочному графику, построенному по стандартному раствору ДНК.

Для расчета содержания ДНК необходимо построить калибровочную кривую стандартного раствора ДНК. Калибровочная кривая строится по средним данным значениям оптической плотности растворов. Для построения калибровочной шкалы раствора ДНК был использован препарат «Деринат». Деринат (дезоксирибонуклеат натрия) -высокоочищенная натриевая соль нативной дезоксирибонуклеиновой кислоты, деполимеризованной ультразвуком (биологически активное вещество, выделенное из молок лососевых видов рыб), растворенная в 0,25 %-ном водном растворе хлорида натрия.

Данные для построения калибровочной кривой стандартного раствора ДНК представлено в таблице 1.

Таблица 1

Калибровочная кривая стандартного раствора ДНК

№ раствора	Концентрация стандартного раствора ДНК, мг/мл	Оптическая плотность (D)
1	0,05	0,068
2	0,125	0,16
3	0,25	0,289
4	0,5	0,778

5	1	1,715
---	---	-------

Графическое изображение калибровочной кривой раствора ДНК показано на рисунке.

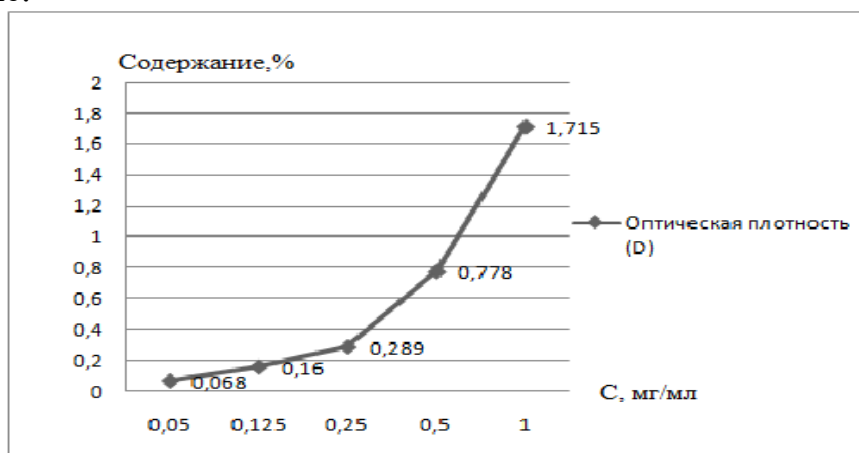


Рис 1. Калибровочная кривая стандартного раствора ДНК
Содержание ДНК рассчитывают по формуле(1):

$$X = \frac{C \cdot V1}{m \cdot V2} * 100\%, \quad (1)$$

где: C – концентрация ДНК в исследуемом растворе, мг/мл;

V1 - объем раствора HClO₄, добавляемый к осадку, мл;

V2 – объем гидролизата, взятого на определение содержания ДНК, мл;

m - масса навески молок осетра, взятого на выделение ДНК, г;

100 – пересчет на проценты.

2.2 Методика выделения ДНК

В круглодонную колбу с обратным холодильником наливалось 100 мл воды, при перемешивании добавлялось 7 г поваренной соли и 30 г обезжиренного сырья. Массу нагревают до 100 °С и продолжают кипячение в течение 3 ч, после чего горячий раствор 3-кратно фильтруют через пористый материал. К охлажденному до 40-50 °С фильтрату добавлялось 100 мл 96 %-ного этилового спирта, оставляют на 2-3 ч при температуре не выше 10 °С. По истечении этого времени фильтрат центрифугируют при частоте оборотов 3000 об/мин и продолжительностью 15 мин, отделившийся осадок сушат в естественных условиях при температуре 23-25 °С. Содержание ДНК в полученном препарате определяют с дефиниламином по методу Дише, описанной выше.

2.3 Методика получения протаминсульфат содержащего препарата

30-50 г молок рыб промывают в чистой проточной воде при температуре не выше 15 °С до полного удаления с них слизи, крови, других загрязнений и направляют на стекание. Затем молоки измельчают на мясорубке с диаметром отверстий решётки 2-3 мм. Измельченные молоки помещают в термостойкий стакан вместимостью 350-500 см³ и добавляют горячую воду температурой 90-95°С в соотношении 1:2,5 смесь хорошо перемешивают и

варят при температуре 90-100° С в течение 15-20 минут. Проваренные молоко отделяют от воды и обрабатывают 96%-ным этиловым спиртом в течение 10-15 мин в соотношении 1:1 для их обезвоживания и обезжиривания. Полученную массу после обезвоживания фильтруют для отделения отработанного спирта от плотной части. Отработанный спирт направляют на регенерацию, а плотную часть толщиной слоя 2 мм на сушку в сушильном шкафу при температуре 80 °С, в течение 3 часов. Высушенные гранулы молока измельчают до порошкообразной консистенции взвешивают в колбе объёмом 250 см³ и вносят 3%-ный раствор серной кислоты при гидромодуле (ГМ) 1:2 перемешивают смесь и выдерживают её при температуре 60 °С в течение 1 часа, затем фильтруют для отделения жидкой части от плотной. В отделённую жидкую часть вносят 72,5 или 96%-ный этиловый спирт в соотношении, ГМ 1:2 для осаждения протамина из экстракта. Полученный осадок протамина отделяют от этилового спирта, который направляют на регенерацию. Осадок протамина высушивают в сушильном шкафу для удаления остатков влаги при оптимальных параметрах: температура 60° С, толщина слоя 2 мм, до достижения в продукте содержания воды не более 10%. Высушенный осадок измельчают до порошкообразной консистенции, взвешивают и определяют его выход по отношению к массе взятого исходного сырья.

3. Анализ результатов исследования

Методика постановки эксперимента представляет собой краткую запись порядка постановки эксперимента, содержащую выбранный способ обработки, параметры и последовательность технологических операций, использованных при переработке покровной ткани сырья животного и водного происхождения.

Например. На первом этапе экспериментальных исследований проводилось изучение органолептических и физико-химических (содержание влаги, белка, НБА, ОА, ТА, АЛО, ВА) показателей качества молока, пробоек рыб.

На втором этапе было определено процентное содержание ДНК в молоках и апробирован способ получения натриевой соли ДНК. Далее необходимо привести метод определения ДНК и способ получения натриевой соли ДНК.

Рекомендуется оформлять по форме таблицы 2.

Таблица 2

Органолептические показатели качества молока и пробоек объектов рыбного промысла и аквакультуры

Наименование показателя	Характеристика показателя качества	
	по требованию стандарта	исследуемого образца
Внешний вид		
Цвет		
Запах		
Консистенция		

* Показатели качества в соответствии с требованиями действующего стандарта на выдан-

ный образец

Данные по химическому составу молока и пробоек объектов рыбного промысла приводятся по форме табл. 3.

Таблица 3

Сравнительная характеристика химического состава молока и пробоек объектов рыбного промысла и аквакультуры

Объект исследования	Содержание, %				Энергетическая ценность, ккал
	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	минеральных веществ (М.в.)	

Данные по содержанию азотистых веществ в молоках и пробойках объектов рыбного промысла и аквакультуры приведены в табл.4.

Таблица 4

Содержание азотистых веществ в молоках и пробойках объектов рыбного промысла и аквакультуры

Исследуемый объект	Содержание, мг/100г				Содержание, %		
	ОА	НБА	АЛО	ФТА	НБА/ОА	ФТА/ОА	АЛО/ОА

Данные по фракционному составу белковых веществ в молоках и пробойках объектов рыбного промысла и аквакультуры приводятся по форме табл.5.

Таблица 5

Фракционный состав белковых веществ молока и пробоек объектов рыбного промысла и аквакультуры

Объект исследования	Содержание, %			
	азот альбуминов	азот глобулинов	азот миоглобинов	остаточный азот

Данные по исследованию содержания ДНК в обезжиренных молоках и пробойках товарных осетровых видов рыб представляются по форме табл. 6.

Таблица 6

Исследование содержания ДНК в молоках осетровых рыб

Исследуемый объект	Оптическая плотность (D)	Концентрация раствора ДНК, мг/мл	Содержание ДНК, %

Органолептические и физико-химические характеристики ДНК-содержащего препарата приводятся по форме табл.7.

Таблица 7

Органолептические и физико-химические показатели качества ДНК-содержащего препарата

Наименование показателя	Характеристика и норма	Метод испытания
Внешний вид		
Размер частиц, мкм не более: - порошок - чешуйки		
Массовая доля общего азота, % не менее		
Массовая доля влаги, % не более		
Массовая доля минеральных веществ, % не более		
Массовая доля ДНК, % не менее		

Органолептическая и физико-химическая характеристики протамин-содержащего препарата приводятся по форме табл. 8.

Таблица 8

Органолептические и физико-химические показатели качества протаминсодержащего препарата

Наименование показателя	Характеристика и норма	Метод испытания
Внешний вид		
Размер частиц, мкм не более: - порошок - чешуйки		
Массовая доля общего азота, % не менее		
Массовая доля влаги, % не более		
Массовая доля минеральных веществ, % не более		
Растворимость в 2%-ном р-ре двуназрийфосфата, %		

4. Вопросы для самоконтроля:

1. Сырьевые источники получения ДНК-содержащего препарата и протамина.
2. Охарактеризуйте органолептические показатели и химический состав гонад, молоко, пробоек объектов промысла и аквакультуры.
3. Дайте общую характеристику ДНК-содержащим препаратам.

4. Приведите суть метода получения ДНК-содержащего препарата.
5. Охарактеризуйте методы выделения и очистки ДНК.
6. Приведите характеристику органолептических и физико-химических показателей качества ДНК-содержащего препарата.
7. Характеристика протаминсодержащих препаратов
8. Приведите суть метода получения и очистки протаминсодержащих препаратов.
9. Приведите характеристику органолептических и физико-химических показателей качества протаминсодержащего препарата.
10. Практическое применение ДНК-препаратов.
11. Практическое применение протаминсодержащих препаратов.

Установление сравнительных уровней содержания азотистого основания гуанина, входящего в состав нуклеиновых кислот (ДНК) в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры

Цель работы: Определить содержание гуанина в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры.

Задачи:

1. Изучить органолептические показатели качества кожи с чешуёй промысловых рыб и объектов аквакультуры и требования СанПиН 2.3.2.1078 на исследуемый объект.
2. Осуществить при необходимости отделение соединительной, мышечной, жировой ткани и т.д. от кожи с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры.
3. Изучить химический состав, характеристику азотистых веществ кожи с чешуёй изучаемых объектов.
4. Установить уровень содержания гуанина в коже с чешуёй рыб.
5. Приготовить экстракт гуанина, провести его очистку от белковых веществ и липидов.
6. Исследовать органолептические и физико-химические показатели качества полученного гуанина.
7. Оформить полученные данные в табличной форме, проанализировать и сформулировать выводы.

Объекты исследования: кожа с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры.

Методы исследований.

Отбор кожи с чешуёй рыб проводят в соответствии с ГОСТ 31339-2006 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб». Определение содержания, %: воды, белка, минеральных веществ, липидов, аминного азота, азота летучих оснований, водорастворимого, соли в объектах исследования проводят по ГОСТ 7636 «Рыба, морские млеко-

питающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа».

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска для разделки рыб;
- нож
- мясорубка с диаметром отверстий решётки 2-3 мм
- весы влкт-500
- сито лабораторное
- гомогенизатор
- колбы конические с притёртой пробкой вместимость 250 см³
- термостат
- центрифуга
- рН-метр или другой прибор для определения рН среды в интервале от 1 до 14 с погрешностью не более 0,1.
- весы лабораторные общего назначения по гост 24104, не ниже 3-го класса точности.
- весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по гост 24104
- мешалка магнитная типа мм-3
- секундомер механический по гост 5072.
- баня водяная;
- аппарат Сокслета;
- перекись водорода (х. ч.) по ТУ 6-09-4211-85, смешанный индикатор, эфир медицинский по Госфармакопее РФ (серный эфир);
- H₂SO₄ ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, NaOH ч. д. а. по ГОСТ 4328-77 (прокипяченный 33 %-ный раствор);
- КОН ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0.02 н раствор; вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72

2. Установление сравнительных уровней содержания азотистого оседования гуанина

Описание методов анализа по определению содержания, %: воды, белка, липидов, минеральных веществ, формольно-титруемого азота, азота летучих оснований, водорастворимого азота приведено в лабораторной работе № 1 данных методических указаний.

2.1 Определение азота отдельных белковых фракций

В основу разделения отдельных фракций белков положена их различная способность растворяться в воде, растворах нейтральных солей средней концентрации и слабых растворах щелочей.

Подготовка проб к исследованию. С целью отделения белковых веществ объект исследования смешивают с различными растворителями (вода, раствор NaCl 7,5 %, раствор NaOH 0,05 %). В полученных вытяжках (водной, солевой и щелочной – соответственно) определяют содержание азота. Кроме того, исследуют остаток мяса после щелочного извлечения, а в отдельной навеске мяса рыбы определяют небелковый азот.

2-4 г тонко измельченное в ступке мясо рыбы отвешивают в колбу на 200-250 мл., заливают 75 мл растворителя (воды, раствора NaCl или щелочи) и при периодическом взбалтывании выдерживают на льду или в холодильнике при 3-4°C в течении суток. После настаивания вытяжку декантируют или фильтруют через вату в мерную колбу емкостью 250 мл. Фильтр с задержанной на нём плотной частью переносят снова в колбу для настаивания, заливают 50 мл растворителя и повторяют настаивание, как и в первый раз. Такую обработку проводят 4-5 раз, до полного извлечения белков растворителем.

Полученные после всех настаиваний вытяжки соединяют вместе, доводят водой до объема 250 мл и фильтруют через сухой бумажный фильтр. Затем отбирают в колбу для сжигания 20-100 мл фильтрата и определяют в нем азот по методу, описанному выше. В каждой вытяжке определяется сумма нескольких разновидностей азота, а именно: в водной – сумма азота небелкового и альбуминов; в солевой вытяжке – азот небелковый, альбуминов и глобулинов и, в щелочной- азот небелковый, альбуминов, глобулинов и миостроминов. Таким образом, вычитая из азота водной вытяжки (АВВ) небелковый азот (НБА), устанавливают уровень азота альбуминов; вычитая из азота солевой вытяжки (АСВ) азот водной вытяжки – уровень азота глобулинов; вычитая из азота щелочной вытяжки (АЩВ) азот солевой вытяжки – азот миостроминов.

Иногда определение отдельных белковых фракций осуществляют следующим образом.

45 г тонко измельченной пробы взбалтывают в течение 3-5 мин с 900 мл экстрагирующего раствора, содержащего от 6 до 7,5 % хлористого натрия с добавлением 0,02 М раствора NaHCO₃ до получения pH от 7 до 7,5. Предварительно солевой раствор охлаждают с таким расчетом, чтобы после смешивания мяса с раствором температура не поднималась выше 5 °С. После взбалтывания смесь центрифугируют 30 мин, со скоростью не менее 2000 об/мин. В раствор переходит небелковый азот, азот альбуминов и глобулинов. Для определения суммы всех названных форм азота 5 мл солевого раствора сжигают обычным методом.

Азот глобулинов (АГ) или миозинов в экстракте определяют следующим образом. Отбирают 5 мл солевого раствора белков и приливают 45 мл дистиллированной воды, охлажденной до температуры 0 °С. Происходит количественное выпадение глобулинов с осадок. После суточного отстаивания на холоде осадок глобулинов определяют получасовым центрифугированием со скоростью не менее 3000 об/мин. После удаления жидкости осадок глобулинов растворяют в нескольких миллилитрах 1N раствора NaOH, раствор

количественно переносят в колбу для сжигания и определяют азот по методу Къельдаля.

В отдельной навеске определяют содержание общего азота и небелкового азота, по вышепредставленным методикам.

После установления значений фракций белков, проводят расчет по формулам:

$$\text{азот альбуминов (АА)} = (\text{АВВ-НБА}) \cdot 5,55 \quad (1)$$

$$\text{азот глобулинов (АГ)} = (\text{АСВ-АВВ}) \cdot 5,55 \quad (2)$$

$$\text{азот миостроминов (АМ)} = (\text{АЩВ-АСВ}) \cdot 5,55 \quad (3)$$

$$\text{азот нерастворимых веществ (АНВ)} = (\text{ОА-АЩВ}) \quad (4)$$

2.2 Методика определения содержания коллагена и эластина

Реактивы и материалы: 0,1 н р-р NaOH, раствор сернокислого цинка, насыщенного на холоде (растворимость безводного *сульфата цинка* (ZnSO_4) при температуре 30 °С равна 322 г/л. 33 г ZnSO_4 смешать с 67 см³ дистиллированной воды), 0,5% - ный водный раствор танина, .

Метод основывается на способности коллагена при кипячении с водой переходить в глютин, который с раствором танина образует осадок, не растворимый в воде.

5 г тонко измельченного материала отвешивают в плоскодонную колбу на 500 мл, приливают 200 мл воды и кипятят с обратным холодильником в течение 4-5 час. Затем добавляют 1 г винной кислоты и кипятят еще в течении 30 мин. Раствор охлаждают до 70°– 80° С, нейтрализуют с 2 г углекислого кальция или раствором едкого натра до слабо кислой реакции и охлаждают до комнатной температуры, обливая колбу водой из водопроводного крана.

В последующем прибавляют 10 – 20 мл насыщенного на холоде раствора сернокислого цинка и хорошо перемешав, оставляют стоять 5 мин.

Затем смесь переносят в мерную колбу на 500 мл и дополняют водой до метки. Выпавший осадок коагулировавших белков отделяют фильтрованием через сухой складчатый фильтр. 100 мл фильтрата отбирают в колбу для сжигания с целью определения общего азота (раствор 1). К другим 100 мл фильтрата, отобраным в коническую колбу на 200 мл, добавляют 25 мл свежеприготовленного 0,5% - ного водного раствора танина. После выпадения глютина в осадок раствор фильтруют через складчатый фильтр в колбу для сжигания на 500 мл и осадок многократно промывают, беря каждый раз по 20 мл воды (раствор 2).

К обоим растворам (1 и 2) в колбах для сжигания добавляют по 20 мл концентрированной серной кислоты, затем сжигают и определяют азот, как обычно. Параллельно проводят контрольный опыт с 20 мл раствора танина и вносят при расчете соответствующую поправку.

Количество азота коллагена находят по разности между содержанием азота в фильтрате после отделения коагулировавших белков (раствор 1) и в фильтрате после отделения глютина осаждением танином (раствор 2).

Модифицированный метод определения сырого гуанина в чешуе взве-

шиванием

Метод основан на выделении (отмывании) гуанина из чешуи керосином или бензином, фильтровании и определении разницы между общей массой плотных веществ и белковых примесей взвешиванием

Аппаратура, материалы и реактивы: весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104—88; шкаф сушильный лабораторный; баня водяная; центрифуга лабораторная, 4000 об/мин; бюксы для взвешивания по ГОСТ 25336—82; стаканы лабораторные по ГОСТ 25336—82; керосин или бензин авиационный марки Б-70 по ГОСТ 1012-72; ацетон по ГОСТ 2603-79; бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026—76.

Берут две навески чешуи массой по 1-3 г и взвешивают в двух конических колбах объёмом 250 см³ заливают керосином или бензином в массовом соотношении 1:1 и непрерывно перемешивают для отделения кристаллов гуанина от чешуи в течение 30-40 мин, сливают образовавшиеся суспензии в стеклянные стаканы, а оставшуюся в колбах чешую обрабатывают новой порцией растворителя. Обработку чешуи керосином или бензином проводят до полного исчезновения у нее блеска (в среднем шесть раз). Перемешивают чешую с керосином сначала в течении 30 – 40, затем – 20 – 25 мин. Полученные суспензии гуанина сливают в разные стаканы. Первую суспензию гуанина переносят в предварительно высушенную бюксу. Бюксу помещают на водяную баню для удаления керосина или бензина, а затем — в сушильный шкаф для высушивания плотной части, содержащей гуанин до постоянной массы. Вместо центрифугирования выделение гуанина из суспензии можно проводить фильтрованием через предварительно высушенный до постоянной массы фильтр. Осадок на фильтре промывают 5—6 раз ацетоном и высушивают до постоянной массы при 100—105 °С. Массовую долю (X_1) плотных веществ, содержащих гуанин в чешуе в процентах вычисляют по формуле (5):

$$X_1 = \frac{100 \cdot (M_1 - M_0)}{M} \quad (5)$$

где M_1 - масса бюксы с навеской после высушивания, г;

M_0 — масса бюксы, г;

M — масса чешуи, г. За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1 %. Вычисление проводят до первого десятичного знака.

Определение белковых примесей. Вторую суспензию гуанина помещают на водяную баню для удаления керосина или бензина. Затем заливают 50 см³ раствора соляной кислоты 50 г/дм³ и нагревают до кипения. Гуанин быстро растворяется, а примеси коагулируют и всплывают на поверхность раствора.

После кипячения в течение 1-2 мин содержимое стакана в горячем виде фильтруют через высушенный до постоянной массы фильтр. Осадок промывают два раза горячим раствором соляной кислоты 50 г/дм³, а затем горячей

водой, подкисленной соляной кислотой. По окончании фильтрования фильтр с осадком высушивают до постоянной массы и взвешивают.

Массовую долю (X_2) белковых примесей (%) вычисляют по формуле (6):

$$X_2 = \frac{100 \cdot (M_3 - M_2)}{M} \quad (6)$$

где M_3 - масса фильтра с осадком после высушивания, г;

M_2 — масса пустого фильтра, высушенного до постоянной массы, г;

M — масса чешуи, г.

Массовую долю сырого гуанина (X_3) в процентах вычисляют по формуле (7):

$$X_3 = X_1 - X_2 \quad (7)$$

где X_1 — массовая доля плотных веществ в чешуе, %;

X_2 - массовая доля белковых примесей в чешуе, %;

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1 %. Вычисление проводят до первого десятичного знака.

2.3 Методика получения гуанина.

Навеску кожи вяленой воблы или леща без снятия чешуи в количестве 20-30 г взвешивают в колбе объёмом 500 см³ и добавляют 10%-ный водный раствор карбамида в соотношении 1:10, нагревают смесь до 45 °С, выдерживают смесь при температуре 20-25 °С в течение 60 — 72 часов при периодическом помешивании, после растворения кожи смесь фильтруют, для отделения чешуи, через сито с диаметром отверстий 1 мм, многократно промывают водопроводной водой до полной очистки пластинок чешуи от кристаллов гуанина, полученный фильтрат, содержащий гуанин кожи и чешуи центрифугируют при частоте 3000 об/мин в течение 15 мин, сливают надосадочную жидкость. Плотную часть гуанина взвешивают и помещают в колбу на 250 см³ вносят фермент трипсин концентрацией 0,3% к массе плотной части, создают слабо щелочную среду добавлением 0,0125% водного раствора поверхностно-активного вещества хозяйственного мыла с рН 7,8 - 8, в соотношении от исходной массы гуанина 1:1,5, смесь выдерживают в термостате для ферментации при температуре 37°С и продолжительности 24 часа. Выдержанную суспензию фильтруют через бумажный или капроновый фильтр и промывают проточной водой (допускается слить верхнюю часть раствора и промыть гуанин проточной водой методом декантации, наливая водопроводную воду, перемешивая, отстаивая и сливая верхнюю жидкую часть). Промытый гуанин взвешивают в колбе объёмом 250 см³ добавляют ацетон или спирт в соотношении 1:10, закрывают пробкой и обезжиривают в течение 24 часов. Затем ацетон или

спирт сливают и очищенный гуанин высушивают при температуре 20-25 °C до влажности не более 10-12%.

2.4 Методика получения гуанина с применением соляной кислоты

Навеску кожи вяленой воблы или леща без снятия чешуи в количестве 20-30 г взвешивают в колбе объёмом 500 см³ и добавляют 10%-ный водный раствор карбамида в соотношении 1:10, нагревают смесь до 45 °С, выдерживают смесь при температуре 20-25 °С в течение 60 — 72 часов при периодическом помешивании, после растворения кожи смесь фильтруют, для отделения чешуи, через сито с диаметром отверстий 1 мм, многократно промывают водопроводной водой до полной очистки пластинок чешуи от кристаллов гуанина, полученный фильтрат, содержащий гуанин кожи и чешуи центрифугируют при частоте 3000 об/мин в течение 15 мин, сливают надосадочную жидкость. Полученный гуанин взвешивают в колбе на 250 см³ и смешивают с раствором 5%-ной соляной кислоты в соотношении 1:1. Смесь нагревают до полного растворения гуанина. После растворения гуанина, смесь профильтровывают через бумажный или ватно-марлевый фильтр, для удаления не растворившихся примесей гуанина. Полученный фильтрат настаивают, при температуре окружающей среды, продолжительностью 24 час. При этом в растворе наблюдаются кристаллы гуанина. Жидкую фазу отделяют от осадка, посредством слива. Осадок подвергают нейтрализации 5% этиловым спиртом до pH 7. Реакция нейтрализованной среды устанавливают с помощью pH-метра. Кристаллы гуанина отделяют от нейтрального раствора центрифугированием при частоте 3000 об/мин в течение 15 мин после чего высушивают при температуре 20-25 °С до влажности не более 10-12%.

3. Анализ результатов исследования

Рекомендуется оформлять по форме таблицы 1.

Таблица 1

Органолептические показатели качества кожи с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры

Наименование показателя	Характеристика показателя качества	
	по требованию стандарта	исследуемого образца
Внешний вид		
Цвет		
Запах		
Консистенция		

Данные по химическому составу кожи с чешуёй объектов рыбного промысла приводятся по форме табл. 2.

Таблица 2

Сравнительная характеристика химического состава кожи с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры

Объект иссле-	Содержание, %	Энергетическая
---------------	---------------	----------------

дования	воды (В)	белка (Б)	жира (Ж)	минеральных веществ (М.в.)	ценность, ккал

Данные по содержанию азотистых веществ в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры приведены в табл.3.

Таблица 3

Содержание азотистых веществ в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры

Исследуемый объект	Содержание, мг/100г				Содержание, %		
	ОА	НБА	АЛО	ФТА	НБА/ОА	ФТА/ОА	АЛО/ОА

Данные по фракционному составу белковых веществ в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры приводятся по форме табл.4.

Таблица 4

Фракционный состав белковых веществ в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры

Объект исследования	Содержание, %					
	азот аль-буминов	азот глобулинов	азот миостроминов	азот коллагена	азот эластина	остаточный азот

Данные по исследованию содержания гуанина в коже с чешуёй объектов рыбного промысла и аквакультуры представляются по форме табл.5.

Таблица 5

Исследование содержания гуанина в коже с чешуёй рыб

Исследуемый объект	Содержание гуанина, %

Органолептическая и физико-химическая характеристика гуанина приведена по форме табл. 6.

Таблица 6

Органолептические и физико-химические показатели качества гуанин-содержащего препарата

Наименование показателя	Характеристика и норма	Метод испытания
Внешний вид		
Размер частиц, мкм не более:		
Массовая доля общего азота, % не менее		
Массовая доля влаги, % не более		
Массовая доля минеральных ве-		

ществ, % не более		
Массовая доля гуанина, % не менее		

4. Вопросы для самоконтроля:

1. Сырьевые источники получения гуанин-содержащего препарата?
2. Охарактеризуйте органолептические показатели и химический состав чешуи объектов промысла и аквакультуры?
3. Дайте общую характеристику гуанин содержащим препаратам?
4. Приведите суть метода определения содержания гуанина в сырье?
5. Приведите суть метода получения гуанин содержащего препарата?
6. Охарактеризуйте методы очистки гуанин содержащего препарата?
7. Приведите характеристику органолептических и физико-химических показателей качества гуанин содержащего препарата?
8. Практическое применение гуанин содержащего препарата?

Установление сравнительных уровней содержания жирорастворимого пигмента хлорофилла в пресноводных и морских водных растениях

Цель работы: установить сравнительные уровни содержания жирорастворимого пигмента хлорофилла в пресноводных (семейство рдестовых) и морских водных растениях.

Задачи:

1. Изучить требования стандарта и СанПиН на исследуемый объект. Определить органолептические показатели качества морской травы.
2. Изучить физико-химические характеристики морской травы zostеры, пресноводных растений, рдеста пронзённолистного, гребенчатого и т.д.: содержание эфирорастворимых веществ.
3. Получить экстракты пигментных веществ (хлорофилла).
4. Исследовать органолептические, физико-химические характеристики экстрактов пигментных веществ.
5. Сформулировать выводы после проведённой работы в целом.

Объекты исследования: морская трава zostера каспийская (*Zostera nana*) (рис. 1), пресноводная трава рдест пронзённолистный (*Potamogeton perfoliatus*) (рис. 2) и экстракты хлорофилла, полученные из них. Пробы водных растений изымают из воды, промывают, высушивают в естественных условиях и доставляют в лабораторию. Пробы хранят при относительной влажности 75 % и остаточном содержании воды 10–11 %



Рис. 1. Зостера каспийская



Рис.2. Рдест пронзённолистный

Методы исследования.

Отбор проб и определение органолептических показателей качества водных растений проводят в соответствии с ГОСТ 20438 «Водоросли, травы морские и продукты их переработки. Правила приемки. Методы органолептической оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний». Химические показатели заготовленных воздушно-сухих образцов (массовая доля воды, золы, общего азота) zostеры и рдеста определяют по ГОСТ 26185-84 «Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа». Содержание растворимых в эфире веществ – по ГОСТ 7636-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки».

Содержание сухих веществ в экстрактах определялось по ГОСТ 6687.2-90 «Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения сухих веществ» рефрактометрическим методом.

Плотность полученных экстрактов определялась ареометрическим методом по ГОСТ 3625-84 «Молоко и молочные продукты. Методы определения плотности».

Содержание хлорофилла в сырье и концентрация в экстракте определялись по ГОСТ 2182-84 «Паста хвойная. Хлорофиллокаротиновая».

Порядок выполнения работы.

1. Необходимое оборудование, инструменты и реактивы:

- доска для разделки рыб;

- нож
- мясорубка с диаметром отверстий решётки 2-3 мм
- сито лабораторное
- гомогенизатор
- колбы конические с притёртой пробкой вместимость 250 см³
- термостат
- центрифуга
- рН-метр или другой прибор для определения рн среды в интервале от 1 до 14 с погрешностью не более 0,1.
- весы лабораторные общего назначения по гост 24104, не ниже 3-го класса точности.
- весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по гост 24104
- мешалка магнитная типа мм-3
- секундомер механический по гост 5072.
- баня водяная;
- аппарат Сокслета;
- перекись водорода (х. ч.) по ТУ 6-09-4211-85, смешанный индикатор, эфир медицинский по Госфармакопее РФ (серный эфир);
- H₂SO₄ ч. или х. ч. по ГОСТ 4204-77, NaOH ч. д. а. по ГОСТ 4328-77 (прокипяченный 33 %-ный раствор);
- КОН ч. д. а. по ГОСТ 24363-80, 0.02 н раствор;
- вода дистиллированная безаммиачная, приготовленная по ГОСТ 4517-75;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72;
- камера хроматографическая;
- фотоэлектроколориметр типа ФЭК-56;
- весы лабораторные 4-го класса точности, наибольший предел взвешивания 200 г, поверочная цена деления 0,1 г по ГОСТ 24104-80 (для взвешивания продукта);
- стаканы стеклянные исполнения 1 или 2 по ГОСТ 25336-82, вместимостью 25, 50, 100 см³;
- колбы мерные исполнения 1 или 2, вместимостью 100 см³ 2-го класса точности по ГОСТ 1770-74;
- мензурка 100 см³ по ГОСТ 1770-74;
- бюретка 1-2-10-0,05 по ГОСТ 20292-74;
- пипетки 6-1-10, 7-1-10 по ГОСТ 20292-74;
- бумага хроматографическая по ГОСТ 443-76;
- калий двуххромовокислый х.ч. по ГОСТ 4220-75;
- медь серноокислая х.ч. по ГОСТ 4165-78;
- аммиак по ГОСТ 3760-79, водный раствор с массовой долей аммиака 7%;

- кислота серная х.ч. по ГОСТ 4204-77, раствор (H_2SO_4)=0,5 моль/дм³;
- ацетон ч. по ГОСТ 2603-79;
- эфир петролейный ч. по ГОСТ 11992-66;
- растворы стандартные Русселя и Гетри
- метиловый спирт;
- 25 — 30%-ный раствор едкого калия в метиловом спирте;
- хлористый натрий— насыщенный раствор;
- углекислый кальций или углекислый магний;
- кварцевый песок (промытый кислотой, водой и прокаленный).

2. Установление сравнительных уровней содержания жирорастворимого пигмента

2.1 Определение массовой доли производных хлорофилла и каротина

Метод основан на разделении каротина и производных хлорофилла способом бумажной хроматографии с последующим растворением их в бензине и ацетоне и измерении оптической плотности полученных растворов на фотоэлектроколориметре типа ФЭК-56.

Приготовление стандартного раствора Русселя. Химически чистый трижды перекристаллизованный двуххромовокислый калий высушивают до постоянной массы. Навеску двуххромовокислого калия массой 0,036 г, взвешенную до четвертого десятичного знака, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 см³ и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки.

Стандартный раствор Русселя по оптической плотности, определенной на фотоэлектроколориметре типа ФЭК-56 с синим светофильтром, соответствует раствору каротина с концентрацией 2,08 мкг/см³. Срок хранения раствора 1 мес в герметично закрывающейся склянке.

Приготовление стандартного раствора Гетри. В стаканчик вместимостью 50 см³ помещают взвешенные до четвертого десятичного знака навеску сернокислой меди массой 2,85 г и навеску двуххромовокислого калия массой 10,00 г. Навески растворяют в дистиллированной воде и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Затем в колбу приливают 100 см³ водного раствора с массовой долей аммиака 7% и доводят объем до метки дистиллированной водой. Стандартный раствор Гетри по оптической плотности, определенной на фотоэлектроколориметре типа ФЭК-56 с красным светофильтром, соответствует раствору водорастворимых производных хлорофилла с концентрацией 85 мкг/см³. Стандартный раствор Гетри колориметрируют через сутки после приготовления. Раствор хранят в темном месте в герметично закрывающейся склянке. Срок хранения раствора 1 мес.

Построение градуировочного графика. Количество исследуемых производных хлорофилла и каротина вычисляют при помощи градуировочного графика, построенного по стандартному раствору на каждом конкретном фотоэлектроколориметре. Градуировочный график, построенный на миллиметровой бумаге, показан на рис. 1

Для построения градуировочного графика при определении каротина разбавляют раствор Русселя дистиллированной водой, используя при этом бюретку или пипетку, в соотношении, указанном в табл. 1.

Таблица 1

Соотношение растворов при определении каротина

Объём раствора Русселя, см ³	Объём дистиллированной воды, см ³
1	9
2	8
3	7
4	6
5	5
6	4
7	3
8	2
9	1

Определяют оптическую плотность приготовленных растворов на фотоэлектроколориметре с синим светофильтром при длине волны 400-500 нм и толщине поглощающего свет слоя 1 см³. Раствором сравнения служит петroleйный эфир или бензин. Для построения градуировочного графика при определении производных хлорофилла разбавляют раствор Гетри дистиллированной водой, используя при этом бюретку или пипетку, в соотношении, указанном в табл.2 .

Таблица 2

Соотношение растворов при определении хлорофилла

Объём раствора Гетри	Объём дистиллированной воды
3,9	6,1
4,2	5,8
4,5	5,5
4,8	5,2
5,1	4,9
5,4	4,6
5,7	4,3
6,0	4,0
6,3	3,7
6,6	3,4

Определяют оптическую плотность приготовленных растворов на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны 610-700 нм и толщине поглощающего свет слоя 1 см³. Раствором сравнения служит ацетон. По оси ординат откладывают оптическую плотность по

показателям фотоэлектроколориметра, а по оси абсцисс концентрацию в мкг/см³ колориметрируемого раствора. Градуировочный график следует проверять не реже одного раза в месяц.

Проведение испытания.

На лист хроматографической бумаги размером 15х19 см, взвешенный до четвертого десятичного знака, наносят полосой мазок хлорофилло-каротиновой пасты (пробы) на расстоянии 2 см от края (стартовая полоса). Избыток пробы снимают фильтровальной бумагой. Затем хроматографическую бумагу с нанесенной на нее пробой снова взвешивают. Навеска пробы должна быть 0,01-0,02 г. После этого бумагу свертывают в виде цилиндра и помещают в хроматографическую камеру, на дно которой налито 15-20 см³ бензина или петролейного эфира. Для предотвращения разложения каротина и производных хлорофилла, камеру закрывают темным колпаком. Каротин движется вместе с фронтом растворителя. Время отделения производных хлорофилла от каротина 20-30 мин. По окончании разгонки полоску бумаги с содержащимся на ней каротином отделяют от остальной части листа, разрезают на мелкие кусочки и помещают в химический стаканчик, где растворяют бензином или петролейным эфиром. Затем измеряют объем раствора каротина и определяют его оптическую плотность на фотоэлектроколориметре с синим светофильтром при длине волны 400-500 нм и толщине поглощающего свет слоя 1 см. Раствором сравнения служит соответственно бензин или петролейный эфир. Для определения содержания производных хлорофилла после отделения каротиновой полосы на стартовую линию на бумаге наносят несколько капель 0,5 моль/дм раствора H₂SO₄, бумагу высушивают в потоке теплого воздуха или в сушильном шкафу при температуре 60 °С и хроматографируют восходящим способом, применяя в качестве подвижной фазы ацетон. При этом все производные хлорофилла движутся вместе. Полоску бумаги с производным хлорофилла вырезают и растворяют ацетоном. Затем измеряют объем раствора производных хлорофилла и определяют его оптическую плотность на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны 610-700 нм и толщине поглощающего свет слоя 1 см. Раствором сравнения служит ацетон. Оптическую плотность измеряют при постоянной температуре 20 °С.

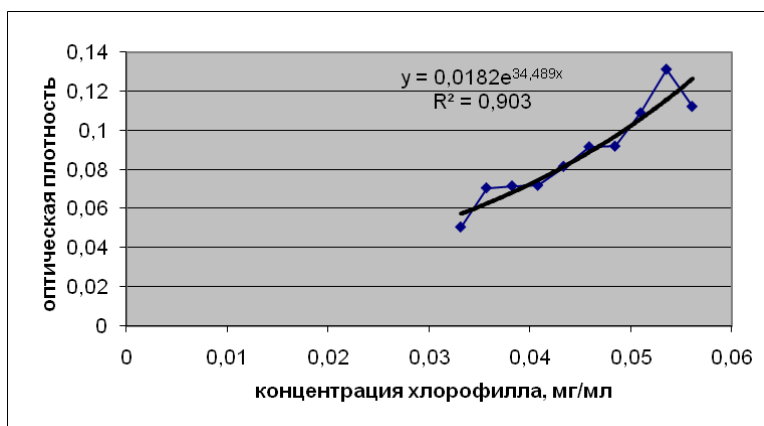


Рис. 1. Калибровочный график для определения концентрации хлорофилла в спиртовых экстрактах

Массовую долю каротина (X_1) в мг на 100 г пробы вычисляют по формуле (1)

$$X_1 = \frac{C \cdot V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1000 \cdot (100 - X)}, \quad (1)$$

где C - концентрация каротина в растворе, определенная по градуировочному графику, мкг/см³;

V - объем раствора, см³;

m - масса пробы, г;

X -массовая доля воды в пробе, %.

Массовую долю производных хлорофилла (X_1) в мг на 100 г пробы вычисляют по формуле (2)

$$X_2 = \frac{C_1 \cdot V \cdot 100 \cdot 100}{m_1 \cdot 1000 \cdot (100 - X)}, \quad (2)$$

где C - концентрация производных хлорофилла в растворе, определенная по градуировочному графику, мкг/см³;

V - объем раствора, см³;

m - масса пробы, г;

X -массовая доля воды в пробе, %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5% при доверительной вероятности=0,95.

2.2 Методика получения экстрактов хлорофилла.

Принцип выбора экстрагентов для извлечения хлорофилла из высших водных растений. Хлорофилл относится к жирорастворимым пигментным веществам, поэтому может растворяться практически во всех органических растворителях. Из всех растворителей разрешенные и наиболее часто применяемые в пищевой промышленности: спирт, смесь спирта с петролейным эфиром 4:1, ацетон, углеводороды с добавкой спирта (смесь гексан – спирт 4:1). Спирт и ацетон являются полярными растворителями, а петролейный эфир и гексан неполярными

Молекула хлорофилла состоит из длинной углеродной цепи и порфиринового ядра. Длинная углеродная цепь – остаток фитола, присоединенный к порфириновой части молекулы хлорофилла, обладает липофильными (неполярными) свойствами, а порфириновое ядро – гидрофильными (полярными).. Из двух растворителей смеси спирт – петролейный эфир, лучшей способностью растворять хлорофилл обладает спирт. Он будет связываться с

порфириновым ядром. Поэтому в смеси на его долю приходится 80 %. А петролейный эфир образует химические связи с углеродной цепью, но гораздо труднее, чем спирт с родственной ему по химической природе частью молекулы хлорофилла. В смеси гексан – спирт, большей возможностью образовывать химические связи с молекулой хлорофилла обладает гексан. Он способен образовать большое количество химических связей с длинной углеродной цепью. Спирт (полярный) связывается с полярным порфириновым ядром молекулы хлорофилла, но реакционных центров гораздо меньше. Поэтому гексана в этой смеси 80 %.

Для проведения экстракции пигментных веществ из высших водных растений в бумажные пакеты берётся навеска 1-2 г высушенных водных растений и помещается в колбу объёмом 250 см³, заливается органическим растворителем или вышеуказанной смесью органических растворителей в соотношении (гидромодуль) 1:50, выдерживается в течение 20 часов при температуре 40 оС и скорости перемешивания 31 об/мин. Затем полученный экстракт отделяется от плотной части посредством фильтрования его через бумажный фильтр.

2.3 Методика качественного анализа спиртового экстракта из сырья с применением бумажной хроматографии с целью установления состава пигментных веществ

Вырезается из бумаги полоска шириной 1 см. На одном конце полоска делается поуже. Над тем местом, где полоска начинает сужаться, простым карандашом намечается линия старта. На середину этой линии наносится одна за другой несколько капелек приготовленного экстракта хлорофилла. Каждую следующую каплю можно наносить только после того, как высохнет предыдущая, и необходимо следить, чтобы пятно на старте не получалось слишком большим. Раствор наносится пипеткой с оттянутым концом. Для ускорения высушивания можно поместить полоску на нагретый кусок листового металла или асбеста, либо выдержать ее в сушильном шкафу. Капли нужно наносить до образования на линии старта пятна интенсивного зеленого цвета. Полоска бумаги подвешивается в пробирке так, чтобы сужающаяся часть была погружена на 1 см в растворитель (петролейный эфир, толуол, бензин). Под действием капиллярных сил растворитель будет подниматься по бумаге, а вместе с ним будут подниматься и пигменты. Но продвигаться по бумаге они будут с различной скоростью.

Медленнее всех поднимается желто-зеленый хлорофилл *b*, быстрее – ксантофилл и еще быстрее – сине-зеленый хлорофилл *a*. С фронтом растворителя поднимается желтый или оранжевый каротин. Опыт занимает 2 – 3 часа.

2.4 Спектрофотометрический метод определения содержания хлорофилла

Количественное определение в травах (зостере и рдесте) хлорофилла *a* и *b* можно проводить на спектрофотометре без предварительного их разделения и без отделения от желтых пигментов. При этом концентрация хлорофилла определяется в ацетоновой вытяжке пигментов или после их перевода в серный эфир. Спектрофотометрическое определение хлорофилла является одним из наиболее быстрых количественных определений и позволяет измерять с достаточной точностью даже небольшие его концентрации. Содержание хлорофилла *a* и *b* рассчитывается на основании экспериментально полученных данных по оптической плотности и известных для каждого пигмента величин молярного или удельного коэффициента поглощения для определенной длины волны.

Раствор пигментов для спектрофотометрирования должен быть прозрачным, кюветы чистыми, так как муть в растворе или на стенках кювет вызывает рассеивание, что искажает результаты определения оптической плотности пигментов. Рекомендуется по возможности добиваться лучшей прозрачности рабочего раствора пигментов. Этому, в какой то мере способствует добавление нескольких капель воды, отстаивание на холоду в темноте или центрифугирование. Измерение оптической плотности следует проводить быстро, чтобы не происходило испарение растворителя, что искажает результаты.

При определении концентрации хлорофилла *a* и *b* спектрофотометрически в их смеси, вычисление содержания этих компонентов по формулам дают значительные отклонения от истинного содержания пигментов. Особенно это относится к хлорофиллу *b*. Причиной больших расхождений может быть несоответствие действительного положения максимума хлорофиллов в исследуемом растворе положению, предусмотренному в формулах. Ошибка в измерении в $I \text{ нм}$ в ту или иную сторону, по сравнению с истинным положением максимума поглощения, приводит к отклонению от истинного содержания пигментов для хлорофилла *a* на 2%, для хлорофилла *b* — на 19%. Поэтому при спектрофотометрическом определении пигментов в их смеси не следует ограничиваться измерением растворов только при длинах волн, указанных в формулах, а следует определить действительное положение максимума хлорофилла *a* в данном растворе. Нахождение максимума в экстракте из растений затрудняется тем, что этот максимум не очень острый и цифры экстинкции почти не отличаются в интервале 2 — 3 нм. В этом случае за положение максимума считают среднюю длину волны. Если максимум хлорофилла *a* в исследуемом растворе не совпадает с максимумом, приведенным в применяемых формулах, то поправка вводится следующим образом: экспериментально находят истинный максимум поглощения хлорофилла *a* измерением оптической плотности раствора пигментов на спектрофотометре в области 660 — 670 нм. Положение соответствующего максимума

хлорофилла *b* рассчитывают, при этом величина данного максимума отличается от предлагаемой в формуле на столько *нм*, на сколько отличается истинное положение длинноволнового максимума от первой точки измерения, указанной в формуле. Измерения оптической плотности раствора пигментов производятся при найденных длинах волн. Например, если в формуле Хольма (1954) рекомендуется вести измерение при 662 и 644 *нм*, а положение красного максимума в действительности оказалось равным 663 *нм*, то измерение оптической плотности следует проводить при длине волн, равных соответственно 663 и 645 *нм*. Оптическую плотность раствора пигментов измеряют на спектрофотометре при длинах волн, соответствующих максимуму поглощения хлорофилла *a* и *b* в красных лучах.

Определить экспериментально максимум поглощения хлорофилла *a*, измерив, поглощение пигментов через каждый 1 *нм* в области 660-670 *нм*. Если максимум хлорофилла *a* оказался равным 663 *нм*, то максимум хлорофилла *b* будет соответствовать 645 *нм*.

Измерение оптической плотности для хлорофилла *a* в данном случае проводится при 663 *нм*, а затем, не вынимая кювет из кюветного отделения, производится определение оптической плотности для хлорофилла *b* (при 645 *нм*). Для этого вновь устанавливается темновой ток при закрытой шторке и выводится ширина щели при открытой шторке переключателя. После этого проводится измерение оптической плотности исследуемых растворов при длине волны, равной 720 *нм*.

Для расчета концентрации хлорофиллов *a* и *b* в 100%-ном ацетоновом растворе используют формулы (3,4) Хольма (1954):

$$C_a = 9,784 \cdot E_{662} - 0,99 \cdot E_{644} \quad (3)$$

где C_a – концентрация хлорофилла *a*, мг/л;
 E_{662} – оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 662 *нм*;

E_{644} – оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 644 *нм*;

$$C_b = 21,426 \cdot E_{644} - 4,65 \cdot E_{662} \quad (4)$$

где C_b – концентрация хлорофилла *b*, мг/л;
 E_{644} – оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 644 *нм*;
 E_{662} – оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 662 *нм*.

В связи с тем, что по этим формулам получают заниженное содержание пигментов, особенно хлорофилла *b*, А. А. Шлык (1968) предложены формулы 5, 6, которыми пользуются в Институте фотобиологии АН БССР:

$$C_a = 11,70 \cdot E_{662} - 2,09 \cdot E_{644} \quad (5)$$

где C_a — концентрация хлорофилла a , мг/л;

E_{662} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 662 нм;

E_{644} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 644 нм.

$$C_b = 21,19 \cdot E_{644} - 4,56 \cdot E_{662} \quad (6)$$

где C_b — концентрация хлорофилла b , мг/л;

E_{644} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 644 нм;

E_{662} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 662 нм.

Пример расчета (формулы 7, 8) концентраций хлорофилла a и b в 100%-ном растворе ацетона по формуле Хольма (1954) приведен ниже:

навеска (А) — 0,5136 г,

объем вытяжки ($V_{общий}$) — 20 мл,

разведение (Р) — 2 раза.

Оптическая плотность хлорофилла a (E_{663}) — 0,748, E_{645} — 0,272 (оптическая плотность хлорофилла b).

E_{720} — 0,0.

$$C_{хл.а} = (9,784 \cdot 0,748 - 0,99 \cdot 0,272) \cdot (2 \cdot 20 / 0,5136) = 553,32 \text{ мкг/г} \quad (7)$$

$$C_{хл.в} = (21,426 \cdot 0,272 - 4,65 \cdot 0,748) \cdot (2 \cdot 20 / 0,5136) = 183,02 \text{ мкг/г} \quad (8)$$

где: $C_{хл. а}$, $C_{хл.в}$ — концентрация хлорофилла в микрограммах на 1 грамм взятой пробы.

При определении содержания хлорофилла в 80%-ном растворе ацетона наиболее удовлетворительные результаты получаются при использовании формул приведённых ниже 9, 10 Вернона (1960).

$$C_a = 11,63 \cdot E_{665} - 2,39 \cdot E_{649} \quad (9)$$

где C_a — концентрация хлорофилла a , мг/л;

E_{665} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 665 нм;

E_{649} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 649 нм.

$$C_b = 20,11 \cdot E_{649} - 5,18 \cdot E_{665} \quad (10)$$

где C_b — концентрация хлорофилла b , мг/л;

E_{649} — оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 649 нм.

нм;

E_{665} – оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 665 нм.

Для 80%-ного водного раствора ацетона возможно определение суммы хлорофиллов *a* и *b* путем измерения коэффициента экстинкции только при одной длине волны — 652 нм, при которой удельные коэффициенты обоих хлорофиллов одинаковы. Для расчета используется формула, приведенная ниже Бруинзма (1963):

$$C_{a+b} = 27,8 \cdot E_{652} \quad (11)$$

где C_{a+b} – концентрация хлорофилла *a+b*, мг/л;

E_{652} – оптическая плотность раствора, измеренная при длине волны 649 нм.

В вышеуказанных уравнениях C_a и C_b — концентрации хлорофиллов *a* и *b* в миллиграммах на литр, E — экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн. Применение формулы допустимо только для тех растворителей, для которых они разработаны, а при серии сравнительных определений следует пользоваться для расчета одной и той же формулой, соответствующей выбранному растворителю. При спектрофотометрическом определении хлорофиллов в качестве эталона будет тот растворитель, на котором приготовлен экстракт пигментов.

Используемый для измерений спектрофотометр должен быть хорошо откалиброван, как в отношении длин волн, так и в отношении отсчитываемых величин оптической плотности.

2.5 Определение хлорофиллов и их суммы в zostере и рдесте

Получение ацетоновой вытяжки из растительного материала: берется навеска (2 -3 г) свежих водных растений zostеры, рдеста.

Навеску (1 - 2г) сухого растительного материала используют после предварительной заморозки.

Навеску размельчают в микроизмельчителе, измельчают ножом из нержавеющей стали или растирают в ступке с кварцевым песком в присутствии 0,5г Na_2CO_3 углекислого кальция (натрия). В ступку добавляют небольшое количество ацетона.

Навеску заливают ацетоном. Экстракцию пигмента ведут ацетоном (для сухих навесок 80%, а для сырых 90% ацетоном и экстракция возможна 100% ацетоном). Повторяют растирание навески и экстракцию несколько раз (пока экстракт не станет бесцветным). Обычно используют пятикратное по отношению к навеске количество ацетона. Растертую массу переносят на стеклянный фильтр № 3 или воронку Бюхнера и фильтруют в колбу Бунзена,

соединенную с водоструйным насосом или все ацетоновые экстракты сливают в стакан и затем фильтруют при отсасывании. Извлечение пигментов проводят небольшими порциями ацетона до обесцвечивания фильтрата.

Фильтрат промывают небольшим количеством ацетона. Замеряют количество экстракта (для чего переносят его в мерный цилиндр). Далее экстракты разбавляют ацетоном так, чтобы при измерении на спектрофотометре величина оптической плотности разбавленных растворов находилась в пределах от 0,1 до 0,8.

2.6 Определение хлорофилла в сырых и сухих водных растениях (зостере и рдесте)

Сущность метода заключается в измерении оптической плотности вытяжки (экстракта) пигментов на спектрофотометре при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов «а» (663 нм) и «в» (645 нм), и с последующим расчетом концентрации пигментов для 100 %-го ацетона (по уравнениям Хольма-Ветштейна), 80% -ого ацетона (по Вернону). Концентрация определяется в мг/л.

Уточняют максимумы поглощения хлорофиллов «а» и «в». Если максимум поглощения хлорофилла «а» отклонился на несколько нанометров от значений, указанных в формулах 12, 13, 14, то на столько же следует сдвинуть и максимум для следующей длины волны хлорофилла.

Расчет концентрации пигментов (мг/дм³) производят по ниже приведенным формулам 12, 13, 14 (для сухих образцов):

$$C_{\text{хл.а}} = 11,63 \cdot E_{665} - 2,39 \cdot E_{649} \quad (12)$$

$$C_{\text{хл.в}} = 20,11 \cdot E_{649} - 5,18 \cdot E_{665} \quad (13)$$

$$C_{\text{хл.}(a+b)} = 6,45 \cdot E_{665} + 17,72 \cdot E_{649} \quad (14)$$

где $C_{\text{хл.а}}$ - концентрация хлорофилла «а», мг/дм³;

$C_{\text{хл. в}}$ концентрация хлорофилла «в», мг/дм³;

Содержание пигментов (мг/100г) находят по формуле 15:

$$x = C \cdot V \cdot V_2 \cdot 100 / n \cdot V_1 \cdot 1000 \quad (15)$$

где C - концентрация пигмента, мг/дм³;

V - объем исходной вытяжки, см³;

V_2 - объем разбавленной вытяжки, см³;

V_1 - объем исходной вытяжки, взятой для разбавления, см³;

n - масса навески, г.

Пример расчета: навеска травы 5 г. Объем исходной ацетоновой вытяжки 83 см³. Из этого объема взят 1 см³ и разбавлен ацетоном до 25 см³. Пока-

зание оптической плотности на приборе СФ-26: $D_{644} = 0,120$; $D_{662} = 0,308$; $D_{440} = 0,510$. Подставляя эти значения в вышеприведенные формулы, находим: $Ca = 2,895 \text{ мг/дм}^3$; $Cv = 1,139 \text{ мг/дм}^3$; $Ca+v = 4,033 \text{ мг/дм}^3$.

Количество пигментов составляет:

Хлорофилл «а» = $2,895 \cdot 83 \cdot 25 \cdot 100 / 5 \cdot 1000 \cdot 1 = 120,1 \text{ мг/100г}$

Хлорофилл «в» = $1,139 \cdot 83 \cdot 25 \cdot 100 / 5 \cdot 1000 \cdot 1 = 47,3 \text{ мг/100г}$

Для проведения всех расчетов на спектрофотометре UNICO UV-2802S определены максимумы поглощения хлорофилла *a* в 80 %-ной ацетоновой вытяжке из рдеста (рис. 2) и zostеры (рис.3), а также в разбавленных в 4,67 раза и в 4 раза вытяжках из рдеста (рис.4) и zostеры (рис.5) соответственно.

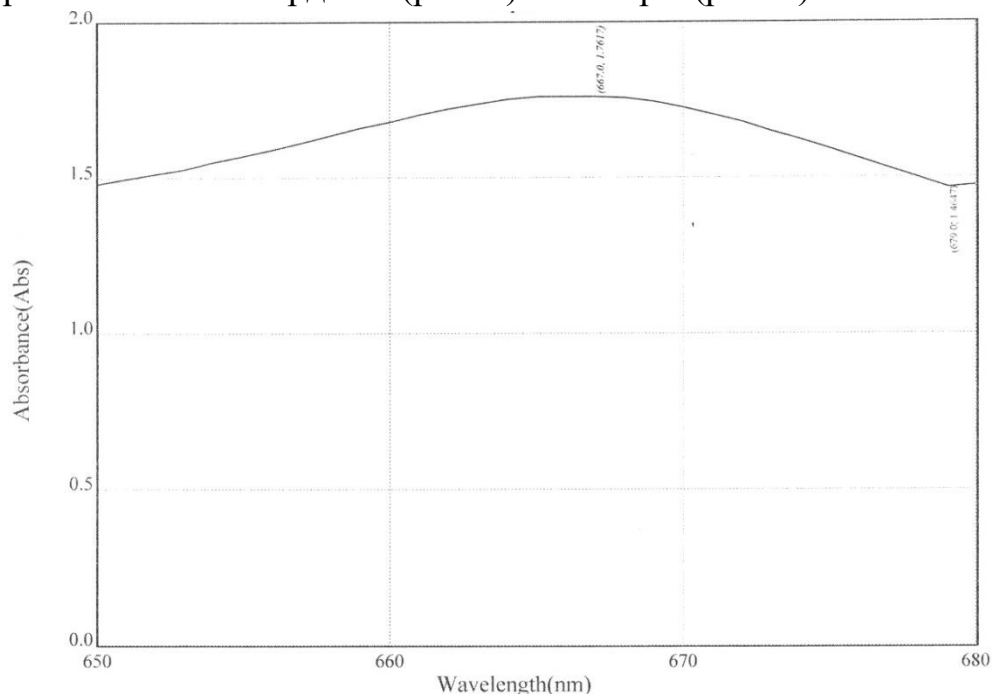


Рис.2 . Максимум поглощения хлорофилла *a* в 80%-ной ацетоновой вытяжке из рдеста

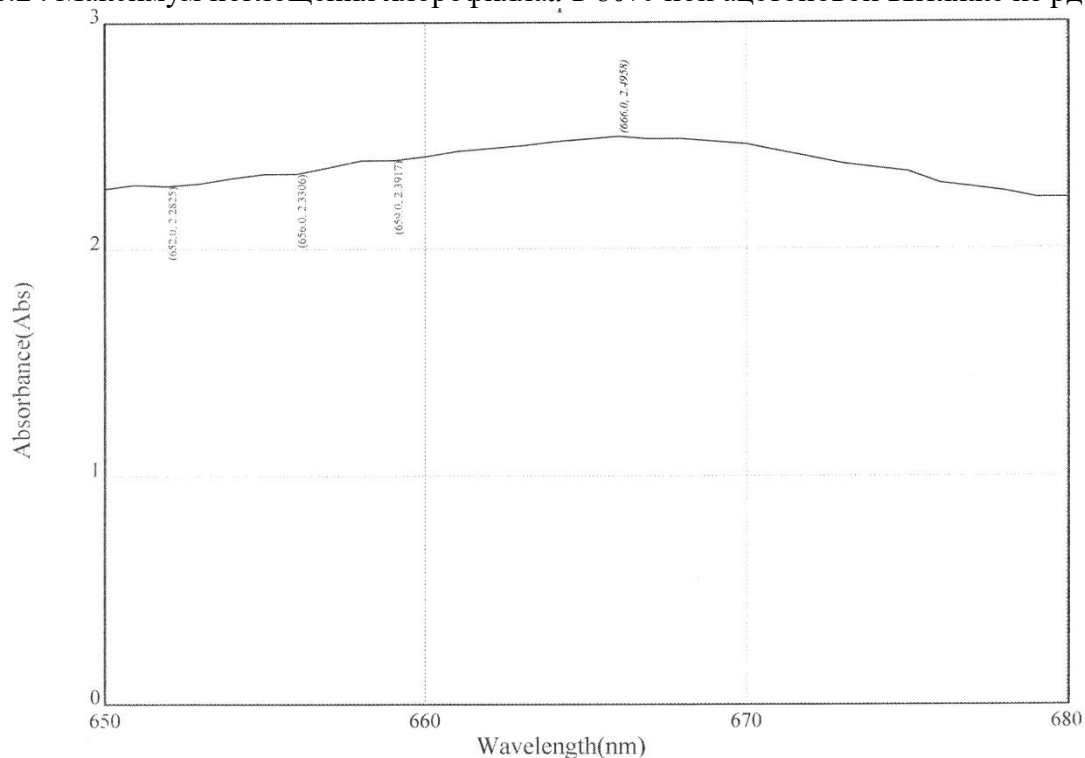


Рис.3. Максимум поглощения хлорофилла в 80%-ной ацетоновой вытяжке из зостеры

Графики на рисунках построены в координатах: Absorbance (Abs) – оптическая плотность; Wavelength (nm) – длина волны, в нм.

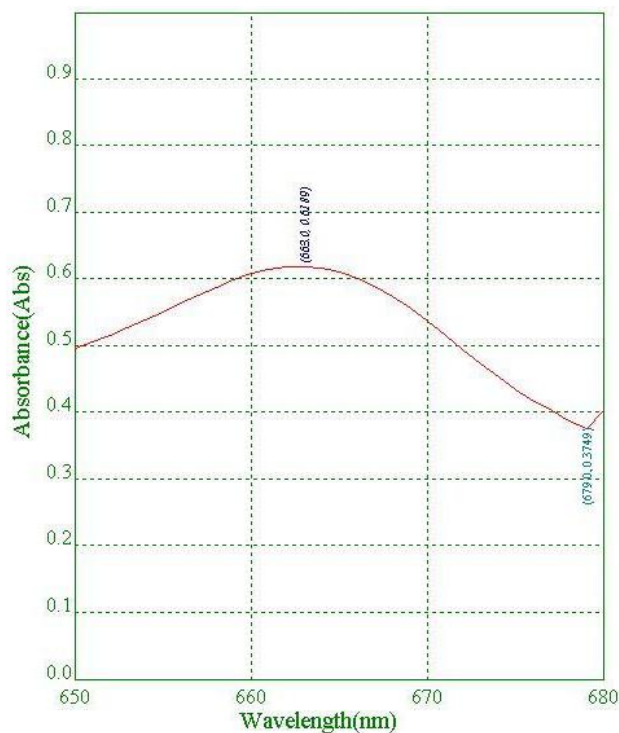


Рис.4. Максимум поглощения хлорофилла *a* в разбавленной в 4,67 раза 80%-ной ацетоновой вытяжке из рдеста

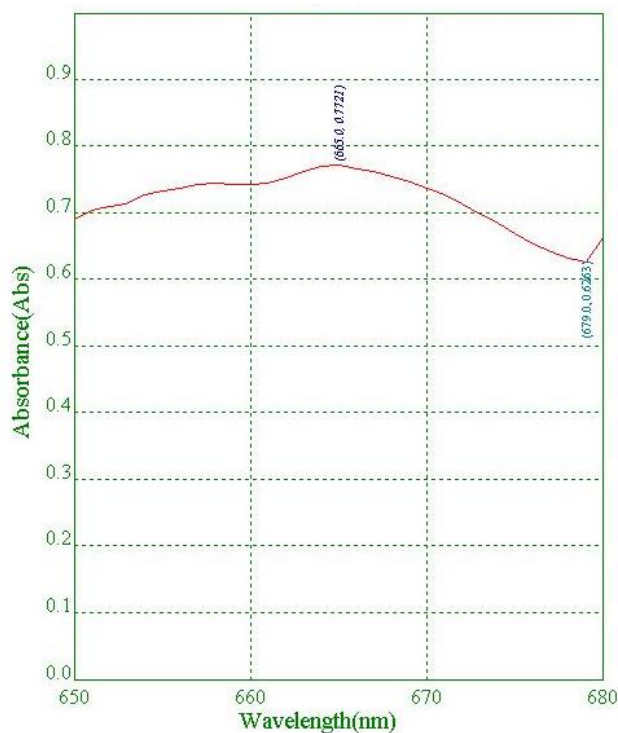


Рис.5 . Максимум поглощения хлорофилла *a* в разбавленной в 4 раза 80%-ной ацетоновой вытяжке из зостеры

2.7 Методика получения хлорофилла в виде масляного и водного растворов

Способ получения хлорофилла в виде масляного раствора.

Заготовленное сухое растительное сырье – 50 г рдеста пронзеннолистного (*Potamogeton perfoliatus*) или зостеры каспийской (*Zostera nana*) моют холодной водой (душированием) для удаления пыли и загрязнений и производят стекание в течение 15 минут. Далее траву измельчают до размера частиц 1 см в длину и просушивают в сушильной камере при температуре 45 °С в течение 1 часа до влажности 5 %. Осуществляют экстракцию в две стадии по 8 часов смесью гексана с этиловым спиртом в соотношении 9 : 1 при температуре 25-30 °С и гидромодуле 1 : 10. Сырье помещают в герметичную экстракционную емкость и заливают экстрагентом (смесь 450 г. гексана и 50 г. этанола). Экстракты, отделенные от травы после первой и второй стадии, смешивают и фильтруют через стеклянный фильтр, а травяной остаток отправляют на дальнейшую переработку. Суммарный выход хлорофилла после двух стадий составляет 0,74 % от массы сырья. Из полученного экстракта отгоняют растворитель в вакуумном ротационном испарителе, а потом растворяют пигмент в 100 г. дезодорированного прозрачного растительного

масла. Получают жидкость ярко зеленого цвета. Краситель переливают в стеклянную тару из непрозрачного стекла, укупоривают и упаковывают.

Способ получения хлорофилла в виде водного раствора.

Все технологические операции по получению экстракта осуществляют так как описано выше. Полученный экстракт после фильтрации смешивают с 25 %-ным раствором NaOH в этаноле в соотношении 1 : 1, и проводят реакцию омыления хлорофилла в течение 1 часа при температуре 45-50 °С. Далее добавляют теплую воду при перемешивании в соотношении 1 : 2. После отстаивания отделяют водный раствор хлорофилла.

3. Анализ результатов исследования

Органолептические показатели рекомендуется оформлять по форме таблицы 3.

Таблица 3

Органолептические показатели качества водных растений

Наименование показателя	Характеристика показателя качества исследуемого образца	
	зостеры каспийской (Zostera nana)	рдеста пронзеннолистного (Potamogeton perfoliatus)
Внешний вид		
Цвет		
Запах		
Консистенция		

Данные по химическому составу водных растений приводятся по форме табл. 4.

Таблица 4

Сравнительная характеристика химического состава водных растений

Объект исследования	Содержание, %				Энергетическая ценность, ккал
	воды (В)	белка (Б)	липидов (Л)	минеральных веществ (М.в.)	

Данные по определению качественного состава пигментных веществ оформляются по форме табл. 5.

Таблица 5

Качественный состав пигментных веществ водных растений

Наименование показателя	Характеристика показателя качества исследуемого образца	
	зостеры каспийской (Zostera nana)	рдеста пронзеннолистного (Potamogeton perfoliatus)
Хлорофилл а		
Хлорофилл b		
Ксантофилл		
Каротин		

Данные по определению содержания хлорофилла в спиртовых экстрактах zostеры и рдеста приводятся по форме таблицы 6.

Таблица 6

Концентрация хлорофилла в спиртовых экстрактах

Объект исследования	Концентрация хлорофилла, мг/мл
Зостера каспийская (Zostera nana)	
Рдест пронзеннолистный (Potamogeton perfoliatus)	

Данные по определению физико-химических показателей в экстрактах пигментных веществ (хлорофилла) из zostеры и рдеста с помощью разных растворителей оформляются по форме табл. 7.

Таблица 7

Физико-химические показатели экстрактов пигментных веществ из zostеры и рдеста

Наименование показателя	Экстракты пигментных веществ (хлорофилла)							
	спирт		спирт : петрол. эфир 4:1		ацетон		гексан : спирт 4 :1	
	зостера	рдест	зостера	рдест	зостера	рдест	зостера	рдест
Содержание сухих веществ в экстрактах, %								
Плотность экстрактов, кг/м ³								
Концентрация хлорофилла в экстрактах, мг/мл								
Выход хлорофилла, %								

Органолептическая оценка интенсивности окраски экстрактов проводится визуально и оценивается по пятибалльной шкале приведённой в табл.8.

Пятибалльная шкала для оценки интенсивности окраски экстрактов

Балл	Словесная характеристика
1	Светлый, яркий зеленый цвет с желтым оттенком. Широкий слой раствора хорошо пропускает свет.
1,5	Очень светлый и яркий зеленый цвет. Широкий слой раствора хорошо пропускает свет.
2	Более насыщенный, светлый, ярко зеленый цвет. Широкий слой раствора хорошо пропускает свет.
2,5	Яркий, насыщенный, четко выраженный зеленый цвет. Широкий слой раствора слабее пропускает свет.
3	Слегка темный, ярко зеленый насыщенный цвет. Слабее пропускает свет.
3,5	Четкий, темно-зеленый цвет. Более насыщенный, но слабее пропускает свет.
4	Яркий, насыщенный изумрудный цвет.
4,5	Яркий, темно-зеленый насыщенный цвет. Широкий слой раствора хуже пропускает свет.
5	Сильно насыщенный, темно-зеленый (изумрудный) цвет. Очень темный при пропускании света через толстый слой раствора.

Данные по определению органолептических показателей в экстрактах пигментных веществ (хлорофилла) из зостеры и рдеста с помощью разных растворителей оформляются по форме табл. 9.

Таблица 9

Интенсивность окраски экстрактов по пятибалльной шкале

Объект исследования	Виды растворителей			
	I	II	III	IV
	спирт	спирт:петрол. эфир 4:1	ацетон	гексан : спирт 4 : 1
Экстракт пигментных веществ из:				
- зостеры				
- рдеста				

4. Вопросы для самоконтроля:

1. Сырьевые источники получения пигментных веществ (хлорофилла)?
2. Охарактеризуйте органолептические показатели и химический состав морской травы зостеры каспийской?
3. Охарактеризуйте органолептические показатели и химический состав пресноводных растений семейства рдестовых?
4. Дайте общую характеристику хлорофиллу (строение и свойства)?
5. Приведите суть метода качественного определения пигментных веществ в водных растениях?
6. Приведите суть спектрофотометрического метода определения

содержания хлорофилла в сырье?

7. Приведите характеристику органолептических и физико-химических показателей качества экстрактов пигментных веществ хлорофилла из зостеры и рдеста?

8. Охарактеризуйте способ получения масляного и водного растворов хлорофилла?

9. Практическое применение хлорофилл содержащих препаратов?

Рекомендуемые источники представлены рабочей программе дисциплины