

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра профилактической медицины

Е.Г. Владимирова, Е.В. Бибарцева, О.П. Кушнарeva

ТЕХНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет» в качестве методических
указаний для студентов, обучающихся по программам высшего
профессионального образования по специальности 020208.65 Биохимия

Оренбург
2013

УДК 577.1(076.5)

ББК 28.072я7

В59

Рецензент – доцент, кандидат биологических наук О.В. Баранова

Владимирова, Е.Г., Бибарцева, Е.В., Кушнарера, О.П.

В59

Техническая биохимия: методические указания к лабораторному практикуму/ Е.Г. Владимирова, Е.В. Бибарцева, О.П.Кушнарера; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2013. – 71 с.

Методические указания содержат материал по правилам безопасности при работе в биохимической лаборатории, методике осуществления лабораторных опытов, вопросы к защите лабораторных работ, перечень рекомендуемой для изучения дисциплины литературы.

Данные методические указания предназначены для выполнения лабораторных работ по курсу «Техническая биохимия» для студентов, обучающихся по программе высшего профессионального образования по специальности 020208.65 Биохимия.

УДК 577.1(076.5)

ББК 28.072я7

© Владимирова Е.Г.,
Бибарцева Е.В.,
Кушнарера О.П., 2013
© ОГУ, 2013

Содержание

Введение.....	6
1 Правила безопасности при работе в биохимической лаборатории....	7
1.1 Поведение студентов в биохимической лаборатории.....	7
1.2 Техника безопасности при работе в биохимической лаборатории.....	7
2 Белки.....	9
2.1 Биомедицинское значение.....	9
2.2 Строение белковой молекулы.....	11
2.3 Лабораторная работа № 1. Выделение и анализ простых белков.....	12
2.3.1 Опыт 1. Проба на альбумины.....	12
2.3.2 Опыт 2. Проба на проламины.....	12
2.3.3 Опыт 3. Свертывание белка при нагревании.....	13
2.3.4 Опыт 4. Биуретовая реакция.....	13
2.3.5 Опыт 5. Ксантопротеиновая реакция.....	14
2.3.6 Опыт 6. Реакция на серу.....	14
2.4 Вопросы к защите лабораторной работы №1.....	16
2.5 Лабораторная работа № 2. Определение количества казеина в молоке методом титрования.....	16
3 Клейковина, её состав и свойства.....	19
3.1 Лабораторная работа №3. Определение количества и качества сырой клейковины зерна пшеницы.....	21
3.1.1 Опыт 1. Определение количества сырой клейковины.....	21
3.1.2 Опыт 2. Определение качества сырой клейковины.....	22
3.1.3 Опыт 3. Определение количества глиадина пшеницы.....	23
3.1.4 Опыт 4. Качественная реакция на глиадин.....	24
3.2 Вопросы к защите лабораторной работы №3.....	24
4 Липиды.....	25
4.1 Лабораторная работа № 4. Оценка качества пищевых жиров по основным показателям.....	27

4.1.1	Опыт 1. Определение кислотного числа жира.....	27
4.1.2	Опыт 2. Определение йодного числа жира.....	29
4.2	Фосфатиды или фосфолипиды.....	31
4.2.1	Лабораторная работа № 5. Выделение лецитинов из желтка куриного яйца.....	32
4.2.2	Лабораторная работа № 6. Определение содержания холестерина (реакция Сальковского).....	34
4.3	Вопросы к защите лабораторных работ № 4 – 6.....	35
5	Кислотность зерна.....	35
5.1	Лабораторная работа №7. Определение кислотности зерна.....	36
5.1.1	Опыт 1. Определение общей кислотности по болтушке по ГОСТ 10844-74.....	36
5.1.2	Опыт 2. Определение кислотности по водной вытяжке.....	37
5.1.3	Опыт 3. Определение кислотности по водно-спиртовой вытяжке.....	38
5.2	Лабораторная работа № 8. Определение кислотности пива.....	39
5.3	Вопросы к защите лабораторных работ № 7, 8.....	40
6	Углеводы. Моно- и дисахариды.....	40
6.1	Лабораторная работа № 9. Определение восстанавливающих сахаров по методу Бертрана.....	41
6.2	Вопросы к защите лабораторной работы № 9.....	48
7	Полисахариды. Крахмал и клетчатка.....	49
7.1	Лабораторная работа № 10. Определение содержания крахмала.....	50
7.2.	Лабораторная работа № 11. Определение содержания клетчатки.....	52
7.2.1	Опыт 1. Определение клетчатки по Кюршнеру и Ганеку.....	52
7.2.2	Опыт 2. Определение содержания клетчатки по методу Геннеберга и Штомана.....	52
7.3	Лабораторная работа № 12. Определение содержания крахмала в колбасных изделиях.....	54
7.4	Вопросы к защите лабораторных работ № 10 – 12.....	57
8	Витамины.....	58

8.1	Витамины группы А.....	59
8.1.1	Лабораторная работа № 13. Качественная реакция на витамины группы А.....	60
8.2	Витамины группы D (кальциферолы).....	60
8.2.1	Лабораторная работа № 14. Качественные реакции на витамины группы D.....	61
8.3	Витамины группы E (токоферолы).....	62
8.3.1	Лабораторная работа № 15. Качественная реакция на токоферолы...	62
8.4	Витамины группы К (филлохиноны).....	63
8.4.1	Лабораторная работа № 16. Качественная реакция на 2-метил-1,4-нафтохинон.....	64
8.5	Витамин С (аскорбиновая кислота).....	65
8.5.1	Лабораторная работа № 17. Исследование восстанавливающих свойств аскорбиновой кислоты.....	66
8.5.1.1	Опыт 1. Реакция с метиленовой синью.....	66
8.5.1.2	Опыт 2. Реакция с 2,6 –дихлорфенолиндофенолом.....	66
8.5.2	Лабораторная работа № 18. Количественное определение витамина С в молоке.....	67
8.6	Открытие витаминов в витаминных препаратах.....	69
8.6.1	Лабораторная работа № 19. Качественное определение витамина В ₁	69
8.6.2	Лабораторная работа № 20. Качественное определение витамина Р.	69
8.7	Вопросы к защите лабораторных работ № 13-20.....	70
9	Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины.....	70
	Список использованных источников.....	71

Введение

Биохимия изучает химический состав организмов, а также превращения веществ и энергии, лежащие в основе жизнедеятельности организмов. По объектам исследования биохимию разделяют обычно на биохимию растений, животных и микроорганизмов, также выделяют техническую биохимию, которая изучает биохимические процессы, происходящие при переработке сельскохозяйственных продуктов.

Основная цель возделывания сельскохозяйственных растений – получение определенных химических веществ: белков, жиров, крахмала, сахара, клетчатки, витаминов, алкалоидов, каучука, эфирных масел и других соединений, необходимых для питания человека, а также использующихся на корм животным или в качестве сырья для промышленности.

Биохимия оказывает значительное влияние на дальнейшее развитие физиологии растений, микробиологии, растениеводства, плодоводства, овощеводства, селекции и семеноводства и ряда других сельскохозяйственных наук.

Исключительно велика роль биохимии в усовершенствовании технологических процессов пищевой промышленности и создании новых схем и принципов переработки пищевого сырья растительного происхождения (например, в табачной промышленности, ферментация табака). Возрастает значение биохимических исследований и при заготовке кормов для сельскохозяйственных животных, в частности при сушке зерна и силосовании.

Данные методические указания помогут студентам в освоении данной дисциплины, будут способствовать познанию сущности основных биохимических процессов, происходящих в растениях, различных продуктах, участвующих в технологических процессах. На лабораторных занятиях студенты познакомятся с методами биохимических исследований, научатся интерпретировать полученные ими результаты.

1 Правила безопасности при работе в биохимической лаборатории

1.1 Поведение студентов в биохимической лаборатории

Подготовка к лабораторным занятиям проводится по учебникам, лекционным записям и методическим пособиям. В рабочую тетрадь заносится краткое описание опыта, уравнения реакций. Наблюдения и выводы записываются при непосредственном выполнении опытов.

Во время проведения опытов на столе не должно быть ничего лишнего, необходимо поддерживать на нем порядок. По окончании работы студент должен убрать рабочее место, вымыть лабораторную посуду.

Нельзя уносить приборы, реактивы и другие предметы общего пользования на свое рабочее место.

Студенты проводят только те опыты, которые предусмотрены преподавателем, соблюдая при этом правила безопасности.

После выполнения цикла лабораторных работ студенты сдают теоретический коллоквиум. Староста группы на время занятий назначает дежурного по группе. Дежурный отвечает в течение всего занятия за чистоту рабочих мест и оборудование общего пользования. По окончании работы дежурный отчитывается за порядок в лаборатории учебному лаборанту.

1.2 Техника безопасности при работе в биохимической лаборатории

Каждый работающий должен знать, где в лаборатории находятся средства противопожарной защиты и аптечка.

Запрещается вход в лабораторию в верхней одежде. Работа в биохимической лаборатории допускается только в специальном халате.

Курение в лабораториях, служебных помещениях и коридорах категорически запрещается.

В химической лаборатории нельзя принимать пищу, пробовать вещества на

вкус, наклоняться над лабораторной посудой с реактивами.

Необходимо быть особенно осторожными в обращении с концентрированными кислотами и щелочами, ядовитыми веществами. Участки кожи, одежды, на которые попал реактив, сначала тщательно вымыть водой, затем протереть нейтрализующим реактивом.

На практических занятиях по биохимии часто приходится пользоваться спиртовками. Зажигать спиртовку нужно только спичкой. Нельзя нагревать вещества в толстостенной посуде. В пробирке можно нагревать только небольшие количества вещества, жидкость должна занимать не более 1/3 объема пробирки. Отверстие пробирки при нагревании в ней жидкости следует направлять в сторону от себя и рядом находящихся людей. Нельзя наклоняться над спиртовкой. Вначале пробирку с веществом следует слегка прогреть всю, а затем нагревать в нужном месте, не вынимая из пламени спиртовки. Нельзя нагревать пробирку долго в одной точке, так как теплопроводность стекла низкая, жидкость быстро закипит и выплеснется из пробирки. Нагревать пробирку нужно ниже уровня жидкости в ней. После нагревания следует сразу погасить спиртовку, накрыв пламя фарфоровым колпачком. Работа с водяной баней осуществляется только под тягой. Перегоревшие электроплитки нужно сразу же выключить, вынув вилку из штепсельной розетки. При неосторожной работе могут быть ожоги нагретой стеклянной посудой.

В случае воспламенения горючей жидкости необходимо:

- немедленно выключить электронагревательные приборы и вентиляцию;
- вынести из лаборатории все сосуды с огнеопасными жидкостями;
- при возникновении пожара вызвать противопожарную команду.

Пламя необходимо гасить следующими средствами:

- при загорании жидкостей, смешивающихся с водой, тушить любыми огнетушителями: струей воды, песком, асбестом, кошмой, суконным одеялом;
- горящие провода и электроприборы, находящиеся под напряжением, обесточить и тушить углекислым огнетушителем;
- горящие деревянные части – всеми огнегасящими средствами.

Лица, виновные в нарушении инструкции пожарной безопасности, несут административную и материальную ответственность.

2 Белки

2.1 Биомедицинское значение

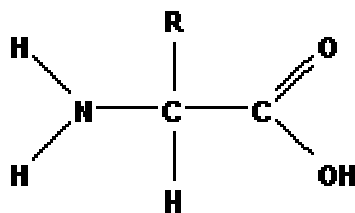
Белки – высокомолекулярные полимерные соединения, состоящие из аминокислот. Белки являются важнейшим компонентом живых организмов и выполняют разнообразные биологические функции. Белки, полипептиды и отдельные аминокислоты нашли широкое применение в качестве фармацевтических препаратов.

При воздействии различных физических и химических факторов может происходить денатурация белка. При этом снижается активность биологических катализаторов, а субстраты белковой природы легче подвергаются гидролизу. На явлениях денатурации белка основаны методы асептики, антисептики и дезинфекции в лечебной и профилактической медицине, пастеризация и консервация продуктов в пищевой промышленности.

Около 25-30 % всей потребности организма в белках покрывается за счет продуктов переработки зерна. В семенах злаков содержится от 10 % до 20 % белка, в семенах бобовых и масличных культур от 25 % до 50 %. Именно белковые вещества определяют технологические свойства муки, ее способность давать высококачественный хлеб и макаронные изделия, а также определяют ценность различных круп.

Белковые вещества представляют собой высокомолекулярные биополимеры, первичная структура которых образована полипептидными цепочками, построенными из различных α -аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. В настоящее время известно около 220 аминокислот, однако, только лишь 22 α -аминокислоты могут входить в состав белков.

Общая формула α -аминокислот следующая:



Белки – самые сложные из соединений, имеющих в природе, и их изучение связано с большими трудностями.

Все белки разделяют на два класса: протеины, или простые белки, построенные только из остатков аминокислот, и протеиды, или сложные белки, состоящие из простого белка и прочно связанного с ним какого-либо другого соединения небелковой природы.

Запасные белки являются простыми белками и относятся к группе протеинов. По своей растворимости они делятся на:

1) альбумины – растворимые в воде, у большинства злаков составляют относительно небольшую долю общего количества белков в зерне. Концентрация альбуминов в пшенице обычно от 5 % до 15 % общего количества белков в зерне. Альбумины в основном ферментативно - активные белки, особенно много среди них обнаружено гидролитических, протеолитических ферментов и др.;

2) глобулины – растворимые в слабых растворах нейтральных солей. Составляют большую часть белка многих семян, особенно у бобовых растений и масличных культур. В семенах гороха содержится глобулин – легумин, в семенах фасоли – фазеолин, конопли – эдестин, сои – глицидин т.д. Концентрация этих белков в зерне пшеницы в среднем составляет от 10 % до 20 % общего количества белков, в зерне кукурузы – от 7 % до 15 %, овса – от 15 % до 25 %, ржи – от 15 % до 25 %;

3) проламины – белки, растворимые в 70 % этиловом спирте. Название «проламины» предложено вследствие образования при их гидролизе значительного количества аминокислоты пролина и аммиачного азота. Являются специфическими белками, которые синтезируются главным образом в семенах

злаков. В зерне пшеницы и ржи эта группа называется глиадинами (от 20 до 40 % общего количества белков), ячменя – гордеинами (от 25 % до 40 %), овса – авенинами (от 20 % до 30 %), кукурузы – зеинами (до 50 %);

4) глютелины – белки нерастворимые в воде, но растворимые в слабых растворах щелочей. Их содержание в зерне пшеницы, ячменя и овса обычно составляет от 25 % до 40 % общего количества белков, а в рисе на их долю приходится от 60 % до 70 %.

Протеиды представляют собой соединение белка с веществом небелковой природы, которое называется простетической группой. В зависимости от химической природы простетической группы различают: липопротеиды, хромопротеиды, гликопротеиды и нуклеопротеиды.

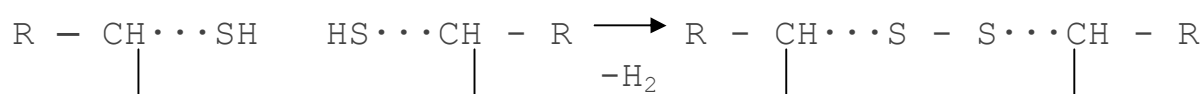
2.2 Строение белковой молекулы

Различают четыре уровня структуры или организации белковой молекулы: первичная, вторичная, третичная, четвертичная.

Первичной (линейной) структурой белковой молекулы называется последовательность, в которой отдельные аминокислоты соединяются в полипептидной цепочке.

Вторичная (спиралевидная) структура белковой молекулы образуется благодаря водородным связям, возникающим между отдельными частями длинной полипептидной цепи.

Третичной структурой называют способ упаковки спиралевидной полипептидной цепочки в пространстве. При образовании третичной структуры важную роль играют дисульфидные связи (-S-S-), образующиеся при окислении сульфгидрильных групп остатков цистеина:



Различают белки глобулярные и фибриллярные. Глобулярные белки - растворимые вещества с компактной структурой. По форме они приближаются к шару. Фибриллярные - имеют нитевидную форму. Они обычно нерастворимы.

Четвертичную структуру представляет ассоциация нескольких отдельных полипептидных цепей. Ее создают водородные связи, электростатическое взаимодействие, гидрофобные и другие виды связи.

2.3 Лабораторная работа № 1. Выделение и анализ простых белков

2.3.1 Опыт 1. Проба на альбумины

Реактивы и материалы:

- 1) насыщенный раствор хлорида натрия;
- 2) измельченное зерно или продукты его переработки.

Ход работы:

В колбу берут 2 г испытуемого материала, добавляют 20 см³ воды и содержимое перемешивают, колбу ставят в термостат при 30-35 °С на 30 мин. В течение первых 20 мин содержимое пробирки периодически перемешивают. Через 30 мин надосадочную жидкость, содержащую альбумины, отфильтровывают. Часть фильтрата используют для цветных реакций на белок (см. опыты 4, 5, 6), а к другой части фильтрата (1 - 2 см³) добавляют примерно равный объем насыщенного раствора хлорида натрия. При этом раствор мутнеет, т.к. альбумины в присутствии солей теряют растворимость.

2.3.2 Опыт 2. Проба на проламины

Реактивы и материалы:

- 1) измельченное зерно, мука;
- 2) раствор этилового спирта ω (C₂H₅OH) = 70 %.

Ход работы:

В пробирку берут 1 г исследуемого материала и 10 см³ раствора этилового спирта. Экстракцию белков ведут при 30-35 °С, в течение 20 мин при периодическом перемешивании. Через 20 минут надосадочную жидкость

отфильтровывают и в части фильтрата обнаруживают белок по биуретовой реакции. Оставшуюся часть фильтрата разбавляют водой в 2 раза. При этом концентрация спирта резко падает и спирторастворимые белки - проламины - теряют растворимость. Раствор мутнеет.

2.3.3 Опыт 3. Свертывание белка при нагревании

Реактивы и материалы:

Раствор белка.

В опыте используют белковый раствор, полученный в опыте №1.

Ход работы:

В пробирку вносят 5 см³ раствора белка, в который погружают термометр. Затем ее ставят в стакан с теплой водой и начинают постепенно нагревать. Замечают температуру, при которой появилась муть, в дальнейшем превращающаяся в хлопьевидный осадок.

2.3.4 Опыт 4. Биуретовая реакция

Принцип метода:

Щелочной раствор белка дает с сернокислой медью фиолетовую окраску. Окраска обусловлена комплексным соединением меди с пептидными группами (-CO-NH-). Свое название биуретовая реакция получила от производного мочевины - биурета, который дает эту реакцию.

Реактивы и материалы:

- 1) раствор белка;
- 2) раствор едкого натра ω (NaOH) = 10 %;
- 3) раствор сульфата меди ω (CuSO₄) = 0,5 %.

Ход работы:

В пробирку к 1-2 см³ раствора белка добавляют 2-3 капли раствора сернокислой меди, и после перемешивания добавляют около 2 см³ водного раствора едкого натра.

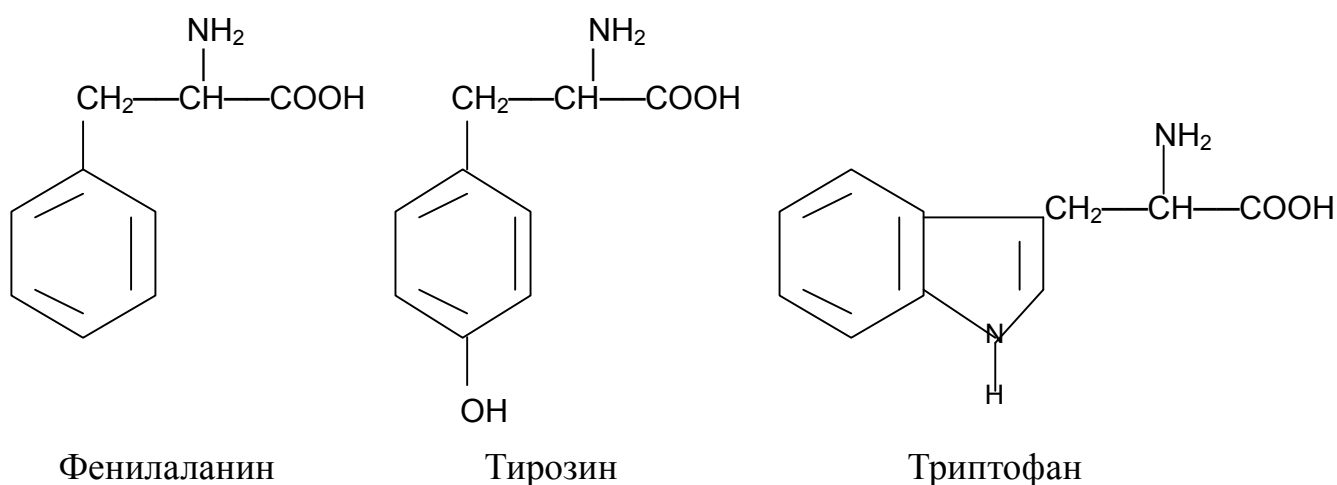
При смешивании появляется фиолетовое окрашивание. Следует избегать избытка сернокислой меди, так как тогда голубая окраска гидрата окиси меди маскирует фиолетовую окраску.

2.3.5 Опыт 5. Ксантопротеиновая реакция

Принцип метода:

Большинство белковых веществ при нагревании с крепкой азотной кислотой дают желтое окрашивание, переходящее в оранжевое при добавлении щелочи. Свое название реакция получила от греческого слова "ксантос", что означает желтый.

Эта реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот (тирозина, фенилаланина, триптофана).



При действии азотной кислоты на эти аминокислоты происходит нитрование бензольного кольца с образованием нитросоединений желтого цвета.

Реактивы и материалы:

- 1) раствор белка;
- 2) концентрированная азотная кислота;
- 3) раствор едкого натра ω (NaOH) = 10 %.

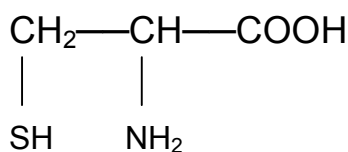
Ход работы:

В пробирку к 1-2 см³ раствора белка добавляют 5-6 капель концентрированной азотной кислоты. При осторожном подогревании содержимое пробирки окрашивается в желтый цвет. После охлаждения добавляют в избытке едкое кали, при этом желтая окраска переходит в оранжевую.

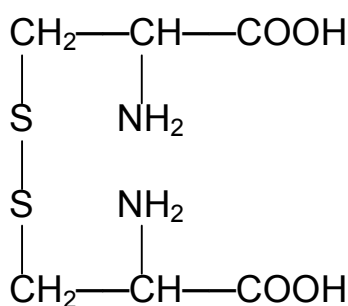
2.3.6 Опыт 6. Реакция на серу

Принцип метода:

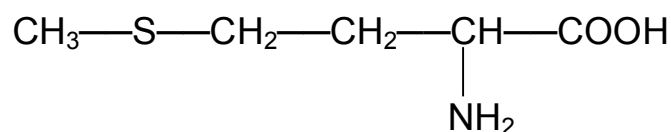
В состав большинства белков входят содержащие серу аминокислоты - цистеин, цистин, метионин:



Цистеин



Цистин



Метионин

Серу в белке можно обнаружить, пользуясь ее свойством давать с солями свинца осадок черного цвета (сульфид свинца). Под действием щелочи сера отщепляется в виде сероводорода. При добавлении раствора ацетата свинца раствор начинает мутнеть, а затем выпадет черный осадок.

Реактивы и материалы:

- 1) раствор белка;
- 2) раствор едкого натра ω (NaOH) = 10 %;
- 3) раствор ацетата свинца ω $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}] = 10$ %.

Ход работы:

В пробирку к 1-2 см³ раствора белка добавляют 2-3 капли раствора ацетата свинца. Содержимое пробирки перемешивают, а затем добавляют в него 2-3 см³ раствора едкого натра, перемешивают и нагревают. Содержимое пробирки начинает темнеть.

2.4 Вопросы к защите лабораторной работы №1

1 Что такое белки?

2 Каковы физиологические функции белков в живой клетке?

3 Какие функциональные группы входят в аминокислоты?

4 Какие Вы знаете "незаменимые" аминокислоты? Почему они так называются?

5 Какими свойствами обладают аминокислоты?

6 Как устроена белковая молекула?

7 Какими физическими свойствами обладают белки?

8 Каковы химические свойства белков?

9 Как можно обнаружить наличие белка в неизвестном объекте?

2.5 Лабораторная работа № 2. Определение количества казеина в молоке методом титрования

Принцип метода:

Казеин является главным белком молока, его содержание колеблется от 2,1 % до 2,9 %. Он содержит несколько фракций, отличающихся аминокислотным составом, отношением к ионам кальция и сычужному ферменту. В молоке казеин находится в виде специфических частиц или мицелл (от лат. *Micelle* – крошечка, крупичка), представляющих собой сложные комплексы фракций казеина с коллоидным фосфатом кальция.

Сущность метода определения количества казеина в молоке заключается в установлении количества децинормального раствора щелочи, пошедшей на его титрование. С учетом того, что 1 см³ децинормальной щелочи эквивалентен 0,11315 г казеина, рассчитывается количество казеина в молоке.

Реактивы и материалы:

1) раствор гидроксида натрия $C(\text{NaOH}) = 0,1$ моль/дм³;

2) раствор серной кислоты $C(1/2\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,04$ моль/дм³;

- 3) индикатор (фенолфталеин);
- 4) дистиллированная вода;
- 5) молоко.

Оборудование:

- 1) бюретка;
- 2) пипетка;
- 3) мерная колба 100 см³;
- 4) коническая колба 250 см³ - 2 шт;
- 5) стеклянная палочка;
- 6) воронка;
- 7) фильтровальная бумага.

Ход работы:

В две колбы отмерить по 20 см³ исследуемого молока и добавить по 80 см³ дистиллированной воды. В одну из колб добавить из бюретки при постоянном помешивании по каплям раствор серной кислоты до появления хорошо заметных хлопьев казеина (приблизительно 23 - 28 см³). Во вторую колбу влить из бюретки такое же количество серной кислоты, как и в первую колбу. Содержимое первой колбы отфильтровать в мерную колбу на 100 см³. В фильтрат пройдут через фильтр все составные части смеси, за исключением казеина и жира. Смесь во второй колбе (с казеином) оттитровать раствором NaOH с добавлением индикатора фенолфталеина (2-3 капли) до слабо - розового окрашивания. 100 см³ прозрачного фильтрата перелить в коническую колбу, добавить 2-3 капли фенолфталеина и так же оттитровать раствором щелочи до слабо-розового окрашивания. Вычислить содержание казеина в молоке.

Пример расчета

В 1-ой колбе содержится 20 см³ молока + 80 см³ воды + 24 см³ раствора серной кислоты, всего 124 см³ смеси;

Во 2-ой колбе - 20 см³ молока + 80 см³ воды + 24 см³ раствора кислоты, всего 124 см³ смеси.

На нейтрализацию смеси во второй колбе пошло 14 см³ раствора щелочи.

На нейтрализацию 100 см^3 фильтрата из первой колбы без казеина пошло $7,3 \text{ см}^3$ $0,1 \text{ н}$ раствора щелочи.

На 124 см^3 фильтрата без казеина должно пойти $0,1 \text{ н}$ раствора NaOH:

$$100 - 7,3; 124 - X.$$

$$X = (7,3 * 124) / 100 = 9,05 \text{ см}^3$$

Следовательно, на нейтрализацию казеина из 20 см^3 молока пошло: $14 - 9,05 = 4,95 \text{ см}^3$ $0,1 \text{ н}$ раствора NaOH.

Так как 1 см^3 $0,1 \text{ н}$ раствора NaOH эквивалентен $0,11315 \text{ г}$ казеина, то в 20 см^3 молока содержится $0,11315 * 4,95 = 0,56 \text{ г}$ казеина.

Содержание казеина в 100 см^3 молока будет: $0,56 * 5 = 2,8 \text{ г}$.

Чтобы вычислить процентное содержание казеина в молоке, нужно количество граммов казеина разделить на плотность молока или на среднюю плотность ($1,030$). Для данного примера содержание казеина будет равно: $2,8 : 1,030 = 2,71 \%$.

Содержание казеина в молоке вычисляется следующим образом:

$$K = \frac{\left(V_2 - \frac{V_1 \cdot V_{\text{тит}}}{100} \right) \cdot 0,11315}{\rho},$$

где K – содержание казеина, %;

V_1 - объем NaOH, пошедший на титрование 100 см^3 фильтрата;

V_2 - объем NaOH, пошедший на титрование молока с казеином;

$V_{\text{общ.}}$ - общий объем смеси: 20 см^3 молока + $80 \text{ см}^3 \text{ H}_2\text{O}$ + объем серной кислоты.

ρ - плотность молока, равная $1,030 \text{ г/ см}^3$.

Рекомендации к составлению протокола:

Результаты титрования и расчетов занести в тетрадь. На основании расчетов сделать вывод о содержании казеина в исследуемом образце молока.

3 Клейковина, её состав и свойства

Под клейковиной понимают белковый комплекс, образующийся при отмывании теста от крахмала и обладающий упругими и эластичными свойствами.

Клейковина, отмываемая из пшеничного теста, представляет собой сильно гидратированный гель, состоящий в основном из белков, но содержащий кроме него углеводы, липиды и минеральные вещества. Содержание компонентов клейковины зависит от сорта муки, ее подготовки к замесу, продолжительности отмывания и различных других факторов. Сумма белков в клейковине составляет от 75 % до 99 %, представленных главным образом, глиадином (до 45 %) и глютелином (до 42 %).

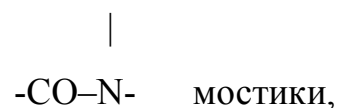
Значение клейковины заключается в том, что она формирует тесто. При замешивании муки с водой в процессе приготовления теста отдельные частицы клейковины, набухая, слипаются друг с другом и образуют непрерывную фазу гидратированного белка, в результате чего и образуется компактная, упругая масса теста. Углекислый газ, выделяемый дрожжами при брожении теста, растягивает клейковину, т.е. разрыхляет эту массу, увеличивая её объем, придает ей мелкопористую структуру, которая закрепляется при выпечке, образуя характерную пористую структуру хлебного мякиша. Качество выпекаемого хлеба во многом зависит от свойств клейковины.

Клейковина является весьма лабильным продуктом и довольно легко изменяет свои вязко-упруго-эластичные свойства под влиянием различных факторов. На свойства клейковины могут оказывать действие, например, активное вентилирование, тепловая сушка, низкие температуры, газация, операции, связанные с подготовкой зерна к помолу (гидротермическая обработка), размол в муку, процессы, происходящие при хранении зерна и муки и, наконец, целый цикл процессов, связанных с приготовлением теста и выпечкой хлеба.

Под влиянием высокой температуры клейковина денатурируется, теряет связность, становится жесткой, неэластичной, малорастяжимой. Причем, чем

выше влажность зерна, тем чувствительнее оно к тепловой денатурации. Однако, если зерно имеет слабую клейковину, то кратковременное тепловое воздействие можно использовать как один из способов ее укрепления.

Укрепляющим действием обладают также различные окислители - непредельные жирные кислоты и некоторые другие вещества. При этом происходит окисление сульфгидрильных (-SH-) или пептидных (-CO-NH-) группировок в соседних макромолекулах клейковинного белка, в результате чего возможна их спайка через дисульфидные (-S-S-) или азотные -CO-N-



что усиливает жесткость всего клейковинного комплекса.

К веществам, понижающим упругие свойства клейковины, относятся такие как бисульфиты, цистеин, мочевины, глутатион, неионогенные эмульгаторы, протеолитические ферменты.

Итак, различают клейковину "нормального качества", "слабую", "крепкую", "крошащуюся" и др. Качество клейковины определяют различными методами, например, по скорости растягивания клейковины под тяжестью пятиграммовой гирьки. Определение качества клейковины производят также с помощью вискозиметра Ауэрмана-Воскресенского. В этом случае о механических свойствах клейковины судят по продолжительности истечения навески 2 г клейковины через отверстие сечением в 4,9 мм под давлением груза в 3 кг. В настоящее время для определения вязко-эластичных свойств клейковины применяют пенетрометры различных марок, а также отечественные приборы ПЭК-3, ПЭК-3А, ИДК-1.

Для суждения о качестве клейковины определяют также её расплываемость. Из клейковины делают шарик, который кладут под стеклянный колпак, и оставляют при определенной температуре на некоторое время. Если была взята мука из зерна, поврежденного клопом-черепашкой, т.е. мука, содержащая активные ферменты, расщепляющие белки, шарик расплывается. Если мука была нормальная, хорошая, то после отлёжки форма шарика практически не изменится. Если мука была получена из морозобойного зерна, то в этом случае, наоборот,

шарик клейковины станет даже более компактным.

3.1 Лабораторная работа №3. Определение количества и качества сырой клейковины зерна пшеницы

3.1.1 Опыт 1. Определение количества сырой клейковины

Метод изложен в ГОСТ 13586.1-68 «Зерно. Методы определения количества и качества клейковины пшеницы».

Ход работы:

25 г размолотого зерна взвешивают на технических весах с точностью до 0,1 г. Навеску переносят в фарфоровую ступку или чашечку и заливают 13 см³ водопроводной воды. Пестиком или шпателем замешивают тесто, пока оно не станет однородным. Приставшие к пестику или ступке частицы присоединяют к куску теста и хорошо приминают его руками.

Скатанное в шарик тесто кладут в ступку или чашечку, закрывают крышкой (стеклом) и оставляют на 20 минут для набухания клейковины. Затем начинают отмывание клейковины под слабой струёй воды с температурой от 18 °С до 20 °С над густым шелковым или капроновым ситом. Сначала отмывают осторожно, чтобы вместе с крахмалом и оболочками не отрывались кусочки клейковины, а когда большая часть крахмала и оболочек будет отмыта - более энергично. Оторвавшиеся кусочки клейковины тщательно собирают с сита и присоединяют к общей массе клейковины.

Допускается отмывать клейковину в тазу или чашке. В таз наливают не менее 2 литров воды, опускают тесто в воду и отмывают крахмал и частицы оболочек зерна, разминая тесто руками. Когда в воде накапливается крахмал и частицы оболочек, воду меняют, процеживая ее через шелковое или капроновое сито.

При выделении клейковины из пшеницы пониженного качества (пораженной клопом-черепашкой, морозобойной, проросшей и т.п.) ее отмывают

медленно и осторожно, вначале в тазу. Отмывают до тех пор, пока оболочки не будут полностью отмыты и вода, стекающая при отжимании клейковины, не будет почти прозрачной (без мути). Клейковина, которая не отмывается, характеризуется как "не отмываемая".

Отмытую клейковину отжимают между ладонями, вытирая их время от времени сухим полотенцем, при этом клейковину несколько раз выворачивают и снова отжимают между ладонями, пока она не начнет слегка прилипать к рукам. Отжатую клейковину взвешивают, затем еще раз промывают 2-3 минуты, вновь отжимают и взвешивают на технических весах.

Если разница между двумя взвешиваниями не превышает 0,1 г, то отмывание клейковины считают законченным. Содержание сырой клейковины выражают в процентах к навеске измельченного зерна (шрота).

При контрольных и арбитражных анализах расхождения при определении количества сырой клейковины не должны превышать $\pm 2\%$.

3.1.2 Опыт 2. Определение качества сырой клейковины

Качество сырой клейковины характеризуется упругими свойствами, оцениваемыми приборами (ИДК-I или аналогичными) с технической характеристикой: величина деформирующей нагрузки 120 ± 2 г, продолжительность воздействия деформирующей нагрузки на образец (30 ± 2) с; пять единиц шкалы соответствует 0,35 мм перемещения пуансона; максимальное расстояние между неподвижным столиком и пуансоном 20 ± 1 мм.

Ход работы:

Из отжатой и взвешенной клейковины выделяют навеску 4 г, обминают её 3-4 раза пальцами, формируют в шарик и помещают на 15 минут в чашку или ступку с водой с температурой (18 ± 2) °С. Затем приступают к определению упругих свойств. Если клейковина крошащаяся, после отмывания губчато-образная, легко рвущаяся и не формируется после обминания в шарик, то ее относят к III группе (неудовлетворительная) без определения качества на приборе.

Если масса отмытой клейковины менее 4 г, необходимо увеличить навеску размолотого зерна и заново отмыть клейковину.

3.1.3 Опыт 3. Определение количества глиаина пшеницы

Реактивы материалы:

- 1) измельченное зерно или мука;
- 2) раствор этанола ω (C_2H_5OH) = 70 %;
- 3) раствор этанола ω (C_2H_5OH) = 65 %.

Ход работы:

Отвешивают 3 г клейковины и разрезают на возможно более мелкие кусочки, переносят в колбу (100 см³) и заливают 20 см³ раствора спирта с массовой долей ω (C_2H_5OH) = 70 %. Концентрация спирта должна быть такой, чтобы после разбавления его водой, содержащейся в клейковине, она была равна от 65 -56 %. В клейковине содержится в среднем 66 % воды и, следовательно, в 3 г клейковины - 2 г воды. Взятое количество спирта обеспечивает нужную концентрацию спирта.

$$\omega = \frac{30 \cdot 70 \cdot 100}{100 \cdot (30 + 2)} = 65,5\%$$

Глиадин экстрагируют при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 30 мин периодически взбалтывая. После этого спиртовой раствор с растворенным в нем глиадином осторожно сливают через фильтр в стакан, клейковину второй раз заливают 20 см³ раствора спирта (ω C_2H_5OH) = 65 %, хорошо взбалтывают и снова ставят на 20 минут для экстрагирования. По истечении этого времени раствор декантируют и пропускают через фильтр в тот же стакан.

10 см³ спиртового экстракта переносят пипеткой в предварительно высушенный фарфоровый стаканчик или чашку для выпаривания. Спиртовой экстракт глиаина сначала выпаривают на водяной бане, остаток (глиадин) высушивают в сушильном шкафу при 105 °С до постоянного веса. Сухой остаток взвешивают и вычисляют содержание глиаина в процентах.

При более точных определениях глиаина экстрагирование производят три раза. Полученные экстракты собирают отдельно и концентрируют в вакууме при

температуре бани не выше 35 °С, начиная с последнего экстракта, чтобы не подвергнуть излишнему воздействию тепла главную массу глиаина, содержащуюся во втором, и особенно, в первом экстракте. Полученный белок дважды перерастворяют в растворе спирта ω (C₂H₅OH) = 65 %, дважды промывают дистиллированной водой.

3.1.4 Опыт 4. Качественная реакция на глиадин

Ход работы:

Отвешивают 1 г клейковины, нарезают на мелкие кусочки, переносят в колбу на 100-150 см³ и заливают 10 см³ раствора спирта ω (C₂H₅OH) = 70 % оставляя затем для экстрагирования на 30 минут, каждые 15 мин содержимое колбы взбалтывают. После настаивания жидкость отфильтровывают. Фильтрат разливают пополам, в две чистые пробирки, к одной из них приливают двукратный объем дистиллированной воды. При снижении концентрации спирта глиадин выпадает в осадок и раствор мутнеет.

3.2 Вопросы к защите лабораторной работы №3

- 1 Что такое клейковина?
- 2 Что и в каком отношении входит в состав клейковины?
- 3 Какие вы знаете методы анализа качества клейковины?
- 4 Какие факторы влияют на качество клейковины?
- 5 Какое действие оказывают на клейковину липиды?
- 6 Как можно укрепить клейковину? Ослабить клейковину?
- 7 Какова роль клейковины в процессе хлебопечения?
- 8 Почему нельзя испечь хлеб из рисовой, кукурузной муки?

4 Липиды

Липидами называется сложная смесь органических веществ, выделяемых из растительных и животных объектов. Они обладают близкими физико-химическими свойствами, в первую очередь, нерастворимостью в воде и хорошей растворимостью в ряде органических растворителей (диэтиловом эфире, бензоле, хлороформе, спиртах). По химической природе липиды делят на следующие группы - омыляемые липиды и неомыляемые липиды.

В составе неомыляемых липидов не имеется сложноэфирных связей, они не подвергаются омылению. К неомыляемым липидам относятся вещества самого различного строения – свободные жирные кислоты, высшие спирты, циклические спирты, высшие гомологи предельных углеводородов, жирорастворимые пигменты, жирорастворимые витамины, гормоны стероидной природы и др.

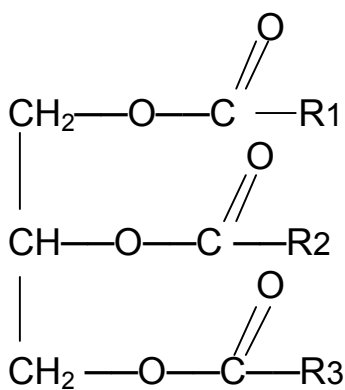
Омыляемые липиды по строению являются сложными эфирами какого-либо спирта (одно-, двух-, трехатомного или циклического) и высших жирных кислот. При щелочном гидролизе (омылении) таких липидов образуются соли высших жирных кислот, называемые мылами.



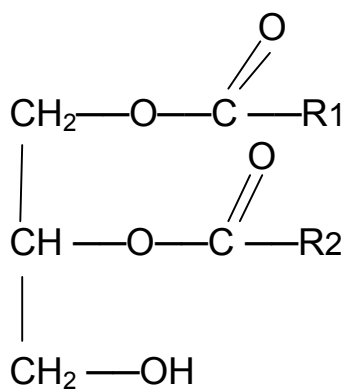
Основную массу липидов составляют сложные эфиры трехатомного спирта

глицерина и высокомолекулярных жирных кислот – глицериды (называемые жирами). Кроме глицеридов в состав липидов входят свободные жирные кислоты, воски, фосфо- и гликолипиды, жирорастворимые пигменты, стерины, жирорастворимые витамины, а также продукты их разнообразных превращений.

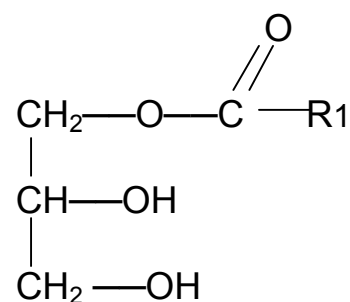
В состав жиров в основном входят триглицериды, но присутствуют ди- и моноглицериды:



триглицерид



диглицерид



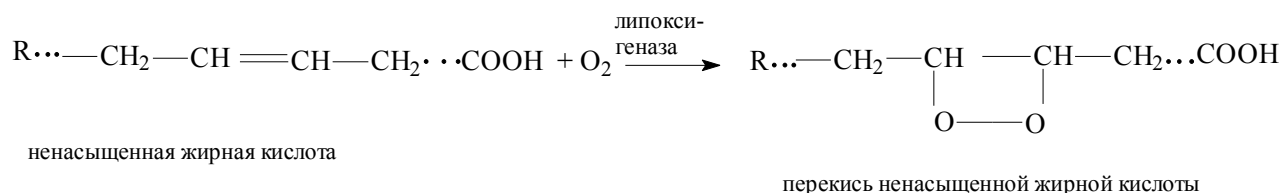
моноглицерид

где R_1, R_2, R_3 – радикалы жирных кислот.

Липиды – важные компоненты пищи, во многом определяют пищевую ценность и вкусовые достоинства. Исключительно велика роль липидов в разнообразных процессах пищевой технологии. Порча зерна и продуктов его переработки при хранении (прогоркание), в первую очередь, связана с изменением его липидного комплекса.

Поскольку в жире содержатся ненасыщенные жирные кислоты, он может легко окисляться. Процесс окисления жира, окисления ненасыщенных жирных кислот, может идти сам по себе за счет присоединения кислорода воздуха по месту двойных связей. Однако этот процесс может значительно ускоряться под влиянием особого фермента, содержащегося в зерне, муке и крупе – липоксигеназы. Она особенно активна в сое и соевой муке.

В результате действия липоксигеназы ненасыщенные жирные кислоты образуют перекиси и гидроперекиси:



Гидроперекиси и перекиси являются очень активными окислителями. Они легко окисляют жирные кислоты, причем образуются неприятные на вкус и запах вещества, вследствие чего жир прогоркает. Поэтому наличие в зерне липоксигеназы способствует прогорканию муки и крупы при хранении. Перекиси и гидроперекиси могут легко окислять также желтые красящие вещества муки – каротиноиды, вследствие чего мука и тесто светлеют.

Это обстоятельство имеет большое значение при изготовлении и сушке макарон. Поэтому в последние годы усиленно изучается активность липоксигеназы у различных сортов твердой пшеницы, из которых готовят муку, используемую в макаронной промышленности. Под влиянием фермента липазы, кислот, щелочей или специальных смесей жиры (триглицериды) гидролизуются с образованием сначала ди-, а затем моноглицеридов и в конечном итоге – жирных кислот и глицерина.

В результате гидролиза повышается общая кислотность зерна и муки.

4.1 Лабораторная работа № 4. Оценка качества пищевых жиров по основным показателям

Основными качественными показателями жиров являются кислотное число, йодное число, число омыления.

4.1.1 Опыт 1. Определение кислотного числа жира

Принцип метода:

Кислотное число жира - количество мг едкого кали, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Оно зависит от качества сырья, способа получения масел или жиров, длительности и условий хранения и пр. Кислотное число - один из основных показателей степени

свежести жира и регламентировано стандартами на различные виды пищевых масел и жиров.

Определение кислотного числа жира основано на нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в навеске исследуемого вещества, спиртовым раствором щелочи (ГОСТ 5476-64). В соответствии со стандартами кислотное число пищевых растительных масел в зависимости природы и сорта колеблется в пределах от 0,2 до 6 мг.

Реактивы и материалы:

- 1) раствор гидроксида калия $C(\text{KOH}) = 0,1$ моль/дм³;
- 2) индикатор (фенолфталеин для светлых масел, тимолфталеин - для темнокрашенных);
- 3) этанол;
- 4) эфир;
- 5) дистиллированная вода;
- 6) пищевой жир (масло).

Оборудование:

- 1) весы технические;
- 2) мерный цилиндр 500 см³;
- 3) бюретки;
- 4) коническая колба 150- 200 см³;
- 5) стеклянные палочки;
- 6) пипетки.

Ход работы:

В коническую колбу вместимостью от 150 до 200 см³ отвешивают 3 г испытуемого масла, приливают 25 см³ смеси этанола и эфира, добавляют несколько капель индикатора.

Полученный раствор при постоянном помешивании титруют раствором КОН до получения розовой окраски, устойчивой в течение 30 с. Если индикатор тимолфталеин - до грязно-зеленой.

Кислотное число рассчитывают по формуле:

$$\hat{E}_{\text{ж.}} = \frac{V \cdot K \cdot 5.61}{m},$$

где V - объем раствора КОН, израсходованный на титрование, см³;

K - поправочный коэффициент к титру щелочи;

5,61 - титр 0,1 н раствора КОН, мг/мл;

m - масса навески, г.

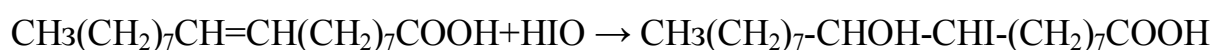
4.1.2 Опыт 2. Определение йодного числа жира

Принцип метода:

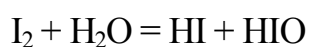
Йодное число жира - количество граммов йода, связываемое 100 граммами данного жира. Этот показатель характеризует степень стойкости жира в процессе хранения, стойкость его к окислению, т.к. ненасыщенные жирные кислоты присоединяют по месту двойных связей кислород воздуха, обуславливая процессы прогоркания и высыхания жиров.

Определение йодного числа основано на способности непредельных жирных кислот количественно присоединять молекулу галогена по месту двойной связи в условиях, при которых эта реакция не сопровождается замещением водорода на галоген. Наиболее точным является определение йодного числа по Гюблю, однако, оно связано с применением весьма ядовитого реактива—сулемы (HgCl₂) и поэтому не может быть рекомендовано для студенческого практикума. Описываем более простой и быстрый метод определения йодного числа, применение которого не связано с использованием сулемы. Метод обладает вполне удовлетворительной точностью.

По методу Маргошеса определение йодного числа осуществляется при помощи спиртового раствора йода. Сущность метода основана на реакции:



Йодноватистая кислота образуется при взаимодействии йода с водой по уравнению:



Остаток неприсоединившегося йода оттитровывается тиосульфатом натрия.

Реактивы и материалы:

- 1) раствор тиосульфата натрия $C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ моль/дм³;
- 2) спиртовой раствор йода;
- 3) 1 % раствора крахмала;
- 4) этанол;
- 5) дистиллированная вода.

Оборудование:

- 1) бюретки;
- 2) весы технические;
- 3) часовое стекло;
- 4) мерный цилиндр 200 см³;
- 5) химический стакан 500 см³;
- 6) стеклянная палочка;
- 7) водяная баня;
- 8) пипетки.

Ход работы:

На предварительно взвешенное часовое стекло помещают несколько капель исследуемого масла и снова взвешивают. Стекло с маслом опускают в химический стакан и добавляют стократное количество спирта. При навеске в 0,2-0,3 г добавляют от 20 до 30 см³ спирта. Для лучшего и более быстрого растворения навески смесь подогревают на водяной бане при температуре от 45 °С до 50 °С, периодически встряхивая.

Далее прибавляют пипеткой 20 см³ спиртового раствора йода, хорошо перемешивают.

Добавляют мерным цилиндром 200 см³ мл дистиллированной воды. Добавляя воду, постоянно перемешивают смесь стеклянной палочкой. Затем оставляют на 5 мин в темном месте, прикрыв стакан часовым стеклом.

После остаток неприсоединившегося йода оттитровывают раствором тиосульфата натрия до соломенно-желтой окраски. Затем добавляем 2 см³ 1 % раствора крахмала, в результате чего раствор приобретает темно-синюю окраску. Полученный раствор продолжают титровать раствором тиосульфата натрия до

исчезновения синей окраски. Для дальнейших расчетов используется весь объем тиосульфата (т.е. после добавления крахмала раствор тиосульфата в бюретке не следует доводить до нуля, а необходимо продолжать титрование).

Одновременно проводят контрольный опыт без жира.

Рассчитывают йодное число по формуле:

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

где V_0 - объем раствора тиосульфата, израсходованный в контрольном опыте, см^3 ;

V - весь объем раствора тиосульфата, израсходованный на титрование опытного раствора, см^3 ;

K - поправочный коэффициент к титру тиосульфата;

0,01269 - титр тиосульфата по йоду;

m - масса навески, г.

Рекомендации к составлению протокола

Результаты титрования и расчетов в обоих опытах занести в тетрадь. На основании расчетов сделать вывод о качестве испытуемого жира (масла) и соответствии стандарту.

4.2 Фосфатиды или фосфолипиды

Одной из наиболее распространенных групп жироподобных веществ, или липоидов, являются фосфолипиды, или фосфатиды. Различают три группы фосфолипидов:

а) фосфоглицериды, в состав которых входят глицерин, жирные кислоты, фосфорная кислота и азотистые основания (холин, коламин, оксиаминокислота серин);

б) инозит-фосфатиды (фосфатидилинозитиды), содержащие вместо

азотистого основания циклический шестиатомный спирт инозит;

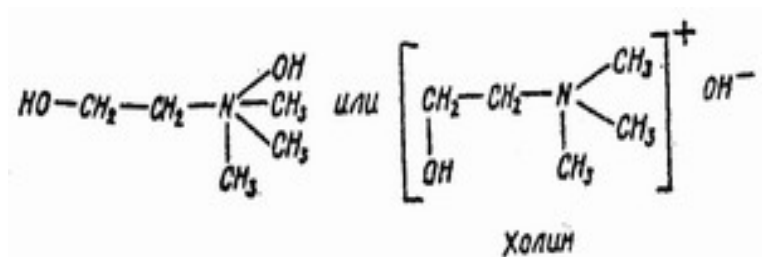
в) сфингомиелины (сфингофосфолипиды), молекулы которых состоят из высокомолекулярного двухатомного ненасыщенного аминспирта сфингозина, остатков жирной и фосфорной кислот и азотистого основания холина. В молекулах сфингомиелинов жирная кислота соединена пептидной связью с аминогруппой сфингозина.

4.2.1 Лабораторная работа № 5. Выделение лецитинов из желтка куриного яйца

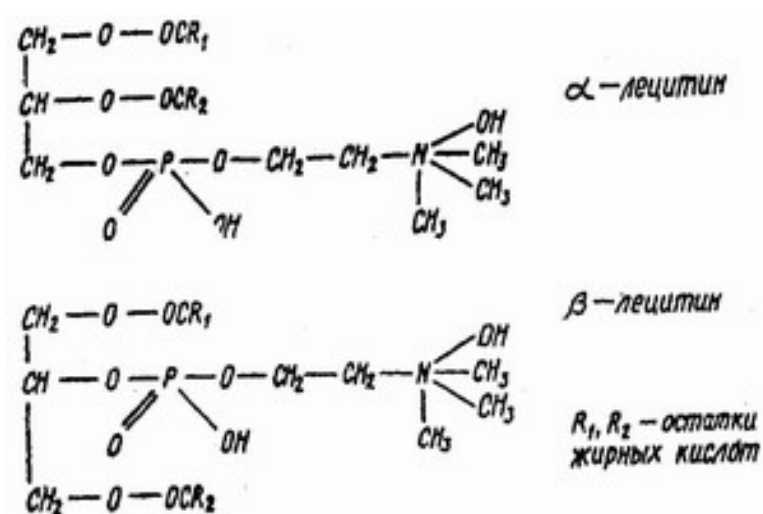
Лецитин — натуральный эмульгатор. Он позволяет получать устойчивые эмульсии в системах масло - вода. Благодаря этому он находит широкое применение в пищевой промышленности при изготовлении шоколада и шоколадной глазури (для снижения их вязкости во рту и в качестве антиоксиданта, препятствующего старению изделий), кондитерских, хлебобулочных и макаронных изделий, маргарина, майонеза, выпечке хлебобулочных и кондитерских изделий, вафель, а также при изготовлении жироводных эмульсий для смазки хлебопекарных форм и листов. В непищевых применениях лецитин используется в жировых красках и их растворителях, виниловых покрытиях и косметике. Другие применения — обработка бумаги, производство чернил, удобрений, взрывчатых веществ, пестицидов.

Лецитины относятся к фосфоглицеридам (фосфотидилхолинам). При гидролизе лецитинов освобождается молекула глицерина, две молекулы жирных кислот (из которых одна является непредельной), молекулы фосфорной кислоты и азотистого основания холина.

Фосфорная кислота в молекуле лецитина соединена сложноэфирной связью со спиртовой группой холина.



В зависимости от того, к какому углеродному атому глицерина присоединен остаток холинфосфорной кислоты, выделяют α - и β -лецитины. Лецитины различаются также по жирным кислотам, входящим в их состав.



Реактивы:

- 1) желток куриного яйца;
- 2) этиловый спирт;
- 3) ацетон;
- 4) хлористый кадмий насыщенный спиртовой раствор.

Ход работы:

В небольшой стаканчик вносят около $1/5$ — $1/6$ желтка куриного яйца и помешивая стеклянной палочкой, добавляют 10 см^3 горячего спирта. После остывания содержимое стаканчика фильтруют в сухую пробирку. Фильтрат должен быть прозрачным. Если в нем появляется муть, фильтрование повторяют до получения прозрачного фильтрата.

Со спиртовым раствором лецитинов проделывают ряд реакций.

- 1) Осаждение ацетоном. В сухую пробирку наливают от 2 до 3 см^3 ацетона

и по каплям прибавляют спиртовой раствор лецитинов. Выпадает осадок, так как лецитины в ацетоне не растворяются.

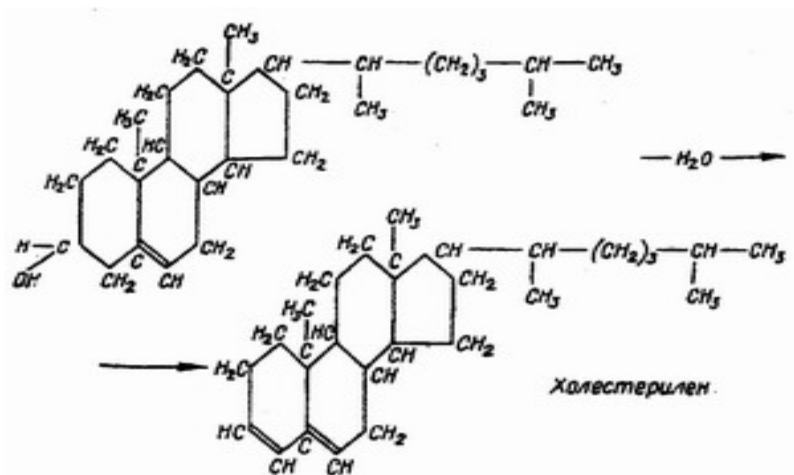
2) Получение эмульсии лецитинов. Для получения эмульсии к 2—3 см³ спиртового раствора лецитинов добавляют (по каплям) дистиллированную воду. Образуется устойчивая эмульсия лецитинов в воде.

3) Осаждение хлористым кадмием. В сухой пробирке к 1 см³ спиртового раствора лецитинов добавляют по каплям насыщенный раствор хлористого кадмия. Выпадает белый осадок соединения лецитинов с хлористым кадмием.

4.2.2 Лабораторная работа № 6. Определение содержания холестерина (реакция Сальковского)

Принцип метода:

Под действием концентрированной серной кислоты происходит дегидратация молекулы холестерина с образованием холестерилена — соединения, окрашенного в красный цвет.



Реактивы:

- 1) холестерин, 1 %-ный хлороформный раствор;
- 2) серная кислота концентрированная ($\rho = 1,836$).

Ход работы.

К 2—3 см³ хлороформного раствора холестерина в пробирке осторожно, наслаивая по стенке, добавляют 1—2 см³ концентрированной серной кислоты.

Пробирку легко встряхивают. Вначале верхний слой, а затем и вся жидкость в пробирке принимает красную, оранжевую или красно-фиолетовую окраску.

4.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 4 - 6

- 1 Что называется липидами?
- 2 На какие классы делятся липиды?
- 3 Что входит в состав простых липидов?
- 4 Что называют жирами?
- 5 Какие жирные кислоты входят в состав липидов?
- 6 Какими свойствами обладают жирные кислоты и как они влияют на качество пищевых продуктов?
- 7 Какими физическими свойствами характеризуются глицериды?
- 8 Что понимают под процессом прокисания и прогоркания жиров?
- 9 Чем отличаются растительные и животные жиры?
- 10 Что входит в состав сложных липидов?
- 11 Что представляют собой фосфолипиды? Какова их физиологическая функция?
- 12 Где используются фосфолипиды и гликолипиды в пищевой промышленности?
- 13 Какова роль липидов в формировании клейковины?

5 Кислотность зерна

Кислотность зерна и муки является важным показателем их качества. При хранении кислотность, как правило, повышается. Таким образом, она может служить показателем качества, точнее, показателем свежести зерна или продуктов его переработки.

Кислотность зерна и муки зависит от белков, которые содержат карбоксильные группы, связывающие щелочь; от наличия жирных кислот, которые освобождаются в результате расщепления жиров под действием липазы; от фосфорной кислоты, которая в виде различных соединений содержится в зерне

в значительном количестве; от уксусной, молочной, яблочной и других органических кислот, обычно содержащихся в зерне и муке в весьма незначительном количестве. Содержание уксусной и молочной кислот сильно увеличивается, если зерно, крупа или мука испортились в результате самосогревания или прокисания.

Существует несколько методов по определению общей кислотности зерна и продуктов его переработки:

- а) титрование болтушки;
- б) титрование водной вытяжки;
- в) титрование водно-спиртовой вытяжки и другие.

5.1 Лабораторная работа №7. Определение кислотности зерна

5.1.1 Опыт 1. Определение общей кислотности по болтушке по ГОСТ 10844-74

При определении кислотности по болтушке щёлочью оттитровываются все кислореагирующие вещества муки, как растворимые в воде, так и нерастворимые. Сюда относятся свободные жирные кислоты, кислые фосфаты, образующиеся в муке в результате расщепления таких фосфоорганических соединений как фитин, фосфатиды, кислореагирующие группировки белков и продуктов его расщепления; свободные органические кислоты, содержащиеся в зерне. Кроме того, какое-то количество щелочи дополнительно будет связываться с крахмалом.

Реактивы материалы:

- 1) зерно или продукты его переработки;
- 2) раствор щелочи $C(\text{NaOH}) = 0,1$ моль/дм³;
- 3) раствор фенолфталеина.

Ход работы.

5 г размолотого зерна или муки помещают в коническую колбу на 100-150 см³, в которую наливают 50 см³ дистиллированной воды. Содержимое колбы

тщательно размешивают, взбалтывают, чтобы болтушка была совершенно однородной, добавляют 5 капель раствора фенолфталеина и титруют децинормальным раствором щелочи до появления бледно-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. Титрование ведется медленно, при постоянном помешивании. Результат выражается в градусах кислотности по формуле:

$$X = \frac{a \cdot k \cdot 1000}{P(100 - W)},$$

где k - коэффициент поправки для щелочи;

a - количество 0,1 моль/дм³ раствора щелочи, пошедшее на титрование, см³;

P - навеска, г;

W - влажность муки, %.

Кислотность определяют в трех параллельных навесках. Среднее арифметическое показателей трех определений принимают за фактическую кислотность зерна (муки). Расхождение между показателями параллельных определений кислотности не должно превышать 0,2°.

Навески для определения кислотности взвешивают с точностью до 0,01 г на теххимических весах.

5.1.2 Опыт 2. Определение кислотности по водной вытяжке

При определении кислотности по водной вытяжке щелочью титруются только те вещества, которые растворимы в воде. В основном это будут кислые фосфаты, водорастворимые белки (альбумины), а также свободные органические кислоты и аминокислоты, но не жирные кислоты.

Ход работы:

Навеску муки или размолотого зерна 10 г помещают в коническую колбу на 300 см³, приливают точно 100 см³ дистиллированной воды. Тщательно размешав содержимое, колбу оставляют для возможно полного экстрагирования

водорастворимых веществ на 1 час при комнатной температуре, периодически взбалтывая. Затем фильтруют жидкость в сухую колбу, с возвратом первых (мутных) порций фильтрата на фильтр. Берут 25 см³ фильтрата пипеткой и переносят в коническую колбочку на 100-150 см³, прибавляют 3 капли фенолфталеина и титруют децинормальным раствором щелочи до бледно-розовой окраски. Кислотность по водной вытяжке вычисляется по формуле:

$$X = \frac{a \cdot k \cdot C \cdot 1000}{P \cdot b \cdot (100 - W)},$$

где k - коэффициент поправки к титру щелочи;

a - объем 0,1 моль/дм³ раствора щелочи, пошедшего на титрование, см³;

C - количество воды, взятое на обработку муки, см³;

P - навеска, г;

W - влажность муки, %;

b - количество фильтрата, взятое на титрование, см³.

5.1.3 Опыт 3. Определение кислотности по водно-спиртовой вытяжке

По этому методу титруются щелочью все органические кислоты, в том числе жирные, спирторастворимые белки (проламины), аминокислоты, пептиды.

Ход работы:

Навеску муки для размолотого зерна 2,5 г высыпают в колбу, приливают 25 см³ раствора спирта $\omega(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 67\%$. Содержимое колбы энергично взбалтывают в течение 5 минут и фильтруют. Измеряют объем полученного фильтрата, приливают к нему 3 капли фенолфталеина и титруют децинормальным раствором щелочи до розовой окраски.

Кислотность выражается по формуле:

$$X = \frac{a \cdot k \cdot C \cdot 1000}{P \cdot b \cdot (100 - W)},$$

где X - кислотность в градусах на сухой вес вещества;
 a - количество 0,1 моль/дм³ раствора щелочи, пошедшего на титрование, см;
 k - коэффициент поправки к титру щелочи;
 b - количество фильтрата, взятого для титрования, см³;
 C - количество спирта, взятого на обработку продукта, см³;
 P - навеска, г;
 W - влажность продукта, %.

5.2 Лабораторная работа № 8. Определение кислотности пива

Кислотность пива, обусловленную присутствием органических кислот и кислых солей (фосфаты, карбонаты), определяют алкалиметрически, титрант - раствор щелочи. Кислотность темного пива определяют потенциометрическим методом.

Реактивы и материалы:

- 1) пиво;
- 2) раствор гидроксида натрия $C(\text{NaOH}) = 0,1$ моль/дм³;
- 3) спиртовой раствор фенолфталеина с массовой долей 1,0 %.

Ход работы.

Анализируемое пиво предварительно освобождают от диоксида углерода, нагревая его 30 мин при 40 °С и постоянно перемешивая стеклянной палочкой.

Бюретку заполняют титрованным раствором NaOH. В колбу для титрования пипеткой отбирают 20,00 см³ подготовленного и охлажденного до 20 °С пива и несколько капель раствора фенолфталеина, титруют раствором NaOH. Фиксируют появление розовой окраски, устойчивой в течение 30 с.

Точное титрование выполняют не менее трех раз, приливая титрант вблизи точки эквивалентности по каплям. Измеряют объем титранта по бюретке с точностью до 0,05 см³. Вычисляют средний объем титранта, затраченный на

титрование - $V(\text{NaOH})$.

Кислотность пива (K , см^3 1 моль/ дм^3 раствора NaOH на 100 см^3 пива) рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{C(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) \cdot 100}{V},$$

где $C(\text{NaOH})$ - концентрация титранта, моль/ дм^3 ;

V - объем пробы пива, см^3 ;

100 - коэффициент пересчета на 100 см^3 пива.

5.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 7, 8

- 1 От чего зависит кислотность зерна, муки?
- 2 Как меняется кислотность продуктов при длительном хранении?
- 3 Как влияет изменение кислотности на качество клейковины?
- 4 Какие факторы влияют на интенсивность изменения кислотности?
- 5 Какие органические кислоты обуславливают кислотность пива?

6 Углеводы. Моно- и дисахариды

Углеводы образуются в растениях в результате фотосинтеза и составляют большую часть сухой массы растений.

Углеводы играют исключительную роль в жизни растений, они являются структурными элементами растительных тканей, запасными веществами, и служат источником образования различных веществ: белков, жиров, органических кислот, гликозидов, дубильных веществ и т.д.

Все углеводы делятся на две большие группы: моносахариды (простые сахара), представляющие собой по химической природе альдегидоспирты (альдозы) или кетоноспирты (кетозы), и полисахариды – продукты полимеризации моносахаридов.

Среди моносахаридов наиболее распространены в природе пентозы и

гексозы, соответственно, с пятью и шестью атомами углерода в молекуле.

Полисахариды, в свою очередь, делятся на полисахариды I-го порядка (олигосахариды), состоящие из небольшого количества остатков моноз (к ним относятся дисахариды и трисахариды), и полисахариды II-го порядка, состоящие из большого количества остатков моноз. Важнейшими олигосахаридами являются дисахариды: мальтоза, целлобиоза, лактоза, трегалоза, сахароза; из полисахаридов II-го порядка наибольший интерес представляют крахмал, гликоген, клетчатка, пектиновые вещества.

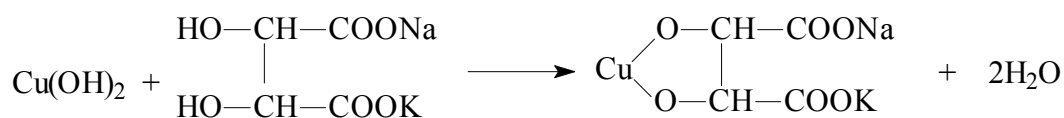
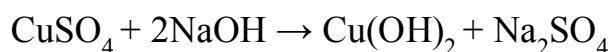
Сахара, имеющие свободные альдегидные или кетонные группы (в циклической форме - свободный гликозидный гидроксил), обладают способностью восстанавливать окисные металлы, например, щелочной раствор окисной меди. При этом медь восстанавливается до закиси меди, а свободная карбонильная (альдегидная или кетонная) группа сахара окисляется. Сахара, которые дают эту реакцию, носят название восстанавливающих (редуцирующих) сахаров. Реакция восстановления окисной меди до закисной лежит в основе количественного определения сахаров по методу Бертрана.

6.1 Лабораторная работа № 9. Определение восстанавливающих сахаров по методу Бертрана

Принцип метода:

Метод Бертрана основан на способности свободной альдегидной или кетонной группы молекулы сахара взаимодействовать со щелочным раствором окисной меди (реактивом Фелинга) и восстанавливать ее до закисной меди, выпадающей в виде осадка красного цвета. По количеству образовавшейся закиси меди судят о содержании сахара в испытуемом растворе.

Реактив Фелинга представляет собой смесь равных объемов сернокислой меди $\omega(\text{CuSO}_4) = 4\%$ и щелочного раствора сегнетовой соли. При смешивании сернокислой меди со щелочью выпадает осадок гидрата окиси меди. Сегнетова соль препятствует выпадению осадка, образуя комплексное соединение.



В щелочной среде циклическая (полуацетальная) форма сахара полностью переходит в ациклическую и на месте свободного гликозидного гидроксила образуется альдегидная (у альдоз) и кетонная (у кетоз) группа.

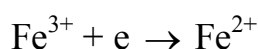
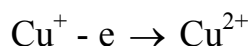
Все моносахариды имеют свободный гликозидный гидроксил и могут взаимодействовать с реактивом Фелинга. В зависимости от типа связи дисахариды подразделяются на восстанавливающие - имеющие свободный гликозидный гидроксил, и невосстанавливающие - не имеющие свободного гликозидного гидроксида.

Примером дисахаридов, не восстанавливающих Фелингову жидкость, может служить трегалоза (грибной сахар), в молекуле которой два остатка глюкозы соединяются за счет обоих гликозидных гидроксильных групп. Важнейшим представителем невосстанавливающих дисахаридов является сахароза, в молекуле которой остаток глюкозы и остаток фруктозы соединены так же, как и у трегалозы - через гликозидные гидроксилы. К восстанавливающим дисахаридам относятся мальтоза, лактоза.

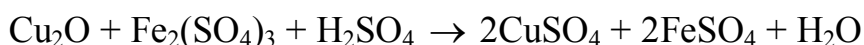
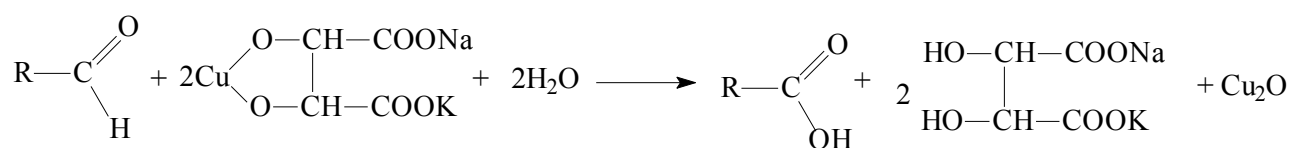
При взаимодействии восстанавливающих сахаров с реактивом Фелинга количество образующейся закисной меди зависит от целого ряда факторов. Поэтому при перерасчете закисной меди на сахар пользуются эмпирическими таблицами. Эти таблицы составлены при строго определенных условиях протекания реакции. Проведение анализа должно соответствовать этим условиям, без каких либо отклонений.

Выпавшую в осадок закисную медь определяют методом объемного титрования. Для этого предварительно отмытый от избытка реактива Фелинга осадок закисной меди обрабатывают раствором железоаммиачных квасцов.

Закисная медь переходит в окисную, а эквивалентное количество окисного железа восстанавливается до закисного.



Количество восстановленного железа, эквивалентное количеству закисной меди, определяют титрованием раствором перманганата калия. Весь процесс сводится к следующим реакциям:



Титр перманганата калия устанавливается по меди, что дает возможность сразу пересчитать объем пошедшего на титрование перманганата калия на эквивалентное количество миллиграммов закисной меди (1 см³ 0,1 моль/дм³ КМnО₄ соответствует 6,36 мг меди).

Метод позволяет провести определение при содержании восстанавливающих сахаров от 10 до 100 мг в 20 см³ раствора. Наилучшие результаты получаются при содержании в пробе 50-80 мг сахара.

Реактивы и материалы:

- 1) мука, солод, корнеплоды, пищевые продукты;
- 2) раствор сернокислой меди ω (CuSO₄) = 6 %;
- 3) раствор едкого натра ω (NaOH) = 1,25 %;
- 4) раствор Фелинга I (сернокислая медь) ω (CuSO₄) = 4 %;
- 5) раствор Фелинга II (щелочной раствор сегнетовой соли);
- 6) раствор железосаммиачных квасцов;
- 7) раствор перманганата калия C(1/5KMnO₄) = 0,1 моль/дм³;

8) раствор уксуснокислого свинца $\omega((\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}) = 10\%$.

Ход работы:

10 г испытуемого материала (солод или др.) переносят в мерную колбу на 100 см³ и обрабатывают 40 см³ реактива Барнштейна. Для этого к навеске сначала приливают 20 см³ сернокислой меди $\omega(\text{CuSO}_4) = 6\%$, перемешивают, добавляют 20 см³ едкого натра $\omega(\text{NaOH}) = 1,25\%$ и еще раз перемешивают. Затем в колбу доливают воды до метки и помешают ее в водяную баню или термостат при температуре 45-50 °С на 20 мин для лучшего осаждения белков. Через 20 мин содержимое колбы охлаждают и фильтруют через сухой складчатый фильтр. В полученном прозрачном фильтрате определяют восстанавливающие сахара по методу Бертрана.

Для этого 20 см³ фильтрата переносят в коническую колбу на 100-150 см³. В колбу приливают 40 см³ реактива Фелинга, который готовят непосредственно перед определением из равных объемов двух заранее приготовленных растворов (20 см³ сернокислой меди $\omega(\text{CuSO}_4) = 4\%$ - Фелинг I и 20 см³ щелочного раствора сегнетовой соли - Фелинг II).

Раствор Фелинга готовят в цилиндре. После приготовления реактива колбочку помещают в кипящую водяную баню. Через 7 минут колбочку вынимают из бани и дают некоторое время для оседания закисной меди. Параллельно нагревают колбу с небольшим количеством воды для промывания осадка. Все последующие операции проводятся очень быстро и поэтому требуют хорошего навыка.

Горячую жидкость из колбочки сливают через стеклянный фильтр при слабом отсасывании на колбе Бунзена. Часть закисной меди попадает на фильтр и задерживается в его верхнем слое. Основное количество осадка желательно не переносить на фильтр, а промывать и растворять в колбочке. Колбочку несколько раз ополаскивают горячей водой. В течение всего процесса промывания и растворения осадка надо следить, чтобы осадок в колбочке и на фильтре всегда был покрыт слоем жидкости во избежание окисления его кислородом воздуха. Окончив промывание, переносят фильтр на другую чистую колбу Бунзена,

отмеривают цилиндром 5-10 см³ раствора железоаммиачных квасцов и растворяют им оставшийся в колбе осадок закиси меди. Когда осадок растворится, начинают слабо отсасывать жидкость, одновременно промывая колбочку и фильтр водой. При полном растворении осадка на фильтре не остается темных включений.

Раствор, собранный в колбе Бунзена, титруют перманганатом калия до появления розовой окраски, удерживающейся в течение 1 мин. Количество миллилитров перманганата, израсходованного на титрование, умножают на его титр по меди (для 0,1 моль/дм³ раствора KMnO_4 он равен 6,36 мг Cu_2O), по таблице находят количество сахара, соответствующее данному количеству меди, и выражают его в процентах к весу испытуемого материала.

При работе с солодом пользуются данными таблицы 1.

Таблица 1 - Определение мальтозы по Бертрану

Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг
1	2	3	4	5	6	7	8
10	11,2	33	36,5	56	61,4	79	86,1
11	12,3	34	37,6	57	62,5	80	87,2
12	13,4	35	38,7	58	63,5	81	88,5
13	14,5	36	39,8	59	64,6	82	89,4
14	15,6	37	40,9	60	65,7	83	90,4
15	16,7	38	41,9	61	66,8	84	91,5
16	17,8	39	43,0	62	67,9	85	92,6
17	18,9	40	44,1	63	68,9	86	93,7
18	20,0	41	45,2	64	70,0	87	94,8
19	21,1	42	46,3	65	71,1	88	95,8
20	22,2	43	47,4	66	72,2	89	96,9
21	23,3	44	48,5	67	73,3	90	98,0
22	24,4	45	49,5	68	74,3	91	99,0
23	25,5	46	50,6	69	75,4	92	100,1
24	26,6	47	51,7	70	76,5	93	101,1
25	27,7	48	52,8	71	77,6	94	102,3
26	28,9	49	53,9	72	79,6	95	103,2
27	30,0	50	55,0	73	79,9	96	104,2
28	31,1	51	56,1	74	80,8	97	105,3
29	32,2	52	57,1	75	81,8	98	106,3
30	33,3	53	58,2	76	82,9	99	107,4
31	34,4	54	59,3	77	84,0	100	108,4
32	35,5	55	60,3	78	85,1	-	-

Корнеплоды перед анализом тщательно моют и измельчают на терке. Около 1 г измельченного продукта взвешивают в металлическом или стеклянном бюксе и помещают в сушильный шкаф при температуре 130 °С на 60 мин до полного высушивания, после чего рассчитывают содержание влаги в продукте по формуле:

$$W = \frac{(a - b) \cdot 100}{m} \%,$$

где a – масса бюкса с навеской до высушивания, г;

b – масса бюкса с навеской после высушивания, г;

m – масса навески, г.

Навеску измельченного корнеплода массой 5 г переносят в мерную колбу на 100 см³, прибавляют 70-80 см³ горячей воды и для экстракции сахаров, выдерживают 20-30 мин на водяной бане при температуре от 80 °С до 90 °С, периодически взбалтывая. После экстракции колбу охлаждают. Для осаждения белков и других примесей добавляют 5 см³ уксуснокислого свинца (или 20 см³ реактива Барнштейна), перемешивают и доводят водой до метки. После этого жидкость фильтруют через складчатый фильтр в сухой стакан или колбу. Берут 20 см³ фильтрата, переносят его в мерную колбу на 100 см³ и добавляют 3-5 см³ насыщенного раствора сульфата натрия для удаления избытка уксуснокислого свинца. Раствор в колбе перемешивают и доводят до метки. После отстаивания раствор фильтруют, фильтрат служит для определения сахаров. Далее последовательность проведения анализа точно такая же, как и в предыдущем описании, т.е. к 20 см³ фильтрата добавляют 40 см³ реактива Фелинга, кипятят 7 мин, выпавший осадок закиси меди обрабатывают раствором железосаммиачных квасцов и титруют перманганатом калия. Для расчетов используют таблицу 2.

Таблица 2 – Определение глюкозы по Бертрану

Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг
10	20,4	33	64,6	56	105,8	79	144,5
11	22,4	34	66,5	57	107,6	80	146,1
12	24,3	35	68,3	58	109,3	81	147,1
13	26,3	36	70,1	59	111,1	82	149,3
14	28,3	37	72,0	60	112,8	83	150,9
15	30,2	38	73,8	61	114,6	84	152,6
16	32,2	39	75,7	62	116,1	85	154,0
17	34,2	40	77,5	63	117,9	86	155,6
18	36,2	41	79,3	64	119,6	87	157,2
19	38,1	42	81,1	65	121,3	88	158,3
20	40,1	43	82,9	66	123,0	89	160,4
21	42,0	44	84,7	67	124,7	90	162,0

22	43,9	45	86,4	68	126,4	91	163,6
23	45,8	46	88,2	69	128,1	92	165,2
24	47,7	47	90,0	70	129,8	93	166,7
25	49,6	48	91,8	71	131,4	94	168,3
26	51,5	49	93,6	72	133,1	95	169,9
27	53,4	50	95,4	73	134,7	96	171,5
29	55,3	51	97,1	74	136,3	97	173,1
29	57,2	52	98,9	75	137,9	98	174,6
30	59,1	53	100,6	76	139,6	99	176,2
31	60,9	54	102,3	77	141,2	100	177,8
32	62,8	55	104,1	78	142,8	--	--

6.2 Вопросы к защите лабораторной работы № 9

1 Что представляют собой углеводы, на какие классы они делятся?

2 Каковы функции углеводов в живой клетке?

3 На какие классы делятся моносахариды? Какие функциональные группы они содержат?

4 При помощи каких ферментов осуществляется превращение глюкозы во фруктозу?

5 На какие классы делятся дисахариды?

6 На проявлении каких свойств основан метод количественного анализа сахаров по Бертрану?

7 Какие Вы знаете восстанавливающие дисахариды?

8 Какие Вы знаете невосстанавливающие дисахариды? В чем их структурное отличие от восстанавливающих дисахаридов?

9 Что называют инвертным сахаром?

7 Полисахариды. Крахмал и клетчатка

Крахмал – главное из веществ, содержащихся в зерне злаков. Он представляет собой полимер, состоящий из остатков α -D-глюкозы. В зерне крахмал находится в виде крахмальных зерен различного размера и формы. Крахмал дает очень характерную реакцию с раствором йода – окрашивается в синий цвет. Эта реакция применяется для обнаружения и количественного определения крахмала.

Крахмальные зерна при нагревании в воде образуют крахмальный клейстер. Клейстеризация крахмала разного происхождения наступает при различной температуре. Пшеничный крахмал клейстеризуется при $62,5^{\circ}\text{C}$, ржаной – при несколько более низкой температуре.

Крахмал состоит из амилозы и амилопектина. Эти вещества сильно различаются по своим физическим и химическим свойствам. Так, например, от йода амилоза окрашивается в синий цвет, а амилопектин – в красно-фиолетовый. Они различаются и по растворимости: амилоза легко растворяется в теплой воде и дает растворы со сравнительно невысокой вязкостью, в то время как амилопектин растворяется в воде лишь при нагревании и под высоким давлением, и дает очень вязкие растворы.

Амилоза и амилопектин отличаются по своему химическому строению. В молекуле амилозы отдельные остатки глюкозы связаны между собой в виде неразветвленной нити. Молекулярная масса амилозы колеблется от 3×10^5 до 1×10^6 . Если амилоза представляет собой линейный полимер, то молекула амилопектина сильно разветвлена. Молекулярная масса амилопектина достигает сотен миллионов.

Разнообразные методы определения содержания крахмала основаны на его расщеплении и учете образовавшихся промежуточных или конечных продуктов гидролиза. Одним из наиболее быстрых, хотя и менее точных методов определения содержания крахмала является метод Эверса.

Определение содержания крахмала по методу Эверса основано на

способности фракций крахмала, полученных в процессе гидролиза, поворачивать плоскость поляризованного луча. Величина угла поворота для одного и того же вещества пропорциональна его концентрации в растворе.

7.1 Лабораторная работа № 10. Определение содержания крахмала

Реактивы и материалы:

- 1) мука, размолотое зерно;
- 2) раствор соляной кислоты $\omega(\text{HCl}) = 1,124 \%$;
- 3) раствор гексацианоферрата калия $\omega(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 15 \%$.

Ход работы.

В мерную колбу на 100 см^3 вносят 5 г тонкоизмельченного зерна, приливают 25 см^3 раствора соляной кислоты, тщательно взбалтывают, чтобы не оставалось комочков, снова приливают 25 см^3 той же кислоты, смывая частички муки, приставшие к горлу колбы, все взбалтывают и нагревают колбу 15 минут в кипящей водяной бане. После гидролиза крахмала в колбу приливают 30 см^3 холодной дистиллированной воды, содержимое колбы охлаждают до $20 \text{ }^\circ\text{C}$ и для осаждения белка приливают 10 см^3 раствора желтой кровяной соли с массовой долей $\omega(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 15 \%$. Содержимое колбы доводят дистиллированной водой до метки и фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухую колбу. Совершенно прозрачный фильтрат наливают в поляризационную трубку так, чтобы в ней не оставалось пузырьков воздуха, затем трубку переносят в поляриметр и определяют угол вращения. Содержание крахмала определяют по формуле:

$$X = \frac{\alpha \cdot 100 \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot P \cdot l \cdot (100 - W)} \cdot 100 \cdot 0,3469$$

где X – содержание крахмала, %;

α – угол вращения в градусах;

P – навеска муки, г;

l – длина поляризационной трубки, дм;

W – влажность испытуемого вещества, %;

$[\alpha]_D^{20}$ – удельное вращение декстринов,

0,3469 – величина переводного коэффициента с круглой шкалы

поляриметра на нормальную шкалу сахариметра (одно деление нормальной шкалы равно 0,3469 градуса).

Для каждого оптически активного вещества характерной константой является его удельное вращение. Удельным вращением называется угол вращения, который имеет раствор, содержащий в 100 см^3 100 г вещества при длине трубки 1 дм. Его выражают через $[\alpha]_D^{20}$, где 20 означает температуру раствора, а D – линию спектра (натриевое пламя).

Удельное вращение фракций, полученных из крахмала различных культур, в градусах:

картофеля – 194,5

пшеницы – 182,0

риса – 183,9

ячменя – 181,5

ржи – 184,0

овса – 181,3

Клетчатка (целлюлоза) $(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_{11})_n$, представляет собой наиболее широко распространенный полисахарид растений, состоящий из остатков α -D-глюкозы и образующий главную составную часть клеточных стенок. Основные источники клетчатки – волокно хлопчатника, волокнистые растения (лен, конопля), солома, древесина. В растениях клетчатка тесно связана с лигнином, гемицеллюлозой, пектиновыми веществами, смолами, липидами. Клетчатка нерастворима в воде, в органических растворителях, а также в разбавленных кислотах и щелочах.

7.2. Лабораторная работа № 11. Определение содержания клетчатки

7.2.1 Опыт 1. Определение клетчатки по Кюршнеру и Ганеку

Реактивы и материалы:

- 1) семена растений, смесь (по объему 1:10);
- 2) концентрированная азотная кислота HNO_3 ($\rho = 1,44 \text{ г/см}^3$);
- 3) раствор уксусной кислоты $\omega(\text{CH}_3\text{COOH}) = 80 \%$;
- 4) диэтиловый эфир;
- 5) этиловый спирт.

Ход работы:

Навеску около 1 г крупноизмельченных семян помещают в колбу на 150 см^3 , приливают 40 см^3 смеси кислот; закрыв колбу, нагревают ее на песчаной бане в течение 40 мин. Полученный белый осадок отфильтровывают через предварительно взвешенный фильтр. Осадок промывают небольшими порциями дистиллированной воды и затем 100 см^3 смеси спирта с эфиром. Полученный осадок (клетчатку) высушивают на фильтре до постоянного веса при температуре 105°C . Процентное содержание клетчатки вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(B_1 - B) \cdot 100}{H},$$

где X – содержание клетчатки, %;

B_1 – вес фильтра с сухим осадком, г;

B – вес фильтра без осадка, г;

H – навеска, г.

7.2.2 Опыт 2. Определение содержания клетчатки по методу Геннеберга и Штомана

Реактивы и материалы:

- 1) семена растений, отруби и др;
- 2) раствор серной кислоты $\omega(\text{H}_2\text{SO}_4) = 5 \%$;

3) раствор едкого кали $\omega(\text{KOH})=5\%$.

Ход работы:

2 г испытуемого материала высыпают в стакан емкостью 400 см³, на котором делают метки по 50 см³ (всего 200 см³). Навеску заливают водой до 50 см³, добавляют 50 см³ серной кислоты и воды до 200 см³. По мере выкипания в стакан подливают дистиллированную воду, чтобы общий объем жидкости оставался на уровне 200 см³. Затем жидкость охлаждают и отсасывают через матерчатый фильтр с помощью вакуумного (водоструйного) насоса до 50 см³. Приливают дистиллированной воды до 150 см³ и добавляют 50 см³ раствора едкого калия. Вновь кипятят на плитке в течение 30 мин, после чего заливают холодной дистиллированной водой доверху. Затем жидкость отсасывают до 50 см³ и остаток промывают горячей водой до 150 см³. Обработанный таким образом продукт фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный фильтр. Осадок на фильтре промывают горячей водой до нейтральной среды (по фенолфталеину) и высушивают в термостате при 105°C до постоянной массы (3-4 часа). Расчет содержания клетчатки проводят по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}$$

где X – содержание клетчатки, %;

a – масса фильтра с осадком, г;

b – масса бумажного фильтра, г;

m – масса навески материала, г;

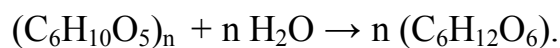
W – влажность материала, %.

7.3 Лабораторная работа № 12. Определение содержания крахмала в колбасных изделия

Принцип метода:

Количественный метод основан на окислении альдегидных групп моносахаридов, образующихся при гидролизе крахмала в кислой среде, двухвалентной медью жидкости Фелинга с образованием осадка закиси меди. Количество невосстановленной меди определяют йодометрическим методом в кислой среде.

Гидролиз крахмала с образованием моносахаридов:



Реактивы и материалы:

- 1) раствор соляной кислоты $\omega(HCl)=10\%$;
- 2) раствор фенолфталеина;
- 3) раствор гидроксида натрия $\omega(NaOH) = 10\%$;
- 4) раствор желтой кровяной соли $\omega (K_4[Fe(CN)_6]) = 15 \%$;
- 5) раствор сульфата цинка $\omega (ZnSO_4) = 30\%$;
- 6) жидкость Фелинга (растворы Фелинг I и Фелинг II);
- 7) раствор иодида калия $\omega (KI) = 30\%$;
- 8) раствор серной кислоты $\omega(H_2SO_4) = 25\%$;
- 9) раствор тиосульфата натрия $C(Na_2S_2O_3) = 0,1$ моль/л;
- 10) раствор крахмала;
- 11) дистиллированная вода.

Оборудование:

- 1) весы технические;
- 2) бюретки;
- 3) мерные колбы 250 см^3 , 100 см^3 , 50 см^3 ;
- 4) химический стакан, 50 см^3 ;
- 5) коническая колба, 250 см^3 , 100 см^3 ;
- 6) воронка;

- 7) стеклянная палочка;
- 8) водяная баня;
- 9) бумажный фильтр;
- 10) пипетки.

Техника:

1 Образец фарша (20 г), взвешенного с точностью до 0,01 г, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³ и приливают небольшими порциями 80 см³ 10 %-го раствора соляной кислоты при постоянном помешивании стеклянной палочкой.

2 Колбу помещают в кипящую водяную баню на 15 минут, периодически помешивая содержимое колбы. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры холодной водой, и содержимое количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³. Объем жидкости доводят дистиллированной водой до метки (попавший в колбу жир должен находиться над меткой). После перемешивания содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр.

3 Фильтрат в количестве 25 см³ вносят в мерную колбу вместимостью 50 см³, добавляют две капли 1 %-го раствора фенолфталеина и нейтрализуют 10%-ым раствором гидроксида натрия до появления от одной капли щелочи розово-малиновой окраски. Сразу же добавляют в колбу по каплям 10 %-й раствор соляной кислоты до исчезновения розово-малиновой окраски и еще две-три капли этой же кислоты для установления слабокислой реакции раствора.

4 Для осветления гидролизата и осаждения белков к раствору в колбе вместимостью 50 см³ пипеткой добавляют 1,5 см³ 15 %-го раствора желтой кровяной соли (гексацианоферрата калия) и 1,5 см³ 30 %-го раствора сульфата цинка. Содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, доводят объем дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр.

5 В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 10 см³ прозрачного бесцветного фильтрата (при контрольном определении 10 см³ дистиллированной воды), добавляют 20 см³ жидкости Фелинга, взбалтывают и кипятят на водяной

бане 5 мин. После кипячения колбу охлаждают холодной водой, доводят объем до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и дают осесть выпавшему осадку закиси меди.

6 В коническую колбу вместимостью 100 – 150 см³ вносят 20 см³ отстоявшейся жидкости, а затем последовательно добавляют мерным цилиндром 10 см³ 30 %-го раствора иодида калия и 10 см³ 25 %-го раствора серной кислоты и сразу же титруют 0,1 М раствором тиосульфата натрия до слабо-желтой окраски. Затем добавляют 1 см³ 1%-ного раствора крахмала и продолжают титрование медленно до полного исчезновения синей окраски раствора. Точно так же титруют контрольный раствор.

7 Затем определяют соответствующую объему тиосульфата массу крахмала (таблица 3) и выражают в граммах.

Таблица 3 - Количество крахмала, соответствующее объёму 0,1 М раствора тиосульфата натрия

Объем раствора, мл	Количество крахмала, мг	Объем раствора, мл	Количество крахмала, мг
1	2	3	4
1	2,8	11	32,3
2	5,6	12	35,4
3	8,4	13	38,6
5	14,2	15	45,0
6	17,1	16	48,3
7	20,1	17	51,6
8	23,1	18	54,9
9	26,1	19	58,2
10	29,2	20	61,6

Расчет. Массовая доля крахмала (%):

$$X = m * 250 * 50 * 100 / (20 * 25 * 10) = m * 250 / 1000,$$

где m - количество крахмала, соответствующее объему 0,1 М раствора тиосульфата натрия (определяют по таблице).

Объем 0,1 М раствора тиосульфата натрия (мл) рассчитывают по формуле

$$V = K(V_0 - V_1)100/20,$$

где K - поправочный коэффициент к раствору тиосульфата натрия;

V_0 и V_1 - объем 0,1 М раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование соответственно контрольного и испытуемого растворов, см³;

100 – разведение гидролизата после кипячения, см³;

20 – объем титруемого раствора, см³.

Рекомендации к составлению протокола:

Результаты титрования и расчетов занести в тетрадь. На основании расчетов сделать вывод о содержании крахмала в колбасных изделиях и соответствии стандарту (ТУ).

7.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 10 – 12

1 Что называют полисахаридами?

2 Какие полисахариды вы знаете?

3 Каковы функции полисахаридов в живой клетке, в частности, в растительной?

4 Что представляет собой крахмал?

5 Какими свойствами обладает крахмал?

6 Какие ферменты участвуют в гидролизе крахмала, и какие при этом образуются продукты?

7 Чем отличаются α -амилаза и β -амилаза?

8 Что относится к пектиновым веществам? Где они используются?

9 Что называют клетчаткой? Каков ее состав?

10 Какова физиологическая роль клетчатки?

11 Чем отличается целлюлоза от крахмала?

8 Витамины

Витамины — низкомолекулярные вещества, относящиеся к различным классам органических соединений. Они условно объединены в одну группу по признаку жизненной необходимости для организма. Витамины — непременные участники важнейших физиологических и биохимических процессов у животных, растений и микроорганизмов. Многие из них входят в состав простетических групп двухкомпонентных ферментов или являются веществами, служащими для синтеза указанных соединений, активируют некоторые ферментные системы.

В основном витамины синтезируются растениями, с которыми главным образом и поступают в организм человека и животных. Некоторые из них образуются симбиотической микрофлорой пищеварительного тракта.

В основу классификации витаминов положена их растворимость. По этому признаку витамины делят на две группы:

- а) витамины, растворимые в жирах и органических растворителях;
- б) витамины, растворимые в воде.

Растворимыми в жирах и органических растворителях являются:

- 1) витамины группы А;
- 2) витамины группы D;
- 3) витамины группы Е;
- 4) витамины группы К;
- 5) непредельные (полиненасыщенные) жирные кислоты, имеющие две и больше двойных связей.

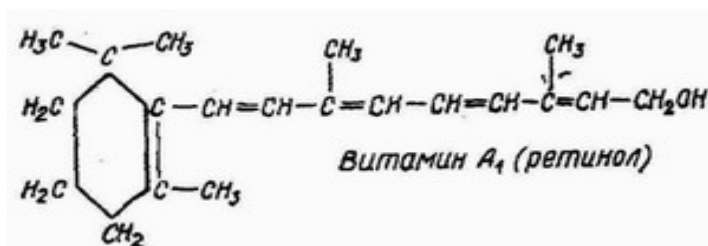
Растворимыми в воде являются:

- 1) витамины группы В: В₁—тиамин, В₂—рибофлавин, РР—никотинамид, В₆—пиридоксин, Н—биотин, пантотеновая и парааминобензойная кислоты, холин, инозит, фолиевая кислота, В₁₂—цианкобаламин, В₁₅ — пангамовая кислота;
- 2) витамин С (аскорбиновая кислота);
- 3) витамин Р (биофлавоноиды).

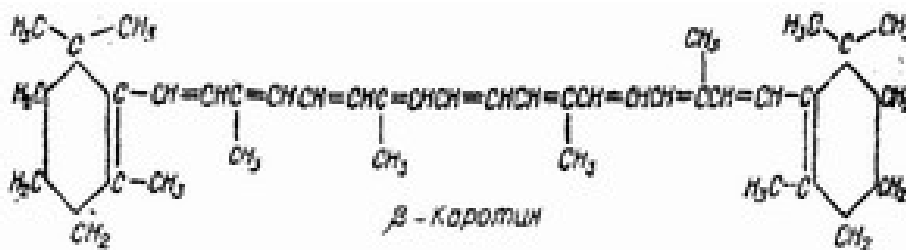
8.1 Витамины группы А

К группе витаминов А относятся несколько веществ, близких по строению и физиологическим функциям.

Витамин А₁ (ретинол) образуется при расщеплении желто-оранжевых пигментов растений — каротиноидов — в печени и слизистой оболочке тонких кишок при участии фермента каротиназы.

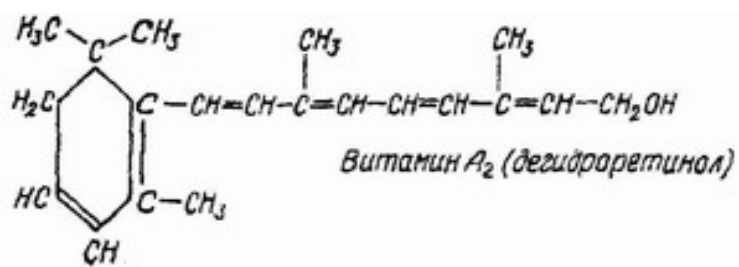


Таким образом, каротиноиды являются провитаминами А. В витамин А₁ превращаются α-, β-, γ-каротины, криптоксантин и некоторые другие каротиноиды. Наиболее активен β-каротин, а состав молекулы которого входят два кольца β-иона:



При расщеплении симметричной молекулы β-каротина освобождаются две молекулы витамина А₁.

Витамин А₂ (дегидроретинол) найден в печени пресноводных рыб. Он отличается от витамина А₁ наличием добавочной двойной связи в кольце β-иона:



8.1.1 Лабораторная работа № 13. Качественная реакция на витамины группы А

Принцип метода:

Под воздействием концентрированной серной кислоты растворы витамина А приобретают сине-фиолетовую окраску, возникновение которой связано с водоотнимающим действием реактива. Окраска является нестойкой и быстро сменяется буровой, вследствие образования липохрома.

Реактивы:

- 1) рыбий жир медицинский. Употребляют только свежий препарат;
- 2) серная кислота, концентрированная ($\rho = 1,836$);
- 3) хлороформ.

Ход работы:

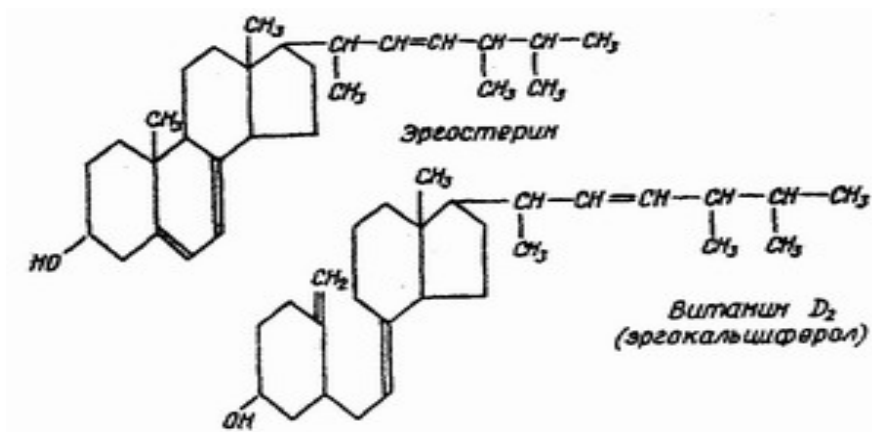
Каплю рыбьего жира растворяют в 20—25 каплях хлороформа, к раствору добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты и встряхивают. Появляется сине-фиолетовое окрашивание, которое вскоре переходит в красновато-бурое и бурое.

8.2 Витамины группы D (кальциферолы)

Витамины группы D являются веществами стероидной природы. Наибольшее практическое значение имеют витамины D₂ (эргокальциферол) и D₃ (холекальциферол).

Витамин D₂ образуется из эргостерина при облучении ультрафиолетовыми лучами. Значительные количества эргостерина найдены в дрожжах и спорынье (содержится также в зеленых растениях). Процесс превращения эргостерина в

эргокальциферол требует затраты тепловой энергии и протекает при температуре около 80° С:



8.2.1 Лабораторная работа № 14. Качественные реакции на витамины группы D

Реакция с анилином.

Реактивы:

- 1) рыбий жир витаминизированный;
- 2) анилин;
- 3) соляная кислота концентрированная.

Ход работы:

К 1 см³ витаминизированного рыбьего жира прибавляют 4—5 см³ анилина и 0,5 см³ концентрированной соляной кислоты. Содержимое пробирки нагревают до кипения и кипятят от 20 до 30 с. Жидкость принимает красную окраску.

Реакция с бромом.

Реактивы:

- 1) рыбий жир витаминизированный;
- 2) раствор брома в хлороформе (1:60).

Ход работы:

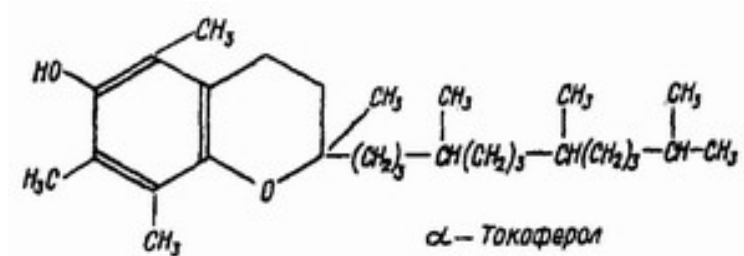
На часовом стекле смешивают 2—3 капли рыбьего жира и 3—4 капли хлороформного раствора брома. Через некоторое время появляется зеленое или зеленовато-голубое окрашивание.

8.3 Витамины группы E (токоферолы)

Общие сведения. К группе витаминов E относятся несколько соединений, в основе строения которых лежит бициклическое ядро хромана, связанное с остатком спирта фитола.



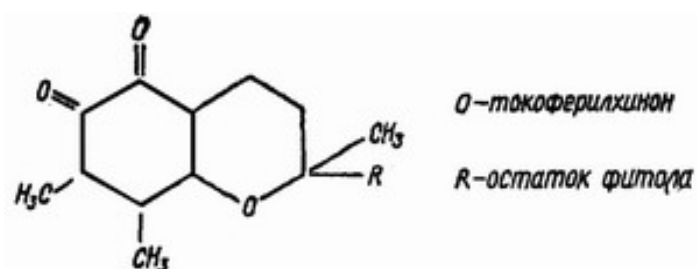
Как видно, хроман состоит из бензольного и пиранового циклов. В зависимости от количества метальных групп и их расположения различают α -, β -, γ -, δ -, ϵ -, ζ - и η -токоферолы. Наибольшей витаминной активностью обладает α -токоферол, у которого бензольное кольцо является полностью замещенным:



8.3.1 Лабораторная работа № 15. Качественная реакция на токоферолы

Принцип метода:

Реакция с азотной кислотой. Реагируя с сильными окислителями, например с концентрированной азотной кислотой, α -токоферол превращается в α -токоферилхинон, который затем образует соединение, окрашенное в красный или желтовато-красный цвет.



Реактивы:

- 1) масляный концентрат витамина Е, 0,15%-ный раствор в абсолютном этиловом или бутиловом спирте;
- 3) азотная кислота концентрированная.

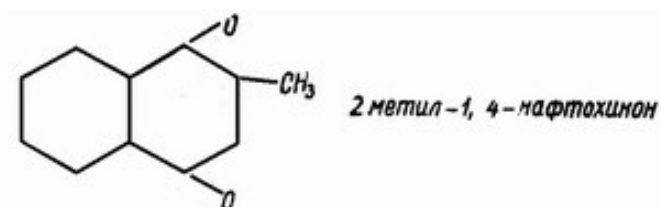
Ход работы:

К нескольким каплям спиртового раствора витамина Е осторожно добавляют 8—10 капель концентрированной азотной кислоты и пробирку слегка встряхивают, через 1—2 мин содержимое пробирки приобретает красное или желтовато-красное окрашивание.

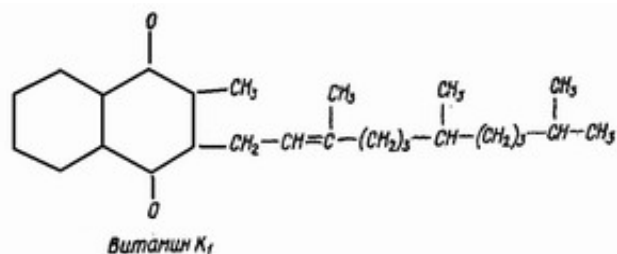
Реакция протекает бурно, поэтому рекомендуется азотную кислоту прибавлять медленно, по стенке пробирки и проводить реакцию в вытяжном шкафу.

8.4 Витамины группы К (филлохиноны)

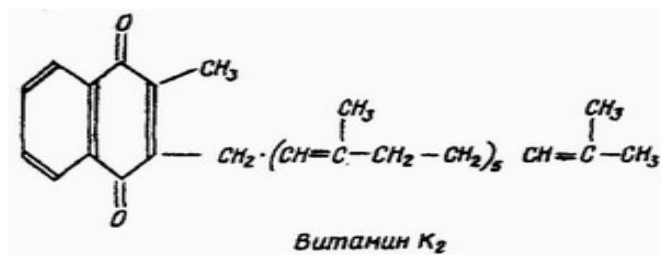
Факторы свертывания крови — витамины группы К - являются производными 2-метил-1,4-нафтохинона:



Витамин К₁ синтезируется в хлоропластах зеленых растений. Составные части его молекулы—2-метил-1,4-нафтохинон и остаток спирта фитола:



Витамин К₂ синтезируется микроорганизмами — симбионтами, находящимися в кишечнике. Выделен он также из гниющей рыбной муки. По химическому строению представляет собой 2-метил-3-дифарнезил-1,4-нафтохинон:

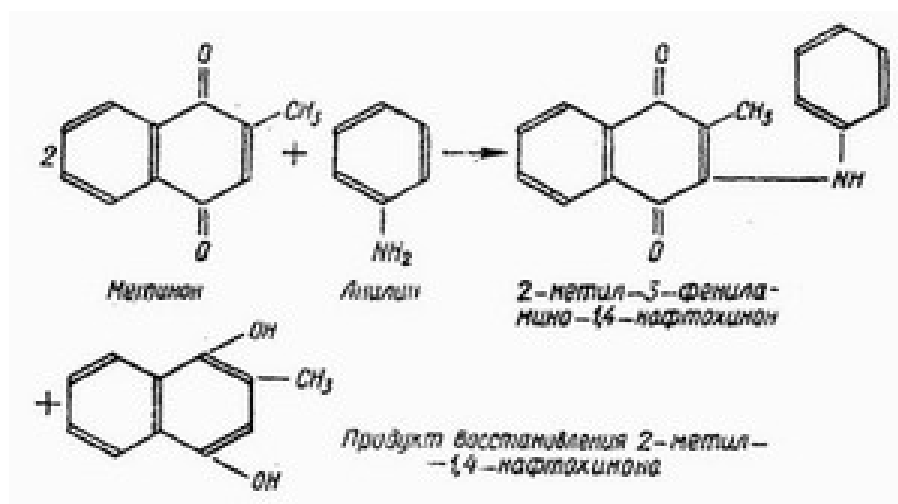


Витаминная ценность витамина К₂ ниже, чем витамина К₁, и составляет примерно 50 % активности последнего.

8.4.1 Лабораторная работа № 16. Качественная реакция на 2-метил-1,4-нафтохинон

Принцип метода:

Реакция с анилином, 2-метил-1,4-нафтохинон (метинон) с анилином образует 2-метил-3-фениламино-1,4-нафтохинон, обладающий красной окраской:



Реактивы:

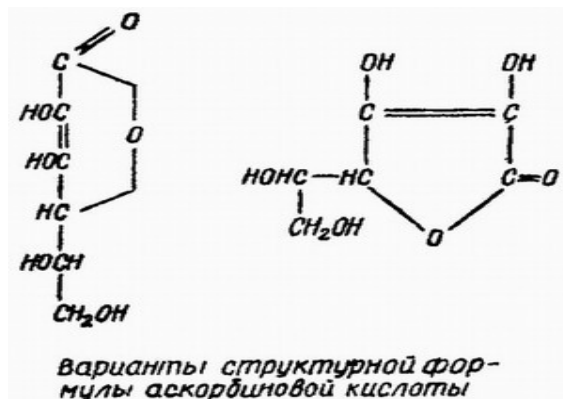
- 1) викасол, 0,1 %-ный водный раствор, или метинон, 0,2 %-ный раствор в этиловом спирте;
- 2) анилин.

Ход работы:

К 1 см³ раствора викасола или метинона добавляют 6—8 капель анилина и взбалтывают. Содержимое пробирки приобретает красную окраску.

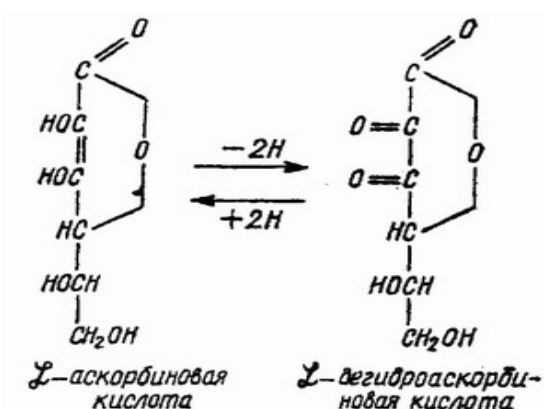
8.5 Витамин С (аскорбиновая кислота)

Антицинготный витамин С — аскорбиновая кислота — по химическому составу является лактоном 2,3-диенол-гулоновой кислоты. Аскорбиновая кислота — окисленное производное шестиатомного спирта сорбита — характерна наличием диенольной группы, которая обуславливает способность витамина С легко подвергаться окислению с одновременным восстановлением других соединений.



Витаминной активностью обладает лишь L-аскорбиновая кислота; D-аскорбиновая кислота физиологически инертна.

L-аскорбиновая кислота — бесцветные кристаллы, легко растворимые в воде, сильно кислого вкуса. Нерастворима в бензоле, хлороформе, диэтиловом эфире, жирах. Водные растворы аскорбиновой кислоты имеют кислую реакцию, Аскорбиновая кислота легко окисляется, образуя дегидроаскорбиновую кислоту, сохраняющую витаминную ценность:



Витамин С принимает участие во многих ферментативных реакциях, являясь активатором или ингибитором ряда энзиматических систем.

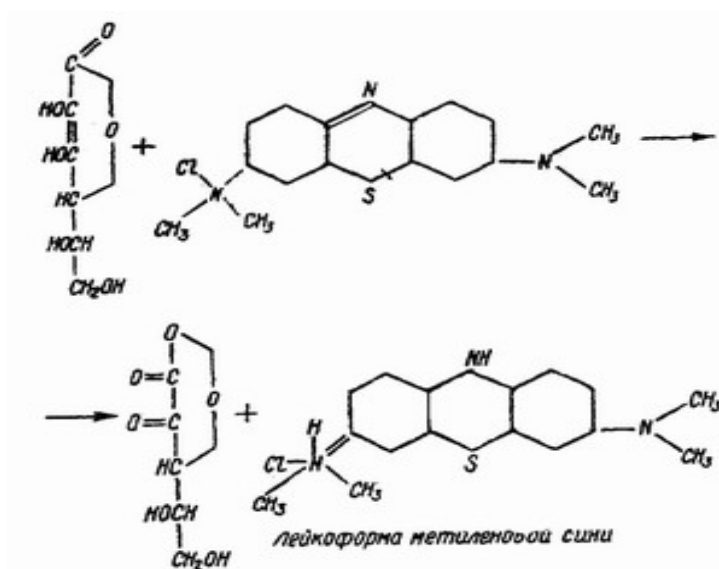
8.5.1 Лабораторная работа № 17. Исследование восстанавливающих свойств аскорбиновой кислоты

Принцип метода:

Легко вступая в окислительно-восстановительные реакции, аскорбиновая кислота восстанавливает метиленовую синь, 2,6-дихлорфенолиндофенол, железосинеродистый калий, азотнокислое серебро и другие вещества. Это свойство положено в основу качественных реакций на витамин С.

Опыт 1. Реакция с метиленовой синью.

Аскорбиновая кислота на свету восстанавливает метиленовую синь в бесцветное соединение (лейкоформу), окисляясь в дегидроаскорбиновую кислоту.



Реактивы:

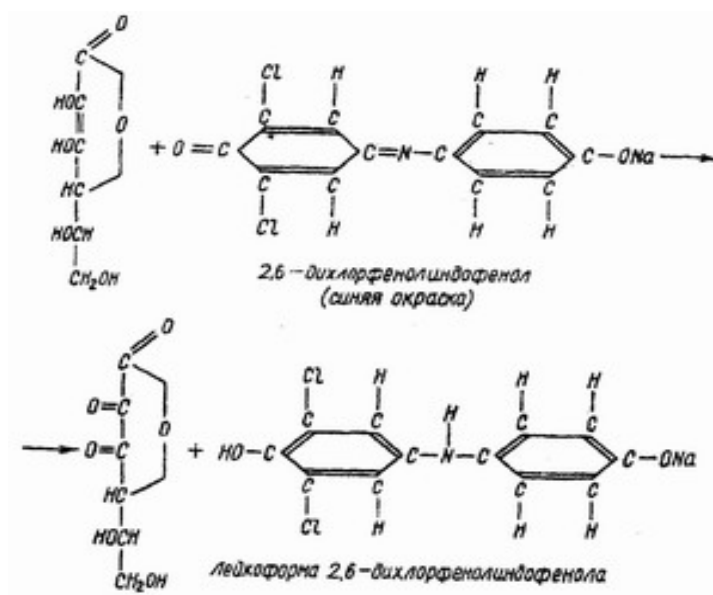
- 1) сок картофеля или капусты;
- 2) метиленовая синь. 0,01%-ный раствор;
- 3) натрий углекислый, 5%-ный раствор.

Ход работы:

К 1 см³ свежееотжатого сока картофеля или капусты добавляют 1 — 2 капли раствора метиленовой сини и 2 — 3 капли раствора соды. Пробирку слегка подогревают. Наблюдают обесцвечивание синей окраски.

Опыт 2. Реакция с 2,6 -дихлорфенолиндофенолом.

Аскорбиновая кислота окисляется 2,6-дихлорфенолиндофенолом в дегидроаскорбиновую кислоту, а сам реактив восстанавливается при этом в бесцветное соединение (лейкоформу):



Реактивы:

- 1) сок капусты или картофеля;
- 2) 2,6-дихлорфенолиндофенол, натриевая соль, 0,001 н раствор;
- 3) соляная кислота, 2%-ный раствор.

Ход работы:

В пробирку наливают 1 см³ сока капусты или картофеля, прибавляют 3 — 4 капли 2 %-ного раствора соляной кислоты и по каплям раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола. Реактив будет обесцвечиваться до тех пор, пока вся аскорбиновая кислота не окислится в дегидроаскорбиновую, после чего первая же капля раствора окрасит жидкость в розовый цвет, так как 2,6-дихлорфенолиндофенол уже не восстанавливается.

8.5.2 Лабораторная работа № 18. Количественное определение витамина С в молоке

Принцип метода:

Метод основан на титровании пробы в кислой среде раствором соли

2,6-дихлорфенолиндофенола без предварительного осаждения белков.

Реактивы:

- 1) молоко;
- 2) 2,6-дихлорфенолиндофенол, натриевая соль, 0,001 н раствор;
- 3) соляная кислота, 2 %-ный раствор.

Ход работы:

10 см³ молока разводят дистиллированной водой в 3 раза. 10 см³ разведенного молока вносят пипеткой в коническую колбу на 25-50 см³, куда заранее наливают 1 см³ 2 % раствора соляной кислоты и доводят дистиллированной водой до объема 15 см³. Затем взбалтывают содержимое колбы, титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления слабо-розового окрашивания.

Для слепого опыта берут 2 % раствор соляной кислоты в таких количествах, как указано выше, и вместо молока добавляют воду. Количество краски, пошедшей на титрование при слепом опыте, вычисляют из количества краски, которой было израсходовано на титрование молока. Расчет: содержание витамина С в молоке рассчитывают по формуле:

$$X_{мг\%} = \frac{B \cdot K \cdot C \cdot 0.038 \cdot 100}{10},$$

где B - объем краски в мл, пошедшее на титрование молока, за вычетом поправки на слепой опыт;

K - поправка на титр краски;

C - число, выражающее разведенное молоко (например, при разведении молока 1:2 - разведение равно 3);

0,038 - число мг аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 см³, затраченному на титрование (точно) 0,001 н раствора натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола; 10 - объем молока, в см³, взятое для титрования 100 - пересчет в мг %.

8.6 Открытие витаминов в витаминных препаратах

8.6.1 Лабораторная работа № 19. Качественное определение витамина В₁

Принцип метода:

Реакция обусловлена образованием сложного соединения тиамин с диазобензосульфокислотой, что и обуславливает появление оранжевой (красной) окраски раствора.

Реактивы:

- 1) 1 % раствор гидрокарбоната натрия;
- 2) диазореактив;
- 3) 5 % раствор тиамин.

Ход работы.

В пробирку наливают 5 капель 1 % раствора гидрокарбоната натрия, добавляют к нему 10 капель диазореактива. Через минуту приливают 1 каплю 5 % раствора тиамин. Жидкость окрашивается в оранжевый или красный цвет.

8.6.2 Лабораторная работа № 20. Качественное определение витамина Р

Принцип метода:

С рутином образуется комплексное соединение, имеющее зеленый цвет.

Реактивы:

- 1) раствор рутина;
- 2) 3 % раствор хлорида железа.

Ход работы:

В пробирку наливают 5 капель насыщенного раствора рутина и добавляют 2 капли 3 % раствора хлорида железа. Наблюдается зеленое окрашивание.

8.7 Вопросы к защите лабораторных работ № 13-20.

- 1 История открытия витаминов.
- 2 Классификация и номенклатура витаминов. Витаминоподобные вещества.
- 3 Функции витаминов. Источники поступления в организм.
- 4 Значение витаминов.
- 5 Водорастворимые витамины, функции, содержание в продуктах питания.
- 6 Жирорастворимые витамины, функции, содержание в продуктах питания.

Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины

Основная

- 1 Гидранович, В.И. Биохимия [Электронный ресурс]: учебное пособие/ В.И. Гидранович, А.В. Гидранович.- Электрон. текстовые дан.- Минск: ТетраСистемс, 2010.- Режим доступа: [http://www. biblioclub.ru / book/ 78408/](http://www.biblioclub.ru / book/ 78408/).
- 2 Комов, В.П. Биохимия [Электронный ресурс]: учебное пособие/ В.П. Комов, В.Н. Шведова.- Электрон. текстовые дан.- М.: Дрофа, 2008.- Режим доступа: <http://www. biblioclub.ru / book/ 53454/>.
- 3 Казаков, Е.Д. Биохимия зерна и продуктов его переработки /Е.Д. Казаков, В.Л. Кретович.-М.:Агропромиздат,1989.- 368 с.
- 4 Плешков, Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений /Б.П. Плешков.- М.:Агропромиздат,1987.- 494 с.
- 5 Биохимия растительного сырья /В.Г. Щербаков [и др.]-М.: Колос, 1999.- 376 с.
- 6 Хорунжина, С.И. Биохимические и физико-химические основы технологии солода и пива \ С.И. Хорунжина. - М.: Колос, 1999.- 312 с.

Дополнительная

- 1 Комаров, О.С. Химия белка/ О.С. Комаров, А.А. Терентьев. -М.: Просвещение, 1984.- 232 с.
- 3 Вакар, А.Б. Клейковина пшеницы/ А.Б. Вакар.- М.: Издательство АН

СССР, 1961.- 220 с.

5 Степаненко, Б.Н. Химия и биохимия углеводов. Моносахариды/ Б.Н. Степаненко.-М.: Высшая школа, 1977.- 222 с.

6 Нечаев, А.П., Органическая химия / А.П. Нечаев, Т.В. Ерёменко. -М.: Высшая школа, 1985.- 464 с.

7 Степаненко, Б.Н. Химия и биохимия углеводов. Полисахариды/ Б.Н. Степаненко.-М.: Высшая школа, 1977.- 224 с.

8 Ауэрман, Л.Я. Технология хлебопекарного производства/ Л.Я. Ауэрман.- СПб.: Профессия, 2003.- 416 с.

Список использованных источников

1 Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. -М.: Колос, 1986.- 325 с.

2 Практикум по общей биохимии: практикум/ Ю.Б. Филиппович [и др.]. -М.: Просвещение, 1982.- 311 с.

3 Плешков, Б.П., Практикум по биохимии растений/ Б.П. Плешков. - М.: Колос, 1985.- 255 с.

4 Коренман, Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: практикум/ Я.И. Коренман.- Воронеж: Воронежская гос. технол. академия, 2002.- 408 с.

5 Владимирова Е.Г., Кушнарёва О.П. Биохимия. Методические указания к лабораторному практикуму. - Оренбург, ИПК ГОУ ОГУ, 2010.- 60с.