

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра пищевой биотехнологии

Х. Б. ДУСАЕВА

# **ОСНОВЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ**

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ЛАБОРАТОРНОМУ ПРАКТИКУМУ

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом  
государственного образовательного учреждения  
высшего профессионального образования  
«Оренбургский государственный университет»

Оренбург 2006

УДК 62:57 (076.5)

ББК 30.16 я 73

Д 85

Рецензент

доктор сельскохозяйственных наук, профессор О.В. Богатова

**Дусаева Х. Б.**

**Д 85**

**Основы современной биотехнологии: методические указания к лабораторному практикуму/ Х.Б.Дусаева. – Оренбург: РИК ГОУ ОГУ, 2006. – 43 с.**

Лабораторный практикум состоит из 9 лабораторных работ по анализу пищевого сырья и готовой продукции. Каждая работа включает теоретическое изложение материала, описание методики проведения опытов и задания.

Методические указания предназначены для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Основы современной биотехнологии» для студентов четвертого курса специальностей 260204, 260505.

ББК 30.16 я 73

© Дусаева Х.Б., 2006

© РИК ГОУ ОГУ, 2006

## **Содержание**

|  |    |
|--|----|
| 1 Лабораторная работа № 1 Изучение метода накопительных культур для выделения микроорганизмов разных физиологических групп .....   | 4  |
| 2 Лабораторная работа №2 Исследование влияния продолжительности брожения теста на показатели качества готового хлеба.....  | 7  |
| 3 Лабораторная работа №3 Ускоренный метод определения качества дрожжей.....  | 11 |
| 4 Лабораторная работа №4 Молоко как сырье для биотехнологических процессов .....   | 17 |
| 5 Лабораторная работа № 5 Изучение биотехнологических основ приготовления сыра.....  | 23 |
| 6 Лабораторная работа №6 Изучение процесса брожения при производстве кисломолочных продуктов. Кинетика нарастания кислотности.....   | 27 |
| 7 Лабораторная работа № 7 Изучение изменения структурных элементов клеток – клеточных стенок, цитоплазмы, мембран, ядер, происходящих в процессе тепловой обработки продуктов..... | 31 |
| 8 Лабораторная работа №8 Исследование влияния состава посолочных смесей на органолептические показатели и выход мясопродуктов .....  | 34 |
| 9 Лабораторная работа №9 Оценка качества муки.....   | 38 |
| Список использованных источников.....  | 42 |
| Приложение А.....  | 43 |

# **1 Лабораторная работа № 1 Изучение метода накопительных культур для выделения микроорганизмов разных физиологических групп**

## **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Картофель, мел, стерильное молоко, кефир.
2. Концентрированная серная кислота, 96 % этиловый спирт, 5 % раствор хлорного железа, синька Лефлера.
3. Пробирки, термостат, термометр, микроскопы, предметные стекла, чашки Петри, ватные пробки, электрическая плита.

Основа современного биотехнологического производства – микробиологический синтез, то есть синтез различных веществ с помощью микроорганизмов.

Для выделения микроорганизмов определенных физиологических групп Бейеринком, Виноградским предложена техника так называемых «накопительных культур». Техника накопительных культур основана на использовании элективных методов культивирования, т.е. создания таких условий при культивировании (наличие определенного источника углерода и энергии, азота, рН, освещенности, концентрации элементов питания и др.), которые будут благоприятны для развития микроорганизмов определенной физиологической группы, а другие организмы в этих условиях не могут размножаться или их рост будет весьма незначителен.

Так, подбирая определенный состав питательной среды и параметры культивирования и инокулируя среду какими-либо природными субстратами (почва, вода, ил) или техногенными (сточные воды и т.п.), содержащими разнообразные микроорганизмы, можно получить накопительную культуру микроорганизмов, характеризующихся определенными физиолого-биохимическими свойствами, например, способных окислять определенные органические субстраты, развиваться при определенном рН и температуре, способных фиксировать азот атмосферы и окислять неорганические соединения и др. в результате преимущественного развития микроорганизмов, приспособленных к данным условиям. Последовательные частые пересевы на такую же элективную жидкую среду предотвращают рост сопутствующих микроорганизмов, которые могли бы использовать продукты метаболизма или даже автолиза первичной культуры и, таким образом, позволяют получить обогащенную накопительную культуру.

При получении накопительных культур лучшим материалом для инокуляции служат субстраты, в которых происходит естественное «обогащение». Так,

например, для выделения микроорганизмов, способных использовать органические соединения, загрязняющие сточные воды химических производств, - пробы

сточных вод этих же производств или почвы, загрязненные этими стоками; для выделения микроорганизмов, окисляющих нефтепродукты, - это почвы, загрязненные нефтью и т. д.

О получении накопительной культуры судят визуально, по проявлению признаков роста микроорганизма: помутнению среды, появлению пленки, осадка, пигментов, выделению газообразных веществ и т. д.

Из накопительных культур выделяют чистую культуру микроорганизмов.

### **Получение накопительной культуры *Bacillus subtilis* var. *mesentericus* (картофельной палочки)**

Картофельная палочка широко распространена в природе, особенно на картофеле, куда она попадает из почвы. Картофельная палочка образует очень стойкие центральные споры, которые выдерживают нагревание при 100 °C в течение 6 ч.

*Накопительную культуру картофельной палочки* получают следующим образом: очищенный картофель нарезают ломтиками, помещают в чашки Петри и прогревают 10 мин при 100 °C в стерилизаторе (инактивируются все вегетативные клетки микроорганизмов), после чего помещают в термостат на 2-3 дня при 25-30 °C.

На картофеле прорастают споры и образуется крепкая морщинистая пленка, при микроскопировании которой видны подвижные палочки длиной до 4-5 мкм, часто соединенные в цепочки.

### **Получение накопительной культуры маслянокислых бактерий**

Маслянокислые бактерии сбраживают углеводы (глюкозу, сахарозу, крахмал) с образованием масляной кислоты. Кроме масляной кислоты образуется некоторое количество уксусной кислоты, водорода, углекислоты.

Маслянокислые бактерии строгие анаэробы, поэтому при их культивировании необходимо создавать условия, которые обеспечивают отсутствие кислорода.

*Накопительную культуру маслянокислых бактерий* получают следующим образом: в пробирку емкостью 50 мл помещают несколько кусочков неочищенного картофеля, четверть чайной ложки мела, заливают водопроводной водой (расстояние до пробки 2-3 см), закрывают ватной пробкой и пастеризуют при 80 °C в течение 10 мин в водяной бане, после чего помещают в термостат при 37 °C. Через 1-2 суток в жидкости на дне пробирки при микроскопировании обнаруживается большое количество подвижных палочек. Отличительной особенностью маслянокислых бактерий является их способность накапливать в клетках запасное вещество – гранулезу, а также образовывать споры. При спорообразовании клетки утолщаются либо в середине (клостридиальный тип), либо на конце клетки (плектридиальный тип). После созревания спор гранулеза в клетках исчезает.

После 5-6 дней культивирования анализируют накопительную культуру. Для приготовления микроскопического препарата культуральную жидкость с микроорганизмами берут пипеткой со дна пробирки, вблизи ломтиков картофеля.

Для обнаружения в культуральной жидкости масляной кислоты проводят две качественные реакции:

1. В сухую чистую пробирку вносят 3-5 мл культуральной жидкости, взятой из середины пробирки с накопительной культурой. Добавляют 1-2 мл 5 % раствора хлорного железа. Слегка подогревают. Наблюдают появление кирпично-бурого окрашивания из-за образования маслянокислого железа.
2. В сухую чистую пробирку вносят 3-5 мл культуральной жидкости, взятой из середины пробирки с накопительной культурой. Добавляют 1-2 мл 96 % этилового спирта, 1 мл концентрированной серной кислоты. После охлаждения пробирки обнаруживают ананасный запах образовавшегося масляно-этилового эфира.

#### **Получение накопительной культуры молочнокислых бактерий**

Общим признаком молочнокислых бактерий является способность осуществлять сбраживание углеводов (моно- и дисахаридов) с образованием молочной кислоты (молочнокислое брожение).

Инокулянтом для получения накопительных культур молочнокислых бактерий могут служить кисломолочные продукты.

*Получение накопительной культуры молочнокислых бактерий:* В качестве питательной среды используют стерильное молоко. В пробирку со стерильным молоком вносят 1 мл кислого молока или другого молочнокислого продукта. Пробирку с посевом и контрольную (со стерильным молоком) ставят в термостат при 30-32 °С. Через 24 ч проводят микроскопирование препарата фиксированных клеток, приготовленного из культуральной жидкости. Учитывая особенность субстрата (молока), препарат фиксированных клеток готовят следующим образом: на предметное стекло из пробирки наносят каплю культуральной жидкости, которую равномерно размазывают покровным стеклом. Мазок высушивают на воздухе, фиксируют и одновременно обезжиривают смесью спирта и эфира (1:1) в течение 10 мин, а затем наносят непосредственно на мазок. После испарения смесь наливают повторно. Высушенный мазок окрашивают синькой Лефлера.

#### **Задание:**

1. Получить накопительную культуру картофельной палочки. Описать характер роста. Приготовить препарат фиксированных клеток и промикроскопировать. Зарисовать.
2. Получить накопительную культуру молочнокислых бактерий из кислого молока или кефира. Описать характер роста. Приготовить препарат фиксированных клеток. Промикроскопировать и зарисовать.
3. Получить накопительную культуру маслянокислых бактерий. Описать характер роста. Приготовить и промикроскопировать препарат фиксированных клеток. Зарисовать.

#### **Вопросы к защите лабораторной работы № 1**

1. Что является основой техники «накопительных культур»?
2. Получение накопительной культуры маслянокислых бактерий.

3. Получение накопительной культуры молочнокислых бактерий.
4. Получение накопительной культуры картофельной палочки.

## **2 Лабораторная работа №2 Исследование влияния продолжительности брожения теста на показатели качества готового хлеба**

### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Мука, соль, дрожжи, растительное масло, марля.
2. 0,1 н. раствор NaOH или 0,1 н. раствор KOH, фенолфталеин.
3. Колбы вместимостью 100-150 мл, пипетки, стеклянные палочки, стаканы, бутылка вместимостью 500 мл, весы, бюксы, сушильный шкаф, эксикатор, формы для выпечки хлеба.

Основой современного хлебопекарного производства является биотехнология, базирующаяся на достижениях биохимии, молекулярной биологии, микробиологии, химической технологии, генной инженерии и генетики.

Важнейшей особенностью биотехнологических процессов является то, что реакции образования или разрушения осуществляются с помощью живых микроорганизмов, которые потребляют из окружающей среды вещества, растут, размножаются и выделяют продукты метаболизма. В основе биотехнологии хлебопекарного производства лежат реакции обмена веществ, происходящие при жизнедеятельности дрожжевых клеток, молочнокислых бактерий и других микроорганизмов в анаэробных условиях.

Традиционный процесс производства хлеба можно условно разделить на три этапа, которые характеризуются определенными особенностями.

Первый этап – замес теста – непродолжительный этап, в значительной степени обуславливающий процессы созревания теста и качество хлеба.

При замесе теста протекают в основном коллоидные процессы, гидратация клейковинных белков, переход в раствор альбуминов, глобулинов и растворимых углеводов. Формируется непрерывная структура теста, образуется белковый каркас, включающий нерастворимые компоненты муки.

С добавлением воды в тесто начинаются гидролитические и окислительные процессы под влиянием ферментных систем сырья.

Второй этап- брожение теста, занимающее около 90 % всей продолжительности процесса приготовления хлеба по традиционной технологии. Основные процессы, протекающие при брожении теста, связаны с жизнедеятельностью бродильных организмов – дрожжевых грибов и молочнокислых бактерий.

Цель брожения – это разрыхление теста, придание ему определенных физических свойств, необходимых для последующих операций, а также накопление веществ, обуславливающих аромат, вкус, окраску хлеба.

В процессе брожения теста происходят микробиологические (спиртовое, молочнокислое брожение), биохимические и коллоидные процессы.

Третий этап – выпечка хлеба, завершающая весь цикл происходящих при замесе и брожении изменений свойств теста.

Биотехнология приготовления хлеба имеют следующие особенности: процесс приготовления хлеба является многостадийным, основные этапы которого имеют различные оптимальные параметры и факторы, влияющие на направленность биохимических и микробиологических процессов; нестабильные свойства и состав основного и дополнительного сырья хлебопекарного производства; сложность и в большинстве случаев неопределенность химического состава муки.

Приготовление теста – важная стадия хлебопекарного производства. В процессе приготовления теста стремятся создать наилучшие условия для накопления продуктов брожения, которые в конечном итоге определяют качество хлеба, его вкус и аромат. Обязательными составными частями пшеничного теста любого сорта хлеба являются мука, вода, соль и дрожжи. При приготовлении многих сортов хлебобулочных изделий добавляют сливочное масло, маргарин, растительное масло, сахар, ванилин, изюм, и т.д. Тесто готовят однофазным и многофазным способами. При многофазном способе тесто замешивают на предварительно приготовленном полуфабрикате, закваске, опаре. По влажности закваска или опара бывает густой (влажность до 60 %) и жидкой (влажностью 60 % и выше).

Традиционными способами приготовления пшеничного теста являются - опарный и безопарный. При опарном способе тесто готовят в две стадии: приготовление опары и приготовление теста.

Для опары берут часть муки, до  $\frac{2}{3}$  воды и все количество дрожжей. Соль в опару обычно не вносят. По консистенции опара более жидкая, чем тесто. Длительность ее брожения 3,5-4 ч. На готовой опаре замешивают тесто, добавляя оставшуюся муку, воду, соль. Брожение теста длится 1-1,5 ч.

Безопарный способ является однофазным. При приготовлении этим способом тесто замешивают из всего количества муки, воды, соли, дрожжей и дополнительного сырья.

Опарный способ приготовления теста применяется чаще, чем безопарный, поскольку дает хлеб лучшего качества, в результате глубокого созревания хлеба. Несмотря на то, что опарный способ требует большие затраты времени и производственных площадей применение его оправдано лучшим качеством производимого продукта, меньшим количеством дрожжей и большей технологической гибкостью, позволяющих учитывать хлебопекарные свойства муки.

**Органолептическая оценка качества хлеба.** К органолептическим показателям относят форму хлеба; окраску и состояние его корок; вкус, запах; толщину корок; состояние мякиша по промесу, пористости, эластичности,

свежести; наличие или отсутствие хруста от минеральных примесей. При характеристике внешнего вида осматривают весь средний образец хлеба и отмечают симметричность и правильность его формы и характер корок хлеба (цвет, толщина корок, отсутствие или наличие отслоения корок от мякиша).

**Цвет корок:** бледная, золотисто-желтая, светло-коричневая, коричневая, темно-коричневая.

**Поверхность корок:** гладкая, неровная с трещинами или подрывами. Трещинами считаются разрывы, проходящие через верхнюю корку в одном или нескольких направлениях. Подрывами считаются разрывы между боковой и верхней коркой (у подового) или боковой и нижней коркой (у формового) хлеба.

Характер мякиша хлеба определяется его цветом, структурой пористости и эластичностью. Цвет мякиша рекомендуется определять при дневном освещении.

**Цвет мякиша:** белый, серый, темный с различными оттенками.

**Пористость мякиша хлеба:** по крупности – мелкая, средняя, крупная;

по равномерности – равномерная, неравномерная;

по толщине стенок пор – тонкостенная, средняя, толстостенная.

**Эластичность мякиша хлеба** определяют легким надавливанием на него пальцами. Если мякиш оказывает сильное сопротивление нажатию пальцем и мало при этом деформируется, то его характеризуют как плотный или уплотненный. Мякиш, который легко вдавливается и быстро восстанавливается, не оставляя следа, характеризуется как очень эластичный. Мякиш, легко поддающийся нажатию пальцем, но не восстанавливающий своей первоначальной структуры, считается неэластичным или недостаточно эластичным.

**Вкус** хлеба может быть нормальным, кислым, пресным, горьковатым, с посторонним, не характерным для данного вида изделия, привкусом.

#### **Физико-химические показатели хлеба.**

**Влажность хлеба.** Определение влажности хлеба необходимо не только для расчета его выхода, но и для проверки правильности ведения технологического процесса (дозировки основного сырья – муки и воды).

Подготовленные пробы тщательно измельчают, взвешивают в заранее высушенных и взвешенных бюксах с крышками две навески по 5 г.

Помещают в открытых бюксах в сушильный шкаф с терморегулятором. Температура в шкафу при этом быстро падает, ниже 130 °С. В течение 10 мин ее доводят до 130 °С, при этой температуре продолжают высушивание в течение 40 мин. Если необходимая температура 130 °С в сушильном шкафу устанавливается за 1-2 мин, рекомендуется проводить высушивание в нем в течение 50 мин с момента помещения проб в шкаф. После высушивания бюксы вынимают, закрывают крышками и переносят в эксикатор для охлаждения на 15-20 мин. Охлажденные бюксы снова взвешивают и по разности между массой до и после высушивания определяют количество испарившейся воды из 5 г хлеба.

**Кислотность хлеба.** По этому показателю можно судить о правильности ведения технологического процесса приготовления хлеба, так как кислотность в основном

обуславливается наличием в хлебе продуктов, получаемых в результате спиртового и молочнокислого брожения в тесте. Кислотность выражается в градусах. Под градусами кислотности понимают количество миллилитров нормального раствора едкого натра или едкого калия, необходимых для нейтрализации кислот, содержащихся в 100 г хлебного мякиша. Согласно стандартам максимальная норма кислотности для отдельных сортов хлеба из ржаной муки колеблется в пределах 9-12 градусов, а для хлеба из пшеничной муки – 2-6.

*Определение кислотности хлеба.* 25 г измельченного мякиша помещают в сухую бутылку (типа молочной) вместимостью 500 мл с хорошо пригнанной пробкой. Мерную колбу вместимостью 250 мл наполняют до метки водой комнатной температуры. Около  $\frac{1}{4}$  взятой воды переливают в бутылку с хлебом, который после этого быстро растирают деревянной лопаткой или стеклянной палочкой с резиновым наконечником до получения однородной массы, без заметных комочеков нерастертого хлеба. К полученной смеси приливают из мерной колбы всю оставшуюся воду. Бутылку закрывают пробкой, смесь энергично встряхивают в течение 2 мин, оставляют в покое при комнатной температуре на 10 мин. Затем смесь снова энергично встряхивают в течение 2 мин, оставляют в покое на 8 мин. По истечении 8 мин отстоявшийся жидкий слой осторожно сливают через сито или марлю в сухой стакан. Из стакана отбирают пипеткой по 50 мл раствора в две конические колбы вместимостью по 100-150 мл и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия или едкого калия с 2-3 каплями фенолфталеина до получения слабо-розового окрашивания, не исчезающего при спокойном стоянии колбы в течение 1 мин.

**Задание:** Рассчитать рецептуру и произвести замес теста опарным и безопарным способом трех образцов теста. Масса муки на один образец принять равной 200-300 г, количество дрожжей – 2-3 г, соли - 1,5-2 г. Количество воды, необходимой для замеса теста (в мл) рассчитать по

следующей формуле:

$$Gb = \frac{G \Psi(W - w)}{(100 - W)}, \quad (2.1)$$

где G – суммарная масса сырья, рекомендуемого на приготовление теста, г;

W – влажность теста, %;

w – средневзвешенная влажность сырья, %.

Средневзвешенную влажность сырья определяют по формуле:

$$W_c = \frac{(C \Psi_w + Q \Psi_c + S \Psi_s)}{G} \quad (2.2)$$

где C, Q, S – количество муки, соли, дрожжей, расходуемого на приготовление теста, г;

W – влажность муки, %;

c – влажность соли, %;

s - влажность дрожжей, %.

Выход теста (%) определяют по следующей формуле:

$$B = \frac{M \cdot 100}{m} , \quad (2.3)$$

где М – масса теста, г;

м – масса муки, г.

Соль, дрожжи предварительно растворить в небольшом количестве воды, предназначеннной для замеса теста. Сразу после замеса теста образцы поместить в термостат с температурой 30 °С. Продолжительность брожения теста первого образца – 30 мин, второго – 60 мин, третьего – 90 мин. По окончании установленной продолжительности брожения образцы уложить в смазанные растительным маслом формы для выпечки, а затем поместить в термостат при температуре 30 °С для 30-минутной расстойки, выпечь в печи при температуре 200-230 °С в течение 20-30 мин.

После выпечки хлеба провести оценку каждого образца по органолептическим (цвет, поверхность корок, цвет, эластичность, пористость мякиша хлеба) и физико-химическим (влажность, кислотность хлеба) показателям, определить величину упека.

Величину упека определяют по формуле:

$$B = \frac{(M - x) \cdot 100}{M} , \quad (2.4)$$

где М – масса теста, кг;

х – масса хлеба, кг.

Сделать выводы о влиянии продолжительности брожения теста на свойства и качество готового хлеба.

### **Вопросы к защите лабораторной работы №2**

1. Какие способы приготовления теста вы знаете?
2. В чем отличие опарного способа от безопарного способа приготовления теста?
3. Как проводится органолептическая оценка хлеба?
4. Как определяют влажность хлеба?
5. Как определяют кислотность хлеба?
6. Определение величины упека.
7. Как рассчитывают средневзвешенную влажность сырья?
8. Как рассчитывают количество вносимой при замесе теста воды?

## **3 Лабораторная работа №3 Ускоренный метод определения качества дрожжей**

### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Дрожжи, дистиллированная вода, пшеничная мука второго сорта.

2. 0,1 н. раствор NaOH, , 1 % раствор фенолфталеина, 3,35 % раствор поваренной соли.
3. Эксикатор, весы, фарфоровые чашки, стеклянные палочки, колбы вместимостью 100 мл, стаканы вместимостью 200-250 мл, термометр, термостат, электрическая плитка, сушильный шкаф.

Дрожжи хлебопекарные являются основным видом сырья для производства хлебобулочных изделий. Технологическая и функциональная роль дрожжей заключается в биологическом разрыхлении теста диоксидом углерода, выделяющимся в процессе спиртового брожения, придании тесту определенных реологических свойств, а также образовании этанола и других продуктов реакции, участвующих в формировании вкуса и аромата хлебных изделий. Для приготовления хлебобулочных изделий применяются хлебопекарные прессованные, сущеные, инстантные (быстро растворимые) дрожжи, дрожжевое молоко, жидкие заквасочные дрожжи.

Прессованные дрожжи – технически чистая культура дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, сформированная в брикеты влажностью 65-75 %.

Процесс производства прессованных дрожжей сводится к размножению дрожжевых клеток в строго определенных условиях в разведенном паточном сусле, отделению дрожжевых клеток с помощью сепараторов от бражки, прессованию и формовке в бруски различной массы. В 1 г прессованных дрожжей содержится около 15 млрд. дрожжевых клеток.

Сущеные дрожжи – это высушенные до влажности 8-10 % при определенных условиях прессованные дрожжи, применяются после предварительной регидратации.

Быстро растворимые (инстантные) дрожжи – высокоактивные сущеные дрожжи, не требующие регидратации перед внесением в тесто, приготовленные на основе определенных штаммов сахаромицетов с использованием современных условий культивирования, методов высушивания и защитных добавок и/или эмульгаторов. Влажность быстро растворимых дрожжей – 4 %.

Дрожжевое молоко (сепарированные дрожжи) – дрожжевая суспензия концентрацией 400-450 г/л, полученная после сепарации и используемая взамен прессованных дрожжей.

Жидкие дрожжи – специально приготовленный на хлебозаводе полуфабрикат на основе осахаренной заварки, заквашенной термофильтральными молочнокислыми бактериями, с последующим выращиванием на ней дрожжей вида *Saccharomyces*. Жидкие дрожжи используются в качестве биологического разрыхлителя теста или как средство улучшения качества хлеба. В одном миллилитре жидких дрожжей содержится 70-120 млн. клеток.

Эффективность применения различных видов дрожжей определяется знанием основных закономерностей сбраживания сахаров, воздействием параметров окружающей среды, особенностями метabolизма дрожжей в зависимости от

состава питательной среды и обуславливается биологическими, физиологическими и технологическими свойствами дрожжей.

Выбор вида и оптимальной дозировки дрожжей, продолжительность брожения полуфабрикатов хлебопекарного производства основывается на закономерностях, происходящих при их брожении, знании биотехнологических свойств различных видов дрожжей, механизмов влияния рецептурных компонентов во взаимосвязи с параметрами технологического процесса, способами тестоприготовления.

Биотехнологические свойства дрожжей характеризуются как свойства дрожжей в мучных полуфабрикатах при их созревании выделять продукты метаболизма, обуславливающие определенную продолжительность процесса и способствующие формированию тех или иных показателей технологических свойств полуфабрикатов и качества хлеба.

Химический состав дрожжей колеблется в довольно широких пределах и зависит от расы дрожжей, состава питательной среды, условий их выращивания, физиологического состояния клетки и других факторов. Так, в состав прессованных дрожжей входит в среднем 75 % воды и 25 % сухих веществ. Около 45 % сухого вещества представлено азотистыми веществами, примерно 8,5 % составляют минеральные вещества, 2 % - сырой жир. Остальное количество сухого вещества – углеводы: гликоген, клетчатка, гемицеллюлоза. Большая часть азотистых веществ дрожжей представлена полноценными белками, на долю которых приходится около 80 % всего азота.

В состав дрожжевой клетки входят многие витамины, прежде всего водорастворимые: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, РР, пантотеновая кислота, биотин, фолиевая кислота. Дрожжи содержат провитамин Д, который при облучении ультрафиолетовыми лучами образует витамин Д<sub>2</sub>.

Многие из ферментов дрожжевой клетки (инвертаза, карбоксилаза, фосфатаза и др.) входят в состав так называемого зимазного комплекса, вызывающего спиртовое брожение.

Качество дрожжей оценивают по органолептическим и физико-химическим показателям (ГОСТ 171-81).

### **Органолептическая оценка качества дрожжей.**

**Цвет** у нормальных по качеству дрожжей должен быть сероватый, с желтоватым оттенком. На цвет влияет содержание красящих веществ в сусле, на котором выращивались дрожжи. Темный оттенок дрожжам придают также металлические примеси в сусле – соли железа, меди.

**Вкус и запах** – свойственные дрожжам. Не допускается запах плесени и другие посторонние запахи.

**Консистенция** плотная. Известное представление о качестве дрожжей, об их свежести дает проба на удар.

Проба на удар проводится следующим образом. Из прессованных дрожжей формуется шарик величиной с грецкий орех, который закладывается в полотенце и с силой ударяется о поверхность стола. У хороших дрожжей консистенция не

изменяется, а плохие же дрожжи после удара размягчаются или даже разжижаются ввиду того, что клеточные стенки разрушаются и внутриклеточная влага выступает наружу.

### **Физико-химические показатели качества дрожжей.**

**Влажность дрожжей.** Этот показатель является одним из важных показателей качества дрожжей по своему влиянию на их сохраняемость.

*Определение влажности дрожжей* высушиванием до постоянной массы проводится следующим образом: 1,5-2 г дрожжей взвешивают на весах в высушенной бюксе, снабженной крышкой, и высушивают в сушильном шкафу при температуре 105 °C до постоянной массы. Первое взвешивание проводят через 3 ч после начала высушивания, последующие – через каждый час. Перед взвешиванием бюксу закрывают крышкой и охлаждают в эксикаторе 30 мин. Постоянная масса считается достигнутой, если разница между двумя взвешиваниями не превышает 0,001 г.

**Кислотность дрожжей.** Кислотность выражают в миллиграммах уксусной кислоты на 100 г дрожжей.

*Определение кислотности дрожжей:* 10 г дрожжей отвешенных на весах в фарфоровой чашке, растирают с 50 мл дистиллированной воды и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия (NaOH) в присутствии 3-5 капель 1% раствора фенолфталеина. Титрование ведется до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение нескольких секунд.

**Быстрота подъема теста (подъемная сила дрожжей).** Дрожжи используют для разрыхления теста за счет сбраживания сахаров – глюкозы, фруктозы и мальтозы. Способность дрожжей сбраживать глюкозу и фруктозу определяют по величине подъемной силы и зимазной активности, а способность сбраживать мальтозу – по величине мальтазной активности. Различают два типа дрожжей: дрожжи с нормальной подъемной силой, сбраживающие сахарозу быстрее, чем мальтозу, и дрожжи с повышенной подъемной силой, сбраживающие мальтозу почти так же активно, как сахарозу. Дрожжи первого типа рекомендуют использовать для приготовления обычных сортов хлеба, а второго – для приготовления высокорецептурных хлебобулочных изделий.

Чем быстрее дрожжи поднимают тесто, тем качество их считается выше. На быстроту подъема теста дрожжами влияют многие факторы: свойства данной расы дрожжей, чистота их, полноценность питательной среды, на которой они выращивались, условия выращивания (температура, pH среды, степень аэрации и т. д.), химический состав дрожжей (с уменьшением содержания белка понижается подъемная сила дрожжей) и т.д.

*Стандартный метод определения быстроты подъема теста.* Этот метод заключается в определении быстроты подъема теста в термостате, замешенного по определенной рецептуре и помещенного в формочку определенных размеров.

280 г пшеничной муки второго сорта, 160 мл водного раствора хлорида натрия и металлическую форму, смазанную маслом, подогревают в термостате при 35 °C 2 ч.

Отвешивают 5 г дрожжей, переносят в фарфоровую чашку. Приливают 15-20 мл раствора хлорида натрия и перемешивают до исчезновения комочеков. Разведенные дрожжи переносят в эмалированную чашку. Оставшимся количеством раствора хлорида натрия ополаскивают фарфоровую чашку, переносят раствор в эмалированную чашку, после чего туда же добавляют 280 г пшеничной муки с температурой 35 °C и в течение 5 мин интенсивно замешивают тесто вручную. Затем ему придают форму батона по размеру формочки и переносят в металлическую форму. На длинные борта формы навешивают поперечную железную перекладину, входящую в форму на 1,5 см. Форму с тестом помещают в термостат с температурой 33-37 °C.

Подъемная сила дрожжей характеризуется временем, прошедшим с момента внесения теста в форму до момента прикосновения его к нижнему краю перекладины, т.е. подъемом на высоту 70 мм. При этом отмечают: время внесения теста в форму; время прикосновения теста к нижнему краю перекладины; быстрота подъема теста. Подъемная сила дрожжей должна быть не более 70 мин.

Стандартный метод определения быстроты подъема теста длителен, достаточно сложен, требует сравнительно большого расхода количества

муки. В заводских лабораториях для внутрипроизводственного контроля применяют ускоренный метод определения быстроты подъема теста по скорости всплытия шарика теста, предложенный А. И. Островским.

*Ускоренный метод определения быстроты подъема теста.* Метод основан на определении скорости всплытия в воде шарика теста, замешенного в строго определенных условиях. Быстротой подъема теста считают количество минут, прошедших со времени опускания шарика теста в воду до момента его

всплытия. Всплытие происходит тем скорее, чем быстрее увеличивается объем в результате накопления углекислого газа дрожжами. Плотность свежезамешенного теста около 1,4 г/см<sup>3</sup>. В процессе брожения она уменьшается, и, когда плотность шарика станет меньше единицы, он всплывает. Хорошие дрожжи поднимают шарик за 14-20 мин. Если подъем шарика происходит после 24 мин, дрожжи считаются неудовлетворительного качества.

*Определение быстроты подъема теста* проводится следующим образом: 6,25 г дрожжей размешивают с водой в ступке стеклянной палочкой. Полученную суспензию переносят в мерную колбу на 100 мл и водой доводят до метки. После энергичного взбалтывания из колбы пипеткой берут 5 мл дрожжевой суспензии в фарфоровую ступку, добавляют 7 г пшеничной муки второго сорта. Замешивают тесто в течение 1 мин, тесто переносят на ладонь и придают форму шарика. Шарик опускают в стакан вместимостью 200-250 мл, наполненный водой с температурой 32 °C, который затем помещают в термостат (32 °C). Затем отмечают в минутах:

- время опускания шарика в воду;
- время всплытия шарика;
- быстрота подъема теста.

**Стойкость дрожжей при хранении.** На стойкость дрожжей при хранении оказывает влияние их влажность, присутствие не сахаромицетов, которые резко понижают этот показатель, химический состав дрожжей (с увеличением содержания белка и влажности стойкость их понижается).

*Определение стойкости дрожжей:* пачку прессованных дрожжей массой 0,5-1,0 кг, завернутую в бумагу и предварительно охлажденную до 6 °С, помещают в термостат с температурой среды 35 °С и хранят ее до тех пор, пока дрожжи не станут мягкими. Время в часах, прошедшее с момента помещения в термостат до их размягчения, характеризует стойкость дрожжей. Стойкость дрожжей должна быть не менее 48 ч.

**Осмочувствительность дрожжей.** Этот показатель определяют с целью выявления пригодности дрожжей для приготовления сдобного теста, содержащего повышенное количество сахара. Осмочувствительные хлебопекарные дрожжи медленнее поднимают тесто с повышенным содержанием сахара или соли. Метод определения основан на сравнительной оценке подъемной силы в тесте без соли и с повышенным содержанием соли.

*Определение осмочувствительности дрожжей* проводится следующим образом: на весах отвешивают две навески дрожжей по 0,31 г каждая. К первой навеске добавляют 4,8 мл водопроводной воды с температурой 35 °С и тщательно, но осторожно размешивают стеклянной палочкой в фарфоровой чашке. К полученной дрожжевой взвеси добавляют 6,5-7,5 г пшеничной муки второго сорта и, быстро замесив тесто, придают ему форму шарика, подъемную силу которого определяют по методу всплыивания его. Ко второй навеске дрожжей

добавляют 4,8 мл 3,35 % раствора поваренной соли, нагретого до 35 °С и далее поступают так же, как с первой навеской. Затем полученные значения подъемной силы для каждого шарика умножают на коэффициент 3,5 для пересчета на подъемную силу.

Примерные нормы величины осмочувствительности (в мин) дрожжей приведены ниже: хорошая – 1-10; удовлетворительная – 10-20; плохая – свыше 20.

**Задание:** Исследовать выданные образцы дрожжей по органолептическим (вкус, запах, цвет, консистенция) и физико-химическим показателям (ускоренный метод определения быстроты подъема теста, кислотность, влажность, осмочувствительность, стойкость дрожжей). Сделать выводы о качестве дрожжей.

### **Вопросы к защите лабораторной работы №3**

1. Каков химический состав дрожжей?
2. Какими показателями характеризуется качество дрожжей?
3. Как определяют влажность дрожжей?
4. От чего зависит стойкость дрожжей при хранении и как ее определяют?
5. Определение быстроты подъема теста (подъемная сила дрожжей).

## **4 Лабораторная работа №4 Молоко как сырье для биотехнологических процессов**

### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Дистиллированная вода, молоко разной жирности, бумажные фильтры, песок.
2. Метиленовый синий, раствор резазурина, фенолфталеин, 0,1 н. раствор NaOH или 0,1 н. раствор KOH, 4 % раствор CaCl<sub>2</sub>.
3. Пробирки, термометр, пробки, колбы вместимостью 150-200 мл, пипетки, электрическая плитка, рефрактометр, стеклянные палочки, термометр, экскатор, водяная баня или редуктазник, стаканы.

Молоко используется как ценное сырье в хлебопекарной и кондитерской промышленности. Молоко и молочные продукты отличаются от других продуктов питания тем, что в их составе представлены необходимые для организма пищевые и биологически активные вещества в оптимальной сбалансированности и легкоусвояемой форме.

Состав и биологическая ценность молока существенно меняются в зависимости от породы, рациона кормления, физиологического состояния животных, климатических условий, характера обработки молока и способов его хранения.

Примерный химический состав коровьего молока представлен в таблице 4.1.

Таблица 4.1 - Химический состав коровьего молока

| Компоненты       | Среднее содержание, % | Колебания, % |
|------------------|-----------------------|--------------|
| Вода             | 87,3                  | 83-89        |
| Белки            | 3,3                   | 2,7-5,0      |
| Молочный жир     | 3,9                   | 2,7-7,0      |
| Лактоза          | 4,7                   | 4,0-5,5      |
| Зольные элементы | 0,7                   | 0,6-0,9      |

Кроме перечисленных основных компонентов в молоке содержится ряд других веществ, биологическая роль которых велика. К ним относятся витамины, ферменты, фосфатиды, стерины, иммунные тела. В молоке содержатся витамины A, C, D, E, K, витамины группы B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP, биотин и др.). Содержание витаминов A, D, E значительно повышается в молоке летнего уюда. В составе молока обнаружено большое число ферментов: каталазы, фосфатазы, амилазы, лактазы и др. В числе иммунных тел в свежем молоке присутствуют антитоксины, агглютинины и другие вещества, обладающие бактерицидным свойством. Все белки молока полноценны и хорошо усвояемы. Их полноценность обусловливается наличием всех незаменимых аминокислот, необходимых для образования белков организма человека. Молочный жир хорошо усваивается, так как находится в

молоке в виде тонкодисперсной эмульсии или суспензии. Низкая температура плавления молочного жира, обусловленная наличием низкомолекулярных и высоконепредельных жирных кислот, также способствует легкой его усвояемости. Высокая биологическая ценность молочного жира связана также с относительно большим содержанием в нем жирорастворимых витаминов, фосфатидов, стеринов, полиненасыщенных жирных кислот, из которых доля арахидоновой кислоты особенно велика. Сахар в молоке представлен лактозой, или молочным сахаром. Молочный сахар, в отличие от других сахаров, сбраживается лишь теми дрожжами, которые содержат лактозу, и поэтому полнее усваивается. Лактоза является хорошей средой для развития молочнокислых бактерий, которые продуктами своей жизнедеятельности как бы дезинфицируют пищеварительный тракт организма. Оценку качества молока проводят как органолептически, так и методами физико-химического анализа и бактериологического исследования молока.

**Органолептическая оценка качества молока.** При определении внешнего вида обращают внимание на однородность консистенции и отсутствие осадка.

**Однородность консистенции** устанавливают при перемешивании молока, **а наличие осадка** – осмотром дна тары.

При определении **цвета, вкуса, запаха** молоко наливают в стакан и рассматривают при рассеянном свете, обращая внимание на отсутствие посторонних оттенков. Вкус молока исследуют в том случае, если продукт не имеет посторонней окраски. Нельзя пробовать молоко от больных животных.

#### **Бактериологические исследования молока.**

#### **Определение общего количества бактерий в молоке косвенным методом.**

Для определения бактериальной чистоты и свежести молока проводят пробу на редуктазу, основанную на способности бактерий выделять редуктазу, восстанавливающую краски (метиленовый синий, резазурин). Обесцвечивание метиленового синего и резазурина наступает тем быстрее, чем больше микробов в молоке.

*Проба с метиленовым синим:* в пробирки наливают 20 мл молока и 1 мл метиленового синего. После тщательного смешивания пробирки помещают в редуктазник или водяную баню с температурой воды 38 °С. Такую температуру поддерживают в течение всего опыта до полного обесцвечивания молока. Первые 20 мин наблюдения ведут непрерывно, в дальнейшем просмотр пробирок проводят периодически через 2 и 5,5 ч после начала анализа. По скорости обесцвечивания метиленового синего молоко разделяют на 4 класса (таблица 4.2).

Таблица 4.2 - Оценка качества молока в зависимости от результатов пробы на редуктазу

| Класс | Продолжительность реакции с метиленовым | Окраска молока с метиленовым синим | Количество бактерий в 1 куб.см. молока | Оценка |
|-------|---|------------------------------------|--|--------|
|-------|---|------------------------------------|--|--------|

|   | синим          |                |                       |                    |
|---|----------------|----------------|-----------------------|--------------------|
| 1 | Более 5,5      | Обесцвечивание | Менее 500 тыс.        | Хорошее            |
| 2 | От 2 до 5,5    | Обесцвечивание | От 500 тыс. до 4 млн. | Удовлетворительное |
| 3 | От 20 до 1 ч   | Обесцвечивание | От 4 млн. до 20 млн.  | Плохое             |
| 4 | 20 мин и менее | Обесцвечивание | Свыше 20 млн.         | Очень плохое       |

Раствор метиленового синего готовят следующим образом: 5 мл насыщенного спиртового раствора метиленового синего прибавляют к 195 мл дистиллированной воды. Смесь хорошо перемешивают.

*Проба с резазурином:* в стерильные пробирки вносят по 1 мл рабочего раствора резазурина и по 10 мл исследуемого молока, закрывают пробками, смешивают путем трехкратного переворачивания пробирок.

Пробирки помещают в редуктазник или ставят на водяную баню с температурой воды 38 °C и защищают от действия прямых солнечных лучей. Показания снимают через 20 мин и через 1 ч, не встряхивая и не переворачивая пробирки. Через 20 мин пробирки с обесцвеченным молоком удаляют из редуктазника или водяной бани. Появление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывается. Оставшиеся пробирки однократно переворачивают и оставляют в редуктазнике или водяной бане до конца анализа. В зависимости от времени обесцвечивания и изменения окраски молоко относят к одному из четырех классов (таблица 4.3).

Таблица 4.3 - Оценка качества молока в зависимости от результатов пробы на редуктазу

| Класс | Продолжительность реакции с резазурином | Окраска молока с резазурином | Количество бактерий в 1 куб.см. молока | Оценка |
|-------|---|------------------------------|--|--------|
| 1     | 2                                       | 3                            | 4                                      | 5      |
|       |   |                              |  |        |

Продолжение таблицы 4.3

| 1 | 2             | 3             | 4              | 5                  |
|---|---------------|---------------|----------------|--------------------|
| 1 | Более 5,5 ч   | Сине-стальная | Менее 500 тыс. | Хорошее            |
| 2 | От 2 до 5,5 ч | Сиреневая     | От 500 тыс.    | Удовлетворительное |

|   |                  |                     |                     |              |
|---|------------------|---------------------|---------------------|--------------|
|   |                  | или сине-фиолетовая | до 4 млн.           |              |
| 3 | От 20 мин до 1 ч | Розовая или белая   | От 4млн. до 20 млн. | Плохое       |
| 4 | 20 мин и менее   | Белая               | Свыше 20 млн.       | Очень плохое |

Основной раствор готовят следующим образом: 100 г резазурина растворяют в 200 мл стерильной дистиллированной воды, хранят в холодильнике, защищая от света. Рабочий раствор готовят, разбавляя основной раствор водой в соотношении 1:2,5 (например, к 10 мл основного раствора добавляют 25 мл воды).

#### **Физико-химические показатели качества молока.**

**Кислотность молока.** Одним из важных показателей качества молока является его кислотность, которая обусловливается присутствием в нем кислых солей, частично белков, органических кислот (лимонной, молочной) и продуктов гидролитического расщепления некоторых соединений, например жира.

Молоко из-за разнообразия составных частей представляет собой прекрасную питательную среду для развития различных микроорганизмов. К ним следует отнести бактерии, вызывающие молочнокислое и маслянокислое брожение, бактерии, расщепляющие казеин, различные плесневые грибки и дрожжи. В результате жизнедеятельности этих микроорганизмов в молоке при его хранении накапливаются кислореагирующие вещества, титруемая кислотность повышается. Поэтому показатель кислотности молока характеризует свежесть и в значительной мере чистоту его.

Кислотность молока выражается в градусах Тернера, означающих количество миллилитров децинормальной щелочи, расходуемых на нейтрализацию кислореагирующих веществ, содержащихся в 100 мл молока.

*Определение кислотности молока арбитражным методом:* в коническую колбу вместимостью 150-200 мл отмеривают пипеткой 10 мл молока, прибавляют 20 мл свежей прокипяченной дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивают и титруют 0,1 н.раствором гидроксида натрия (калия) до появления розового окрашивания не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность коровьего пастеризованного молока не должна превышать 21°Т; свежевыдоеенное молоко имеет обычно кислотность в пределах 16-18°Т.

**Определение массовой доли белка в молоке.** Содержание белковых веществ в молоке и молочных продуктах является одним из основных факторов, обуславливающих их пищевую ценность.

От количества белка в молоке зависит в значительной мере выход молочных продуктов, например, творога, сыров. Поэтому содержание белка в молоке, полуфабрикатах его переработки и готовых молочных продуктах является важным показателем их качества. Наиболее распространенными методами являются: рефрактометрический и метод формольного титрования.

*Рефрактометрический метод.* Этот метод основан на установлении разности показателей преломления исследуемого молока и раствора, полученного после осаждения белков раствором хлористого кальция при кипячении.

Отмеривают пипеткой 5 мл молока в пробирку, добавляют 5-6 капель 4 %-ного раствора хлорида кальция. Пробирку закрывают пробкой и помещают в баню с кипящей водой на 10 мин. Затем содержимое пробирки фильтруют через складчатый фильтр. В прозрачном фильтрате, а также в исходном молоке определяют на рефрактометре показатель преломления при 20°C. Содержание белка в молоке (в процентах) рассчитывают по формуле:

$$a = \frac{N - n}{0,002045}, \quad (4.1)$$

где N – показатель преломления молока при 20 °C;

n – показатель преломления фильтрата при 20 °C;

0,002045 - коэффициент, позволяющий выразить полученную разность показателей преломления, % от общего белка.

Этот метод может быть использован также для определения лактозы в исследуемом молоке. В этом случае по таблице (приложение А) находят процентное содержание лактозы в зависимости от величины показателя преломления фильтрата, полученного после осаждения белков раствором хлорида кальция.

*Метод формольного титрования.* Сущность реакции формалина на белок заключается в том, что альдегидная группа формалина взаимодействует с аминогруппой белка, которая теряет свои основные свойства, в результате чего кислые свойства белка усиливаются. Количество титруемых карбоксильных групп будет эквивалентно количеству связанных формальдегидом аминных групп.

Отмеривают пипеткой 10 мл исследуемого молока и вносят его в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10-12 капель 1 % спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствора гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания, не исчезающего при взбалтывании. После этого в колбу приливают из бюретки 2 мл 30-40 % раствора формалина, свеженейтрализованного щелочью до слабо-розового окрашивания по фенолфталеину. Содержимое колбы взбалтывают, молоко обесцвечивается, записывают показание бюретки и продолжают титрование до окраски жидкости, соответствующей окраске молока до прибавления формалина. Показания бюретки вновь записывают и устанавливают количество миллилитров щелочи, пошедшее на второе титрование. Затем рассчитывают содержание белка в молоке (таблица 4.4).

Таблица 4.4 – Содержание белка в молоке

| Показатели | Значения | Полученный результат |
|------------|----------|----------------------|
| 1          | 2        | 3                    |

|  |                          |  |
|--|--------------------------|--|
| Количество 0,1н.<br>раствора едкого натра,<br>израсходованного до<br>прибавления<br>формалина, мл          | $V_1$                    |  |
| Общее количество 0,1 н.<br>раствора едкого натра,<br>израсходованное после<br>прибавления<br>формалина, мл | $V_2$                    |  |
| Количество 0,1 н.<br>раствора едкого натра,<br>пошедшее на<br>нейтрализацию<br>карбоксильных групп,<br>мл  | $(V_2 - V_1)$            |  |
| Общее количество белка<br>в молоке, %  | $(V_2 - V_1) \cdot 1,94$ |  |
| Содержание казеина в<br>молоке, %  | $(V_2 - V_1) \cdot 1,51$ |  |

1,94 и 1,51 – коэффициенты для пересчета оттитрованных карбоксильных групп на процентное содержание белка в молоке.

#### Определение массовой доли лактозы в молоке.

*Рефрактометрический метод определения лактозы.* О содержании лактозы согласно этому методу судят по показателю преломления жидкой фракции молока, полученной после осаждения белков раствором хлорида кальция при кипячении и отделением осадка фильтрацией (приложение А)

Содержание лактозы в цельном молоке довольно устойчиво; при разбавлении молока водой количество ее резко уменьшается.

**Определение влажности молока.** В стаканчик со стеклянной палочкой помещают 20-30 г хорошо промытого песка и выдерживают в течение 30 мин в сушильном шкафу при температуре 102-105 °C. Затем закрывают стаканчик крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают без крышки. Приливают пипеткой 10 мл молока, закрывают и снова взвешивают. Тщательно перемешивают молоко с песком и нагревают на водяной бане при частом перемешивании содержимого до получения рассыпающейся массы. Затем стаканчик помещают в сушильный шкаф и высушивают в течение 2 ч. Закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Высушивание продолжают, стаканчик взвешивают каждый час до тех пор, пока разница между двумя последними взвешиваниями не будет менее 0,004 г. Содержание влаги рассчитывают в процентах.

**Задание:** Исследовать выданные образцы молока по органолептическим (цвет, вкус, запах, однородность консистенции, наличие осадка), бактериологическим исследованиям молока (проба с метиленовым синим, проба с резазурином) и физико-химическим показателям (кислотность, влажность, содержания белка в молоке, содержание лактозы в молоке). Сделать выводы о качестве молока.

#### **Вопросы к защите лабораторной работы №4**

1. Каков химический состав молока?
2. Как проводится органолептическая оценка молока?
3. Как определяют кислотность молока?
4. Как определяют влажность молока?
5. Как определяют содержание белка в молоке?
6. Как проводятся бактериологические исследования молока?
7. Определение содержания лактозы в молоке.

### **5 Лабораторная работа № 5 Изучение биотехнологических основ приготовления сыра**

#### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Марля, молоко, 100 г сметаны, 100 г сливочного масла, 1-2 яйца, соль.
2. Стерильные пробирки, ватные пробки, термостат или водяная баня, термометр, кастрюля, электрическая плитка.

Сыроварение – один из древнейших биотехнологических процессов, который используется в практической деятельности человека.

Сыр – высокопитательный пищевой продукт, полученный из молока путем ферментативной, кислотной или смешанной коагуляции белков, выделения сырной массы с последующей обработкой и созреванием. Среди продуктов питания сыр занимает одно из первых мест по пищевой и энергетической ценности. Пищевая ценность определяется высоким содержанием в нем белка, молочного жира, минеральных солей, витаминов в хорошо сбалансированных соотношениях и легко перевариваемой форме.

Известны самые разнообразные сыры – от очень мягких до твердых. Различие между ними определяются тем, что все натуральные мягкие сыры содержат много воды – 50-60 %, а твердые – 13-34 %. Хотя свойства сыров разнообразны, в процессе выработки всех их есть много общего.

Первая стадия – подготовка молока к выработке сыра (контроль качества молока и сортировка, тепловая обработка, вакуумная обработка и т.д.).

Вторая стадия – подготовка молока к свертыванию (применение бактериальных заквасок и концентратов)

Третья стадия – получение и обработка сгустка (свертывание молока, обработка сгустка и сырного зерна)

Четвертая стадия – формирование сыра, самопрессование и прессование сыра, посолка и созревание сыра.

Превращение молока в сыр происходит, как правило, в четыре этапа.

Свертывание молока – речь идет о физико-химических превращениях мицелл казеина под действием протеолитических ферментов и (или) молочной кислоты; эти превращения приводят к появлению сетчатой белковой структуры, называемой сгустком или гелем.

Выделение сыворотки из сгустка - этот этап заключается в выделении молочной сыворотки после разрезки сгустка с помощью формования и в некоторых случаях прессования. В результате получают сырную массу.

Посолка – эта операция состоит в нанесении соли на поверхность сыров или внесении ее в сырную массу, или в погружении сыров в рассол.

Созревание сыра – сложный комплекс микробиологических, биохимических, физико-химических процессов, протекающих в сырной массе. При этом все составные части (молочный сахар, белки, жир, минеральные вещества) претерпевают определенные изменения с образованием различных веществ, формирующих присущие даному виду сыра органолептические показатели (вкус, запах, консистенция) и рисунок.

Изменение составных частей сырной массы происходят под влиянием главным образом микробных и частично молокосвертывающих ферментов. Максимальное число микроорганизмов накапливается в сыре в первые дни после его выработки. Развитие микроорганизмов продолжается до тех пор, пока остается несброженный молочный сахар. После полного его сбраживания число микроорганизмов постепенно снижается.

При нормальном брожении в сыре образуется рисунок, состоящий из шарообразных пустот (глазков), более или менее равномерно распределенных в массе сыра. У одних сыров (швейцарский) глазки достигают в диаметре 1-2 см., у других (голландский) – 0,3-0,5 см. Глазки образуются в результате накопления в сыре газообразных продуктов.

Сыроделие предъявляет особые требования к качеству молока.

Молоко должно иметь чистые вкус и запах, быть без посторонних, не свойственных свежему молоку привкусов и запахов. Молоко не должно содержать значительного количества газообразующей микрофлоры (маслянокислые бактерии, кишечная палочка): кишечная палочка вызывает раннее вспучивание споров, маслянокислые бактерии – позднее вспучивание.

Для определения качественного состава микрофлоры молока, используемого в сыроделии, применяют пробы на брожение и сычужно-бродильную пробу, позволяющие по характеру сгустка судить о присутствии различных микробов в молоке.

*Проба на брожение.* Применяется для определения пригодности молока для сыроделия.

В стерильные пробирки наливают 30-40 мл молока, закрывают ватными пробками и ставят в термостат или водянную баню при температуре 38 °С. Через 12 и 24 ч проводят наблюдения, отмечая время свертывания, запах, вкус, кислотность.

Молоко считается доброкачественным, если свертывание его не наступило или лишь начинается через 12 ч.

Нельзя применять в сыроделии молоко, давшее сгусток со всучиванием или пузырьками газа.

Молоко первого и второго классов для сыроделия пригодно, третьего и четвертого – непригодно, так как в таком молоке могут присутствовать газообразующие бактерии группы кишечной палочки (таблица 5.1).

Таблица 5.1 - Оценка качества молока по органолептическим свойствам сгустка

| Класс | Качество молока    | Характеристика сгустка   |
|-------|--------------------|--|
| 1     | 2                  | 3  |
| 1     | Хорошее            | Наблюдается начало свертывания без выделения сыворотки и пузырьков газа; незначительные полоски на сгустке                                     |
| 2     | Удовлетворительное | Сгусток с полосками и пустотами, заполненными сывороткой; структура сгустка мелкозернистая; сгусток стягивается со слабым выделением сыворотки |

Продолжение таблицы 5.1

| 1 | 2      | 3   |
|---|--------|---|
| 3 | Плохое | Сгусток с обильным выделением зеленоватой |

|   |              |  |
|---|--------------|--|
|   |              | или беловатой сыворотки, сгусток крупнозернистый; наблюдаются пузырьки газа в сгустке или сливочном слое |
| 4 | Очень плохое | Сгусток разорван и пронизан пузырьками газа, всучен, как губка   |

*Сычужно-бродильная проба.* В пробирку с 30 мл сычужного фермента вносят 1 мл фермента (0,5 г готового сычужного порошка в 100 мл теплой воды), перемешивают и выдерживают в течение 12 ч при температуре 38-40 °C. Добротальное молоко свертывается в течение 20 мин, а через 12 ч дает совершенно однородный плотный сгусток с прозрачной сывороткой. По истечении 12 ч пробы просматривают и относят молоко к одному из трех классов в соответствии с таблицей 5.2.

Таблица 5.2 - Оценка качества молока по сычужно-бродильной пробе

| Класс | Качество молока    | Характеристика сгустка  |
|-------|--------------------|---|
| 1     | 2                  | 3   |
| 1     | Хорошее            | Сгусток с гладкой поверхностью, упругий на ощупь, без глазков на продольном разрезе, плавает в прозрачной сыворотке |
| 2     | Удовлетворительное | Сгусток с единичными глазками (1 .....10), мягкий на ощупь, разорван, но не всучен (не поднялся вверху)             |

Продолжение таблицы 5.2

| 1 | 2      | 3   |
|---|--------|---|
| 3 | Плохое | Сгусток с многочисленными глазками, губчатый, |

|  |  |   |
|--|--|---|
|  |  | мягкий на ощупь, вспучен, всплыл наверх или вместо сгустка наблюдается хлопьевидная масса |
|--|--|---|

**Задание:** Исследовать выданные образцы молока по органолептическим свойствам сгустка и по сычужно-бродильной пробе. Сделать выводы.

Приготовить сыр.

В кастрюлю с нагретым почти до кипения молоком (1л), добавить творог и нагревать на медленном огне, помешивая, пока молоко не свернется. Затем содержимое кастрюли откинуть на марлю или ткань, дать сыворотке стечь, полученную массу вновь выложить в кастрюлю поменьше, которую нужно поставить в водяную баню. Взбить 1-2 яйца со 100 г сметаной и 1 ч. л. соли. Когда творожная масса на водяной бане начинает кипеть, добавить в нее 100 г сливочного масла, а затем яично-сметанную смесь. Через 10 мин добавить 1 четверть ч. л. соды. Все время, не переставая, перемешивать.

Кипятить массу еще 10 мин. В конце добавить 1-2 ч. л. тмина. Как только масса станет однородной и вязкой, и будет отставать от стенок кастрюли, выложить в тарелку, придать форму круга. Придавить небольшим грузом и оставить до остывания, а затем поставить в холодильник. Сделать выводы.

#### **Вопросы к защите лабораторной работы №5**

1. Какие требования предъявляются к качеству молока?
2. Что происходит при свертывании молока?
3. Какие процессы происходят при созревании сыра?
4. Оценка качества молока по органолептическим свойствам сгустка.
5. Оценка качества молока по сычужно-бродильной пробе.

### **6 Лабораторная работа №6 Изучение процесса брожения при производстве кисломолочных продуктов. Кинетика нарастания кислотности**

#### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Дистиллированная вода, сахар, соль, лактобактерии, молоко.
2.  $\text{CaCl}_2$ , 0,1 н. раствор  $\text{NaOH}$  или 0,1 н. раствор  $\text{KOH}$ , 2,5 % раствор сульфата кобальта, 1 % спиртовой раствор фенолфталеина.
3. Термометр спиртовой, стаканы вместимостью 200-250 мл, мерные колбы на 100 мл, пипетки, водяная баня, центрифуга «Элекон», рефрактометр, электрическая плита, весы.

Кисломолочные продукты получают сквашиванием молока или сливок чистыми культурами молочнокислых бактерий с добавлением или без добавления дрожжей и уксуснокислых бактерий. Кисломолочные продукты обладают не

только ценными питательными, но и лечебными свойствами, которые определяются содержанием в них молочной кислоты, углекислого газа, спирта, образующихся в процессе брожения.

Белок в кисломолочных продуктах находится в створоженном состоянии, как бы частично переваренном, поэтому усваивается легче, чем белок коровьего молока или молочных смесей. Кроме того, в кисломолочных продуктах содержатся ферменты, участвующие в процессах пищеварения, что обеспечивает также лучшее переваривание белков и других пищевых веществ.

Кисломолочные продукты обладают бактерицидными свойствами, т.е. способностью уничтожать болезнетворные микробы, которые могут попасть в кишечник и там размножаться. Ценным качеством этих продуктов является их способность синтезировать в кишечнике витамины группы В, играющие важную роль в обмене веществ.

Различают кисломолочные продукты жидкой и полужидкой консистенции с разрушенным сгустком – это такие кисломолочные продукты, как простокваша, сметана, ацидофильные продукты и т. д., а так же белковые кисломолочные продукты с повышенным содержанием белка (творог, творожные изделия и пр.).

Для каждого вида кисломолочных продуктов используют определенную закваску, которая обеспечивает в продукте необходимые вкус, запах, консистенцию. При выработке всех кисломолочных продуктов, кроме кефира и кумыса, применяют закваски чистых культур молочнокислых микроорганизмов. Для заквасок в основном используют молочнокислые стрептококки, молочнокислые палочки и дрожжи в различных комбинациях.

Технологический процесс производства кисломолочных продуктов включает нормализацию молока по содержанию жира, пастеризацию молока и в ряде случаев гомогенизацию, заквашивание, сквашивание охлажденного до соответствующей температуры молока.

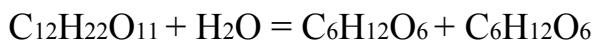
Один из основных процессов, определяющих вид кисломолочного продукта – это сквашивание.

Сквашивание - сложный биотехнологический процесс, в процессе сквашивания происходит изменение практически всех составных частей молока. При развитии молочнокислых бактерий в молоке происходит сбраживание лактозы (молочного сахара) с образованием молочной кислоты; последняя отнимает кальций от казеината, а образующийся нерастворимый казеин, выпадает в виде хлопьев, т. е. происходит свертывание молока.

Различают молочнокислые продукты, получаемые только с использованием молочнокислого брожения, и продукты, получаемые при совместном молочнокислом и спиртовом брожении.

В кисломолочных продуктах первой группы (простокваша всех видов, йогurt, ацидофилин, ацидофильное молоко, напиток «Снежок») практически накапливается только молочная кислота.

*Молочнокислое брожение.* Под воздействием фермента лактазы молекула лактозы (дисахарид) распадается на две составляющие:



Лактоза                    Глюкоза    Галактоза

В результате дальнейших ферментативных превращений составляющие лактозы расщепляются до молекул пировиноградной кислоты, которая затем, так же под воздействием ферментов восстанавливается до молочной кислоты. Таким образом, в результате ферментативного расщепления из одной молекулы лактозы образуется четыре молекулы молочной кислоты:

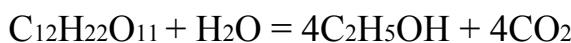


Лактоза                    Молочная кислота

Молочнокислое брожение прекращается, когда расщепляется лишь незначительная часть лактозы (около 20 %), так как образующаяся молочная кислота губительно действует на дальнейшее развитие молочнокислых бактерий.

*Спиртовое брожение.* В кисломолочных продуктах второй группы (кумыс, кефир, ацидофильно-дрожжевое молоко и др.) накапливается не только молочная кислота, а так же этиловый спирт, углекислый газ.

Возбудителем спиртового брожения являются дрожжи, они сбраживают глюкозу с образованием этанола, углекислоты и других веществ: изобутил, глицерин, уксусная, янтарная, пропионовая кислоты, ацетоин и диацетил. Спиртовое брожение протекает обычно при рН 3-6.



Лактоза    Этиловый спирт    Углекислота

Спиртовому брожению подвергается лишь незначительная часть молочного сахара. Об интенсивности прохождения процесса сквашивания можно судить по кривым кинетики изменения кислотности. Для построения кривой необходимо сквашивать в лабораторных условиях некоторое количество молочного продукта с периодическим отбором проб продукта и определением в нем кислотности.

Внесение сахара, соли и т.д., существенно влияет на интенсивность прохождения процесса сквашивания. Температура, при которой происходит сквашивание, также оказывает влияние на ход процесса.

Молочнокислое и спиртовое брожения являются основными видами брожения в производстве жидких диетических кисломолочных продуктов, обуславливающими их специфический вкус и запах. В продукте также могут протекать уксуснокислое, маслянокислое, пропионово-кислое брожения, но они являются не желательными для производства кисломолочных продуктов.

Так, например, маслянокислое брожение происходит под действием маслянокислых бактерий, сбраживает глюкозу и молочную кислоту. Известно

несколько типов этого брожения, которые различаются по образуемым продуктам. При одном типе образуются масляная, уксусная кислоты, углекислоты и Н<sub>2</sub>.

При другом типе – образования бутилового, изопропионового спиртов, этанола, ацетона, которые обладают резким, неприятным запахом, а также образуется большое количество газов. Маслянокислое брожение вызывает пороки сыров: всучивание, неприятный вкус, запах.

### **Задание**

1. Определить начальное содержание лактозы в молоке. Лактоза в молоке определяется двумя методами: перманганатометрическим и йодометрическим. В данной работе используют ускоренный рефрактометрический метод определения. В соответствии с этим методом о содержании лактозы судят по величине показателя преломления белковой фракции молока, полученной осаждением белков раствором хлорида кальция при кипячении и отделением осадка фильтрацией.

В колбу наливают 10 мл молока и 2 мл хлорида кальция. Затем свернувшееся молоко помещают в центрифугу на 7-10 мин, после центрифугирования определяют показатель преломления жидкой фракции молока, освобожденной от белков на рефрактометре при 20 °C.

Массовую долю лактозы в молоке определяют по таблице (приложение А).

2. Определить начальную кислотность молока. Для этого предварительно приготовить эталон окраски, до которой необходимо титровать испытуемый образец. В коническую колбу вместимостью 150-200 мл отмеривают пипеткой 10 мл молока, прибавляют 20 мл дистиллированной воды и отбирают пипеткой 1 мл 2,5 % раствора сульфата кобальта.

Для проведения основного опыта в колбу вместимостью 150-200 мл отмеривают пипеткой хорошо перемешанного молока, приливают 20 мл дистиллированной воды, 3 капли 1 % спиртового раствора фенолфталеина, тщательно перемешивают и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия или калия до появления слаборозового окрашивания, соответствующего контрольному эталону, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность молока выражают в процентах молочной кислоты умножением значения кислотности (в °Т) на коэффициент 0,009, где 0,009 – количество молочной кислоты (г), соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора гидроксида натрия или калия.

3. Разлить заранее подготовленное молоко в четыре одинаковых стеклянных стакана по 100-150 мл, в первый стакан внести 2-3 % соли от объема молока, во второй – 10 % сахара, третий стакан оставить для контроля, четвертый – для определения изменения содержания лактозы. В три стакана внести по 2 мл лактобактерий.

4. Стаканы с молоком поставить на водянную баню с температурой 35 °C (три первые стакана).

5. Периодически с интервалом 30 мин определять кислотность молока в каждом из трех стаканов.
6. Определить содержание лактозы в четвертом стакане с интервалом 30 мин.
7. Построить кривые кинетики изменения кислотности молока и содержания количества лактозы в молоке с течением времени.
8. Сделать выводы.

#### **Вопросы к защите лабораторной работы №6**

1. Какие кисломолочные продукты вы знаете?
2. Что такое брожение?
3. Охарактеризуйте молочнокислое брожение.
4. Спиртовое брожение.
5. Маслянокислое брожение.

### **7 Лабораторная работа № 7 Изучение изменения структурных элементов клеток – клеточных стенок, цитоплазмы, мембран, ядер, происходящих в процессе тепловой обработки продуктов**

#### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Лук репчатый, картофель, свекла, морковь, петрушка, бумага фильтровальная, лезвие.
2. 1 % раствор йода в 3 % водном растворе йодистого калия, 10 % раствор поваренной соли, раствор сафранина.
3. Микроскопы, скальпели, стекла предметные и покровные, стаканы вместимостью 200 мл, термометр, фарфоровые ступки с пестиком или металлические терки, стеклянные палочки, ножи, электрическая плитка, бактериологические иглы.

В процессе тепловой обработки в овощах, плодах, бобовых и крупах происходят различные физико-химические изменения, вызывающие формирование свойств, которые присущи готовым кулинарным изделиям из этих продуктов. Изменение свойств продуктов обусловлено в основном изменениями веществ, входящих в их состав. Степень этих изменений зависит как от свойств сырья, так и от режимов его обработки.

Тепловая обработка продуктов растительного происхождения вызывает изменения в строении их тканей. Так, клеточные стенки разрыхляются вследствие частичного растворения содержащихся в них гемицеллюлоз, протопектина и белка экстенсина, а также набухания клетчатки и других труднорастворимых полимеров. Связь между клетками ослабляется.

Деструкция клеточных стенок обуславливает размягчение продукта и изменение его консистенции. В тканях растительных продуктов, доведенных до кулинарной

готовности, клеточные стенки могут быть разрыхленными, однако разрыва их, как правило, не наблюдается.

При изготовлении некоторых изделий растительные продукты, подвергнутые тепловой обработке, превращают в пюреобразную массу с помощью протирочных машин или машин для измельчения вареных продуктов.

При механическом воздействии ткань вареных или припущеных продуктов распадается на отдельные клетки или небольшие конгломераты клеток. Клеточные стенки при этом могут разрушаться, а содержимое клеток переходить в окружающую среду. Поврежденные клетки, которые находятся в пюреобразной массе, могут влиять на качество приготовленных из нее изделий. Так, при изготовлении пюре из картофеля в результате перехода крахмального клейстера из разрушенных клеток в измельченную массу ухудшается качество пюре: оно приобретает тягучую консистенцию.

Количество разрушенных клеток, образующихся при изготовлении пюре, зависит от технологических факторов. Например, при протирании или измельчении продукта в горячем состоянии клеточные стенки практически не разрушаются вследствие их достаточной эластичности. При остывании продукта клеточные стенки становятся более хрупкими, поэтому при получении пюреобразной массы из остывших овощей и плодов может произойти разрушение значительного количества клеток.

Белки, входящие в состав цитоплазмы, мембран, ядер и других клеточных органелл, под действием тепла денатурируют, что вызывает изменение их агрегатного состояния. Белки, находящиеся в продукте в виде растворов, после тепловой денатурации образуют хлопьевидные осадки; белковые обводненные гели (студни) частично обезвоживаются и уплотняются. Денатурация белков мембран вызывает разрушение последних.

При нагревании с водой крахмалосодержащих продуктов крахмальные зерна в той или иной степени клейстеризуются. Образование крахмального клейстера наряду с деструкцией клеточных стенок способствует формированию относительно мягкой консистенции готовых продуктов.

Изменения в структуре тканей растительных продуктов в процессе нагревания можно наблюдать при микроскопировании препаратов, приготовленных из сырых и вареных овощей, плодов, бобовых и др. Обработка сырых овощей растворами поваренной соли вызывает плазмолиз клеток – отделение цитоплазмы от клеточных стенок вследствие перехода воды из клеточного сока в окружающую среду за счет осмотического давления. Плазмолизованные клетки хорошо просматриваются в микроскопе, так как объем цитоплазмы, окруженной мембраной (плазмалеммой), уменьшается.

Для получения препаратов из овощей от каждого экземпляра отделяют часть мякоти и разрезают ее пополам. Одну половину до снятия срезов хранят в холодной воде, другую варят до готовности. С целью обеспечения сравнимости

результатов срезы для микроскопирования снимают с тех мест мякоти, которые соприкасались друг с другом до разрезания перед варкой.

Для микроскопирования на каждое предметное стекло помещают по два предмета: с левой стороны – из сырых продуктов; с правой – из вареных продуктов, добавив к ним по капле воды. Каждый препарат рассматривают в неокрашенном и в окрашенном виде. В качестве красителей для препаратов из овощей используют сафранин, который окрашивает пектиновые вещества в оранжево-желтый цвет, а клетчатку и хлопья денатурированных белков – в вишнево-красный цвет, для крахмалосодержащих овощей используют, кроме того, йод. При окрашивании препаратов с них удаляют воду с помощью фильтровальной бумаги, наносят по капле краски и выдерживают в течение 2 мин. Затем с препаратов снимают избыток красящего раствора и добавляют к ним по капле воды. На окрашенные и неокрашенные препараты кладут покровные стекла.

Микроскопирование препаратов следует производить сначала при малом увеличении, а затем при большом увеличении.

### **Задание**

1. *Исследование строения тканей лука репчатого.* От луковицы отделить одну мясистую чешую и разрезать ее пополам вдоль оси роста; одну половинку поместить в стакан с холодной водой, другую – в стакан с кипящей водой и варить в течение 15 мин. С внутренней стороны сырых и вареных чешуек снять с помощью бактериологической иглы тонкую пленку. Полученные пленки расправить, вырезать из наиболее тонких участков по два небольших препарата и поместить их на два предметных стекла, как указано выше, добавив к каждому препарату по капле дистиллированной воды. Препараты на одном предметном стекле оставить не окрашенными, а на другом – окрасить сафранином. Обратить внимание на толщину и состояние клеточных стенок, плотность прилегания их друг к другу, степень прозрачности содержимого клеток, наличие ядер. Отметить различия в строении тканей сырого и вареного лука, а также в структуре и интенсивности окраски отдельных элементов клеток. Зарисовать окрашенные препараты, обозначив на рисунках структурные элементы клеток. Неокрашенные препараты использовать для наблюдения плазмолиза клеток. С препаратов снять покровные стекла, фильтровальной бумагой удалить воду и добавить несколько капель 10 % раствора поваренной соли. Выдержать препараты в течение 10-15 мин, накрыть покровными стеклами и рассмотреть под микроскопом. Найти в поле зрения плазмолизованные клетки в препаратах сырого лука, зарисовать.

2. *Исследование строения тканей картофеля.* Из середины очищенного клубня вырезать ломтик толщиной 5 мм и разрезать его пополам. Одну половину ломтика поместить в стакан с холодной водой, другую – в стакан с кипящей водой и варить в течение 10-15 мин (оставшиеся боковые части клубня поместить в холодную воду). Из сырой и вареной половинок ломтика картофеля вырезать, соблюдая симметрию, по одному брускочку. С помощью бритвенного лезвия с торцевой

стороны каждого бруска сделать по три тонких прозрачных среза, перенести бактериологической иглой на три предметных стекла и добавить по капле воды. Препараты на одном предметном стекле оставить неокрашенными, на другом – окрасить сафрином, на третьем – сафрином и йодом. Все препараты накрыть покровными стеклами и рассмотреть под микроскопом. Обратить внимание на форму клеток, плотность прилегания их друг к другу, состояние клеточных стенок и зерен крахмала в тканях сырого и вареного картофеля.

*3. Изучение влияния некоторых технологических факторов на сохранность клеточных стенок картофеля.*

Две боковые части клубня поместить в стакан с кипящей водой и варить в течение 20-25 мин. Одну часть в горячем состоянии растереть в ступке или на терке, другую охладить до комнатной температуры и также растереть. Приготовить препараты для микроскопирования. На предметное стекло добавить по капле раствора йода и накрыть покровными стеклами. При рассмотрении препаратов при малом увеличении сравнить количество клеток с разрушенными клеточными стенками в том и другом пюре. Рассмотреть препараты при большом увеличении и зарисовать. Сделать вывод о влиянии температуры вареного картофеля при его протирании на степень сохраняемости клеточных стенок.

*4. Исследование строения тканей корнеплодов.* Препараты готовят так же, как и препараты из картофеля. Ломтики свеклы варят 40-45 мин, моркови – 20-25 мин, петрушки – 15 мин. Препараты свеклы, моркови окрашивают сафрином, петрушки – сафрином и йодом. Сделать вывод о влиянии тепловой обработки овощей на структуру их тканей.

5. Сделать общие выводы о работе.

**Вопросы к защите лабораторной работы №7**

Каковы функции клетки как объекта биотехнологии?

1. Каково строение клетки?
2. Какие изменения происходят в процессе тепловой обработки в овощах, плодах, крупах?
3. Исследование строения ткани лука репчатого.
4. Исследование строения тканей картофеля, корнеплодов.

## **8 Лабораторная работа №8 Исследование влияния состава посолочных смесей на органолептические показатели и выход мясопродуктов**

### **Материалы, реактивы и оборудование**

1. Дистиллированная вода, бумажные пакеты с вкладышами из фильтровальной бумаги, 40 г сахара, 230 г соли, аскорбиновая кислота.

2. Раствор нитрата серебра молярной концентрацией 0,1 моль/дм, индикатор (бихромат калия).

3. Стаканы вместимостью 150 мл, колбы вместимостью 500 мл, ступки фарфоровые, аппарат Чижовой, обеззоленные фильтры диаметром 9-11 см, предварительно выдержаные в течение 3 суток в эксикаторе над насыщенным раствором хлорида натрия, сушильный шкаф.

Для достижения необходимых потребительских и технологических свойств готового продукта (вкуса, аромата, цвета, консистенции), а также для предохранения от микробиологической порчи осуществляют посол мяса. Для этого в мясо вводят посолочные вещества.

Посол является сложной совокупностью различных по своей природе процессов: массообмена (накопление в мясе в необходимых количествах посолочных веществ и их равномерное распределение по объему продукта, а также возможная потеря солерасторимых веществ мяса в окружающую среду); изменения белковых и других веществ мяса; изменения влажности и влагосвязывающей способности мяса; изменения массы; вкусоароматообразования в результате развития ферментативных и микробиологических процессов и использования вкусовых веществ и ароматизаторов в составе посолочных смесей; стабилизации окраски продукта. Посол применяется при выработке широкого ассортимента мясных продуктов при использовании различных методов и способов.

Классические методы посола: мокрый (погружение мяса в раствор посолочных веществ – рассол), сухой (нанесение посолочных смесей на поверхность мяса) и смешанный (сочетание мокрого и сухого). При любом методе происходит массообмен между посолочными веществами и растворимыми составными частями продукта, в результате чего изменяются масса и структурно-механические свойства сырья и продуктов.

Обязательной доминирующей составляющей посолочных составов является поваренная соль. Накопление ее в мясе в оптимальном количестве придает ему соленый вкус, оказывает консервирующее действие. Сочетание посола с другими консервирующими воздействиями (охлаждение, обезвоживание, копчение, тепловая обработка) надежно предохраняет готовый продукт от порчи.

Поваренная соль не обладает в применяемых концентрациях выраженным бактериостатическим действием, однако в некоторой степени способна подавлять развитие большинства микроорганизмов, в том числе гнилостных. Наконец, хлорид натрия формирует специфический вкус мясопродуктов. При этом установлено, что совместное применение поваренной соли с другими компонентами значительно улучшает выраженность этого вкуса.

Операция посола в технологии мясных продуктов многофункциональна и во многом определяет формирование необходимых сенсорных характеристик готовых изделий: вкуса, аромата, консистенции, стабилизацию цвета.

Значительная роль принадлежит посолу в формировании специфической окраски мясопродуктов. Здесь большое значение имеет природный пигмент – белок миоглобин, который, легко вступая в окислительно-восстановительные реакции, может существовать в трех молекулярных формах, отличающихся цветом.

Естественная окраска мяса обусловлена наличием в мышечной ткани миоглобина – хромопротеина, состоящего из белкового компонента (глобина) и простетической группы (гема), и составляющего около 90 % общего количества пигментов мяса (10 % представлены гемоглобином крови).

Механизм образования цвета соленого мяса весьма сложен. Розово-красную окраску можно получить лишь при равномерном введении окиси азота в виде нитрита натрия или калия.

Окраска свежего несоленого мяса обусловлена присутствием пигментов миоглобина и гемоглобина. При посоле мяса в присутствии поваренной соли миоглобин или оксимиоглобин окисляются и переходят в метмиоглобин. В связи с этим при посоле мясо теряет свою естественную окраску и приобретает коричнево-бурую с разными оттенками.

В практике посола мясо и мясопродукты предохраняют от нежелательных изменений окраски, добавляя в рассол или сухую посолочную смесь нитрит натрия.

В реакции цветообразования важную роль играет также pH среды. При чрезмерном снижении pH яркость окраски падает, что объясняется развитием денатурационных процессов белков. Кроме того, при pH ниже 5,0 азотистая кислота интенсивно разлагается, оксид азота улетучивается, в результате чего не удается получить хорошую окраску мясных продуктов. Лучшими условиями для получения интенсивного цвета мяса является диапазон pH от 5,4 до 6,0.

В практике производства мясных продуктов для стабилизации цвета используют аскорбиновую кислоту, которая легко взаимодействует с кислородом воздуха и тем самым защищает пигменты мяса от окисления, стабилизирует окраску. Благодаря этому изделия после посола и термообработки сохраняют яркий цвет. При этом необходимо иметь в виду, что превышение допустимых количеств вводимой аскорбиновой кислоты может привести не к стабилизации цвета, а к образованию коричнево-зеленоватого оттенка и ухудшению других показателей готовой продукции.

Применение сахара при посоле способствует получению более вкусного и нежного продукта, а также для жизнедеятельности молочнокислых бактерий и для увеличения устойчивости окраски соленых продуктов. Увеличение массовой доли вводимого сахара больше 2 % может вызвать нежелательное

развитие микрофлоры, что приведет к накоплению избыточного количества кислот и порче продукта (закисание).

В создании вкуса и аромата соленого мяса принимают участие тканевые ферменты и, по-видимому, ферменты микроорганизмов.

В последнее время выделены чистые бактериальные культуры, которые при посоле вводят в мясо для улучшения вкуса и аромата готового посоленного продукта.

В связи с существенным влиянием условий посола, в частности, состава посолочных смесей на качественные показатели продукта – цвет, аромат, вкус, консистенцию, а также на выход и хранимость, необходимо принимать во внимание особенности развития основных процессов: диффузионного обмена между мясом и внешней средой, развития микрофлоры, деятельности тканевых ферментов, механизма стабилизации окраски.

Знание закономерностей, лежащих в основе процессов формирования сенсорных характеристик мясопродуктов, и целенаправленное управление факторами, влияющими на развитие этих процессов, позволяют получать мясные изделия с привлекательным внешним видом и стабильными органолептическими характеристиками.

**Задание 1.** В образцах мяса (свинина – 30 г) перед посолом определяют исходные показатели: цвет, аромат, запах, массовую долю соли, массовую долю общей влаги.

*Определение массовой доли соли.* Исследуемый образец помещают в фарфоровую ступку, измельчают ножом, тщательно растирают пестиком, после чего добавляют 100 мл дистиллированной воды, снова растирают и размешивают. Для полной экстракции соли оставляют смесь на 20 мин при температуре 15-25 °С. Смесь фильтруют, 2 мл фильтрата отбирают в колбу, добавляют 1-2 капли индикатора (бихромата калия) и 1 мл воды. Затем титруют раствором нитрата серебра молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> до появления кирпично-красной окраски. Массовую долю поваренной соли в мясе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{k \cdot H \cdot 0,00535 \cdot V \cdot 199}{a \cdot v} \quad (8.1)$$

где Н – объем раствора нитрата серебра молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, пошедшего на титрование, см<sup>3</sup>;

к – поправочный коэффициент к титру;

а – масса навески мяса, г;

V - объем вытяжки, взятой для титрования, см<sup>3</sup>;

0,00535 - титр раствора нитрата серебра по хлору;

v – общий объем воды, взятой для извлечения соли из мяса, (100 см<sup>3</sup>).

*Определение массовой доли общей влаги.* Берут навеску массой 2 г, помещают в бумажные пакеты (10×7 см) с вкладышем из фильтровальной бумаги и равномерно распределяют. Затем помещают в аппарат Чижовой или сушильный шкаф, предварительно прогретый до 150-165 °С, и сушат в течение 3-5 мин. Пакеты после высушивания охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Вынимают вкладыш и взвешивают пакет. Массовую долю влаги вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(M - m) \cdot 100}{M - L} \quad (8.2)$$

где L – масса высушенного бумажного пакета с вкладышем из фильтровальной бумаги, г;

M – масса бумажного пакета с вкладышем из фильтровальной бумаги и навеской до высушивания, г;

m – масса бумажного пакета с вкладышем из фильтровальной бумаги и навеской после высушивания, г.

2. Провести посол сырья ( мясо свинины – 30 г) мокрым и сухим способом. В качестве компонентов посолочных смесей используют сахар, аскорбиновую кислоту. Состав и дозировка компонентов посолочных смесей следующая:

- 1) поваренная соль – 2,0-2,5 %;
- 2) поваренная соль – 2,0-2,5 %, сахар – 1 %;

3) поваренная соль -2,0-2,5 %, аскорбиновая кислота – 0,05 % к массе свинины. Мокрый посол мяса осуществляют в стаканах или колбах. Фиксируют время посола.

В кусочках мяса в процессе посола через равные промежутки времени (30 мин) определяют сенсорные характеристики: цвет на поверхности и на разрезе (органолептически). Кусочки мяса после фиксированного времени посола (1,5 ч) подвергают термообработке (варка в воде) до достижения кулинарной готовности. После термообработки определяют цвет, аромат, вкус, консистенция (нежность, жесткость), сочность. После этого анализируют бульоны (запах, аромат, вкус).

3. Сделать выводы по результатам исследований, обосновывая вариант посолочной смеси для получения продукта с наилучшими органолептическими показателями.

### **Вопросы к защите лабораторной работы №8**

1. С какой целью проводится посол мяса?
2. Какие методы посола вы знаете?
3. Что используется для стабилизации мясных продуктов?
4. Как определяют массовую долю соли?
5. Как определяют массовую долю общей влаги?

## **9 Лабораторная работа №9 Оценка качества муки**

## **Материалы, реагенты и оборудование**

1. Дистиллированная вода, мука, бумажные фильтры.
2. 0,1 н. раствор NaOH, фенолфталеин.
3. Колбы вместимостью 150-200; 300-500 мл, пипетки, весы, стеклянные палочки, стаканы, электрическая плитка, стеклянные воронки, рефрактометр, цилиндр.

Мука является основным сырьем хлебопекарной и макаронной промышленности. Она используется также для производства мучнистых кондитерских изделий. Мукой называется порошкообразный продукт, полученный в результате размола зерна. Ее различают по роду злака, характеру помолу, выходу. Характеризуют муку также и по сортам.

Биотехнология приготовления хлеба имеют следующие особенности:

- процесс приготовления хлеба является многостадийным, основные этапы которого имеют различные оптимальные параметры и факторы, влияющие на направленность биохимических и микробиологических процессов;
- нестабильные свойства и состав основного и дополнительного сырья хлебопекарного производства;
- сложность и в большинстве случаев неопределенность химического состава муки.

Поэтому при оценке качества пшеничной муки большое значение имеет ряд показателей, характеризующих ее хлебопекарное достоинство.

### **Органолептическая оценка качества муки.**

**Запах.** 20 г муки высыпают на чистую бумагу, согревают дыханием и исследуют на запах. Для усиления ощущения запаха муку в стакане обливают горячей водой, а потом определяют запах.

**Вкус, хруст** определяют путем разжевывания 1-2 навесок муки около 1 г каждая.

**Цвет муки** определяют путем сравнения испытуемого образца с установленными образцами.

### **Физико-химические показатели качества муки.**

**Кислотность муки.** Этот показатель позволяет судить о свежести муки или условиях ее хранения.

*Определение общей титруемой кислотности по водно-мучной суспензии (по питательной смеси).*

5 г муки помещают в колбу вместимостью 150-200 мл, приливают цилиндром 50 мл дистиллированной воды, взбалтывают до исчезновения комочеков, добавляют 5 капель фенолфталеина и титруют до розового окрашивания, не исчезающего в течение 1мин (при работе с водопроводной водой ее предварительно оттитровывают). Из двух параллельных результатов берут средний. Результаты выражают в градусах кислотности (для выражения кислотности в градусах количество израсходованной 0,1 н. щелочи умножают на 2.).

*Определение титруемой кислотности по водному экстракту (по водной*

*вытяжке)*

25 г муки помещают в колбу или банку вместимостью 300-500 мл, приливают мерной колбой 250 мл дистиллированной воды, тщательно размешивают и оставляют на 2 ч для возможно более полной диффузии экстрактивных веществ. Затем фильтруют в сухую колбу с возвратом первых мутных порций фильтрата на фильтр. Пипеткой отбирают в коническую колбу 25 мл фильтрата, добавляют 3-4 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором щелочи до розовой окраски. Для выражения кислотности в градусах количество израсходованной 0,1 н. щелочи умножают на 4.

Кислотность ржаной муки при нормальных условиях и длительности хранения (в град): сеянной – 4; обдирной – 5; обойной – 5,5; пшеничной муки высшего сорта – 3; первого сорта – 3,5; второго сорта – 4,5; обойной – 5.

**Автолитическая активность муки.** Автолитической активностью муки называется способность ее образовывать водорастворимые вещества при прогреве водно-мучной суспензии. Эта способность зависит от активности ферментов и податливости субстрата, на который они действуют. Имеющиеся в муке ферменты амилолитические, протеолитические, липаза и другие расщепляют высокомолекулярные вещества на простые соединения, растворимые в воде. Образующиеся при этом сахара, декстрины, водорастворимые белки, аминокислоты, глицерин, минеральные соли, кислые фосфаты и составляют основную массу водорастворимых веществ. Помимо этого в состав водорастворимых веществ входят и нативные (собственные) водорастворимые вещества муки, перешедшие в нее из зерна.

*Определение автолитической активности муки.* Для определения автолитической активности муки во взвешенные на весах стаканчики со стеклянной палочкой, остающейся в нем в течение всего определения, отвешивают 1 г муки, добавляют 10 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивают палочкой. Стаканчики с пробами одновременно погружают в кипящую водяную баню. Первые 2-3 мин содержимое стаканчика перемешивают палочкой 3-4 раза для равномерной клейстеризации крахмала муки, причем перемешивают одновременно в двух стаканчиках. По окончании клейстеризации для предохранения от испарения воды стаканчики накрывают стеклянными воронками. После 15 минутного прогрева от момента погружения стаканчики одновременно вместе с крышкой вынимают из бани и в каждый из них немедленно вливают до 20 мл дистиллированной воды, энергично перемешивают и охлаждают до комнатной температуры. Затем содержимое стаканчиков доводят на весах дистиллированной водой до 30 г. После тщательного перемешивания до появления пены содержимое стаканчиков фильтруют через складчатый фильтр. Так как масса получается трудно фильтрующейся из-за своей вязкости, то на фильтр не рекомендуется переносить осадок. Первые 2 капли фильтрата отбрасываются, а последующие 2-3 капли стеклянной палочкой наносят на призму рефрактометра.

**Задание:** Провести органолептическую оценку качества выданных образцов муки (цвет, запах, вкус, хруст); физико-химические показатели (кислотность муки, автолитическая активность муки). Сделать выводы.

**Вопросы к защите лабораторной работы №9**

1. Что такое первичные метаболиты? Привести примеры.
2. Что такое вторичные метаболиты? Привести примеры.
3. Определение автолитической активности муки.
4. Определение кислотности муки.

## **Список использованных источников**

1. Беккер М.Е. Биотехнология/ М.Е. Беккер, Г.К Лиепиньш, Е.П. Райпулис. М.: Агропромиздат, 1990. – 333 с.
2. Биотехнология: учеб. пособие для вузов. В 8 кн. / Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн.: Проблемы и перспективы / Н.С Егоров, А.В. Олескин, В.Д. Самуилов. – М. : Высш. шк., 1987. -159 с.
3. Ивашов В. И. Биотехнология и оценка качества животных кормов/ В.И. Ивашов, А.И. Сницарь, И.М. Чернуха. – М.: Агропромиздат, 1991. – 192 с.
4. Крусь Г.Н. Методы исследования молока и молочных продуктов/ Г.Н. Крусь. – М.: Колос, 2000. – 368 с.
5. Лабораторный практикум по общей технологии пищевых производств/ А.А. Виноградова [и др.]; под ред. Л.П. Ковальской. - М.: Агропромиздат, – 1991. – 335 с.
6. Матвеева И.В. Биотехнологические основы приготовления хлеба/ И.В.Матвеева, И.Г. Беляевская. – М.: ДeЛи принт, 2001. – 150 с.
7. Рогов И.А. Пищевая биотехнология: В 4 кн. Кн. 1. Основы пищевой биотехнологии/ И.А. Рогов, Л. В. Антипова, Г. П. Шуваева– М: КолосС, 2004. – 440 с.

## Приложение А (справочное)

Таблица А.1 Массовая доля лактозы в молоке

| Показатель преломления | Массовая доля лактозы, % | Показатель преломления | Массовая доля лактозы, % |
|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
| 1,3390                 | 3,01                     | 1,3412                 | 4,08                     |
| 1,3391                 | 3,06                     | 1,3413                 | 4,13                     |
| 1,3392                 | 3,11                     | 1,3414                 | 4,18                     |
| 1,3393                 | 3,16                     | 1,3415                 | 4,23                     |
| 1,3394                 | 3,21                     | 1,3416                 | 4,28                     |
| 1,3395                 | 3,26                     | 1,3417                 | 4,33                     |
| 1,3396                 | 3,31                     | 1,3418                 | 4,38                     |
| 1,3397                 | 3,36                     | 1,3419                 | 4,44                     |
| 1,3398                 | 3,42                     | 1,3420                 | 4,49                     |
| 1,3399                 | 3,47                     | 1,3421                 | 4,54                     |
| 1,3400                 | 3,52                     | 1,3422                 | 4,59                     |
| 1,3401                 | 3,57                     | 1,3423                 | 4,64                     |
| 1,3402                 | 3,62                     | 1,3424                 | 4,69                     |
| 1,3403                 | 3,67                     | 1,3425                 | 4,74                     |
| 1,3404                 | 3,70                     | 1,3426                 | 4,79                     |
| 1,3405                 | 3,72                     | 1,3427                 | 4,84                     |
| 1,3406                 | 3,77                     | 1,3428                 | 4,89                     |
| 1,3407                 | 3,82                     | 1,3429                 | 4,95                     |
| 1,3408                 | 3,87                     | 1,3430                 | 5,00                     |
| 1,3409                 | 3,93                     | 1,3431                 | 5,05                     |
| 1,3410                 | 3,98                     | 1,3432                 | 5,10                     |
| 1,3411                 | 4,03                     | 1,3433                 | 5,15                     |



