

А.А. Арутюнянц

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО КУРСУ «ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ»

Учебно-методическое пособие



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ К.Л. ХЕТАГУРОВА»

Кафедра общей и неорганической химии

А.А. АРУТЮНЯНЦ

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО КУРСУ
«ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ»**

Учебно-методическое пособие

ББК 36-1
А79

Утверждено
решением научно-методического совета СОГУ

А79 **Арутюнянц А.А.** Лабораторный практикум по курсу «Пищевая химия»: Учебно-методическое пособие / Под ред. докт. хим. наук **В.Т. Абаева**. Сев.-Осет. гос. ун-т им. К.Л. Хетагурова. Владикавказ: Изд-во СОГУ, 2013. – 88 с.

Научный редактор – докт. хим. наук **В.Т. Абаев**

Рецензент – докт. тех. наук, проф. **Н.Ф. Бирагова** (СКГТУ)

Целью лабораторного практикума является изучение состава химических веществ пищевого сырья и готовой продукции. Лабораторный практикум предназначен студентам, обучающимся по специальностям «Химия», «Производство продуктов питания из растительного сырья», «Товароведение и экспертиза товаров», изучающих дисциплины «Пищевая химия», «Химия пищи».

В данном учебно-методическом пособии предлагаются работы к основным разделам курса «Пищевой химии»: «Углеводы», «Липиды», «Белки», «Ферменты», «Нуклеиновые кислоты», «Витамины», «Минеральные вещества». По каждой из предлагаемых тем разработаны вопросы и задания для вводного и итогового контроля, способствующие лучшему усвоению свойств разных классов органических веществ, обуславливающих их функции в обмене веществ живых организмов. В конце каждой темы приводится список литературы, позволяющей ответить на предлагаемые вопросы и выполнить задания.

ББК 36-1

©Издательство Северо-Осетинского
государственного университета
имени К.Л. Хетагурова, 2013

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ТЕМА 1. УГЛЕВОДЫ.....	6
Лабораторная работа 1 Исследование состава молока.....	6
Лабораторная работа 2 Определение содержания лактозы цианидным спо- собом.....	7
Лабораторная работа 3 Определение кислотности молока.....	9
Лабораторная работа 4 Определение качества меда.....	10
Лабораторная работа 5 Определение содержания крахмала в пищевых продуктах.....	19
ТЕМА 2. ЛИПИДЫ.....	23
Лабораторная работа 6 Характерные реакции на жиры. Доказательства строения жиров.....	23
Лабораторная работа 7 Установление качества жиров.....	26
ТЕМА 3. АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ.....	31
Лабораторная работа 8 Цветные реакции на аминокислоты и белки. Свой- ства белков.....	32

Лабораторная работа 9	
Определение аминного азота медным способом.....	43
Лабораторная работа 10	
Буферные свойства раствора белка.....	45
ТЕМА 4. ФЕРМЕНТЫ.....	48
Лабораторная работа 11	
Качественные пробы на присутствие ферментов.....	48
ТЕМА 5. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ.....	51
Лабораторная работа 12	
Выделение рибонуклеопротеида (РНП) из дрожжей	51
ТЕМА 6. ВИТАМИНЫ.....	54
Лабораторная работа 13	
Определение содержания витамина С.....	54
ТЕМА 7. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА.....	58
Лабораторная работа 14	
Исследование золы.....	58
ТЕМА 8. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ.....	61
Лабораторная работа 15	
Составление карты пищевой и энергетической ценности пищевых продуктов.....	64
Лабораторная работа 16	
Определение пищевой ценности молочных продуктов химическим методом.....	68
Лабораторная работа 17	
Аминокислотный скор.....	81

ВВЕДЕНИЕ

Получение и потребление пищи опираются на сложные механизмы превращения химических веществ сырья и продуктов под действием различных факторов. Управление этими процессами позволит решить одну из самых актуальных проблем, связанную с удовлетворением физиологических потребностей человека в пищевых веществах в соответствии с научно обоснованными нормами питания. Качество питания зависит от набора химических веществ и направленного регулирования процессов формирования качественных характеристик, обеспечивающих требуемый уровень пищевой ценности продуктов.

Целью данного лабораторного практикума является:

- изучение состава химических веществ пищевого сырья и готовой продукции, функционально-технологических свойств компонентов, механизмов их превращений под воздействием физико-химических, химико-биотехнологических факторов и направленного регулирования качественных характеристик пищевых систем готовой продукции;
- изучение состава (химических веществ) пищевого сырья и продуктов, технологической и биологической функциональности основных веществ пищи, механизмов их превращений под действием различных факторов и направленного регулирования качественных характеристик пищевых систем.

ТЕМА 1. УГЛЕВОДЫ

1. Какие органические вещества относятся к классу углеводов?
2. Какие классы углеводов Вы знаете?
3. К каким классам относятся лактоза, сахароза, крахмал?
4. В каких продуктах (кроме молока) содержится лактоза?
5. Какие качественные реакции на углеводы Вы знаете?
6. Классификация и основные свойства углеводов.
7. Особенности физиологического значения усвояемых и неусвояемых углеводов (пищевых волокон).
8. Роль крахмала в питании?
9. Что такое гликоген? Особенности его образования и физиологическое значение.
10. Влияние пищевых волокон (неусвояемых углеводов) на жизнедеятельность организма человека.
11. Нормы усвояемых и неусвояемых углеводов в питании.
12. Превращения углеводов при хранении и технологической обработке сырья и пищевых продуктов.
13. Пищевые продукты – основные источники усвояемых и неусвояемых углеводов.

Лабораторная работа 1

Исследование состава молока [3]

Цель работы: разделить молоко на составные части и исследовать их.

Реактивы и оборудование:

Молоко. Колба коническая – 2 шт.

Уксусная кислота. Химический стакан на 400 мл.

Мел. Воронка

Азотная кислота (конц.). Фильтровальная бумага.

10%-ный раствор гидроксида натрия. Марля.

2%-ный раствор сульфата меди. Горелка.

Аммиачный раствор гидроксида серебра. Пробирки.

$[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$.

Молоко содержит сразу три ценных питательных вещества: 1) жир; 2) белок – казеин; 3) углевод – лактозу (восстанавливающий дисахарид, состоящий из двух гексоз – глюкозы и галактозы).

Ход работы

Налейте в колбу 40 мл молока. Для отделения белка прилейте несколько капель уксусной кислоты. При этом казеин сворачивается и образует творожистый осадок (творог). Натяните на стакан марлю, сложенную в четыре слоя, и отфильтруйте через нее казеин. Собранный в марле казеин немного отожмите над стаканом и промойте его через марлю струей воды. Фильтрат в стакане содержит лактозу и уксусную кислоту. Чтобы нейтрализовать кислоту, добавляйте понемногу мел и перемешивайте содержимое стакана до тех пор, пока не перестанет выделяться газ. Профильтруйте раствор через бумажный фильтр в колбу. Докажите, что фильтрат содержит углевод лактозу (разделите раствор на порции и проведите качественные реакции на карбонильную группу – “серебряное зеркало” – и на гидроксильные группы – с гидроксидом меди (II)). Поместите немного белка в три пробирки и проведите качественные реакции на белок (нингидриновую, биуретовую, ксантопротеиновую). Запишите уравнения проделанных реакций.

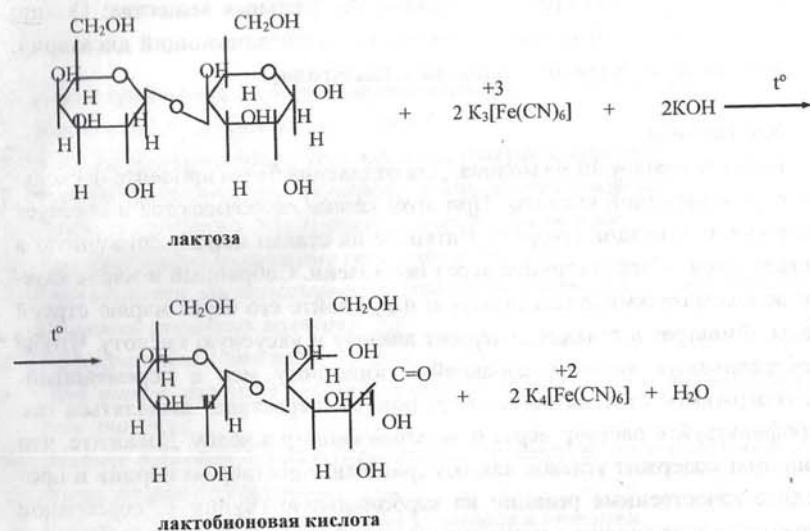
Сделайте вывод о проделанной работе:

1. Какие питательные вещества содержит молоко?
2. Как отделить лактозу от казеина и уксусной кислоты?
3. Как доказать присутствие лактозы в молоке?

Лабораторная работа 2

Определение содержания лактозы цианидным способом [2]

Для определения содержания лактозы в молоке и в молочных продуктах можно использовать метод Бертрана или цианидный метод. Второй метод основан на способности редуцирующих сахаров восстанавливать в щелочном растворе красную кровяную соль $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в желтую $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ при нагревании. Реакция с участием лактозы протекает по схеме:



В качестве индикатора используют метиленовую синь, которая в конце реакции восстанавливается лактозой с образованием бесцветного соединения.

Реактивы и оборудование:

1%-ный раствор гексацианоферрата (III) калия. Мерная колба на 250 мл.
 20 %-ный раствор сульфата цинка. Мерный цилиндр на 10 мл.
 Раствор гидроксида натрия ($c = 2,5$ моль/л) Бюретка на 25 мл.
 0,2 %-ный раствор метиленовой сини. Капельница.
 Конические колбы на 100 и 250 мл. Электроплитка.
 Воронка с бумажным фильтром. Водяная баня.
 Термометр. Молоко.
 Дистиллированная вода.

1. Приготовление испытуемого раствора лактозы

В мерную колбу на 250 мл с помощью бюретки налить 25 мл молока. Остатки смыть дистиллированной водой объемом не более 150 мл. Кол-

бу поставить на водяную баню при 60 °С на 15 минут и периодически перемешивать. Затем колбу охладить и для осаждения белков добавить 3–4 мл раствора сульфата цинка и 1,5–2 мл раствора гидроксида натрия. Смесь встряхнуть, довести объем раствора водой до метки, перемешать, дать осадку отстояться 10–15 минут и отфильтровать через складчатый фильтр в сухую колбу. Раствор готов для анализа.

2. Ход определения

В бюретку налить раствор лактозы. В коническую колбу на 100 мл с помощью мерного цилиндра налить 10 мл раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 2,5 мл щелочи и одну каплю метиленовой сини. Смесь поставить на электроплитку и нагреть до кипения. Поддерживая слабое кипение, смесь оттитровать испытуемым раствором, добавляя его примерно по 1 капле в секунду, до перехода зеленой окраски (через фиолетовую) в светло-желтую.

При охлаждении раствор приобретает фиолетовую окраску из-за окисления бесцветной формы метиленовой сини кислородом воздуха.

Массовая доля лактозы в молоке рассчитывается по формуле:

$$\omega = 0,012 \cdot V_1 \cdot 100 \% / V_2 \cdot m,$$

где 0,012 – масса лактозы, необходимой для восстановления 10 мл 1%-ного раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, г

V_1 – общий объем испытуемого раствора, равный 250 мл

V_2 – объем испытуемого раствора, пошедшего на титрование 10 мл раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$

m – масса молока (25 г)

Пример. На титрование 10 мл раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ израсходовано 2,9 мл испытуемого раствора лактозы.

$$\omega = 0,012 \cdot 250 \cdot 100 \% / 2,9 \cdot 2,5 = 4,1\%$$

Сделайте выводы о содержании лактозы в молоке.

Лабораторная работа 3 Определение кислотности молока [4]

При определении доброкачественности молока прежде всего определяют его кислотность. Кислотные свойства свежего молока обуславливаются белками, гидрофосфатами и гидроцитратами, дающими ионы

водорода. При хранении молока кислотность его повышается вследствие образования молочной кислоты из молочного сахара под влиянием ферментов, выделяемых молочнокислыми бактериями, попадающими из воздуха. Образующаяся молочная кислота осаждает белок — казеин.

Кислотность молока принято выражать в градусах Тернера (Т). Под градусами Тернера понимают число миллилитров 0,1 н раствора щелочи, необходимых для нейтрализации 100 мл молока. Свежее молоко должно иметь кислотность не выше 20 — 21 °Т. Свертывание казеина происходит при 27–30 °Т.

Реактивы и оборудование:

Молоко. Бюретка.

Дистиллированная вода. Коническая колба на 50 — 100 мл.

0,1 н раствор щелочи. Пипетка на 10 мл.

2 %-ный спиртовой раствор фенолфталеина. Штатив металлический с зажимом.

Мензурка.

Ход работы

10 мл молока вносят пипеткой в колбу, добавляют 20 мл дистиллированной воды и 3 — 5 капель фенолфталеина, смесь взбалтывают. Затем отмечают уровень раствора щелочи в бюретке и постепенно (каплями) приливают его к молоку при взбалтывании до появления слабо-розового цвета, не исчезающего в течение 1 — 2 минут. Число мл раствора щелочи, пошедших на нейтрализацию взятого объема молока, умноженное на 100 (расчеты ведут на 100 мл), показывает кислотность молока в градусах Тернера.

Сделайте выводы о качестве молока на основе его кислотности.

Лабораторная работа 4 **Определение качества мёда [5]**

Химический состав и пищевая ценность меда зависят от многих факторов: источников нектара, региона произрастания растений, времени получения, зрелости меда, породы пчел, погодных и климатических условий, солнечной активности и др. В меде обнаружено около 300 раз-

личных компонентов, 100 из них являются постоянными и имеются в каждом виде [1; 7].

Сахара составляют основную часть меда, их содержание достигает 80%. В созревшем меде содержится до 80–90% глюкозы и фруктозы от суммы всех сахаров и 1–3% сахарозы. Мальтоза синтезируется в процессе созревания меда, и ее содержание может достигать 6–9%. Данные анализа состава сахаров меда используют при характеристике ботанического происхождения меда.

Азотсодержащие вещества, присутствующие в меде, — это в основном белки в коллоидном состоянии. Их содержание в цветочных сортах меда невелико, 0,08–0,40%: в вересковом и гречишном — 1%, а в падевом — до 1,9%. Они вызывают помутнение и потемнение меда при нагревании и являются центрами кристаллизации при его хранении. Считается, что белковые вещества пчелиного меда в основном представлены ферментами. Наиболее изучены амилолитические ферменты — α - и β -амилазы. Их активность определяют диастазным числом. По действующему стандарту диастазное число не должно быть ниже 5 единиц.

В меде также содержатся свободные аминокислоты: в зарубежном — это пролин и фениламин, а в отечественном — треонин. Его содержание в светлых сортах меда колеблется от 54 до 68% от общего количества свободных аминокислот.

Мед содержит 0,3% органических (муравьиная, уксусная, молочная) и 0,03 % неорганических (соляная, фосфорная) кислот. Поэтому он имеет, как правило, кислотную реакцию среды, которую определяют по активной кислотности разбавленного раствора меда и выражают в единицах pH. Для цветочных светлых сортов меда значения pH колеблются от 3,5 до 4,1, а у липового меда — от 4,5 до 7,0.

Есть в меде и витамины, в основном водорастворимые, а также 37 макро- и микроэлементов. Например, содержание аскорбиновой кислоты (витамина С) изменяется от 5 до 65 мг/кг. Кислотная среда меда препятствует быстрому разрушению витаминов во время хранения.

Оценку качества пчелиного меда проводят в соответствии с требованиями ГОСТа 19792-74, учитывая органолептические и физико-химические показатели.

В данной работе по определенным признакам и показателям качества меда можно отличить натуральный мед от фальсифицированного.

Органолептические показатели

Ход работы

Из органолептических показателей меда проверяются: его цвет, вкус, аромат, консистенция, признаки брожения и наличие примесей.

Цвет меда может быть белым, янтарным, темно-коричневым и др. Он определяется визуально или на фотоэлектроколориметре КФК. Для определения оптической плотности проба меда нагревается до 50°C, процеживается через сито, охлаждается до комнатной температуры и помещается в кювету толщиной 10 мм. По значениям оптической плотности определяется класс цветности меда [7].

Вкус меда определяется после предварительного нагревания пробы до 30°C в закрытом стеклянном бюксе. Вкус меда обычно сладкий, приятный и зависит от концентрации сахаров и их вида. Мед, выдержанный при высокой температуре, имеет карамельный привкус, что является недопустимым. Неприемлем также мед с излишне кислым, прогорклым, плесневым и сброженным привкусами. Натуральный мед раздражает слизистую оболочку рта и гортани из-за присутствия полифенольных соединений, переходящих в мед с нектаром. Сахарный мед такого восприятия не дает.

Аромат обусловлен комплексом ароматических соединений. Интенсивность аромата зависит от количества и состава летучих органических веществ в меде.

Цветочный аромат исчезает при брожении, длительном и интенсивном нагревании, долгом хранении, при добавлении сахарного сиропа, патоки, а также при кормлении пчел сахарным сиропом. Для определения аромата в стеклянный бюкс помещается 30 г меда, закрывается крышкой и нагревается на водяной бане при температуре 40–45°C в течение 10 минут. Открывается крышка и тотчас же вдыхается аромат.

Консистенция меда может быть жидкой, вязкой, плотной и смешанной. Этот показатель определяется по характеру стекания меда с погруженного в него шпателя. Если консистенция:

жидкая — мед стекает мелкими нитями и каплями;

вязкая — стекает редкими нитями и вытянутыми каплями;

очень вязкая — стекает редкими толстыми нитями;

плотная — шпатель погружается в мед при дополнительном усилии;

смешанная — наблюдается расслоение на два слоя: верхний — жидкий и нижний — твердый (выпавшие кристаллы глюкозы).

Смешанная консистенция наблюдается при кристаллизации меда, подвергнутого тепловой обработке, а также при хранении меда, смешанного с сахарным сиропом.

Признаки брожения — это появление большого количества пузырьков углекислого газа, кислого запаха и вкуса. Брожению подвергается мед, влажность которого более 21%. При этом происходит как спиртовое, так и уксуснокислородное брожение. Мед непригоден в пищу, если процесс брожения протекал длительное время и содержание воды в меде увеличилось до 22%.

Для определения **примесей** готовится 5%-ный раствор меда в воде. Если мед чистый, раствор получается слегка мутным. При наличии примесей образуется осадок.

После изучения органолептических показателей данные помещаются в таблицу 1.

Таблица 1

Органолептические показатели качества меда

Показатели	Цвет	Вкус	Аромат	Консистенция	Признаки брожения	Механические примеси
Норма	От белого до темно-коричневого	Сладкий, приятный, без постороннего привкуса	Естественный, приятный, от слабого до сильного	Жидкая, вязкая, плотная, смешанная (не допускается)	Не допускаются	Не допускаются
Виды исследуемого меда: 1. 2. 3.						

На основании данных в таблице 1 делают вывод о качестве меда по органолептическим показателям.

2. Определение физико-химических показателей мёда

Таблица 2

Содержание воды (ω , %) в мёде в зависимости от температуры и плотности его водного раствора

Плотность г/ см ³	Температура раствора меда, °С									
	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
1,103	26,1	25,9	25,8	25,7	25,5	25,4	25,3	25,1	25,0	
1,104	25,4	25,3	25,2	25,0	24,9	24,8	24,6	24,5	24,4	
1,105	24,8	24,6	24,5	24,4	24,2	24,1	24,0	23,9	23,7	
1,106	24,1	24,0	23,9	23,7	23,6	23,5	23,4	23,2	23,1	
1,107	23,5	23,3	23,2	23,1	23,0	22,9	22,7	22,6	22,4	
1,108	22,8	22,7	22,6	22,5	22,3	22,2	22,1	21,9	21,8	
1,109	22,2	22,1	21,9	21,8	21,7	21,6	21,4	21,3	21,1	
1,110	21,6	21,4	21,3	21,2	21,0	20,9	20,8	20,6	20,5	
1,111	20,9	20,8	20,6	20,5	20,4	20,2	20,1	20,0	19,9	
1,112	20,3	20,1	20,0	19,9	19,7	19,6	19,5	19,4	19,2	
1,113	19,6	19,5	19,4	19,2	19,1	19,0	18,9	18,7	18,6	
1,114	19,0	18,9	18,7	18,6	18,5	18,4	18,2	18,1	18,0	
1,115	18,3	18,2	18,1	18,0	17,8	17,7	17,6	17,4	17,3	
1,116	17,7	17,6	17,5	17,3	17,2	17,1	16,9	16,8	16,7	
1,117	17,1	17,0	16,8	16,7	16,6	16,4	16,3	16,2	16,0	
1,118	16,5	16,3	16,2	16,1	15,9	15,8	15,7	15,5	15,4	
1,119	15,8	15,7	15,6	15,4	15,3	15,2	15,0	14,9	14,8	
1,120	15,2	15,1	14,9	14,8	14,7	14,5	14,4	14,3	14,2	
1,121	14,6	14,4	14,3	14,2	14,0	13,9	13,8	13,7	13,5	

Из физико-химических показателей качества мёда определяются: влажность, содержание сахарозы и восстанавливающих углеводов, диастазное число (см. ниже), содержание витамина С и pH водного раствора.

Влажность определяется ареометрическим методом. Готовится 33%-ный водный раствор мёда и определяется его плотность ареометром, с использованием таблицы 2 [1] находится влажность мёда.

Содержание восстанавливающих углеводов устанавливается по методу Бертрона [4].

Реактивы:

5%-ный раствор NaOH.

Раствор KMnO_4 ($c=0,02$ моль/л).

Раствор $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ($\rho=50$ г/л).

Раствор $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ($\rho=100$ г/л).

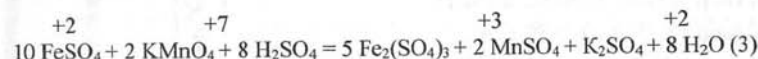
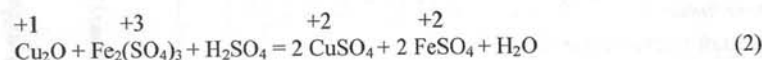
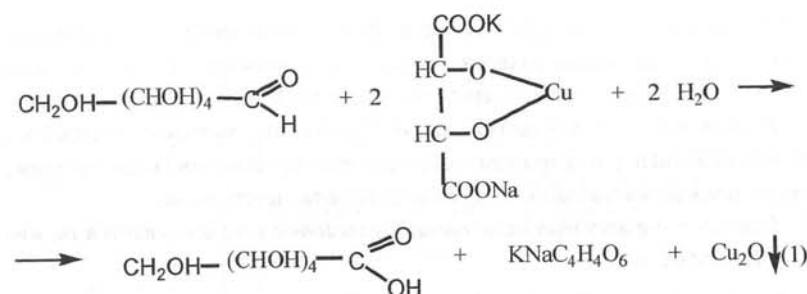
200 мл раствора H_2SO_4 ($\rho=1,84$ г/мл) на 1 л раствора.

1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина.

5%-ный раствор соляной кислоты.

Реактив Фелинга (раствор А – 34,6 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ на 500 мл, раствор Б – 173 г сегнетовой соли и 70 г NaOH на 500 мл, перед употреблением смешивают равные объёмы этих растворов).

При взаимодействии глюкозы, фруктозы и мальтозы с фелинговой жидкостью образуется красный осадок Cu_2O (уравнение 1), который растворяется при добавлении подкисленного раствора $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (уравнение 2). Образовавшийся сульфат железа (II) титруют раствором перманганата калия до появления слабозеленой окраски (уравнение 3):



Ход работы

Отмерить пипеткой 5 мл 10%-ного водного раствора меда и 45 мл воды в колбу для титрования ($V = 250$ мл), добавить по 20 мл растворов сегнетовой соли и сульфата меди. Смесь перемешать, кипятить в течение 3 минут и отстаивать красный осадок Cu_2O 1–2 минуты. Затем жидкость слить и осадок промыть водой декантацией.

К промытому осадку Cu_2O добавить 10–15 мл сульфата железа (III) и титровать раствором перманганата калия до появления слаборозовой окраски, не исчезающей в течение минуты. Повторить титрование 2–3 раза и найти среднее арифметическое значение. Затем рассчитать массу меди, исходя из того, что 1 мл раствора KMnO_4 ($c=0,02$ моль/л) соответствует 6,36 мг меди.

По таблице Бертрона (таблица 3)[4] найти массу восстанавливающих сахаров и вычислить их массовую долю по формуле (4):

$$\omega = (a \cdot V_{\text{р-ра}} \cdot 100) / (m \cdot V_{\text{пробы}}) \quad (4),$$

где a – масса сахаров, найденная по таблице Бертрона, мг;

$V_{\text{р-ра}}$ – общий объем раствора меда, мл;

m – масса навески меда, г;

$V_{\text{пробы}}$ – объем пробы для анализа, мл

При определении содержания сахарозы нужно сначала провести кислотный гидролиз. Для этого надо к 5 мл 10%-ного раствора меда доба-

вить 45 мл воды, 10 мл соляной кислоты, нагреть до 70°C и выдержать при этой температуре на водяной бане 5 минут. Затем охладить до комнатной температуры и нейтрализовать раствором NaOH в присутствии 1–2 капель фенолфталеина.

Общее содержание восстанавливающих сахаров ($\omega_{\text{общ}}$) определяется аналогичным способом. Содержание сахарозы рассчитывается по формуле (5):

$$\omega (\%) = (\omega_{\text{общ}} - \omega) \cdot 0,95(5),$$

где 0,95 – коэффициент пересчета на сахарозу.

Результаты определения углеводов помещаются в таблицу 4 и сравниваются с нормой.

Диастазное число – объем (в мл) 1 %-ного раствора крахмала, который разлагается амилалитическими ферментами за 1 час. Определение можно проводить экспрессным методом [7].

Таблица 3

Таблица Бертрона

Масса, мг		Масса, мг	
меди	моносахарида	меди	моносахарида
1	2	3	4
20	9,8	100	52,65
22	10,8	102	53,85
24	11,8	104	54,95
26	12,9	106	56,3
28	13,9	108	57,25
30	14,9	110	58,4
32	15,9	112	59,5
34	16,9	114	60,7
36	17,9	116	61,9
38	18,9	118	63,1
40	20	120	64,2
42	21	122	65,4
44	22	124	66,6
46	23,1	126	67,8
48	24,2	128	69

1	2	3	4
50	25,2	130	70,1
52	26,3	132	71,4
54	27,3	134	72,55
56	28,35	136	73,8
58	29,4	138	75,05
60	30,5	140	76,25
62	31,6	142	77,5
64	32,7	144	78,7
66	33,75	146	79,9
68	34,85	148	81,2
70	35,95	150	82,45
72	37	152	83,7
74	38,1	154	85
76	39,2	156	86,25
78	40,3	158	87,5
80	40,4	160	88,75
82	42,5	162	90
84	43,6	164	91,25
86	44,8	166	92,5
88	45,9	168	93,8
90	47	170	95,05
92	48,1	172	96,3
94	49,2	174	97,6
96	50,45	176	98,9
98	51,5	178	100,2

Таблица 4

Результаты определения углеводов

Показатели качества меда	Норма	Исследуемый мед		
		1	2	3
Вода, не более (%)	21			
Восстанавливающие сахара, не менее (%)	79			
Сахароза, не более (%)	7			
Диастазное число	5			
pH водного раствора светлых видов меда	3,5 – 4,1			

Реактивы:

0,58%-ный раствор поваренной соли.

1%-ный раствор крахмала.

0,5%-ный раствор йода.

Ход работы

В пробирку налить 10 мл 10%-ного раствора меда, 0,5 мл 0,58%-ного раствора поваренной соли и 5 мл 1%-ного раствора крахмала. Нагреть 1 час на водяной бане при 40 °С. После охлаждения добавить еще одну каплю 0,5%-ного раствора йода. По окраске раствора судят о диастазном числе:

ярко-синий цвет – диастазное число ниже 5 единиц;

светло-синий цвет – диастазное число 5 единиц;

раствор обесцвечивается – диастазное число выше 5 единиц.

Результаты определения показателей качества меда, проверенных экспериментально, сравниваются с литературными данными (норма) и делаются выводы о качестве исследуемого меда.

Лабораторная работа 5

Определение содержания крахмала в пищевых продуктах

Реактивы и оборудование:

25%-ный раствор соляной кислоты. Мерная колба на 200 мл.

10%-ный раствор хлорида натрия. Колбы конич. на 200 мл с обратным холодильником.

0,1 н раствор йода в йодиде калия. Ступки фарфоровые (диаметр 90 мм) с пестиками.

0,1 н раствор тиосульфата натрия. Пипетки градуированные на 1, 5, 10 мл.

0,5 н раствор гидроксида натрия. Пипетки Мора на 15, 25 мл.

2 н раствор серной кислоты. Бюретка на 25, 50 мл.

1%-ный раствор крахмала. Стеклянные стаканы на 200 мл.

Дистиллированная вода. Мерный цилиндр на 100 мл.

Крахмалсодержащие продукты (картофель, мука и т.д.). Предметные стекла.

Стеклянная палочка.

Электроплитка.
Водяная баня.

Ход работы

По 1 г крахмалсодержащих продуктов измельчить. В мерные колбы на 200 мл цилиндром отмерить по 50 мл холодной дистиллированной воды и перенести туда исследуемый продукт. Быстро влить в колбы по 100 мл горячей дистиллированной воды и сразу же поместить их в кипящую водяную баню на 1 час, чтобы полностью перевести крахмал в раствор. Содержимое колб необходимо периодически перемешивать, при этом крахмальные зерна набухнут и распадутся. Затем колбы вынуть из бани, охладить до 40 °С. Пипеткой прибавить к содержимому колб 10 мл раствора слюны и 5 мл 10 %-ного раствора хлорида натрия для активации фермента амилазы слюны.

Для ферментативного гидролиза опустить колбы в водяную баню при 37–40 °С на 1 час. Степень гидролиза крахмала и момент его завершения устанавливается по реакции с йодом. Для этого стеклянной палочкой из колбы достают каплю жидкости с твердыми частицами, переносят пробу на предметное стекло и приливают несколько капель раствора йода в йодиде калия. Исчезновение синего окрашивания при действии йода на пробу свидетельствует об окончании гидролиза крахмала.

Колбу довести водой до метки, тщательно перемешать ее содержимое и отфильтровать в сухой стакан.

Образовавшиеся в результате действия амилазы декстрины и мальтозу гидролизовать 25%-ной соляной кислотой. Для этого 100 мл фильтрата перенести в коническую колбу на 200 мл. Добавить 12 мл 25%-ного раствора соляной кислоты и выдержать колбу на кипящей водяной бане с обратным холодильником 1 час. По окончании гидролиза коническую колбу охладить, раствор полностью перенести в мерную колбу на 200 мл, довести раствор до метки дистиллированной водой.

В полученном растворе определить содержание глюкозы йодометрией. Для этого в коническую колбу с помощью пипетки поместить 10 мл полученного раствора, 15 мл 0,1 н раствора йода, затем медленно добавить 25 мл 0,5 н раствора гидроксида натрия при энергичном помешивании до исчезновения окраски йода. Через 15 минут в колбу прибавить 5 мл 2 н раствора серной кислоты и оттитровать выделившийся йод 0,1 н раствором тиосульфата натрия. Когда раствор станет соломенно-желтым,

добавить пипеткой 1 мл 1 %-ного раствора крахмала на каждые 50 мл жидкости.

Параллельно выполняется контрольный опыт, в котором вместо гидролизата берется такой же объем дистиллированной воды. Содержание крахмала (г и %) в продукте рассчитывается по формуле:

$$C = (V - V_1) \cdot V_2 \cdot 0,009 \cdot 0,9 / (a \cdot V_3),$$

Где V – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольной пробы, мл;

V_1 – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование пробы, мл;

V_2 – объем вытяжки из растительного материала, мл (в данном случае 400 мл);

0,009 – коэффициент пересчета результатов титрования на содержание глюкозы;

0,9 – коэффициент пересчета глюкозы в крахмал;

a – навеска исследуемого материала, г (в данном случае 100 г);

V_3 – объем гидролизата, взятого для йодометрического определения глюкозы, мл (10 мл)

Сделайте выводы о работе.

1. Запишите уравнение гидролиза крахмала, подпишите промежуточные и конечные продукты реакции, их цвет в реакции с йодом.
2. Почему ферментативный гидролиз идет при 37–40 °С?
3. Как определить содержание крахмала в продуктах питания? Для чего это нужно знать?
4. Сравните содержание крахмала в чипсах разных производителей. Сделайте выводы.

Литература к теме «Углеводы»

1. Аганин В.П. Мед и его исследование / В.П. Аганин. Саратов: Саратовский университет, 1985.
2. Волков В.Н. Определение качества молока и молочных продуктов / В.Н. Волков, Н.И. Солодова, Л.А. Волкова // Химия в школе. 2002. №1. С. 57–63.

3. *Головнер В.Н.* Практикум – обобщение по курсу органической химии / В.Н. Головнер // Химия в школе. 1999. №3. С. 58–64.
4. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987.
5. *Потапов В.М.* Строение и свойства органических веществ / В. М. Потапов, И.Н. Чертков. М.: Просвещение, 1972. С. 197–198.
6. *Солодова Н.И.* Как определить качество меда / Н.И. Солодова, Л.А. Волкова, В.Н. Волков // Химия в школе. 2001. №2. С. 64–68.
7. *Чепурной И.П.* Заготовка и переработка меда / И.П. Чепурной. М.: Агропромиздат, 1987.

ТЕМА 2. ЛИПИДЫ

1. Какие вещества относятся к группе липидов?
2. Расскажите о строении и свойствах простых липидов.
3. В чем заключается физиологическая роль липидов в организме человека?
4. Вспомните классификацию липидов. Какие соединения называют триглицеридами (жирами)?
5. Перечислите биологические функции триглицеридов.
6. Какие химические реакции, характерные для триглицеридов, Вам известны? Как они связаны с биологическими функциями этой группы веществ?
7. Что показывает йодное число? Для каких жиров его возможно определить, а для каких – нет и почему?
5. Как определяется йодное число?
6. Расскажите о специфических функциях в организме сложных липидов.
7. Приведите определение «биологической эффективности» пищевых продуктов. Как влияет на этот показатель жирнокислотный состав жира, входящего в продукт?
8. Какова суточная норма потребления липидов человеком? Оптимальное соотношение животных и растительных жиров в питании.
9. Охарактеризуйте основные реакции, протекающие с участием липидов при хранении сырья и производстве пищевых продуктов. Опишите химизм процессов гидролиза и прогоркания жиров.
10. Приведите примеры продуктов богатых липидами, охарактеризуйте их пищевую ценность.

Лабораторная работа 6

Характерные реакции на жиры. Доказательства строения жиров [3, с. 66]

1. Сравнение растворимости подсолнечного масла в различных растворителях

Реактивы и оборудование:

Растительное масло. 7 пробирок.
 Петролейный эфир. Стеклянные палочки.
 Диэтиловый эфир. Водяная баня.

Бензин.
Пипетки.
Бензол.
Хлороформ.
Этиловый спирт.
Дистиллированная вода.

Ход работы

Опыты выполняются в вытяжном шкафу! В семь пробирок поместите по 1 – 2 капли масла, после чего прибавьте в них последовательно по 2 мл растворителя: в первую – дистиллированную воду, во вторую – петролейный эфир, в третью – бензин, в четвертую – бензол, в пятую – хлороформ, в шестую – этиловый спирт, в седьмую – диэтиловый эфир. Шестую пробирку нагрейте на водяной бане. Хорошо перемешайте содержимое каждой пробирки взбалтыванием.

Отметьте результаты опытов в таблице 5.

Таблица 5

Растворимость жиров в различных растворителях

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7
Происходит ли растворение жира							

Сделайте вывод о том, какие из испытанных Вами веществ относятся к растворителям жиров и почему? Сравните растворимость липидов в различных растворителях.

2. Омыление жиров. Доказательства строения жиров

Реактивы и оборудование:

Пробирка. Спиртовой раствор гидроксида калия.
Коническая колба на 50 мл 50%-ный раствор хлорида кальция.
Пробка с воздушным холодильником. Растительное масло.
Фарфоровая чашка. Дистиллированная вода.
Плитка. Гидросульфат калия (кристаллич.).
Спиртовка.
Держатель для пробирки.

Ход работы

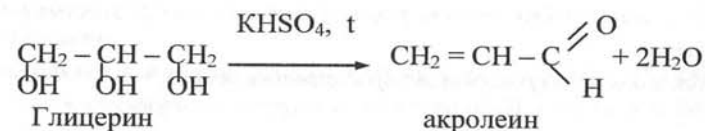
В коническую колбу налейте 2 мл растительного масла, добавьте 5 мл спиртового раствора гидроксида калия. Перемешайте содержимое колбы, закройте ее пробкой с воздушным холодильником и кипятите на плитке в течение 30 минут.

После окончания гидролиза перелейте половину содержимого колбы в фарфоровую чашку, добавьте в нее 10 мл дистиллированной воды и осторожно нагрейте на плитке для удаления спирта. В результате получается раствор калийного мыла.

Докажите присутствие высших карбоновых кислот в растворе, переводя их в нерастворимые соли кальция. Для этого налейте в пробирку 2–3 мл калийного мыла и добавьте 2–3 мл хлорида кальция.

Отметьте, что Вы наблюдаете при добавлении к калийному мылу раствора хлорида кальция. Напишите уравнение протекающей реакции.

Наличие глицерина в составе жиров можно доказать **акролеиновой реакцией**. Для этого перелейте в пробирку оставшуюся в колбе половину гидролизата жира, прибавьте несколько кристаллов гидросульфата калия и нагрейте на спиртовке. При нагревании образуется акролеин в виде белого дыма с характерным резким раздражающим запахом:



Сделайте вывод о строении жиров и их свойствах.

3. Экстрагирование жира на бумаге

Реактивы и оборудование:

Подсолнечное масло.
Фильтровальная бумага.
Диэтиловый эфир.
Стекланный капилляр.
Бензол.
Этиловый спирт.

Ход работы

Заготовьте три кусочка фильтровальной бумаги (3,5 см на 3,5 см). Центральную часть каждого кусочка смочите подсолнечным маслом так, чтобы образовалось небольшое масляное пятно величиной 6-8 мм в диаметре. К центру пятна на бумаге прикоснитесь стеклянным капилляром, наполненным диэтиловым эфиром. Капилляр держите перпендикулярно к бумаге. Добавляйте эфир из капилляра до тех пор, пока пятно, расплываясь, увеличится в диаметре до 18-20 мм.

После испарения растворителя в центре окажется кружочек чистой, обезжиренной бумаги, а масло расположится на периферии расплывшегося пятна концентрическим кольцом. Ответьте, на что это указывает? Как это свойство используется?

Проделайте тот же опыт экстракции масла бензолом и этиловым спиртом. Какие растворители способны экстрагировать жир? На чем основан метод экстракции?

Сделайте выводы о работе:

1. Из каких компонентов состоят липиды? С помощью каких реакций это можно доказать? Как это проверить?
2. В чем растворяются жиры?
3. Охарактеризуйте степень растворения липидов в различных растворителях.
4. Как и для чего проводят экстрагирование жиров?

Лабораторная работа 7

Установление качества жиров. Определение насыщенности жиров

Ненасыщенность жира зависит от присутствия в его составе непредельных жирных кислот. Ненасыщенные соединения легко присоединяют по два атома галогена по месту каждой двойной связи. Обычно степень ненасыщенности определяют йодным числом. Йодное число измеряется количеством граммов йода, которое присоединяется к 100 г жира.

Йодное число является одним из наиболее важных химических показателей для масел (жиров). Оно позволяет судить о степени ненасыщен-

ности масла (жира), о склонности его к «высыханию», прогорканию и другим изменениям, происходящим при хранении и переработке пищевых и технических масел.

С двойными связями, кроме йода реагируют также и другие галогены — хлор и бром. Однако они не только присоединяются по двойным связям, но и замещают атомы водорода в радикале. Йод же в определенных условиях реагирует преимущественно с двойными связями. Напишите механизм реакции ненасыщенных жирных кислот с йодом.

1. Сравнение ненасыщенности различных жиров

Реактивы и оборудование:

Весы торзионные.

Бюретка.

Набор разновесов.

Колбы конические на 100 мл.

Хлороформ.

Пипетка с одной меткой на 3 мл.

0,001 н раствор йода в хлороформе.

Различные жиры (коровье масло, подсолнечное масло, маргарин).

Ход работы

Взвешивают в колбе по 0,5 г различных жиров. Растворяют каждый жир в 3 мл хлороформа и титруют из бюретки 0,001 н раствором йода в хлороформе до отчетливой розовой окраски. Записывают объем раствора йода, пошедшего на насыщение жира.

Расположите исследованные жиры по убывающей степени насыщенности. Сделайте вывод.

2. Определение йодного числа [1]

Реактивы и оборудование

Весы аналитические.

Пробирки стеклянные химические.

Растительное масло.

Пипетка градуированная на 10 мл.

Этиловый спирт.

Колбы конические на 250 мл с пробками — 2 шт.

0,1 н раствор гипосульфита натрия.

Бюретка с краном на 25 мл.

0,5%-ный раствор крахмала.

Цилиндр мерный на 100 мл.

0,2 н раствор йода в 96 %-ном этиловом спирте (25,4 г свежевозогнанного йода переносят в мерную колбу на 1000 мл и растворяют в спирте).

Ход работы

В сухую коническую колбе емкостью 250 мл с пришлифованной стеклянной пробкой поместить исследуемое масло. Навеску взять на аналитических весах следующим образом: взвесить склянку (из-под пенициллина) с маслом и пипеткой в пробке, отмерить из нее пипеткой в колбу 3–4 капли масла и снова взвесить склянку. По разности масс определить величину навески масла. В колбу добавить 25 мл спирта для растворения навески. Если масло плохо растворяется, можно подогреть колбу на водяной бане. Во второй колбе ставится «слепой опыт» (контроль), в нее надо налить 25 мл спирта. В каждую колбу (опыт и контроль) прибавить по 12,5 мл 0,2 н спиртового раствора йода (из бюретки), смешать, прилить по 100 мл дистиллированной воды и хорошо встряхнуть, закрыв пробкой. Через 5 минут содержимое колб оттитровать 0,1 н раствором тиосульфата натрия сначала до появления слабо-желтого окрашивания, а потом, прибавив 1 мл раствора крахмала, титровать до исчезновения синего окрашивания.

Разность между количеством 0,1 н раствора тиосульфата, затраченного на титрование опыта и контроля, является показателем количества йода, связанного навеской масла.

Йодное число (в г) вычисляется по формуле:

$$\text{Йодное число} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0127 \cdot 100}{a},$$

Где V_1 — количество 0,1 н раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, пошедшее на титрование контроля (в мл);

V_2 — количество 0,1 н раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, пошедшее на титрование в опыте (в мл);

0,0127 — титр тиосульфата по йоду;

a — навеска жира (в г).

Расхождения в параллельных опытах допускаются лишь в десятых долях получаемых йодных чисел.

На основе полученных результатов:

1. Сделайте выводы о йодном числе различных масел (растительного, оливкового, льняного и др.).
2. Сравните его с литературными данными: йодное число растительных масел 80–200.
3. Какое из анализируемых масел полезнее и почему?

3. Определение кислотного числа жиров

Кислотное число характеризует кислотность жира и измеряется числом мг гидроксида калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

Кислотное число с другими физико-химическими показателями характеризует качество масла. Если масло получено из зрелых семян, то свободных жирных кислот в нем мало. В масле же из незрелых семян содержание свободных жирных кислот значительно. При хранении масла наблюдается гидролиз глицеридов, который приводит к накоплению свободных жирных кислот, т.е. к возрастанию кислотности. Повышенная кислотность масла указывает на снижение его качества.

Метод определения кислотности основан на том, что свободные жирные кислоты, имеющиеся в масле, оттитровывают 0,1 н раствором КОН. Обычно титрование проводят гидроксидом калия, а не гидроксидом натрия, т.к. образующиеся калиевые мыла лучше растворимы в условиях опыта.

Реактивы и оборудование:

Весы аналитические.

Колба коническая на 100 мл.

Смесь спирта с диэтиловым эфиром (1:1).

Цилиндры мерные на 10 и 25 мл.

Масло растительное или жир животный.

Пипетки с одной меткой на 1 или 2 мл.

0,1 н раствор КОН в 96 %-ном этиловом спирте.

Бюретка с краном на 25 или 50 мл.

Ход работы

Навеску жира (масла) в 2 – 3 г, взвешенную на аналитических весах, помещают в коническую колбу и растворяют в 10 – 15 мл (отмеряют в цилиндре) нейтральной смеси спирта и эфира (1:1), прибавляют 3–4 капли фенолфталеина и затем 0,1 н спиртовой раствор гидроксида калия по каплям, до появления слабо-розового окрашивания. После растворения жира вносят 1 – 2 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н спиртовым раствором гидроксида калия до слабо-розового окрашивания. Окраска после взбалтывания не должна исчезать в течение 0,5–1 минуты.

Кислотное число вычисляют по формуле:

$$\text{Кислотное число} = (V \cdot T) / a,$$

где V – количество (в мл) 0,1 н раствора КОН, израсходованное на титрование взятой навески жира;

T – титр 0,1 н раствора гидроксида калия (в мг);

a – навеска жира (в г).

На основе полученных результатов:

1. Сравните кислотное число различных проанализированных жиров.
2. Сделайте выводы о качестве данных продуктов.

Сделайте общий вывод о работе: как можно определить качество твердых жиров и масел?

Литература к теме «Липиды»:

1. Смолин А.Н. Практикум по общей биохимии / А.Н. Смолин, Ю.Б. Филиппович, Н.В. Васильева. М.: Просвещение, 1969.
2. Уливанова Е.А. Формирование экспериментальных умений в ходе практической работы по биохимии по теме «Липиды» / Е.А. Уливанова, И.Р. Новик // Научно-методический сборник статей «Актуальные проблемы химии и методики ее преподавания». Н. Новгород: НГПУ, 2007. С. 122–124.
3. Урванцева Г.А. К изучению биологических функций жиров / Г.А. Урванцева, Н.Л. Волкова // Химия в школе. 2004. №8. С. 64–66.

ТЕМА 3. БЕЛКИ

1. Приведите примеры природных соединений, содержащих аминокислоты.
2. Приведите примеры α-аминокислот. С помощью каких реакций их можно идентифицировать?
3. Предположите, какая среда (кислотная или щелочная) будет в фильтрате табачных листьев. Почему?
4. Как отличить натуральные ткани (шерсть, шелк) от искусственных?
5. Почему при случайном попадании азотной кислоты на кожу рук образуются желтые пятна?
6. Какие органические вещества относят к классу белков?
7. Как классифицируют белковые вещества?
8. Что такое ферменты?
9. Каков механизм действия ферментов?
10. Какие биологические функции белков Вы знаете? Охарактеризуйте каждую из них. Что такое «идеальный» или «эталонный» белок по шкале ФАО/ВОЗ?
11. Как определяется биологическая ценность пищевых продуктов?
12. Как рассчитать аминокислотный скор по какой-либо незаменимой аминокислоте? Что означает понятие «лимитирующая» аминокислота?
13. Какова суточная норма потребления белка для взрослого человека?
14. Каково соотношение в потреблении животных и растительных белков?
15. Как влияет технологическая обработка на биологическую ценность белков?
16. Пищевые добавки, повышающие биологическую ценность пищевых продуктов на основе растительного сырья.

1. Определение аминокислот в растворе яичного альбумина [2]

Материалы, посуда, реактивы:

Кипяченое молоко с пенкой.
 Бинт медицинский широкий.
 Мясной или рыбный бульон. Фильтры бумажные.
 Овощной или грибной отвар. Цилиндры мерные на 100 мл.
 Пшеничная мука. Стеклянные палочки.
 Концентрированная азотная кислота. Пипетки.
 Белая шерсть. Конические колбы для титрования.
 Натуральный и искусственный шелк. Вилки для сбивания белка.
 Перья. Мерные стаканы на 100, 200 мл.
 Ледяная уксусная кислота. Воронки для фильтрования.
 Концентрированная серная кислота. Пробирки в штативе.
 10 %-ный раствор соды. Водяная баня.
 Ацетат свинца. Спиртовка.
 Дистиллированная вода.
 1 %-ный раствор нингидрина в 95 %-ном растворе ацетона.
 0,5 %-ный спиртовой раствор нингидрина.
 1 %-ный раствор сульфаниловой кислоты.
 в 5 %-ном растворе соляной кислоты.
 Кристаллический нитрит натрия.
 Насыщенный раствор сульфата аммония.
 Кристаллический нитропруссид натрия.
 Концентрированный раствор аммиака.
 100 – 200 мг сигаретного табака.
 50 %-ный водный раствор этилового спирта.
 Азотнортутный реактив Миллона (1 часть ртути растворяют в двойном по массе количестве азотной кислоты ($\rho = 1,4 \text{ г/см}^3$) сначала на холоде, затем на водяной бане. Полученный раствор разбавляют двойным объемом воды.).
 30 %-ный раствор гидроксида натрия.
 1 %-ный раствор сульфата меди (II).

✓ а. Приготовление разбавленного раствора яичного альбумина

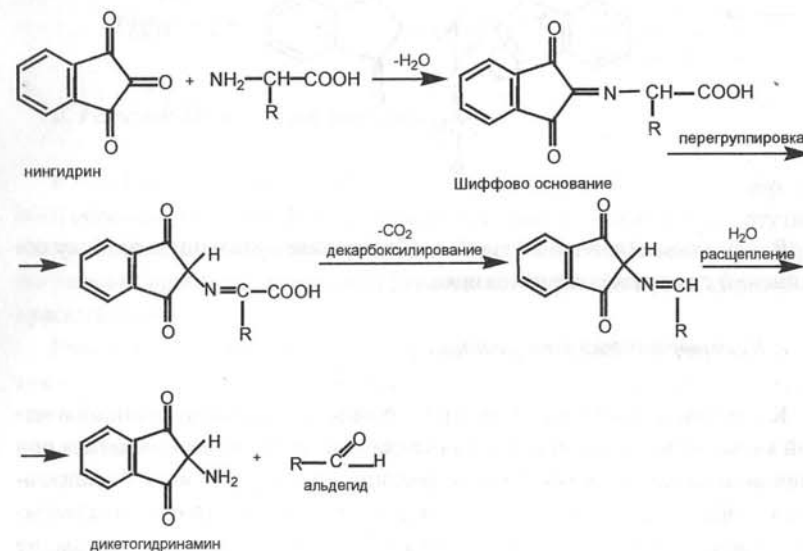
Белок одного куриного яйца после отделения от желтка хорошо взбить и смешать в колбе при встряхивании с десятикратным объемом дистиллированной воды; раствор отфильтровать через двойной слой смоченной в воде марли. Отфильтровывается раствор яичного альбумина; в осадке остается яичный глобулин. Учитывая, что концентрация альбумина в неразбавленном белке куриного яйца составляет около 6%, полученный разбавленный раствор яичного альбумина является ~ 0,5 %-ным.

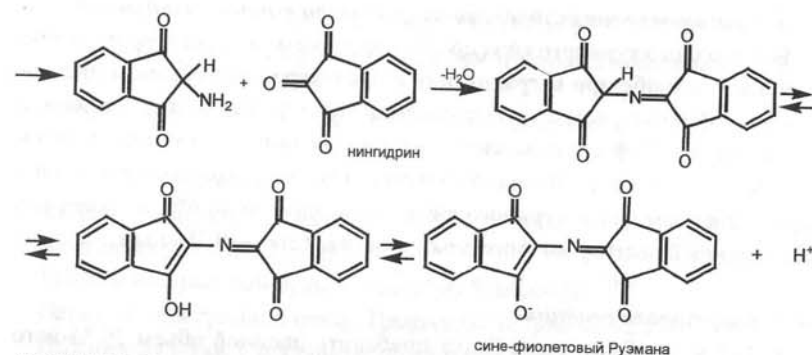
✓ б. Биуретовая реакция

К 1–2 мл разбавленного белка прибавить двойной объем 30 %-ного раствора NaOH, хорошо перемешать и добавить из капельницы или при помощи пипетки 2 – 3 капли 1 %-ного раствора медного купороса. Снова тщательно перемешать. Развивается красно-фиолетовое окрашивание.

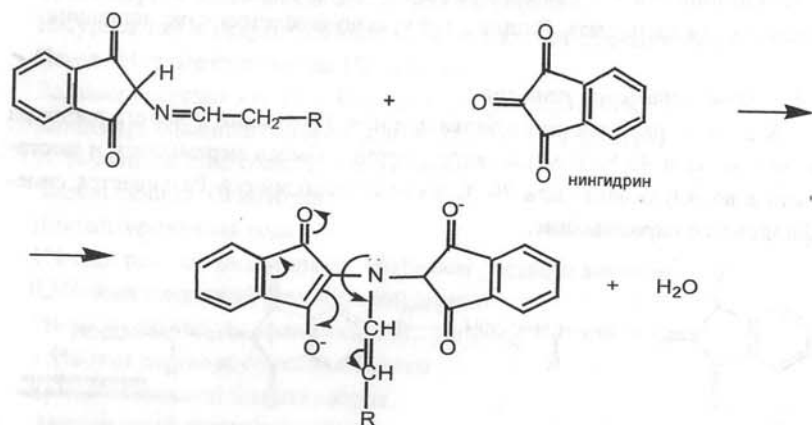
✓ в. Нингидриновая реакция

К 2 – 3 мл разбавленного белка прилить 3 – 4 капли 1 %-ного раствора нингидрина в 95 %-ном растворе ацетона. Смесь перемешать и поставить в водяную баню при 70 °C на несколько минут. Развивается сине-фиолетовое окрашивание.





Побочная реакция:



R – амыльная (арильная) группа; обеспечивает различную окраску соединений с сопряжёнными связями.

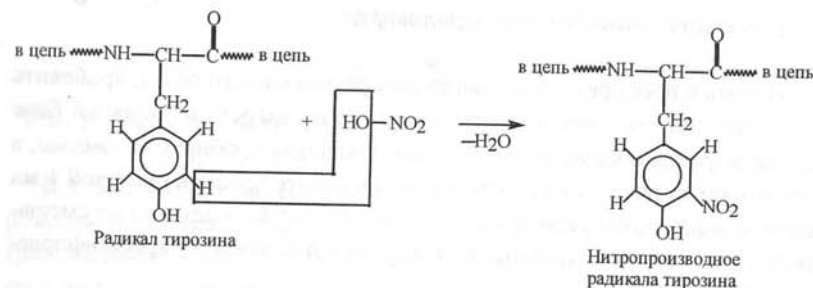
2. Ксантопротеиновая реакция

К 1 мл раствора белка добавить 5 – 6 капель концентрированной азотной кислоты до появления белого осадка или мути от свернувшегося под влиянием кислоты белка. При нагревании раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет. При этом осадок почти полностью растворяется. Смесь охладить и к кислотной жидкости осторожно, по каплям, не

взбалтывая, добавить избыток концентрированного гидроксида аммония или едкой щелочи до щелочной реакции. Выпадающий вначале осадок кислотного альбумина растворяется, и жидкость окрашивается в ярко-оранжевый цвет.

Ксантопротеиновая реакция зависит от наличия в белках остатков ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана). Эти аминокислоты в результате нитрования образуют желтоокрашенные нитросоединения. Переход желтой окраски в оранжевую в щелочной среде обусловлен изменением структуры щелочных солей этих нитросоединений. Желатина, не содержащая ароматических аминокислот, не дает этой реакции.

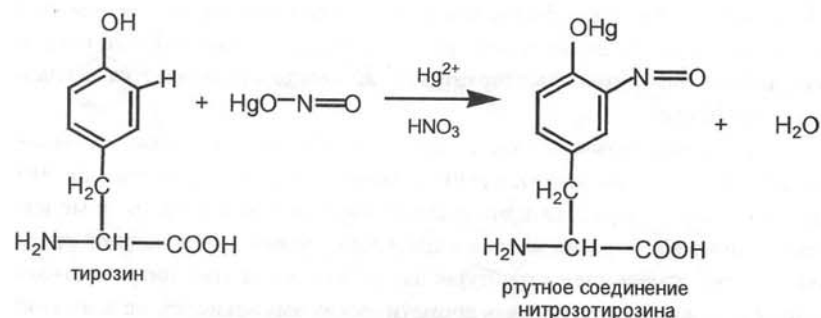
Рассмотрим в качестве примера схему ксантопротеиновой реакции по ароматическому кольцу тирозина.



д. Реакция Миллона на тирозин

К 0,5–1 мл разбавленного белка прибавить двойной объем азотнортутового реактива Миллона. Белок свертывается под действием солей ртути и азотной кислоты, входящих в реактив, образуя сгусток белого цвета. При нагревании пробирки на водяной бане осадок окрашивается в кирпично-красный цвет.

Реакцию Миллона дают все белки, содержащие в своем составе остаток тирозина. Химические процессы, происходящие при взаимодействии тирозина с реактивом Миллона:

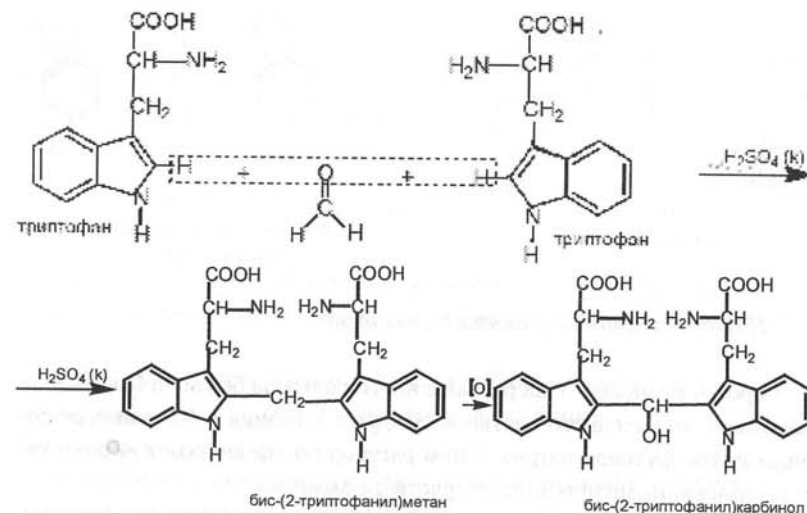
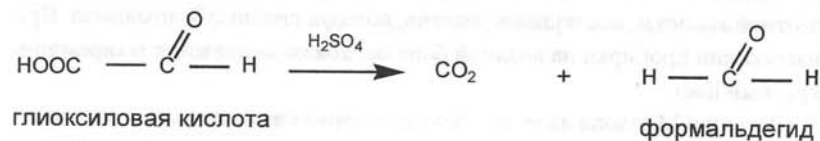


Белки, не содержащие тирозина (например, желатина, протамины и т.п.), не дают реакции Миллона.

✓ е. Реакция Адамкевича на триптофан

Налить в пробирку несколько капель разбавленного белка, прибавить 2 мл ледяной уксусной кислоты и осторожно нагреть на водяной бане до растворения образующегося осадка. Охладить пробирку со смесью, а затем, сильно наклонив ее, осторожно, по стенке прилить пипеткой 1 мл концентрированной серной кислоты так, чтобы обе жидкости не смешались. При стоянии на границе двух жидкостей получается красно-фиолетовое кольцо.

Желатина не дает этой реакции, так как она не содержит триптофана. Окраска возникает за счет реакции триптофана с глиоксиловой кислотой, всегда присутствующей в уксусной кислоте. Небольшие количества меди повышают чувствительность этой реакции.

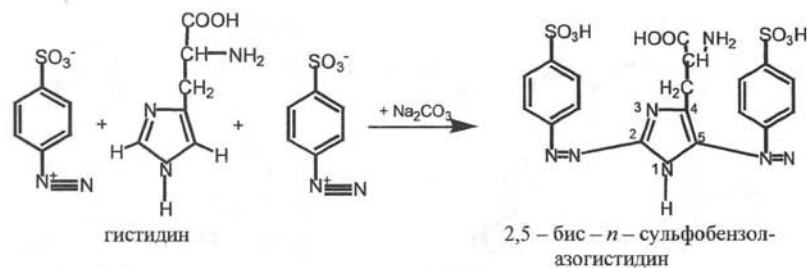


✓ жс. Реакция Паули на гистидин

К 1 мл 1 %-ного раствора сульфаниловой кислоты в 5 %-ном растворе соляной кислоты добавить 0,5 ложечки кристаллического нитрита натрия, сильно встряхнуть и немедленно добавить сначала 2 мл разбавленного раствора белка, затем перемешать содержимое пробирки и добавить 6 мл 10 %-ного раствора соды. После смешивания растворов развивается вишнево-красное окрашивание.

Возникновение окраски обусловлено присутствием в белковой молекуле гистидина и тирозина. Схема реакции между гистидином и диазобензолсульфоновой кислотой (электрофильное замещение в гистидине):





✓ 3. Нитропруссидная реакция на цистеин

В пробирку налить 3 мл разбавленного раствора белка, добавить равный объем насыщенного раствора сульфата аммония и 0,5 ложечки порошка нитропруссид натрия. Затем раствор подщелачивают несколькими каплями концентрированного раствора аммиака.

Если в белке есть аминокислота цистеин, то осуществляется реакция, в результате которой развивается пурпурное окрашивание.

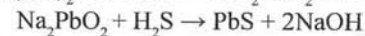
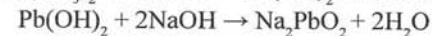
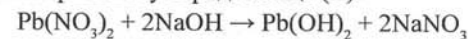
и. Реакция на слабосвязанную серу

В пробирку налить 0,5 – 1 мл разбавленного раствора белка, добавить двойной объем концентрированного раствора щелочи, а затем осторожно нагреть и кипятить смесь на водяной бане. При этом выделяется аммиак, который может быть обнаружен по запаху и по посинению влажной лакмусовой бумажки, поднесенной к отверстию пробирки, не касаясь ею стенки. Образующийся незначительный осадок растворяется при кипячении.

Горячую щелочную жидкость разделить на две части. К первой прилить раствор плюмбита натрия – образуется желто-бурое, коричневое или черное окрашивание. (Для приготовления плюмбита натрия к 1 мл ацетата свинца добавляют раствор гидроксида натрия по каплям до растворения образующегося вначале осадка гидроксида свинца). Во вторую пробирку насыпать 0,5 ложечки порошка нитропруссид натрия – получается красно-фиолетовое окрашивание.

Под действием едких щелочей белки подвергаются частичному гидролизу по пептидным связям, превращаясь в щелочные альбуминаты. Наряду с этим наблюдается отщепление части аминокислот в виде аммиака. При наличии в молекуле белка аминокислот, содержащих серу (ци-

стина, цистеина), от этих аминокислот постепенно отщепляется также и сера в виде двухвалентного иона. Его образование обнаруживают с помощью ионов различных металлов, особенно ионов свинца, образующих с S^{2-} черный нерастворимый сульфид свинца (II):



Ион серы, образующийся из сероводорода в щелочной среде, может быть открыт нитропруссидом натрия, являющимся реактивом на ион S^{2-} .

✓ 2. Определение аминокислот в молочной пенке (ксантопротеиновая реакция)

В пробирку с пеночкой, снятой с кипяченого молока, прибавить немного концентрированной азотной кислоты. Наблюдается пожелтение.

✓ 3. Определение аминокислот в муке (биуретовая реакция)

10 г пшеничной муки (1 чайную ложку) замесить в фарфоровой чашке с водой. Образующееся тесто поместить в марлю и, разминая пальцами, промывать в стакане с водой до тех пор, пока из теста не будет стекать прозрачная жидкость. Таким способом из муки отмывается крахмал, в остатке содержится белок. Белок кипятить в пробирке с водой, затем провести биуретовую реакцию: к раствору белка в пробирке прилить несколько миллилитров раствора щелочи и несколько капель слабого раствора сульфата меди (II). Жидкость окрашивается в фиолетовый или красно-фиолетовый цвет.

✓ 4. Определение аминокислот в исследуемых растворах (биуретовая реакция) [3]

Приготовленные растворы, содержащие белок (мясной или рыбный бульон, процеженный через марлю; отвар каких-либо овощей или грибов), налить в пробирки примерно на половину их высоты. Затем прибавить немного раствора гидроксида натрия. Добавить раствор

медного купороса. Если в испытуемом растворе есть белок, то жидкость сразу примет фиолетовую окраску.

5. Свойства белков [2] **Реакции осаждения белков**

Материалы, посуда, реактивы:

Раствор белка. Воронка.

Насыщенный раствор сульфата аммония. Фильтры.

Сульфат аммония порошкообразный. Водяная баня.

5 %-ный раствор трихлоруксусной кислоты. Штатив с пробирками.

20 %-ный раствор сульфосалициловой кислоты.

5 %-ный раствор медного купороса.

5 %-ный раствор ацетата свинца.

Дистиллированная вода.

Концентрированные кислоты (азотная, соляная, серная и уксусная).

а. Высаливание белков сульфатом аммония

В водном растворе белков их частицы являются заряженными и сильно гидратированными. Эти два фактора обуславливают устойчивость белковых растворов. При высокой концентрации солей, ионы которых тоже сильно гидратированы, происходит разрушение водных оболочек белковых молекул, и вслед за этим наступает снятие заряда с белковой молекулы адсорбирующимися на ней ионами соли. В результате этих двух процессов белковые растворы теряют устойчивость, частицы белка слипаются друг с другом, укрупняются и выпадают в осадок.

Сульфат аммония обладает резко выраженной высаливающей способностью и осаждает белки в нейтральной или слабокислотной среде. Другие соли, например, хлорид натрия, вызывают полное осаждение белков только при подкислении раствора белка. Для высаливания различных белков требуется разная концентрация одних и тех же солей. Следовательно, белки можно высаливать фракционно: глобулины выпадают уже при полунасыщении растворов сульфатом аммония, а альбумины – только при полном насыщении.

Налить в пробирки 1–1,5 мл раствора белка, добавить равный объем насыщенного раствора сульфата аммония и слегка встряхнуть смесь. Появляется муть от выпадающего осадка глобулинов.

Мутную жидкость отфильтровать через сухой складчатый фильтр. Часть прозрачного фильтрата нагреть до кипения и наблюдать свертывание альбуминов, находящихся в растворе; к другой части фильтрата добавить при хорошем перемешивании избыток порошкообразного сульфата аммония до прекращения его растворения. В этих условиях в жидкости появляется муть или хлопья выпадающего в осадок альбумина (сравнить с исходным фильтратом). Осаждение белков солями является обратимым, и при добавлении воды белки снова растворяются.

б. Свертывание белков при нагревании

Выпадение белков в осадок при нагревании – свертывание – характерно почти для всех белков. Исключение составляет желатина, не свертывающаяся при нагревании.

В пробирку налить 2 мл раствора белка. Нагреть ее содержимое. Осадок белка или усиление опалесценции появляется еще до кипения.

в. Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

В три сухие пробирки, стоящие в штативе, пипетками осторожно налить по 1–2 мл соответственно концентрированной азотной, серной и соляной кислот. Затем, наклонив каждую пробирку, осторожно, по стенке прилить в нее из пипетки по 0,5 мл исследуемого раствора белка так, чтобы он не смешивался с кислотой. На месте соприкосновения двух жидкостей появляется белый аморфный осадок белка. При встряхивании осадок, выпавший при действии азотной кислоты, увеличивается, а осадки, выпавшие под действием соляной или серной кислот, растворяются в их избытке.

Желатина не осаждается минеральными кислотами.

Концентрированные минеральные кислоты вызывают необратимое осаждение белков. Это связано как с дегидратацией белковых молекул, так и с денатурацией белка.

г. Осаждение белков солями тяжелых металлов

В две пробирки налить по 1–1,5 мл исследуемого раствора белка и медленно, по каплям при встряхивании прибавить в одну из них раствор

сульфата меди, а в другую – раствор ацетата свинца. Образуется хлопьевидный осадок вследствие образования малорастворимого солеобразного соединения (с солью меди – голубого цвета, с солью свинца – белого). При избытке реактива осадок снова растворяется.

Соли тяжелых металлов (Hg, Ag, Cu, Pb) вызывают необратимое осаждение белков, образуя с ними нерастворимые в воде солеобразные соединения. Некоторые из таких осадков (например, с солями меди, свинца, цинка) растворяются в избытке осадителя в результате пептизации белка адсорбирующимися на его частицах ионами.

д. Осаждение фенолом и формалином

В две пробирки, содержащие по 1–2 мл раствора белка, пипеткой добавить: в первую – равный объем раствора фенола, а во вторую – равный объем формалина. В обеих пробирках выпадает осадок белка, от действия фенола осадок выпадает быстрее.

е. Осаждение белков спиртом

В пробирку наливают 1 – 1,5 мл раствора белка и добавляют немного кристаллического хлорида натрия. Прилить постепенно 5 – 6 мл этилового спирта. Выпадает хлопьевидный осадок белка вследствие дегидратации белковых молекул при добавлении спирта.

Выполните задания и сделайте выводы о проделанной работе.

Задания:

1. С помощью уравнений реакций объясните, почему:
 - а. Особенно легко и более полно происходит осаждение белка в слабокислотной среде, вблизи от изоэлектрической точки;
 - б. В нейтральной и резко кислой среде осаждение белков идет значительно хуже, а в щелочной среде вовсе не наблюдается;
 - в. Добавление к раствору белка нейтральных солей (хлорида натрия, сульфата аммония) облегчает и ускоряет свертывание белков при кипячении.
2. Почему капли щелочи губительно действуют на шерстяную одежду и волосы?
3. Почему при стирке шерстяные изделия нельзя кипятить с содой?

4. Почему на мясном бульоне появляется пена? Какова ее природа?
5. Какие вещества защищают белки от свертывания?
6. Почему свертывание белков при нагревании является необратимым?
7. Почему белки применяются в качестве противоядия при отравлении ртутными солями?
8. Какую опасность может нести употребление сырых куриных яиц в пищу?
9. Почему осадки белков с солями меди, свинца, цинка растворяются в их избытке?
10. Почему формалин и спирт используются для приготовления биологических препаратов?
11. К чему приводит чрезмерное употребление спиртных напитков?
12. Каким возрастным группам нельзя употреблять спиртное и почему?

Лабораторная работа 9

Определение аминного азота медным способом [2, с. 30–32]

Материалы, посуда, реактивы:

Раствор хлорида меди (II) (27,3 г в 1 л раствора).
Колбы мерные на 25 мл – 2 шт.
1%-ный раствор крахмала. Пипетки на 1, 2 и 10 мл.
Раствор KI (10 г в 100 мл раствора). Бюретки на 20 – 50 мл.
CH₃COOH (конц.). Воронки для фильтрования.
NaOH (0,5 н раствор). Колбы конические на 100 мл – 4 шт.
Глицин (1 %-ный раствор) – исследуемый. Цилиндр мерный на 10 мл.
Раствор 0,25 г тимолфталейна в 100 мл 50 %-ного раствора C₂H₅OH.
Раствор Na₃PO₄ · 12H₂O (64,5 г Na₂HPO₄ · 12H₂O в 500 мл дистиллированной воды + 7,2 г NaOH и довести водой объем до 1 л).
Боратный буферный раствор (28,6 г буры растворяют в 750 мл дистиллированной воды, добавляя 50 мл 1 н раствора HCl и доводят объем раствора водой до 1 л; pH = 8,8)
Суспензия фосфата меди (II) - **готовится перед работой** (смешать 1 объем хлорида меди (II) с 2 объемами Na₃PO₄ · 12H₂O, прилить 2 объема боратного буферного раствора).
0,01 н раствор Na₂S₂O₃ · 5H₂O (готовится разбавлением 0,1 н раствора, титр устанавливают по точному раствору 0,01 н KClO₃).

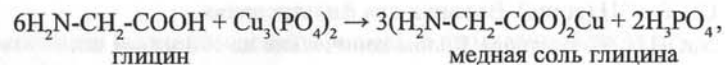
Ход работы

В мерную колбу на 25 мл налить пипеткой 2 мл исследуемого раствора (1 %-ный раствор глицина), добавить 2 капли тимолфталейна и по каплям 10 %-ный раствор NaOH до слабо-голубого окрашивания (рН раствора в этот момент равен 10,2).

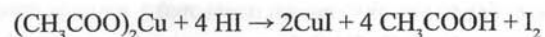
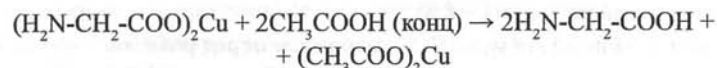
После этого добавить пипеткой 10 мл суспензии фосфата меди, хорошо перемешать. Если фосфат меди прореагирует, что легко заметить по исчезновению осадка, следует добавить еще 5 мл суспензии. Объем раствора в колбе довести до метки водой, тщательно перемешать многократным переворачиванием колбы и отфильтровать избыток фосфата меди через плотный фильтр. Фильтрат должен быть совершенно прозрачным. Из фильтрата взять 2 пробы по 10 мл (пипеткой) в конические колбы для титрования, подкислить 0,4 мл CH_3COOH (конц), добавить 6 – 8 мл 10 %-ного раствора KI и выделяющийся йод титровать 0,01 н раствором гипосульфита. Крахмал в количестве 1 – 2 мл (20 – 40 капель) на каждые 100 мл раствора добавить сразу. Титровать до исчезновения синей окраски и появления соломенно-желтой.

Контрольный опыт:

Вместо глицина взять 2 мл воды. Если на контрольный раствор затрачивается гипосульфит, то это количество вычесть из найденного для исследуемого вещества:

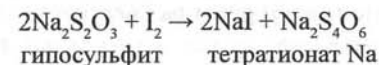


H_3PO_4 связывается боратым буферным раствором, реакция идет до конца. В фильтрате после отделения избытка фосфата меди (II) оказываются лишь медные соли аминокислот (кроме цистина). Таким образом, по количеству меди в фильтрате можно определить содержание аминокислот:



Вследствие нерастворимости йодида меди в слабокислотной среде этот процесс также идет до конца. Следовательно, количество выделяю-

щегося свободного йода эквивалентно количеству медных солей аминокислот. Концентрацию свободного йода определяют гипосульфитом:



По уравнению реакции 1 моль выделяющегося I_2 соответствует 1 модулю Cu, который эквивалентен 2 модулям аминного азота, то есть 28 г.

С другой стороны, 1 моль I_2 реагирует с 1 молекул гипосульфита. Следовательно, 1 модуль гипосульфита соответствует 28 г аминного азота. Отсюда 1 мл 0,01 н раствора гипосульфита отвечает 0,28 г аминного азота.

0,28 мг · (затраченный объем 0,01 н раствора гипосульфита – контроль) = количество мг аминного азота во взятом объеме (10 мл) испытуемого раствора.

Далее пересчитывают весь объем раствора в колбе. Количество сравнивают с тем, которое должно быть в 2 мл.

Сделайте вывод о работе:

1. Как рассчитать количество аминного азота в соединении?
2. Почему количество аминного азота, полученного опытным путем, отличается от рассчитанного?

Лабораторная работа 10

Буферные свойства раствора белка [1]

Материалы, посуда, реактивы:

Раствор яичного белка или желатина Пробирки
Раствор соляной кислоты Пипетки на 1 и 2 мл
1 %-ный раствор индикатора конго красного Дистиллированная вода
Раствор гидроксида натрия
Раствор фенолфталейна

Ход работы

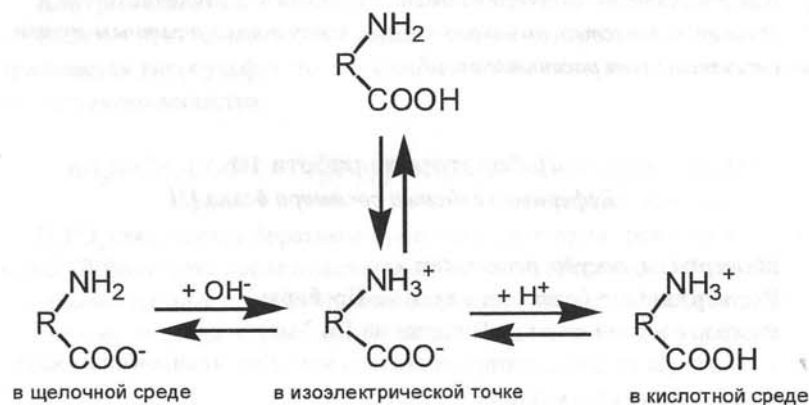
К 3 мл дистиллированной воды добавляют каплю соляной кислоты. Каплю полученного раствора смешивают с 2 – 3 мл воды. Полученный очень разбавленный раствор кислоты при добавлении нескольких капель

раствора индикатора конго все же окрашивается в ярко-синий цвет. Этот синий раствор понемногу приливают к 2 – 3 мл раствора белка и отмечают изменение окраски.

Таким же образом (повторным разбавлением) готовят очень разбавленный раствор гидроксида натрия, который при введении нескольких капель раствора фенолфталеина должен окрашиваться в ярко-розовый (но не малиновый) цвет. Помещают в чистую пробирку 2 – 3 мл исходного раствора белка, приливают к нему разбавленный щелочной раствор, отмечая изменение окраски и в этом случае.

Амфотерный электролит – белок, в растворе проявляет буферные свойства, т.е. может связывать как появляющиеся водородные, так и гидроксильные ионы. В результате окраска индикатора конго переходит от синей к красной (снижается кислотность), а розовая окраска фенолфталеина исчезает (снижается щелочность системы). В этих опытах особенно наглядно обнаруживается амфотерность белка, который в опыте 1 реагирует как основание, а в опыте 2 – как кислота.

Сделайте вывод о работе, используя схему:



Литература к теме «Аминокислотный состав белков»:

1. Некрасов В.В. Руководство к малому практикуму по органической химии / В.В. Некрасов. М.: Химия, 1975. С. 315 – 316.
2. Смолин А.Н. Практикум по общей биохимии / А.Н. Смолин, Ю.Б. Филиппович, Н.В. Васильева. М.: Просвещение, 1969.
3. Субботина Е.И. Факультативные занятия по химии / Е.И. Субботина // Химия в школе. 2005. №5. С. 67 – 74.
4. Храмов В.А. Определение молочной кислоты и мочевины в смывах с кожи / В.А. Храмов, Н.В. Папичев, Г.Л. Гиззатова // Химия в школе. 2004. №9. С. 59 – 60.

ТЕМА 4. ФЕРМЕНТЫ

1. Какова химическая природа ферментов?
2. Какие функции выполняют ферменты в живых организмах?

Лабораторная работа 11

Качественные пробы на присутствие ферментов [1]

1. Открытие амилазы в слюне

Материалы и оборудование:

Раствор крахмального клейстера.
Стаканы на 100 мл.
1%-ный раствор йода в йодистом калии
Колбочки на 100 мл.
Фелингова жидкость.
Термометр до 100 °С.
Воронка.
Фарфоровая пластинка.
Водяная баня.

а) приготовление разбавленной слюны

Прополоскать 2 – 3 раза рот, чтобы удалить остатки пищи. Отмерить цилиндром 20 мл дистиллированной воды, слить ее в стакан и полоскать ею рот в течение 1 – 2 минут, вылить жидкость в другой стакан или колбу (2 – 3 раза повторить). Собранную жидкость (50 – 60 мл) отфильтровать через вату. Фильтрат употребить для работы.

б) гидролиз крахмала под действием амилазы слюны

В две пробирки налить по 5 мл крахмального клейстера и в одну из них – 5 мл воды, а в другую – 5 мл раствора слюны. Обе пробирки со стеклянными палочками одновременно поместить в водяную баню при 40°C. Через несколько секунд наблюдается уменьшение опалесценции жидкости в пробирке со слюной вследствие образования растворимого крахмала. Через 1 минуту с момента нагревания пробирок в водяной

бане от каждой смеси отобрать с помощью стеклянной палочки по капле жидкости и смешать ее с каплей заранее нанесенного на пластинку йода. Повторить подобное исследование действия фермента через 2, 4, 6, 8 минут. Окраска с йодом проб жидкости из пробирки со слюной меняется от синей к сине-фиолетовой, буро-красной, красной и, наконец, желтой (сохраняется цвет йода). После этого к оставшейся жидкости в опытной пробирке добавить 1 – 2 мл фелинговой жидкости и смесь нагреть на пламени горелки до начала кипения. Образуется красный осадок оксида меди (I). Восстановление оксида меди (II) в оксид меди (I) производится образовавшейся мальтозой и низкомолекулярными декстринами. Жидкость в контрольной пробирке (вода) не изменится при состоянии в водяной бане: пробы ее дают синее окрашивание с йодом, и она не восстанавливает гидроксида Cu (II) в оксид Cu (I).

2. Влияние температуры на активность амилазы слюны

Материалы, реактивы, посуда:

1%-ный раствор крахмала. Водяная баня.
Слюна, фильтрованная и разбавленная (1:10). Пипетки на 1 и 2 мл
Раствор йода в йодиде калия. Стеклянные палочки
10%-ный раствор NaOH. Фарфоровая пластинка
1%-ный раствор CuSO₄

Ход работы

В четыре пронумерованные пробирки налить по 2 мл 0,5%-ного раствора крахмала. Пробирку № 1 поместить в кипящую баню, №2 – в баню при 40°C, №3 – на рабочем столе (комнатная температура), №4 – в лед. В течение 10 минут содержимое пробирок принимает температуру окружающей среды. Далее во все пробирки добавить по 0,5 мл слюны (разбавленной в 10 раз), перемешать и оставить в тех же условиях. Наблюдение за ходом гидролиза осуществляется с помощью йодной реакции. Для этого нанести на фарфоровую пластинку несколько капель раствора йода в йодиде калия и смешать их с каплями гидролизуемой смеси из каждой пробирки, беря пробы через 1, 2, 4, 6, 8 минут. По изменению окраски крахмала с йодом определить степень гидролиза (как в предыдущем опыте).

Схема опыта приведена в таблице:

Таблица 1.

№ пробирки	Кол-во 0,5%-ного раствора крахмала (в мл)	Объем слюны (1:10) (в мл)	°С	Продолжительность опыта (в минутах)	Реакция с йодом (цвет)
1	2	0,5	100	1 2 4 6 8	
2	2	0,5	40	1 2 4 6 8	
3	2	0,5	15-20	1 2 4 6 8	
4	2	0,5	0	1 2 4 6 8	

Сделайте выводы об оптимальной температуре для действия фермента, об изменении активности фермента в результате кипячения его раствора.

Сделайте выводы о проделанной работе:

1. Какими свойствами обладают ферменты?
2. Чем отличаются ферменты от неорганических катализаторов?
3. При каких условиях ферменты действуют более активно? Почему?

Литература к теме «Ферменты»:

1. Смолин А.Н. Практикум по общей биохимии / А.Н. Смолин, Ю.Б. Филиппович, Н.В. Васильева. М.: Просвещение, 1969.
2. Биохимические основы жизнедеятельности человека: учебное пособие для студентов вузов / Ю.Б. Филиппович, А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова, Н.М. Кутузова. М.: ВЛАДОС, 2005. 407 с.
3. Комов В.П. Биохимия / В.П. Комов, В.Н. Шведова. М.: Дрофа, 2004. 640 с.

ТЕМА 5. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

1. Какие соединения относятся к нуклеиновым кислотам?
2. Какие природные объекты содержат нуклеиновые кислоты?

Лабораторная работа 12

Выделение рибонуклеопротеида (РНП) из дрожжей [3]

Материалы, реактивы, посуда и приборы:

Пекарские или пивные дрожжи. Ступки.
Орциновый реактив. Стакан на 100-200 мл.
Диэтиловый эфир. Воронка D= 7 – 8 см.
Раствор флороглюцина. Стеклянная палочка
Песок, промытый и прокаленный Мерный цилиндр на 50–100 мл
Фелингова жидкость. Пробирка
Раствор аммиака (конц.). Колба круглодонная на 100 мл с обратным возд. холодильником.
Центрифуга. Лакмусовая бумага.
1%-ный раствор AgNO_3
Раствор молибдата аммония.
 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 0,4 %-ный раствор NaOH .
Магнезиальная смесь 10 %-ный раствор CH_3COOH .
2 н раствор NaOH .
1%-ный раствор сульфата меди (II).
Реактив Миллона.
1 н и 2 н раствор соляной кислоты.

Ход работы

10 г дрожжей смешать в ступке со смесью 2 мл эфира и 2 мл воды, добавить 5 г речного песка и тщательно растереть, приливая к растертой массе небольшими порциями 40 – 50 мл 0,4%-ного раствора NaOH . Растирание продолжать 15 – 20 минут, после этого осадок отфильтровать или отделить центрифугированием. Центрифугат слить в стакан и прибавить к нему небольшими количествами (по 0,5 мл) 10 %-ный раствор CH_3COOH до слабокислотной реакции по лакмусу (5 – 6 мл). Полученный осадок нуклеопротеида отделить путем центрифугирования.

Гидролиз нуклеопротеида

Одним из простейших способов разложения РНП является нагревание его в течение 1 часа при 100 °С в 1 н растворе соляной кислоты. Прежде всего происходит расщепление нуклеопротеидов на белок и нуклеиновую кислоту. Далее белок гидролизруется до аминокислот, но в этих условиях гидролиз белка будет очень незначительным. РНК в этих условиях расщепляется с образованием пиримидиновых нуклеотидов, пуриновые же распадаются до пуринов, рибозы и фосфорной кислоты.

В колбу для гидролиза (с обратным воздушным холодильником) поместить осадок нуклеопротеида и равный ему объем 2 н раствора соляной кислоты и сверх этого еще 20 мл 1 н раствора этой кислоты. Колбу закрыть пробкой с проходящим через нее воздушным холодильником (трубка длиной 70 см и $D=0,7 - 0,8$ см) и смесь кипятить на плитке с асбестовой сеткой в течение 1 часа, поддерживая только слабое кипение, во избежание улетучивания HCl. Гидролизат отфильтровать и в прозрачном растворе определить наличие белка, пентозы, пуриновых оснований и фосфорной кислоты.

Белок обнаруживается с помощью биуретовой реакции (биуретовая реакция с CuSO_4 и NaOH (конц.)).

Пентоза (рибоза) обнаруживается по реакции с орцином и флороглюцином, либо путем восстановления меди в растворе фелинговой жидкости.

Пуриновые основания обнаруживаются по их реакции с аммиачным раствором гидроксида серебра. К 2 мл гидролизата прилить по каплям раствор аммиака (конц.) до щелочной реакции по лакмусу и добавить равный объем заранее приготовленного аммиачного раствора гидроксида серебра. Постепенно образуется хлопьевидный осадок серебряных солей пуриновых оснований.

Фосфорная кислота обнаруживается с помощью молибдата аммония или магнезиальной смеси. К 2 мл раствора молибдата аммония в азотной кислоте прибавить 1 мл испытуемого раствора. Смесь слегка нагреть. Образуется желто-зеленый осадок состава $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$.

Сделайте выводы о работе:

1. Из каких частей состоят нуклеиновые кислоты?
2. Почему РНП с соляной кислотой необходимо нагревать около 1 часа?

3. Какими реакциями можно обнаружить белок? Приведите их уравнения.
4. Как обнаружить рибозу в растворе?
5. Как обнаружить пуриновые основания?
6. Что является реактивом на фосфорную кислоту? Почему?

Литература к теме «Нуклеиновые кислоты»:

1. Биохимические основы жизнедеятельности человека: учебное пособие для студентов вузов / Ю.Б. Филиппович, А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова, Н.М. Кутузова. М.: ВЛАДОС, 2005. 407 с.
2. Рогожин В.В. Практикум по биологической химии: Учебно-методическое пособие / В.В. Рогожин. СПб.: Лань, 2006. 256 с.
3. Смолин А.Н. Практикум по общей биохимии / А.Н. Смолин, Ю.Б. Филиппович, Н.В. Васильева. М.: Просвещение, 1969.
4. Шерстнев М.П. Химия и биология нуклеиновых кислот: Кн. для учащихся 10-11 кл. сред.шк. / М.П. Шерстнев, О.С. Комаров. М.: Просвещение, 1990. 160 с.

ТЕМА 6. ВИТАМИНЫ

1. Какие основные группы витаминов Вы знаете?
2. К какой группе относится витамин С?
3. Каковы его строение и биологические функции?
4. На чем основан метод определения аскорбиновой кислоты?
5. Признак, по которому осуществляют классификацию витаминов.
6. Охарактеризуйте физиологическую роль известных Вам витаминов.
5. В чем заключается механизм действия витаминов?
6. Суточная потребность взрослого человека в отдельных витаминах в соответствии с формулой сбалансированного питания.
7. Что такое гиповитаминоз? Авитаминоз? Гипервитаминоз?
8. Какова причина наиболее распространенных авитаминозов?
9. В чем заключаются общие причины потери витаминов при хранении и производстве продуктов питания?
10. Охарактеризуйте способы сохранения витаминов в пищевых продуктах.
11. Приведите известные Вам примеры витаминизации пищи.
12. Назовите пищевые продукты - основные источники различных групп витаминов.
13. Какие витамины наиболее дефицитны?

Лабораторная работа 13

Определение содержания витамина С [3]

Материалы, посуда, реактивы:

5%-ный раствор аптечной йодной настойки. Фильтры
Аскорбиновая кислота в таблетках по 0,1 г или 0,5 г. Пипетки на 5,25 мл.
Дистиллированная вода. Бюретки на 50 мл.
1%-ный раствор крахмала. Колбы конические.
Лимонный, апельсиновый, яблочный соки - по 25 мл на анализ Воронки.
Колбы мерные на 200, 500 мл.
Колбы конические на 100 мл.
Цилиндры мерные на 40 мл.

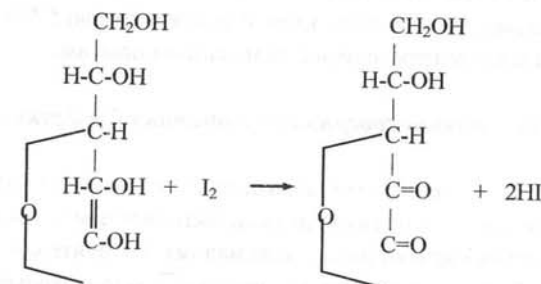
Сведения о содержании витамина С

В организме человека (в отличие от многих животных) аскорбиновая кислота не синтезируется, поэтому необходимо получать ее с пищей (около 70 мг в сутки). Витамин С необходим для нормальной жизнедеятельности: он положительно действует на центральную нервную систему, повышает сопротивляемость организма к неблагоприятным факторам и предотвращает цингу.

Витамином С в основном богаты овощи, фрукты, ягоды. Содержание аскорбиновой кислоты (в мг) в 100 г свежих продуктов: морковь, виноград - 5; свекла, репчатый лук, чеснок, сливы, летние яблоки - 10; салат, зимние яблоки - 15; картофель - 20; редис, помидоры, малина - 25; зеленый лук, крыжовник - 30; лимон - 40; клубника, ранняя капуста - 60; укроп - 100; зелень петрушки - 150; черная смородина, облепиха - 200; красный сладкий перец - 250; шиповник свежий - 650.

Ход работы

Содержание витамина С определяют методом йодометрии, в основе которого лежит уравнение реакции:



Витамин С проявляет восстановительные, а I_2 - окислительные свойства.

Для анализа фруктовых соков необходимо разбавить йодную настойку в 40 раз. Для этого надо отмерить пипеткой 5 мл 5%-ного раствора настойки в мерную колбу на 200 мл, добавить дистиллированной воды до метки и перемешать. Так как концентрация йода в аптечной настойке примерно 0,2 моль/л, то концентрация раствора в мерной колбе будет около 0,005 моль/л, а 1 мл его соответствует 0,88 мг аскорбиновой кислоты.

1. Определение содержания витамина С в аптечных препаратах

Прежде чем приступить к анализу сока, потренируйтесь на растворе, в котором содержание витамина С уже известно. Лучше всего подойдет аскорбиновая кислота в таблетках, которую продают в аптеках.

Одна таблетка содержит 0,1 г или 0,5 г чистого витамина. Растворите ее в дистиллированной воде в мерной колбе на 500 мл, тщательно перемешайте раствор и отберите из него пипеткой 25 мл в колбу для титрования. В этом количестве раствора аскорбиновой кислоты будет в 20 раз меньше, чем в таблетке. Добавьте к нему 8–10 капель раствора крахмала и осторожно, по каплям, титруйте разбавленным раствором йода, постоянно взбалтывая содержимое. Внимательно следите за цветом раствора. Как только вся аскорбиновая кислота прореагирует с йодом, следующая же его капля окрасит раствор в синий цвет. Титрование надо вести до появления устойчивого синего окрашивания.

Определив объем израсходованного раствора йода, легко рассчитать, сколько аскорбиновой кислоты было с самого начала. Например, если на титрование ушло 6 мл раствора йода, то аскорбиновой кислоты в растворе было $0,88 \cdot 6 = 5,28$ мг, а в исходной таблетке – в 20 раз больше, то есть 105,6 мг. Если таблетка содержала 0,1 г (100 мг) аскорбиновой кислоты, то это означает, что точность вашего анализа (около 5 %) вполне достаточна и вы можете переходить к дальнейшим опытам.

2. Определение содержания витамина С в фруктовых соках

Отожмите из лимона или апельсина 25 мл сока или возьмите столько же готового сока из пакета (он должен быть светлым: в темном вы не увидите появления окраски йода с крахмалом). Титруйте сок, как в опыте с таблеткой. Если на указанное количество сока израсходуется, допустим, 10 мл раствора йода, значит, в 25 мл сока было 8,8 мг аскорбиновой кислоты, а в 100 мл сока – 35,2 мг (содержание аскорбиновой кислоты обычно так и выражают – в мг на 100 мл или на 100 г продукта).

Сделайте вывод о работе. Сравните полученный вами результат с написанным на упаковке сока. Если есть небольшие расхождения – не страшно. Если же с таблеткой все получилось верно, а с соком – нет, значит, либо на упаковке неверные сведения, либо из-за неправильного

или слишком долгого хранения сока витамин в нем частично разрушился – возможно, еще до того, как сок разлили в пакеты. Ведь витамин С очень неустойчивый и легко разрушается кислородом воздуха, особенно на свету, а также от следов железа. При тепловой обработке продуктов (например, при варке картофеля и капусты) витамина С в них может остаться меньше половины.

Литература к теме «Витамины»:

1. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. М.: Медицина, 1982. 750 с.
2. Девис М. Витамин С: Химия и биохимия: Пер с англ. / М. Девис, Дж. Остин, Д. Патрик. М.: Мир, 1999. 176 с.
3. Леенсон И.А. Занимательная химия. М.: РОСМЭН, 1999. С. 32-34.
4. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. М.: Высшая школа, 1998. 507 с.

ТЕМА 7. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

1. Какие элементы Периодической системы входят в состав живых организмов?
2. Какие три группы элементов Вы знаете?
3. Какие элементы относятся к макроэлементам? Какова суточная потребность в них?
4. Какова биологическая роль минеральных веществ в составе растительных и животных организмов?
5. Что представляет собой зола? Какие минеральные вещества входят в ее состав?
6. Какие минеральные вещества обеспечивают постоянство осмотического давления в организме?
7. Какие минеральные вещества являются пластическим материалом для образования костной ткани и зубов?
8. Приведите другие функции минеральных веществ в организме.
9. Назовите пищевые продукты богатые отдельными минеральными веществами.

Лабораторная работа 14 Исследование золы

Материалы, посуда, реактивы:

Штатив с пробирками. Колбы термостойкие конические на 200–250 мл.
Уксусная кислота. Фарфоровая чашка.
Азотная кислота. Воронка.
2 н раствор хлорида бария. Фильтровальная бумага.
Дистиллированная вода.
Гексанитрокобальтиат натрия $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ (крист.).
Древесная зола.
Плитка.
Центрифуга.

1. Получение поташа из золы

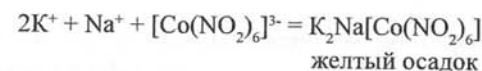
В коническую термостойкую колбу вместимостью 200–250 мл положите древесную золу (до половины колбы), налейте столько дистилли-

рованной воды, чтобы она покрыла всю золу. Кипятите на плитке около 10 минут. Горячий раствор отфильтруйте в фарфоровую чашку. Фильтрат выпарите. Осадок прокалите, а затем растворите в 3–4 мл дистиллированной воды. Отфильтруйте или отцентрифугируйте.

Фильтрат, содержащийся в растворе карбонат калия K_2CO_3 , поместите в две пробирки. В одной соответствующими реактивами обнаружьте ион калия, в другой – присутствие карбонат-иона.

2. Обнаружение иона калия гексанитрокобальтиатом натрия

К 2–3 каплям фильтрата прибавьте стеклянной палочкой несколько кристалликов $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ и потрите стенки пробирки стеклянной палочкой. В нейтральной среде образуется желтый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте:



3. Обнаружение карбонат-ионов

Обычно для обнаружения карбонат-ионов используют 2 н раствор BaCl_2 . При этом выпадает осадок карбоната бария. Затем его обрабатывают раствором любой кислоты, более сильной, чем угольная (уксусной, азотной и др.). Растворение карбоната бария сопровождается выделением пузырьков газа. Какой газ выделяется в данной реакции? Подтвердите ответ уравнениями проведенных реакций.

Сделайте вывод о работе.

1. Какие катионы и анионы входят в состав золы растений?
2. Какова их биологическая роль?

Литература к теме «Минеральные вещества»:

1. Балезин С.А. Практикум по неорганической химии / С.А. Балезин и др. М.: Просвещение, 1967. 342 с.
2. Васильева З.Г. Лабораторные работы по общей и неорганической химии / З.Г. Васильева и др. Л.: Химия, 1986. 288с.

3. Князев Д.А. Неорганическая химия / Д.А. Князев. П.: Высшая школа, 1990. 430 с.
4. Кукушкин Ю.И. Химические элементы в организме человека / Ю.И. Кукушкин // Соросовский образовательный журнал. 1990. №5. С. 54-57.
5. Методическое руководство по качественному анализу для студентов химического и биологического факультетов / Сост. А.А. Калугин, А.А. Лукутцов, Г.М. Сергеев; под ред. А.Д. Зорина. Н. Новгород: ННГУ, 1995. 56 с.
6. Посыпайко В.И. Химические методы анализа / В.И. Посыпайко, Н.А. Козырева, Ю.П. Логачева. М.: Высшая школа, 1989. 448 с.
7. Цитович И.К. Курс аналитической химии / И.К. Цитович. СПб: Лань, 2007. 496 с.

ТЕМА 8. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Важную роль в понимании биохимических процессов питания, предупреждения и лечения некоторых болезней при разработке новых полноценных продуктов питания имеют данные об их энергетической и пищевой ценности. Эти показатели должны также учитываться при составлении сбалансированных рационов питания для различного контингента населения. Поэтому в соответствии с современными требованиями этикетирования энергетическая и пищевая ценность пищевых продуктов обязательно должны указываться на упаковке готовых продуктов питания.

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

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

$$\mathcal{E} = 4,0B + 9,0Ж + 4,0У + kK_{\text{кис}},$$

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

B – масса белка в 100 г продукта, г;

$Ж$ – масса жира в 100 г продукта, г;

$У$ – масса углеводов в 100 г продукта, г;

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

4,0; 9,0; 4,0; k – коэффициенты энергетической ценности соответственно белков, жиров, углеводов и органических кислот, входящих в состав продукта, ккал/г (табл. 1).

Суточная физиологическая потребность человека в энергии зависит от многих факторов: образа жизни, физической активности, климата, пола и возраста. Для России общая потребность среднего жителя в энергии составляет 2500 ккал в сутки (или 25...35 ккал/кг массы тела).

Таблица 1

**Коэффициенты энергетической ценности основных
нутриентов продуктов питания**

Пищевые вещества	Коэффициент энергетической ценности, ккал/г
Белки	4,0
Жиры	9,0
Углеводы «по разности»	4,0
Сумма моно- и дисахаридов	3,8
Крахмал определённый экспериментально	4,1
Клетчатка	0,0
Органические кислоты:	3,5
Уксусная	2,4
Яблочная	3,6
Молочная	2,5
Лимонная	

Она складывается из энергетических затрат на поддержание физиологических процессов, выполнение социальных функций и может быть рассчитана по формуле:

$$ПЭ = ВОО \cdot КФА,$$

где ПЭ – потребность организма в энергии, ккал/сут;

ВОО – величина основного обмена, ккал/сут;

КФА – коэффициент физической активности (1...7,9).

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

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

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

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

Расчетная физиологическая потребность в основных пищевых веществах и энергии приведена в табл. 2 и составлена для условного «среднего» человека с учетом «Норм физиологической потребности в пищевых веществах и энергии» (1991 г.) и рекомендаций ВОЗ.

Таблица 2

**Расчетная физиологическая потребность человека
в основных пищевых веществах и энергии**

Пищевое вещество	Суточная потребность
1	2
Белки, г	75
Жиры, г	83
В том числе:	
насыщенные жирные кислоты, г	25 ¹⁾
полиненасыщенные жирные кислоты, г	11
холестерин, мг	300 ¹⁾
Усвояемые углеводы, г	65
В том числе сахара (сахароза), г	50
Пищевые волокна, г	30
Органические кислоты, г	2
Минеральные вещества, мг:	
натрий	2400 (не более 6, 15 г пищевой соли) ¹⁾
кальций	1000

1	2
фосфор	1000
калий	3500
магний	400
железо	14
цинк	15
йод	0,15

Лабораторная работа 15
Составление карты пищевой и энергетической
ценности продуктов

Таблица 3

Расчетная физиологическая потребность человека
в основных пищевых веществах и энергии

Пищевое вещество	Суточная потребность
Витамины:	
B ₁ , мкг	1,5
B ₂ , мкг	1,8
PP(на ниациновый эквивалент), мг	20
B ₆ , мкг	2,0
B _с , мкг	200
B ₁₂ , мкг	3
D, мкг	5
A (на ретиноловый эквивалент), мкг	1000
E (на токофероловый эквивалент), мкг	10
C, мкг	70
Энергетическая ценность, ккал/100 г	2500

¹⁾Допустимое потребление согласно ВОЗ.

Составление карты пищевой и энергетической ценности
пищевых продуктов

В соответствии с вариантом, предложенным преподавателем, рассчитать пищевую и энергетическую ценность продуктов питания. На основании рецептуры и химического состава ингредиентов определить расчетным путем химический состав продуктов, составить карту пищевой и энергетической ценности пищевого суточного рациона. Сделать выводы о том, насколько данный продукт удовлетворяет суточную потребность в основных пищевых веществах, энергии. Сделать необходимые рекомендации.

Пример. Составить карту энергетической и пищевой ценности творожной массы с изюмом, приготовленной по следующей рецептуре, кг:

Творог жирный с массовой долей жира 18%	373,75
Сливки сухие с массовой долей жира 42 %	316,35
Сахар-песок	180,90
Изюм	100,00
Желатин	9,0
Вода	20,0
Всего	1000,0

Для определения энергетической ценности творожной массы необходимо знать ее химический состав, который можно определить расчетным методом, исходя из состава ингредиентов, по справочнику «Химический состав российских пищевых продуктов».

Белковый состав творожной массы:

Творог жирный	$\frac{373,75 \cdot 15}{100} = 56,06 \text{ кг};$
Сливки сухие	$\frac{316,35 \cdot 19}{100} = 60,11 \text{ кг};$
Изюм	$\frac{100,0 \cdot 1,8}{100} = 1,80 \text{ кг};$
Желатин.....	$\frac{9,0 \cdot 87,2}{100} = 7,85 \text{ кг};$

Массовая доля белка в творожной массе составляет

$$\frac{(56,06 + 60,11 + 1,8 + 7,85) \cdot 100}{1000} = 12,58\%$$

Углеводный состав творожной массы:

Творог жирный	$\frac{373,75 \cdot 2,8}{100} = 10,47 \text{ кг};$
Сливки сухие	$\frac{316,35 \cdot 30,2}{100} = 95,54 \text{ кг};$
Сахар-песок	$\frac{180,90 \cdot 99,7}{100} = 180,36 \text{ кг};$
Изюм.....	$\frac{100,0 \cdot 66}{100} = 66,00 \text{ кг};$
Желатин.....	$\frac{9,0 \cdot 0,7}{100} = 0,06 \text{ кг}.$

Массовая доля углеводов в творожной массе составляет

$$\frac{(10,47 + 95,54 + 180,36 + 66 + 0,06) \cdot 100}{1000} = 35,24\%.$$

Жировой состав творожной массы:

Творог жирный	$\frac{373,75 \cdot 18}{100} = 67,82 \text{ кг};$
Сливки сухие.....	$\frac{316,35 \cdot 42}{100} = 132,87 \text{ кг};$
Желатин.....	$\frac{9,0 \cdot 0,4}{100} = 0,04 \text{ кг}.$

Массовая доля жира в творожной массе составляет

$$\frac{(67,28 + 132,87 + 0,04) \cdot 100}{1000} = 20,02\%$$

Аналогичным образом можно определить массовую долю других нутриентов (органических кислот и минеральных веществ), %:

Органические кислоты	0,96
Кальций	0,28
Фосфор	0,26
Калий	0,36

На основании расчетных данных массовых долей основных нутриентов и данных энергетических коэффициентов (табл. 24) можно вычислить **энергетическую ценность** творожной массы по формуле:

$$\mathcal{E} = 4,0 \cdot 12,58 + 9,0 \cdot 20,02 + 4,0 \cdot 35,24 + 3,6 \cdot 0,96 = 374,92 \text{ ккал/100г}$$

Пищевую ценность творожной массы определить, исходя из формулы сбалансированного питания, как процент удовлетворения суточной потребности человека (табл.2) в основных пищевых веществах, входящих в состав исследуемого продукта:

Белки.....	$\frac{100 \cdot 12,58}{75} = 16,8\%$
Углеводы.....	$\frac{100 \cdot 35,24}{65} = 54,2\%$
Жиры.....	$\frac{100 \cdot 20,02}{83} = 24,1\%$
Органические кислоты.....	$\frac{100 \cdot 0,96}{2,0} = 48,0\%$
Фосфор.....	$\frac{100 \cdot 0,26}{1,0} = 26,0\%$
Калий.....	$\frac{100 \cdot 0,36}{3,5} = 10,3\%$

Таким образом, 100 г творожной массы удовлетворяют суточную потребность организма в белках на 16,8 %, в углеводах – на 54,2%, в жирах – на 24,1%, в органических кислотах – на 48%, в кальции – на 28%, в фосфоре – на 26%, в калии – на 10,3%.

Полученные результаты оформить в виде таблицы (табл. 4).

Расчет пищевой и энергетической ценности продукта

Таблица 4

Наименование нутриента	Массовая доля вещества в составе продукта, %	Энергетическая ценность	Пищевая ценность (ПЦ) продукта	
			Суточная потребность	% удовлетворения суточной потребности
1	2	3	4	5
Белки				
Углеводы				
Жиры				
Органические кислоты				

1	2	3	4	5
Минеральные вещества				
В том числе:				
Кальций				
Фосфор				
Калий				
и т.д.				
Витамины				
Всего				

Лабораторная работа 16

Определение пищевой ценности молочных продуктов химическим методом

Реактивы и оборудование:

Спиртовый раствор фенолфталеина. Колбы для титрования объемом 100...250мл.

0,1; 2 н; 15 % растворы гидроксида натрия. Бюретки.

0,1н раствор трилона Б марля.

2 % раствор соляной кислоты. Пипетки.

0,1н; 4 % растворы хлорида кальция. Мерные цилиндры.

Изоамиловый спирт. Стекланные воронки.

Спиртово-эфирная смесь. Фильтровальная бумага.

Сухая индикаторная смесь эриохрома черного. Т капельницы.

Сухая индикаторная смесь мурексида. Пробирки с воздушными холодильниками.

0,1 н раствор хлорида магния.

Аммиачно-аммонийная буферная смесь.

2 н раствор гидроксида калия.

37 % раствор формальдегида.

0,001н раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенол.

Концентрированные растворы серной и азотной кислот.

Водяные бани.

Центрифуга.

Фотоэлектроколориметр.

Рефрактометр.

Набор ареометров.

Аналитические весы.

Жиросеры.

Молоко и вырабатываемые из него продукты благодаря высокой питательности, вкусовым достоинствам и хорошей усвояемости являются одними из важнейших источников питания. Молоко содержит 87,5% воды. Из 12,5% сухих веществ в среднем 3,5% приходится на жир, 3,2% – на белки, 0,04% – на небелковые азотистые соединения, 4,7 % – на лактозу, 0,7% – на минеральные вещества. Кроме перечисленных основных компонентов, в молоке содержатся витамины, ферменты, пигменты. Т. о., молоко является ценнейшим пищевым продуктом, так как в его состав входят важнейшие питательные вещества.

Молоко представляет собой эмульсию жира в молочной плазме. Качественный состав молока определяет состав сухих веществ, а именно:

белки – казеиноген, сывороточные белки;

липиды – триацилглицерины, содержащие главным образом олеиновую и пальмитиновую кислоты, фосфолипиды – фосфатидил-холин (лецитин) и фосфатидилэтаноламины, а также холестерин;

углеводы – лактоза (молочный сахар) и в небольшом количестве глюкоза, галактоза и более сложные олигосахариды;

ферменты – пероксидаза, фосфатаза, амилаза, липаза, каталаза, редуктаза и др.;

витамины – А, С, группы В и др.;

минеральные вещества – кальций, фосфор, калий, натрий, магний, хлор, железо (следы).

Белки молока

Казеин (казеиноген) – основной белок молока (80% всех белков молока) – является сложным белком. Он представляет собой комплекс казеината кальция с коллоидным фосфатом кальция – так называемый казеинаткальцийфосфатный комплекс. Образование подобного комплекса обусловлено присутствием большого количества серинфосфатных групп

в казеиновой молекуле, которые способны образовывать казеинаты кальция. Благодаря структурообразующей способности кальция казеиногены самоассоциируются в мицеллы:



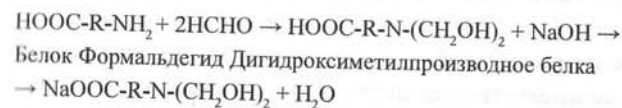
Казеинат кальция при взаимодействии с коллоидным кальцием формирует мостики из неорганического фосфата кальция:



В молоке казеиноген находится в виде растворимой в воде кальциевой соли. В изоэлектрической точке (при pH 4,6) казеиноген переходит в неустойчивое состояние и выпадает в осадок.

Сывороточные белки молока (20% всех белков молока) представлены молочным альбумином и глобулином, которые обладают всеми свойствами белков соответствующих групп (альбуминов и глобулинов): свертываются при кипячении и высаливаются насыщенным (альбумины) и полунасыщенным (глобулины) растворами сернокислого аммония. Для определения массовой доли белка в молоке используют титриметрический (формольный) и фотоколориметрический (ксантопротеиновый) методы. В обоих случаях при расчете концентрации белка используется поправочный коэффициент, который находят путем сравнения с данными метода Кьельдаля.

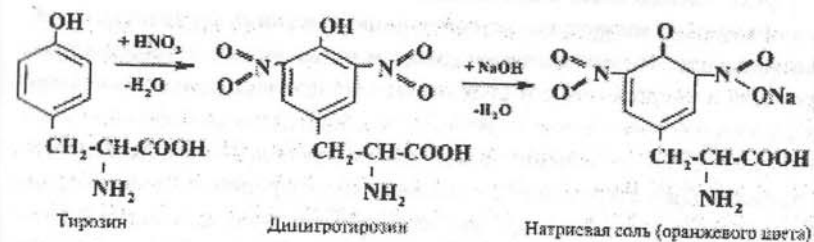
Формольный метод является удобным титриметрическим методом определения содержания аминокислот и белков молока. Он заключается в блокировании свободных аминогрупп белковой молекулы формальдегидом. Для этого к анализируемому раствору белка добавляют формальдегид. Образующиеся при этом соответствующие метиленпроизводные белка являются более сильными кислотами, чем исходные белки:



Образовавшиеся карбоксильные группы дигидроксиметилпроизводных можно титровать раствором щелочи в присутствии фенолфталеина.

Ксантопротеиновый метод основан на способности присутствующих в молекуле белков молока ароматических аминокислот (тирозина, триптофана и фенилаланина) образовывать с концентрированной азотной кислотой при нагревании динитропроизводные соединения желтого цвета. В щелочной среде они переходят в хиноидные соединения, имеющие оранжевый цвет.

Схема ксантопротеиновой реакции на примере тирозина:



Углеводы молока

Основным углеводом молока является молочный сахар, или лактоза (4,4-4,9%). Наряду с лактозой, которая составляет 99,7% всех сахаров, в молоке присутствуют моносахариды (глюкоза и галактоза) и их производные — трисахариды и олигосахариды. Лактоза и часть моносахаридов находятся в молоке в свободном состоянии, поэтому при коагуляции казеина основная масса лактозы остается в молочной сыворотке.

Молочный сахар — лактоза — состоит из остатков β -D-галактозы и α -D-глюкозы, соединенных между собой α -(1,4)-гликозидной связью, и обладает восстанавливающими свойствами. Массовую долю лактозы в молоке определяют физическими (рефрактометрический, спектрофотометрический, поляриметрический) и химическими (йодометрический, метод Бертрана и др.) методами.

Рефрактометрический метод доступен и прост, им определяют массовую долю лактозы в свежем молоке с общей кислотностью не выше 20Т. В основе метода лежит способность сыворотки молока преломлять проходящий свет в зависимости от концентрации растворенной в ней лактозы. Лактоза в молоке находится в несвязанном состоянии и при отделении казеина практически полностью переходит в сыворотку.

Липиды молока

Содержание жира в молоке — от 2,8 до 4%. Молоко — это природная эмульсия жира в воде. Жировая фаза в воде находится в виде мелких капелек жира, покрытых лецитино-белковой оболочкой. Молочный жир состоит из сложной смеси ацилглицеринов.

Свойства жиров молока определяются его жирнокислотным составом.

Среди насыщенных жирных кислот в молочном жире встречаются пальмитиновая, миристиновая и стеариновая кислоты, среди ненасыщенных — олеиновая. Низкомолекулярные жирные кислоты (масляная, каприловая и капроновая) обуславливают специфический вкус молочного жира.

Сопутствующие вещества в молочном жире составляют 0,30...0,55% и представлены стеринами (в основном холестерином в свободном состоянии или в виде эфира), фосфолипидами (лецитином, кефалином), которые обладают эмульгирующими свойствами. Желтый цвет молочного жира обуславливают тетратерпены — каротиноиды.

На молокозаводах массовую долю жира в молоке и молочных продуктах определяют с помощью жирометров. В основе метода лежит способность серной кислоты или щелочи в присутствии изоамилового спирта разрушать белковые оболочки жировых шариков (кислотный и щелочной методы) и вызывать денатурацию казеина. После центрифугирования выделившийся жир собирается в виде сплошного слоя. Изоамиловый спирт добавляют для снижения поверхностного натяжения на границе раздела фаз.

Минеральные вещества молока

Среднее содержание макроэлементов в молоке следующее (мг%): кальций — 120, фосфор — 95, калий — 140, натрий — 50, магний — 12, хлор — 100.

Соли кальция. Большое значение для человека, особенно в детском возрасте, имеют соли кальция. Кальций в молоке присутствует в легкоусвояемой и хорошо сбалансированной с фосфором форме. Около 22% кальция в молоке связано с казеином, остальное количество присутствует в виде фосфатов и цитратов. Фосфаты кальция находятся в основном в коллоидном состоянии, и небольшая часть (30%) — в виде истинного раствора. При сквашивании молока основное количество кальция переходит в сыворотку.

Соли магния. Содержание магния в молоке незначительное — около 12...14 мг%. Доля солей магния, находящихся в виде истинного раствора в молоке, составляет 65...70%. Магний содержится в молоке в тех же химических соединениях и выполняет ту же роль, что кальций. Согласно последним научным данным, магний выполняет важную роль в развитии иммунитета новорожденного.

Соли фосфорной кислоты. Фосфор присутствует в молоке и ионной форме и входит как в состав казеиногена, так и в состав солей (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-). Фосфаты, как и цитраты, регулируют в молоке количество ионизированного кальция, влияющего на размер и стабильность казеиновых мицелл.

При определении массовой доли кальция и магния в молоке используется комплексонометрический метод (см. лаб. раб. 14) обратного титрования. В молоко вносится избыток раствора трилона Б, который связывают раствором хлорида кальция или магния, соответственно.

Витамины молока

Молоко содержит практически все витамины, необходимые для нормального развития человека. Они попадают в молоко с кормами синтезируются микрофлорой рубца. Содержание витаминов в молоке колеблется в зависимости от сезона, стадии лактации, рациона кормления коров и их индивидуальных особенностей. При хранении, и тепловой обработке молока содержание некоторых витаминов может уменьшаться на 30...70%.

Среднее содержание витаминов в молоке (мг%): ретинол (витамин А) — 0,03; тиамин (витамин В₁) — 0,04; рибофлавин (витамин В₂) — 0,05; ниацин (витамин РР) — 0,10; аскорбиновая кислота (витамин С) — 1,50.

Витамин С в молоке содержится главным образом в виде АК (67...78%) и небольшая часть — в виде ДАК (22...33%). Непосредственному определению массовой доли АК путем окисления ее до ДАК с помощью 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в молоке мешает молочный белок, способный связываться с индикатором (см лаб. раб. 13, с. 47). Поэтому витамин С определяют в без белковом фильтрате или разбавленном молоке.

Ход анализа

Определение массовой доли белка формальным методом. В колбу объемом 100мл пипеткой внести 10мл свежего молока или сыворотки, прибавить 5 капель раствора фенолфталеина и титровать 0,1 н раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания (нейтрализация свободных кислот), не исчезающего при взбалтывании в течение 1 мин. К окрашенному раствору добавить 2 мл заранее нейтрализованного 37% раствора формальдегида, при этом молоко должно обесцветиться. Титрование 0,1 н раствором гидроксида натрия продолжить до перехода окраски титруемого раствора из бесцветной в розовую. По количеству раствора едкого натрия, пошедшего на второе титрование (V), рассчитать массовую долю белка ($B_{\text{общ}}, \%$) по формуле:

$$B_{\text{общ}} = 1,92 * k * v,$$

где 1,92 — эмпирический коэффициент пересчета объема 0,1 н раствора гидроксида натрия на массовую долю белка по методу Кьельдаля;

k — поправочный коэффициент к титру 0,1 н раствора гидроксида натрия;

v — объем 0,1 н раствора гидроксида натрия, пошедшего на второе титрование, мл.

Определение массовой доли белка ксантопротеиновым методом. В колбу объемом 100мл отмерить пипеткой 1 мл хорошо перемешанного молока и добавить 9 мл 2 % раствора гидроксида натрия. Содержимое колбы тщательно перемешать. Спустя 10 мин отобрать 1 мл полученной

смеси в другую, того же объема колбу, добавить 1 мл концентрированной азотной кислоты (плотностью 1,43 г/см³) и поместить в кипящую водяную баню на 5 мин до приобретения раствором лимонно-желтого цвета. Полученный раствор охладить и добавить 3 мл 15 % раствора гидроксида натрия, 5мл дистиллированной воды. Цвет раствора после добавления гидроксида натрия изменится из желтого в оранжевый. При необходимости раствор отфильтровать через плотный беззольный фильтр и колориметрировать на фотозлектроколориметре при длине волны 420 нм (синий светофильтр) относительно дистиллированной воды. Массовую долю белка ($B_{\text{общ}}, \%$) рассчитать по формуле:

$$B_{\text{общ}} = k * D,$$

где $k = 7,3...7,5$ — эмпирический коэффициент пересчета оптической плотности исследуемого раствора на массовую долю белка, определенную по методу Кьельдаля;

D — оптическая плотность исследуемого раствора при длине волны 420 нм.

Определение массовой доли молочного сахара рефрактометрическим методом. В пробирку отмерить пипеткой 5 мл исследуемого молока и добавить 5...6 капель 4% раствора хлорида кальция, закрыть пробирку пробкой с воздушным холодильником и поместить ее на кипящую водяную баню. Через 20 мин пробирку вынуть из бани, охладить до 18...20 °С, при этом необходимо следить, чтобы капли конденсируемой жидкости не собирались на стенках пробирки, и центрифугировать в течение 10 мин при 4000 об./мин. На поверхность нижней призмы рефрактометра нанести одну каплю прозрачной жидкости. Закрыть верхнюю призму и снять показания рефрактометра при температуре 17,5°С. Процентное содержание лактозы ($L, \%$) в молоке найти по данным показателя преломления молочной сыворотки (табл. 5).

Таблица 5

Процентное содержание лактозы в молочной сыворотке

n_D	%	n_D	%	n_D	%	n_D	%	n_D	%
1,3390	3,01	1,3399	3,47	1,3408	3,87	1,3417	4,33	1,3426	4,79
1,3391	3,06	1,3400	3,52	1,3409	3,92	1,3418	4,38	1,3427	4,84
1,3392	3,11	1,3401	3,52	1,3410	3,98	1,3419	4,44	1,3428	4,89
1,3393	3,16	1,3402	3,62	1,3411	4,03	1,3420	4,49	1,3429	4,95
1,3394	3,21	1,3403	3,67	1,3412	4,08	1,3421	4,54	1,3430	5,00
1,3395	3,26	1,3404	3,70	1,3413	4,13	1,3422	4,59	1,3431	5,05
1,3396	3,31	1,3405	3,72	1,3414	4,18	1,3423	4,64	1,3432	5,10
1,3397	3,36	1,3406	3,77	1,3415	4,23	1,3424	4,69	1,3433	5,15
1,3398	3,42	1,3407	3,82	1,3416	4,28	1,3425	4,74	1,3434	5,20

Использование рефрактометра ИРФ-464 позволяет определить, не только массовую долю лактозы, но и содержание белка, сухого остатка в молоке. Для этого необходимо сравнить показатели преломления молока и безбелковой сыворотки.

Определение массовой доли молочного жира кислотным методом. В жиросмер для молока внести 20 мл серной кислоты (плотностью 1,81...1,82 г/см³) и осторожно по стенке добавить пипеткой 10,77 мл (в два приема) хорошо перемешанного молока, 2 мл изоамилового спирта (плотностью 0,8108...0,8115 г/см³). Закрывать жиросмер пробкой и встряхивать его до полного растворения белков. Поместить жиросмер на 5 мин в водяную баню (при температуре 65°C) пробкой вниз. Затем извлечь жиросмер из бани, вытереть насухо и поместить в центрифугу (при 4000 об/мин на 10 мин).

Центрифугирование повторить три раза, предварительно помещая каждый раз жиросмер в водяную баню с температурой 65°C. После отделения жира от плазмы молока вынуть жиросмер из бани, отрегулировать пробкой уровень жидкости, отсчитать число делений, занимаемых жиром.

Определение массовой доли молочного жира щелочным методом (бесцентрифужный). В жиросмер для молока внести 10 мл щелочного рас-

творителя и 10,77 мл молока (пипеткой), добавить 1 мл смеси изоамилового и этилового спирта и закрыть жиросмер резиновой пробкой. Тщательно перемешать содержимое жиросмера путем встряхивания до образования пены. Нагреть жиросмер до температуры 70...73°C на водяной бане, продолжая встряхивать его через каждые 5...10 мин. Перевернуть жиросмер пробкой вниз и оставить в водяной бане при температуре 65°C на 10...15 мин до исчезновения пены. Произвести отсчет показаний жиросмера аналогично кислотному методу.

Определение плотности молока. Удельный вес молока колеблется от 1,028 до 1,036 г/см³. Молоко, разбавленное обезжиренным молоком, или снятое молоко вследствие удаления жиров имеет более высокий удельный вес, разбавленное молоко — более низкий удельный вес вследствие уменьшения количества плотных веществ.

В мерный цилиндр объемом 100 мл налить по стенке молоко (температура 15...25°C), погрузить ареометр, следя за тем, чтобы он не касался стенок цилиндра, и произвести отсчет. Поправочный коэффициент на температуру в определении плотности приведен в табл. 28.

Плотность молока часто выражают в градусах ареометра (°А). Градусы ареометра находят путем вычитания 1000 из показаний, выраженных в единицах плотности (кг/м³).

Определение массовой доли сухих веществ расчетным методом. Сухие вещества или сухой остаток (СО, %) и сухой обезжиренный остаток молока (СОМО, %) определяют методом высушивания (см. лаб. раб. 13, с. 81) или более простым расчетным методом.

Формулы для расчета составлены исходя из зависимости содержания сухих веществ в молоке, от плотности и массовой доли жира:

$$CO = \frac{4,9Ж + D}{4} + 0,5; СОМО = СВ - Ж$$

где Ж — массовая доля жира, %;

D — плотность молока при 20 °C, °А.

Таблица 6
Зависимость плотности молока от температуры

Показания ареометра °А. °А	Плотность (°А), приведенная к температуре 20 °С, относительно молока (°С)									
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
25,0	24,0	24,2	24,4	24,6	24,8	25,0	25,2	25,2	25,6	25,8
25,5	24,5	24,7	24,9	25,1	25,3	25,5	25,7	25,9	26,1	26,3
26,0	25,0	25,2	25,4	25,6	25,8	26,0	26,2	26,4	26,6	26,8
26,5	25,4	25,4	25,6	25,8	26,0	26,5	26,3	26,7	26,9	27,3
27,0	25,9	26,1	26,3	26,5	26,8	27,0	27,2	27,5	27,7	27,9
27,5	26,3	26,6	26,8	27,0	27,3	27,5	27,7	28,0	28,2	28,4
28,0	26,5	27,0	27,3	27,5	27,8	28,0	28,2	28,5	28,7	29,0
28,5	27,3	27,5	27,8	28,0	28,3	28,5	28,7	29,0	29,2	29,5
29,0	27,8	28,0	28,3	28,5	28,8	29,0	29,2	29,5	29,7	30,0
29,5	28,3	28,5	28,7	29,0	29,3	29,5	29,7	30,0	30,2	30,5
30,0	28,8	29,0	29,3	29,5	29,7	30,0	30,3	30,5	30,7	31,0
30,5	29,3	29,5	29,7	30,0	30,3	30,5	30,7	31,0	31,2	31,5
31,0	29,8	30,1	30,3	30,5	30,8	31,0	31,2	31,5	31,7	32,0
31,5	30,2	30,5	30,7	31,0	31,3	31,5	31,7	32,0	32,3	32,5
32,0	30,7	31,0	31,2	31,5	31,8	32,0	32,3	32,5	32,8	33,0
32,5	31,5	31,5	31,7	32,0	32,3	32,5	32,8	33,0	33,3	33,5
33,0	31,7	32,0	32,2	32,5	32,8	33,0	33,3	33,5	33,8	34,1
33,5	32,2	32,5	32,7	33,0	33,3	33,5	33,8	34,0	34,3	34,6
34,0	32,7	33,0	33,2	33,5	33,8	34,0	34,3	34,4	34,8	35,1
34,5	33,2	33,5	33,7	34,0	34,2	34,5	34,8	34,9	35,3	35,6
35,0	33,7	34,0	34,2	34,5	34,7	35,0	35,3	35,5	35,8	36,1
35,5	34,2	34,4	34,7	35,0	35,2	35,5	35,8	36,0	36,2	36,6
36,0	34,7	34,9	35,2	35,6	35,7	36,0	36,2	36,5	36,7	37,3

Определение массовой доли кальция. В коническую колбу вместимостью 250 мл внести 5 мл молока (пипеткой), 190 мл дистиллированной воды и 5 мл 2 н раствора гидроксида натрия (мерным цилиндром), 3,5 мл 0,1 н раствора трилона Б (из бюретки), перемешать и оставить. Через 2 мин прибавить 0,04 г (на кончике шпателя) сухой смеси мурексиды с хлоридом натрия.

Полученный бледно-сиреневый раствор тщательно перемешать и оттитровать 0,1 н раствором хлорида кальция до появления устойчивой розовой окраски. Затем из бюретки по каплям добавить 0,1 н раствор трилона Б до появления бледно-сиреневого окрашивания. Рассчитать массовую долю кальция (M_{Ca} , мг%) по формуле:

$$M_{Ca} = \frac{2(V - V_1)}{V_M P} * 100,$$

где V – общий объем 0,1 н раствора трилона Б, добавленного к анализируемой пробе, мл;

V_1 – объем 0,1 н раствора хлорида кальция, израсходованного на обратное титрование, мл;

V_M – объем молока, взятого на анализ, мл;

P – плотность молока, г/мл;

2 – количество кальция, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора трилона Б, мг;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

Определение массовой доли магния. В коническую колбу вместимостью 250 мл внести 5 мл молока (пипеткой), 190 мл дистиллированной воды, 5 мл аммиачно-аммонийного буферного раствора (мерным цилиндром), 0,04 г сухой смеси эриохрома черного Т с хлоридом натрия и 5 мл 0,1 н раствора трилона Б (из бюретки), перемешать и оставить. Через 2 мин полученный сине-голубой раствор оттитровать 0,1 н раствором хлорида магния до изменения окраски в красный цвет. Затем из бюретки по каплям добавить 0,1 н раствор трилона Б до появления зелено-голубого окрашивания. Рассчитать массовую долю кальция (M_{Mg} , мг%) по формуле:

$$M_{Mg} = \frac{1,2(V - V_1)}{V_M P} * 100,$$

где V – объем 0,1 н раствора трилона Б, пошедшего на связывание ионов кальция при титровании анализируемой пробы с мурексидом, мл;

V_1 – объем 0,1н раствора трилона Б, пошедшего на связывание ионов кальция и магния при титровании анализируемой пробы с эриохромом черным Т, мл;

V_m – объем молока, взятого на анализ, мл;

ρ – плотность молока, г/мл;

1,2 – количество магния, соответствующее 1 мл 0,1н раствора трилона Б, мг;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

Определение массовой доли витамина С (см. лаб. раб. 13). В мерную колбу вместимостью 50 мл внести 10 мл 2% раствора соляной кислоты, добавить пипеткой 20 мл молока и перемешать. Довести полученный объем до метки раствором соляной кислоты и отфильтровать. 10 мл фильтрата из микробюретки оттитровать 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндифенолята натрия до появления устойчивого слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Содержание аскорбиновой кислоты в молоке (C_c , мг%) рассчитать по формуле:

$$C_c = \frac{V_k V_1 * 0.088 * 100}{V_2 * V_3 * \rho},$$

где V – объем 0,001н раствора 2,6-дихлорфенолиндифенолята натрия, пошедшего на титрование анализируемой пробы, мл;

V_1 – общий объем разведенного молока, 50мл;

V_2 – объем фильтрата молока, взятого на титрование, 10мл;

0,088 – титр раствора 0,001н 2,6-дихлорфенолиндифенолята натрия, мг/мл;

k – поправочный коэффициент к титру 0,001н раствора 2,6-дихлорфенолиндифенолята натрия;

V_3 – объем молока, взятого на анализ, 20 мл;

ρ – плотность молока, взятого на анализ, г/мл;

100 – коэффициент пересчета на 100 г молока.

Зная химический состав молока и массовые доли нутриентов, рассчитать его энергетическую и пищевую ценность. Результаты эксперимента сравнить с литературными данными и оформить в виде таблицы (табл. 7).

Таблица 7
Расчет энергетической ценности молочного продукта

Данные	Массовая доля						Э, ккал/100г
	Белка, %	Лактозы, %	Жиры, %	Са, мг%	Mg, мг%	Вит.С, мг%	
экспериментальные							
литературные							

Лабораторная работа 17 Аминокислотный скор

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

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

По биологической ценности белки можно разделить на четыре группы:

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

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

3. Белки зерновых обладают худшим балансом НАК.

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

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

$$C_j = \frac{\text{мг АКС в белке}}{\text{мг АКС в эталоне}} \cdot 100,$$

Пищевая ценность любого белка сравнивается с эталонным (абстрактным) белком, АКС которого сбалансирован и идеально соответствует потребностям человеческого организма в каждой НАК (табл. 8).

Таблица 8
Рекомендуемая суточная потребность человека в НАК

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

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

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

$$\text{ИНАК} = n \sqrt{\frac{\text{Лиз}_u}{\text{Лиз}_э} * \frac{\text{Три}_u}{\text{Три}_э} * \dots * \frac{\text{Гис}_u}{\text{Гис}_э}},$$

где n – число аминокислот;

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

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

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

В соответствии с АКС наименьшей биологической ценностью обладают белки зерновых (пшеницы), первая лимитирующая АК-лизин, вторая – треонин; белки кукурузы – первая лимитирующая кислота – лизин, вторая – триптофан. Более того, лизин, входящий в состав белков, при термообработке теряется, подвергается реакции меланоидирования. Белки кукурузы содержат мало лизина, но достаточно триптофана, тогда как белки бобовых богаты лизином, но содержат мало триптофана. Смесь бобов и кукурузы содержит достаточно НАК. Примером такого же удачного сочетания может служить хлеб и молоко, рис с соевым соусом, кукурузные хлопья с молоком. В качестве исходных данных для расчета

биологической ценности используют экспериментальные данные аминокислотного состава продуктов питания.

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

$$C_i = \frac{A_i}{A_{эi}} * 100,$$

A_i — содержание незаменимой i -и аминокислоты в 1 г исследуемого белка, мг/г;

$A_{эi}$ — содержание i -и аминокислоты в 1 г «эталонного» белка, мг/г;

100 — коэффициент пересчета в проценты.

Лимитирующей НАК считается та кислота, чей аминокислотный скор наименьший.

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

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

где n — количество НАК.

По величине КРАС оценивают биологическую ценность (БЦ, %) белоксодержащего продукта: БЦ = 100 — КРАС.

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

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

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

где k_i — коэффициент утилитарности i -и НАК по отношению к лимитирующей аминокислоте, доли ед.

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

$$k_i = \frac{C_{\min}}{C_i},$$

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

Расчет показателя сопоставимой избыточности содержания НАК (σ , мг/г белка эталона). Общее количество незаменимых аминокислот в белке оцениваемого продукта, которое из-за взаимнесбалансированности по отношению к эталону не может быть утилизировано организмом, служит для оценки сбалансированности состава НАК по показателю «сопоставимой избыточности». Данный показатель характеризует суммарную массу НАК, не используемых на анаболические нужды, в таком количестве оцениваемого продукта, которое эквивалентно по их потенциально утилизируемому содержанию 1 г белка эталона, и расчет ведут по формуле:

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

Задание. Провести полный расчет биологической ценности продукта исходя из его аминокислотного состава (табл.9) в соответствии с вариантом, предложенным преподавателем.

Пример расчета АКС. По данным таблицы 9, в 100 г молока (содержание белка -3,2 г) присутствует 83 мг метионина, 26 мг цистеина, в сумме 109 мг метионина + цистеина. Тогда 1 г молочного белка содержит метионина и цистеина

$$\frac{109}{3,2} = 34,06 \text{ мг}$$

В 1г эталонного белка содержится 35 мг метионина и цистеина, следовательно, АКС метионина:

$$C_{\text{мет}} = \frac{34,06 * 100}{35} = 97,3\%$$

Таблица 9

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

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

Результаты расчетов оформить в виде таблицы (таблица 10).

Биологическая ценность исследуемого белка

Таблица 10

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

Учебно-методическое издание

Анна Ашотовна Арутюнянц

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Учебно-методическое пособие

Редактор **А.А. Дряева**

Технический редактор **В.В. Гаврилова**

Корректор **Г.А. Койбаева**

Компьютерная верстка **Е.В. Осипова**

Сдано в набор 12.04.2013. Подписано в печать 13.06.2013.

Лицензия ЛР № 020218.

Формат бумаги 60×84¹/₁₆. Бум. офс. Гарнитура шрифта «Times».

Печать на ризографе. Усл.п.л. 5,5. Уч.-изд.л. 5,11.

Тираж 50 экз. Заказ № 80. С 54.

Издательство Северо-Осетинского государственного университета
имени К.Л. Хетагурова, 362025, г. Владикавказ, ул. Ватутина, 46.