
Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Российский государственный аграрный университет -
МСХА имени К.А. Тимирязева

Институт зоотехнии и биологии

Кафедра физиологии, этологии и биохимии животных

Т.В. Саковцева, С.В. Савчук, Н.А. Сергееenkova

Биологическая химия (часть II)

**для студентов направления
«Ветеринарно-санитарная экспертиза», «Ветеринария»**

Учебно-методическое пособие

Москва
Издательство РГАУ-МСХА
2025

Биологическая химия (часть II): Учебно-методическое пособие к практическим занятиям / Составители: Т.В. Саковцева, С.В. Савчук., Н.А. Сергеенкова. М.: Изд-во РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2025– 58 с.

В Учебно-методическом пособии к практическим занятиям изложен учебный материал для лабораторно-практических занятий по дисциплине «Биологическая химия (часть II)».

Предназначено для студентов очного отделения студентов очного отделения аграрных вузов, обучающихся по направлению «Ветеринарно-санитарная экспертиза» и специальности «Ветеринария».

© Саковцева Т.В., Савчук С.В.,
Сергеенкова Н.А.
© ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА
имени К.А. Тимирязева, 2025
© Издательство РГАУ-МСХА, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ.....	8
ЗАНЯТИЕ № 1. «ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ»	10
ЗАНЯТИЕ № 2. «БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ»	11
ЗАНЯТИЕ № 3. «ЭКСТРАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА МЯСА»	14
ЗАНЯТИЕ № 4. «БИОХИМИЯ СОЗРЕВАНИЯ МЯСА»	17
ЗАНЯТИЕ № 5. «БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ В МЯСЕ ПРИ ЕГО ХРАНЕНИИ»	22
ЗАНЯТИЕ № 6. «БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЖИРЕ МЯСА ПРИ ЕГО ХРАНЕНИИ»	25
ЗАНЯТИЕ № 7. КОЛЛОКВИУМ I. «БИОХИМИЯ МЯСА»	29
ЗАНЯТИЕ № 8. СЕМИНАР: «РОЛЬ МЯСА И МЯСОПРОДУКТОВ В ПИТАНИИ ЧЕЛОВЕКА»	30
ЗАНЯТИЕ № 9. «БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ МОЛОКА»	31
ЗАНЯТИЕ № 10. «ФЕРМЕНТЫ МОЛОКА»	33
ЗАНЯТИЕ № 11. «ПОСТОРОННИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА МОЛОКА»	38
ЗАНЯТИЕ № 12. «МОЛОКО КАК ПОЛИДИСПЕРСНАЯ СИСТЕМА»	40
ЗАНЯТИЕ № 13. «ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МОЛОКА ПРИ ЕГО ХРАНЕНИИ»	44
ЗАНЯТИЕ № 14. КОЛЛОКВИУМ II. «БИОХИМИЯ МОЛОКА»	47
ЗАНЯТИЕ № 15. «БИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕДА»	48
ЗАНЯТИЕ № 16. «БИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯИЦ»	54
ЗАНЯТИЕ № 17. СЕМИНАР: «РОЛЬ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПИТАНИИ ЧЕЛОВЕКА»	57

Введение

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ

Цель изучения дисциплины состоит в формировании у студентов прочных знаний и умений в отрасли физико-химических и биохимических основ оценки мяса и мясных продуктов, молока и молочных продуктов, мёда и яиц.

В задачи дисциплины входит приобретение теоретических знаний химического состава, структуры и свойств компонентов мясного и молочного сырья, мёда и яиц, механизмов их превращения в процессе хранения и переработки, влияние различных факторов на скорость и глубину биохимических процессов в исследуемом биологическом материале.

2. ФОРМЫ И СОДЕРЖАНИЕ ТЕКУЩЕГО И ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ

Текущий контроль: рейтинговая оценка знаний студентов, отчет о лабораторной работе.

Промежуточный контроль: коллоквиум.

Итоговый контроль: экзамен.

Система рейтинговой оценки

Соответствие баллов текущей проверки знаний традиционным оценкам			
Оценки:	«Удовлетворительно»	«Хорошо»	«Отлично»
Баллы:	6,0 - 7,9	8,0 - 8,9	9 - 10

Система итоговой оценки знаний

(правомерно для студентов, не имеющих пропусков лекций и ЛПЗ)

Виды учебной деятельности	Количество	Максималь- ный балл	Максималь- ная сумма баллов
Лабораторные занятия	14	10	140
Контрольная работа	14	10	140
Коллоквиум	2	100	200
Семинар	2	100	200
Всего:			680

80% от максимальной суммы баллов - оценка «Хорошо» без сдачи экзамена;
85% от максимальной суммы баллов - оценка «Отлично» без сдачи экзамена.

Студенты, набравшие **менее 60%** от максимальной суммы баллов – к сдаче экзамена не допускаются.

Итоговая рейтинговая система оценки успеваемости

Показатели успеваемости		Оценка успеваемости			
		Неудовл.	Удовл.	Хорошо	Отлично
В % от максимального балла		< 60	60 - 79	80 - 89	90 - 100
Количество баллов	За текущую успеваемость	< 348	348 - 463	464 - 521	522 - 580
	За экзамен	< 60	60 - 79	80 - 89	90 - 100
	Итого	< 348	348 - 463	464 - 521	522 - 580

3. РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия молока и мяса: учебник. / В.В. Рогожин. - Санкт-Петербург: ГИОРД, 2012. - 453 с.
2. Рогожин В.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции. СПб.: ГИОРД, 2014.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. СПб: ГИОРД, 2004. - 320 с.
2. Жарова Т.В. Биохимия мяса и молока: Учебное пособие. М.: МСХА, 2005. – 283 с.
3. Житенко П.В. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животноводства. Справочник. - М.: Колос, 2000. - 335 с.
4. Позняковский В.М. Экспертиза мяса птицы, яиц и продуктов их переработки. Качество и безопасность. Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2007. - 214 с.
5. Экспертиза продуктов пчеловодства. Качество и безопасность. Под общ. ред. В.М. Позняковского. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. - 206 с.

ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСЫ

1. <http://newgreenfield.ru/>. Статьи по технологии мяса и мясных продуктов (в том числе и по биохимии мяса).
2. <http://www.meat-club.ru/forum/index.php>. Мясной клуб (мясной портал для продвинутых технологов).

1. <http://molokoportal.ru/>. Молочный портал.
2. <http://www.paceka.ru/>. Все о мёде.
3. <http://www.beeland.ru/>. Большой сайт по пчеловодству.
4. <http://www.salkova.ru/index.php>. Сайт Сальковой Валентины о продуктах пчеловодства.
5. <http://beeinbg.ru/internet.htm>. Болгарские интернет ресурсы по мёду.
6. <http://humbiol.ru>. База знаний по биологии человека (физиология, клеточная биология, генетика, биохимия).
7. www.cnshb.ru. Центральная научная сельскохозяйственная библиотека Российской академии сельскохозяйственных наук.
8. <http://window.edu.ru/> - Единое окно доступа к образовательным ресурсам.
9. <http://ru.wikipedia.org/>

Правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории

Работа в биохимической лаборатории связана с некоторой опасностью, поскольку многие вещества, используемые в ходе практических занятий, в той или иной степени ядовиты, огнеопасны или взрывоопасны. Существуют общие правила, выполнение которых обязательно для каждого работающего в лаборатории независимо от характера эксперимента.

I. Общие требования к поведению студентов в аудитории

- 1. Соблюдение** требований настоящих Правил обязательно для студентов, работающих в аудитории.
- 2. Посторонние лица** допускаются в аудиторию в момент проведения эксперимента только с разрешения преподавателя.
- 3.** В лаборатории **запрещено** находиться в верхней одежде.
- 4. В биохимической лаборатории** студенты обязаны находиться в халатах, проявлять осторожность в движениях, быть внимательными к указаниям преподавателя и лаборанта.
- 5. Запрещается** загромождать проходы и лабораторные столы сумками.
- 6. Прежде чем** приступить к выполнению работы, необходимо подробно изучить порядок ее проведения и внимательно выслушать пояснения преподавателя.
- 7. Следует** соблюдать все указания преподавателя по безопасному обращению с оборудованием, реактивами, нагревательными приборами и методами нагревания реактивов, наполнению сосудов и т.д.
- 8. Без разрешения** запрещается проводить опыты, не предусмотренные планом занятия.
- 9. Запрещается** прием пищи в биохимической лаборатории.
- 10. Обо всех неполадках** в работе оборудования, водопровода, электросети и т.д. необходимо ставить в известность преподавателя или лаборанта.
- 11. По окончании работы** следует произвести уборку рабочих мест.
- 12. При получении** травмы (порезы, ожоги), а также при плохом самочувствии студенты должны немедленно сообщить об этом преподавателю или лаборанту.
- 13. При возникновении** в аудитории во время занятий аварийных ситуаций (пожар, появление сильных посторонних запахов) не допускать паники и следовать указаниям преподавателя.

II. Работа с веществами и растворами

- 14. Насыпать или наливать** вещества можно только над столом или специальным подносом. Для опыта следует брать только указанное количество вещества.
- 15. Без разрешения** нельзя ошибочно взятый излишек реактива сыпать (сливать) обратно в склянку или банку.

16. **Запрещается** выносить из кабинета и вносить в него любые химические вещества без разрешения преподавателя.
17. **Все работы**, связанные с выделением вредных паров или газов, проводить только **в вытяжных шкафах** при включенной принудительной вентиляции.
18. **Твердые сыпучие реактивы** разрешается брать из склянок только с помощью совочков, ложечек, шпателей, пробирок, но не руками. Измельчение твердых веществ разрешается проводить только в фарфоровой ступке с помощью пестика.
19. Для **ускорения растворения** твердых веществ в пробирке нельзя закрывать отверстие пальцем при встряхивании.
20. При **определении запаха** вещества нельзя наклоняться над ним, нельзя вдыхать пары или выделяющийся газ. Нужно легким движением руки над горлом сосуда направить пар или газ к носу и вдыхать осторожно.
21. **Обо всех случаях разлива** жидкостей, а также о рассыпанных веществах, реактивах нужно сообщить преподавателю или лаборанту.
22. **Растворы** из реактивных склянок необходимо наливать так, чтобы при наклоне, этикетка оказывалась сверху (этикетка в ладони). Каплю, оставшуюся на горлышке, снимают краем посуды, куда наливается жидкость.
23. **Жидкие реактивы** отбирать чистыми пипетками при помощи груши, либо автоматического дозатора.
24. При **попадании на кожу** растворов кислот или щелочей необходимо смыть их (после отряхивания видимых капель) сильной струей холодной воды, а затем обработать нейтрализующим раствором (2%-ным раствором уксусной кислоты или гидрокарбонатом той же концентрации) и ополоснуть водой.

III. Обращение с нагревательными приборами

25. **Зажигать** газовую горелку разрешается только спичкой. Запрещается наклоняться над горящей горелкой.
26. **Запрещается** перед нагреванием заполнять пробирки жидкостью более чем на $\frac{1}{3}$ их объема.
27. При **нагревании пробирки** ее отверстие следует направлять в сторону от себя и от рядом работающих студентов.
28. В **ходе нагревания** запрещается наклоняться над сосудами, заглядывать в них. Недопустимо нагревать сосуды на границе и выше уровня жидкости.
29. Необходимо начинать **со слабого нагревания всей пробирки** или стеклянной пластинки (2-3 движения над пламенем, если пробирка не закреплена, или слабым пламенем под пробиркой, если пробирка закреплена) и только затем вести дальнейший нагрев вещества.
30. По завершении опыта нагревательные приборы необходимо **выключить**.
31. **Запрещается** оставлять без присмотра нагревательные приборы (газовые горелки, электроплиты, водяные бани, термостаты).

Занятие № 1. «Химический состав мышечной ткани»

Цель занятия: изучить состав мышечной ткани.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Строение и биохимические функции мышечной ткани.*
2. *Сократительные белки мышц: миозин, актин, тропомиозин.*
3. *Химизм мышечного сокращения. Источники АТФ в мышце.*
4. *Участие кальция, АТФ и КФ в мышечном сокращении.*
5. *Саркоплазматические белки. Желирующие свойства саркоплазматических белков.*

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Подготовка мышц к исследованию.

1. Мышцу освободите от жира и соединительной ткани.
2. Взвесьте навеску ткани массой 6-8 г. Измельчите ножницами.
3. Ткань поместите в фарфоровую ступку, измельчите пестиком. Налейте 30 мл дистиллированной воды и разотрите пестиком.
4. Через 7-10 мин смесь фильтруйте через двойной слой марли в химический стакан (водная вытяжка).
5. Мышечную кашицу, оставшуюся на марле, перенесите в фарфоровую чашку и залейте 5% раствором хлористого калия.
6. Смесь 2-3 мин тщательно растирайте и фильтруйте в другой химический стакан (солевая вытяжка).
7. Водные и солевые вытяжки используйте для дальнейших экспериментов.

Опыт 1. Определение изоэлектрической точки (ИЭТ) водного и солевого экстракта мышцы.

1. Пронумеруйте 4 пробирки.
2. Прилейте в каждую пробирку по 5 мл буферного раствора с определенной величиной pH: 3,4; 4,2; 5,0; 6,5.
3. Затем в каждую пробирку налейте по 1 мл водного раствора мышечного глобулина (должен быть прозрачный раствор!) и встряхните.
4. Повторите пункт 1-3 с солевым раствором мышечного экстракта.
5. Результаты наблюдений занесите в таблицу:

Величина pH	3,4	4,2	5,0	6,5
Степень помутнения водного раствора				
Степень выпадения осадка в солевом растворе				

«-» – отсутствует				
«+» – слабое				
«++» – удовлетворительное				
«+++» – интенсивное				

6. Определите ИЭТ исследуемого протеина. Какими физико-химическими свойствами обладают белки в изоэлектрическом состоянии?

Опыт 2. Биуретовая реакция с экстрактами белков.

1. В пробирку налейте 1 мл приготовленного водного экстракта мышц, содержащего альбуминовую фракцию белка.
2. Проведите биуретовую реакцию: к 1 мл белкового экстракта добавьте 1 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия, а затем 5 капель 2%-ного раствора сульфата меди (II).
3. Проведите биуретовую реакцию с 1 мл солевого экстракта мышц.
4. Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 2. «Биохимия соединительной ткани»

Цель занятия: изучить состав соединительной ткани.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Охарактеризуйте химический состав соединительной ткани. Раскройте основные функции соединительной ткани.

2. Охарактеризуйте химический состав, строение и функции коллагена.
3. Охарактеризуйте химический состав, строение и функции эластина.
4. Физико-химические свойства соединительнотканых белков. Охарактеризуйте процесс перехода соединительно-тканых белков в желатин.
5. Гидроксипролиновый показатель. Технологическое значение данного показателя. Возрастные изменения соединительной ткани.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Выделение коллагена соединительной ткани и изучение его свойств.

1. Взвесьте в пробирках соединительную ткань (например, сухожилия) и прилейте реактивы, согласно таблицы:

	Номер колбы				
	1	2	3	4	5
Соединительная ткань, г	2	2	2	2	2
H ₂ O дист., мл	10	10	10	10	10
10 % NaOH, мл	-	2,5	2,5	-	-
10 % H ₂ SO ₄ , мл	-	-	-	2,5	2,5
3 % H ₂ O ₂ , мл	-	-	0,5	-	0,5
Результаты биуретовой реакции (цвет)					

2. Кипятите пробирки 30 мин. При кипячении объем жидкости периодически доводите водой до первоначального.
3. Горячий раствор фильтруйте в чистые пробирки.
4. Фильтрат охладите и, образовавшийся из коллагена в результате кипячения желатина обнаружьте с помощью биуретовой реакции (см. занятие №1).
5. Объясните полученные результаты.
6. Ответьте на вопрос: Какое строение имеет коллаген?
7. Запишите стадии перехода коллагена в желатин.

Опыт 2. Определение прозрачности желатина.

1. К 5 г желатина добавьте 95 мл дистиллированной воды и оставьте для набухания на 1,5-2 ч.
2. Набухший желатин нагрейте на водяной бане при $50 \pm 5^\circ\text{C}$ до растворения. Температура желатина во время испытания должна быть $40 \pm 1^\circ\text{C}$. Приготовленный 5% раствор желатина используют в течение 1 часа с момента его приготовления.
3. Для определения прозрачности 5% раствор желатина налейте в кювету с толщиной слоя 10 мм и измерьте оптическую плотность при синем свето-фильтре ($\lambda = 440$ нм) против дистиллированной воды. Величину прозрачности выразите в процентах.

Показатели качества пищевого желатина

	I сорт	II сорт	III сорт
Прозрачность 5%-ного раствора желатина, %, не менее	38	26	24

От каких факторов зависит качество желатина?

Опыт 3. Влияние электролитов на застудневание желатина.

1. В шесть пронумерованных пробирок налейте по 2,5 мл растворов солей, в последовательности определенной в таблице.
2. Затем в каждую из шести пробирок добавьте по 2,5 мл нагретого примерно до 50°C 5%-ного раствора желатина.
3. Далее пробирки поместите в лед (холодную воду) на 10 минут.
4. **Пристально наблюдайте за растворами, стараясь не пропустить начало застудневания!**
5. Запишите время застудневания желатина в каждой пробирке в таблицу:

№ пробирки	1	2	3	4	5	6
Соль	K_2SO_4	CH_3COOK	KCl	KI	KNO_3	KCNS
Время застудневания						

Сделайте вывод по результатам опыта. Объясните полученные результаты.

Дата выполнения ____ Оценка ____ Подпись преподавателя ____

Занятие № 3. «Экстрактивные вещества мяса»

Цель занятия: изучить методы качественного и количественного определения экстрактивных веществ мяса.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Понятие об экстрактивных веществах. Классификация экстрактивных веществ мяса.*
2. *Характеристика экстрактивных веществ, обуславливающих сладкий вкус мяса.*
3. *Биологическая роль карнозина и ансерина как экстрактивных веществ мяса.*
4. *Биологическая роль карнитина, креатинина и креатинина. Характеристика данных веществ как экстрактивных веществ мяса.*
5. *Факторы, влияющие на соотношение экстрактивных веществ в мясе.*

Дата выполнения ____ Оценка ____ Подпись преподавателя ____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Качественное определение гликогена мышечной ткани.

Сущность этой реакции состоит в том, что сложные полисахариды являются индикаторами на йод и в присутствии его дают цветную реакцию (гликоген окрашивается в красный цвет, крахмал в синий цвет). Качественная реакция обнаруживает гликоген при наличии его в мясе около 1%.

Приготовление мышечного экстракта.

1. На технических весах взвесьте 5 г мышечной ткани свежего мяса.
2. Измельчите мясо ножницами, добавьте кварцевый песок, разотрите в ступке до получения гомогенной массы
3. Добавьте 10 мл дистиллированной воды и экстрагируйте 30 мин.
4. После этого полученный экстракт профильтруйте. Добавьте по каплям для осаждения белков 5%-трихлоруксусной кислоты (ТХУ). При наличии белка раствор мутнеет. Профильтруйте полученный раствор.

5. Полученный фильтрат используйте для определения гликогена, а также для опыта №2.
6. К 2 мл фильтрата добавьте несколько капель 1%-ного раствора Люголя. Положительная реакция - вишнево-красная окраска фильтрата, сомнительная реакция – окраска фильтрат оранжевого цвета, отрицательная реакция – фильтрат желтого цвета.

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Как влияет концентрация гликогена на вкусовые достоинства мяса? От каких факторов зависит содержание гликогена в мышечной ткани?

Опыт 2. Качественное определение креатинина.

1. К 1-2 мл фильтрата мышечной ткани, свободного от белков (из опыта №1), добавьте 3 капли насыщенного раствора пикриновой кислоты (ядовита!).
2. Проведите подщелачивание раствора добавлением нескольких капель 10%-ного гидроксида натрия. Через несколько минут появляется оранжево-красная окраска. Температура ускоряет реакцию.
3. Прodelайте опыт с фильтратами красных и белых мышечных волокон.
4. Сделайте вывод о содержании креатинина в разных мышцах и причинах, обуславливающих это различие.

Опыт 3. Качественная реакция на глутатион.

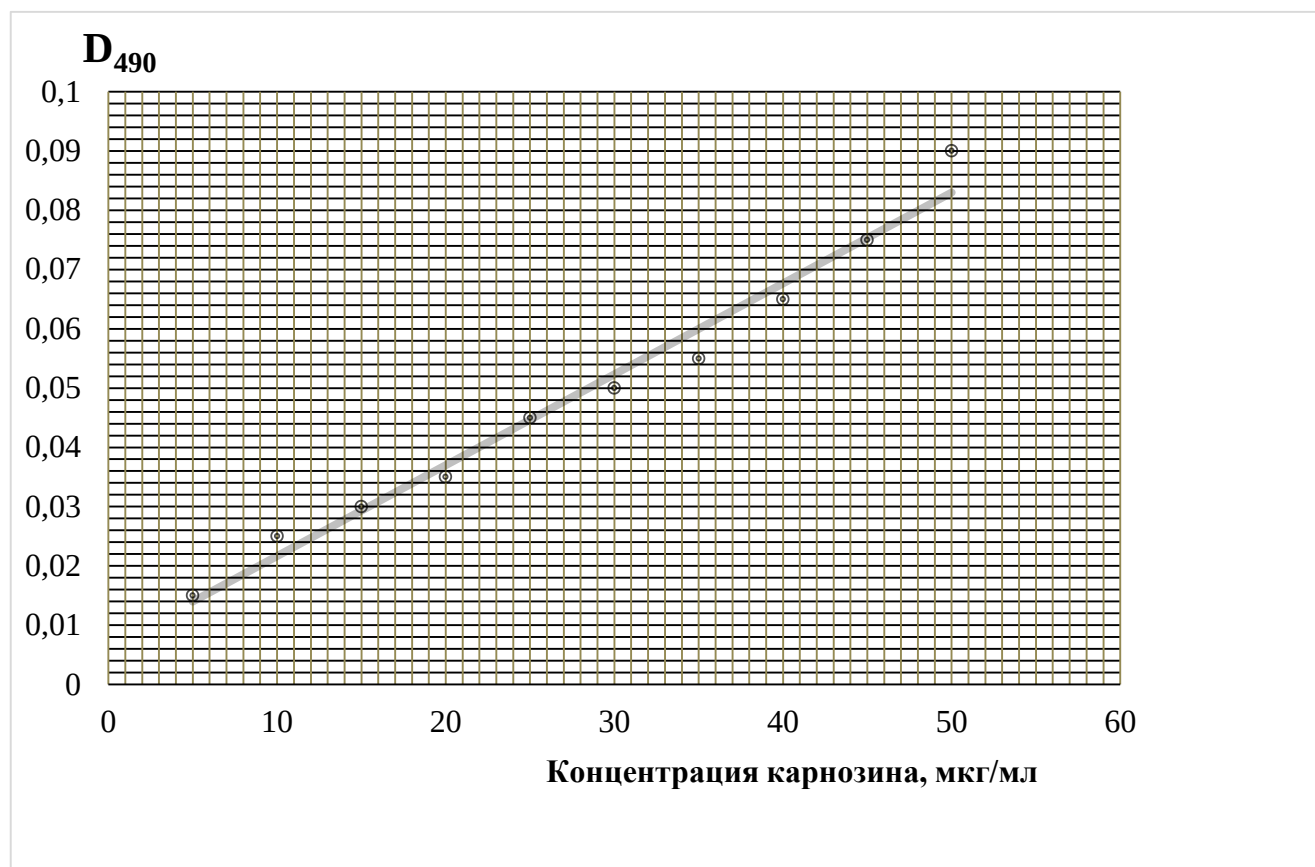
1. Возьмите 5 г ткани (мышца, печень, почки), измельчите ее ножницами, затем разотрите в фарфоровой ступке со стеклянным песком, добавляя порциями 10 мл насыщенного раствора сернокислого аммония.
2. Профильтруйте полученную массу в пробирку.
3. В пробирку с фильтратом добавьте 5-6 капель 2%-ного раствора нитропруссид натрия и 2 мл концентрированного раствора аммиака. Жидкость приобретает пурпурную окраску, которая со временем бледнеет.
4. Результаты занесите в таблицу:

	Печень	Мышца	Почка
Цветная реакция на глутатион			
«+» – слабое окрашивание			
«++» – удовлетворительное окрашивание			
«+++» – интенсивное окрашивание			

В какой ткани содержание глутатиона было максимальным? Объясните, как это связано с биохимическими функциями этого трипептида.

Опыт 4. Определение карнозина.

1. Взвесьте 0,1 г мышечной ткани и поместите навеску в пробирку.
2. Добавьте 5 мл дистиллированной воды. Хорошо разомните навеску в этом объеме воды стеклянной палочкой.
3. Поместите пробирку в кипящую водяную баню на 3 минуты.
4. Оставьте пробирку в штативе на 10 минут для отстаивания.
5. По истечении указанного времени возьмите из пробирки 1 мл раствора и поместите его в новую пробирку.
6. Добавьте к раствору в новой пробирке 1 мл дистиллированной воды.
7. Затем налейте в пробирку 0,1 мл 1%-ного раствора NaNO_2 . Перемешайте.
8. Колориметрируйте полученный раствор в кювете на 5 мл при длине волны 490 нм против дистиллированной воды.
9. Добавьте в кювету 0,2 мл 20%-ного раствора Na_2CO_3 и сразу начинайте снимать показания с прибора. Нас интересует момент достижения максимальной экстинкции (примерно через 20-30 секунд).
10. Разность экстинкций (ΔE) до добавления Na_2CO_3 и после его добавления соответствует содержанию карнозина в пробе, определяемое по калибровочному графику.



Запишите полученные Вами результаты. Какое практическое значение может иметь данный показатель?

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 4. «Биохимия созревания мяса»

Цель занятия: изучить качественные и количественные показатели процесса созревания мяса.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Биохимия мышечного окоченения.
2. Биохимия автолиза.
3. Зоотехнические факторы, определяющие биохимический статус и качество мяса.
4. Влияние предубойного содержания животных на биохимический статус и качество мяса. Последовательность биохимических реакций, приводящих к

образованию мяса с признаками DFD и PSE.

5. Принципы и способы интенсификации созревания и улучшения консистенции мяса.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Определение pH мяса.

1. Для определения pH мяса приготовьте водную вытяжку в соотношении 1:10, для чего навеску образца мяса массой $(10,00 \pm 0,02)$ г тщательно измельчите (ножницами или на мясорубке), поместите в химический стакан вместимостью 100 см³ и экстрагируйте дистиллированной водой в течение 30 мин при температуре окружающей среды и периодическом помешивании стеклянной палочкой.
2. Полученный экстракт фильтруйте через складчатый бумажный фильтр.
3. pH водного экстракта мышечной ткани определите pH-метром в пластиковом стаканчике.
4. На основании полученных результатов, сделайте вывод о сортности мяса и целесообразных направлениях его переработки. На какие биохимические и технологические показатели мяса влияет величина pH?

Опыт 2. Количественное определение пировиноградной кислоты.

Изменение содержания пировиноградной кислоты, происходящее в процессе созревания куриного мяса характеризуется следующими данными:

Содержание пирувата, мг/100 г	80	110	150	210	250	265	280
Продолжительность созревания в часах	0	1	4	6	10	16	24

Получение безбелкового фильтрата

1. Пять миллилитров экстракта, полученного в опыте №1, внесите в пробирку и добавьте осторожно (!) 1 мл 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ). При наличии белка раствор мутнеет.

- Отфильтруйте осадок. Полученный фильтрат (безбелковый фильтрат, он должен быть прозрачным!) используйте для определения содержания ПВК и лактата в опыт №3.

Ход анализа

В две пробирки внесите реактивы согласно следующей таблице:

Раствор	Опытная проба, мл	Контрольная проба, мл
Мышечный фильтрат	2	-
Дист. вода	-	2
2,4-ДНФГ	0,8	0,8

- Содержимое пробирок на 15 мин поместите в темное место при комнатной температуре.
- По истечении этого времени в каждую пробирку внесите по 1 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия и через 5 мин измерьте оптическую плотность при длине волны 620 нм опытной пробы против контрольной.
- Расчет проводите по калибровочному графику.
- Содержания ПВК в мясе можно посчитать по формуле:

$$X = \frac{c \cdot V}{m \cdot 1000} \cdot 10 \cdot 100,$$

где c – концентрация пировиноградной кислоты, определенная по калибровочному графику;

V – объем пробы, взятый в анализ;

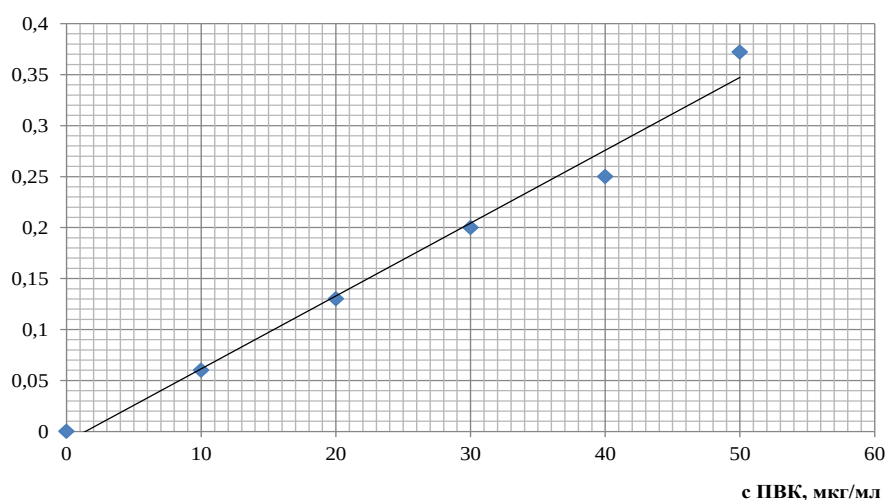
m – масса навески мяса, г;

10 – степень разведения;

100 – перерасчет на 100 г мяса;

1000 – перерасчет ПВК из мкг в мг.

D₆₂₀



На основании полученных данных сделайте вывод о длительности хранения и глубине созревания мяса.

Опыт 3. Качественное определение молочной кислоты.

1. Нижнюю часть пробирки заполните реактивом Уффельманна (3 мл 2%-ного раствора фенола + 2 капли 2%-ного хлорного железа до появления фиолетовой окраски).
2. Затем в пробирку добавьте по каплям (приблизительно 15 капель) фильтрат мышечной ткани свободным от белков из опыта №2. В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска изменяется на желто-зеленую.
3. Для сравнения проведите реакцию Уффельманна с раствором молочной кислоты и наблюдайте появление желто-зеленого окрашивания.
4. Запишите полученные Вами результаты. Как избыток молочной кислоты может повлиять на качество мяса?

Опыт 4. Определение водосвязывающей способности мяса.

1. 0,3 г тщательно измельченной мышечной ткани внести в пробирку с 0,2 мл дистиллированной воды.
2. Следующую навеску 0,3 г тщательно измельченной мышечной ткани внести в пробирку с 0,2 мл буферного раствора $pH < 7$.
3. Следующую навеску 0,3 г тщательно измельченной мышечной ткани внести в пробирку с 0,2 мл буферного раствора $pH > 7$.
4. Оставить пробирки на 10 минут в покое.
5. Извлеките навески мышечной ткани на кусочки полиэтилена.
6. Затем перенесите образцы на беззольные фильтры (беззольные фильтры диаметром 9-11 см предварительно выдержанные 3 суток в эксикаторе над насыщенным раствором хлорида кальция для достижения массовой доли влаги 8-9%), помещенный на стеклянную пластинку, так, чтобы образец фарша оказался под кружком полиэтилена.

7. Сверху образцы фарша закройте пластинкой такого же размера, как и нижняя, и установите груз массой 1 кг на 10 минут, после чего снимите груз, освободите фильтровальную бумагу с образцами фарша от нижней пластинки и карандашом на фильтре очертите контур спрессованного мяса. Контур влажного пятна четко фиксируется при высыхании фильтровальной бумаги на воздухе.
8. Определите площадь пятен по среднему диаметру (если нет планиметра).
9. Размер влажного пятна вычислите по разности между общей площадью пятна и площадью пятна, образованного спрессованным мясом.

Экспериментально установлено, что 1 см² площади влажного пятна фильтра соответствует 8,4 мг воды.

Для определения массовой доли общей влаги навеску ткани массой 2,0 г необходимо высушить до постоянной массы в сушильном шкафу при 105°C.

10. Массовую долю связанной воды в мясе рассчитайте по формулам:

$$B = \frac{(A - 8,4B)100}{M} \text{ или } B_1 = \frac{(A - 8,4B)100}{A}$$

B – массовая доля связанной влаги, % к мясу;

B₁ – массовая доля связанной влаги, % к общей влаге;

A – содержание воды в образце, мг;

8,4 – содержание воды в 1 см² влажного пятна, мг;

B – площадь влажного пятна, см²;

M – масса образца фарша.

Результаты расчетов занесите в таблицу:

	pH < 7	pH = 7	pH > 7
B			
B₁			

Сделайте вывод относительно влияния pH на водосвязывающую способность мяса. Ответьте на вопрос, зачем при изготовлении фарша к нему добавляют поли- и пирофосфаты?

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 5. «Биохимические изменения белковых веществ в мясе при его хранении»

Цель занятия: изучить методы определения веществ, свидетельствующих о процессах порчи мяса.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Превращения белков и азотистых экстрактивных веществ при хранении мяса: ослизнение, гниение.*
2. *Дезаминирование аминокислот мяса. Биологическое значение конечных продуктов реакции.*
3. *Декарбоксилирование аминокислот мяса. Биологическое значение конечных продуктов реакции.*
4. *Превращения ароматических и серосодержащих аминокислот мяса. Биологическое значение конечных продуктов реакции. Изменения пигментов мяса в процессе хранения.*
5. *Пути предотвращения деструктивных изменений белковых и азотистых веществ мяса при хранении.*

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Проба Андриевского на определение вязкости экстракта.

1. Приготовьте водный экстракт из мяса, для чего к 10 г мелко нарезанного мяса прилейте 100 мл дистиллированной воды, сильно встряхните и оставьте на 10 мин.
2. В градуированный цилиндр на 100 мл вставьте воронку с бумажным фильтром, смоченным несколькими каплями дистиллированной воды.
3. Фильтруйте экстракт в течение 5 мин.
4. Если мясо свежее, профильтруется 50-60 мл прозрачного розового раствора. Экстракт испорченного мяса в результате появления слизи более вязкий, и за 5 мин профильтруется менее 50 мл мутноватого экстракта.

Запишите и объясните Ваши результаты.

Опыт 2. Определение сероводорода.

1. 5 г фарша поместите в пробирку.
2. Добавьте примерно 10 мл дистиллированной воды.
3. Фильтровальную бумажку смочите 5%-ным раствором уксуснокислого свинца и опустите в колбу так, чтобы бумажка не касалась жидкости.

4. Колбу закройте фольгой, содержимое ее нагревайте до кипения. При наличии паров сероводорода бумажка окрашивается в темно-коричневый цвет.
5. Интенсивность реакции оценивается следующим образом: отсутствие изменения окраски - отрицательная (-), едва заметное потемнение по краям – следы (+-), бурое окрашивание по краям – слабо положительная (+), сплошное бурое окрашивание – положительная (++), интенсивное темно-бурое окрашивание – резко положительная (+++).

Запишите полученные Вами результаты. О чем свидетельствует присутствие сероводорода в мясе? Напишите схему реакции.

Опыт 3. Определение аммиака и солей аммония.

1. 5 г фарша поместите в пробирку и добавьте 10 мл дистиллированной воды.
2. Через 10-15 мин настаивания при трехкратном взбалтывании, содержимое пробирки фильтруйте через бумажный фильтр.
3. К 1 мл водной вытяжки добавьте 10 капель реактива Несслера. В качестве контроля используйте пробирку с 1 мл реактива Несслера. Оставшийся фильтрат используйте в других опытах.

Мясо свежее	Раствор прозрачный или слегка мутный, зеленовато-желтого цвета.
Мясо сомнительной свежести	Раствор мутный, желтого цвета, после отстаивания в течение 10-20 мин выпадает тонкий слой осадка желтого цвета.
Мясо несвежее	Крупные хлопья желто-оранжевого цвета, которые выпадают в осадок.

Полученный Вами результат запишите в итоговую таблицу.

Опыт 4. Реакция на пероксидазу с бензидином.

Около 0,05 г бензидина (количество, сопоставимое по размерам с крупной горошиной) внести во флакон из темного стекла вместимостью 10 мл, добавить 5,0 мл 50% раствора уксусной кислоты и тщательно перемешать до полного растворения. Раствор бензидина готовят непосредственно перед применением; хранению не подлежит.

К 2 мл водной вытяжки из фарша мышечной ткани¹ добавьте 5 капель уксуснокислого раствора бензидина и 3 капли 1%-ного раствора перекиси водорода.

¹ при исследовании мяса птиц брать только темное мясо, т.к. в светлое в силу особенностей своего химического состава всегда дает коричневое окрашивание с бензидином.

Мясо свежее	Вытяжка принимает синее-зеленое окрашивание в течение 0,5-2 мин, с последующим переходом в коричневую.
Мясо сомнительной свежести	Менее интенсивная окраска через 2-3 мин, с последующим переходом в коричневый цвет.
Мясо несвежее	Не дает синее-зеленое окрашивание и сразу переходит в коричневый цвет.

При рН концентрированных вытяжек (1:4) ниже 6,0-6,2 результат реакции в большинстве случаев положительный, при рН 6,3-6,5 — сомнительный, а при рН выше 6,6 — отрицательный. Отрицательная реакция на пероксидазу в комплексе с другими исследованиями вызывает подозрение на заболевание животного перед убоем или убитых в агональном состоянии животных. Такое мясо необходимо подвергнуть бактериологическому исследованию для установления возбудителя заболевания.

Полученный Вами результат запишите в итоговую таблицу.

Опыт 5. Определение продуктов первичного распада белков в бульоне (с сернокислой медью).

1. 5 г мясного фарша поместите в пробирку, добавьте 10 мл дистиллированной воды и поместите на 10 мин в кипящую водяную баню.
2. Полученный бульон фильтруйте через бумажный фильтр в другую пробирку и охладите холодной водой.
3. К 2 мл бульона, налитого в пробирку, добавьте 3 капли 5% раствора сернокислой меди. Встряхните 2-3 раза и через 5 мин оцените полученные результаты.

Мясо свежее	Бульон прозрачный или мутный.
Мясо сомнительной свежести	Появились хлопья.
Мясо несвежее	Выпала желеобразная масса синее-голубого или зеленого цвета.

Полученный Вами результат запишите в итоговую таблицу.

Опыт 6. Формольная реакция.

1. 5 г мяса поместите в фарфоровую ступку, тщательно измельчите ножницами, прилейте 5 мл физиологического раствора и 5 капель 0,1 н раствора едкого натра.
2. Мясо разотрите пестиком. Полученную кашицу перенесите с помощью стеклянной палочки в пробирку и нагревайте до кипения для осаждения белков.
3. Пробирку охладите под краном с холодной водой, после чего ее содержимое нейтрализуйте добавлением 3 капель 5% раствора щавелевой кислоты и фильтруйте в другую пробирку через фильтровальную бумагу. Если вытяжка после фильтрования осталась мутной, профильтруйте ее еще раз.
4. В пробирку налейте 2 мл вытяжки и добавьте 1 мл нейтрального формалина.

Вытяжка из мяса животного, убитого в агонии, тяжелобольного или разделанного поле падежа, превращается в плотный сгусток; в вытяжке из мяса больного выпадают хлопья; вытяжка из мяса здорового животного остается жидкой и прозрачной или выявляется слабое помутнение.

Полученный Вами результат запишите в итоговую таблицу.

Итоговая таблица результатов экспериментов:

Вязкость экстракта	Наличие сероводорода	Наличие аммиака и солей аммония	Реакция с бензидином	Продукты первичного распада белков	Формольная реакция

5. На основании проведенных экспериментов сделайте вывод о качестве исследуемого фарша и его дальнейшем технологическом использовании.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 6. «Биохимические изменения в жире мяса при его хранении»

Цель занятия: изучить методы определения веществ, свидетельствующих о процессах порчи мяса.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Гидролитические изменения жиров в процессе хранения мяса.*
2. *Окислительные изменения жиров в процессе хранения мяса.*
3. *Влияние продуктов гидролитического и окислительного распада жиров на биологическую ценность пищевых жиров и здоровье человека.*
4. *Химические принципы предохранения жиров от порчи.*

5. Антиоксиданты. Механизм антиоксидантного действия.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Взаимодействие жира с водным раствором перманганата калия (реакция Вагнера).

1. В пробирку поместите кусочек твердого жира размером с 2-3 спичечные головки.
2. Добавьте 1 мл 10%-ного раствора карбоната натрия и 1 мл 1%-ного раствора перманганата калия и энергично встряхните пробирку.
3. Дайте содержимому пробирки отстояться в штативе. Следите за изменением окраски перманганата калия.

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Опыт 2. Определение степени окислительной порчи жира.

Нейтральный красный меняет окраску в зависимости от величины pH. В присутствии большого количества высокомолекулярных кислот окраска жира, обработанного нейтральным красным, изменяется незначительно, в то время как в присутствии ничтожного количества низкомолекулярных кислот она изменяется резко. Поэтому даже начальные стадии окислительной порчи жира можно установить этой реакцией.

1. 0,5-1,0 г жира поместите в фарфоровую ступку. Разотрите жир в течение 1 минуты со свежеприготовленным водным 0,01% раствором нейтрального красного (pH = 7,0-7,3).
2. Избыток раствора нейтрального красного слейте и визуально определите цвет жира.

Свиной и бараний жир		Говяжий жир	
окраска	степень окислительной порчи	окраска	степень окислительной порчи
от желтой с зеленоватым оттенком до желтой	свежий	от желтой до коричневой	свежий
от темно-желтой до коричневой	свежий, не подлежащий	от коричневой до коричнево-	свежий, не подлежащий

	хранению	розовой	хранению
от коричневой до розовой	сомнительной свежести	от коричнево-розовой до розовой	сомнительной свежести
от розовой до красной	испорченный	от розовой до красной	испорченный

3. Сделайте вывод о качестве исследуемого жира, используя информацию из таблицы, а также о соотношении низко- и высокомолекулярных жирных кислот.

Опыт 3. Определение кислотного числа жира.

1. Взвесьте в колбе 1 г исследуемого жира (топленного). Жир расплавьте на водяной бане.
2. Прилейте 10 мл нейтрализованной эфирно-спиртовой смеси и взболтайте колбу.
3. Добавьте 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина.
4. Полученный раствор при постоянном встряхивании быстро титруйте 0,1 н. раствором гидроксида калия или гидроксида натрия до появления отчетливой розовой окраски, не исчезающей в течение 5-10 сек. Если при титровании жидкость мутнеет, то в колбу добавьте 1-5 мл эфирно-спиртовой смеси и взболтайте до исчезновения помутнения или же колбу с содержимым слегка нагрейте на водяной бане, затем охладите до комнатной температуры и закончите титрование.
5. Кислотное число в мг вычислите по формуле:

$$X = \frac{Y \times K \times 5,61}{M}$$

где Y – количество едкого калия в мл, пошедшее на титрование;
 K – поправка к раствору щелочи для пересчета на точный 0,1 н раствор;
 5,61 – количество едкого калия (в г), содержащегося в 1 мл 0,1 н раствора КОН;
 M – навеска жира.

Кислотное число жира (не более)

Сорт	Говяжий	Бараний	Свиной	Сборный
Высший	1,2	1,2	1,2	-
Первый	2,2	2,2	1,2	-
Сборный	-	-	-	3,5

Если кислотность жиров в пределах 2,3-3,5 (кроме сборного), их относят к сомнительному качеству, если более 3,5 они недоброкачественные.

Сделайте вывод о качестве исследуемого образца. Каковы причины повышения кислотного числа?

Опыт 4. Определение перекисного числа жира.

1. В колбу с притертой пробкой отвесьте 1 г жира с точностью до 0,001 г.
2. Жир расплавьте на водяной бане и растворите в 10 мл ледяной уксусной кислоты.
3. Быстро прилейте 0,5 мл насыщенного свежеприготовленного раствора йодистого калия.
4. Перемешайте содержимое колбы вращательным движением и поставьте в темное место на 3 минуты.
5. Затем в колбу добавьте 100 мл дистиллированной воды. В которую заранее добавлен 1мл 1%-ного раствора крахмала и титруют 0,01 н раствором гипосульфита до исчезновения синей окраски.
6. Для проверки чистоты реактива проводят холостую пробу, с теми же реактивами, но без жира. Реактивы считаются пригодными, если на холостую пробу идет не более 0,7мл 0,01Н. раствора гипосульфита.
7. Перекисное число вычислите по формуле:

$$X = \frac{(a - v) \times 0,00127 \times 100 \times K}{C}$$

где а - количество 0,01 н. раствора гипосульфита, пошедшее на титрование раствора с жиром;

в – тоже в контрольном опыте;

0,00127 – количество йода, эквивалентное 1мл 0,01 н. раствора гипосульфита;

С - навеска жира;

К - поправка к титру раствора гипосульфита.

В зависимости от величины перекисного числа определяют степень свежести жира:

до 0,03 - свежий;

0,03-0,06 - свежий, но не подлежит хранению;

0,06-0,1 - сомнительной свежести.

Более 0,1 - испорченный.

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 7. Коллоквиум I. «Биохимия мяса»

Цель занятия: осуществить промежуточный контроль знаний.

ВОПРОСЫ КОЛЛОКВИУМА:

1. Строение и биохимические функции мышечной ткани.
2. Сократительные белки мышц: миозин, актин, тропомиозин.
3. Химизм мышечного сокращения. Источники АТФ в мышце. Участие кальция, АТФ и КФ в мышечном сокращении.
4. Саркоплазматические белки. Желирующие свойства саркоплазматических белков.
5. Охарактеризуйте химический состав соединительной ткани. Раскройте основные функции соединительной ткани.
6. Охарактеризуйте химический состав, строение и функции коллагена.
7. Охарактеризуйте химический состав, строение и функции эластина.
8. Физико-химические свойства соединительнотканых белков. Охарактеризуйте процесс перехода соединительно-тканых белков в желатин.
9. Гидроксипролиновый показатель. Технологическое значение данного показателя. Возрастные изменения соединительной ткани.
10. Химический состав жировой ткани. Различия в химическом составе жировой ткани разных видов животных.
11. Понятие об экстрактивных веществах. Классификация экстрактивных веществ мяса.
12. Характеристика экстрактивных веществ, обуславливающих сладкий вкус мяса.
13. Биологическая роль карнозина и ансерина как экстрактивных веществ мяса. Биологическая роль карнитина, креатинина и креатина. Характеристика данных веществ как экстрактивных веществ мяса.
14. Факторы, влияющие на соотношение экстрактивных веществ в мясе.
15. Биохимия мышечного окоченения. Особенности мышечного окоченения в зависимости от вида, пола, здоровья животных и др. Холодное сокращение.
16. Биохимия автолиза. Глубокий автолиз.

17. Особенности автолитических процессов в зависимости от вида, пола, здоровья животных и др. Загар.
18. Зоотехнические факторы, определяющие биохимический статус и качество мяса.
19. Влияние предубойного содержания животных на биохимический статус и качество мяса. Последовательность биохимических реакций, приводящих к образованию мяса с признаками DFD и PSE.
20. Принципы и способы интенсификации созревания и улучшения консистенции мяса.
21. Изменение белковых веществ в процессе хранения.
22. Изменение жирорастворимых веществ в процессе хранения.
23. Принципы предохранения жиров от порчи.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 8. Семинар: «Роль мяса и мясопродуктов в питании человека»

Цель занятия: ознакомиться с современными достижениями в области биохимии мяса и мясопродуктов.

ТЕМЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К СЕМИНАРУ:

1. Биохимические основы анаболического эффекта. Влияние анаболиков на качество животноводческой продукции.
2. Вредоносное действие окисленных липидов в животноводческой продукции на здоровье потребителя.
3. Биогенные и синтетические антиоксиданты в практике животноводства.
4. Влияние холестерина на биологическую ценность пищевых продуктов. Проблема вегетарианства.
5. Фармакологические эффекты остаточных количеств транквилизаторов, противомикробных средств, антигельминтных препаратов в животноводческой продукции.
6. Биохимические основы использования нетрадиционных видов мяса для питания человека и производства мясопродуктов.
7. Влияние безазотистых, органических и неорганических экстрактивных веществ на вкусовые качества, консистенцию и окраску мяса.
8. Мясные продукты в питании детей и пожилых людей.
9. Биохимические факторы, способствующие формированию мясной продуктивности животных.
10. Обеспечение биологической и пищевой безопасности мясных продуктов.

Занятие № 9. «Белковый состав молока»

Цель занятия: изучить состав коровьего молока.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Составные части молока.
2. Казеины молока. Строение мицелл казеина.
3. Сывороточные белки молока и их биологическое значение.
4. Физико-химические свойства белков молока.
5. Молоко как сложная полидисперсная система. Взаимосвязь фаз молока их технологическое значение.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Осаждение казеина.

1. 30 мл молока разбавьте в колбочке 30-тью мл дистиллированной воды (только для молока с вивария!).
2. К полученной жидкости прибавьте по каплям при помешивании 10%-ную уксусную кислоту до появления заметных хлопьев казеина. *Прибавлять кислоту надо очень осторожно, т.к. в избытке кислоты казеин легко растворяется.*
3. Осадок отфильтруйте через четыре слоя марли.
4. С фильтратом проведите биуретовую реакцию.
5. Осадок перенесите в фарфоровую чашечку и добавьте к нему 1%-ный раствор гидроксида натрия или раствор соды до растворения казеина (жир остается во взвешенном состоянии).
6. С полученным раствором проведите биуретовую реакцию и используйте этот раствор для опыта №2.

Биуретовая реакция:

В пробирку налейте 1 мл раствора белка, добавьте 0,5 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия, а затем 5 капель 2%-ного раствора сульфата меди (II). Объясните полученные Вами результаты.

Почему при избытке кислоты казеин переходит в растворимое состояние?

Опыт 2. Определение изоэлектрической точки (ИЭТ) казеина.

1. Пронумеруйте 8 пробирок.
2. Приготовьте буферные смеси с разными значениями pH, согласно таблицы:

№ пробирки	Кол-во 0,01н CH ₃ COOH	Кол-во 0,1н CH ₃ COOH	Количество воды, мл	pH смеси
1	0,60	-	8,40	5,9
2	1,2	-	7,75	5,6
3	-	0,25	8,75	5,3
4	-	0,50	8,50	5,0
5	-	1,00	8,00	4,7
6	-	2,00	7,00	4,1
7	-	4,00	5,00	4,0
8	-	8,00	1,00	3,8

3. Содержимое пробирок перемешайте.
4. Затем в каждую пробирку налейте по 1 мл раствора казеина из опыта №1, и встряхните.
5. Результаты наблюдений занесите в таблицу:

Величина pH	3,8	4,0	4,1	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9
Степень помутнения раствора: «-» – отсутствует «+» – слабое «++» – удовлетворительное «+++» – интенсивное								

6. Определите ИЭТ исследуемого протеина. Какое значение может иметь этот показатель для практического изучения молока?

Опыт 3. Определение общего белка и казеина в молоке.

Приготовление эталона окрашивания

Для приготовления контрольного эталона окраски в колбу на 150-200 мл добавьте 10 мл свежего молока, 20 мл воды, 1 мл 2,5%-ного раствора сернокислого кобальта. Эталон стабилен 8-12 часов.

1. В колбу налейте 10 мл молока и 1 мл (10-12 капель) 1% фенолфталеина. Смесь титруйте 0,1н раствором щелочи до слабо-розового окрашивания, соответствующего контрольному эталону.
2. В колбу после титрования добавьте 2 мл нейтрализованного свежеприготовленного 37-40% раствора формалина и вторично титруйте 0,1 н раствором щелочи до появления слабо-розового окрашивания.
3. О точности определения содержания белка и казеина методом формольного титрования свидетельствует одинаковая интенсивность окраски раствора при первом и втором титровании.
4. Количество миллилитров 0,1 н раствора щелочи израсходованного на титрование в присутствии формалина умножьте на коэффициент 1,92. Полученное число показывает содержание белка в молоке в % (в норме содержание белка в молоке равно 2,6-4,0%).
5. Количество 0,1 н раствора щелочи, израсходованного на титрование в присутствии формалина при умножении на коэффициент 1,51 показывает содержание казеина в молоке в % (в норме содержание казеина в молоке равно 2,4-2,8%).
6. Рассчитайте концентрацию общего белка и казеина в молоке.
7. От каких факторов зависит уровень белка в молоке?

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 10. «Ферменты молока»

Цель занятия: изучить некоторые ферменты молока.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Физико-химические свойства ферментов. Специфичность ферментов.*

2. Классификация ферментов молока.
3. Окислительно-восстановительные ферменты молока.
4. Гидролитические ферменты молока.
5. Технологическое значение ферментов молока.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Определение амилазы в молоке.

1. Возьмите 2 пробирки.
2. В первую налейте 10 мл свежего молока. Во вторую – 10 мл прокипяченного молока.
3. Затем в каждую пробирку добавьте 0,5 мл 1%-ного раствора крахмала. Перемешайте.
4. Поставьте пробирки на 1 час в водяную баню ($t=37^{\circ}\text{C}$).
5. По истечении указанного времени выньте пробирки из бани. Охладите в холодной воде.
6. Тщательно перемешайте содержимое пробирок. В каждую добавьте по 3 мл йоднокалиевого раствора крахмала² и 5 мл 5%-ного раствора уксусной кислоты.
7. Через 2-3 минуты жидкость профильтруйте через сухой складчатый фильтр в конические колбочки.
8. Сравните окраску фильтрата в обеих пробирках.
9. Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Опыт 2. Определение активности каталазы.

1. Возьмите две колбочки.
2. В первую колбочку налейте 2 мл свежего молока. Во вторую – 2 мл кипяченого молока (кипение должно продолжаться 2 минуты).
3. В обе колбочки добавьте 98 мл дистиллированной воды. Перемешайте. Нагрейте колбы на водяной бане до температуры $25\pm 1^{\circ}\text{C}$.
4. Затем в обе колбочки добавьте 25 мл 0,3%-ного раствора пероксида водорода. Закройте колбочки пробками и поместите их в водяную баню ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$).
5. Через 30 минут в обе колбы из бюретки внесите 5 мл 10%-ного раствора

² 3 г крахмала+30 мл холодной кипяченой воды перемешать. Постепенно приливать в 100 мл кипящей воды. + 3г KI

серной кислоты и титруйте раствором перманганата калия (0,1 моль/л) до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 минуты.

6. Активность каталазы рассчитайте по формуле:

$$A_E = (V_k - V_o) \cdot 0,83(E)$$

V_k – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование кипяченого раствора молока, мл;

V_o – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование сырого молока, мл.

	Свежевыдоенное молоко от здоровых животных	Молозиво	Стародойное молоко	Маститное молоко
Активность каталазы	4,0-16,0 Е	50-94 Е	37-50 Е	62 Е и более

7. Рассчитайте активность каталазы в изученном молоке. Сделайте вывод по проведенному опыту.

Опыт 3. Проба на редуктазу (ускоренный метод).

1. В одну пробирку внесите 10 мл кипяченого молока, в другую – 10 мл не-кипяченого молока.
2. В обе пробирки добавьте 1 мл раствора метиленового синего³.
3. Закройте пробирки резиновой пробкой. Перемешайте содержимое пробирок. Поставьте пробирки в водяную баню ($t = 37-38^{\circ}\text{C}$). Уровень воды в бане должен быть выше уровня молока в пробирке. Необходимо поддерживать постоянную температуру воды.
4. Следите за цветом раствора в пробирке, сравнивая окраску с молоком без метиленовой сини. Проверяют время обесцвечивания проб через 20 мин.

В зависимости от времени обесцвечивания пробы молоко делят на классы:

³ 10 мл 95%-ного раствора спирта + 3-2 г метиленовой сини (для получения насыщенного раствора). Раствор профильтровать на следующий день. 5 мл полученного раствора смешать со 195 мл воды. Раствор хранить в хорошо закрытой склянке.

Продолжительность обесцвечивания	Оценка качества молока	Класс
8 минут	Очень плохое	IV
8 минут - 1 час	Плохое	III
1 ч.- 3 ч.	Удовлетворительное	II
более 3 ч.	Хорошее	I

Запишите полученные Вами результаты.

Опыт 4. Обнаружение пероксидазы в молоке.

1. Возьмите 5 пробирок.
2. В первую пробирку налейте 5 мл свежего молока. Во вторую – 5 мл молока, нагретого до 60 °С, в 3-ю – до 80 °С, в 4-ю – до 100 °С, в 5-ю – кипяченого в течение 2 минут молока.
3. Во все пробирки добавьте 5-6 капель раствора йоднокалиевого крахмала, 5-6 капель 0,5%-ного раствора перекиси водорода и тщательно перемешайте.
4. Сравните окраску раствора в пробирках.
5. Запишите и объясните Ваши наблюдения.

Температура нагревания молока	Без нагревания	30 °С	40 °С	50 °С	60 °С
Окраска раствора					

Опыт 5. Кинетика действия липазы.

1. В колбу для титрования налейте 10 мл молока разведенного 1:1 (для молока с вивария!).
2. Добавьте 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и титруйте

- 0,01н раствором NaOH до слабо-розового окрашивания.
- При первом титровании нейтрализуются органические кислоты - молочная и другие, которые присутствуют в молоке до начала действия липазы.
 - Добавьте в смесь 1 мл панкреатической липазы.
 - Колбу со смесью поместите в водяную баню ($t = 38-40^{\circ}\text{C}$). Каждые 10 минут отбирайте из колбочки (не вынимая её из бани) по 1 мл смеси и титруйте 0,01н раствором NaOH.
 - Данные заносите в таблицу:

τ , мин. V 0,01н NaOH, мл	0	10	20	30	40	50
Опытная проба						

- На основании полученных данных постройте график, где V , мл - активность липазы, выраженная объёмом гидроксида натрия, пошедшего на нейтрализацию жирных кислот, образовавшихся за данный отрезок времени.



Задание 1. Обобщите данные по ферментам исследованного молока в таблице:

Фермент	Молоко	Молоко	Молоко	Функция фермента
Амилаза				
Редуктаза				
Пероксидаза				
Каталаза				
Липаза				

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 11. «Посторонние химические вещества молока»

Цель занятия: изучить состав коровьего молока.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Пути поступления посторонних веществ в молоко. Классификация посторонних веществ молока.
2. Нитриты и нитраты в молоке. Биологические и технологические последствия присутствия нитратов и нитритов в молоке.
3. Антибиотики в молоке. Биологические и технологические последствия присутствия антибиотиков в молоке.
4. Пестициды в молоке. Биологические и технологические последствия присутствия пестицидов в молоке.
5. Микотоксины в молоке. Биологические и технологические последствия присутствия микотоксинов в молоке.
6. Тяжелые металлы в молоке. Биологические и технологические последствия присутствия тяжелых металлов в молоке.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Определение присутствия нитратов.

1. Возьмите пробирку. Налейте в нее 10 мл сырого молока и 2,5-3 мл 5%-ного раствора CaCl_2 . Встряхните пробирку.
2. Смесь прокипятите до свертывания белков молока. Профильтруйте полученную смесь в другую пробирку.
3. В фарфоровую чашечку положите 1-2 кристаллика дифениламина и налейте 1 мл концентрированной серной кислоты.
4. По краю чашечки осторожно наложите несколько капель фильтрата, полученного в п. 2. Появление синего окрашивания свидетельствует о присутствии азотисто- и азотнокислых соединений.
5. Повторите п. 1-4 с молоком из магазина.
6. Запишите Ваши результаты в таблицу:

	Молоко виварий	Молоко магазин	Физиологическое действие нитратов и нитритов	Технологические Последствия присутствия нитратов и нитритов в молоке
Присутствие нитратов и нитритов, цвет раствора				

Опыт 2. Определение крахмала в молоке.

1. В пробирку налейте 2-3 мл молока.
2. Добавьте 3-4 капли реактив Люголя. Хорошо перемешайте.
3. При наличии в молоке крахмала или муки появляется синее окрашивание.
4. Запишите Ваши результаты. Для каких целей в молоко добавляют крахмал или муку?

Опыт 3. Определение примеси воды (метод точен при количестве воды > 10%).

1. К 2 мл исследуемого молока в пробирке добавьте 2 капли 10%-ного раствора хромовокислого калия и 2 мл 0,5%-ного водного раствора нитрата серебра. Встряхните. Кондиционное молоко – лимонно-желтого цвета, разбавленное водой – кирпично-красное.
2. Сделайте вывод о качестве исследуемого молока.

Опыт 4. Определение примеси перекиси водорода.

1. К 1 мл молока в пробирке добавьте 1 каплю концентрированной серной кислоты, 4-5 капель крахмального раствора йодистого калия (3 г йодистого калия + 5-10 мл дистиллированной воды + 100 мл 3% крахмала).
2. Через 10 мин. определите цвет молока. Появление синего окрашивания свидетельствует о добавлении в молоко перекиси водорода. Предел обнаружения перекиси - 0,001 г на 100 мл молока.

Добавлен ли пероксид водорода в исследуемую пробу молока? Для предотвращения каких процессов в молоко добавляют это соединение? Пригодно ли молоко с примесью перекиси водорода к употреблению и технологическому использованию?

Опыт 5. Определение примеси формалина.

1. В пробирку налейте 1 мл смеси кислот (на 100 мл концентрированной серной кислоты добавлена 1 капля концентрированной азотной кислоты).
2. Осторожно приливайте по стенке пробирки 1 мл молока, не давая жидкостям смешиваться. При наличии в молоке формалина на границе соприкасающихся жидкостей образуется фиолетовое или темно-синее кольцо, при его отсутствии – кольцо имеет желтую окраску.
3. Ответьте на вопросы: для каких целей добавляют формалин в молоко? Пригодно ли к употреблению такое молоко?

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 12. «Молоко как полидисперсная система»

Цель занятия: изучить состав коровьего молока.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Фаза истинного раствора молока. Характеристика фазы. Технологическое значение фазы.
2. Коллоидная фаза молока. Характеристика фазы. Технологическое значение фазы.
3. Фаза эмульсии молока. Характеристика фазы. Технологическое значение фазы. Строение жировых шариков молока.
4. Молоко как сложная полидисперсная система. Взаимосвязь фаз молока.
5. Физико-химические свойства молока.
6. Жирорастворимые вещества молока. Классификация. Строение. Характеристика жирных кислот молочного жира.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Определение титруемой кислотности молока.

Приготовление контрольного эталона окраски

В колбу на 150-200 мл добавьте 10 мл свежего молока, 20 мл воды, 1 мл 2,5%-ного раствора сернокислого кобальта. Эталон стабилен 8-12 часов.

- [illegible]

В свежем натуральном молоке $\text{pH} = 6,5-6,7$. $\text{pH} < 6,4$ свидетельствует о низком качестве молока.

С помощью рН-метра определите рН исследуемого образца молока в пластиковом стаканчике.

41

6,41	22
6,36	23
6,31	24
6,2	25

Сравните активную и титруемую кислотность. Сделайте соответствующие выводы.

Опыт 3. Определение молочной кислоты.

А Качественное определение

1. Для получения молочной сыворотки к 20 мл молока добавляйте по каплям 5%-ную трихлоруксусную кислоту до выпадения хлопьев казеина.
2. Профильтруйте полученный раствор через 4-ре слоя марли. Если раствор мутный, профильтруйте его еще раз через бумажный фильтр, смоченный водой. Фильтрат используйте в п. 3 данного опыта и опыте 5.
3. Нижнюю часть пробирки заполните реактивом Уффельманна (3 мл 2%-ного раствора фенола + 2 капли 2%-ного хлорного железа до появления фиолетовой окраски).
4. Затем в пробирку добавьте по каплям (приблизительно 15 капель) молочной сыворотки свободной от белков. В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска изменяется на желто-зеленую.
5. Для сравнения проведите реакцию Уффельманна с раствором молочной кислоты и наблюдайте появление желто-зеленого окрашивания.

Б Количественное определение

Величина градусов кислотности ($^{\circ}\text{T}$), умноженная на 0,009 (1 мл 0,1 н. щелочи эквивалентно 0,009 г молочной кислоты), показывает количество молочной кислоты в молоке.

Запишите полученные Вами результаты. В какую полидисперсную фазу молока входит молочная кислота? Как избыток молочной кислоты может повлиять на качество молока?

Опыт 4. Определение термостойкости молока.

Устойчивость молока при высокой температуре зависит от его солевого состава. Между содержанием солей кальция и магния, с одной стороны, лимонной и фосфорной кислот, с другой, должно быть определенное соотношение. Если соли кальция и магния преобладают над солями лимоннокислыми и фосфорнокислыми, то белки молока при его кипячении свертываются. Внесение в пробу молока избытка CaCl_2 или KH_2PO_4 нарушает солевой баланс, и после нагревания пробы устанавливают, требуется ли добавление стабилизатора для восстановления баланса.

а) Кальциевая проба.

1. В сухую пробирку налейте 10 мл молока.
2. Добавьте по каплям, при постоянном перемешивании, 0,5 мл 0,1% раствора хлорида кальция.
3. Погрузите пробирку в кипящую водяную баню.
4. Через 4 мин выньте пробирку, охладите и отметьте наличие либо отсутствие в ней хлопьев белка.

б) Фосфатная проба.

1. В сухую пробирку налейте 10 мл молока.
2. Добавьте 1 мл раствора KH_2PO_4 (68,1 г/л воды), перемешайте и поместите пробирку в кипящую водную баню на 5 мин.
3. После охлаждения пробирки оцените состояние молока.

О чем свидетельствуют результаты экспериментов? Сделайте вывод о промышленном использовании такого молока.

Опыт 5. Определение температуры плавления молочного жира.

1. В чистую сухую капиллярную трубочку диаметром 1,5 мм и длиной около 50 мм наберите расплавленный отфильтрованный молочный жир при температуре около 35°C в таком количестве, чтобы высота столбика жира в капилляре была около 20 мм. Капилляр с жиром поместите на 2 ч на лед.

2. Прикрепите капилляр с застывшим молочным жиром тонким резиновым кольцом, к термометру с делениями на $0,2^{\circ}\text{C}$. Столбик жира должен находиться на одном уровне с ртутным резервуаром термометра.
3. Термометр с капилляром опустите в стакан с водой ($t = 20^{\circ}\text{C}$) (термометр и капилляр с жиром не должны касаться стенок и дна пробирки) до уровня примерно на 1 см ниже воды в стакане.
4. Затем стакан осторожно нагревайте, чтобы температура воды в стакане не поднималась более чем на 2° за 1 мин в начале и более 10 мин в конце определения (приближения к температуре плавления).
5. Воду нагревайте до тех пор, пока жир в трубке не станет совершенно прозрачным. Этот момент отметьте и запишите температуру термометра как точку плавления жира.
6. Определение повторите не менее двух раз. Расхождение между отдельными опытами должно быть не более $0,5^{\circ}\text{C}$.

Температура плавления молочного жира в норме $27-35^{\circ}\text{C}$.

Запишите полученные Вами результаты. Какие факторы могут влиять на температуру плавления молочного жира.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 13. «Изменение состава молока при его хранении»

Цель занятия: закрепить методы определения технологической пригодности молока.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Изменение белков молока при его хранении.
2. Изменение углеводов молока при его хранении.
3. Изменение жирорастворимых веществ молока при его хранении.
4. Химические принципы предохранения жиров от порчи.
5. Антиоксиданты. Механизм антиоксидантного действия.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Определение степени окислительной порчи жира.

1. Образец масла весом 10-15 г расплавьте в стаканчике при температуре 50-60°C и оставьте в покое для разделения масла на жир и плазму. Отделившийся жир слейте в сухой стакан.
2. Для обезвоживания жира добавьте к нему 0,3-0,5 г безводного сернистого натрия и профильтруйте в термостате при 50-60°C.
3. Достаточно отвердевший жир должен иметь твердую консистенцию и при разрезе ножом давать ровные, острые края.
4. 0,5-1,0 г молочного жира поместите в фарфоровую ступку. Разотрите жир в течение 1 минуты со свежеприготовленным водным 0,01% раствором нейтрального красного (pH = 7,0-7,3).
5. Избыток раствора нейтрального красного слейте и визуально определите цвет жира.

Определение свежести молочного жира

Окраска	Степень окислительной порчи
Лимонно-желтая, бледно лимонно-желтая	Свежий жир
Бледно-желтая, бледно-медовая, соломенно-желтая	Свежий жир, не подлежащий хранению
Желтовато-оранжевая, охряно-желтая, кремовая, булано-желтая	Жир сомнительной свежести
Розовая с различными оттенками	Испорченный жир

6. Сделайте вывод о качестве исследуемого жира, используя информацию из таблицы.

Опыт 2. Определение кислотного числа молочного жира.

1. Взвесьте в колбе 1 г исследуемого жира. Жир расплавьте на водяной бане.
2. Прилейте 10 мл нейтрализованной эфирно-спиртовой смеси и взболтайте колбу.
3. Добавьте 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина.
4. Полученный раствор при постоянном встряхивании быстро титруйте 0,1 н. раствором гидроксида калия или гидроксида натрия до появления отчетливой розовой окраски, не исчезающей в течение 5-10 сек. Если при титровании жидкость мутнеет, то в колбу добавьте 1-5 мл эфирно-спиртовой смеси и взболтайте до исчезновения помутнения или же колбу с содержимым слегка нагрейте на водяной бане, затем охладите до комнатной температуры и закончите титрование.
5. Кислотное число в мг вычислите по формуле:

6.

$$X = \frac{Y \times K \times 5,61}{M}$$

где Y – количество едкого калия в мл, пошедшее на титрование;
K – поправка к раствору щелочи для пересчета на точный 0,1 н раствор;
5,61 – количество едкого калия (в г), содержащегося в 1 мл 0,1 н раствора КОН;
M – навеска жира.

Кислотность свежего молочного жира 0,3-1,4°K. По данным ВНИИМС, сладкосливочное масло стойкое к хранению в основном имеет кислотность жира до 1°K, средней стойкости - 1,0-1,4°K, нестойкое - более 1,4°K.

Сделайте вывод о качестве исследуемого образца. Каковы причины повышения кислотного числа?

Опыт 3. Определение перекисного числа жира.

1. В колбу с притертой пробкой отвесьте 1 г жира с точностью до 0,001 г.
2. Жир расплавьте на водяной бане и растворите в 10 мл ледяной уксусной кислоты.
3. Быстро прилейте 0,5 мл насыщенного свежеприготовленного раствора йодистого калия.
4. Перемешайте содержимое колбы вращательным движением и поставьте в темное место на 3 минуты.
5. Затем в колбу добавьте 100 мл дистиллированной воды. В которую заранее добавлен 1мл 1%-ного раствора крахмала и титруют 0,01 н раствором гипосульфита до исчезновения синей окраски.
6. Для проверки чистоты реактива проводят холостую пробу, с теми же реактивами, но без жира. Реактивы считаются пригодными, если на холостую пробу идет не более 0,7мл 0,01 н раствора гипосульфита.
7. Перекисное число вычислите по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \times 0,00127 \times 100 \times K}{C}$$

где a - количество 0,01 н. раствора гипосульфита, пошедшее на титрование раствора с жиром;

b – тоже в контрольном опыте;

0,00127 – количество йода, эквивалентное 1мл 0,01 н. раствора гипосульфита;

C - навеска жира;

K - поправка к титру раствора гипосульфита.

В зависимости от величины перекисного числа определяют степень све-

жести жира: до 0,03 - свежий;
0,03-0,06 - свежий, но не подлежит хранению;
0,06-0,1 - сомнительной свежести.
Более 0,1 - испорченный.

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 14. Коллоквиум II. «Биохимия молока»

Цель занятия: осуществить промежуточный контроль знаний.

ВОПРОСЫ КОЛЛОКВИУМА:

1. Казеины молока. Строение мицелл казеина.
2. Сывороточные белки молока. Биологическое значение.
3. Физико-химические свойства белков молока.
4. Физико-химические свойства ферментов. Специфичность ферментов.
5. Классификация ферментов молока.
6. Окислительно-восстановительные ферменты молока.
7. Гидролитические ферменты молока.
8. Технологическое значение ферментов молока.
9. Липиды молока. Классификация. Строение.
10. Физико-химические свойства липидов молока.
11. Пути поступления посторонних веществ в молоко. Классификация посторонних веществ молока.
12. Нитриты и нитраты в молоке. Пути поступления. Биологические и технологические последствия присутствия нитратов и нитритов в молоке.
13. Антибиотики в молоке. Пути поступления. Биологические и технологические последствия присутствия антибиотиков в молоке.
14. Пестициды в молоке. Пути поступления. Биологические и технологические последствия присутствия пестицидов в молоке.
15. Микотоксины в молоке. Пути поступления. Биологические и технологические последствия присутствия микотоксинов в молоке.
16. Тяжелые металлы в молоке. Пути поступления. Биологические и технологические последствия присутствия тяжелых металлов в молоке.
17. Молоко как сложная полидисперсная система. Взаимосвязь фаз молока.
18. Физико-химические свойства молока.
19. Изменение белков молока при его хранении.
20. Изменение углеводов молока при его хранении.
21. Изменение липидов молока при его хранении.

22. Химические принципы предохранения жиров от порчи.
23. Антиоксиданты. Механизм антиоксидантного действия.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 15. «Биологические и биохимические свойства меда»

Цель занятия: изучить некоторые физико-химические и биохимические характеристики мёда.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Химический состав цветочного и падевого мёда.*
2. *Характеристика углеводов мёда и ферментов их перерабатывающих.*
3. *Физико-химические показатели мёда натурального: рН, массовая доля редуцирующих сахаров, содержание оксиметилфурфурола и др.*
4. *Созревание мёда. Пищевая ценность мёда.*
5. *Изменение свойств мёда в процессе хранения. Потеря качества мёда в ходе технологического процесса его получения.*

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Для количественных биохимических исследований готовят 0,25-10%-ные растворы меда в пересчете на сухие вещества. Количество раствора меда заданной концентрации в пересчете на сухие вещества (X, мл) определяют по формуле:

$$X = MB/C,$$

где М — масса навески меда, г;

В — количество сухих веществ в меде, %;

С — заданная концентрация меда, %.

Количество воды для приготовления раствора меда заданной концентрации (X_1 , см³) рассчитывают по формуле:

$$X_1 = X - M,$$

где X — количество раствора меда заданной концентрации в пересчете на сухие вещества, см³;

M — масса навески меда, г.

Например, при навеске меда массой 6 г и содержании воды 20% нужно приготовить 10%-ный раствор. В данном меде сухих веществ будет 80% (100 - 20 = 80). Общего количества 10%-ного раствора на указанной навеске меда получится $(6 \cdot 80) / 10 = 48$ см³. Чтобы приготовить 10%-ный раствор меда из навески 6 г требуется 42 см³ воды (48 - 6 = 42).

Опыт 1. Определение цветности мёда.

Цвет мёда - один из важнейших показателей качества этого продукта, характеризующий в определённой мере его ботаническое происхождение. Он зависит в основном от природы красящих веществ, содержащихся в нектаре. При нагревании и длительном хранении мёд темнеет, в закристаллизованном состоянии имеет более светлую окраску, так как выпадающие кристаллы глюкозы имеют белый цвет. Цвет мёда определяют с помощью компа-

ратора Пфунда или на фотозлектрокалориметре. Использование физических методов позволяет точно установить цвет мёда в соответствии со шкалой цветности.

1. Пробы меда нагрейте до 50°C в сушильном шкафу для растворения кристаллов и удаления воздушных пузырьков.
2. Процедите через капроновое сито и охладите до комнатной температуры.
3. Наполните кювету слоем толщиной 10 мм. Мед наливают по боковой стенке.
4. Измерьте оптическую плотность мёда на ФЭК при длине волны 730 нм против дистиллированной воды.
5. Оцените полученные Вами результаты по таблице.

**Классы цветности мёда и соответствующие им значения
оптических плотностей и шкалы Пфунда**

Класс цветности мёда	Оптическая плотность по прибору ФЭК-56М	Значения по шкале Пфунда, мм
Прозрачный, как вода	0,00-0,08	0-8
Белый экстра	0,08-0,13	8-17
Белый экстра	0,13-0,25	17-34
Светло-янтарный экстра	0,25-0,33	34-50
Светло янтарный	0,33-0,55	50-85
Янтарный	0,55-0,73	85-114
Тёмный	Более 0,73	Более 114

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Опыт 2. Определение амилазной (диастазной) активности.

1. Возьмите и пронумеруйте 10 пробирок.
2. Налейте в пробирки 10%-ный раствор меда и другие компоненты согласно ниже приведенной таблицы.

Компоненты реакционной смеси при определении амилазной (диастазной) активности

Компоненты	Номер пробирки									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10%-ный раствор меда	1,0	1,3	1,7	2,1	2,8	3,6	5,0	6,0	7,1	10
Дистиллированная вода, мл	9,0	8,7	8,3	7,9	7,2	6,4	5,0	4,0	2,9	-
0,58%-ный раствор натрия хлорида	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,25%-ный раствор крахмала	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Водяная баня при температуре (40 + - 1) градусов С в течение 10 минут										
Раствор йода	по одной капле									
Амилазное (диастазное) число, ед. Готе	50,0	38,0	29,4	23,8	17,9	13,9	10,0	8,0	7,0	5,0

3. Пробирки закройте пробками, тщательно перемешайте содержимое, поместите в водяную баню на 10 минут при температуре (40 ± 1) градусов С.
4. По истечении времени выньте пробирки из водяной бани, охладите под струей воды до комнатной температуры, после чего в каждую пробирку внесите по одной капле раствора йода.

Оценка результатов.

Первая пробирка слева, в которой образуется желтоватая окраска, соответствует амилазной (диастазной) активности в исследуемом меде.

Запишите полученное Вами значение. Каково практическое значение данного показателя?

Опыт 3. Определение активной кислотности.

pH цветочного мёда 3,5-4,5; pH падевого мёда 4,5-6,5.

1. В химический стакан налейте 10 мл 10%-ного раствора меда.
2. pH-метром измерьте величину водородного показателя. При этом электроды не должны касаться стенок или дна сосуда.
3. Показания pH-метра фиксируйте через 5 секунд после установления результатов измерения на цифровом табло.
4. Запишите полученное Вами значение. Каково практическое значение данного показателя?

Опыт 4. Определение массовой доли редуцирующих веществ (ускоренный метод).

1. В колбу отмерьте 10 мл 1%-ного раствора $K_3[Fe(CN)_6]$ (красной кровяной соли), 2,5 мл 10%-ного раствора едкого натра и 5,6 мл 0,25%-ного раствора исследуемого меда.
2. Содержимое колбы нагрейте до кипения.

3. Кипятите 1 мин и прибавьте 1 каплю 1%-ного раствора метиленовой сини. Если раствор не обесцвечивается, то в исследуемой пробе редуцирующих веществ меньше 82% на сухое вещество.

Запишите полученные Вами результаты и сделайте выводы.

Опыт 5. Экспресс метод определения фальсификации мёда сахаром.

Глюкоза мёда окисляется перманганатом калия в нейтральной среде до глюконовой кислоты. Сахароза является невосстанавливающим дисахаридом поэтому не окисляется перманганатом калия.

1. Приготовьте водный раствор мёда в соотношении 1:10 (по массе).
2. Добавьте 1-2 капли 0,05% раствора перманганата калия. Получается розовое окрашивание раствора.
3. Исчезновение розовой окраски раствора в течение 40 секунд свидетельствует о натуральности мёда. В противном случае – он считается фальсифицированным сахаром. При фальсификации меда товарным сахаром до 10%, раствор окрашивается более чем на 50 секунд. При большей концентрации сахара окраска не исчезает.

Запишите полученные Вами результаты в итоговую таблицу.

Опыт 10. Органолептическая оценка мёда.

Аромат меда обусловлен комплексом ароматических веществ. Каждый вид меда имеет специфический, свойственный только ему, аромат цветков — источников нектара. На основании этого показателя можно судить о качестве и в некоторой степени о ботаническом происхождении меда. Интенсивность аромата зависит от качества и состава летучих ароматических веществ в меде.

Оценку аромата проводят дважды: до и во время определения вкуса, так как аромат усиливается при нахождении меда в ротовой полости. При отсутствии аромата или его недостаточной выраженности мед нужно подогреть. Пробу меда (около 40 см³), плотно закрытую в стаканчике, помещают на водяную баню (40-45°C) на 10 мин, затем снимают крышку и определяют аромат, который служит наиболее объективным показателем при органолептической оценке меда. Он может быть слабым, сильным, нежным, тонким, с приятным и неприятным запахом. Некоторые виды меда (клеверный, гречишный, вересковый, липовый, ивовый) очень ароматны, имеют запах цветков, с которых собраны, а такие, как кипрейный, подсолнечниковый, рапсовый, имеют слабый цветочный аромат.

Аромат может служить критерием для браковки меда (несвойственные меду запахи). Цветочный аромат меда исчезает при брожении, длительном и интенсивном нагревании, долгом хранении, при добавлении инвертированного, свекловичного и тростникового сахарных сиропов, патоки, а также при кормлении пчел сахарным сиропом.

Необходимо учитывать, что некоторые падевые мёды обладают непривлекательным и даже неприятным запахом. Слабый аромат бывает обычно у старого и у подогретого меда.

Вкус меда обычно сладкий, приятный. Сладость меда зависит от концентрации сахаров и их вида. Самым сладким, приторным вкусом обладает белоакациевый, а также мед с фруктовых деревьев, в которых большое содержание фруктозы. На вкус меда оказывают влияние также кислоты, минеральные вещества, алкалоиды. Лучшими по вкусовым качествам считают такие виды меда, как липовый, белоакациевый, эспарцетовый, клеверный, кипрейный, донниковый, малиновый и др.; более низкокачественными являются вересковый, падевый, эвкалиптовый. Некоторые сорта меда, такие как каштановый, табачный, ивовый, падевый, имеют своеобразную горечь, которая может быть очень сильной.

Мед, выдержанный при высокой температуре, имеет карамельный привкус, который недопустим. Неприемлем также мед с излишне кислым, прогорклым, плесневелым и сброженным привкусами.

Натуральный мед раздражает слизистую оболочку рта и гортани при его потреблении из-за присутствия полифенольных соединений, переходящих в мед с нектаром. Сахарный мед такого восприятия не дает.

Вкус меда определяют после предварительного нагревания пробы меда до 30°C в закрытом стеклянном боксе. Запрещен выпуск в продажу меда с кислым, горьким и другими неприятными привкусами. Допускается слабогорький привкус в каштановом, ивовом, табачном и падевом медах.

Консистенция меда зависит от химического состава, температуры, сроков хранения. По консистенции жидкого меда судят о его водности и зрелости. Она может быть жидкой, вязкой, очень вязкой, плотной или смешанной. Свежеоткаченный мед представляет собой вязкую сиропообразную жидкость. При стекании струйка такого меда напоминает рулон материи, который складывается слоями в пирамиду. При дальнейшем хранении он кристаллизуется. Консистенцию определяют погружением шпателя в мед (20°C) и, поднимая шпатель над раствором, отмечают характер стекания меда. Перегретый мед при стекании в блюде образует ямку.

Жидкий мед — на шпателе сохраняется небольшое количество меда, который стекает мелкими нитями и каплями. Жидкая консистенция специфична для следующих свежеоткаченных созревших медов: белоакациевого, кипрейного, клеверного, а также для всех видов меда с повышенным содержанием влаги (более 21%).

Вязкий мед — на шпателе остается значительное количество меда, он стекает редкими нитями и вытянутыми каплями. Эта консистенция присуща большинству видов созревшего цветочного меда.

Очень вязкий мед — на шпателе сохраняется значительное количество меда, он стекает редкими толстыми нитями, не образуя отдельных капель. Такая консистенция характерна для верескового, эвкалиптового и падевого медов, а также наблюдается в период зарождения кристаллов глюкозы при кристаллизации остальных видов цветочного меда.

Плотная консистенция — шпатель погружается в мед в результате приложения дополнительной силы. Значит мед закристаллизовался.

Смешанная консистенция — в меде наблюдается расслоение на две части: внизу — выпавшие кристаллы глюкозы, образующие сплошной слой, а над ним жидкая часть. Наблюдается при кристаллизации меда, подвергнутого тепловой обработке, а также в первые месяцы хранения меда и при фальсификации меда сахарным сиропом.

Иногда на рынок доставляют мед незрелый, но с признаками кристаллизации. В этом случае он разделяется на два слоя: жидкий и плотный, причем соотношение слоев неодинаково, жидкого больше, чем плотного. Водность незрелого меда всегда выше допустимой величины, и его в продажу не пускают.

Если жидкого отстоя значительно меньше, чем плотного, то это свидетельствует о хранении меда в герметической таре. Такой мед после перемешивания пускают в продажу.

Определение механических примесей. Механические примеси делят на естественные, желательные (пыльца растений), нежелательные (трупы или части пчел, кусочки сот, личинки) и посторонние (пыль, зола, кусочки различных материалов и др.). Кроме того, они могут быть видимыми и невидимыми.

Образцы мёда					
Показатели					
Цвет					
Консистенция (жидкая, густая, кашеобразная, тягучая...)					
Характер осадка (салообразная, мелкозернистая, крупнозернистая)					
Аромат (медовый, отсутствует, неопределенный, слабовыраженный)					
Вкус (неопределенный, приторно-сладкий, медовый...)					
рН					
Титруемая кислотность					
Редуцирующие вещества					
Диастаза					
Сахар в мёде					

Вывод по работе:

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 16. «Биологические и биохимические свойства яиц»

Цель занятия: изучить некоторые физико-химические показатели яиц.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Скорлупа яиц. Строение. Химический состав.
2. Химический состав белка и желтка куриных яиц. Пищевая ценность яиц.
3. Физико-химические свойства яиц.
4. Биологическая характеристика перепелиных, утиных, страусиных яиц.
5. Физико-химические изменения яиц в процессе хранения.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа

Опыт 1. Обнаружение микротрещин.

1. Поместите яйцо в овоскоп (либо другой источник света).
2. Изучите скорлупу яиц на наличие микротрещин.
3. Запишите полученные Вами результаты.

Опыт 2. Определение свежести яиц по физическим свойствам.

1. Опустите яйцо в стакан с 8%-ный раствором поваренной соли.
2. Оцените положение яйца в растворе по таблице и сделайте вывод о его свежести.

Степень свежести яйца, в днях	Положение яйца в растворе
1-6	Яйцо лежит на дне.
7-10	Тупой конец яйца приподнимается, и яйцо расположилось по диагонали, образуя с дном стакана угол 45°.
11-12	Яйцо стоит на дне почти вертикально.
13-17	Яйцо плавает в растворе.
Больше 17	Тупой конец выдвигается из раствора.

Опыт 3. Определение массы яиц.

1. Взвесьте яйцо.
2. Результаты взвешивания запишите в итоговую таблицу.

Опыт 4. Определение pH желтка и белка яиц.

1. Вскройте яйцо.
2. Отделите белок от желтка.
3. Белок и желток поместите в разные стаканчики. Тщательно перемешайте стеклянной палочкой.
4. Сразу же определите величину pH каждого.

Белок свежих куриных яиц должен иметь pH 8,0-8,5, желток 5,8-6,2.

Запишите и объясните полученные Вами результаты. Почему при хранении pH белка смещается в щелочную сторону, а pH желтка в кислую?

Опыт 5. Определение индекса пенообразования белка.

1. Измерьте объем белка с помощью мензурки.
2. Перелейте белок в посуду для взбивания.
3. Взбивайте белок миксером на III скорости в течение одной минуты.
4. Расчет индекса произведите по формуле:

$$\text{ИПБ} = \frac{V_2}{V_1} \cdot 100$$

где ИПБ – индекс пенообразования белка, %;

V_1 – объем белковой пены до взбивания, мл;

V_2 – объем белковой пены после взбивания, мл.

5. Устойчивость белковой пены оцените по количеству выделившейся из взбитой пены жидкости после 30- и 60-минутной выдержки.

Запишите и объясните полученные Вами результаты. Почему, ИПБ выше у яиц со сроком хранения 14-21 суток?

Опыт 6. Определение природы пятен на скорлупе. Качественная реакция на наличие гемопротеинов.

1. На пятна на яичной скорлупе поместите каплю 5%-ного свежеприготовленного спиртового раствора бензидина. Затем каплю 3%-ного раствора пероксида водорода.
2. В случае присутствия гемопротеинов крови на скорлупе разовьется синее окрашивание.

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Опыт 7. Определение толщины скорлупы яиц и количества пор.

Важным показателем качества яйца является толщина скорлупы. Ее можно определить микрометром. Поры скорлупы можно увидеть, окрасив их.

1. Микрометром измерьте толщину скорлупы. У куриных яиц толщина скорлупы должна составлять 0,32-0,35 мм.
2. Налейте внутрь помытой водой половинки скорлупы спиртовой раствор метиленового голубого (синего). Раствор проходит сквозь поры, и наружная поверхность скорлупы покрывается темными точками.
3. Посчитайте количество точек на 1 см².
4. Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Вывод по работе:

Показатели	№1	№2	№3
Вес яйца			
Вес белка			
% от веса целого яйца			
Вес желтка			
% от веса целого яйца			
Вес скорлупы			
% от веса целого яйца			
Микротрещины			
Толщина скорлупы			
Пятна крови			
Дефекты скорлупы			
Количество пор на 1см ²			
pH белка			
pH желтка			

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 17. Семинар: «Роль продуктов животного происхождения в питании человека»

Цель занятия: ознакомиться с современными достижениями в области биохимии молока и молокопродуктов, мёда, яиц.

ТЕМЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К СЕМИНАРУ:

1. Влияние различных факторов на состав и свойства молока.

2. Биохимические факторы, способствующие формированию молочной продуктивности животных.
3. Заменители молочного жира. Вред или благо.
4. Молочные продукты в питании детей и пожилых людей.
5. Сравнительная характеристика биохимического состава и свойств молока различных видов сельскохозяйственных животных.
6. Изменение состава и свойств компонентов молока при транспортировке, механических воздействиях, тепловой обработке.
7. Влияние условий хранения на качество молочных продуктов.
8. Распад белков и изменение аминокислот как факторы, снижающие пищевую ценность молока и молочных продуктов.
9. Использование молока и молочных продуктов людьми различных этнических групп.
10. Биохимические основы производства детских молочных продуктов и заменителей цельного молока.
11. Новые направления в совершенствовании ассортимента и качества яиц с точки зрения биохимии.
12. Современные проблемы качества мёда.
13. Обеспечение биологической и пищевой безопасности в молочных продуктах животноводства.

По желанию студентов могут быть приняты к обсуждению и другие темы в пределах данной тематики.

Дата выполнения _____ Оценка _____ Подпись преподавателя _____

Учебное пособие

Составители:

**Саковцева Татьяна Владимировна
Савчук Светлана Васильевна
Сергеенкова Надежда Алексеевна**

**Биологическая химия
(часть II)**

Учебно-методическое пособие

Издано в редакции составителей
Корректурa составителей
Отпечатано с оригинала,
предоставленного составителями