

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
НОВГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени Ярослава Мудрого
Институт сельского хозяйства и природных ресурсов

Кафедра «Технология переработки сельскохозяйственной продукции»

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

Лабораторный практикум

по УЭМ «Пищевая химия» модуля «Химия 2»
для направления подготовки 35.03.07 – **Технология производства и переработки
сельскохозяйственной продукции**

Великий Новгород
2014

Рецензент

Сучкова Е.П.

кандидат технических наук

Пищевая химия: Лабораторный практикум / Сост. Н.Г. Лаптева, НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Великий Новгород, 2014. – 32 с.

Лабораторный практикум содержит теоретическое обоснование, задания и методику выполнения лабораторных работ, контрольные вопросы по каждой лабораторной работе. В практикуме приведены требования к материально-техническому обеспечению лаборатории, руководство по технике безопасности при работе в химических лабораториях, перечень рекомендуемой литературы. Предназначен для студентов направления подготовки 35.03.07 – «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции».

© Новгородский государственный
университет им. Ярослава Мудрого, 2014
© Н.Г. Лаптева, составление, 2014

Содержание

	Стр.
Введение	4
<i>Лабораторная работа 1. Методы выделения белков. Цветные реакции на белки</i>	5
1 Выделение растворимых белков	9
2 Обнаружение в белках пептидных связей (биуретовая реакция)	10
<i>Лабораторная работа 2. Определение физико-химических характеристик пищевых жиров</i>	11
Определение кислотного числа	13
Определение числа омыления	13
Определение йодного числа	14
<i>Лабораторная работа 3. Выделение пектина и исследование его свойств</i>	16
Выделение растворимого пектина	18
Щелочной гидролиз по эфирной и гликозидной связям	18
Качественная реакция на пектин	18
<i>Лабораторная работа 4. Определение массовой доли витаминов и минеральных веществ в молоке</i>	19
Определение массовой доли кальция	21
Определение массовой доли магния	21
Определение массовой доли витамина С	22
<i>Рекомендуемая литература</i>	23

Введение

Пищевая химия — одна из ведущих дисциплин в общенаучных знаниях человека о питании. В ее задачу входит изучение химического и компонентного состава сырья, полуфабрикатов и готовых пищевых продуктов. Она исследует закономерности химических превращений при хранении и переработке пищевого сырья, необходима при разработке принципов питания, обеспечивающих здоровое развитие человека. Объектами изучения пищевой химии являются также новые сырьевые источники, конструирование новых продуктов питания и создание более совершенных технологий пищевых производств.

Пищевые продукты, как правило, многокомпонентны, включают разнообразные классы химических соединений биологического происхождения и представляют собой довольно сложный объект для изучения. Поэтому важнейшая проблема пищевой химии — разработка и совершенствование методов анализа пищевых систем, а также методик расчета пищевой ценности продуктов питания.

Данные методические указания знакомят студентов с наиболее важными методами выделения и изучения состава пищевого сырья, продуктов питания и охватывает основные классы пищевых веществ.

Все лабораторные работы составлены по общей методике и содержат подробный теоретический и экспериментальный разделы, требования к оформлению отчетов, контрольные вопросы.

Практикум содержит также сведения об оснащении лаборатории, технике безопасности при проведении исследований, а также перечень рекомендуемой литературы.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ. ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛКИ

Цель работы: провести экстракцию растворимых белков и ознакомиться с универсальными цветными реакциями на белки.

Материалы: мука пшеничная или гороховая; молоко; гомогенизированная мышечная ткань; яичный белок.

Реактивы: 10% раствор сульфата аммония; 0,2 %, 1 %, 10 % растворы гидроксида натрия; 0,1 н., 3 % растворы уксусной кислоты; 1% раствор CuSO_4 ; 10 % и насыщенный растворы хлорида натрия; сухой хлорид натрия (мелко размолотый); 70 % раствор этилового спирта.

Посуда и приборы: капельницы; стеклянные воронки; фарфоровые ступки и пестики; фильтровальная бумага; марля; технические весы с разновесами; термостат; плоскодонные колбы объемом 100 мл; пробирки; пипетки; водяные бани.

Теоретическое обоснование.

Белки – важнейшие для жизни полимеры, состоящие из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидной связью. Каждый вид белка характеризуется своей уникальной последовательностью аминокислот в полипептидной цепи (первичная структура белков). Все белки имеют определенную пространственную ориентацию полипептидных цепей (вторичная, третичная и четвертичная структуры). По составу они подразделяются на простые белки (протеины), которые состоят только из остатков аминокислот, и сложные белки (протеиды), в которых полипептидная цепь соединена с небелковым компонентом – простетической группой.

Классификация белков по растворимости (в воде, растворах солей, кислот, щелочей и спирта) применяется только для простых белков:

◆ *Белки, растворимые в слабых кислотах*, — это наиболее простые белки, обладают невысокой молекулярной массой и проявляют основные свойства (суммарный заряд — положительный):

— протамины обладают сильноосновными свойствами, растворимы в слабых кислотах, содержат до 80 % аминокислот основной природы (лизин, гистидин, аргинин);

— гистоны обладают менее основными свойствами, чем протамины (содержание аминокислот основной природы до 30 %), они выполняют стабилизирующую функцию при формировании третичной структуры ДНК у эукариот.

◆ *Белки, растворимые в воде и растворах нейтральных солей*, обладают более высокой молекулярной массой, чем гистоны и протамины, часто выполняют в организме каталитическую функцию:

— альбумины хорошо растворяются в воде и высаживаются из насыщенных растворов нейтральных солей;

—глобулины растворяются в слабых растворах нейтральных солей, высаживаются при высоких концентрациях нейтральных солей и выполняют защитные функции в организме.

◆ *Белки, растворимые в спиртах и растворах щелочей*, — это высокомолекулярные белки, нерастворимые в воде, встречаются в семенах растений, выполняют запасные функции:

—проламинаы нерастворимы в воде и солях, растворимы в 70 % спирте, содержат много пролина;

—глютелины нерастворимы в воде и разбавленных растворах нейтральных солей, растворимы в разбавленных щелочных растворах (0,2...2% растворах едкого натра) и выполняют не только запасную функцию, но обладают и биологической активностью.

Растительные белки

Белки *зерновых* неравномерно распределены между морфологическими частями зерна. Основное количество белка содержится в эндосперме (65...75 %), на алейроновый слой приходится 15 % белка, а 22 % — на долю зародыша. Белки эндоспермы и алейронового слоя представлены различными фракциями, белки зародыша — в основном каталитическими белками (альбуминами и глобулинами). Альбуминовые и глобулиновые фракции белков пшеницы разнородны и проявляют либо каталитическую активность, либо свойства ингибиторов ферментов. В количественном отношении главными белками пшеницы являются две фракции: глиадин (проламин пшеницы) и глютенин (глютелин пшеницы).

Основная фракция белков *бобовых* — глобулиновая (60...90%). Она представляет собой группу запасных белков и извлекается 5... 10 % раствором хлорида натрия из обезжиренной муки. Белки бобовых содержат лизина в 2...2,5 раза больше, чем злаковые, а растворимость и перевариваемость их выше, чем у других белков растений. В качестве самостоятельной группы в семядолях бобовых не обнаружены глютелины. Извлекаемые щелочными растворами белки представляют собой глобулины, связанные с полисахаридами.

На долю альбуминовой фракции приходится 10...20% белков бобовых. Они не являются запасными, основная роль альбуминовых белков — физиологическая, они представляют собой группу биологически активных веществ. Это, главным образом, ферменты и ингибиторы ферментов. В альбуминовой фракции встречаются ингибиторы трипсина, цитохромы с, р-амилазы, липооксидазы. Отличительной особенностью белкового комплекса бобовых является высокое содержание ингибиторов протеаз и особых белков гликопротеидной природы — лектинов.

Животные белки

В питании человека мясо животных является основным источником полноценных белков. По химическому составу, структуре и свойствам эти белки наиболее близко отражают потребности организма человека в них. Фракционный состав белков мяса многокомпонентен.

Мясо – это совокупность различных тканей животных организмов, наиболее ценной из которых является мышечная ткань. Главным компонентом мышцы являются белки (16...22 %). К белкам мышечной ткани относятся:

- ♦ растворимые в воде белки саркоплазмы – миоген, миоальбумин, миоглобин, глобулин X;

- ♦ солерастворимые миофибриллы – миозин, актин, их комплекс; в осадок из насыщенного раствора сульфата аммония. Миозин (глобулиновая фракция) – основной солерастворимый белок мышечной ткани, представляет собой фибриллярный белок. Он растворим в слабых растворах нейтральных солей, осаждается из насыщенного раствора хлоридом натрия. Чистый миозин растворим в воде. Белки стромы – нерастворимые белки мышечной ткани, основными представителями которых являются коллаген и эластин.

- ♦ нерастворимые белки стромы – белки сарколеммы (коллаген, эластин, муцин, ретикуллин) и ядер.

Миоген легко экстрагируется водой и образует пену на поверхности бульона в результате денатурации. *Глобулин X* – это солерастворимый белок плазмы, он выполняет ферментативные функции в организме. На долю глобулина X и миогена приходится до 20...25 % всех белков мышечной ткани.

Хромопротеид *миоглобин* имеет красную окраску, так как содержит железо, он обуславливает красный цвет мяса. Миоглобин, присоединяя кислород, образует оксимиоглобин, который определяет красный цвет мяса после убоя. При длительном воздействии кислорода на миоглобин образуется метмиоглобин, имеющий коричневый цвет, поэтому при длительном хранении мяса на воздухе его цвет изменяется из красного в коричневый. Миоглобин денатурирует при температуре 60 °С и утрачивает красный цвет; по цвету мяса можно судить о его готовности.

Миоальбумин легко выделяется ацетоном из мышечной плазмы. Он хорошо растворим в воде, не осаждается хлоридом натрия при насыщении, но осаждается сульфатом аммония. Содержание в мышечной ткани миоальбумина и миоглобина составляет 1...2 %.

Миозин – важнейший солерастворимый белок мышечной ткани, составляет около 40 % всех мышечных белков, обладает водопоглощающей и водоудерживающей способностью. На долю *актина* приходится до 15 % мышечных белков; при взаимодействии с миозином он образует *актиномиозин*, обладающий высокой вязкостью.

Белки саркоплазмы и миофибрилл являются полноценными белками и содержат все необходимые для организма человека незаменимые аминокислоты.

Белки *сарколеммы* включают коллаген и эластин и относятся к неполноценным белкам, в них отсутствует незаменимая аминокислота триптофан. Основное количество коллагена и эластина находится преимущественно в соединительных тканях. Хотя коллаген и относится к неполноценным белкам, после тепловой обработки он может частично усваиваться, улучшая общий аминокислотный состав продуктов.

Белки молока

Содержание белков в молоке составляет 2,9...3,5 %. Белки молока обеспечивают нормальное развитие растущего организма и питание взрослого человека. Они отличаются по строению, физико-химическим свойствам и биологическим функциям. Белки молока делятся на три группы:

- ◆ **казеиновые белки** (80%) – α_{S1} -казеин, α_{S2} -казеин, β -казеин, χ -казеин;
- ◆ **сывороточные белки** (19%) – β -лактоглобулин, α -лактальбумин, иммуноглобулины, лактоферрин;
- ◆ **белки оболочек жировых шариков** (1 %).

Сывороточные белки являются наиболее ценной частью молока по содержанию незаменимых аминокислот (НАК). По биологической ценности они превосходят казеин и имеют аминокислотный состав, близкий к составу мышечной ткани. Это глобулярные белки, в отличие от казеина не способные ассоциироваться и осаждаться в изоэлектрической точке (ИЭТ). Они гетерогенны, обладают важными биологическими функциями.

β -Лактоглобулин (β -Лг) — наиболее важный белок в количественном отношении, термолабилен. Предполагают, что он участвует в транспорте витамина А. Известно, что он переносит в кишечник макро- и микроэлементы, витамины и липиды. Тепловая денатурация β -Лг приводит к коагуляции агрегированного белка (он коагулирует почти полностью при 85...100°C) и образованию комплексов с χ -казеином.

α -Лактальбумин (α -Ла) гетерогенен, участвует в синтезе лактозы (является частью лактозосинтезирующей системы). Так же, как и иммуноглобулины, попадает в молоко из кровеносной системы животного. Он наиболее термостабилен из всех сывороточных белков из-за присутствия в нем дисульфидных связей. При охлаждении и в присутствии ионов кальция α -Ла способен восстанавливать нативную структуру на 80...90 %.

Имуноглобулины – сложные белки (гликопротеиды). Это термолабильные белки, которые коагулируют при температуре выше 70 °С. Они обладают свойствами антител и выполняют защитные функции.

Лактоферрин – красный железосвязывающий белок. Его главная функция – транспорт железа, он оказывает бактериостатическое действие на

кишечную микрофлору, связывая в кишечнике железо и делая его недоступным для микроорганизмов.

Молочные альбумины и глобулины обладают всеми свойствами белков соответствующих групп: они свертываются при кипячении и высаливаются насыщенным (альбумины) и полунасыщенным (глобулины) растворами сернокислого аммония.

Ход работы

Задание 1. Выделите водорастворимые и солерастворимые белки из растительных и животных продуктов (пшеничной или гороховой муки, мышечной ткани, молока)

Задание 2. Докажите наличие белков в растворах, проведя биуретовую реакцию.

Задание 3. Полученные результаты записать в виде таблицы и сравнить с литературными данными.

1 Выделение растворимых белков

Выделение водорастворимых белков пшеницы. Пшеничную муку в количестве 2 г растереть в фарфоровой ступке с 10 мл дистиллированной воды. Полученной смеси дать отстояться 2...3 мин, затем отфильтровать. Остаток муки промыть два раза небольшими порциями дистиллированной воды и оставить для последующего извлечения глобулинов пшеницы. Полученный фильтрат использовать при исследовании. В полученном растворе доказать наличие белков, проведя биуретовую реакцию.

Выделение солерастворяющих белков пшеницы. Промытый водой остаток муки (после извлечения альбуминовой фракции белков) растереть в ступке с 10 мл 10% раствора хлорида натрия, дать отстояться 2...3 мин и отфильтровать. Остаток муки промыть два раза небольшими порциями свежего раствора хлорида натрия и оставить для следующих опытов. Полученный фильтрат использовать при исследовании растворимости глобулиновых белков пшеницы. Для этого добавить к фильтрату равный объем насыщенного раствора хлорида натрия, достигнув тем самым полунасыщения. Выпавший осадок, представляющий собой глобулиновую фракцию белков пшеницы, отфильтровать. Осадок растворить на фильтре в 1 мл 10% раствора хлорида натрия. Провести биуретовую реакцию.

Выделение белков пшеницы, растворимых в щелочах. Остаток муки (после удаления альбуминовой и глобулиновой фракции белков) растереть в фарфоровой ступке с 10 мл 0,2% раствором гидроксида натрия, дать отстояться 2...3 мин и отфильтровать. К фильтрату добавить по каплям 0,1 н раствор уксусной кислоты. Выпавший осадок представляет собой глютеин – глютелин пшеницы.

Выделение белков пшеницы, растворимых в спиртах. В фарфоровой ступке растереть 1 г пшеничной муки с 5 мл 70 % этилового спирта.

Полученной суспензии дать отстояться и отфильтровать. К 3 мл фильтрата добавить по каплям дистиллированную воду до выпадения осадка. Полученный осадок представляет собой глиадин – проламин пшеницы.

Выделение водорастворимых белков гороха. Экстракцию белков вести аналогично экстракции альбуминов пшеницы.

Выделение солерастворимых белков гороха (легумина). В гороховой муке содержится глобулиновый белок легумин, нерастворимый в воде, но растворимый в растворах нейтральных солей. Для извлечения легумина 5 г гороховой муки залить 20 мл 10 % раствора сульфата аммония и экстрагировать в термостате в течение 20 мин при температуре 30 °С (при постоянном перемешивании). Полученный раствор отфильтровать через складчатый фильтр, смоченный раствором соли. Фильтрат использовать для исследования растворимости глобулиновых белков гороха. Для этого добавить к 1 мл фильтрата 1 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Выпавший осадок легумина отфильтровать и растворить на фильтре в 1 мл 10 % раствора хлорида натрия. Провести реакцию с биуретовым реактивом.

Выделение белков мышечной ткани. Фракционирование основных в количественном отношении белков мышечной ткани обычно ведут методом высаливания двух белковых фракций (водо- и солерастворимых), остальные нерастворимые фракции остаются при этом в нерастворимой части мышечной ткани.

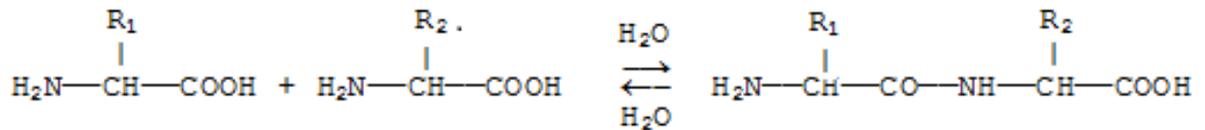
В плоскодонную колбу объемом 100 мл поместить 2 г гомогенизированной мышечной ткани, залить 12 мл дистиллированной воды и экстрагировать в термостате при температуре 300 °С в течение 15 мин (при постоянном перемешивании). При этом в раствор переходят альбуминовые фракции белков мышечной ткани (миоген, миоальбумин, миоглобин, глобулин X).

Водорастворимой фракции белков мышечной ткани дать отстояться 2...3 мин, осадок отфильтровать через два слоя марли, положенной на воронку. Фильтрат использовать для количественного определения белков.

Выделение казеина. В колбу объемом 100 мл налить 5 мл молока и 5 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы хорошо перемешать и добавить по каплям 1 мл 3 % раствора уксусной кислоты. Полученную смесь снова хорошо перемешать и оставить в покое на 5... 10 мин. Осадок казеина отфильтровать. В полученном фильтрате (сыворотке), содержащей сывроточные белки, провести биуретовую реакцию.

2 Обнаружение в белках пептидных связей (биуретовая реакция)

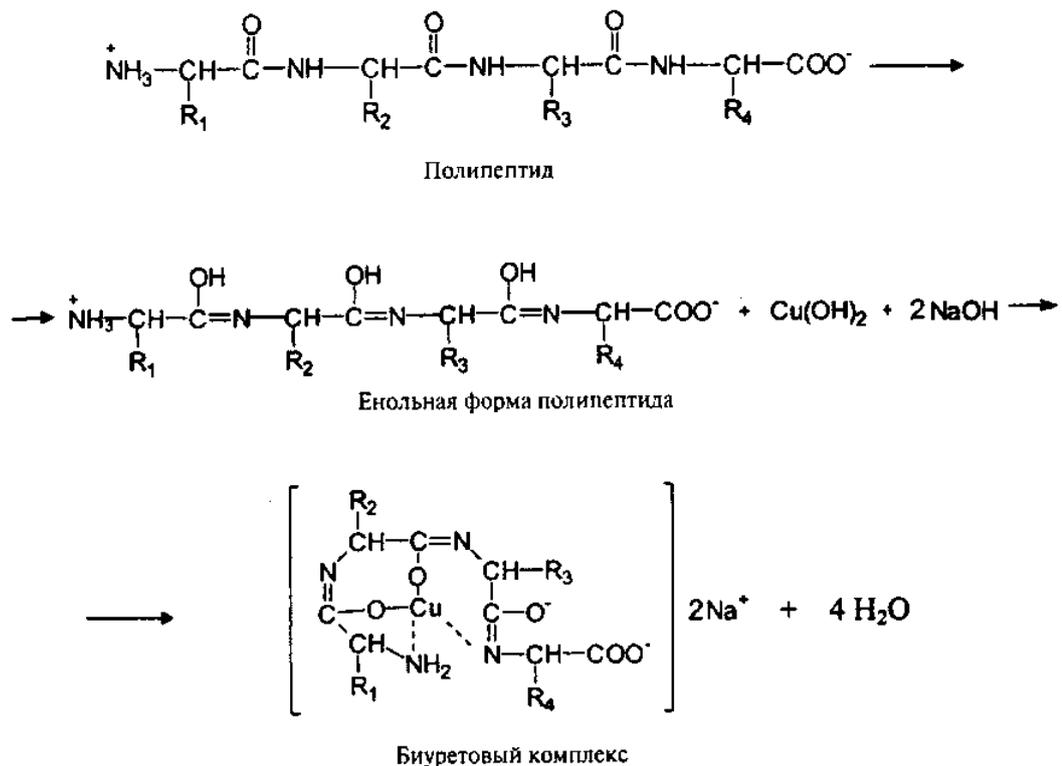
Эта реакция обусловлена наличием в белковой молекуле пептидных связей возникающих при взаимодействии молекул аминокислот.



В результате взаимодействия ионов двухвалентной меди с пептидными связями в щелочной среде образуется комплексное соединение, окрашенное в красно-фиолетовый цвет. Название реакции обусловлено тем, что биурет (продукт конденсации двух молекул мочевины) в аналогичных условиях дает такой же комплекс.

Биуретовую реакцию дают все соединения, содержащие в молекуле две и больше двух близкорасположенных пептидных связей.

Химизм реакции: Диенольные формы пептидных связей образуют комплексное соединение с гидроксидом меди, в котором ковалентные связи образованы за счет водорода енольного гидроксила, а координационная – за счет электронных пар атомов азота иминовых групп.



Ход работы: к 5 каплям исследуемого раствора белка добавляем 3 капли 10% р-ра NaOH и 1 каплю 1 % р-ра CuSO₄. При наличии белка в пробирке появляется устойчивое сине-фиолетовое окрашивание.

Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации белка в пробе.

Оформление отчета о результатах работы

1. Цель работы.
2. Краткую информацию о составе и свойствах растительных и животных белков.
3. Методики выделения растворимых фракций белков.
4. Характеристика биуретовой реакции на белки.
5. Данные, полученные в ходе исследований, представить в виде таблицы (таблица 1).
6. Анализ полученных результатов и вывод.

Таблица 1. Результаты исследования белоксодержащих растворов

Исходный материал	Растворитель	Название растворимого белка	Реакция на белок

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятию «белки».
2. На какие группы по растворимости делятся белки?
3. Назовите основные фракции растительных белков.
4. Какие белки входят в состав мышечной ткани?
5. Какие белки молока Вы знаете?
6. Как выделяют водорастворимые белки из муки, мышечной ткани, молока?
7. Объясните суть биуретового метода.

Лабораторная работа 2

Определение физико-химических характеристик пищевых жиров

Цель работы: изучить основные физико-химические константы молочного жира, освоить методики их определения.

Реактивы: 0,1 н. раствор гидроксида натрия; смесь этилового спирта и эфира (соотношение 1:1); 1%-ный раствор фенолфталеина; 96%-ный этиловый спирт; 0,2 н. спиртовой раствор йода; 0,1 н. раствор тиосульфата натрия; 1 %-ный раствор крахмала.

Посуда и приборы: конические колбы объемом 100 или 150 см³; колба коническая на 500 см³ с обратным холодильником; пипетки на 20 и 25 см³; стеклянные воронки; капельницы; фильтровальная бумага; пробирки; цилиндр на 250 см³; весы; водяная баня; центрифуга; термостат.

Теоретическое обоснование

Жир представляет собой сложный эфир трехатомного спирта глицерина и жирных кислот. В образовании жиров могут участвовать одна, две и три молекулы жирных кислот, и в зависимости от этого различают моно-, ди- и триглицериды.

Жирные кислоты разделяют на две группы: насыщенные и ненасыщенные. Также жирные кислоты могут быть высокомолекулярными и низкомолекулярными, летучими и нелетучими, растворимыми или нерастворимыми в воде и др. Свойства жира зависят от входящих в его состав жирных кислот.

С увеличением относительной молекулярной массы жирных кислот повышается и температура плавления.

Низкомолекулярные летучие жирные кислоты (масляная, капроновая) обуславливают формирование неприятного прогорклого вкуса и запаха продукта. Предельной концентрацией является 0,009 мг кислоты в 1 кг жира, любое превышение её ведёт к отрицательному влиянию на вкус. Однако в меньших количествах указанные кислоты способствуют развитию специфического аромата в некоторых продуктах (пропионовая в швейцарском сыре). Жирные кислоты, содержащие более 12 атомов углерода, практически не имеют вкуса и запаха.

Ненасыщенные жирные кислоты оказывают гораздо большее влияние на физико-химические свойства жира, чем насыщенные. Ненасыщенные жирные кислоты более реакционноспособны и при увеличении их количества в жире его устойчивость к самоокислительной порче снижается. Однако присутствие в жире таких ненасыщенных жирных кислот как линолевая и арахидоновая крайне важно, так как человеческий организм не способен синтезировать их из других кислот, и они должны поступать вместе с пищей.

Содержание определенных групп жирных кислот в жирах различного происхождения отличается известным постоянством. В практике пищевой промышленности состав и качество жиров и масел характеризуют с

помощью констант (или чисел жиров). Наибольшее значение имеют числа: кислотное, омыления, йодное.

Свежие жиры и масла имеют следующие физико-химические числа (таблица 2):

Таблица 2. Физико-химические числа жиров

Числа жиров	Значение для жира (масла)			
	молочного	свиного	говяжьего	подсолнечного
Кислотное	0,2 - 1,0	0,2 - 1,0	0,2 - 1,0	0,1 – 2,4
Омыления	220 - 234	193-198	190-200	183 - 196
Йодное	28-45	45-66	32-47	119 - 144

Ход работы

Задание 1. Ознакомиться с составом и свойствами жиров.

Задание 2. Ознакомиться с методами определения основных химических и физических чисел молочного жира.

Задание 3. Определить в исследуемых образцах числа молочного жира по указанию преподавателя.

Задание 4. Сделать вывод о степени свежести и натуральности исследуемого молочного жира.

Определение кислотного числа

В процессе хранения жиросодержащих продуктов может происходить порча жира, вызванная гидролизом и окислением. В результате накапливаются свободные жирные кислоты, перекиси, альдегиды, кетоны и другие соединения. Увеличение кислотного числа свидетельствует о гидролитическом распаде триглицеридов.

Кислотность жира обуславливают освободившиеся в результате гидролитического распада жирные кислоты. Кислотность жира выражают в градусах Кеттсторфера и кислотных числах. Под градусами кислотности понимают количество кубических сантиметров нормального раствора щёлочи, прошедшего на нейтрализацию 100 г жира.

Кислотным числом называют число миллиграммов гидроксида калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

Техника определения. В стакан или колбу отвешивают 5 г чистого жира. Колбу или стакан с отвешенным жиром помещают на водяную баню и слегка расплавляют. Добавляют для полного растворения 20 см³ нейтральной смеси спирта и эфира. Жидкость хорошо перемешивают, прибавляют 3-5 капель фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором NaOH до устойчивого розового окрашивания.

Кислотность жира вычисляют по формуле:

$$K = a \cdot 20 \cdot 0,1,$$

где K - кислотность жира, °К;

a - количество 0,1 н. раствора щёлочи, пошедшее на титрование 5 г жира, см³

20 - коэффициент для перевода количества на 100 г жира;

0,1 - коэффициент для перевода 0,1 н раствора щёлочи на нормальный раствор

Кислотное число вычисляют по формуле:

$$K_c = \frac{a \cdot 5,611}{b},$$

где a - количество 0,1 н. раствора щелочи, пошедшее на титрование 5 г жира, см³;

5,611 - титр 0,1 н. раствора КОН;

b - навеска жира, г.

Определение числа омыления

Число омыления показывает, какое количество миллиграммов КОН требуется для омыления 1 г жира. Это количество зависит от молекулярного веса входящих в состав жира жирных кислот. Чем больше молекулярная масса жирных кислот, входящих в состав триглицеридов, тем меньше молекул триглицеридов будет в 1 г жира и, следовательно, меньше КОН пойдёт на омыление. Высокое число омыления свидетельствует о значительном содержании низкомолекулярных жирных кислот. Таким образом, число омыления характеризует в известной степени средний молекулярный вес кислот жира. Число омыления учитывает также количество щелочи на нейтрализацию свободных жирных кислот.

Техника определения. В колбу ёмкостью 250-300 см³ отвешивают 1-2 г жира с точностью до 0,01 г и приливают из бюретки 25 см³ спиртового раствора КОН. Колбу соединяют с обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. По окончании омыления колбу вынимают из бани, через 1-2 мин снимают холодильник, приливают 5 капель фенолфталеина и горячую жидкость титруют 0,5 н. раствором соляной кислоты до исчезновения красного окрашивания и перехода его в желтое.

Одновременно ставят контрольную пробу без жира, которая проводится в тех же условиях.

Число омыления рассчитывают по формуле:

$$O_c = \frac{(a - b) \cdot 28,055}{v},$$

где a - количество 0,5 н. раствора соляной кислоты, пошедшего на титрование контрольной пробы без жира, см³;

b - количество 0,5 н. раствора соляной кислоты, пошедшего на титрование пробы с жиром, см³;

28,055 - количество КОН, соответствующее 1 см³ 0,5 н. раствора соляной кислоты, мг;

v - навеска жира, г.

Определение йодного числа

Определение йодного числа основано на реакции присоединения: галоген присоединяется по месту расщепления двойных связей в молекуле жирной кислоты.

Йодным числом называют количество граммов йода, которое связывается с ненасыщенными жирными кислотами, содержащимися в 100 г жира.

Йодное число определяют в две ступени. Для присоединения галогена по месту двойных связей точно отмеренное количество галогена, добавляют к взвешенной пробе жира, растворенной в этиловом спирте или четыреххлористом углероде. Галоген насыщает двойные связи. Избыток йода оттитровывается раствором тиосульфата натрия с использованием в качестве индикатора раствор крахмала.

Техника определения. В коническую колбу на 500 см³ отвешивают 0,1-0,2 г жира. Отвешивание можно производить непосредственно в колбу или на кусочке пергаментной бумаги, который вместе с навеской помещают в колбу. Затем в колбу приливают 20 см³ этилового спирта и на водяной бане с температурой 40-50 °С при перемешивании растворяют жир. После растворения жира колбу вынимают из бани, охлаждают и к раствору приливают 25 см³ 0,2 н. раствора йода, хорошо перемешивают (взбалтывают) и затем добавляют 200 см³ воды. Колбу закрывают пробкой, раствор сильно взбалтывают и оставляют в покое ровно на 5 минут, после чего избыток йода оттитровывают 0,1 н. раствором тиосульфата натрия. Титрование необходимо вести быстро, для чего сначала раствор тиосульфата приливают струей до появления желтого окрашивания, затем, прибавив 0,5 см³ раствора крахмала, титруют по каплям до обесцвечивания раствора в колбе.

Параллельно проводят контрольное титрование пробы без жира в тех же условиях.

Йодное число вычисляют по формуле:

$$I_y = \frac{(a - \bar{b}) \cdot 0,0127 \cdot 100}{v},$$

где a - количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование контрольной пробы без жира, см³;

\bar{b} - количество 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование пробы с жиром, см³;

v - навеска жира, г;

0,0127 - количество йода, соответствующее 1 см³ 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, г.

Оформление отчета о результатах работы

1. Цель работы.
2. Краткую информацию о составе и свойствах жиров.
3. Методы определения основных чисел молочного жира.
4. Данные, полученные в ходе исследований жиров, представленные в виде таблицы (таблица 3).
5. Анализ полученных результатов и вывод о качестве и натуральности исследуемого жира.

Таблица 3. Результаты исследования жира

Числа жиров	Значение для образцов жира			
	1	2	3	4
Кислотное				
Омыления				
Йодное				

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятиям «липиды», «триглицериды».
2. Какие жирные кислоты могут входить в состав жиров? Дайте их характеристику.
3. Как свойства жира зависят от жирнокислотного состава?
4. Что показывают основные числа жиров?

Лабораторная работа 3

Выделение пектина и исследование его свойств

Цель работы: провести экстракцию и качественный анализ растворимого пектина.

Реактивы: 0,1 н раствор гидроксида натрия; 1 н раствор уксусной кислоты; 1 % раствор ацетата свинца; растворы Фелинг I и Фелинг II; пектинсодержащее сырье.

Посуда и приборы: конические колбы объемом 100 мл; стеклянные воронки; капельницы; фильтровальная бумага; пробирки; пипетки; водяная баня; центрифуга; термостат.

Теоретическое обоснование

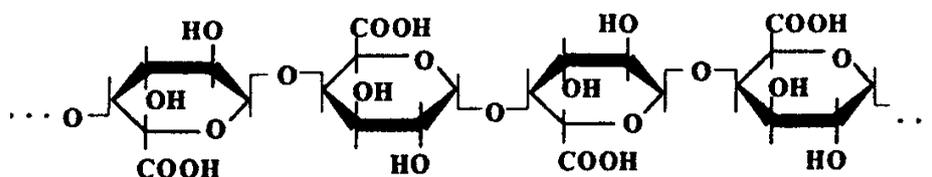
Пектиновые вещества (ПВ) представляют собой полимерные соединения с молекулярной массой от 10...100 тысяч дальтон (единица молекулярной массы, равная массе атома водорода), широко

распространенные в растениях. Они являются важным углеводным компонентом клеточной стенки и межклеточного пространства растений. В растительных клетках находятся две основные формы ПВ: пектин растворимый (гидропектин) и нерастворимый — протопектин. Протопектин представляет собой прочный комплекс с целлюлозой.

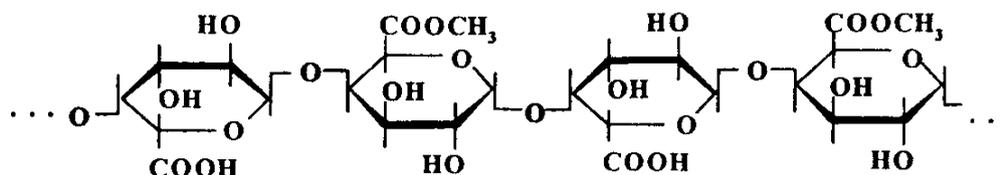
Основной остов молекулы пектина построен из остатков D-галактуроновой кислоты, связанных между собой $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, частично метоксилированных по шестому углеродному атому. Степень этерификации пектинов составляет 37...90%. Они представляют собой растворимые коллоидные вещества, обладающие водопоглощающей способностью.

По физико-химическим свойствам ПВ в зависимости от их растворимости и степени метоксилирования галактуроновой кислоты делятся на:

◆ *пектовую кислоту* — это полностью деметоксилированная полигалактуроновая кислота, мало растворимая в воде;



◆ *пектиновую кислоту* — высокомолекулярная полигалактуроновая кислота, часть карбоксильных групп которой метилированы метиловым спиртом, хорошо растворимая в воде;



◆ *пектаты* — соли пектовой кислоты;

◆ *пектины* — водорастворимые вещества, свободные от целлюлозы и состоящие из полигалактуроновой кислоты, карбоксильные группы которой в различной степени метоксилированы и нейтрализованы ионами кальция;

◆ *пектинаты* — соли пектинов;

◆ *пектиновые вещества* — физические смеси пектинов с сопутствующими веществами (пентозанами и гексозанами);

◆ *протопектин* — условное название соединений, характеризующихся в основном нерастворимостью в воде и способностью при осторожном гидролизе образовывать пектиновые кислоты. Состоит из сети пектиновых цепей, образованных в результате соединения ионов многовалентных металлов с неэтерифицированными карбоксильными группами, с помощью эфирных мостиков с фосфорной кислотой.

Наибольшее количество ПВ находится в плодах и корнеплодах. Они предохраняют их от высыхания, влияют положительно на засухоустойчивость и обеспечивают тургур. При созревании и хранении плодов нерастворимые формы пектина переходят в растворимые. Растворимые ПВ содержатся в клеточном соке. Получают ПВ из яблочных выжимок, свеклы, корзинок подсолнечника, цитрусовых и других отходов переработки растительного сырья.

Номенклатура пектинов основана на степени метоксилирования карбоксильных групп полигалактуроновой цепи. В зависимости от количества метоксильных групп и степени полимеризации различают высокоэтерифицированные (этерифицировано более 50 % карбоксильных групп) и низкоэтерифицированные (этерифицировано менее 50% карбоксильных групп) пектины.

Высокоэтерифицированные пектины способны образовывать гели в присутствии кислот и сахара при соблюдении определенного соотношения. Низкоэтерифицированные пектины способны образовывать гели лишь в присутствии ионов кальция. На этом основано их использование в качестве студнеобразующего вещества в кондитерской и консервной промышленности для производства мармелада, пастилы, желе и джемов, а также в хлебопечении, сыроделии.

Ход работы

Задание 1. Выделите растворимый пектин из пектинсодержащего материала.

Задание 2. Проведите щелочной гидролиз растворимого пектина.

Задание 3. Проведите качественную реакцию на пектин.

Выделение растворимого пектина

К 40 г свежеразмолотого на миксере пектинсодержащего материала (яблоки, сахарная свекла, морковь, лимонные корки) добавить 40 мл теплой воды (не выше 45 °С), поместить в термостат и выдержать при периодическом встряхивании и температуре 40 °С в течение 30 мин. Полученный раствор пектина отфильтровать, к осадку повторно добавить 25 мл теплой воды и повторить экстракцию. Новую порцию экстракта отфильтровать, фильтраты объединить.

Доказать нередуцирующие свойства пектинов с помощью реактива Фелинга. Для этого к 5...6 каплям раствора растворимого пектина добавить 5...6 капель смеси растворов Фелинг I и Фелинг II до образования легкой исчезающей мути и погреть на кипящей водяной бане 2...3 мин. Объяснить изменение окраски анализируемого раствора, написать уравнение реакции.

Щелочной гидролиз по эфирной и гликозидной связям

Щелочной гидролиз растворимого пектина по сложноэфирной связи ведут при комнатной температуре. Для этого в коническую колбу внести 5

мл раствора растворимого пектина и прилить 20 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия. Раствор оставить на 30 мин для достижения полноты реакции (написать уравнение реакции образования пектата натрия). Приблизительно 2 мл раствора щелочного гидролизата поместить на 30 мин в кипящую водяную баню для прохождения гидролиза по гликозидным связям до образования галактурановой кислоты. Доказать восстанавливающие свойства галактурановой кислоты с помощью реактива Фелинга. Написать уравнение реакций.

Качественная реакция на пектин

К оставшемуся от предыдущего опыта щелочному гидролизату растворимого пектина прилить 5 мл 1 н. раствора уксусной кислоты и перевести пектат натрия в свободную пектовую (полигалактурановую) кислоту, добавить 1 мл 1 % раствора ацетата свинца и нагреть на кипящей водяной бане. При наличии полигалактоурановой кислоты наблюдается образование кирпично-красного осадка пектата свинца. Написать уравнение реакции.

Оформление отчета о результатах работы

1. Цель работы.
2. Краткую информацию о свойствах пектиновых веществ.
3. Методы выделения и определения пектиновых веществ.
4. Уравнения реакций, происходящих в ходе исследования.
5. Анализ полученных результатов и вывод.

Контрольные вопросы

1. Функции углеводов в организме.
2. Классификация углеводов.
3. Дать определение пищевых волокон. Химическая природа пищевых волокон.
4. Понятие «пектина» и «протопектина»
5. Дать определение пектинового вещества.
6. Привести примеры пищевого сырья, богатого пищевыми волокнами.
7. Роль пищевых волокон в организме.
8. Какое пищевое сырье богато пектиновыми веществами?
9. Примеры использования пектиновых веществ в пищевой промышленности.

Лабораторная работа 4

Определение массовой доли витаминов и минеральных веществ в молоке

Цель работы: провести количественный анализ некоторых минеральных веществ и витамина С в молоке.

Реактивы: 2 н. раствор гидроксида натрия; 0,001 н. раствор натриевой соли 2,6-дихлорфе-нолиндофенол; 2 % раствор соляной кислоты; сухая индикаторная смесь эриохрома черного Т; сухая индикаторная смесь мурексида; 0,1 н. раствор трилона Б; 0,1 н. раствор хлорида кальция; 0,1 н. раствор хлорида магния; аммиачно-аммонийная буферная смесь.

Посуда и приборы: колбы для титрования объемом 100...250мл; бюретки; пипетки; мерные цилиндры; стеклянные воронки; фильтровальная бумага; капельницы; аналитические весы.

Теоретическое обоснование

Минеральные вещества молока

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.

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 в 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 комплексометрический метод 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 и 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 следующее (мг%): ретинол (витамин А) – 0,03; тиамин (витамин B_1) – 0,04; рибофлавин (витамин B_2) – 0,05; ниацин (витамин РР) – 0,10; аскорбиновая кислота (витамин С) – 1,50.

Витамин С в молоке содержится главным образом в виде аскорбиновой кислоты (АК) (67...78 %) и небольшая часть – в виде дегидроаскорбиновой кислоты (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. Поэтому витамин С определяют в безбелковом фильтрате или разбавленном молоке.

Ход работы:

Задание 1. Определите массовую долю кальция

Задание 2. Определите массовую долю магния

Задание 3. Определите массовую долю витамина С

Определение массовой доли кальция

В коническую колбу вместимостью 250 мл внести 5 мл молока, 190 мл дистиллированной воды и 5 мл 2 н. раствора гидроксида натрия, 3,5 мл 0,1 н. раствора трилона Б, перемешать и оставить на 2 мин. Затем прибавить 0,04 г сухой смеси мурексида с хлоридом натрия (на кончике шпателя).

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:

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

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;

ρ – 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 магния (M_{Mg} , мг%) по формуле:

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

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

V_1 – объем 0,1 н. 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 0,1 н. раствора трилона Б, мг;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

Определение массовой доли витамина С

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 0,001 н. раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления устойчивого слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

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

$$C_c = \frac{V \cdot k \cdot V_1 \cdot 0,088 \cdot 100}{V_2 \cdot V_3 \cdot \rho},$$

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

V_1 – общий объем разведенного молока, 50 мл;

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

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

k – поправочный коэффициент к титру 0,001 н. раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята 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.

Оформление отчета о результатах работы

1. Цель работы.
2. Краткую информацию о минеральном и витаминном составе молока.
3. Методики определения кальция, магния и витамина С в молоке.
4. Данные, полученные в ходе исследований молока, представленные в виде таблицы (таблица 4).
5. Анализ полученных результатов и вывод.

Таблица 4. Результаты исследования молока

Данные	Массовая доля, мг%		
	Кальция	Магния	Витамина С
Экспериментальные			
Литературные			

Контрольные вопросы

1. Назовите основные минеральные вещества молока. Какова их роль в организме человека?
2. В каком количестве в молоке содержится кальций и магний?
3. Какие витамины молока Вы знаете? Какова их роль?
4. В каком виде находится в молоке витамин С?
5. На чем основан метод определения кальция и магния в молоке?
6. Дайте характеристику метода определения витамина С в молоке.

Рекомендуемая литература

1. *Гамаюрова В.С.* Пищевая химия: Лабораторный практикум. - СПб: ГИОРД, 2006. - 136 с.
2. *Нечаев А.П.* Пищевая химия. / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др. – СПб.: ГИОРД, 2001, 2007.-592 с.