

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ

ФГБОУ ВПО «БРЯНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

Кафедра кормления животных и частной зоотехнии

Г.Д. Артюкова, И.И.Артюков, Л.Н. Гамко

# БИОХИМИЯ МЯСА

учебно-методическое пособие к практическим занятиям  
для студентов по направлению  
260200.62 Продукты питания животного происхождения.  
Профиль «Технология производства мяса и мясопродуктов»

Брянск 2014

УДК 612.05  
ББК 36.92  
А 86

Артюкова, Г.Д. **Биохимия мяса:** Учебно-методическое пособие к практическим занятиям. / Г.Д. Артюкова, И.И. Артюков, Л.Н. Гамко. - Брянск.: Издательство Брянской ГСХА, 2014 - 52 с.

Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с типовой учебной программой по курсу дисциплины «Биохимия мяса». Предназначено для проведения практических занятий со студентами факультета ветеринарной медицины и биотехнологии по направлению 260200.62 Продукты питания животного происхождения. Профиль «Технология производства мяса и мясопродуктов»

Рецензент: профессор кафедры нормальной и патологической физиологии и морфологии животных Менькова А.А.

*Рекомендовано к изданию методической комиссией факультета ветеринарной медицины и биотехнологии Брянской государственной сельскохозяйственной академии, протокол № 7 от 25 апреля 2014 года.*

© Брянская ГСХА, 2014  
© Коллектив авторов 2014

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Занятие 1. Правила работы в лаборатории и техника безопасности	5
<b>Раздел 1. Белки и небелковые азотистые вещества</b>	6
Занятие 2. Общая характеристика белков. Выделение белков из мышечной ткани и изучение их свойств	6
Занятие 3. Определение концентрации триптофана в мясе	10
Занятие 4. Определение содержания оксипролина в мясе	11
Занятие 5. Расчет биологической ценности белков мяса	11
Занятие 6. Качественное определение креатина в водной вытяжке мышечной ткани	14
<b>Раздел 2. Витамины</b>	15
Занятие 7. Качественное определение витамина В <sub>1</sub> в мышечной ткани.	15
<b>Раздел 3. Минеральные вещества</b>	17
Занятие 8. Качественное определение железа в золе мышечной ткани	17
<b>Раздел 4. Ферменты.</b>	17
Занятие 9. Качественное определение фермента дегидразы в мышечной ткани	17
<b>Раздел 5. Липиды</b>	18
Занятие 10. Липиды. Общая характеристика липидов. Оценка состава и свойств животных жиров	18
Занятие 11. Определение массовой доли жира жиромером	20
Занятие 12. Определение температуры плавления животного жира	21
Занятие 13. Определение температуры отвердевания жира	22
Занятие 14. Химические способы распознавания порчи животного жира	23
Занятие 15. Определение йодного числа жира	24
Занятие 16. Определение перекисного числа животного жира. Качественная реакция на перекиси	26
Занятие 17. Определение кислотного числа жира	27
Занятие 18. Качественная реакция на наличие свободных жирных кислот	28
Занятие 19. Качественная реакция на наличие в жире низкомолекулярных кислот	30
Занятие 20. Ферментативный гидролиз жира	31
Занятие 21. Качественное определение каротина (провитамина А) в говяжьем жире	31
<b>Раздел 6. Биохимические изменения в мясе</b>	33
Занятие 22. Исследования свежести мяса	33
Занятие 23. Определение первичных продуктов разложения протеинов	35
Занятие 24. Определение накопления свободных аминокислот, низкомолекулярных аминосоединений, аммиака	36
Занятие 25. Определение активной кислотности мяса	41
Занятие 26. Определение водосвязывающей и жироудерживающей способности мяса	42
Занятие 27. Качественное определение молочной кислоты в мясе	46
Занятие 28. Характеристика технологических пороков мяса	48
Глоссарий	51
Список литературы	51

## ВВЕДЕНИЕ

Биохимия мяса является наукой, изучающей строение и структурные функции, химические особенности тканей сельскохозяйственных животных и птиц, а также механизмы, происходящие в них под действием различных факторов. Технологу на производстве знание биохимических основ мяса и мясных продуктов необходимы для оптимизации промышленного процесса и поддержания качества производимого продукта.

Мясная промышленность является одной из важнейших отраслей агропромышленного комплекса страны, обеспечивающего население основными продуктами питания. Недаром показатель потребления мяса и мясных изделий, содержащих полноценные белки животного происхождения, общепризнан в мире как один из основных критериев благосостояния народа.

Поскольку мясо с точки зрения термодинамики представляет биологическую систему, то учащимся необходимо знать химические процессы, протекающие в нем. Причем в отличие от процессов, протекающих в мышечной ткани, в мясе химические реакции неупорядочены. Каталитическая активность ферментов понижается вследствие их разрушения и поэтому в мясе преобладают процессы неферментативные, участие в которых принимает кислород и его активные формы. Эти реакции сопровождаются образованием свободных радикалов, которые способны модифицировать белки, окислять липиды.

Знание практических основ формирования и определение свойств мяса, характеристики мясных туш убойных животных и современные автоматизированные методы контроля качества животноводческого сырья позволят специалисту выбирать нужное сырье для производства. Понятия о биохимических процессах и основных показателях пищевой ценности мяса, а также о функционально-технологических свойствах различных качественных групп туш (NOR, PSE, DFD), особенностях автолиза и происходящих изменениях при холодильной, тепловой обработке, посоле позволят управлять изменениями, протекающими в мясном сырье.

Поэтому знание биохимических процессов, которые протекают в мясе, помогает технолог получить высококачественное сырье для последующего производства разнообразных мясных продуктов.

## **Занятие 1. Правила работы в лаборатории и техника безопасности**

**Цель занятия:** изучить правила работы и технику безопасности в лаборатории.

**Методические указания.** Все студенты допускаются к работе в лаборатории только после ознакомления с правилами техники безопасности и пожарной безопасности, знание которых проверяет преподаватель, что фиксируется в специальном журнале.

При выполнении работ студенту нужно соблюдать осторожность, быть внимательным.

В лаборатории запрещается работать без халата, пить из химической посуды, пробовать реактивы на вкус, брать их руками.

Студент должен знать основные свойства реактивов, степень их вредности и способность к образованию взрывоопасных и огнеопасных смесей с другими веществами.

### **Правила безопасности в лаборатории:**

- не включать электроприборы без разрешения преподавателя;
- не открывать на рабочем месте растворы с вредными летучими веществами;
- в случае воспламенения горючих жидкостей быстро погасить горелки, выключить электроприборы и принять меры к тушению пожара;
- использование в лаборатории стеклянной посуды требует осторожного обращения;
- при работе со стеклом следует избегать сильного нажима;
- при перемешивании стеклянной палочкой избегать ударов по стенкам посуды;
- химическая посуда не выдерживает резкого нагревания или охлаждения, поэтому в нее нельзя наливать горячую жидкость без предварительного споласкивания стенок и дна сосуда.
- следует поддерживать чистоту рабочего стола, который должен быть свободен от посторонних предметов;
- необходимо контролировать свободу пространства вблизи рабочего стола для обеспечения беспрепятственного перемещения.

### **Правила работы с кислотами и щелочами.**

При использовании в работе концентрированных кислот или щелочей следует помнить, что, попадая на кожу человека, они вызывают химические ожоги.

Емкость с серной кислотой и концентрированным раствором щелочи следует держать закрытой и в защищенных футлярах.

При разбавлении кислот, имеющих больший удельный вес, чем вода, надо приливать кислоту к воде по стеклянной палочке, при отмеривании использовать автоматы-дозаторы, резиновые груши.

Растворение твердых щелочей (NaOH, KOH) и разбавление водой кислот сопровождается выделением большого количества тепла, поэтому эту операцию следует проводить только в фарфоровой посуде.

Разлитые кислоты и щелочи необходимо немедленно нейтрализовать, а затем тщательно смыть водой.

Для нейтрализации щелочи применяется раствор борной или уксусной кислоты 8%-ной концентрации, для нейтрализации кислот используется 5%-ный раствор пищевой соды.

Нельзя выливать в канализационную сеть отработанную серную кислоту, хромовую смесь и растворы, содержащие соли ртути.

Для оказания первой медицинской помощи в помещении, где проводятся лабораторные занятия, должна находиться аптечка.

Попавшую на кожу кислоту надо немедленно смыть большим количеством воды, а затем промыть слабым (2%-ным) раствором двууглекислой соды. При попадании на руки щелочи ее необходимо смыть большим количеством воды, а затем промыть слабым раствором уксусной кислоты.

В случае отравления щелочью пострадавшему дают пить 3% раствор молочной кислоты, молоко, воду, подкисленную уксусом, а при отравлении кислотой - раствор пищевой

сода, воду со льдом, воду с мукой.

При попадании кислоты или щелочи в глаз его немедленно промывают большим количеством воды в течение 15-30 мин, затем в случае попадания кислоты- 2-3 %- ным раствором питьевой соды, а в случае попадания щелочи – 2-3 % - ным раствором борной кислоты.

При термических ожогах (огнем, паром, горячими предметами) обожженное место вначале смачивают 3-5%- ным раствором перманганата калия, затем смазывают вазелином.

В случае воспламенения горючих жидкостей или других веществ быстро выключаются электронагревательные приборы и газовые горелки, переносят сосуды с огнеопасными жидкостями в безопасное место и принимают меры к тушению пожара.

Горящие жидкости накрывают асбестовым одеялом, а затем, если необходимо, засыпают песком. В других случаях (за исключением воспламенения щелочных металлов) используют огнетушитель.

Если загорится одежда, то пламя гасят с использованием одеяла, войлока или пальто.

Если загорятся электропровода, обесточивают линию, выключив рубильник, и принимают меры к тушению пожара при помощи песка, воды, асбестового одеяла, огнетушителя.

**Задание 1.** Изучить правила техники безопасности и получить допуск к работе в лаборатории.

## Раздел 1. Белки и небелковые азотистые вещества

### Занятие 2. Общая характеристика белков.

#### Выделение белков из мышечной ткани и изучение их свойств

**Цель занятия:** изучить химический состав мяса, фракционный состав белков мяса. Фракционирование белков из мышечной ткани и изучение их свойств.

**Методические указания.** *Белки* — высокомолекулярные соединения, состоящие из  $\alpha$ - L -аминокислот. Молекулярная масса белков составляет от  $1 \cdot 10^3$  до  $1 \cdot 10^6$ . Молекулы аминокислот в процессе синтеза белка соединяются пептидной связью, образуя полипептидные цепи различной длины. Белки имеют 4 уровня структурной организации: первичная, вторичная, третичная и отдельные белки — четвертичная. Первичная структура определяет свойства белков, которые проявляются в процессе формирования третичной или четвертичной структуры.

*Функции*, выполняемые белками, распределяются следующим образом: *структурообразующие* (например, коллаген отвечает за поддержание формы и стабильности клеток тканей); *транспортные* (белки крови — гемоглобин и альбумины), *защитные* (иммуноглобулин С); *регуляторные* (гормоны белковой природы); *каталитические* (белки-ферменты); *двигательные* (белки мышечной ткани — актин и миозин).

*Отличительной особенностью* всех белков по сравнению с жирами и углеводами является входящий в их состав азот, содержание которого составляет 15 — 18%. По количеству азота определяют содержание белков в мышечной ткани путем пересчета по формуле:  $B \% = N \% \cdot 6,25$ . Коэффициент пересчета принимают, исходя из среднего количества азота 16 %, равным  $100\% / 16\% = 6,25$ . Свойства белков зависят от природы аминокислот, их числа и порядка чередования в полипептидной цепи.

Все природные белки при нагревании их до температуры выше  $50^{\circ}\text{C}$  денатурируют. При денатурации нарушаются третичная и вторичная структуры, что приводит к потере биологических свойств белков. Денатурация белков происходит при тепловой обработке мясопродуктов, что облегчает процесс их усвоения. Белки являются высокомолекулярными соединениями, Их молекулярная масса колеблется примерно от 10 000 до многих сотен тысяч. Элементный состав их следующий (в %): углерод 50,6...54,5; водород 6,5...7,3; азот 15...18,3; кислород 21,5...25,4; сера 0,3...2,5.

Азот — обязательная и характерная составная часть белков (этим они отличаются от

углеводов и жиров). Сера встречается в большинстве их, фосфор — только в некоторых. По азоту определяют содержание белков в тканях путем пересчета полученного результата ( %), умножая его на коэффициент 6,25. Этот коэффициент принимают, исходя из содержания в белках в среднем 16% азота ( $100: 16 = 6,25$ ). Но в тех случаях, когда оно существенно отличается от этой средней величины (например, в коллагене содержание азота составляет 17,8 %), коэффициент пересчета равен 5,62.

Мономерными единицами, из которых построены белки, являются 20 L-аминокислот. Молекулы аминокислот, как и молекулы других соединений, способных к полимеризации, содержат две разные химические группы, способные образовывать ковалентные связи.

В главной цепи существует две концевые группы:  $-\text{NH}_2$  (N-концевая) и  $-\text{COOH}$  (C-концевая). При взаимодействии  $-\text{NH}_2$ - и  $-\text{COOH}$ -групп образуется пептидная (амидная) связь:

При изучении структуры белков или их изменений обычно определяют число N-концевых групп.

Полимеризация аминокислот за счет образования пептидных связей приводит к построению длинных полипептидных цепей из аминокислот.

Концевые группы боковых цепей принято называть функциональными. Они различны и определяются строением аминокислотного остатка, образующего боковую цепь, и могут быть  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_3$ . Их природа и число влияют на свойства белков и обуславливают характер связей между полипептидными цепочками. Эти группы, исключая  $-\text{CH}_3$ , обладают полярными свойствами.

Связь между смежными полипептидными цепями, так же как и при свертывании одной полипептидной цепи, может быть осуществлена за счет свободных гидроксильных ( $-\text{OH}$ ), сульфгидрильных ( $-\text{SH}$ ), карбоксильных ( $-\text{COOH}$ ) и отчасти аминных групп ( $-\text{NH}_2$ ). Эфирная связь образуется в результате реакции гидроксильной группы, дисульфидная ( $-\text{S}-\text{S}-$ )—двух сульфгидрильных групп. Водородная связь возникает между  $-\text{NH}$  - и  $-\text{CO}$  - группами белков.

В структуре белка выделяют четыре уровня организации. Цепочка аминокислот, соединенных в определенной последовательности, образует первичную структуру белка. Спиралевидно свернутая полипептидная цепь, закрепленная в основном водородными связями, представляет собой вторичную структуру. Пространственное расположение спирали молекулы называется третичной структурой белка. В больших белковых молекулах — макромолекулах — имеется не одна, а несколько полипептидных цепей — субъединиц, которые образуют четвертичную структуру белков.

По характеру свертывания полипептидных цепей и их «упаковки» в макромолекулу белка их условно подразделяют на глобулярные (имеющие сферическую и эллипсоидную форму) и фибриллярные (нитевидные, волокнистые). Примерное отношение длины к ширине молекул белков различной формы следующее: шар I: 1 (глобулин), эллипсоид 3: 1 (фибриноген), нить 200: 1 (коллаген).

Глобулярные белки в основном растворимы в воде и слабых растворах солей; это альбумины яичного белка, сыворотки крови. Фибриллярные белки нерастворимы в воде; это белки мышц (миозин, актин, актомиозин), белок волоса, рогов и копыт (кератин), белки соединительной ткани, кожи и сухожилий (коллаген и эластин).

К фибриллярным белкам относятся коллаген, желатин, кератин, миозин; к глобулярным — альбумины, глобулины, миоген. В настоящее время установлена возможность превращения фибриллярных белков в глобулярные и наоборот. Подобные превращения могут быть обратимыми, например актин может находиться и в глобулярной, и в фибриллярной форме. Содержание белка в мясных продуктах колеблется от 11 до 22 %. Более 40 % массы тела животного приходится на долю мышечной ткани, состоящей из поперечнополосатой скелетной и гладкой мускулатуры. Важнейшей составной частью мышечной ткани являются белки, которые подразделяются на саркоплазматические, миофибриллярные и белки стромы

(склеропротеины). На долю белков саркоплазмы приходится около 10 % всех белков мышцы. Основную массу саркоплазматических белков составляют миоглобин, миоген и глобулин X.

Водорастворимый хромопротеид миоглобин имеет в качестве простатической группы гем - циклический тетрапиррол, присутствием которого объясняется красный цвет этого белка. Биологическая функция миоглобина заключается в транспортировании и запасании кислорода в мышечной ткани. В условиях кислородного голодания (например, при физической нагрузке) кислород высвобождается из комплекса с миоглобином и поступает в митохондрии мышечных клеток, где осуществляется синтез АТФ. Окраска мясопродуктов зависит от содержания миоглобина, состояния гемма и белковой части макромолекулы. Окисление  $Fe^{2+}$  в миоглобине до  $Fe^{3+}$  приводит к изменению окраски пигмента от ярко-красного до темно-коричневого, т.к. образующийся метмиоглобин теряет способность связывать молекулярный кислород. Тепловая денатурация глобина также приводит к потере способности гемового пигмента связывать кислород и ухудшает цвет продукта.

Миоген входит в состав ферментов гликолиза (альдолазу), а глобулин X играет важную роль в качестве поставщика различных аминокислот в синтезе белка. К числу саркоплазматических белков также относятся мио - альбумины и нуклеопротепроиды, входящие в состав рибосом и ядер.

В группу миофибриллярных белков входят миозин, актин и тропо - миозин. Это главные белки мышечной ткани, биологическая функция которых заключается в обеспечении механизма мышечного сокращения и расслабления при участии АТФ. Миозин по массе составляет 55 % мышечного белка, на долю актина приходится 25 % общей массы мышечного белка.

Белки стромы или опорные белки (склеропротеины) составляют около 10 % всех белков мышцы. Группа этих белков представлена в основном белками соединительной ткани - коллагеном и эластином. Мясо, содержащее много соединительной ткани, остается жестким и после тепловой обработки; усвояемость коллагена и эластина в нем очень низкая.

**Задание 2.** Изучить теоретические положения и заполнить таблицу 1.

Таблица 1 - Фракционный состав белков мышечной ткани

Фракции белков	Среднее содержание, %	К какой группе относится по строению или растворимости	Биологические функции
Всего белков			

**Задание 3.** Провести фракционирование белков мышечной ткани и изучить их свойства.

**Методические указания.** Выделение и разделение белков мяса основано на их избирательной растворимости в различных растворителях: воде (альбумины), водно-солевых растворах (глобулины). В остатке мышечной ткани после экстракции водными и соевыми растворами остаются нерастворимые склеропротеины.

С выделенными фракциями белков последовательно проводится ряд специфических, качественных реакций, основанных на их свойствах - биуретовая реакция, высаливание из растворов с помощью насыщенных растворов солей, осаждение раствором трихлоруксусной кислоты.

Биуретовая реакция является специфической качественной реакцией на белок, т.к. её дают полипептидные связи. Она получила свое название от производной мочевины - биурета, который образует в щелочном растворе медного купороса окрашенное комплексное соединение. Биуретовую реакцию дают все белки, пептоны и полипептиды, начиная с тетрапептидов, независимо от характера аминокислот и природы их связи между собой в молекуле белка. Интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию пептидных связей, следовательно, и концентрации белка в растворе.

Высаливанием, называется осаждение белков из растворов солями. Принцип высаливания заключается в следующем. Молекула белка удерживается в растворе вследствие действия на нее стабилизирующих факторов: электрического заряда и водной оболочки (гидросферы), соли щелочных и щелочноземельных металлов несут заряд, противоположный заряду белковой мицеллы, и обладают большей гидрофильностью, чем белок. Поэтому при добавлении соответствующего количества солей в раствор белка белковые молекулы теряют заряд и водную оболочку. При этом дегидратированные белковые мицеллы выпадают в осадок.

**Приборы и реактивы:** 10%-й раствор гидроксида натрия, 1%-й раствор сульфата меди, сульфат аммония кристаллический, 6%-й раствор трихлоруксусной кислоты, насыщенный раствор хлорида натрия, 1 М раствор хлорида натрия, колбы конические на 100 мл, цилиндры мерные на 50 мл и на 25 мл, стаканы химические на 100 мл, воронки, пробирки; б)плитка электрическая, весы лабораторные.

Проведение анализа. Свежую мышцу освобождают от жира и тщательно измельчают на часовом стекле ножницами, после чего отвешивают навеску массой 10 г в химический стакан.

Для выделения альбуминовой фракции (белки саркоплазмы) измельченную мышцу залить 30 мл дистиллированной воды и экстрагировать белки, периодически взбалтывая в течение 20 мин. Вытяжку отделить фильтрованием через три слоя марли в коническую колбу, а оставшуюся мышечную кашицу сохранить для последующей солевой экстракции. Отметить в таблице 2 белки саркоплазмы, перешедшие в водный экстракт. Провести с ними следующие качественные реакции.

В три пробирки налить по 2 мл полученного экстракта. В первой пробирке провести биуретовую реакцию.

Для проведения биуретовой реакции в пробирку с экстрактом белка добавить 3 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия. Затем по каплям прилить 1%-ный раствор сульфата меди, встряхивая смесь после каждой капли. Раствор окрашивается сначала в розовый, затем в фиолетовый цвет. Следует избегать избытка сульфата меди, т. к. в этом случае фиолетовая окраска маскируется синей.

Во вторую пробирку добавить сульфат аммония до насыщения (около г), при этом выпадает осадок альбуминов. В третью пробирку прибавить несколько капель раствора трихлоруксусной кислоты. Пробирку встряхнуть и наблюдать осаждение белка.

Для выделения глобулиновой фракции остаток мышечной кашицы после экстракции водой поместить в стакан, залить 20 мл 1 М раствором хлорида натрия и экстрагировать при встряхивании в течение 30 мин. Солевой экстракт отфильтровать через три слоя марли в коническую колбу. Отметить в таблице 2 миофибрилярные белки, перешедшие в солевой раствор. Провести с ними следующие реакции.

В три пробирки налить по 2 мл полученного солевого экстракта. В первой пробирке установить наличие белка с помощью биуретовой реакции. Во вторую, пробирку добавить 2 мл насыщенного раствора хлорида натрия и наблюдать выпадение осадка белков. К экстракту в третьей пробирке добавить дистиллированную воду до появления осадка нерастворимых в воде глобулинов.

В остатке мышечной ткани после экстракции водными и солевыми растворами содержатся склеропротеины. Этот остаток поместить в коническую колбу, залить 30 мл воды и кипятить в течение 20 мин, сохраняя объем жидкости в колбе периодическим добавлением горячей воды. При кипячении коллаген, подвергаясь неглубокому гидролизу, превращается в растворимый в воде желатин. Горячий раствор отфильтровывают в пробирку и в фильтрате определяют желатин с помощью биуретовой реакции. На фильтре остаются тонкие волокна и пленки эластина.

Результаты исследований следует представить в таблице 2.

Таблица 2 - Фракционирование белков мышечной ткани

Фракционирование	Водная экстракция	Солевая экстракция	Кипячение
Выделенные фракции белков			
Проведенные реакции и их результаты			

*Контрольные вопросы*

1. Содержание и фракционный состав белков мяса.
2. Биологическая ценность белков мяса.
3. Биологические функции белков мяса.
4. Какие качественные реакции на белки вы знаете.
5. Что такое высаливание белков.
6. Как классифицируются белки.
7. Что такое денатурация белка, и какие, факторы её вызывают,

**Занятие 3 Определение концентрации триптофана в мясе**

**Цель занятия.** Изучить методику определения концентрации триптофана в мясе.

**Приборы и реактивы:** химические колбы, ФЭК, термостат, аналитические весы, бидистиллированная вода, сернокислого раствора диметил-аминобензальдегида, 23,8-н. раствор  $H_2SO_4$ , триптофан.

**Проведение анализа.** Для определения содержания триптофана, берут навеску обезжиренного и воздушносухого мяса массой 8 мг, помещают в колбочку и добавляют 1 мл бидистиллированной воды, 1 мл сернокислого раствора диметил-аминобензальдегида и 8 мл 23,8-нормальный раствор  $H_2SO_4$ . Смесь взбалтывают и помещают в термостат при температуре  $25^{\circ}C$  на 12—15 часов. Затем добавляют 0,1 мл 0,045-процентного раствора нитрита натрия и через 30 минут пробу колориметрируют в кювете с рабочей длиной 10 мм на ФЭК-М при красном светофильтре против раствора, содержащего все реактивы, кроме диметиламинобензальдегида,

Калибровочную кривую строят по триптофану, высушенному при  $80^{\circ}C$  до постоянной массы. Для этого взвешивают 60 мг триптофана, и переносит в мерную колбу на 100 мл, в которую добавляют до метки бидистиллированную воду. В 1 мл этого раствора содержится 120 мкг триптофана. Затем из этого раствора путем разведения готовят растворы с содержанием в 1 мл 80, 60, 45 и 30 мкг триптофана. Из этих растворов берут по 1 мл и проводят все те же операции, которым подвергают пробы мяса.

Содержание триптофана рассчитывают по формуле:

$$X = a \times 100 / б, \text{ где}$$

X — содержание триптофана, %;

a — содержание триптофана в мясе, найденное по калибровочному графику, мг;

б — навеска мяса, мг.

**Задание 4.** Определить содержание триптофана в образце мяса.

*Контрольные вопросы*

1. Охарактеризовать принцип определения концентрации триптофана.
2. Сущность построения калибровочной кривой.

#### Занятие 4. Определение содержания оксипролина в мясе

**Цель занятия.** Изучить методику определения содержания оксипролина в мясе.

**Приборы и реактивы:** химические колбы, ФЭК, плитка электрическая, аналитические весы, дистиллированная вода, водяная баня, соляная кислота, двухлористое олово, едкий натр, медный купорос, перекис водорода, серная кислота, чистый оксипролин.

**Проведение анализа** Определение содержания оксипролина в мясе. Навеску мяса массой 4—5 г помещают в колбу со шлифом емкостью 100 мл, добавляют 7 мл воды, 10 мл 12-нормальной HCl и 0,7 г двухлористого олова. Затем колбу закрывают воздушным холодильником со шлифом и кипятят на слабом огне в течение 7 часов. После охлаждения содержимое нейтрализуют 6 н. раствором едкого натра до появления исчезающей мути, а затем насыщенным раствором углекислой соды доводят рН до 8,0. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и оставляют на 1—2 часа, затем осадок фильтруют. Из прозрачного гидролизата светло-желтого цвета отбирают в пробирку 1 мл и прибавляют 1 мл 0,01-нормального раствора медного купороса, 1 мл 2,5-нормального раствора едкого натра и 1 мл 6% -ного раствора перекиси водорода, а в контрольную пробирку 1 мл воды. Полученную в пробирке смесь стряхивают в течение 5 минут. Затем пробирки помещают на 5 водяную баню при температуре 80<sup>0</sup>С, 2-3 раза встряхивая их, охлаждают в водяной бане со льдом.

В охлажденные пробирки добавляют 4 мл – 3-н. раствора серной кислоты, затем при перемешивании 2 мл раствора пара – диметиламинобензальдегида. Пробирки помещают в водяную баню при температуре 70<sup>0</sup>С на 15 минут, затем охлаждают и проводят измерения интенсивности розовой окраски в отношении контроля на ФЭКе с зеленым светофильтром и кюветой с рабочей длиной 10 мм. Содержание оксипролина рассчитывают по формуле:

$$X = C \times 100 \times 100 / p \times e,$$

где X – содержание оксипролина, %;

C – концентрация оксипролина в 10 мл окрашенного раствора после нейтрализации;

100 – множитель перевода в %;

p – количество раствора, взятого для цветной реакции, мл;

e – навеска мяса, г.

**Задание 5.** Определить содержание оксипролина в образце мяса.

*Контрольные вопросы*

1. Сущность определения концентрации оксипролина.
2. Изложите формулу расчета оксипролина.

#### Занятие 5. Расчет биологической ценности белков мяса

**Цель занятия.** Ознакомление с методиками расчета биологической ценности белков мяса, сравнение их с другими белками.

**Методические указания.** Белки в питании человека занимают особое место. Они выполняют ряд специфических функций, свойственных только живой материи. Белковые вещества наделяют организм пластическими свойствами, заключающимися в построении структур, субклеточных включений и обеспечивают обмен между организмом и окружающей внешней средой. Белки координируют и регулируют все то многообразие химических превращений в организме, которое обеспечивает функционирование его как единого целого. Рекомендуется следующая норма потребления белка.

Таблица 3 - Рекомендуемая норма потребления белков

Дети до 12 лет		Дети старше 12 лет		Взрослые	
1-3	40г	Девочки 13-15	80г	Мужчины	70г
4-6	50г	Девушки 16-20	75г	Женщины	60г
7-9	60г	Мальчики 13-15	85г	Беременные	85г
10-12	70г	Юноши 16-20	100г	Кормящие матери	100г

Однако при составлении рациона питания следует учитывать не только количество белка (в граммах на день), но и его биологическую полноценность, то есть присутствие всех незаменимых аминокислот в сбалансированной форме.

Состояние белкового обмена в большей степени зависит присутствия незаменимых аминокислот (валин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, метионин, фенилаланин, триптофан, а так же аргинин и гистидин). Клетки организма человека не могут синтезировать необходимые белки, если в составе пищи отсутствует, хотя бы одна незаменимая кислота. Отсутствие в пище хотя бы одной незаменимой кислоты приводит к неполному усвоению других. Значение лимитирующей аминокислоты определяет биологическую ценность и степень усвоения белков. Биологическая ценность - показатель качества пищевого белка, отражающий степень соответствия его аминокислотного состава потребностям организма в аминокислотах для синтеза белка.

Расчет биологической ценности белков. Для определения биологической ценности белков используется метод, основанный на расчете аминокислотного (химического) Скор, который позволяет выявить лимитирующие незаменимые аминокислоты. Он сводится к вычислению процентного содержания каждой из незаменимых аминокислот в исследуемом белке по отношению к ее содержанию в «идеальном» белке. В качестве последнего Объединенный экспертный комитет ФАО/ВОЗ рекомендует белок куриного яйца для взрослых и белок женского молока - для детей. — Скор аминокислоты (АК) вычисляют по формуле:

$$\text{Скор АК, \%} = \frac{\text{Масса АК мг, в 1 г исследуемого белка}}{\text{Масса АК мг, в 1 г «идеального белка»}} \times 100$$

Лимитирующей (дефицитной) считают аминокислоту, скор которой меньше 100. Аминокислота скор, которой имеет самое низкое значение, называют лимитирующей аминокислотой. Значение сора этой аминокислоты определяет биологическую ценность и степень усвоения белков.

Другой метод определения биологической ценности белков заключается в определении индекса незаменимых аминокислот. Индекс рассчитывают по формуле:

$$\text{ИНАК} = \sqrt[n]{\text{ЛИЗ}_6 / \text{ЛИЗ}_3}$$

где n- число аминокислот;

индексы б, э- содержание аминокислоты в изучаемом и эталонном белке, соответственно.

Белки отличаются друг от друга количеством и качеством входящих в их состав ами-

нокислот. В зависимости от состава аминокислот белки подразделяют на полноценные и неполноценные. Большинство аминокислот, из которого образованы белки нашего организма и которые необходимы для построения этих веществ могут синтезироваться самим организмом. Поскольку организм взрослого человека не может синтезировать 8 из 20 аминокислот, составляющих белки, они должны поступать с пищей. Такие аминокислоты относят к незаменимым. К ним относят: валин, лизин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, треонин, фенилаланин. Для растущего детского организма незаменимой аминокислотой является также гистидин.

Белковые вещества, не содержащие хотя бы одну аминокислоту или содержащие ее в незначительном количестве, относятся к числу неполноценных.

Биологическая ценность белка определяется не только наличием аминокислот в его составе, но и их количественным соотношением.

Белково-качественный показатель (БКП) характеризуется соотношением представителя незаменимых аминокислот триптофана к представителю заменимых аминокислот оксипролину. Чем выше это соотношение, тем выше белковая ценность мяса. Свиное мясо содержит меньшее количество соединительнотканых белков и как следствие меньшее количество коллагеновых, эластиновых и ретикулиновых (неполноценных) волокон.

ВНИИМПом разработаны оптимальные показатели пищевой ценности мяса по БКП, которые равняются по говядине 5-7 : 1 и по свинине 7,2 : 1.

#### Задание 6. Определить белково-качественный показатель мяса.

Таблица 4 - Качество мяса бычков, получавших разную дозу порошкообразного витамина А

Показатели	Группа			
	Первая (контроль)	вторая 31 ИЕ	Третья 64 ИЕ	четвертая 90 ИЕ
<i>Химический состав средней пробы мяса, %</i>				
Влага	66,54	65,63	64,73	66,02
Жир	12,97	12,82	11,73	8,58
Белок	19,72	20,55	21,29	21,22
<i>Длиннейшая мышца спины</i>				
Триптофан, %	1,48	1,45	1,48	1,43
Оксипролин. %	0,319	0,268	0,279	0,262
БКП				

**Задание 6.** Пользуясь табличным материалом по указанным формулам рассчитать СКОР АК и ИНАК.

Таблица 5- Содержание незаменимых аминокислот в белке

Аминокислота	Содержание аминокислот в 1 г, мг			
	Идеальный белок	Казеин	Говядина	Соя
Изолейцин	40	61	43	52
Лейцин	70	92	75	77
Лизин	55	82	81	60
Метионин	35	28	27	15
Цистеин	35	34	14	16
Фенилаланин	60	50	42	46
Гирозин	60	63	37	30
Треонин	40	49	41	40
Триптофан	10	17	13	12
Валин	50	72	53	60

**Задание 7.** Расчетные данные занести в таблицу:

Таблица 6 - Скор и индекс незаменимых аминокислот

Аминокислота	Казеин		Говядина		Соя	
	Скор	ИНАК	Скор	ИНАК	Скор	ИНАК
Изолейцин						
Лейцин						
Лизин						
Метионин						
Цистеин						
Фенилаланин						
Тирозин						
Треонин						
Триптофан						
Валин						
Лимитирующая аминокислота						

**Задание 8.** Проанализировать данные таблиц 5 и 6, сделать выводы о биологической ценности изучаемых белков.

*Контрольные вопросы*

1. Назовите незаменимые аминокислоты.
2. Почему белки мяса считаются полноценными с биологической точки зрения.
3. Сравните усвояемость белков животного и растительного происхождения.
4. Каким образом значение Скор лимитирующей аминокислоты определяет биологическую ценность и усвояемость белка.

**Занятие 6. Качественное определение креатина в водной вытяжке мышечной ткани**

**Цель занятия:** Ознакомление с методикой качественного определения креатинина, как производного креатина в мышечной ткани.

**Методические указания.** В мышечной ткани содержится значительное количество экстрактивных веществ, однако методы открытия большинства из них сложны. Сравнительно простым является метод обнаружения креатина.

В мышечной ткани содержится 0,2—0,3% креатина и 0,003% креатинина. Метод открытия креатина основан на превращении последнего в креатинин, что происходит при нагревании с кислотами:

Креатинин открывается по реакции с пикриновой кислотой  $[C_6H_2(NO_2)_3OH]$  в присутствии щелочи; при этом образуется оранжево-красная окраска.

**Приборы и реактивы.** Пробирки 20 мл, фильтр, воронка, пипетки 10 мл, соляная кислота, пикриновая кислота насыщенный раствор, едкий натр 10%, лакмус, водная вытяжка из мяса.

**Ход работы.** В пробирку помещают 10 мл водной вытяжки из мяса, добавляют 5 мл соляной кислоты и нагревают в течение 1 часа в кипящей водяной бане. Жидкость отфильтровывают и 5 мл фильтрата осторожно нейтрализуют раствором едкого натра по лакмусу. Затем

прибавляют 2—3 мл насыщенного раствора пикриновой кислоты и столько же 10%-ного едкого натра. Появление оранжево-красной окраски указывает на наличие креатинина. Реакция зависит отчасти от присутствия в мышечной ткани креатинина, но главным образом от креатина, превратившегося в креатинин при нагревании с соляной кислотой.

На основе наблюдения появления характерной окраски, сделать вывод о присутствии креатинина в исследуемом материале.

**Задание 9.** Определить содержание креатина в водной вытяжке мяса.

*Контрольные вопросы*

1. Роль экстрактивных веществ в формировании специфического вкуса и аромата мяса.
2. Участие креатина в ресинтезе АТФ.

## Раздел 2. Витамины

### Занятие 7. Качественное определение витамина В<sub>1</sub> в мышечной ткани

**Цель занятия.** Изучение флуорометрического метода качественного определения содержания витамина В<sub>1</sub> в мышечной ткани.

**Методические указания:** В настоящее время установлено, что многие витамины входят в состав ферментов в качестве простатической группы. Недостаток или отсутствие в организме некоторых витаминов приводит к невозможности образования соответствующих ферментов. Это в конечном итоге приводит к нарушению обмена веществ и возникновению заболеваний на почве витаминной недостаточности.

Витамин В<sub>1</sub> играет большую роль в обмене веществ. Его биологическое значение заключается в том, что он, присоединяя два остатка фосфорной кислоты, превращается в активную группу фермента, катализирующего реакцию декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Пировиноградная кислота является промежуточным продуктом окисления углеводов, жиров и отчасти белков. Биохимическим показателем недостатка тиамин служит повышенное содержание пировиноградной кислоты в организме. В природе биосинтез тиамин осуществляется высшими растениями и многими микроорганизмами, в том числе населяющими желудочно-кишечный тракт жвачных. Животный организм не способен к синтезу тиамин; испытывая в нем постоянную потребность, он должен получать его вместе с пищей. Мясо животных является ценным источником поступления в организм человека витамина В<sub>1</sub>. Особенно богата витамином В<sub>1</sub> мышечная ткань свиней. Она содержит до 2,0 мг% тиамин. Для сравнения, хлеб из цельной пшеницы, считающийся ценным источником тиамин, содержит 0,3 мг% витамина В<sub>1</sub>.

Наибольшее распространение получили флуорометрические методы определения тиамин.

**Сущность метода.** Флуорометрический анализ основан на том, что некоторые вещества обладают свойством флуоресцировать под влиянием ультрафиолетовых лучей (флуоресценция - свечение, которое испускает холодное, не раскаленное тело при освещении его невидимым ультрафиолетовым светом).

В основу флуорометрических методов определения тиамин положена его способность в щелочной среде окисляться красной кровяной солью в тиохром — вещество, обладающее в ультрафиолетовом свете сине-голубой флуоресценцией.

Интенсивность флуоресценции тиохрома пропорциональна концентрации тиамин, из которого он был получен.

Способность тиохрома флуоресцировать под действием ультрафиолетового света дает возможность открыть его качественно и установить количество. Способность тиохрома легко растворяться в изобутиловом, бутиловом и изоамиловом спиртах позволяет отделить его от других примесей, мешающих его определению. В мышечной ткани всегда содержатся флу-

оресцирующие примеси и пигменты, которые маскируют флуоресценцию тиохрома.

В тканях тиамин встречается в связанной (фосфорилированной) форме и в свободном состоянии. Определение свободного тиамина проще, так как не требуется длительное (12—15 часовое) выдерживание исследуемой пробы в термостате для расщепления связанной формы тиамина ферментом фосфатазой. Поэтому приводится метод определения не общего, а свободного витамина В<sub>1</sub>.

**Приборы и реактивы:** мясорубка, ступка, пестик, колба 100 мл, фильтр, флуороскоп, водяная баня, цилиндр с притертой пробкой, соляная кислота 0,25 N, кварцевый песок, раствор соды 20%, индикаторы: бромфеноловый синий, бромкрезоловый пурпурный, трихлоруксусная кислота 20%-ный раствор, спирт изобутиловый, красная кровяная соль 2% раствор, едкий натр 30%-ный раствор, свиное мясо.

**Проведение анализа.** Свиное мясо отделяют от жира и измельчают при помощи мясорубки. 3 г свиного фарша растирают в ступке с кварцевым песком, приливают 10 мл 0,25N раствора соляной кислоты и тщательно перемешивают. Содержимое ступки переносят в колбочку, смывая ступку 5 мл той же кислоты, и переводят все это в ту же колбочку. Колбочку с содержимым нагревают в течение 15 минут на кипящей водяной бане с целью разрушения ферментов, лучшего извлечения витамина и частичного разрушения примесей, мешающих определению.

Еще теплое содержимое колбочки доводят до рН 5,2 20%-ным раствором соды (N<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), добавляя его по каплям; рН устанавливают по индикаторам — бромфеноловому синему и бромкрезоловому пурпурному. Большая часть белков мяса свертывается. После охлаждения содержимое колбочки доводят до 20 мл дистиллированной водой и центрифугируют или фильтруют через фильтр, предварительно отмытый горячей дистиллированной водой от флуоресцирующих веществ.

К 10—12 мл фильтрата прибавляют 2 мл 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты для осаждения остальной части белков и нагревают в водяной бане при 40—50° в течение 10 минут, после чего центрифугируют или фильтруют.

10—12 мл прозрачного фильтрата переносят в делительную воронку или цилиндр с притертой пробкой, прибавляют равный объем изобутилового спирта и встряхивают в течение 2 минут для извлечения примесей, мешающих флуорометрированию. После расслоения жидкостей верхний слой изобутанола отбрасывают, а тиамин, находящийся в нижнем водном слое, окисляют в тиохром добавлением 2 мл 30%-ного раствора едкого натра и 0,3—0,4 мл 2%-ного раствора красной кровяной соли K<sub>3</sub>[Fe(SCN)<sub>6</sub>]. После двухминутного встряхивания прибавляют 10 мл бутилового или изобутилового спирта для извлечения тиохрома, снова встряхивают в течение 3 минут и дают отстояться. В верхнем слое наблюдают флуоресценцию при помощи флуороскопа или простейшей установки, представляющей собой ящик с кварцевой лампой ПРК и черным никелевым фильтром.

**Задание 10.** Выполнить качественное определение витамина В<sub>1</sub> в мясе.

#### *Контрольные вопросы*

1. Сущность классификации витаминов.
2. Устойчивость водорастворимых витаминов при кулинарной и технологической обработке.
3. Содержание витаминов группы В в мясе и субпродуктах.

### Раздел 3. Минеральные вещества

#### Занятие 8. Качественное определение железа в золе мышечной ткани

**Цель занятия.** Изучение метода экстракции золы мышечной ткани для обнаружения минеральных веществ.

**Методические указания.** Минеральные вещества мышечной ткани входят в состав структурных элементов волокна и участвуют во многих процессах обмена между клетками и межклеточной жидкости, используются при образовании буферных систем. Минеральные вещества влияют также на состояние внутриклеточных белков мышечной ткани: от них зависит растворимость и набухание белков. В состав мышечной ткани входят К, Mg, N, Ca, P и другие. Наиболее просто эти вещества определяются в остатке после озоления. Однако при температуре озоления возможны потери хлора. Поэтому в том случае, когда определяют хлор, сжигание производят только до обугливания. Большинство минеральных веществ можно определять в золе.

**Сущность метода.** Метод основан на экстрагировании золы мышечной ткани соляной кислотой и обнаружении минеральных веществ фильтрата при помощи качественных реакций. Реакция на железо основана на образовании роданового железа, имеющего красную окраску.

**Проведение анализа.** Для определения железа небольшое количество (несколько грамм) измельченной мышечной ткани помещают в фарфоровый тигель и озоляют обычным образом. Зола смывают в стакан раствором 10%-ной соляной кислоты, тщательно перемешивают и после настаивания в течение 5—10 минут отфильтровывают через бумажный фильтр. В фильтрате содержатся почти все минеральные составные части мышечной ткани.

К 5 мл солянокислой вытяжки из золы добавляют 5%-ный раствор роданистого калия и наблюдают за появлением красной окраски.

**Задание 11.** Выполнить качественную реакцию определения железа в золе.

#### *Контрольные вопросы*

1. Концентрация минеральных веществ в структурах мышечной ткани.
2. Участие ионов  $K^+$ ,  $Mg^+$ ,  $Ca^+$  в процессах сокращения и расслабления миофибрилл.
3. Характер связывания неорганических ионов после убоя животного.

### Раздел 4. Ферменты

#### Занятие 9. Качественное определение фермента дегидразы в мышечной ткани

**Цель занятия.** При помощи реакции с метиленовой синью доказать наличие в мышечной ткани дегидразы янтарной кислоты.

**Методические указания.** Мышечная ткань осуществляет свои функции благодаря активному участию ферментных систем, специфически локализованных в структуре ткани. Ферментные системы обеспечивают получение большого количества энергии, необходимой для осуществления мышечной деятельности. Мышечные клетки характеризуются большой концентрацией ферментов гликолиза, а так же ферментов цикла трикарбоновых кислот и дыхательной цепи.

**Сущность метода.** Фермент дегидраза янтарной кислоты участвует в процессе клеточного дыхания. Он отнимает водород от янтарной кислоты, окисляя ее в фумаровую (дегидрирование — отнятие водорода). Доказать наличие в мышечной ткани дегидразы янтарной кислоты можно реакцией с метиленовой синью.

Метиленовая синь способна окисляться и восстанавливаться, при этом окисленная форма ее имеет синюю окраску, а восстановленная бесцветна. Метиленовая синь может слу-

жить промежуточным переносчиком водорода

**Приборы и реактивы** Водяная баня, пробирки для водяной бани, капельница, пипетки 1 мл, термометр, раствор янтарной кислоты 3%-ный, едкий натр 10%-ный, водный раствор метиленовой сини 0,02%-ный, мышечная кашица.

Проведение анализа. В две пробирки помещают по 3—4 г мышечной кашицы. В первую пробирку добавляют 0,5 мл 3%-ного раствора янтарной кислоты, нейтрализованной 10%-ным раствором едкого натра и доведенной до слабощелочной реакции по лакмусу. В обе пробирки добавляют по 2 капли 0,02%-ного водного раствора метиленовой сини, встряхивают и ставят в водяную баню при 37°. Через некоторое время в первой пробирке метиленовая синь обесцвечивается, во второй — сохраняет свою первоначальную окраску.

**Задание 12.** Выполнить качественную реакцию определения дегидразы в мышечной ткани.

*Контрольные вопросы*

3. Основные свойства ферментов.
2. Классификация ферментов.
3. Локализация ферментов в структурах мышечной ткани.

## Раздел 5. Липиды

### Занятие 10. Общая характеристика липидов. Оценка состава и свойств животных жиров

**Цель занятия:** Изучить состав жиров.

**Методические указания.** Жиры и липоиды (жироподобные соединения) входят в состав клеток животных тканей. Они встречаются в тканях не только в свободном виде, но и в виде липопротеидов, нестойких соединений с белками.

Общими свойствами жиров и липоидов является их нерастворимость в воде, и способность растворяться в органических растворителях, например, эфире, хлороформе, бензоле. По химической структуре жиры и липоиды представляют собой сложные эфиры. В группу липоидов входят стериды, фосфатиды, цереброзиды, воска.

Жиры представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта - глицерина и высокомолекулярных жирных кислот. При гидролизе жиры распадаются на глицерин и жирные кислоты.

В состав жиров входят жирные кислоты, содержащие четное число атомов углерода в цепи.

Таблица 7- Жирные кислоты, входящие в состав липидов

Название кислоты	Формула
Насыщенные кислоты	
Масляная	$C_3H_7COOH$
Капроновая	$C_5H_{11}COOH$
Каприловая	$C_7H_{15}COOH$
Каприновая	$C_9H_{19}COOH$
Лауриновая	$C_{11}H_{23}COOH$
Миристиновая	$C_{13}H_{27}COOH$
Пальмитиновая	$C_{15}H_{31}COOH$
Стеариновая	$C_{17}H_{35}COOH$
Арахидиновая	$C_{19}H_{39}COOH$
Ненасыщенные кислоты	
Олеиновая	$C_{17}H_{33}COOH$
Линолевая	$C_{17}H_{31}COOH$
Линоленовая	$C_{17}H_{29}COOH$
Арахидоноовая	$C_{19}H_{31}COOH$

Различные жиры отличаются входящими в их состав жирными кислотами. Чем разнообразнее состав жирных кислот, входящих в состав жира, тем больше возможно вариантов образования триглицеридов. Биохимические свойства жиров во многом зависят от содержания в них непредельных жирных кислот- соединений, активных в химическом и биологическом отношении. Жиры с разным содержанием непредельных жирных кислот различаются по консистенции. Бараний и говяжий жиры, содержащие до 62% насыщенных жирных кислот, твердые, а свиной жир, в составе которого только 47% насыщенных кислот, мажеобразной консистенции. Растительные масла - жидкие, так как в их составе в отличие от животных жиров, преобладают ненасыщенные жирные кислоты, так в подсолнечном масле содержится 9% насыщенных и 91% ненасыщенных жирных кислот.

**Приборы и реактивы.** Пробирки, фарфоровые чашечки, пипетки, борная кислота, фильтровальная бумажка, аммиачный раствор азотнокислого серебра, едкий натр 10%-ный, вода дистиллированная, серная кислота 20%-ный раствор, хлористый кальций 10%-ный раствор, водный раствор йода в йодистом калии, крахмал, животные жиры, растительное масло.

#### **Проведение анализа.**

В состав жиров входит глицерин. Для его открытия применяется акролеиновая проба, основанная на том, что при высокой температуре глицерин превращается в акролеин.

Кусочек жира величиной с горошину помещают в сухую пробирку, добавляют водотнимающее средство, борную кислоту, серноокислый калий и нагревают. При температуре примерно 250° жир разлагается и образуется акролеин. Акролеин обнаруживают по характерному едкому запаху и по способности его, как альдегида, восстанавливать аммиачный раствор азотнокислого серебра. Фильтровальную бумажку, смоченную аммиачным раствором азотнокислого серебра, помещают в пары акролеина; вследствие восстановления соли серебра образуется темное пятно.

Чистый глицерин, жиры, фосфатиды и все вещества, в состав которых входит глицерин, дают положительную реакцию на акролеин.

Если наличие глицерина в жирах можно доказать акролеиновой пробой, то жирные кислоты определяют по реакции омыления. Мылами называют соли высокомолекулярных жирных кислот.

В фарфоровую чашечку помещают 2—3 г жира, добавляют 50 мл 10%-ного раствора едкого натра и кипятят, добавляя воду взамен испарившейся до тех пор, пока в отобранной пробе жидкости при смешении с водой не перестанут отделяться капельки жира.

Полученное мыло растворяют в воде и подвергают исследованию.

1. Путем разложения мыла минеральной кислотой могут быть выделены свободные жирные кислоты.

К 20%-ному раствору серной кислоты по стенке пробирки добавляют раствор мыла. Выделившиеся жирные кислоты всплывают на поверхность.

2. При добавлении к 5 мл раствора мыла 10%-ного раствора хлористого кальция получают нерастворимый осадок кальциевых солей жирных кислот.

Открытие непредельных жирных кислот. В состав жиров входят непредельные жирные кислоты; особенно много их в растительных маслах.

К 5 мл животного жира прибавляют несколько капель водного раствора йода в йодистом калии (1г йода и 2г йодистого калия на 300 мл воды), после чего добавляют крахмал. Если посинения крахмала не происходит, то это объясняется отсутствием свободного йода. Добавленный йод вступил в реакцию с непредельными жирными кислотами. Провести тот же опыт с растительным маслом. Сравнить результаты.

3. Растворимость жиров в органических веществах. Характерным свойством жиров является их способность растворяться в органических веществах и не растворяться в воде.

Кусочки топленого животного жира величиной с горошину помещают в пробирки и добавляют по 3—5 мл спирта, ацетона, эфира, бензина, хлороформа. Ускоряют растворение погружением пробирок в теплую воду. Отмечают, что труднее всего жир растворяется в спирте, при охлаждении которого жир выделяется из раствора.

**Задание 13.** Выполнить акролеиновую пробу, пробу на омыление жира. Результаты работы занести в таблицу 8.

Таблица 8 - Состав непредельных жирных кислот

Растворитель	ацетон	спирт	эфир	бензин	хлороформ
Характер растворения					

**Задание 14.** Изучить теоретические положения и пользуясь данными таблицы охарактеризовать консистенцию следующих жиров: свиной, бараний, говяжий, растительное масло. Расположить их по убыванию температуры плавления.

Таблица 9 - Содержание жирных кислот

Жирные кислоты	Содержание жирных кислот в жире, %		
	говяжьим	бараньим	свином
Миристиновая	2-2,5	2,0-4	-
Пальмитиновая	27-29	25-27	25-30
Стеариновая	24-29	25-30	12-16
Олеиновая	43-44	36-43	41-51
Линолевая	2-5	3-4	3-8

*Контрольные вопросы*

1. Охарактеризовать химические реакции жирных кислот, обусловленные карбоксильной группой.
2. Охарактеризовать химические реакции жирных кислот, обусловленные углеводородным радикалом.
3. Как влияет строение жирных кислот на свойства жира.
4. Перечислить современные методы анализа жирных кислот.

**Занятие 11. Определения массовой доли жира жирометром**

**Цель занятия:** изучить методику определения массовой доли жира в мясе.

**Методические указания.** Метод основан на извлечении жира изоамиловым спиртом после разрушения белков исследуемого продукта серной кислотой при нагревании с последующим отделением жира центрифугированием. Количество жира определяют в жирометре, представляющей стеклянную трубку, закрытую с одного конца. Средняя часть ее градуирована. Каждое деление соответствует 0,01133г жира.

**Приборы и реактивы.** Жиромеры, изоамиловый спирт, серная кислота концентрированная, водяная баня, центрифуга.

**Проведение анализа.** Навеску массой 2 г, взвешенную с точностью до 0,01 г, помещают в фарфоровую чашку, заливают 5 мл серной кислоты, перемешивают стеклянной палочкой и нагревают, не доводя до кипения, 5-10 мин до образования однородной массы. Образовавшуюся бурю жидкость количественно переносят через воронку в жирометр, куда предварительно наливают 5 мл серной кислоты, смывая остаток на чашке небольшими порциями кислоты. В жирометр добавляют 2-4 мл изоамилового спирта и закрывают его резиновой пробкой. Смесь перемешивают, перевертывая жирометр 2-3 раза. Во избежание ожогов жирометр следует держать обернутым в полотенце. После встряхивания жирометр (пробкой

вниз) помещают на 5 мин в водяную баню, предварительно нагретую до 65-70 °С, затем центрифугируют (жиромер располагают узким концом к центру) в течение 5- 7 мин при 800-1000 об/мин.

После центрифугирования жиромер вновь помещают на 5 мин в водяную баню, после чего отсчитывают по шкале количество жира. При отсутствии четкой границы раздела между жиром и растворителем нагревание, взбалтывание и центрифугирование повторяют.

Содержание жира определяют по формуле

$$X = 0,01133 * a * 100 / m_0,$$

где 0,01133- количество жира, соответствующее одному делению жиромера, г; а - высота столбика жира по шкале жиромера;  $m_0$  - масса навески, г.

**Задание 15.** Провести определение массовой доли жира в мясе.

*Контрольные вопросы*

1. Сущность метода определения массовой доли жира в мясе.
2. Изложить ход определения массовой доли жира.

## **Занятие 12. Определение температуры плавления животного жира**

**Цель занятия.** Изучить методику определения температуры плавления различных видов животных жиров.

**Методические указания.** Чистый жир представляет собой смесь насыщенных и ненасыщенных триацилглицеринов со следами ди- и моно- ацилглицеринов с различными температурами плавления, поэтому резко выраженной температуры плавления жиры не имеют. Переход в жидкое состояние происходит постепенно. Тем не менее, по температуре плавления можно отличить жиры одних животных от других.

Триацилглицерины с непредельными и низкомолекулярными кислотами имеют более низкую температуру плавления, чем триацилглицерины, состоящие из насыщенных высокомолекулярных кислот. Например, температура плавления однокислотных триацилглицеринов составляет: предельного трипальмитина - 65°С, а непредельного триолеина - только 5°С. Содержание непредельных жирных кислот обуславливает консистенцию жира. Так бараний и говяжий жиры твердые, свиной - мазеобразный, растительные масла - жидкие.

На способность к плавлению жира оказывают влияние также распределение жирных кислот в триацилглицеринах, полиморфные формы и размер кристаллов.

Распределение жирных кислот в триацилглицеринах может быть равномерным (одна и та же кислота не повторяется в одной и той же молекуле до тех пор, пока ее доля не превысит 33% общего содержания всех присутствующих жирных кислот) и беспорядочным, неравномерным (кислота присутствует в молекуле в соответствии с ее содержанием в жире и статистическими возможностями, которые определяются ее содержанием).

При нагревании жира вначале плавятся моно-, ди- и легкоплавкие триацилглицерины.

Обычно определяют конечную температуру плавления, т.е. ту, при которой весь жир расплавляется, превращаясь в осветленную прозрачную жидкость.

Сущность метода. Метод основан на наблюдении изменения агрегатного состояния жира в капилляре при медленном увеличении температуры.

**Приборы и реактивы.** Стекланный капилляр диаметром 1...2мм, длиной 3-4 см; химический стакан вместимостью 100 и 200 см<sup>3</sup>; фильтровальная бумага, холодильник бытовой; резиновое кольцо для крепления капилляра с жиром к термометру; термометр ртутный стекланный лабораторный с диапазоном измерений от 0 до 50°С и ценой деления 0.1°С; пробирка вместимостью 10 см<sup>3</sup>; электроплитка; штатив.

**Проведение анализа.** Конец тонкого стеклянного капилляра диаметром 1...2 мм опускают в расплавленный и профильтрованный жир с температурой около 40°C, дав ему подняться примерно на 1 см. Затем с наружной стороны капилляр вытирают фильтровальной бумагой и помещают в холодильник при 0°C на 2 ч для полной кристаллизации триацилглицеринов.

Далее капилляр укрепляют с помощью резинового кольца на термометре с ценой деления 0.1°C таким образом, чтобы конец капилляра с жиром находился на уровне ртутного шарика.

Термометр опускают в стеклянную пробирку, а пробирку - в стоящий на электроплитке стакан с дистиллированной водой с температурой не более 20°C. Затем термометр закрепляют на штативе так, чтобы он не касался дна пробирки.

Уровень воды в стакане должен быть выше уровня жира в капилляре. После этого включают электроплитку, медленно поднимают температуру воды со скоростью приблизительно 1 градус/мин и непрерывно наблюдают за агрегатным состоянием жира.

Обработка результатов. Температурой плавления жира считают ту, при которой жир в капилляре становится прозрачным.

Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0.3°C.

За окончательный результат принимают среднее значение двух параллельных определений.

**Задание 16.** Провести исследования по определению температуры плавления жиров.

Таблица 10- Температура плавления жиров

Жир	1 результат	2 результат	Среднее значение
Свиной			
Бараний			
говяжий			

#### *Контрольные вопросы*

1. Химическое строение животного жира.
2. В чем основное отличие химического состава триглицеридов жира растительного и животного происхождения.
3. Какая зависимость между температурой плавления и степенью неопределенности жира.
4. Жиры разного происхождения отличаются по консистенции. Чем это обусловлено.

### **Занятие 13. Определение температуры отвердевания жира**

**Цель занятия.** Изучить методику определения температуры кристаллизации различных видов животных жиров.

**Методические указания.** Температура отвердевания - это температура, при которой жир приобретает твердую консистенцию.

Жир представляет собой смесь триацилглицеринов с различной температурой отвердевания, поэтому процесс его кристаллизации происходит постепенно. Вначале кристаллизуются высокоплавкие молекулы Р-форм. При дальнейшем понижении температуры - другие модификации и фракции триацилглицеринов.

Поскольку при отвердевании жира не затрачивается тепловая энергия на переход модификаций друг в друга, то температура отвердевания ниже температуры плавления.

**Сущность метода.** В данном методе температуру отвердевания жира определяют по температуре, при которой в результате освободившейся теплоты кристаллизации наступает подъем ртутного столбика термометра или временно не происходит его дальнейшего понижение.

**Приборы и реактивы.** Пробирка вместимостью 10 см<sup>3</sup>; термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном измерения от 0 до 50°C с ценой деления 0.1°C; баня водяная для пробирок; электроплитка.

**Проведение анализа.** В пробирку вместимостью 10 см<sup>3</sup> пипеткой вносят 2...3 см<sup>3</sup> расплавленного и профильтрованного жира температурой 40...45°C. Пробирку закрывают пробкой с пропущенным через нее термометром с ценой деления 0.1 °C. Следят за тем, чтобы ртутный шарик был полностью погружен в жир.

Пробирку помещают в водяную баню с температурой 15°C. Легким периодическим встряхиванием пробирки и вращением термометра помешивают, расплавленный жир до появления явно выраженной мути. После этого перемешивание прекращают и непрерывно наблюдают за показаниями термометра.

Температурой отвердевания жира считают ту, при которой временно останавливается падение температуры.

Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0.3°C.

За окончательный результат принимают среднее значение двух параллельных определений.

**Задание 17.** Выполнить анализы по определению температуры отвердевания жиров.

Таблица 11 - Температура отвердевания жиров

Жир	1 результат	2 результат	Среднее значение
Свиной			
Бараний			
говяжий			

#### *Контрольные вопросы*

1. Охарактеризовать биологическое значение жировой ткани.
2. В чем заключается энергетическая ценность жира.
3. Почему жиры не имеют четко выраженной температуры плавления и отвердевания.

### **Занятие 14. Химические способы распознавания порчи животного жира**

**Цель занятия.** На основе теоретических положений ознакомиться с химическими методами обнаружения продуктов, образующихся в процессе порчи жира.

**Методические указания.** В жирах при хранении происходят сложные химические процессы, вызывающие их порчу. Этому способствует свободный доступ кислорода, действие света, повышенная температура, ферменты жировой ткани и микроорганизмов, наличие воды.

В жирах животных тканей процессы порчи могут развиваться в двух направлениях: в направлении окисления и в направлении гидролитического распада. В большинстве случаев оба вида порчи встречаются одновременно. Различные химические методы распознавания порчи основываются на определении тех или иных продуктов, образующихся в процессе порчи. Так первым промежуточным продуктом окисления жиров являются перекиси. Количественно обнаружить перекиси можно при помощи метода, основанного на реакции окисления йода активным кислородом перекисей. Качественно обнаруживаю перекиси при помощи пероксидазы, которая способствует окислению субстрата за счет активного кислорода перекисей. В процессе окислительной порчи понижается количество непредельных жирных кислот. О степени непредельности жира позволяет судить йодное число.

Длительное хранение жира приводит к увеличению количества жирных кислот. Для их количественного определения применяется кислотное число.

Для обнаружения в жирах альдегидов применяют качественную реакцию с фуксино-

сернистой кислотой, представляющей раствор фуксина, обесцвеченных сернистой кислотой. Для определения низкомолекулярных кислот применяют индикаторную пробу с ализариновым красным, основанную на том, что окраска индикатора изменяется от присутствия в жире ничтожного количества низкомолекулярных кислот. Кетоны в жирах открывают и определяют количественно при помощи салицилового альдегида, который в присутствии соляной или серной кислоты дает с кетонами красное окрашивание. Количественно альдегиды и кетоны можно определить при помощи метода определения карбонильных чисел и карбонильного индекса. Оба определения основаны на спектрофотометрическом измерении интенсивности поглощения света.

Процесс осаливания сопровождается значительным количеством окси - соединений. Содержание оксигрупп определяют по количеству ацетила, который присоединяется к жиру при ацетилировании. Результат выражают ацетильным числом, которое возрастает с увеличением количества оксигрупп.

Химические методы установления качества жира имеют преимущество перед органолептическими, так как в начальных стадиях появления продуктов распада невелико, и они не ощущаются органами обоняния и вкуса. На установление качества продукта по органолептическим показателям влияют отклонения в чувствительности к запаху и вкусу у различных лиц и одного итого же лица в разное время. При дегустации большого количества образцов с каждой последующей пробой вкусовые ощущения становятся менее острыми и смешиваются с предыдущими.

**Задание 18.** На основе изучения теоретического материала заполнить таблицу 13.

Таблица 12 - Виды порчи животного жира

Вид порчи	Продукты, образующиеся в процессе порчи	Химический метод обнаружения

*Контрольные вопросы*

1. Условия хранения вытопленных жиров.
2. Влияние температуры на хранение жира.
3. Применение химических способов предохранения жиров от порчи.
4. Выбор антиокислителей для пищевых жиров.

**Занятие 15. Определение йодного числа животного жира**

**Цель занятия.** Изучить методику количественного определения йодного числа животного жира.

**Методические указания.** Йодное число позволяет судить о степени непредельности жира. В процессе окислительной порчи количество непредельных жирных кислот понижается благодаря их высокой реакционной способности. Это приводит к уменьшению йодного числа вследствие уменьшения количества двойных связей в жире, так как по месту двойной связи при образовании перекиси становится молекула кислорода и в окисленном жире остается меньше свободных двойных связей для присоединения галоида. Йодные число некоторых животных жиров: бараний 31-46, говяжий 32-47, свиной 46-66, конский 71-86.

Существует тесная связь между йодным числом и температурой плавления жира. Так, йодное число, меньше 33 единиц, характеризует высокоплавкий жир.

Сущность метода.

Йодным числом называют количество граммов йода, которое может присоединиться к 100 г жира.

В обычных условиях йод практически не реагирует с водой, но в присутствии ве-

ществ, поглощающих йодноватистую кислоту, равновесие реакции сдвигается вправо.

Избыток йода оттитровывают тиосульфатом натрия.

**Приборы и реактивы.** Колба коническая с притертой пробкой вместимостью 400 см<sup>3</sup>; весы лабораторные 2 класса точности с ценой проверочного деления 0.001 г; бюретки вместимостью 25 и 50 см<sup>3</sup> и ценой деления 0.1 см<sup>3</sup>, баня водяная для колб; электроплитка; цилиндр вместимостью 200см<sup>3</sup>; секундомер; встряхивалка, три пробы жира с различной степенью свежести.

**Проведение анализа.** Берут две конические колбы вместимостью по 400 см<sup>3</sup> с притертыми пробками. В одну отвешивают (0.20-0.30)±0.01г рапавленного и профильтрованного жира (опытная проба), другую оставляют пустой (контрольная проба). В обе колбы из бюретки добавляют по 20 см<sup>3</sup> 96°-ного этанола. Опытную пробу нагревают на водяной бане с температурой 50...60°С до получения однородной эмульсии.

Затем в обе колбы из бюретки вносят по 25 см<sup>3</sup> спиртового раствора йода (С=0.2 моль/дм<sup>3</sup>) и цилиндром - по 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, содержимое перемешивают. Колбы закрывают пробками и выдерживают при комнатной температуре в течение 5 мин при постоянном несильном встряхивании.

Далее реакцию смесь в каждой колбе быстро (чтобы максимально связать избыток йода) титруют из бюретки раствором тиосульфата натрия (Сэ=0.1 моль/дм<sup>3</sup>) до желтого окрашивания, после чего добавляют 1 см<sup>3</sup> 1%- ного раствора крахмала. Смесь приобретает буро-фиолетовое окрашивание. Содержимое колбы вновь титруют раствором тиосульфата натрия, добавляя его по каплям до обесцвечивания.

В расчете используют весь объем раствора тиосульфата натрия израсходованного на титрование каждой пробы.

Обработка результатов. Йодное число вычисляют по формуле

$$K = \frac{(U_k - U_0) \times 0.01269}{T} \times 100$$

K- йодное число, единицы. 1 единица соответствует 1г йода, присоединяющегося к 100 г жира;

U<sub>k</sub>- объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольной пробы, см<sup>3</sup>;

U<sub>0</sub> - объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование опытной пробы, см<sup>3</sup>;

0.01269 -масса йода, соответствующая 1 см<sup>3</sup> раствора тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0.1 моль/дм<sup>3</sup>, г;

t - масса жира, г;

100 - коэффициент пересчета на 100 г жира.

**Задание 19.** Выполнить реакцию по определению йодного числа жира.

Таблица 13 - Показатели йодного числа

№ пробы	Йодное число	Качественная характеристика жира
1		
2		
3		

### *Контрольные вопросы*

1. Какая существует связь между йодным числом и температурой плавления жира.
2. Какие виды окислительной порчи вы знаете.
3. Сущность метода определения йодного числа жиров.

## **Занятие 16. Определение перекисного числа животного жира. Качественная реакция на перекиси**

**Цель занятия.** Изучить методику количественного определения перекисного числа жира. Ознакомится с методикой качественного распознавания перекисей при помощи фермента пероксидазы.

**Методические указания.** Совершенно свежие жиры не содержат перекисей. Они являются первым промежуточным продуктом окисления жиров. Перекиси могут появиться в жире в процессе технологической переработки и во время хранения. Высокая температура и присутствие кислорода при вытопке, нарушение условий хранения могут привести к быстрому росту перекисей. При некоторой величине перекисного числа жир становится непригодным в пищу из-за плохой органолептики, выраженной в испорченном прогорклom вкусе и запахе. Кроме того, перекиси способствуют разрушению витаминов и образованию плохо усваиваемых организмом комплексных соединений с аминокислотами и белками.

Под действием кислорода воздуха происходит перекисное прогоркание, при котором изменением подвергаются в первую очередь ненасыщенные жирные кислоты. Причем их превращения могут идти как с разрывом двойной связи, так и без, по свободно-радикальному механизму. Насыщенные кислоты реагируют медленно и только по свободно-радикальному механизму. Для характеристики перекисного прогоркания определяют перекисное число. Количественно перекисное число выражают в граммах йода, восстановленного 100г жира. Перекисное число может быть определено с точностью до 0,01, в то время как органолептически прогоркание обнаруживается при перекисном числе 0,08-0,09, качественными реакциями - при перекисном числе 0,03.

**Сущность метода.** Массу восстановленного йода определяют по объему раствора тиосульфата натрия, пошедшего на его титрование. В качестве индикатора используют крахмал.

Йодид водорода образуется в результате реакции между йодидом калия и уксусной кислотой.

Йодид водорода способен окисляться гидроперекисями с выделением йода.

Йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия.

**Приборы и реактивы.** Коническая колба с притертой пробкой вместимостью 100 см<sup>3</sup>; весы лабораторные 2 класса точности с ценой проверочного деления 0.001 г; центрифужная пробирка градуированная вместимостью 10 см<sup>3</sup>; пипетка градуированная вместимостью 1 и 5 см<sup>3</sup>; секундомер; микробюретка вместимостью 5 см<sup>3</sup>; встряхивалка, три пробы жира, отличающиеся степенью свежести.

**Проведение анализа.** Берут две колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup> с притертыми пробками. В одну отвешивают 1.0±0.1 г расплавленного и профильтрованного жира (опытная проба), другую оставляют пустой (контрольная проба). В обе колбы центрифужной пробиркой вносят по 6 см<sup>3</sup> смеси хлороформа с ледяной уксусной кислотой (в соотношении 2:1). Колбы закрывают пробками. В опытной пробирке растворяют жир, покачивая колбу круговыми движениями.

Затем в обе колбы пипетками добавляют по 1 см<sup>3</sup> водного раствора йодида калия, насыщенного на холоде, и по 3 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Колбы закрывают пробками и выдерживают в течение 3 мин при постоянном несильном перемешивании.

После этого в обе колбы вносят по 3...5 капель 1%-ного раствора крахмала. При наличии перекисей раствор принимает буро-фиолетовое окрашивание. Выделившийся йод оттитровывают из микробюретки раствором гипосульфатанатрия (С=0.01 моль/дм<sup>3</sup>) до обесцвечивания реакционной смеси.

Обработка результатов. Перекисное число вычисляют по формуле:

$$K = ((Y_0 - Y_k) * k * 0,00127 - 100) / T,$$

где  $k$  – коэффициент поправки для пересчета на точный 0,01 н раствора гипосульфата натрия;

$Y_0$  -объем раствора гипосульфата натрия, израсходованного на титрование опытной пробы, см<sup>3</sup>;

$Y_k$  - объем раствора гипосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольной пробы, см<sup>3</sup>;

0.00127- масса йода, соответствующая 1 см<sup>3</sup> раствора гипосульфата натрия эквивалентной концентрацией 0.01 моль/дм<sup>3</sup>, г;

$T$  — масса жира, г;

100 - коэффициент пересчета на 100 г жира.

Параллельно проводят качественное исследование проб жира на присутствие перекисей при помощи фермента пероксидазы.

Степень свежести жира в зависимости от величины перекисного числа оценивают следующим образом: от 0,03 до 0,06 – свежий; от 0,06 до 0,10 – сомнительной свежести; более 0,10 – испорченный. Разница между результатами параллельных определений не должна превышать 0,005.

**Задание 20.** Определить перекисное число животного жира.

### Качественная реакция на перекиси

Присутствие в жире перекисей можно обнаружить с помощью фермента пероксидазы, например, пероксидазы крови.

**Техника определения.** В пробирку помещают примерно 2 г жира, расплавляют в теплой воде, добавляют 5 капель свежей крови (или раствора технического альбумина), 5-10 капель спиртового раствора гваяковой смолы, 3-5 мл дистиллированной воды и встряхивают. В зависимости от содержания в жире перекисей появляется более или менее интенсивная голубая окраска.

**Задание 21.** Провести качественную реакцию на перекиси.

#### Контрольные вопросы

1. Что такое индукционный период, и от каких факторов зависит его продолжительность.

2. Охарактеризуйте роль свободных радикалов в образовании перекисей.

3. Назовите промежуточные продукты окислительного распада жира.

### Занятие 17. Определение кислотного числа животного жира

**Цель занятия:** изучить методику количественного определения кислотного числа животного жира.

**Методические указания.** Кислотное число определяют главным образом для установления гидролитических процессов, происходящих в жирах. Обычно встречающиеся в природе жиры состоят из нейтрального жира и очень небольшого количества свободных жирных кислот. При длительном хранении жира, особенно жира- сырца, в результате гидролиза, количество свободных жирных кислот увеличивается, их содержание характеризует кислотное число. В результате накопления низших жирных кислот, в частности масляной, жир приобретает неприятные вкус и запах.

Кислотное число является количественным методом определения содержания в жире общего количества свободных жирных кислот.

В нормальных производственных условиях подавляющая часть жира выпускается высшим сортом, т. е. с кислотным числом менее 1,25.

**Сущность метода.** Количественно кислотное число жиров выражается массой гидроксида калия (мг), необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

**Приборы и реактивы.** Коническая колба вместимостью 100 см<sup>3</sup>; весы лабораторные 2 класса точности с ценой проверочного деления 0.001 г; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup> с ценой деления 0.1 см<sup>3</sup>; водяная баня для колб; электроплитка; термометр ртутный лабораторный с диапазоном измерения от 0 до 100°С и ценой деления 0.1°С.

**Проведение анализа.** В коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> отвешивают 5.0±0.1 г расплавленного и профильтрованного жира. В колбу из бюретки добавляют 20 см<sup>3</sup> 96°-ного этанола и нагревают на водяной бане с температурой 50...60°С до получения однородной эмульсии.

Затем в колбу добавляют 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и титруют из бюретки раствором гидроксида натрия с ( $C_{\text{Э}}=0.1 \text{ моль/дм}^3$ ) до появления слабо розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Обработка результатов. Кислотное число вычисляют по формуле:

$$K = (V * k * 5.61) / T$$

где  $k$  - кислотное число жира, единицы; 1 единица соответствует 1 мг гидроксида калия, необходимого для нейтрализации 1 г жира;

$V$  - объем раствора гидроксида калия (натрия), израсходованного на титрование жира, см<sup>3</sup>;

$T$  - масса жира, г,

5.61 - масса гидроксида калия, соответствующая 1 см<sup>3</sup> его раствора с эквивалентной концентрацией 0.1 моль/дм<sup>3</sup>, мг.

**Задание 22.** Провести определение кислотного числа жира.

Таблица 14 - Показатели кислотного числа

№ пробы	Кислотное число	Качественная характеристика жира.
1		
2		
3		

*Контрольные вопросы*

1. Какие факторы способствуют процессу гидролиза.
2. В чем нежелательность гидролиза и как его замедлить.
3. Почему в топленых жирах гидролиз не происходит.

### **Занятие 18. Качественная реакция на наличие свободных жирных кислот**

**Цель занятия.** Изучить методику качественного определения свободных жирных кислот животного жира.

**Методические указания.** Нейтральный красный является индикатором, способным изменять свою окраску в зависимости от кислотности среды, что позволяет судить о качестве жира. Эта реакция основана на том, что жир, обработанный раствором нейтрального красно-

го, приобретает различную окраску в зависимости от наличия в нем свободных кислот. При этом следует иметь виду, что такой индикатор, как нейтральный красный, способен изменять окраску в присутствии и низкомолекулярных и высокомолекулярных кислот. Но в присутствии сравнительно 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, отличающейся большой чувствительностью и указывающей на начавшуюся порчу жира значительно раньше, чем это можно распознать органолептически по изменению вкуса и запаха.

**Приборы и реактивы.** Фарфоровая ступка, пестик, 0,01 % раствор нейтрального красного.

Проведение анализа.

Пробу свиного топленого жира (0,5-1 г) помещают в маленькую фарфоровую ступку, заливают раствором нейтрального красного и после тщательного растирания пестиком сливают раствор нейтрального красного (оставшиеся капля жидкости, если они мешают наблюдению, смывают водой). Для проведения реакции применяют свежеприготовленный 0,01%-ный раствор нейтрального красного на водопроводной воде (рН 7,0-7,2)

Обработка результатов. После такой обработки свиной жир приобретает одну из следующих окрасок.

Таблица 15 - Характеристика окраски жира

Окраска	Качество жира
Желтая с зеленоватым оттенком или желтая	Свежий жир
От желтой до светло-коричневой	Старый жир, но пригодный для использования в пищу
От желто-коричневой до коричневой	Жир сомнительной пищевой пригодности
От коричневой до красной	Испорченный

**Задание 25.** Определить качественную реакцию на наличие свободных жирных кислот.

Таблица 16 - Характеристика качества жира

№ пробы	Качество жира
1	
2	
3	

*Контрольные вопросы*

1. Охарактеризуйте чувствительность нейтрального красного по отношению к высокомолекулярным и низкомолекулярным кислотам.

2. Охарактеризуйте зависимость стойкости жира от количества непредельных жирных кислот и концентрации каротинов и токоферолов

## Занятие 19. Качественная реакция на наличие в жире низкомолекулярных кислот

**Цель занятия.** Изучить методику качественного определения низкомолекулярных жирных кислот животного жира.

**Методические указания.** Для определения низкомолекулярных кислот непосредственно в жирах применяют пробу с ализариновым красным, основанную на том, что окраска индикатора изменяется от присутствия в жире малого количества низкомолекулярных кислот, в то время как высокомолекулярные кислоты, растворенные в органическом растворителе, не изменяют окраски этого индикатора, низкомолекулярные кислоты являются не промежуточными, как перекиси, альдегиды и кетоны, а конечными и сравнительно стойкими продуктами окислительного распада жира.

**Приборы и реактивы.** Пробирка из нещелочного стекла с пробкой, технические весы, водяная баня, бензин, ализариновый красный.

**Проведение анализа.** В пробирку из нещелочного стекла помещают 2,5 г свиного жира, взвешенного на технических весах с точностью до 0,1 г. Пробирку ставят на водяную баню. В расплавленный жир вливают 5 мл бензина (бензин при встряхивании с раствором индикатора - ализариновым красным не должен изменять его окраску) и 2,5 мл раствора индикатора, окрашенного в интенсивно розовый цвет. Закрывают пробкой, энергично встряхивают и наблюдают окраску водного слоя.

**Приготовление раствора ализаринового красного**

1. Раствор индикатора готовят растворением ализаринового красного в дистиллированной воде, концентрация 0,1%. Раствор очень устойчив при хранении.

2. Рабочий раствор индикатора готовят разбавлением запасного раствора дистиллированной водой в отношении 1:50. К этому раствору добавляют 0,025 н раствор едкого натра до интенсивно розовой окраски (на 250 мл раствора индикатора требуется примерно 0,5 мл 0,025н едкого натра). Рабочий раствор устойчив при хранении в посуде из нещелочного стекла.

**Обработка результатов.**

По изменению окраски ализаринового красного судят о глубине окислительной порчи.

Таблица 17 - Характеристика качества жира

Окраска	Качество жира
Не изменившаяся окраска	Жир очень хороший
Бледно-розовая	Хороший
Желтая	Жир низкого сорта или непищевой

**Задание 24.** Выполнить качественную реакцию на наличие в жире низкомолекулярных кислот.

Таблица 18- Характеристика качества жира

№ пробы	Качество жира.
1	
2	
3	

На основании полученных данных сделать вывод о наличии в исследуемых пробах жира низкомолекулярных кислот.

### *Контрольные вопросы*

1. Сущность методики качественной реакции на наличие в жире низкомолекулярных кислот.
2. Изложить методику приготовления раствора ализаринового красного.

## **Занятие 20. Ферментативный гидролиз жира**

**Цель занятия.** Изучить методику ферментативного гидролиза жира под действием липолитического фермента липазы.

**Методические указания.** В жировой ткани при хранении, даже при низкой температуре, значительного развития достигают автолитические процессы, происходящие под действием липазы жировой ткани и приводящие к расщеплению жира на глицерин и жирные кислоты. Ферментативное расщепление жира удобно наблюдать при помощи липазы поджелудочной железы, под действием которой в короткий период (2-3 часа) достигается значительный гидролиз животного жира.

**Приборы и реактивы.** Водяная баня, химический стаканчик (100мл), фарфоровая ступка, стеклянная палочка, раствор нейтрального красного.

**Проведение анализа.** Топленый свиной жир исследуют на общую кислотность по реакции с нейтральным красным. Если получится желто-зеленая окраска или желтая, то кислотность невелика и жир можно применять для работы. При получении коричневой или красной окраски жир непригоден для работы.

15г. топленого жира помещают в фарфоровую ступку, добавляют 2-3 мл водной вытяжки из поджелудочной железы, предварительно нейтрализованной, быстро растирают жир с липазой в однородную массу и в отобранной пробе проводят реакцию с нейтральным красным.

Содержимое ступки переносят в химический стаканчик, который ставят в водяную баню при 37<sup>0</sup>С. Периодически массу помешивают стеклянной палочкой.

По прошествии 30 минут отбирают пробу и делают реакцию с нейтральным красным. Наблюдают за изменением окраски. Отбор проб повторяют несколько раз.

Окраска жира после обработки нейтральным красным сначала получается желтой, затем, с увеличением времени гидролиза, коричневой, а затем красной (иногда оранжево-красной). Одновременно ставят контрольный опыт (без добавления фермента).

На основании работы делают вывод, что при участии ферментов гидролиз протекает интенсивно.

**Задание 25.** Выполнить реакцию ферментативного гидролиза жира.

### *Контрольные вопросы*

1. Объясните термин «специфичность действия ферментов».
2. Зависимость действия ферментов от pH среды.
3. Как распознается степень гидролиза жира.

## **Занятие 21. Качественное определение каротина (провитамина А) в говяжьем жире**

**Цель занятия.** Изучить хроматографический метод обнаружения пигмента-каротина в говяжьем жире.

**Методические указания.** Большинство животных и растительных жиров окрашены. Неокрашенные жиры встречаются редко (бараний, свиной жиры). Окраска животных жиров, например говяжьего, обусловлена наличием каротина. Каротины являются пигментами и окрашивают жир в желтый цвет. Наиболее важными являются каротины  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . В животном организме каротины  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  являются провитаминами А. В витамин они переходят под действием фермента каротиноазы. Особенно активно этот процесс протекает в слизистой кишеч-

ника и печени. У крупного рогатого скота в жировой ткани может избирательно накапливаться - каротин. Окраска жира изменяется в зависимости от содержания каротинов: в кремово-белом говяжьем жире содержится до 0,1 мг% каротинов, в желтом 0,2-0,3 мг%, в интенсивно желтом 0,5 мг%.

Содержание каротина в жировой ткани не постоянно. При похудении животных запасы жира исчезают, а пигмент остается, поэтому у старых, голодавших и больных животных окраска жира более интенсивная. Содержание пигмента с сильной степени зависит от режима питания. При пастбищном питании количество каротина в жировой ткани увеличивается.

Помимо витамина А (или каротина), в составе жира встречаются витамины Е и Д. Витамин Е-токоферол - обычно сопутствует каротинам.

**Сущность метода.** Хроматографический метод был создан в 1903 г. нашим соотечественником М.С. Цветом. При помощи этого метода были сделаны крупные открытия в области изучения пигментов, витаминов, гормонов, белков, ферментов и т. п. Этот метод нашел применение при разделении, выделении и исследовании самых разнообразных веществ.

Принцип хроматографического метода состоит в том, что смесь веществ, растворенных в органическом растворителе, пропускают через вертикально поставленную стеклянную трубку, наполненную адсорбентом. В качестве адсорбентов применяют окись алюминия, кремневую кислоту, крахмал и т. д.

При пропускании через адсорбционную колонку вещества располагаются на различной высоте в зависимости от неодинаковой способности различных соединений адсорбироваться на поверхности веществ, используемых в качестве адсорбентов.

Окрашенные соединения образуют на различной высоте окрашенные зоны, поэтому этот метод был назван хроматографическим (греч. chroma — цвет, grapho — пишу).

Окраска говяжьего жира обусловлена присутствием пигмента— каротина, который может быть отделен от жира хроматографическим методом.

**Приборы и реактивы.** Адсорбционная колонка, воронка, окись алюминия, бензиновый раствор жира 1%-ный.

**Проведение анализа.** Адсорбционную колонку для извлечения каротина из говяжьего жира готовят следующим образом: стеклянную трубку длиной 40—50 см, диаметром 7—8 мм, суженную с одного конца, вставляют при помощи резиновой пробки в соединенную с водоструйным насосом колбу. Суженный конец трубки закрывают небольшим кусочком ваты для удержания адсорбента в трубке. Сухую, окись алюминия ( $Al_2O_3$  для хроматографии) насыпают в трубку слоем примерно в 10 см и утрамбовывают стеклянной палочкой.

В качестве материала для исследования следует брать интенсивно окрашенный говяжий жир, из которого готовят 1 % -ный бензиновый раствор (применяется бензин с температурой кипения до 80°).

Окрашенный бензиновый раствор жира при помощи воронки наливают в адсорбционную колонку, после чего колбу присоединяют к водоструйному насосу. Бензиновый раствор жира следует периодически подливать в колонку, не допуская обнаружения поверхности адсорбента.

Устанавливают: отсутствие окраски бензинового раствора жира, вытекающего из колонки; появление окрашенной зоны в верхней части колонки, которая постепенно передвигается вниз.

**Задание 26.** Изложите методику определения каротина в говяжьем жире.

#### *Контрольные вопросы*

1. Поведение жирорастворимых витаминов при технологической и кулинарной обработке.
2. Какие факторы влияют на содержание каротинов в жировой ткани крупного рогатого скота.
3. Каким образом происходит синтез витамина А из его предшественников.
4. Вещества, усиливающие действие витамина

## Раздел 6. Биохимические изменения мяса

### Занятие 22. Исследования свежести мяса

**Цель занятия.** Изучить метод органолептической оценки мяса.

**Методические указания.** Большое значение при оценке качества мяса придается органолептическому методу оценки свежести (консистенция, цвет, запах, вкус), который дополняется пробой варкой.

Для определения свежести мяса и качества жиров необходима специально оборудованная лаборатория, образцы доброкачественного (свежего), подозрительной свежести, несвежего и дефростированного мяса. Определение свежести мяса производится органолептическими методами. Берут 4-5 проб мяса массой не менее 200 г из различных участков туши: области поясницы, бедра, лопатки, зареза на уровне 4-5-го шейных позвонков и других мест. Материалы отбирают стерильными инструментами, каждую пробу заворачивают отдельно в пергаментную бумагу и кладут в общий пакет или другой непроницаемой запломбированной таре с приложением сопроводительных документов.

Органолептические показатели свежести мяса устанавливают по внешнему виду туши при осмотре состояния мускульной ткани, жира, сухожилий и костного мозга. При этом обращают внимание на корочку подсыхания поверхности мяса, цвет, консистенцию, запах и другие особенности тканей: при осмотре костного мозга — на его блеск, упругость и возможное отслоение мозгового вещества от стенок канала, а при осмотре суставов, изменения синовиальной жидкости и состояние суставной поверхности.

Запах определяют на поверхности и в глубоких слоях сырого мяса, а также пробой варки. В колбочку помещают 5-8 г измельченного ножницами мяса, заливают водой (100 мл), закрывают стеклом и нагревают до кипения. Затем стекло приподнимают и определяют запах паров, а также прозрачность бульона и состояние жира на поверхности.

Консистенцию устанавливают при температуре 15-20°C, для этого надавливают на свежую поверхность разреза мяса, и наблюдают за скоростью выравнивания образовавшегося углубления. Если мясо свежее, ямка исчезнет не позднее чем через 1 минуту. На основании органолептических показателей мясо подразделяют на свежее, подозрительной свежести и порченное, т. е. непригодное в пищу.

Органолептические показатели мяса и мясных субпродуктов убойных животных в зависимости от степени их свежести:

- *внешний вид и цвет поверхности туши:*

**свежее** - корочка подсыхания бледно-розовая или бледно-красная; у размороженных туш — красная, жир мягкий, частично ярко-красный;

**сомнительной свежести** - местами увлажнена, слегка липкая, потемневшая;

**несвежее** - сильно подсохшая, покрыта серовато-коричневой слизью или плесенью.

- *мышцы на разрезе:*

**свежее** — легка влажные, не оставляющие влажного пятна на фильтровальной бумаге; цвет свойственный данному виду мяса (для говядины — от светло-красного до темно-красного, для свинины — от светло-розового до красного, для баранины — от красного до красно-вишневого, для ягнятины — розовый);

**сомнительной свежести** — влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, слегка липкие, темно-красного цвета. У размороженного мяса с поверхности разреза стекает слегка мутноватый мясной сок;

**несвежее** - влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, липкие, красно-коричневые. Для размороженного мяса с поверхности разреза стекает мутный мясной сок.

- *консистенция:*

**свежее** - На разрезе мясо плотное, упругое. Образующаяся при надавливании пальцем ямка быстро выравнивается;

**сомнительной свежести** - на разрезе мясо менее плотное и менее упругое. Образующаяся при надавливании пальцем ямка выравнивается медленно (в течение 1 мин), жир мягкий, у размороженного мяса слегка разрыхлен;

**несвежее** - на разрезе мясо дряблое; Образующаяся при надавливании пальцем ямка не выравнивается, жир мягкий. У размороженного мяса жир рыхлый, осадившийся.

- *запах:*

**свежее**- специфический, свойственный каждому виду свежего мяса;

**сомнительной свежести**- слегка кисловатый или с оттенком затхлости;

**несвежее** - кислый или затхлый, или слабогнилостный.

- *состояние жира:*

**свежее** - говяжий – белого, желтоватого или желтого цвет твердой консистенции, при надавливании крошится. Свиной — белого, бледно-розового цвета, мягкий, эластичный. Бараний — белого цвета, плотной консистенции, не должен иметь запаха осаливания или прогоркания.

**сомнительной свежести** Сероватого оттенка, слегка липкий к пальцам, может иметь легкий запах осаливания;

**несвежее** - серовато-матового оттенка при раздавливании мажется. Свиной жир может быть покрыт небольшим количеством плесени. Запах прогорклый.

- *состояние сухожилий:*

**свежее** - упругие, плотные, поверхность суставов гладкая, блестящая. У размороженного мяса сухожилия мягкие, рыхлые, окрашены в ярко-красный цвет;

**сомнительной свежести** - менее плотные, матово-белого цвета. Суставные поверхности слегка покрыты слизью;

**несвежее** - размягчены, сероватого цвета. Суставные поверхности покрыты слизью.

- *прозрачность и аромат бульона:*

**свежее** - прозрачный и ароматный;

**сомнительной свежести** – прозрачный или мутный с запахом, несвойственным свежему бульону;

**несвежее** - мутный с большим количеством хлопьев, с резким неприятным запахом.

При установлении свежести мяса лабораторными методами используют определение содержания аммиака и солей аммония - конечных продуктов распада белковых веществ; содержания летучих жирных кислот; содержания фермента пероксидазы, кислотного и перекисного чисел - продуктов окисления непредельных жирных кислот; а так же по мере необходимости проводят бактериоскопию мазков-отпечатков с поверхностных и глубоких слоев мяса для установления количественного и видового составов микрофлоры.

Процесс порчи мяса сопровождается образованием продуктов, по наличию которых можно судить о степени порчи мяса. Наиболее удобно определять свежесть мяса по тем веществам, накопление которых можно обнаружить химическими методами гораздо раньше, чем можно органолептически наблюдать изменения в свежести мяса. К таким веществам относятся аммиак, летучие жирные кислоты, фосфин, сероводород. Такие вещества, как индол и скатол, появляются в сравнительно поздних стадиях гнилостной порчи и поэтому устанавливать их в начальной стадии порчи нет смысла.

Для выявления первичных продуктов разложения протеинов, растворяющихся в воде, в практике пользуются определением вязкости водной вытяжки из мяса по скорости ее фильтрации (проба Андриевского) и осаждением их растворами солей тяжелых металлов (проба с сульфатом меди). Более глубокие процессы распада протеинов, сопровождающиеся накоплением свободных аминокислот, низкомолекулярных аминосоединений, аммиака и его неорганических солей, могут быть выявлены пробой на солевой аммиак с реактивом Несслера, суммарным определением аминокислотного азота, а также качественной реакцией на свободные аминокислоты с нингидрином.

В мышечной ткани свежего мяса содержатся различные ферменты, в том числе пероксидаза, сохраняющая активность в слабокислой среде. В несвежем мясе, а так же в мясе

больных животных она отсутствует. Для качественного обнаружения пероксидазы чаще применяют пробу с бензидином или настойкой гваяковой смолы.

**Задание 27.** Изучить органолептические показатели мяса и мясных продуктов в зависимости от их свежести.

*Контрольные вопросы*

1. Назовите основные признаки свежего и несвежего мяса.
2. Каковы основные причины порчи мяса?
3. Назовите методы определения свежести мяса.

**Занятие 23. Определение первичных продуктов разложения протеинов**

**Цель занятия.** Изучить методы определения накопления продуктов разложения протеинов с целью установления свежести мяса.

*Определение скорости фильтрации настоя по Андриевскому*

**Приборы и реактивы.** Коническая колба вместимостью 250 мл, ножницы, воронка диаметром 5 см, фильтр, цилиндр на 100 мл, реактив Несслера, бензидин.

**Проведение анализа.** Из средней пробы мяса отбирают навеску в 10 г (мясо предварительно освобождают от жира и соединительной ткани), измельчают ножницами на 20—30 кусочков, помещают в коническую колбу и заливают водой в количестве 100 мл. Настаивают в течение 15 мин с 3-кратным взбалтыванием.

Воронку диаметром 5 см с вложенной в нее фильтровальной бумагой устанавливают в градуированный цилиндр на 100 мл. Настой мяса пропускают через фильтр.

Свежее мясо через 5 мин дает 50—95 мл прозрачного фильтрата, через 10 мин весь фильтрат отфильтровывается. Несвежее мясо дает мутный фильтрат, фильтрация идет медленно. Через 5 мин отфильтровывается менее 50% фильтрата. В последующем полученный фильтрат используется при проведении проб с реактивом Несслера, бензидином или настойкой гваяковой смолы. По данным проведенного анализа заполняют таблицу и делают выводы относительно свежести мяса.

**Задание 28.** Выполнить определение скорости фильтрации мясного настоя и оценить качество мяса?

Таблица 19 - Характеристика мяса

№ пробы	Цвет и прозрачность мясной вытяжки	Характеристика мяса
1		
2		
3		

*Проба с сернокислой медью*

**Приборы и реактивы.** Колба вместимостью 100-200 мл, водяная баня для колб, покровное стекло, пробирка, вата, бумажный фильтр, химический стакан, штатив, дистиллированная вода, сернокислая медь 0,5% раствор.

**Проведение анализа.** 20 г фарша в колбе на 100-200 мл заливают 60 мл дистиллированной воды, взбалтывают. Колбу накрывают стеклом и нагревают в кипящей водяной бане 10 мин. Горячий бульон фильтруют через плотный слой ваты толщиной не менее 0,5 см<sup>3</sup>

в пробирку, помещенную в стакан с холодной водой. Если в фильтрате остались хлопья, его дополнительно пропускают через бумажный фильтр.

В пробирку наливают 2 мл фильтрата, добавляют 3 капли 5%-ного раствора сернокислой меди, встряхивают 2-3 раза и ставят в штатив на 5 мин.

**Обработка результатов.** Бульон из свежего мяса прозрачный, на возможно образование мути. В бульоне из мяса сомнительной свежести появляются хлопья, из несвежего- желеобразный сине-голубой осадок. По данным проведенного анализа заполняют таблицу и делают выводы относительно свежести мяса.

**Задание 29.** Провести анализ качества мяса на пробу с сернокислой медью.

Таблица 20 - Характеристика мяса

№ пробы	Цвет и прозрачность мясной вытяжки	Характеристика мяса
1		
2		
3		

*Контрольные вопросы*

1. Охарактеризуйте первичные продукты разложения протеинов.
2. Изложите сущность определения продуктов разложения протеина при оценке свежести мяса.

#### **Занятие 24. Определение накопления свободных аминокислот, низкомолекулярных аминсоединений, аммиака**

**Цель занятия.** Изучить методику установления порчи и свежести мяса.

##### ***Реакция на аммиак (с реактивом Несслера)***

**Методические указания.** Аммиак находится в мясной вытяжке большей частью в виде солей, например, хлористого аммония. Растворы, содержащие малые количества аммиака или солей аммония, окрашиваются реактивом Несслера в желтый цвет, а при больших количествах аммиака или солей аммония- в красновато-бурый цвет с образованием взвешенной мути. Окраска обусловлена соединением  $\text{NH}_2\text{JHg}_2\text{O}$ , которое образуется по следующей реакции:



**Приборы и реактивы.** Коническая колба (100мл.), пробирка биологическая, бумажный фильтр, химический стаканчик (100 мл.), капельница (для раствора Несслера), вода дистиллированная, реактив Несслера.

##### **Проведение анализа.**

1. Приготовление водной вытяжки из мяса: 5 г. фарша помещают в коническую колбу, заливают 50 мл воды и настаивают 10 мин., несколько раз встряхивая. Фильтруют через бумажный фильтр в химический стаканчик.

2. В пробирку наливают 1 мл водной вытяжки из мяса и добавляют реактив Несслера по каплям, вплоть до 10 капель. После добавления каждой капли пробирку взбалтывают и наблюдают за изменением цвета и прозрачности.

3. Приготовление контрольной пробирки: в пробирку наливают 1 мл испытуемой вытяжки без реактива Несслера.

**Обработка результатов.** Изменение прозрачности и окраски проводят в сравнитель-

ной характеристике с контрольной пробиркой.

1. Если после добавления первых капель реактива наблюдается помутнение и пожелтение, а после добавления 10 капель сильное пожелтение или покраснение с образованием обильного осадка после отстаивания, то это показатель испорченности мяса.

2. Если при добавлении 6-10 капель реактива, после двадцатиминутного отстаивания наблюдается слабое помутнение и пожелтение с появлением осадка на дне пробирки, то это показатель подозрительной свежести мяса.

3. Если при добавлении 10 капель реактива Несслера цвет вытяжки не меняется или наблюдается слабое пожелтение, но вытяжка остается прозрачной, то это показатель свежести мяса.

**Задание 30.** Выполнить реакцию на аммиак для определения порчи и свежести мяса.

Таблица 21 - Характеристика свежести мяса

№ пробы	Цвет и прозрачность мясной вытяжки	Характеристика мяса
1		
2		
3		

### *Проба Эбера на свободный аммиак*

**Методические указания.** Аммиак с хлороводородной кислотой, входящей в состав реактива Эбера, образует хлорид аммония:



Хлорид аммония обнаруживается в виде белого тумана (облачка).

**Приборы и реактивы.** Широкая пробирка, пробка с проволокой и стеклянной палочкой, реактив Эбера.

**Проведение анализа.** В широкую пробирку наливают 2—3 мл реактива Эбера (1 часть 25%-ной HCl, 3 части 96° спирта и 1 часть эфира) и закрывают ее пробкой, через которую проходит толстая проволока или стеклянная палочка с загнутым крючкообразным концом, к которому прикрепляют кусочек исследуемого мяса. Проволоку с мясом необходимо установить так, чтобы мясо не касалось стенок пробирки и не смачивалось реактивом (не доходило до уровня жидкости на 0,5—1,0 см).

**Обработка результатов.** Если мясо несвежее и имеется аммиак, то образуется белое облако хлористого аммония, обволакивающее кусочек мяса. При исследовании свежего мяса облачко хлористого аммония не образуется. Реакция Эбера неприменима к горяче-парному, парному мясу и к мясным фабрикатам, приготавливаемым с применением нитритов и нитратов (солонина, колбасные изделия и пр.).

**Задание 31.** Выполнить исследования по пробе Эбера на свободный аммиак в мясе.

Таблица 22 - Характеристика свежести мяса

№ Пробы	Наличие облака хлористого аммония	Характеристика мяса
1		
2		
3		

### **Определение amino-аммиачного азота (упрощенный способ)**

**Методические указания.** Количество свободных нейтральных (моноаминокарбоновых) аминокислот, аммиака и его неорганических соединений в мясе считается характерным показателем его свежести. 20 г средней пробы фарша заливают 100 мл дистиллированной воды и настаивают 15 мин, взбалтывая через каждые 5 мин. Настой фильтруют через бумажный фильтр. Далее в две конические колбы по 100 мл вносят 10 мл фильтрата. 40 мл дистиллированной воды и по 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Содержимое одной колбы используется в качестве эталона фоновой окраски. Содержимое опытной колбы нейтрализуют 0,1 н. раствором едкого калия до слабо-розового окрашивания. В нейтрализованную вытяжку добавляют 10 мл 40%-ного раствора формалина, предварительно также нейтрализованного по фенолфталеину до появления слабо-розовой окраски. В результате освобождения карбоксильных групп смесь становится кислой, розовая окраска исчезает. После этого содержимое колбы вновь титруют тем же раствором щелочи до появления слабо-розовой окраски.

Содержание amino-аммиачного азота в 10 мл фильтрата мясной вытяжки в миллиграммах рассчитывают, умножая расход 0,1 н. раствора едкого калия при втором титровании на коэффициент 1,4. При необходимости вносят поправку на титр щелочи. Содержание amino-аммиачного азота в 10 мл вытяжки из свежего мяса не превышает 1,26 мг, в мясе подозрительной свежести — от 1,27 до 1,69 мг, в несвежем мясе — более 1,68 мг.

**Задание 32.** Выполнить реакцию на определение содержания aminoаммиачного азота в мясном фильтрате.

### **Реакция на сероводород**

**Методические указания.** Сероводород, реагируя со щелочным раствором свинца, которым смочена фильтровальная бумага, образует на ней сульфид свинца, окрашивающий бумагу в светло-бурый или черный цвет.

#### **А) Реакция со щелочным раствором уксуснокислого свинца**

**Приборы и реактивы.** Химический стаканчик, бумага с нанесенной каплей щелочного раствора уксуснокислого свинца.

**Проведение анализа.** 10 г мяса помещают в маленький стаканчик, накрывают листом плотной белой бумаги. На нижнюю поверхность, которого нанесена капля щелочного раствора уксуснокислого свинца.

При наличии в мясе сероводорода через 5-15 минут капля темнеет вследствие образования сернистого свинца.

**Задание 33.** Выполнить реакцию на определение сероводорода в мясе.

Таблица 23 - Характеристика мяса

№ пробы	Окраска капли раствора уксуснокислого свинца	Характеристика мяса
1		
2		
3		

#### **Б) Проба Левина на сероводород и аммиак**

**Приборы и реактивы.** Широкогорлая баночка с притертой пробкой, лакмусовая бумажка, бумажка с каплей щелочного раствора уксуснокислого свинца.

**Проведение анализа.** В широкогорлую баночку с притертой пробкой помещают около

10—15 г измельченного мяса. В горлышко банки вставляют пробку, на нижней части которой зажаты две реактивные бумажки: смоченная дистиллированной водой красная лакмусовая бумажка и полоска бумажки, на которую нанесена капля щелочного раствора уксуснокислого свинца (к 4%-ному раствору уксуснокислого свинца прибавляют 30%-ный раствор едкого натрия до растворения образовавшегося осадка). Пробу отстаивают в течение 10—15 мин при комнатной температуре.

**Обработка результатов.** Если мясо не свежее и имеются аммиак и сероводород, то от аммиака красная лакмусовая бумажка синееет, а от сероводорода смоченная свинцом фильтровальная бумага буреет или чернеет.

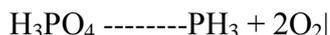
**Задание 34.** Выполнить реакцию на определение содержания сероводорода и аммиака в мясном фильтрате.

Таблица 24 - Характеристика мяса

№ Пробы	Наблюдаемый цвет	Характеристика мяса
1		
2		
3		

### *Реакция на фосфин*

**Методические указания.** Превращение фосфорных соединений в процессе анаэробного распада происходит с образованием фосфина (фосфористого водорода). Источником фосфина служит фосфорная кислота, образующаяся при распаде нуклеопротеидов, фосфопротеидов, фосфатидов и некоторых других соединений.



Фосфористый водород представляет собой очень ядовитый бесцветный газ с резким гнилостным запахом. Образование его особенно характерно для глубинных участков туши.

Реакция на фосфин основана на образовании соединений фосфина с ртутно-кадмиевой солью. Эти соединения окрашены в желтый цвет разной интенсивности. Скорость реакции и интенсивность окрашивания зависят от количества содержащегося фосфина.

**Приборы и реактивы.** Мясорубка, колба (100 мл), корковая пробка.

**Проведение анализа.** 20-25 г только что измельченного в мясорубке мяса помещают в коническую колбу (100мл) и вводят в нее ртутнокадмиевую бумажку, смоченную 1-2 каплями уксусного ангидрида. Бумажку закрепляют в горле колбы корковой пробкой. Вводить бумажку нужно осторожно, что бы она не касалась мяса, лежащего на дне и стенок колбы.

Точно через 10 мин. наблюдают окраску реактивной бумажки.

**Обработка результатов.**

Бумажка частично окрашена в желтый цвет, большей частью по краям - мясо свежее.

Бумажка окрашена в интенсивно желтый цвет - мясо подозрительной свежести.

Бумажка окрашена в оранжевый цвет - мясо испорчено.

**Задание 35.** Выполнить реакцию по качественному определению фосфина мяса.

Таблица 25 - Характеристика мяса

№ Пробы	Цвет ртутно-кадмиевой бумажки	Характеристика мяса
1		
2		
3		

**Качественное определение пероксидазы**

**Методические указания.** В мышечной ткани свежего мяса содержатся различные ферменты, в том числе пероксидаза, сохраняющая активность в слабокислой среде. В несвежем мясе, а так же в мясе больных животных она отсутствует. Для качественного обнаружения пероксидазы применяют пробу с бензидином или с настойкой гваяковой смолы.

**А). Бензидиновая проба**

**Приборы и реактивы.** Пробирка, капельница, бензидин 0,2% спиртовой раствор, перекись водорода 1% раствор.

**Проведение анализа.** 2 мл фильтрата и 5 капель 0,2%-ного спиртового раствора бензидина встряхивают в пробирке, после чего добавляют 2 капли 1%-ного раствора перекиси водорода.

**Обработка результатов.** Вытяжка из свежего мяса, содержащая фермент пероксидазу, через 1—2 мин окрашивается в сине - зеленый цвет, постепенно переходящий в коричневый. В фильтре из мяса сомнительной свежести сине-зеленая окраска менее интенсивна и появляется через 3—4 мин. Экстракт из несвежего мяса, а также из мяса больных животных пероксидазы не содержит, при проведении данной пробы исходная буроватая окраска не изменяется. По данным проведенного анализа заполняют таблицу 26 и делают выводы относительно свежести мяса.

**Задание 36.** Выполнить реакцию бензидиновой пробы.

Таблица 26- Характеристика мяса

№ пробы	Окраска мясной вытяжки	Характеристика мяса
1		
2		
3		

**Б) Гваяколовая проба**

**Приборы и реактивы.** Настойка гваяколовой смолы 5%-ная, перекись водорода 1%-ный раствор.

**Проведение анализа.** К 2 мл фильтрата в пробирке добавляют 5 капель 5%-ной настойки гваяколовой смолы, встряхивают и добавляют 2 капли 1%-ного раствора перекиси водорода и немного теплой воды.

**Обработка результатов.** При наличии пероксидазы через 2—5 мин содержимое пробирки окрашивается в молочный голубовато-синий цвет.

**Задание 37.** Выполнить гваяколовую пробу.

Таблица 27 - Характеристика мяса

№ Пробы	Окраска мясной вытяжки	Характеристика мяса
1		
2		
3		

### Комплексная оценка результатов

При проведении испытаний следует учитывать, что одно какое - нибудь определение в отдельности не решает вопрос о свежести мяса. Это может быть сделано только с помощью комплекса химических показателей.

**Задание 38.** По данным исследований для каждой пробы мяса заполнить таблицу 28 проанализировать результаты.

Таблица 28 - Характеристика мяса

Название метода определения	Результат определения	Характеристика мяса
Фильтрация по Андриевскому		
Проба Эбера		
Реакция на фосфин		
Реакция на сероводород		
Определение пероксидазы: Бензидиновая проба		
Гваяколовая проба		

### Контрольные вопросы

1. Участие микроорганизмов в порче мяса.
2. Охарактеризовать процессы аэробного и анаэробного гниения.
3. Какие белки легче поддаются действию микроорганизмов.
4. Назовите первичные продукты распада белков.
5. Охарактеризовать особую разновидность порчи - загар.
6. Какое действие оказывают нитраты и нитриты на прогоркание жира.

## Занятие 25. Определение активной кислотности мяса

**Цель занятия.** Изучить методику определения активной кислотности мяса.

**Методические указания.** Важным показателем при оценке мяса является величина рН, которая в значительной мере влияет на такие параметры качества, как цвет, нежность, влагосвязывающая способность и стойкость при хранении. Величина рН показывает концентрацию водородных ионов, т.е. их количество в 1 л исследуемой среды. Это очень малая концентрация, на практике в результате многократного математического преобразования отрицательный логарифм концентрации водорода выражается как показатель рН. Шкала рН находится в пределах от 0 до 14. С помощью рН реакция растворов характеризуется так: нейтральная - рН равен 7, кислая - рН меньше 7, щелочная - рН больше 7.

Величина рН мяса зависит от многих факторов. Жизненные процессы в мышцах животного прекращаются с началом обескровливания. У живого животного показатель рН составляет 7,2-7,3, у только что забитого - 7,0. После убоя значение рН под действием молочной

кислоты, образовавшейся из гликогена, снижается в кислую сторону до значений 5,3-5,6 в говядине и 5,6-5,8 в свинине (в зависимости от температуры и времени после убоя, породы и вида мышц животного). На величину рН влияет обращение с животными перед убоем. У отдохнувших животных, имеющих высокое содержание гликогена, увеличение кислотности и созревание протекают чаще всего нормально, в то время как у животных с невысоким содержанием гликогена могут произойти нарушения в процессе снижения величины рН.

В процессе охлаждения в течение 18-48 ч величина рН снижается до 5,7-5,4. Более низкая способность охлажденного мяса по сравнению с парным связывать воду и жир объясняется в первую очередь (наряду с распадом АТФ) и снижением показателя рН.

При оценке и классификации мяса следует учитывать, что не все мышцы туши имеют одинаковую величину рН, разница в значении между различными мышцами туши и даже между одинаковыми мышцами обеих полутуш может составлять до 0,3 единицы. В этой связи для сравнительной оценки измерение должно производиться на одной и той же мышце, которая обладает средней величиной рН и расположена на туше таким образом, что до нее можно добраться без разделки туши и надрезов, снижающих ценность мяса. В этом отношении хорошо зарекомендовали себя длинная спинная мышца между пятым и шестым поясничными позвонками и две мышцы, расположенные у поверхности туши в тазобедренной части в области жирового отростка или шва кастраций.

Зная величину рН, можно выделить оптимальные направления использования мясного сырья в процессе промышленной переработки, что обеспечит большие технологические и экономические преимущества. Так, на производство сырокопченых колбас рациональнее направлять мясо с низким значением рН, а на производство вареных колбас - мясо с высоким рН.

Определение величины рН выполняют рН-метрами с электродами различного типа, приспособленными для проведения измерений на тушах. В последнее время предпочтение отдают цифровым рН-метрам с автоматической компенсацией, учитывающей температуру окружающей среды.

**Приборы и реактивы.** Химические колбы, фильтры, потенциометр, дистиллированная вода, мясной фарш.

**Техника определения:** к 25 г мясного фарша, помещенного в колбу, приливают 100 мл дистиллированной воды и в течение 5-10 минут взбалтывают, затем вытяжку фильтруют. Определяют с помощью потенциометра.

**Задание 39.** Определить активную кислотность мясного фарша.

#### *Контрольные вопросы*

1. Что характеризует величину рН?
2. Факторы, влияющие на величину рН.
3. Сущность методики рН.

## **Занятие 26. Определения водосвязывающей и жирудерживающей способности мяса**

**Цель занятия.** Изучить методику определения водосвязывающей и жирудерживающей способности мяса.

**Методические указания.** Вода не только является преобладающим компонентом всех пищевых продуктов, но и оказывает существенное влияние на такие качественные характеристики готовых мясных изделий, как консистенция, структура, устойчивость при хранении, а также выход. Для оценки состояния воды в пищевых продуктах в настоящее время широко используются показатели водосвязывающей способности и активности воды.

Воду, содержащуюся в пищевых продуктах, как правило, разделяют в зависимости от форм ее связи с белками на три группы: гидратационная, иммобилизованная и свободная. Гидратационная вода (около 5% от общего ее содержания), как показывают спектры ядерно-магнитного резонанса, имеет структуру «водородных мостиковых соединений». По физиче-

ским свойствам она отличается от иммобилизованной и свободной воды более низкой температурой замерзания, большей плотностью, меньшим давлением паров и способностью к образованию различных соединений. Гидратационная вода связана электростатически с диссоциированными группами боковых цепей белка (карбоксильными, гидроксильными, сульфгидрильными и аминогруппами), водородными связями с недиссоциированными полярными группами (карбоксильными и того, более высокое осмотическое давление и увеличение количества осмотически связанной воды возникают в зависимости от концентрации ионов электролитов вблизи полярных групп белка. Таким образом, содержание осмотической влаги в мясе тем выше, чем больше остается неразрушенных полупроницаемых мембран или структурных образований, выполняющих их роль. Она частично выходит из мяса при погружении его в раствор с более высоким осмотическим давлением (посол), при тепловой денатурации белков. Количество осмотической влаги влияет на упругие свойства тканей.

Капиллярная влага заполняет поры и капилляры мяса и фарша. Количество капиллярной влаги зависит от степени развития капиллярной сети в структуре материала. В мясе роль капилляров выполняют кровеносные и лимфатические сосуды. Капиллярная влага влияет на объем и сочность продукта. Чем больше величина капиллярного давления, тем прочнее капиллярная влага связана с материалом. Капиллярное давление, в свою очередь, определяется размером капилляров. Чем меньше диаметр капилляров и микрокапилляров, тем больше капиллярное давление и тем прочнее удерживается вода.

Даже в границах одной формы связи влаги ее прочность и влияние на свойства тканей неодинаковы. В технологической практике влагу по форме ее связи с мясом часто упрощенно разделяют на прочносвязанную, слабосвязанную полезную и слабосвязанную избыточную. К влаге, прочно связанной с продуктом, относят в основном адсорбционную влагу микрокапилляров, а также часть осмотической. Слабосвязанная полезная влага размягчает (пластифицирует) продукт, создавая благоприятную консистенцию и способствуя усвоению пищи. Слабосвязанная избыточная влага - это та ее часть, которая может отделяться в процессе технологической обработки в виде бульона при варке колбас или в составе мясного сока при размораживании. При изготовлении колбас прочносвязанная влага должна составлять примерно 1/3 всей жидкости. В этом случае продукт имеет хорошую консистенцию и выход. При изготовлении колбасы, например, из длительно хранившегося мороженого мяса часть влаги представлена в виде слабосвязанной избыточной, и в этом случае консистенция продукта будет хуже (наблюдается отделение бульона), а выход продукта меньше. Если прочное вязанная влага составляет более 1/3, то продукт получается чрезвычайно твердым.

Чем больше прочное связанной влаги, тем меньше испарение. Так, при обжарке колбас потери за счет испарения могут составлять от 7 до 8%. При сушке желательнее, чтобы прочносвязанной влаги было меньше.

Влиять на количество разных форм влаги в мясе можно, изменяя условия, в частности его рН и изоэлектрическую точку. Водосвязывающая способность мяса определяет его качество при технологической и кулинарной обработке. Известно, что выход вареных колбас в значительной мере определяется водосвязывающей способностью мяса. Из мяса с небольшой водосвязывающей способностью трудно приготовить высококачественную продукцию, так как при обработке велики потери влаги и соответственно растворимых в ней веществ. Вследствие этого быстрое определение водосвязывающей способности сырья очень важно в практике работы мясоперерабатывающих предприятий.

Представление о состоянии влаги в мясе может быть получено путем отделения свободной влаги методом прессования или центрифугирования. Количество связанной влаги  $X_1$ , (% к массе мяса) вычисляют по формуле:

$$X_1 = (A - 8,4B) 100 / m_0,$$

а содержание связанной влаги  $X_2$ , (% к общей влаге) определяют по формуле:

$X_2 = (A - 8,4B)100/A$ , где А - общее содержание влаги в навеске, мг; В- площадь влажного пятна, см;  
 $m_0$ - масса навески мяса. мг.

Мясо с нормальными свойствами (NOR) впервые часы после убоя независимо от исходной величины рН обладает высокой водосвязывающей способностью и хорошими технологическими свойствами. Длительность послеубойного хранения мясного сырья различно влияет на качество мяса с низким и высоким значениями рН и на формы связи воды, прежде всего на состояние иммобилизованной влаги. Наибольшей способностью к ее удерживанию обладает свинина впервые часы и через 48 ч после убоя. Состояние миофибриллярных белков мяса в процессе посола определяют нежность, сочность и выход готовых продуктов. При продолжительной механической обработке мясного сырья вначале происходит разрыхление структуры белков соленого мяса, что улучшает технологические показатели, затем наблюдается разрушение сетки мембран и филаментов. что влечет за собой уплотнение структуры мясного сырья и снижение технологических показателей.

Учитывая особенности исходного сырья, изменение его качественных характеристик в процессе хранения, посола и механических воздействий, необходимо использовать такие способы, режимы подготовки и обработки сырья, которые будут способствовать сохранению его высокой водосвязывающей способности и получению высококачественных продуктов. Так, например, основным требованием при изготовлении вареных колбасных изделий является диспергированное состояние компонентов фарша и связанное состояние влаги и жира в течение всего технологического процесса. Поэтому качество и выход вареных колбасных изделий определяются оптимальным развитием процессов водо- и жиросвязывания при приготовлении фарша и его устойчивостью при термической обработке. Водосвязывающая способность является одним из важнейших показателей сырого фарша вареных колбасных изделий. В результате происходящих в процессе термической обработки физико-химических, коллоидно-химических изменений части воды и жира, связанные в сыром фарше, отделяются в виде потерь массы или бульонных и жировых отеков. Количество оставшихся в составе фарша удержанных влаги и жира характеризует его водосвязывающую и жиродерживающую способности, которые рассчитываются как разность между содержанием влаги и жира соответственно в фарше и количеством влаги и жира, отделившихся в процессе термической обработки.

Стабильность, или устойчивость, фарша является обобщающим показателем, характеризующим развитие как водосвязывающей способности сырого фарша, так и водо- и жиродерживающей способности термообработанного фарша и выражается в виде отношения связанного в процессе термической обработки фарша количества влаги и жира к массе сырого фарша, взятого на исследование.

#### **Определение влаги методом высушивания**

Это наиболее распространенный и универсальный способ определения влаги. Содержание влаги определяется по потере массы испытуемых образцов при их высушивании. Влагу удаляют при температурах, близких к температуре кипения воды.

Наиболее объективные результаты можно получить при высушивании образцов в условиях вакуума или в атмосфере инертных газов. Условия сушки необходимо подбирать с учетом особенности состава и свойств высушиваемого материала.

Точность результатов определения и продолжительность анализа зависят от температурного режима сушки и условий подготовки проб к высушиванию.

Обычно высушивание проводят при температуре, не превышающей 105 С, до достижения постоянной массы образцов.

При сушке продуктов с высоким содержанием влаги и небольшим количеством жира температуру высушивания можно повысить до 150-200С, ограничивая продолжительность процесса.

Для ускорения сушки рекомендуется уменьшить толщину высушиваемого слоя и увеличить пористость продукта, смешивая его с твердым инертным материалом, например, с песком. Скорость сушки можно увеличить, добавляя к материалу этанол.

При определении влаги высушиванием расхождения между параллельными определениями не превышают 0,3-0,5%.

**Техника определения:**

- подготовить среднюю пробу продукта;
  - взять бюкс с песком и палочкой, взвесить его на весах до 0,001 г;
  - записать в тетрадь номер бюкса, крышки и массу пустого бюкса;
  - взять навеску измельченного продукта массой 2-3 г, поместить в бюкс и взвесить на весах с точностью до 0,001 г;
  - записать в тетрадь массу бюкса с навеской до высушивания;
  - перемешать навеску в металлическом бюксе стеклянной палочкой с песком и поставить в сушильный шкаф при открытой крышке при температуре 150С на 1 ч;
  - после 1 ч сушки щипцами вынуть бюкс с навеской и крышкой из сушильного шкафа, закрыть бюкс крышкой и поставить в эксикатор для остывания на 10-15 минут;
  - после остывания бюкс с навеской взвесить на весах до 0,001 г;
- Массовую долю влаги рассчитать по формуле:

$$1. \quad V = (m_1 - m_2) * 100 / m_1 - m),$$

По одной навеске исследуемого продукта можно определить водо- (ВУС) и жиродерживающую (ЖУС) способности и устойчивость фарша (УФ), которые рассчитывают по формулам:

$$2. \quad \text{ВУС} = (V m_1 M_1 - M m_2) 100; \text{ЖУС} = (Ж m_1 M_1 - M m_3) 100;$$

$$\text{УФ} = [(m - M) / m_1] * 100$$

где V - содержание влаги в фарше, %;

Ж - содержание жира в фарше, %;

M - масса всего отделившегося бульона с жиром, г;

M<sub>1</sub> - масса исследуемого бульона с жиром, г;

m<sub>1</sub> - масса навески фарша, г;

m<sub>2</sub> - масса воды в исследуемом бульоне, г;

m<sub>3</sub> - масса жира в исследуемом бульоне, г.

В практических целях для характеристики состояния влаги в мясе и мясных продуктах наряду с традиционными показателями водосвязывающей способности принят показатель активности воды.

Показатель активности воды позволяет установить взаимосвязь между состоянием слабосвязанной влаги в продукте и возможностью развития в нем микроорганизмов, ибо из всей воды, содержащейся в продукте, микроорганизмы могут использовать для своей жизнедеятельности лишь определенную - активную ее часть. Поэтому показатель активности воды,  $a_w$  (свободной, несвязанной влаги пищевых продуктов) дает возможность, в частности, судить о жизнеспособности бактерий, содержащихся в мясе и мясных продуктах, их стойкости к тепловой обработке, а также подверженности продукта микробиологической порче.

**Задание 40.** Определить массовую долю влаги мяса.

### Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте основные формы воды мяса.
2. Как определяется водосвязывающая и жиросвязывающая способность мяса.

## Занятие 27. Количественное определение молочной кислоты в мясе

**Цель занятия.** Изучить методику определения количественного содержания молочной кислоты в исследуемом образце мяса.

**Методические указания.** Созревание мяса- автолитический процесс, протекающий после прекращения жизни животного, в результате которого мясо приобретает нежность сочность, специфический приятный вкус и запах. При жизни животного распад составных частей и их синтез происходит непрерывно. После смерти животного прекращается доставка кислорода кровью к клеткам тканей, в результате чего не происходят окислительные процессы и необратимо протекают только процессы распада.

Прежде всего, происходят необратимые изменения в углеводной системе. При созревании мяса особенно интенсивно действуют ферменты гликолиза, в то время как протеиназы не активны. Гликоген через ряд промежуточных реакций переходит в молочную кислоту, которая накапливается в мышечной ткани. Изменение содержания молочной кислоты, происходящее в процессе созревания, характеризуется следующими данными (таблица 29).

Таблица 29 - Содержания молочной кислоты в мясе

Содержание молочной кислоты в мг%	319	609	700	692	661
Продолжительность созревания в часах	10	12	24	48	120

Накопление молочной кислоты достигает максимума к 24—48 часам созревания мяса. Поэтому для определения молочной кислоты лучше брать мясо на 24-й час и в более поздние сроки созревания.

**Сущность метода.** Молочная кислота окисляется марганцовокислым калием до уксусного альдегида:

При пропускании тока воздуха уксусный альдегид перегоняется через холодильник и в поглотительной колонке связывается раствором бисульфита.

Непрореагировавший избыток бисульфита окисляется йодом, после чего альдегидбисульфитное соединение разлагается содой, и количество содержащегося в нем бисульфита определяют йодометрическим титрованием:



Каждый эквивалент йода соответствует одному эквиваленту молочной кислоты.

Описание перегонного аппарата. Аппарат состоит из обратного холодильника, с которым при помощи резиновой пробки соединена круглодонная колба на 500 мл (можно пользоваться кьельдалевской перегонной колбой); через пробку проходит делительная воронка с оттянутым концом для входа воздуха и раствора марганцовокислого калия.

Холодильник состоит из двух больших пробирок, впаянных одна в другую. В наружную пробирку впаяны две стеклянные трубки: для входа и для выхода воздуха и паров.

Во внутреннюю пробирку через трубку входит холодная вода, оттекающая через отросток. К трубке вплотную примыкает соединенная с ней каучуком трубка, через которую

воздух и пары уксусного альдегида попадают в приемник (широкогорлая экстракционная колбочка), в который наливают раствор бисульфита. Через резиновую пробку проходит нижняя трубка поглотительной колонки 3, доходящей до дна приемника.

В поглотительную колонку помещают фарфоровую или стеклянную пластинку с отверстиями и насыпают стеклянные бусинки слоем 8—10 см. Отводную трубку присоединяют к водоструйному насосу. Поглотительную колонку закрывают резиновой пробкой.

**Приборы и реактивы:** 5%-ный раствор метафосфата натрия готовят растворением на холоду, 0,5 н серная кислота, 8%-ный раствор сернокислой меди, 20%-ная взвесь гидрата окиси кальция (приготавливается из окиси кальция), 0,1 н раствор марганцовокислого калия, запасный раствор (для употребления разбавляют в 20 раз в мерном цилиндре), 1%-ный раствор бисульфита натрия, 0,1 н раствор йода, 0,01 н раствор йода в темной склянке с притертой пробкой этот раствор сохраняется несколько недель. Титр раствора устанавливают перед употреблением по раствору гипосульфита; титр последнего проверяют в свою очередь по чистому йоду, двууглекислый натрий в порошке, 1%-ный раствор крахмала в насыщенном растворе поваренной соли.

**Техника определения.** Дважды пропущенное через мясорубку мясо помещают в стаканчик для взвешивания. На аналитических весах отвешивают по разности от 7 до 10 г мяса непосредственно в колбочку на 100 мл. В колбочку добавляют 40 мл дистиллированной воды, закрывают пробкой и встряхивают в течение 5 минут для равномерного распределения мяса и жидкости.

Затем в ту же колбочку для осаждения белков добавляют 10 мл метафосфата натрия и 10 мл 0,5 N серной кислоты, хорошо встряхивают, доводят водой до метки и через 15 минут фильтруют.

В мерную колбочку емкостью 50 мл отмеривают пипеткой 25 мл полученной жидкости, добавляют туда 4 мл 8%-ного раствора сернокислой меди и нейтрализуют жидкость крепким раствором едкой щелочи до появления голубого осадка гидрата окиси меди.

К нейтрализованному раствору добавляют 10 мл известкового молока, дистиллированной водой доводят раствор до метки и оставляют на 30 минут. Отфильтровывают жидкость от осадка, отмеривают 10 мл фильтрата в круглодонную колбу емкостью 50 мл, прибавляют туда 10 мл 2 N серной кислоты, 20—30 мл (приблизительно) воды и соединяют колбу с холодильником аппарата.

В воронку наливают раствор марганцовокислого калия. В приемник вносят 20 мл раствора бисульфита и столько воды (10 или 15 мл), чтобы при пущенном в ход аппарате жидкость, поднявшись в поглотительную колонку, покрыла бы бусинки; затем соединяют приемник с колонкой.

Проверяют все соединения аппарата, пускают в ход водоструйный насос не очень сильно, но так, чтобы жидкость из приемника, поднявшись в колонку, не спускалась опять в приемник. Впускают воду в холодильник и нагревают отгонную колбу. Когда жидкость в колбе начнет равномерно кипеть, из делительной воронки выпускают по каплям раствор марганцовокислого калия с такой скоростью, чтобы каждая капля тотчас же успевала обесцветиться. Когда перманганат перестанет обесцветываться сразу, и жидкость примет светло-розовый цвет, останавливают приток перманганата, дают жидкости обесцветиться и после этого продолжают приливать его несколько медленнее. Жидкость постепенно принимает более темный розовый цвет, к которому затем примешивается желтовато-бурый оттенок и появляется муть от выпадения перекиси марганца. Тогда прекращают приливание марганцовокислого калия. Отгонку продолжают еще 30 минут, после чего прекращают нагревание. Останавливают водоструйный насос, предварительно вынув резиновую пробку из колонки. Разъединяют приемник и колонку и ополаскивают бусинки 5—6 порциями дистиллированной воды по 5 мл каждая.

1. Титрование избытка бисульфита. К жидкости в приемник прибавляют несколько капель раствора крахмала. Приливают из бюретки 0,01 н раствор йода, а затем к концу титрования 0,01 н раствор йода до слабоголубого окрашивания. 0,1 н раствор употребляют, чтобы не прибавить слишком много раствора йода; если же это имело место, то можно оттитровать

слабым 0,01 н раствором гипосульфита. Количество раствора йода, пошедшего на разрушение несвязанного уксусным альдегидом бисульфита, в расчет не принимается.

2. Разложение альдегидбисульфитного соединения. Добавляют к раствору 1 г сухого двууглекислого натрия и размешивают.

3. Титрование освободившегося бисульфита. Титруют обесцвеченную жидкость 0,01 н раствором йода из микробюретки. В конце титрования йод надо приливать осторожно. Титрование окончено, когда раствор не обесцвечивается при помешивании в продолжение 10—15 секунд. Титрование следует производить при дневном освещении. Результат титрования записывают. Из записанной цифры вычитают результат титрования контроля, полученного путем перегонки одних реактивов.

Обработка результатов. Количество мл 0,01 н раствора йода, пошедшего на титрование после прибавления двууглекислой соды, умноженное на поправку к раствору йода и на 0,45, указывает содержание молочной кислоты в миллиграммах во взятом на определение фильтрате. Пересчитывают результат на 100 г мяса:

$$\frac{a \times K \times 0,45 \times 20 \times 100}{e} = \text{мг \% молочной кислоты,}$$

где: а — количество миллилитров 0,01 N раствора йода, пошедшего на титрование;

К — поправка к раствору йода;

0,45 — количество миллиграммов молочной кислоты, соответствующей 1 мл 0,01 N раствора йода; е — навеска в г,

20—разведение.

**Задание 41.** Выполнить количественное определение молочной кислоты в мясе.

#### *Контрольные вопросы*

1. Назвать растительные ферментные препараты, применяемые для интенсификации созревания мяса

2. Какими свойствами характеризуется созревшее мясо.

3. Назовите группу наиболее активно действующих ферментов в процессе автолиза.

4. Сущность метода определения молочной кислоты

### **Занятие 28. Характеристика технологических пороков созревания мяса**

**Цель занятия.** Изучить технологические пороки созревания мяса.

**Методические указания.** Пороками мяса считаются нарушения в структуре, химическом составе, консистенции и окраске, которые проявляются в следующих формах: загаре, потемнении окраски, пигментации, ослизнении, плесневении, механическом загрязнении, гниении, гнилостном брожении, ожоги.

*Загар* — появление в толще мышц очень упитанного крупного рогатого скота и свиней кислого запаха, серо-красного или коричнево-красного цвета с зеленоватым оттенком и изменение на отдельных участках туши консистенции мяса до дряблой впервые сутки после убоя. Возникает этот дефект при неправильном охлаждении, очень плотной укладке туш и отсутствии вентиляции. Повышение температуры мяса до 40°С и выше объясняется расщеплением фосфорных и других соединений.

Поверхностный жир препятствует нормальному охлаждению мяса и выходу газов, образующихся в клетках тканей. Нарушается нормальный гликолитический распад, происходят другие реакции с образованием сероводорода, масляной кислоты и других веществ с неприятным запахом. Изменяются миоглобин и окраска мяса в месте загара.

Для освобождения от неприятного запаха мясо с очагами загара разрубают на небольшие куски и тщательно проветривают, прежде чем процесс зашел слишком глубоко. Если загар обнаружен поздно, то в таком мясе начинаются гнилостные изменения, его бракуют.

*Ослизнение* — липкая слизь, ухудшающая товарный вид мяса, его вкус и запах. Появляется дефект под воздействием бактерий (ахромобактер, псевдомонас) при 16°C и относительной влажности воздуха выше 85% на вторые сутки, при 4°C — через 16—18 дней, при 2°C — через 2—3 дня. Альбумозы и полипептиды, образующиеся при расщеплении белков под воздействием бактерий, с водой образуют слизь, которая появляется на поверхности испорченного мяса. При варке такого мяса растворимые в горячей воде альбумозы и полипептиды переходят в бульон, от чего он становится мутным и вязким.

*Плесневение* — образование участков белого, серого или серо-зеленого цвета со специфическим запахом затхлости и плесневения в паховых складках, на внутренней поверхности туш мяса, где отсутствует циркуляция воздуха.

Плесени редко проникают вглубь тканей более чем на 2 см. Участки, пораженные плесенью, приходится удалять. Протеолитические ферменты, выделяемые плесенью, действуют в кислой среде, накапливают органические основания, реакция среды мяса сдвигается в щелочную сторону, создавая условия, благоприятные для развития гнилостных бактерий. На охлажденном мясе плесени быстро развиваются при нарушении температурного режима и излишней влажности в камере. Мороженое мясо покрывается плесенью при длительном хранении на участках туш, не омываемых циркулирующим воздухом. Некоторые плесени выдерживают температуру 10°C в течение 12 мес., а при оттаивании мяса создаются самые благоприятные условия для плесневения.

*Гниение* — гнилостное разложение мяса, начинающееся с поверхности. Аэробы, попадающие на мясо из окружающей среды при 0°C, за месяц проникают вглубь на 1 см по соединительным прослойкам возле кровеносных сосудов, костей, суставов и по кровяному руслу, где начинают развиваться аэробы с образованием веществ с крайне неприятным запахом. При гниении мясо сначала бледнеет, затем приобретает зеленоватый оттенок, обусловленный образованием сульфогемоглобина. В начале развития гнилостного процесса запах мяса затхлый, затем неприятный, с кисловатым оттенком, а при глубокой порче явно гнилостный. Консистенция мяса в начале гнилостного разложения почти не изменяется, затем сила сцепления волокон ослабевает, происходит поперечный разрыв мышечных волокон, наблюдается распад тканей.

При гниении реакция на аммиак положительная, при загаре отрицательная. При загаре реакция среды нормальная или более кислая, при гнилостных процессах близка к щелочной.

*Гнилостное брожение* — приобретение мясом неприятного кислого запаха вследствие сбраживания углеводов мяса анаэробными бактериями (типа путрифагист) при плохом обескровливании и очень медленном охлаждении туш. Мясо при брожении размягчается, становится серым.

*Потемнение* — концентрация красящих веществ в результате интенсивного испарения влаги, во время хранения охлажденного и мороженого мяса при недостаточной влажности воздуха и повышенной температуре или образования метмиоглобина, чаще всего в шейной части и в местах кровоподтеков.

*Пигментация* — пятна разных цветов на поверхности мяса, образуются колониями аэробных бактерий: красные — чудесной палочкой, зеленые — флюоресцирующей, синие — палочкой синегнойной, белый цвет — налет брожения.

Мясо может заражаться светящимися бактериями во влажной среде или цветообразующими бактериями, однако при наличии флюоресценции и пигментных пятен не установлено образование токсинов и мясо пригодно к употреблению.

*Ожоги* (пятна беловато-серого цвета на поверхности мороженого мяса) — результат испарения влаги или оптический эффект вследствие образования мелких кристаллов при быстром замораживании; повышенная усушка (0,6 дм<sup>2</sup>) вызывает необратимое изменение

цвета поверхностного слоя мяса; ожоги, вызванные кристаллообразованием, исчезают при размораживании мяса.

*Потемнение и прогоркание жиров* возникает чаще всего в шпике туш, хранившихся в замороженном или охлажденном виде более длительное время, чем допустимо при данной температуре; повышенная температура хранения, кислород воздуха и воздействие света ускоряют порчу жира.

Мухи и другие насекомые оставляют на мясе яйца, из которых выводятся личинки (яйца и личинки погибают при 15°C), а также заражают мясо болезнетворными бактериями. Для борьбы с насекомыми температура в помещении при хранении мяса должна быть ниже 5°C.

**Задание 42.** Изучить основные пороки созревания мяса.

*Контрольные вопросы*

1. Методика отбора проб мяса для органолептического анализа.
2. Органолептические исследования мяса.
3. Характеристика степеней свежести мяса.
4. Основные дефекты мяса.

## ГЛОССАРИЙ

Автолитические процессы-процессы распада компонентов тканей под влиянием находящихся в них ферментов.

Антитела- вещества, образующиеся в организме животного при введении в него различных чужеродных белков (антигенов) и нейтрализующие их вредное действие.

Белки- высокомолекулярные полимерные соединения, построенные из аминокислот.

Денатурация- необратимые реакции осаждения с потерей первоначальных свойств белка.

Изоэлектрическая точка - величина рН раствора, при которой белок находится в изоэлектрическом состоянии.

Копреципитат- белковый продукт, полученный на основе комплексного осаждения казеина и сывороточных белков.

Кофермент- небелковая часть сложных белков.

Липиды- общее название жиров и жироподобных веществ, обладающих одинаковыми физико-химическими свойствами.

Миоглобин- растворимый в воде белок, окрашивающий мышцы в красный цвет.

Миофибриллы- активные сократительные элементы мышечного волокна. Мышечная ткань- сочетание мышечных клеток с неклеточной структурой, объединенных в единую живую систему, характеризующуюся определенным составом, строением и функциями.

Мышечное волокно- основной морфологический и функциональный тканевой элемент поперечнополосатой мускулатуры.

Пороки- все отклонения от нормы состава, физико-химических, органолептических и технологических свойств мяса, ведущие к снижению его качества.

Температура отвердевания- температура, при которой жир приобретает твердую консистенцию.

Температура плавления жира- температура, при которой он переходит в жидкое состояние ( и становится совершенно прозрачным).

Тиксотропия- способность структур после их разрушения в результате, какого-нибудь механического воздействия самопроизвольно восстанавливаться во времени.

Число рефракции- характеризует способность жира преломлять луч света, проходящий через него.

Эмульсии- дисперсные системы двух нерастворимых друг в друге жидкостей, одна из которых диспергирована в другой.

### Список литературы

1. Григорьев В.С. Практикум по биохимии с основами физической и коллоидной химии. Самара, 2000.- 266 с.
2. Данилова Н.С. Физико-химические и биохимические основы производства мяса и мясных продуктов. - М.:КолосС, 2008.- 280 с.
3. Рогожин В.В. Биохимия мышц и мяса: Учеб. пос.- СПб: ГИОРД, 2006. – 240 с.
4. Чебакова Г.В., Данилова И.А. Товароведение, технология и экспертиза пищевых продуктов животного происхождения. – М.: КолосС, 2011. – 312 с.

Учебное издание

Артюкова Галина Даниловна  
Артюков Иван Иванович  
Гамко Леонид Никифорович

# БИОХИМИЯ МЯСА

учебно-методическое пособие к практическим занятиям

Редактор Лебедева Е.М.

---

Подписано к печати 12.05.2014. Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Усл. п. л. 3,02. Тираж 50 экз. Изд. 2700.

---

Издательство Брянской государственной сельскохозяйственной академии.  
243365 Брянская обл., Выгоничский район, с. Кокино, Брянская ГСХА